

UDK 630*165+630*232.1]:582.632.2
Оригинални научни рад
<https://doi.org/10.2298/GSF2226119N>

ВАРИЈАБИЛНОСТ МОРФОЛОШКИХ ПАРАМЕТАРА ЈЕДНО- И ДВОГОДИШЊИХ САДНИЦА РАЗЛИЧИТИХ ЛИНИЈА ПОЛУСРОДНИКА ХРАСТА КИТЊАКА

др Марина Нонић, ванредни професор, Универзитет у Београду - Шумарски факултет
(marina.nonic@sfb.bg.ac.rs)

МSc Филип Максимовић, студент докторских студија, Универзитет у Београду – Шумарски факултет

МSc Ивона Керкез Јанковић, истраживач сарадник, Универзитет у Београду – Шумарски факултет

др Јована Деветаковић, доцент, Универзитет у Београду – Шумарски факултет

др Мирјана Шијачић-Николић, редовни професор, Универзитет у Београду - Шумарски факултет

Извод: Циљ рада био је утврђивање варијабилности дела генофонда храста китњака са подручја Споменика природе „Шума Кошутњак“ на нивоу једно- и двогодишњих садница, у тесту потомства основаном у расаднику Шумарског факултета. Истраживање је спроведено на једногодишњим и двогодишњим садницама 10 линија полусродника храста китњака. Мерени су висина и пречник у кореновом врату, утврђено је преживљавање садница на крају другог периода раста, као и годишњи висински и дебљински прираст. Приказани су резултати дескриптивне статистике, једнофакторијалне анализе варијансе и Фишеровог теста најмање значајних разлика, као и мултиваријантних анализа – клас-тер и анализе главних компоненти. Добијени резултати указују на задовољавајући ниво генетичке варијабилности, који представља добру полазну основу за реализацију *ex situ* конзервације дела генофонда, оснивањем пољског огледа на подручју Кошутњака и/или уношењем садница у мањим или већим групама на ово подручје. На овај начин, део генофонда полазне популације, репрезентован кроз саднице различитих линија полусродника, трајно се чува, повећава се бројност полазне популације и стварају се услови за континуиран научно-истраживачки рад.

Кључне речи: *Quercus petraea* (Matt.) Liebl, генеративни тест потомства, варијабилност, линије полусродника, морфолошки параметри садница

УВОД

Храстови (*Quercus sp.*) представљају једну од главних компоненти шумских екосистема умереног појаса на северној полулопти (Eusemann, Liesebach, 2021) који имају велики еколошки и економски значај. На простору Србије, храстови су, углавном, едификатори шумских заједница. На природним стаништима

генеративно обнављање храстова је све мање заступљено, а генофонд ових врста се често репрезентује присуством старијих стабала, ослабљене виталности, услед чега се јавља потреба за очувањем храстових шума и наменском производњом репродуктивног материјала.

На подручју Споменика природе (СП) „Шума Кошутњак” евидентирано је шест врста хрстова, од чега је пет аутохтоних: цер, китњак, лужњак, сладун, медунац и једна алохтона - црвени хрст. Аутохтони хрстови на овом подручју представљају остатке некадашњих примарних заједница чија је сукцесија у току. Због присуства већег броја старијих стабала изданачког порекла и умањене виталности, врло слабог природног подмлађивања (подмлађивање је евидентирано у спрату приземне флоре, али не и у спрату жбуња, што значи да се на прелазу из приземног у спрат жбуња губи) и антропогеног притиска, аутохтони хрстови на овом подручју могу се сматрати рањивим врстама (Šijačić-Nikolić *et al.*, 2021, 2021a).

Виталност и опстанак природних популација шумских дрвенастих врста у измењеним условима средине зависи од степена њихове генетичке варијабилности, као основа за адаптацију и несметану еволуцију (Šijačić-Nikolić, Milovanović, 2012). Висок ниво генетичке варијабилности је неопходан за дугорочни опстанак шума, обезбеђујући основу за будућу адаптацију и отпорност шумског дрвећа на стрес и промену услова животне средине (Ivetić *et al.*, 2016). Генетичка варијабилност зреле популације знатно је умањена у односу на полазну варијабилност на нивоу клијаваца, једногодишњих или двогодишњих биљака, с обзиром да је природна селекција најинтензивнија у раним фазама живота и да континуирано слаби са старењем популације (Nonić, Šijačić-Nikolić, 2021).

Китњак (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) је једна од врста хрстова која се одликује великим индивидуалним и групним варијабилитетом. Isajev *et al.* (2005, 2007) наводе да је тестовима провенијенција и потомства потврђено да је китњак изузетно варијабилна врста, при чему су, осим разлика међу провенијенцијама, утврђене и разлике унутар провенијенција хрста китњака, у погледу висинског раста стабала, времена наступања појединих фенофаза, облика крошње, начина гранања, карактеристика дебла, морфометријских својстава жира, итд. Утврђивањем степена варијабилности хрста китњака у Србији коришћењем молекуларних маркера бавили су се Šijačić-Nikolić

et al. (2009), Milovanović (2010), Popović *et al.* (2020), итд., чији резултати могу послужити за препоруку мера за очување генофонда ове врсте применом различитих метода конзервације.

Хрст китњак је био предмет истраживања различитих аутора у Србији, међу којима су: Isajev *et al.* (2005; 2007), Stojanović (2007), Šijačić-Nikolić *et al.* (2009, 2021, 2021a), Milovanović (2010), Cvjetičanin *et al.* (2013), Krstić *et al.* (2018), Popović *et al.* (2019, 2020), Kanjevac *et al.* (2021), итд, као и истраживања страних аутора спроведених у последњој деценији (Ballian, 2016; Gulyás *et al.*, 2019; Ioniță *et al.*, 2021; Eusemann, Liesebach, 2021; Staszal *et al.*, 2022; Gafenco *et al.*, 2022, итд.), која указују на значај упознавања ове врсте са различитих аспеката и потребе за њеним очувањем.

У последњих неколико деценија, састојине, групе и појединачна стабла китњака готово на читавом ареалу се суше из, до сада, још увек недовољно проучених узрока - највероватније, услед утицаја комплекса фактора чији је ефекат кумулативан (Popović *et al.*, 2020). Може се сматрати да је појава сушења китњака последица глобалних климатских промена, промене популационе структуре у китњаковим шумама, аерозагађења, биљних болести, инсекатских градација, итд. (Isajev *et al.*, 2005). Истраживања везана за појаву хрстова мрежасте стенице (*Corythucha arcuata* Say), која су спровели Lolić *et al.* (2020) на хрсту китњаку на прсотору Босне и Херцеговине, указују да ће ова врста, услед све учесталијих климатских промена и штете коју наноси, још више угрозити здравствено стање хрстова на том подручју. Резултати истраживања пролећне и летње фенологије хрста китњака на подручју Румуније показали су да би хрст китњак у будућности могао да буде погођен касним пролећним мразом, те да је успостављање стратегија за коришћење и очување генетских ресурса ове врсте и предвиђање будућих фенолошких промена под претњом климатских и еколошких промена веома важно (Gafenco *et al.*, 2022). Заштита и усмерено коришћење генетичких ресурса хрста китњака може се реализовати „*уједном селекције најбољих њихових*

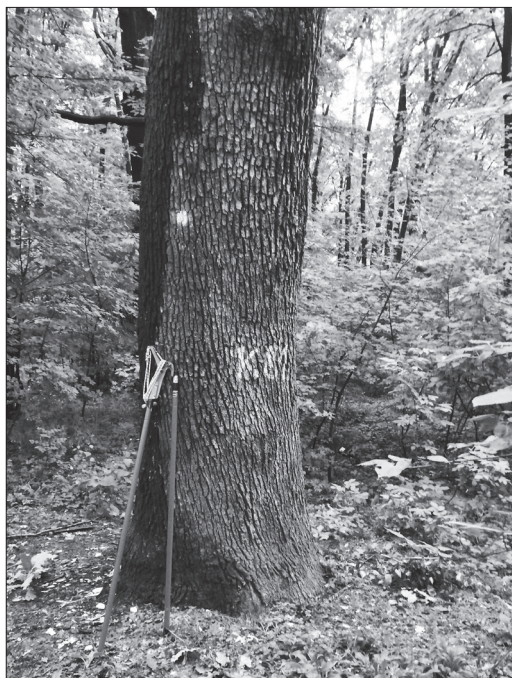
популација китњака, као и ревизијом постојећих и издвајањем нових семенских објеката, трупе и појединачних стабала” (*in situ*) и „оснивањем ровенијеничних џесцова, живих архива, клонских и генеративних семенских џланџа” (*ex situ*) (Isajev et al., 2007). Препоручује се и очување генетских ресурса храста китњака кроз *in vitro* културу као „савремена алтернатива за ресаурацију и очување биодиверзитетa у односу на џроблем џроизводње семена и феномен морфалијетa храсџа” (Љоџџа et al., 2021). Стога је посебну пажњу потребно посветити конзервацији генофонда китњака, што подразумева примену одговарајућих метода за очување унутарврсне варијабилности на природном станишту врсте или ван њега, узимајући у обзир целе популације и јединке или њихове делове, динамично или статично. Крајњи циљ конзервације јесте да се сачува што виши степен генетичке варијабилности унутар врсте на одређеном подручју, како би њена адаптабилност била очувана и како би врста спремно одговорила променама услова средине (Nonić, Šijačić-Nikolić, 2021; Milovanović et al., 2021).

Циљ рада био је утврђивање варијабилности дела генофонда храста китњака са подручја Споменика природе „Шума Кошутњак” на нивоу једно- и двогодишњих садница, у тесту потомства основаном у расаднику Шумарског факултета. Утврђена варијабилност може да представља полазну основу за процесе наменске производње садног материјала у циљу конзервације и одрживог коришћења расположивог генофонда.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Селекција материнских стабала и оснивање генеративног теста потомства

Популација храста китњака на подручју Кошутњака јавља се у оквиру заједница китњака са црним јасеном (*Fraxino orní-Quercetum petraeae* (Borisavljević 1955.) Mišić 1978), китњака и цара (*Quercetum petraeae-cerridis* Jov.



Слика 1. Селекционисано стабло храста китњака на подручју СП „Шума Кошутњак” (Извор: Šijačić-Nikolić et al., 2021)



Слика 2. Тест потомства храста китњака у расаднику Шумарског факултета (април, 2022. године)



Карта 1. Просторни распоред селекционисаних материнских стабала хрста китњак у полазној популацији на подручју СП „Шума Коштњак“



Карта 2. Просторни распоред материнских стабала китњак селекционисаних за анализу варијабилности морфолошких параметара садница линија

1979) и китњака, цера и граба (*Carpino betuli-Quercetum petraeae* var. geog. *Quercus cerris* Jov. & Tomić (80) 1997).

Укупно је селекционисано и просторно позиционирано 81 стабло храста китњака, репрезента популације (слика 1, карта 1) на подручју СП „Шума Кошутњак“ (Šijačić-Nikolić *et al.*, 2021a).

Генеративни тест потомства храста китњака (слика 2) основан је у расаднику Шумарског факултета, Универзитета у Београду, у јесен 2020. године из семена сакупљеног са 21 материнског стабла са подручја СП „Шума Кошутњак“, на коме је констатован задовољавајући урод. Семе (жир) је посејано у модификовану Дунеман леју следећег дана након сакупљања, при чему је за сваку линију полусродника формирано поље за сетву димензија 1,2 × 1 м. Сетва је вршена директно у земљу у браздице дубине до 2 см, размака око 30 см, док је размак између жирева у реду био око 20 см.

У другој половини априла 2021. године почела је појава првих клијаваца, чији се број по линији полусродника кретао од 2 (K23) до 222 (K10). За потребе овог рада издвојено је 10 линија полусродника, које су показале најбољу клијавост, а у којима је евидентирано више од 50 садница по линији, како би узорак био уједначен. Просторни распоред материнских стабала храста китњака чије су линије полусродника селекционисане за потребе овог истраживања приказан је на карти 2.

Мерење морфолошких параметара садница храста китњака

Мерење висина и пречника у кореновом врату садница храста китњака обављено је на крају првог (јесен 2021. године) и другог периода раста (јесен 2022. године).

Висина садница (H) старости 1+0 и 2+0 мерена је од кореновог врата до терминалног пупољка, уз помоћ лењира са тачношћу од 1 mm. Пречник у кореновом врату (D) садница старости 1+0 и 2+0 мерен је употребом дигиталног нонијуса са тачношћу од 0,01 mm. Поред мерења морфолошких параметара, евидентирано је и преживљавање садница на крају другог периода раста, 2022. године.

Статистичка обрада података

Ради утврђивања морфолошке варијабилности 1+0 и 2+0 садница храста китњака анализирани су параметри дескриптивне статистике за наведена обележја посматрања: \bar{x} – средња вредност, SD – стандардна девијација, CV (%) – коефицијент варијације, $min-max$ – минимална и максимална вредност. Спроведена је и једнофакторијална анализа варијансе (ANOVA) између различитих линија полусродника, при чему је додатно тестирање између парова линија полусродника урађено Фишеровим мултиплим тестом (LSD) за све истраживане параметре. Мултиваријантне анализе, кластер и анализа главних компоненти, коришћене су да би се утврдило постоји ли закономерност у писању истраживаних линија.

РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА СА ДИСКУСИЈОМ

Варијабилност морфолошких параметара једно- и двогодишњих садница

Резултати једнофакторијалне анализе варијансе (ANOVA) између различитих линија полусродника за мерене параметре једногодишњих садница указују да су разлике статистички значајне ($p < 0,05$) (табела 1).

Варијабилност једногодишњих садница је, укупно гледано, већа у погледу варирања висина (39,59%) него у погледу варирања пречника (29,91%). Вредности измерене за висине (H 2021) крећу се од минималних 30 mm (K56) до 290 mm (K37). Вредности измерене за пречнике (D 2021) крећу се од минималних 0,06 mm (K11) до 7,84 mm (K04). Просечна вредност за мерене висине посматрано за све линије износи $82,02 \pm 32,47$ mm, најнижа је за линију K12 ($64,84 \pm 15,39$ mm), а највиша за линију K37 ($112,00 \pm 56,44$ mm). Просечна вредност за мерене пречнике посматрано за све линије износи $2,38 \pm 0,71$ mm, најнижа је за линију K11 ($1,97 \pm 0,64$ mm), а највиша за линију K82 ($2,78 \pm 0,71$ mm).

Табела 1. Резултати дескриптивне статистике и једнофакторијалне анализе варијансе за мерене параметре једногодишњих садница различитих линија полусродника китњака

Линија полуср.	Број садница	Н 2021 (mm)			D 2021 (mm)		
		$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max	$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max
K04	50	74,52±23,31	31,28%	35-126	2,51±1,04	41,52%	0,91-7,84
K10	50	98,94±27,80	28,09%	47-180	2,37±0,50	21,09%	1,40-3,53
K11	50	67,90±20,37	30,00%	32-145	1,97±0,64	32,72%	0,06-3,52
K12	50	64,84±15,39	23,73%	40-121	2,03±0,55	27,31%	1,12-3,84
K24	50	81,50±22,69	27,83%	40-135	2,58±0,57	22,25%	1,40-4,13
K37	50	112,00±56,44	50,39%	35-290	2,27±0,67	29,29%	1,16-4,23
K38	50	85,04±28,45	33,45%	35-170	2,38±0,60	25,30%	1,45-4,03
K56	50	67,12±18,10	26,97%	30-115	2,25±0,68	30,27%	0,20-4,41
K79	50	75,38±26,11	34,63%	40-200	2,62±0,61	23,31%	1,27-3,95
K82	50	92,88±32,80	35,32%	40-160	2,78±0,71	25,52%	1,14-4,37
ANOVA	Извор	Параметар	Сума квадрата	Df	Средина квадрата	F-однос	P-вредност
	Између линија полуср.	H 2021	106372	9	11819,1	13,8	0,0000
		D 2021	29,802	9	3,31132	7,3	0,0000

Табела 2. Резултати дескриптивне статистике и једнофакторијалне анализе варијансе за мерене параметре двогодишњих садница различитих линија полусродника китњака

Линија полуср.	Број садница	Н 2022 (mm)			D 2022 (mm)		
		$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max	$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max
K04	46	194,78±93,57	48,04%	70-386	3,98±1,46	36,60%	1,46-8,00
K10	48	276,06±98,54	35,70%	100-485	3,90±1,03	26,43%	2,02-6,73
K11	44	221,34±90,45	40,86%	80-445	4,05±0,89	21,99%	2,35-5,62
K12	45	173,87±70,07	40,30%	60-313	3,56±0,79	22,10%	2,25-6,55
K24	43	217,16±104,04	47,91%	52-485	4,35±1,10	25,37%	2,00-6,70
K37	43	237,51±115,64	48,69%	65-540	4,03±1,62	40,09%	1,24-11,08
K38	43	186,37±98,45	52,82%	61-500	3,89±1,59	40,93%	2,02-8,90
K56	41	195,39±101,57	51,98%	69-455	4,48±1,46	32,54%	2,02-8,32
K79	44	216,66±120,06	55,41%	75-610	4,52±1,36	30,15%	2,05-8,99
K82	46	156,91±62,76	39,99%	65-300	3,90±1,14	29,31%	1,24-6,26
ANOVA	Извор	Параметар	Сума квадрата	Df	Средина квадрата	F-однос	P-вредност
	Између линија полуср.	H 2022	481699	9	53522,1	5,72	0,0000
		D 2022	35,2169	9	3,91299	2,43	0,0107

Резултати једнофакторијалне анализе варијансе (ANOVA) између различитих линија полусродника за мерене параметре двогодишњих садница указују да су разлике статистички значајне ($p < 0,05$) (табела 2).

Варијабилност двогодишњих садница је укупно гледано већа у односу на једногодишње саднице и у погледу варирања висина и у погледу варирања пречника. Двогодишње саднице су, такође, варијабилније у погледу висина (48,71%) него у погледу пречника (31,72%). Вредности измерене за висине (H 2022) крећу се од минималних 52 mm (K24) до 610 mm (K79). Вредности измерене за пречнике (D 2022) крећу се од минималних 1,24 mm (K37) до 11,08 mm (K37). Просечна вредност за мерене висине, посматрано за све линије, износи $207,90 \pm 101,27$ mm, најнижа је за линију K82 ($156,91 \pm 62,76$ mm), а највиша за линију K10 ($276,06 \pm 98,54$ mm). Просечна вредност за мерене пречнике посматрано за све линије износи $4,06 \pm 1,29$ mm, најнижа за линију K12 ($3,56 \pm 0,79$ mm), а највиша за линију K79 ($4,52 \pm 1,36$ mm) (табела 2).

Резултати једнофакторијалне анализе варијансе (ANOVA) између различитих линија полусродника за добијене параметре годишњег висинског и дебљинског прираста двогодишњих садница указују да су разлике статистички значајне ($p < 0,05$) (табела 3). Прираст, и дебљински и висински, су далеко варијабилнија својства у односу на висине и пречнике неvezано за годину мерења. Коефицијент варијабилности посматрано за све линије износи 73,28 % за висински односно 65,41 % за дебљински годишњи прираст. Вредности висинског годишњег прираста (lh) крећу се од минималних 1 mm (K37) до 555 mm (K79). Вредности дебљинског годишњег прираста (ld) крећу се од минималних 0,01 mm (K38) до 6,85 mm (K37).

Просечан висински прираст посматрано за све линије износи $124,80 \pm 91,45$ mm, најниже је за линију K82 ($63,89 \pm 53,85$ mm), а највише за линију K10 ($176,83 \pm 95,98$ mm). Просечна вредност дебљинског прираста посматрано за све линије износи $1,66 \pm 1,10$ mm, најниже за линију K82 ($1,12 \pm 0,62$ mm), а највише за линију K56 ($2,24 \pm 1,27$ mm) (табела 3).

Табела 3. Резултати дескриптивне статистике и једнофакторијалне анализе варијансе за мерене параметре годишњег висинског (lh) и дебљинског (ld) прираста садница различитих линија полусродника китњака

Линија полуср.	Број садница	lh (mm)			ld (mm)		
		$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max	$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max
K04	46	118,91±84,66	71,19%	12-306	1,44±1,15	79,92%	0,02-3,69
K10	48	176,83±95,98	54,28%	10-395	1,51±0,94	62,51%	0,17-4,17
K11	44	153,07±92,64	60,52%	5-360	2,05±0,84	41,41%	0,05-4,68
K12	45	109,96±71,36	64,90%	10-263	1,54±0,74	47,62%	0,11-2,92
K24	43	138,09±93,50	67,71%	9-360	1,80±0,98	54,72%	0,05-3,89
K37	43	117,74±79,38	67,42%	1-327	1,69±1,21	71,52%	0,08-6,85
K38	43	98,98±84,16	85,03%	10-380	1,45±1,46	100,34%	0,01-6,27
K56	41	128,29±94,75	73,85%	8-365	2,24±1,27	56,57%	0,05-5,07
K79	44	140,66±111,19	79,06%	15-555	1,88±1,10	58,32%	0,14-5,04
K82	46	63,89±53,85	84,29%	2-190	1,12±0,62	55,53%	0,03-2,32
ANOVA	Извор	Параметар	Сума квадрата	Df	Средина квадрата	F-однос	P-вредност
	Између линија полуср.	lh	397262	9	44140,3	5,79	0,0000
		ld	42,5829	9	4,73143	4,26	0,0000

Додатно тестирање између парова линија полусродника урађено је Фишеровим мултиплим тестом (LSD) за све истраживане параметре (табела 4), с обзиром да су сви показали статистички значајне разлике између мерених садница линија полусродника (табела 1-3).

Парови линија полусродника за које је утврђено да не постоје статистички значајне разлике ни по једном од тестираних обележја су К24-К04 и К38-К04, док се пар К24-К38 разликује само у lh. Ниједан пар линија се не разликује за све посматране параметре статистички значајно, али се линија К82 разликује од линија К11, К56 и К79 за четири од пет посматраних параметара, као и пар линија К10-К56.

Дендрограм кластер анализе (графикон 1), урађен на основу средњих вредности истраживаних параметара, указује на издвајање линија К10, К82 и К37 на већој дистанци у односу на остале линије које су се распоредиле у две групе. Једну групу чине линије К11, К24 и К79, док другу К12, К38, К04 и К56. Овакво груписање линија је у складу са резултатима LSD теста (табела 4).

Линија К10 се издваја од осталих посебно у погледу мерених висина и висинског прираста, као и процента преживљавања двогодишњих садница. Линија К82 се знатно разликује од осталих линија у великом броју параметара и, такође, се одликује веома високим процентом преживљавања, док се линија К37 издваја од

Табела 4. Резултати *post-hoc* LSD теста за истраживане параметре садница различитих линија полусродника храста китњака

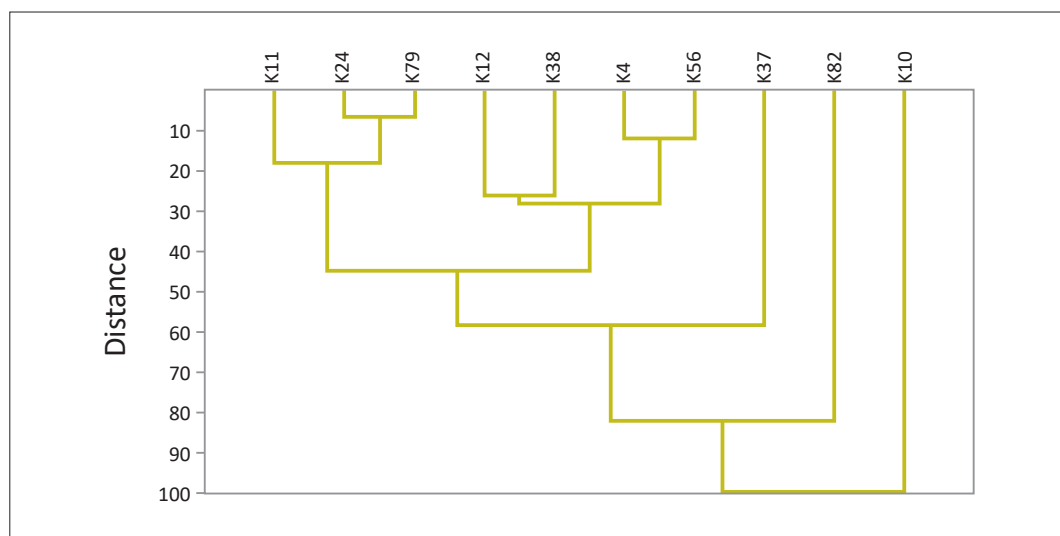
Contrast	H 2021	D 2021	H 2022	D 2022	lh	ld	Contrast	H 2021	D 2021	H 2022	D 2022	lh	ld
K10 - K11	*	*	*			*	K12 - K82	*	*			*	
K10 - K12	*	*	*		*		K24 - K37	*	*				
K10 - K24	*		*		*		K24 - K38					*	
K10 - K37	*				*		K24 - K04						
K10 - K38	*		*		*		K24 - K56	*	*				
K10 - K04	*		*		*		K24 - K79						
K10 - K56	*		*	*	*	*	K24 - K82			*		*	*
K10 - K79	*		*	*	*		K37 - K38	*		*			
K10 - K82		*	*		*		K37 - K04	*		*			
K11 - K12			*		*	*	K37 - K56	*		*			*
K11 - K24	*	*					K37 - K79	*	*				
K11 - K37	*	*					K37 - K82	*	*	*		*	*
K11 - K38	*	*			*	*	K38 - K04						
K11 - K04		*				*	K38 - K56	*			*		*
K11 - K56		*					K38 - K79				*	*	
K11 - K79		*					K38 - K82		*				
K11 - K82	*	*	*		*	*	K04 - K56						*
K12 - K24	*	*	*	*			K04 - K79				*		*
K12 - K37	*		*				K04 - K82	*	*			*	
K12 - K38	*	*					K56 - K79		*				
K12 - K04		*					K56 - K82	*	*		*	*	*
K12 - K56				*		*	K79 - K82	*		*	*	*	*
K12 - K79		*	*	*									

* означава статистички значајне разлике.

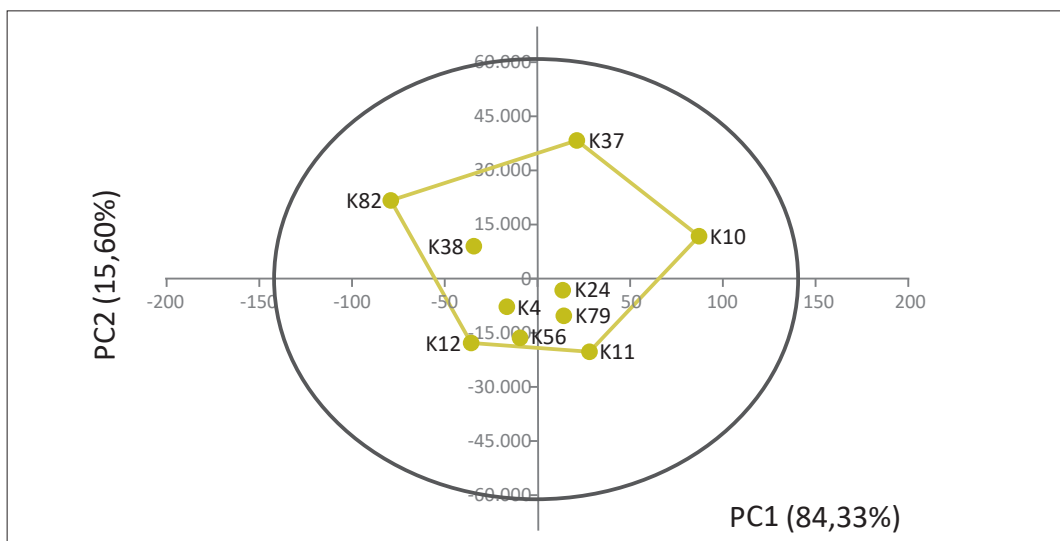
осталих, пре свега, у погледу мерених висина једногодишњих и пречника двогодишњих садница (табела 4).

Анализа главних компоненти (PCA) такође потврђује резултате кластер анализе и LSD теста. Прва координата је објаснила 84,33%

варијабилности, а друга 15,60% (графикон 2). У погледу поређења резултата с просторним распоредом стабала (карта 2) не може се закључити да постоји закономерност у дистанци материнских стабала на терену и добијених резултата за саднице линија полусродника.



Графикон 1. Дендрограм кластер анализе урађен на основу свих истраживаних вредности садница различитих линија полусродника хрста китњака



Графикон 2. Анализа главних компоненти (PCA) урађена на основу свих истраживаних вредности садница различитих линија полусродника хрста китњака

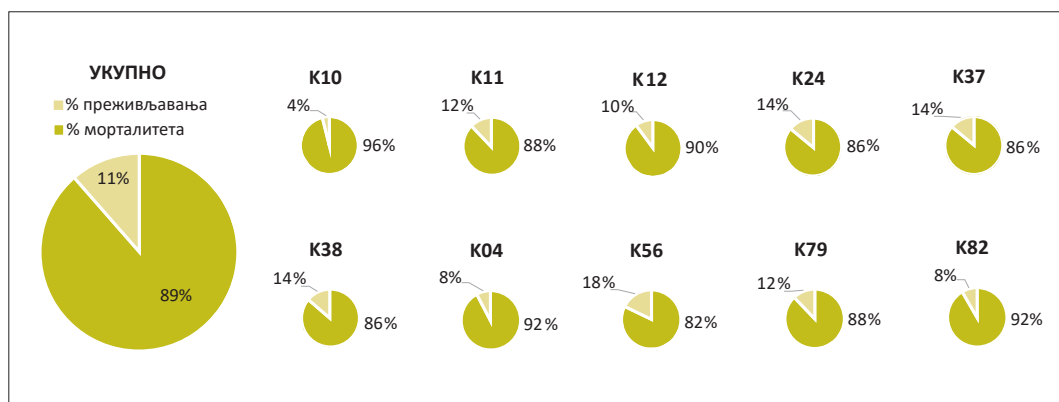
Преживљавање двогодишњих садница

Укупно преживљавање истраживаних садница износи 89%, максималних 96% је евидентирано код линије K10, а минималних 82% код линије K56 (графикон 3). На основу приказаних података, може се констатовати да су све линије полусродника хрста китњака имале задовољавајућ проценат преживљавања садница на посматраном узорку. Висок проценат преживљавања, поред утицаја генотипа, резултат је и редовног одржавања теста потомства.

Када су у питању морфолошки параметри садница китњака, Роровић *et al.* (2019) су мерењем висина и пречника у кореновом врату једногодишњих садница хрста китњака добили вредности пречника у кореновом врату садница у распону од 2,09 до 5,48 mm, док су се у овом истраживању те вредности кретале од 0,20 mm до 7,84 mm. Измерене вредности висина садница кретале су се у распону од 6,5 до 24 cm (односно, од 65 mm до 240 mm), а у овом истраживању су те вредности биле у распону од 30 mm (K56) до 290 mm (K37). У оквиру истраживања које су спровели Роровић *et al.* (2019), средња вредност пречника једногодишњих садница у кореновом врату била је 3,52 mm, а средња вредност висина износила је 14,8 cm (148 mm), док је највећа средња вредност пречника у кореновом врату у овом истраживању износила 2,78 mm, а највећа забележена средња вредност висине једногодишњих

садница 11,20 cm (112 mm). Морфолошки параметри садница хрста китњака анализирани су и у истраживањима Krstić *et al.* (2018), али нису упоредиви са овим резултатима, јер су њихова истраживања спроведена на садницама старости 4, 5 и 8 година. Govedar *et al.* (2021) су, такође, у свом истраживању мерили висине и пречнике у кореновом врату садница хрста китњака, али нису упоредиви са резултатима овог истраживања, јер су саднице биле знатно старије – осмогодишње, па су и резултати очекивано већи у поређењу са резултатима представљеним у овом раду.

Постојање високог нивоа варијабилности између линија полусродника потврђено је код различитих врста шумског дрвећа, на основу истраживања бројних аутора (Mataruga *et al.*, 2000; Knežević, 2002; Knežević, Šijačić-Nikolić, 2005; Ocokoljić, Anastasijević, 2005; Ocokoljić, 2007; Šijačić-Nikolić *et al.*, 2008, 2014, 2017; Ivetić *et al.*, 2015; Kerkez Janković *et al.*, 2021, итд.). Devetaković *et al.* (2013) су, на основу анализе варијабилности између 14 линија полусродника веза (*Ulmus effusa* Wild.), констатовали значајан ниво варијабилности, који није зависио од просторног распореда материнских стабала. Kerkez *et al.* (2018) су, такође, констатовали висок ниво варијабилности између 20 линија полусродника пољског јасена (*Fraxinus angustifolia* Vahl), на основу анализе морфолошких параметара једногодишњих садница у тесту потомства. Унутарпо-



Графикон 3. Преживљавање садница различитих линија полусродника хрста китњака на крају другог периода раста

пулациона варијабилност црног граба утврђена је на основу анализе морфолошких карактеристика двогодишњих садница различитих линија полусродника (Ivetić *et al.*, 2015). Поред унутарпопулационе варијабилности констатоване између линија полусродника, код шумских дрвенастих врста је утврђена унутарпопулациона и међупопулациона варијабилност на основу различитих истраживања (Šijačić-Nikolić *et al.*, 2007, 2012, 2013; Ivetić *et al.*, 2012; Nonić *et al.*, 2014, 2015, 2019, 2021, 2021a; Jovanović *et al.*, 2022, итд.).

На основу представљених резултата овог истраживања, може се констатовати да постоји висок степен варијабилности између линија полусродника храста китњака, како у погледу висина, тако и у погледу мерених пречника, али и у самом одговору садница на факторе средине у тесту потомства (у погледу годишњег прираста и преживљавања садница). Такође, може се констатовати да се, у првим фазама развоја, саднице одређених линија полусродника (K10, K82 и K37), према анализираним параметрима, издвајају од осталих, тако да би њихов развој требало пратити и у наредним годинима, због наменске производње садног материјала. Са аспекта конзервације шумских генетичких ресурса, и материнска стабла чије су саднице линија полусродника имале мање вредности измерених висина и пречника у кореновом врату, не би требало занемарити.

ЗАКЉУЧАК

Утврђивање унутарпопулационе варијабилности храста китњака на подручју СП „Шума Кошутњак“ започето је истраживањима на нивоу линија полусродника које репрезентују генофонд одабраних материнских стабала, у оквиру полазне популације. Добијени резултати анализе морфолошких параметара једно- и двогодишњих садница указују на задовољавајући ниво генетичке варијабилности, који представља добру полазну основу за реализацију *ex situ* конзервације дела генофонда, оснивањем пољског огледа од произведених садница различитих линија полусродника, на

подручју Кошутњака и/или уношењем садница у мањим или већим групама на ово подручје. На овај начин, део генофонда полазне популације, репрезентован кроз саднице различитих линија полусродника, трајно се чува, повећава се бројност биљака у популацији и стварају се услови за континуиран научно-истраживачки рад.

Напомена: Истраживања су финансијски подржана средствима Секретаријата за заштиту животне средине - Град Београд, у оквиру пројекта *Идентификација и мониторинг генофонда рејских, рањивих и ујрожених врста биљака СП „Шума Кошутњак“* и Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, на основу уговора број 451-03-9/2022-14/200169.

VARIABILITY OF MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF ONE- AND TWO-YEAR-OLD SEEDLINGS OF DIFFERENT SESSILE OAK HALF-SIB LINES

Dr. Marina Nonić, associate professor, University of Belgrade - Faculty of Forestry (marina.nonic@sfb.bg.ac.rs)

MSc Filip Maksimović, doctoral student, University of Belgrade - Faculty of Forestry

MSc Ivona Kerkez Janković, research associate, University of Belgrade - Faculty of Forestry

Dr. Jovana Devetaković, assistant professor, University of Belgrade - Faculty of Forestry

Dr. Mirjana Šijačić-Nikolić, full professor, University of Belgrade - Faculty of Forestry

Abstract: This research aimed to determine the variability of the part of the sessile oak gene pool from the area of the Natural Monument “Košutnjak Forest” at the level of one- and two-year-old seedlings, in the progeny test established in the nursery of the Faculty of Forestry. The research was conducted with one-year-old and two-year-old seedlings of 10 half-sib lines of the sessile oak. The heights and root collar diameters were measured, and the survival of the seedlings at the end of the second growth period, as well as the annual height and diameter growth, were determined. The results of descriptive statistics, one-way analysis of variance and Fisher’s least significant differences test, as well as multivariate analyzes - cluster and analysis of the main components were also presented in the research. The obtained results indicate a satisfactory level of genetic variability, which represents a good starting point for the realization of *ex situ* conservation of part of the gene pool, by establishing a field trial in the area of Košutnjak and/or by introducing seedlings in smaller or larger groups to this area. In this way, part of the gene pool of the starting population, represented by seedlings of different half-sib lines, is permanently preserved, the number of the starting population increases, and conditions are created for continuous scientific and research work.

Keywords: *Quercus petraea* (Matt.) Liebl, generative progeny test, variability, half-sib lines, morphological parameters of seedlings

INTRODUCTION

Oaks (*Quercus sp.*) represent one of the main components of temperate forest ecosystems in the northern hemisphere (Eusemann, Liesebach, 2021), which have great ecological and economic value. In the territory of Serbia, oak trees are, for the most part, edificators of the forest communities. In natural habitats, the generative renewal of oak trees is increasingly less common, and the gene pool of these species is often represented by the presence of older trees, with weakened vitality, resulting in a need for the conservation of oak forests and dedicated production of reproductive material.

In the area of the Natural Monument (NM) “Košutnjak Forest” six oak species have been recorded, of which five are autochthonous: Turkey oak, sessile oak, English oak, Hungarian oak, pu-

bescent oak and one allochthonous - northern red oak. The autochthonous oaks in this area represent the remains of former primary communities whose succession is ongoing. Due to the presence of a large number of older coppice-originated trees of reduced vitality, very weak natural regeneration (regeneration was recorded in the low-growth layer, but not in the shrub layer, which means that the transition from the low-growth layer to the shrub layer is lost) and anthropogenic pressure, autochthonous oaks in this area can be considered vulnerable species (Šijačić-Nikolić *et al.*, 2021, 2021a).

The vitality and survival of natural populations of forest woody species in changed environmental conditions depend on the degree of their genetic variability, as a basis for adaptation and unhindered evolution (Šijačić-Nikolić, Milovanović, 2012). A high level of genetic variability is

necessary for the long-term survival of forests, providing the basis for future adaptation and resistance of forest trees to stress and changes in environmental conditions (Ivetić *et al.*, 2016). The genetic variability of mature population is significantly reduced compared to the initial variability at the level of seedlings, one-year or two-year-old plants, considering that selection is the most intense in the early stages of life and continuously decreases with the aging of the population (Nonić, Šijačić-Nikolić, 2021).

Sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) is one of the oak species characterized by great individual and group variability. Isajev *et al.* (2005, 2007) state that provenance trials and progeny tests confirmed that sessile oak is an extremely variable species, where, in addition to differences between provenances, differences within sessile oak provenances were also determined, in terms of the height of trees, the time of occurrence of certain phenophases, the shape of the crown, types of branching, trunk characteristics, morphometric properties of acorns, etc. Šijačić-Nikolić *et al.* (2009), Milovanović (2010), Popović *et al.* (2020), etc., used molecular markers to determine the degree of variability of sessile oak in Serbia, whose results can be used to recommend measures to preserve the gene pool of this species using different conservation methods.

Sessile oak was the subject of research conducted by various authors in Serbia, including Isajev *et al.* (2005; 2007), Stojanović (2007), Šijačić-Nikolić *et al.* (2009, 2021, 2021a), Milovanović (2010), Cvjetičanin *et al.* (2013), Krstić *et al.* (2018), Popović *et al.* (2019, 2020), Kanjevac *et al.* (2021), etc., as well as research studies by foreign authors conducted in the last decade (Ballian, 2016; Gulyás *et al.*, 2019; Ioniță *et al.*, 2021; Eusemann, Liesebach, 2021; Staszal *et al.*, 2022; Gafenco *et al.*, 2022, etc.), which indicates the importance of getting new knowledge about this species from different aspects and the need for its conservation.

In the last few decades, stands, groups and individual sessile oak trees, almost in the entire area, are drying up due to, until now, insufficiently studied causes - most likely due to the influence of a complex of factors whose effect is cumulative (Popović *et al.*, 2020). It can be considered

that the occurrence of sessile oak drying is a consequence of global climate changes, changes in the population structure in sessile oak forests, air pollution, plant diseases, insect gradations, etc. (Isajev *et al.*, 2005). Research related to the appearance of the oak lace bug (*Corythucha arcuata* Say), conducted by Lolić *et al.* (2020) on sessile oak in the forest area of Bosnia and Herzegovina, indicates that this species, due to increasingly frequent climate changes and the damage it causes, will further threaten the health of oaks in that area. The results of the spring and summer phenology of sessile oak in Romania showed that sessile oak could be affected by late spring frost in the future and that the establishment of strategies for the use and conservation of genetic resources of this species and the prediction of future phenological changes under the threat of climate and environmental changes are very important (Gafenco *et al.*, 2022). The protection and targeted use of genetic resources of sessile oak can be realized "through the selection of the best natural populations of sessile oak, as well as the revision of existing and selection of new seed objects, groups and individual trees" (*in situ*) and "establishing provenance tests, living archives, clonal and generative seed plantations" (*ex situ*) (Isajev *et al.*, 2007). It is recommended to preserve the genetic resources of sessile oak through *in vitro* culture as a "modern alternative for the restoration and preservation of biodiversity in relation to the problem of seed production and the phenomenon of oak mortality" (Ioniță *et al.*, 2021). Therefore, special attention should be paid to the conservation of the cetacean gene pool, which implies the application of appropriate methods for the preservation of intraspecific variability in the natural habitat of the species or outside it, taking into account entire populations and individuals or their parts, dynamically or statically. The ultimate goal of conservation is to preserve the highest possible degree of genetic variability within a species in a certain area, so that its adaptability is preserved and so that the species readily responds to changes in environmental conditions (Nonić, Šijačić-Nikolić, 2021; Milovanović, *et al.*, 2021).

This research aimed to determine the variability of a part of the sessile oak gene pool from the area of the Natural Monument "Kosutnjak Forest" at the

level of one- and two-year-old seedlings, in a progeny test established in the nursery of the Faculty of Forestry. The determined variability can be the starting point for the processes of targeted production of planting material with the aim of conservation and sustainable use of the available gene pool.

MATERIAL AND METHODS

Selection of mother trees and establishment of a generative progeny test

The sessile oak population in the area of Košutnjak is found within communities of sessile oak with manna ash (*Fraxino orn-Quercetum petraeae* (Borisavljević 1955) Mišić 1978), sessile oak and Turkey oak (*Quercetum petraeae-cerridis* Jov. 1979) and sessile oak, Turkey oak and hornbeam (*Carpino betuli-Quercetum petraeae* var. geograf. *Quercus cerris* Jov. & Tomić (80) 1997).

A total of 81 sessile oak trees were selected and spatially distributed, as representatives of the population (figure 1, figure 2) in the area of NM “Košutnjak Forest” (Šijačić-Nikolić *et al.*, 2021a).

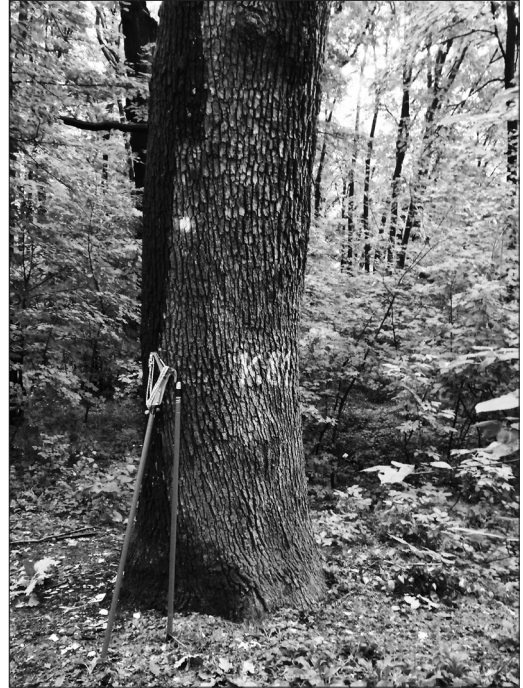


Figure 1. Selected sessile oak tree in the area of NM “Košutnjak Forest” (Source: Šijačić-Nikolić *et al.*, 2021)



Figure 2. Spatial distribution of selected sessile oak mother trees in the initial population in the area of NM “Košutnjak Forest”

The generative sessile oak progeny test (figure 3) was established in the nursery of the Faculty of Forestry, University of Belgrade, in the autumn of 2020 from seeds collected from 21 mother trees from the area of NM “Košutnjak Forest”, in which a satisfactory yield was recorded. The seeds (acorns) were sown in a modified Dunemann bed the day after collection, with a 1.2×1 m sowing field being formed for each half-sib line. Sowing was done directly in the ground in furrows up to 2 cm deep, about 30 cm apart, while the distance between the acorns in the row was about 20 cm.

In the second half of April 2021, the first seedlings began to appear, the number of which per half-sib line ranged from 2 (K23) to 222 (K10). For this research, 10 half-sib lines were selected, which showed the best germination, and in which more than 50 seedlings per line were recorded, to make the sample uniform. The spatial distribution of the sessile oak mother trees whose half-sib lines were selected for this research is shown in figure 4.



Figure 3. The progeny test of sessile oak in the nursery of the Faculty of Forestry (April 2022)



Figure 4. Spatial distribution of the sessile oak mother trees selected for the analysis of the variability of the morphological parameters of half-sib line seedlings

Measurement of the morphological parameters of sessile oak seedlings

The measurement of height and root collar diameter of the sessile oak seedlings was done at the end of the first (autumn of 2021) and second (autumn of 2022) growth periods.

The height of seedlings (H) aged 1+0 and 2+0 was measured from the root collar to the terminal bud, using a ruler with an accuracy of 1 mm. The root collar diameter (D) of seedlings aged 1+0 and 2+0 was measured using a digital caliper with an accuracy of 0.01 mm. In addition to measuring morphological parameters, the survival of seedlings at the end of the second growth period, in 2022, was also recorded.

Statistical data processing

To determine the morphological variability of 1+0 and 2+0 sessile oak seedlings, descriptive statistics parameters were analyzed for the features of observation: \bar{x} - mean value, SD - standard deviation, CV (%) - coefficient of variation, min-

max - minimum and maximum value. A one-way analysis of variance (ANOVA) was conducted between different half-sib lines, whereby additional testing between pairs of half-sib lines was done by Fisher's multiple test (LSD) for all investigated parameters. Multivariate analyses, cluster and principal components analysis were used to determine whether there is regularity in the grouping of the researched half-sib lines.

RESULTS WITH DISCUSSION

Variability of morphological parameters of one- and two-year-old seedlings

The results of a one-way analysis of variance (ANOVA) between different half-sib lines for the measured parameters of one-year-old seedlings indicate statistically significant differences ($r < 0.05$) (table 1).

The variability of one-year-old seedlings is, overall, higher in terms of height variation (39.59%) than in diameter variation (29.91%). Values measured for heights (H 2021) range from a

Table 1. Results of descriptive statistics and one-way analysis of variance of the measured parameters of one-year-old seedlings of different sessile oak half-sib lines

Half-sib line	Number of seedlings	H 2021 (mm)			D 2021 (mm)		
		$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max	$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max
K04	50	74,52±23,31	31,28%	35-126	2,51±1,04	41,52%	0,91-7,84
K10	50	98,94±27,80	28,09%	47-180	2,37±0,50	21,09%	1,40-3,53
K11	50	67,90±20,37	30,00%	32-145	1,97±0,64	32,72%	0,06-3,52
K12	50	64,84±15,39	23,73%	40-121	2,03±0,55	27,31%	1,12-3,84
K24	50	81,50±22,69	27,83%	40-135	2,58±0,57	22,25%	1,40-4,13
K37	50	112,00±56,44	50,39%	35-290	2,27±0,67	29,29%	1,16-4,23
K38	50	85,04±28,45	33,45%	35-170	2,38±0,60	25,30%	1,45-4,03
K56	50	67,12±18,10	26,97%	30-115	2,25±0,68	30,27%	0,20-4,41
K79	50	75,38±26,11	34,63%	40-200	2,62±0,61	23,31%	1,27-3,95
K82	50	92,88±32,80	35,32%	40-160	2,78±0,71	25,52%	1,14-4,37
ANOVA	Source	Parameter	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
	Between half-sib lines	H 2021	106372	9	11819,1	13,8	0,0000
		D 2021	29,802	9	3,31132	7,3	0,0000

minimum of 30 mm (K56) to 290 mm (K37). Values measured for diameters (D 2021) range from a minimum of 0.06mm (K11) to 7.84mm (K04). The average value for the measured heights observed for all lines is 82.02±32.47 mm, the lowest is for line K12 (64.84±15.39 mm), and the highest for line K37 (112.00±56.44 mm). The average value for measured diameters observed for all lines is 2.38±0.71 mm, the lowest is for line K11 (1.97±0.64 mm), and the highest for line K82 (2.78±0.71 mm).

The results of the one-way analysis of variance (ANOVA) between different half-sib lines for the measured parameters of two-year-old seedlings indicate statistically significant differences ($p < 0.05$) (table 2).

Overall, the variability of two-year-old seedlings is higher compared to one-year-old seedlings, both in terms of height variation and diameter variation. Two-year-old seedlings are also more variable in height (48.71%) than in diameter (31.72%). Values measured for heights (H 2022) range from a minimum of 52 mm (K24) to 610 mm (K79). Values measured for diameters (D 2022) range from

a minimum of 1.24 mm (K37) to 11.08 mm (K37). The average value for the measured heights, observed for all lines, is 207.90±101.27 mm, the lowest is for the K82 line (156.91±62.76 mm), and the highest for the K10 line (276.06±98.54 mm). The average value for the measured diameters observed for all lines is 4.06±1.29 mm, the lowest for line K12 (3.56±0.79 mm), and the highest for line K79 (4.52±1.36 mm) (table 2).

The results of a one-way analysis of variance (ANOVA) between different half-sib lines for the obtained parameters of annual height and diameter increment of two-year-old seedlings indicate statistically significant differences ($p < 0.05$) (table 3). The increment, both in diameter and height, are far more variable characteristics compared to heights and diameters regardless of the year of measurement. The coefficient of variability observed for all lines is 73.28% for height and 65.41% for diameter annual increase. The values of the annual height increment (Ih) range from a minimum of 1 mm (K37) to 555 mm (K79). The values of the annual diameter increment (Id) range from a minimum of 0.01 mm (K38) to 6.85 mm (K37).

Table 2. Results of descriptive statistics and one-way analysis of variance of the measured parameters of two-year-old seedlings of different sessile oak half-sib lines

Half-sib line	Number of seedlings	H 2022 (mm)			D 2022 (mm)		
		$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max	$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max
K04	46	194,78±93,57	48,04%	70-386	3,98±1,46	36,60%	1,46-8,00
K10	48	276,06±98,54	35,70%	100-485	3,90±1,03	26,43%	2,02-6,73
K11	44	221,34±90,45	40,86%	80-445	4,05±0,89	21,99%	2,35-5,62
K12	45	173,87±70,07	40,30%	60-313	3,56±0,79	22,10%	2,25-6,55
K24	43	217,16±104,04	47,91%	52-485	4,35±1,10	25,37%	2,00-6,70
K37	43	237,51±115,64	48,69%	65-540	4,03±1,62	40,09%	1,24-11,08
K38	43	186,37±98,45	52,82%	61-500	3,89±1,59	40,93%	2,02-8,90
K56	41	195,39±101,57	51,98%	69-455	4,48±1,46	32,54%	2,02-8,32
K79	44	216,66±120,06	55,41%	75-610	4,52±1,36	30,15%	2,05-8,99
K82	46	156,91±62,76	39,99%	65-300	3,90±1,14	29,31%	1,24-6,26
ANOVA	Source	Parameter	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
	Between half-sib lines	H 2022	481699	9	53522,1	5,72	0,0000
		D 2022	35,2169	9	3,91299	2,43	0,0107

Table 3. Results of descriptive statistics and one-way analysis of variance of the measured parameters of the annual height (lh) and diameter (ld) increment of seedlings of different sessile oak half-sib lines

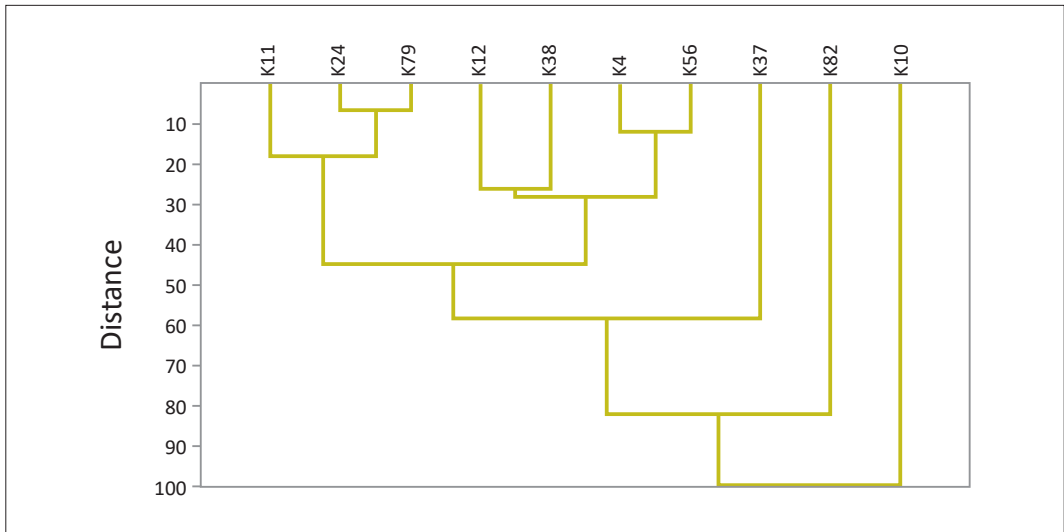
Half-sib line	Number of seedlings	lh (mm)			ld (mm)		
		$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max	$\bar{x} \pm SD$	CV	min-max
K04	46	118,91±84,66	71,19%	12-306	1,44±1,15	79,92%	0,02-3,69
K10	48	176,83±95,98	54,28%	10-395	1,51±0,94	62,51%	0,17-4,17
K11	44	153,07±92,64	60,52%	5-360	2,05±0,84	41,41%	0,05-4,68
K12	45	109,96±71,36	64,90%	10-263	1,54±0,74	47,62%	0,11-2,92
K24	43	138,09±93,50	67,71%	9-360	1,80±0,98	54,72%	0,05-3,89
K37	43	117,74±79,38	67,42%	1-327	1,69±1,21	71,52%	0,08-6,85
K38	43	98,98±84,16	85,03%	10-380	1,45±1,46	100,34%	0,01-6,27
K56	41	128,29±94,75	73,85%	8-365	2,24±1,27	56,57%	0,05-5,07
K79	44	140,66±111,19	79,06%	15-555	1,88±1,10	58,32%	0,14-5,04
K82	46	63,89±53,85	84,29%	2-190	1,12±0,62	55,53%	0,03-2,32

ANOVA	Source	Parameter	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
		Between half-sib lines	lh	397262	9	44140,3	5,79
		ld	42,5829	9	4,73143	4,26	0,0000

The average height increment observed for all half-sib lines is 124.80±91.45 mm, the lowest one was found for line K82 (63.89±53.85 mm), and the highest one for line K10 (176.83±95.98 mm). The average value of diameter increment for all lines is 1.66±1.10

mm, the lowest for line K82 (1.12±0.62 mm), and the highest for line K56 (2.24±1.27 mm) (table 3).

Additional testing between pairs of half-sib lines was done by Fisher’s least significant difference test (LSD) for all investigated parameters



Graph 1. Dendrogram of cluster analysis made based on all investigated values of seedlings of different sessile oak half-sib lines

Table 4. Results of the *post-hoc* LSD test for the investigated parameters of seedlings of different sessile oak half-sib lines

Contrast	H 2021	D 2021	H 2022	D 2022	lh	ld	Contrast	H 2021	D 2021	H 2022	D 2022	lh	ld
K10 - K11	*	*	*			*	K12 - K82	*	*			*	
K10 - K12	*	*	*		*		K24 - K37	*	*				
K10 - K24	*		*		*		K24 - K38					*	
K10 - K37	*				*		K24 - K04						
K10 - K38	*		*		*		K24 - K56	*	*				
K10 - K04	*		*		*		K24 - K79						
K10 - K56	*		*	*	*	*	K24 - K82			*		*	*
K10 - K79	*		*	*	*		K37 - K38	*		*			
K10 - K82		*	*		*		K37 - K04	*		*			
K11 - K12			*		*	*	K37 - K56	*		*			*
K11 - K24	*	*					K37 - K79	*	*				
K11 - K37	*	*					K37 - K82	*	*	*		*	*
K11 - K38	*	*			*	*	K38 - K04						
K11 - K04		*				*	K38 - K56	*			*		*
K11 - K56		*					K38 - K79				*	*	
K11 - K79		*					K38 - K82		*				
K11 - K82	*	*	*		*	*	K04 - K56						*
K12 - K24	*	*	*	*			K04 - K79				*		*
K12 - K37	*		*				K04 - K82	*	*			*	
K12 - K38	*	*					K56 - K79		*				
K12 - K04		*					K56 - K82	*	*		*	*	*
K12 - K56				*		*	K79 - K82	*		*	*	*	*
K12 - K79		*	*	*			* indicates statistically significant differences						

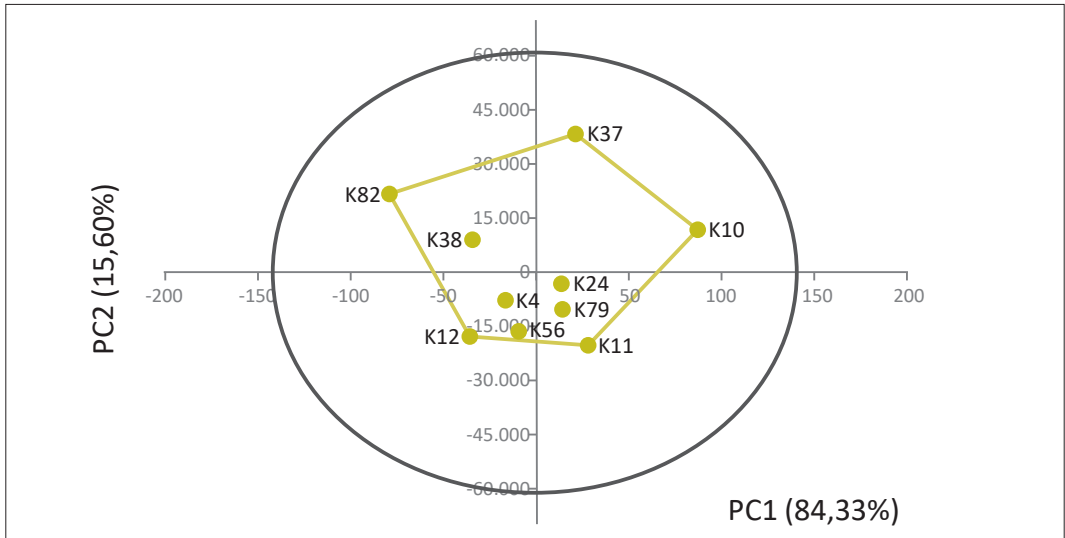
(table 4), considering that they all showed statistically significant differences between the measured seedlings of half-sib lines (tables 1-3).

Pairs of half-sib lines for which no statistically significant differences were found are K24-K04 and K38-K04, while the pair K24-K38 differs only in one characteristic - lh. No pair of lines differ statistically significantly for all observed parameters, but line K82 differs from lines K11, K56 and K79 for four out of five observed parameters, as well as line pair K10-K56.

The cluster analysis dendrogram (graph 1) based on the mean values of the investigated parameters, indicates the separation of lines K10, K82, and K37 at a greater distance compared

to the other lines that were distributed in two groups. One group consists of lines K11, K24 and K79, while the other one consists of K12, K38, K04 and K56. This grouping of lines is consistent with the results of the LSD test (table 4).

The half-sib line K10 differs from the others, especially in terms of measured heights and height increment, as well as the survival percentage of two-year-old seedlings. The line K82 is significantly different from other lines in a large number of parameters, and it is also characterized by a very high survival percentage, while the line K37 stands out from the others in terms of the measured heights of one-year-old seedlings and the diameter of two-year-old seedlings (table 4).

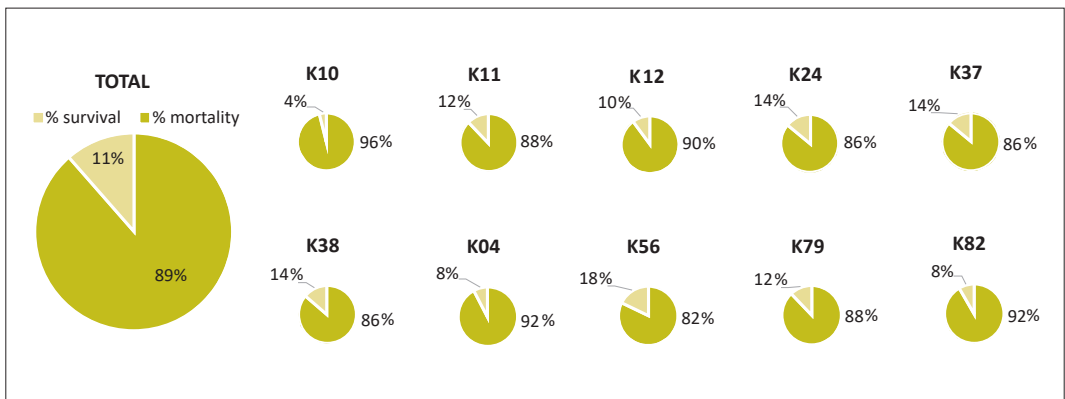


Graph 2. Principal component analysis (PCA) performed based on all the investigated values of seedlings of different sessile oak half-sib lines

Principal component analysis (PCA) also confirms the results of cluster analysis and LSD test. The first coordinate explained 84.33% of the variability, and the second one 15.60% (graph 2). Regarding the comparison of the results with the spatial arrangement of the trees (figure 4), it cannot be concluded that there is a regularity in the distance of the mother trees in the field and the results obtained for the seedlings of half-sib lines.

Survival of two-year-old seedlings

The total survival of the investigated seedlings is 89%, from a maximum of 96%, in case of line K10, to a minimum of 82%, in case of line K56 (graph 3). Based on the presented data, it can be concluded that all the half-sib lines of sessile oak had a satisfactory percentage of seedling survival in the observed sample. The high percentage of survival, in addition to the influence of the genotype, is also the result of regular maintenance of the progeny test.



Graph 3. Survival of seedlings of different sessile oak half-sib lines at the end of the second growth period

Regarding the morphological parameters of sessile oak seedlings, by measuring the height and root collar diameter of one-year-old sessile oak seedlings, Popović *et al.* (2019) obtained the values of root collar diameter of the seedlings ranging from 2.09 to 5.48 mm, while in this research those values ranged from 0.20 mm to 7.84 mm. The measured values of seedling heights ranged from 6.5 to 24 cm (that is, from 65 mm to 240 mm), and in this research, those values ranged from 30 mm (K56) to 290 mm (K37). As part of the research conducted by Popović *et al.* (2019), the mean root collar diameter of one-year-old seedlings was 3.52 mm, and the mean value of height was 14.8 cm (148 mm), while the highest mean value of root collar diameter in this study was 2.78 mm, and the highest recorded mean value of the height of one-year-old seedlings is 11.20 cm (112 mm). The morphological parameters of the sessile oak seedlings were also analyzed in the research of Krstić *et al.* (2018), but they are not comparable with these results, because their research was conducted on seedlings aged 4, 5 and 8 years. Govedar *et al.* (2021) also, in their research, measured the heights and root collar diameters of sessile oak seedlings, but they are not comparable with the results of this study, because the seedlings were significantly older - eight years old, so the results are expectedly higher compared to the results presented in this paper.

The existence of a high level of variability between half-sib lines has been confirmed in different forest tree species, based on research by numerous authors (Mataruga *et al.*, 2000; Knežević, 2002; Knežević, Šijačić-Nikolić, 2005; Ocokoljić, Anastasijević, 2005; Ocokoljić, 2007; Šijačić-Nikolić *et al.*, 2008, 2014, 2017; Ivetić *et al.*, 2015; Kerkez Janković *et al.*, 2021, etc.). Devetaković *et al.* (2013), based on the analysis of variability between 14 half-sib lines of European white elm (*Ulmus effusa* Wild.), recorded a significant level of variability, which did not depend on the spatial distribution of mother trees. Kerkez *et al.* (2018) also found a high level of variability between 20 half-sib lines of narrow-leaved ash (*Fraxinus angustifolia* Vahl), based on the analysis of morphological parameters of one-year-old seedlings in the progeny test. The intra-population variability of European hop-horn-

beam was determined based on the analysis of the morphological characteristics of two-year-old seedlings of different half-sib lines (Ivetić *et al.*, 2015). In addition to intra-population variability found between half-sib lines, in forest woody species intra-population and inter-population variability were determined based on various studies (Šijačić-Nikolić *et al.*, 2007, 2012, 2013; Ivetić *et al.*, 2012; Nonić *et al.*, 2014, 2015, 2019, 2021, 2021a; Jovanović *et al.*, 2022, etc.).

Based on the presented results of this research, it can be stated that there is a high degree of variability between the sessile oak half-sib lines, both in terms of heights and measured diameters, but also in the response of seedlings to environmental factors in the progeny test (in terms of annual increment and seedling survival). In addition, it can be stated that in the first stages of development, the seedlings of certain half-sib lines (K10, K82 and K37), according to the analyzed parameters, stand out from the others, so their development should be monitored in the following years, due to the dedicated production of planting material. From the aspect of conservation of forest genetic resources, mother trees whose seedlings of half-sib lines had lower values of measured heights and root collar diameters should not be neglected.

CONCLUSION

Determining the intra-population variability of sessile oak in the area of NM "Košutnjak Forest" was started with research at the level of half-sib lines that represent the gene pool of selected mother trees, within the starting population. The obtained results of the analysis of the morphological parameters of one- and two-year-old seedlings indicate a satisfactory level of genetic variability, which represents a good starting point for the realization of *ex situ* conservation of part of the gene pool, by establishing a field trial with produced seedlings of different half-sib lines, in the area of Košutnjak and/or by introducing seedlings in smaller or larger groups to this area. In this way, part of the gene pool of the starting population, represented by seedlings of different half-sib lines, is permanently preserved, the number of plants in the population increases, and conditions are created for continuous scientific research.

Acknowledgments: This research was supported by the Secretariat for Environmental Protection of the City of Belgrade, project: *Identification and monitoring of the gene pool of rare, vulnerable, and endangered plant species in NM „Kosutnjak Forest“* and the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia according to the agreement number 451-03-9/2022-14/ 200169.

REFERENCES

- Ballian D. (2016): Genetska struktura populacija hrasta kitnjaka (*Quercus petraea* (Matt.) Lieblein) u Bosni i Hercegovini na temelju analize izoenzimskih biljega. Šumarski list 3-4, Zagreb: 127-135
- Cvjetičanin R., Košanin O., Krstić M., Perović M., Novaković-Vuković M. (2013): Phytocenological and edaphic characteristics of sessile oak forests on Miroč mt in northeastern Serbia. Bulletin of the Faculty of Forestry 107, Belgrade, 27-56
- Devetaković J., Šiljačić-Nikolić M., Ivetić V. (2013): Variability of morphometric characteristics of one-year seedlings of different half-sib European White Elm (*Ulmus effusa* Wild.) from the Great War Island. Biologica Nyssana, 4 (1-2): 87-92
- Eusemann P., Liesebach H. (2021): Small-scale genetic structure and mating patterns in an extensive sessile oak forest (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.). Ecology and Evolution, John Wiley and Sons: 7796-7809
- Gafenco (Plesca) I.M., Plesca B.I., Apostol E.N., Sofletea N. (2022): Spring and Autumn Phenology in Sessile Oak (*Quercus petraea*) Near the Eastern Limit of Its Distribution Range. Forests, 13, MDPI
- Govedar Z., Kanjevac B., Babic V., Maratac N., Racic M., Velkovski N. (2021): Competition between sessile oak seedlings and competing vegetation under a shelterwood. Agriculture and Forestry, 67(4), Podgorica, 61-70
- Gulyas K., Moricz N., Rasztoivits E., Horvath A., Balazs P., Berki I. (2019): Accelerated height growth versus mortality of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. in Hungary. *South-east Eur for*, 10 (1): 1-7
- Ionita L., Mirancea I., Apostol E., Budeanu M., Besliu E. (2021): Preservation of *Quercus robur* and *Quercus petraea* genetic resources through in vitro culture. Bulletin of the Transilvania University of Braşov, 14(63) No. 2, Braşov: 15-28
- Ivetić V., Isajev V., Nikolić A., Krstić M., Ristić D., Kostadinović M. (2012): Delineation of beech provenance regions in Serbia by spatial analysis of genetic diversity. Genetika, Vol 44, No. 1, (101 – 108)
- Ivetić V., Davorija Z., Devetaković J., Šiljačić-Nikolić M. (2015): Intra-and inter-provenance variability of *Ostrya carpinifolia* Scop. Seedlings. Glasnik Šumarskog fakulteta 112: 33-42
- Ivetić V., Devetaković J., Nonić M., Stanković D., Šijačić-Nikolić M. (2016): Genetic diversity and forest reproductive material - from seed source selection to planting. iForest Vol. 9: 801-812
- Isajev V., Ivetić V., Vukin M. (2005): Veštačko obnavljanje šuma hrasta kitnjaka. Univerzitet u Beogradu, Šumarstvo 3, Beograd: 37-51
- Isajev V., Ivetić V., Vukin M. (2007): Varijabilnost i oplemenjivanje hrasta kitnjaka. U: Stojanović Lj. (ur.) (2007): Hrast kitnjak u Srbiji: 111-150
- Jovanović, M., Milovanović, J., Nonić, M., Šijačić-Nikolić, M. (2022): Inter- and intraspecific variability of *Quercus cerris* L. and *Quercus frainetto* Ten. in the Šumadija region (Serbia) based on leaf geometric morphometrics. Genetika, Vol 54, No. 2: 787-800
- Kanjevac B., Krstić M., Babić V., Govedar Z. (2021): Regeneration Dynamics and Development of Seedlings in Sessile Oak Forests in Relation to the Light Availability and Competing Vegetation. Forests, 12(4): 384
- Kerkez I., Nonić M., Devetaković J., Šijačić-Nikolić M., Ivetić V. (2018): The effect of half-sib lines on morphological attributes of one-year old *Fraxinus angustifolia* seedlings. Reforesta 5: 15-21
- Kerkez Janković I., Popović V., Nonić M., Šijačić-Nikolić M. (2021): Assessment of the genetic and ecological potential of different half-sib lines of *Prunus avium* L. from Serbia. International Conference „Forestry – Bridge to future“, May 05-08, 2021, Sofia, Bulgaria, Book of abstracts: 77
- Knežević R. (2002): Morpho-physiological modification variability of 13 half-sib lines of hybrid plane. Proceeding of the 7th Symposium on Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions, Dimitrovgrad: 159-163

- Knežević R., Šijačić-Nikolić M. (2005): Promenljivost dvogodišnjih sadnica 13 linija polusrodnika javorolisnog platana. Glasnik Šumarskog fakulteta 92: 69-85
- Lolić H., Dautbašić M., Mujezinović O., Zahirović K. (2020): Novi nalazi hrastove mrežaste stjenice (*Corythucha arcuata* Say) u Bosni i Hercegovini. Naše šume 56-57, Sarajevo: 12-21
- Mataruga M., Isajev V., Ocokoljić M. (2000): A contribution to the study of seed and seedling variability of five species in the genus *Abies* Mill.; Proceeding of 6th Symposium on Flora of the Southeastern Serbia. Sokobanja: 241-247
- Milovanović J., Šijačić-Nikolić M., Đorđević-Milošević S. (2021): Zaštita ugroženih vrsta. Univerzitet singidunum – Životna sredina i održivi razvoj: 267 str.
- Nonić M., Heinze B., Ivetić V., Mengl M., Slunsky R. (2014): Assessment of inter-population genetic variability of beech by microsatellite markers. V Congress of the Serbian Genetic Society, September 28th - October 2nd 2014, Kladovo – Belgrade, Serbia, Book of abstracts: 366
- Nonić M., Heinze B., Mengl M., Devetaković J., Slunsky R. (2015): Intra-population genetic diversity of beech in northeast Serbia assessed by microsatellite markers. In: Ivetić, V., Stanković, D. (eds.) Proceedings: International Conference Reforestation Challenges. 03-06 June 2015, Belgrade, Serbia, Reforesta: 266-275
- Nonić M., Heinze B., Mengl M., Ivetić V., Šijačić-Nikolić M. (2019): Intra-population genetic diversity of beech from Goč Mountain assessed by molecular markers. VI Congress of the Serbian Genetic Society, October 13-17, 2019, Vrnjačka Banja, Serbia, Book of abstracts: 159
- Nonić M., Šijačić-Nikolić M. (2021): Šumarska genetika. Univerzitet u Beogradu - Šumarski fakultet: 298 str.
- Nonić M., Šijačić-Nikolić M., Kerkez Janković I., Aleksić J. (2021): Intra-population genetic diversity of pubescent oak from the protected area „Košutnjak Forest“ assessed by molecular markers. Third International Green Biotechnology Congress, Institute for Genetic Engineering and Biotechnology, University of Sarajevo, September 30th – October 2nd, 2021, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, Book of abstracts: 65
- Nonić, M., Radulović, N., Kerkez Janković, I., Devetaković, J., Šijačić-Nikolić, M. (2021a): Variability of pubescent oak (*Quercus pubescens* Willd.) genepool from the protected area „Košutnjak forest“ in Serbia. International Conference „Forestry – Bridge to future“, May 05-08, 2021, Sofia, Bulgaria, Book of abstracts: 79
- Ocokoljić M. (2007): Analiza varijabilnosti potomstva zaštićenih stabala ginka. 9. Simpozijum o flori jugoistočne Srbije i susednih regiona, Proceeding, Nis: 183-188
- Ocokoljić M., Anastasijević, N. (2005): Varijabilnost dvogodišnjih sadnica iz deset linija polusrodnika bukve (*Fagus moesiaca* (Maly) Czeccott). Journal of Scientific Agricultural Research, 66(3): 45-55
- Popović V., Lučić A., Rakonjac Lj., Kerkez Janković I. (2019): Analysis of morphological quality parameters of one-year-old bare root sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl) seedlings. Institute of Forestry, Sustainable forestry 79-80, Belgrade: 23-31
- Popović V., Lučić A., Rakonjac Lj., Hadrović S. (2020): Varijabilnost hrasta kitnjaka (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl) na području PIO „Avala“ prema morfološkim svojstvima listova. Šumarstvo 2020 (3-4): 1-10
- Staszal K., Lasota J., Blonska E. (2022): Effect of drought on root exudates from *Quercus petraea* and enzymatic activity of soil. Sci Rep 12: 7635
- Stojanović Lj. (2007): Hrast kitnjak u Srbiji. Univerzitet u Beogradu – Šumarski fakultet i Udruženje šumarskih inženjera i tehničara Srbije, Beograd: 498 str.
- Šijačić-Nikolić M., Ivetić V., Knežević R., Milovanović J. (2007): Analysis of seed and seedling traits of different provenances of beech. Acta biologica iugoslavica - serija G: Acta herbologica, 16(1): 15-27
- Šijačić-Nikolić M., Knežević R., Milovanović J. (2008): A contribution to the study of Hackberry (*Celtis occidentalis* L.) juvenile stage of development. Glasnik Šumarskog fakulteta 97: 57-78
- Šijačić-Nikolić M., Milovanović J., Bobinac M., Savić-Pavićević D., Brajušković G., Diklić M. (2009): Variability of the chloroplast DNA of sessile oak (*Quercus petraea* AGG. Ehrendorfer, 1967) in Serbia, Arch. Biol. Sci., Belgrade, 61 (3): 459-465

- Šijačić-Nikolić M., Milovanović J. (2010): Konzervacija i usmereno korišćenje šumskih genetičkih resursa. Univerzitet u Beogradu, Šumarski fakultet, Beograd: 200 str.
- Šijačić Nikolić M., Milovanović J. (2012): Conservation and sustainable use of forest genetic resources through an example of wetland ecosystems, *Agriculture and Forestry*, 57 (1): 23-31
- Šijačić-Nikolić M., Milovanović J., Nonić M., Knežević R., Babić V. (2012): Ekotipska karakterizacija genetičke varijabilnosti provenijencija bukve iz jugoistočne Evrope na osnovu morfometrijskih svojstava listova. *Glasnik Šumarskog fakulteta* 106: 197-214
- Šijačić-Nikolić M., Milovanović J., Nonić M., Knežević R., Stanković D. (2013): Leaf morphometric characteristics variability of different beech provenances in juvenile development stage. *Genetika* Vol. 45, No. 2: 369-380
- Šijačić-Nikolić M., Ivetić V., Nonić M., Devetaković J. (2014): Selection of European White Elm plus-trees based on half-sib variability in nursery progeny test. 2014 IUFRO Forest Tree Breeding Conference, August 25-29, 2014, Prague, Czech Republic, Book of abstracts: 64
- Šijačić-Nikolić M., Radaković I., Nonić M. (2017): Variability of morphological characteristics of two-year-old European white elm (*Ulmus laevis* Pall.) seedlings derived from different half-sib lines. International Scientific Conference „Forest Science for Sustainable Development of Forests - 25 Years of Forestry of the Republic of Srpska“, December 7-9, 2017, Banja Luka, the Republic of Srpska - Bosnia and Herzegovina, Book of abstracts: 101
- Šijačić-Nikolić M., Nonić M., Perović M., Kerkez Janković I., Milovanović J. (2021): Conservation of forest genetic resources through the example of native *Quercus* species from the „Košutnjak“ park forest in Serbia. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 875:012002
- Šijačić-Nikolić M., Vilotić D., Ivetić V., Aleksić J., Milovanović J., Nonić M., Devetaković J., Jokanović D., Perović M., Popović V., Lučić A., Kerkez-Janković I., Jankov V. (2021a): Identifikacija i monitoring genofonda retkih, ranjivih i ugroženih vrsta biljaka SP „Šuma Košutnjak“ – studija. Univerzitet u Beogradu - Šumarski fakultet, Sekretarijat za zaštitu životne sredine grada Beograda, Beograd: 317 str.
- Šušić N., Bobinac M., Šijačić-Nikolić M., Bauer-Živković A., Urošević J., Kerkez Janković I. (2019): Growth characteristics of one-year-old seedlings of three autochthonous oak species in suboptimal growing conditions. *Reforesta* 7: 24-32

