UNIVERZITET U BANJOJ LUCI

ŠUMARSKI FAKULTET

Vanja Daničić

GENETIČKI DIVERZITET I MORFOLOŠKO-POMOLOŠKI VARIJABILITET POPULACIJA PITOMOG KESTENA (*Castanea sativa* Mill.) U BOSNI I HERCEGOVINI

DOKTORSKA DISERTACIJA

Banjaluka, 2018.

UNIVERSITY OF BANJA LUKA

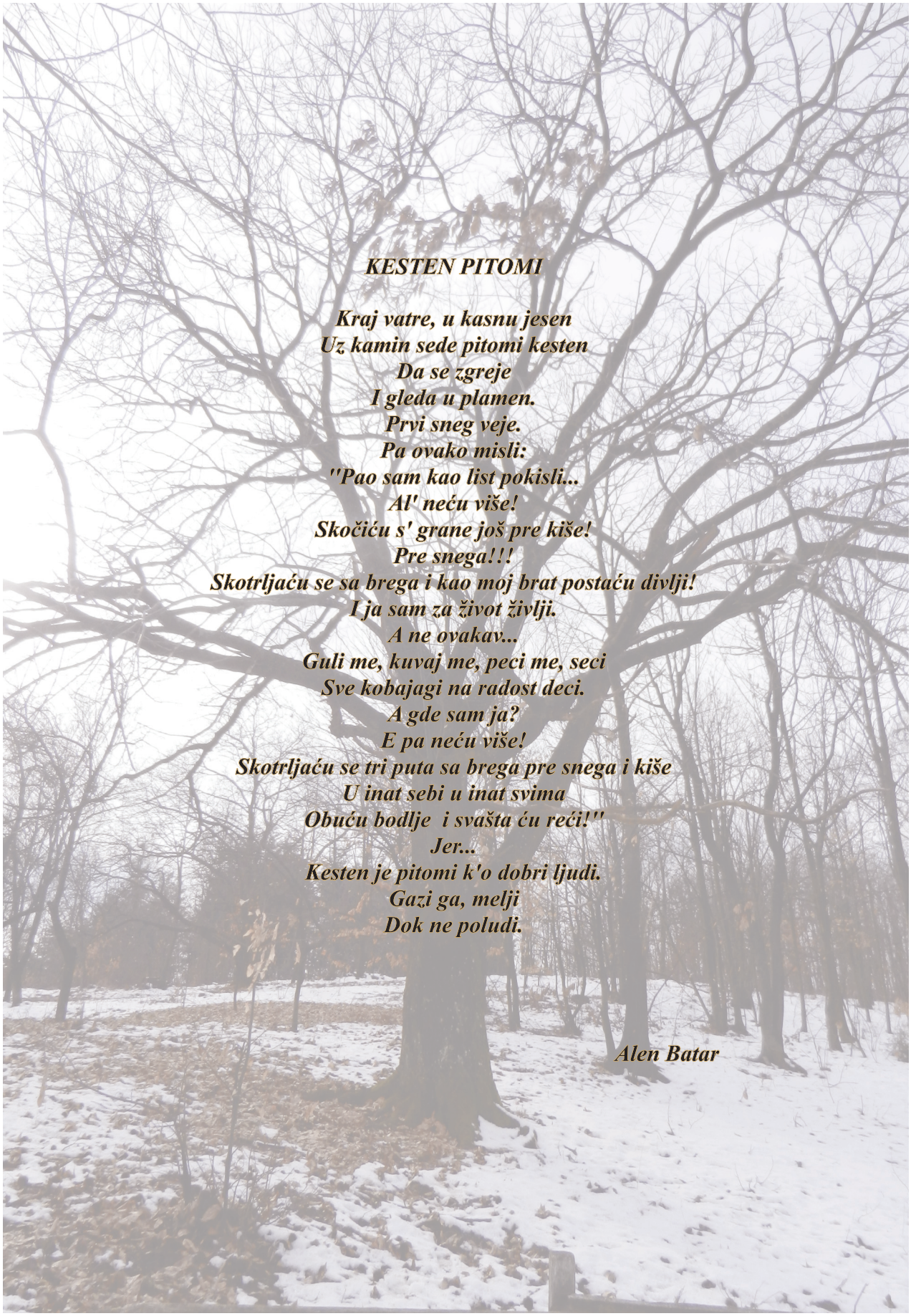
FACULTY OF FORESTRY

Vanja Daničić

GENETIC DIVERSITY AND MORPHOLOGICAL AND POMOLOGICAL VARIABILITY OF CHESTNUT POPULATION (*Castanea sativa* Mill.) IN BOSNIA AND HERZEGOVINA

DOCTORAL DISSERTATION

Banjaluka, 2018.



KESTEN PITOMI

Kraj vatre, u kasnu jesen
Uz kamin sede pitomi kesten
Da se zgreje
I gleda u plamen.
Prvi sneg veje.
Pa ovako misli:
"Pao sam kao list pokisli...
Al' neću više!
Skočiću s' grane još pre kiše!
Pre snega!!!
Skotrljaću se sa brega i kao moj brat postaću divlji!
I ja sam za život življi.
A ne ovakav...
Guli me, kuvaj me, peci me, seci
Sve kobajagi na radost deci.
A gde sam ja?
E pa neću više!
Skotrljaću se tri puta sa brega pre snega i kiše
U inat sebi u inat svima
Obuću bodlje i svašta ću reći!"
Jer...
Kesten je pitomi k'o dobri ljudi.
Gazi ga, melji
Dok ne poludi.

Alen Batar

Životnom učitelju i mentoru,

prof. dr Vasiliju Isajevu

KOMISIJA ZA OCJENU I ODBRANU DOKTORSKE DISERTACIJE

Prof. dr Dalibor Ballian, redovni profesor
Šumarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu,
predsjednik komisije

Prof. dr Vasilije Isajev, redovni profesor u penziji
Šumarski fakultet, Univerzitet u Beogradu,
mentor

Prof. dr Milan Mataruga, redovni profesor
Šumarski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci,
komentor

Datum odbrane: _____

Informacije o mentoru i doktorskoj disertaciji

Mentor: Dr Vasilije Isajev, redovni profesor u penziji, Šumarski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Komentor: Dr Milan Mataruga, redovni profesor, Šumarski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci

Naziv doktorske disertacije: Genetički diverzitet i morfološko-pomološki varijabilitet populacija pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Bosni i Hercegovini

Rezime: Višetruki značaj pitomog kestena *Castanea sativa* Mill. proizilazi iz njegovog bioekološkog i privrednog potencijala. Upotrebna vrijednost ove vrste manifestuje se njegovim meliorativnim uticajem na ekološke faktore u šumama gdje se spontano javlja ili gdje se antropogeno gaji, svojstvima njegovog drveta, kao sirovine za drvoprerađivačku industriju; pomološkim značajem, čije korišćenje je usmjereno na podizanje namjenskih plantaža za proizvodnju sirovina za prehrambenu, farmaceutsku i hemijsku industriju. Polazeći od navedenih odlika pitomog kestena, u ovom disertacionom radu, planiranim istraživanjima i primjenom adekvatnih metoda rada, proučavan je dio ekološkog i genetskog diverziteta pitomog kestena, ukazano je na važnost kestenovih šuma za šumarstvo Bosne i Hercegovine i date su preporuke za usmjereno korišćenje ove vrste za potrebe šumarstva i voćarstva. Istraživanja su obavljena primjenom morfoloških, biohemijskih i genetičkih analiza na nivou selekcionisanih populacija i test stabala pitomog kestena sa teritorije Bosne i Hercegovine.Izvršena je karakterizacija šest prirodnih populacija koje se nalaze na različitim ekološko-vegetacijskim karakteristikama, na području Bužima, Kostajnice, Prijedora, Banjaluke, Bratunca i Konjica. Primjenom morfoloških markera utvrđena je individualna i međupopulaciona varijabilnost svojstava ploda i lista, gdje je multivarijantna diskriminantna analiza pokazala jasna odstupanja populacije Konjic i Banjaluka od ostalih istraživanih populacija. Klaster analizom za svojstva ploda utvrđena je geografska izdiferenciranost populacija. Genetička analiza je provedena pomoću 6 mikrosatelitnih markera. Analizom molekularne varijanse utvrđena je veća unutarpopulaciona varijabilnost u odnosu na genetičku varijabilnost između populacija. Sve populacije su u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži. Najmanja genetička distanca utvrđena je između populacije Konjic i Banjaluka. Upoznavanjem genetičkog diverziteta tj. strukture istraživanih prirodnih populacija pitomog kestena predstavlja značajan doprinos u obnovi i očuvanju postojećih populacija. Upoznavanjem varijabilnosti morfologije, kvaliteta i hemijskog sastava ploda predstavljaju važnu ulogu u budućim oplemenjivačkim programima kestena na kvalitativna svojstva ploda. Sprovedena istraživanja predstavljaju polazni korak unapređenja podizanja stabilnih i produktivnih šuma i plantaža pitomog kestena.

Ključne riječi: *Castanea sativa* Mill., SSR markeri, genetička struktura, morfologija, varijabilitet, klijavost, hemijski sastav ploda

Naučna oblast: Šumarska genetika i osnivanje šuma (sjemenarstvo, rasadničarstvo i pošumljavanje)[1]

Naučno polje: Šumarstvo[1]

Klasifikaciona oznaka: B430; B225

Tip odabrane licence Kreativne zajednice: CC BY-NC

[1] Na osnovu Odluke Senata Univerziteta u Banjoj Luci broj: 02/04-3.3610-110/15 od dana 26.11.2015. godine

The information about the mentor and the dissertation

Mentor: PhD Vasilije Isajev, full time professor, retired, Faculty of Forestry, University of Belgrade

Co-mentor: PhD Milan Mataruga, full time professor, Faculty of Forestry, University of Banjaluka

Title of doctoral dissertation: Genetic Diversity and morphological and pomological variability of chestnut population (*Castanea sativa* Mill.) in Bosnia and Herzegovina

Abstract: Multiple significance of the sweet chestnut *Castanea sativa* Mill. derives from its biological, ecological and economic potentials. The value of this species is manifested by its ameliorative effects on environmental factors in the forests where it occurs spontaneously or where it is grown as a raw material for the wood processing industry purposes; by its pomological significance, for establishing plantations designated to grow raw material for food, pharmaceutical and chemical industries. Starting from the above mentioned sweet chestnut properties and through planned research activities which deployed relevant methods, this dissertation paper argued genetic and ecological diversity of sweet chestnut, pointed out the importance of sweet chestnut forests in Bosnia and Herzegovina, provided guidelines for designated use of this species for forestry and fruit production purposes. Research activities included morphological, biochemical and genetic analyses on both levels, selected populations and sweet chestnut test trees growing in the Bosnia and Herzegovina territory.
Six natural population growing on various ecological and vegetation land properties were identified, within the areas of Bužim, Kostajnica, Prijedor, Banjaluka, Bratunac and Konjic. The application of morphological markers showed individual and interpopulational variability of fruit and leaf properties. Multiple discriminant analysis showed considerable deviations for Konjic and Banjaluka populations. Cluster analysis of fruit properties showed geographic population differentiation. Genetic analysis was performed by using six microsatellite markers. The analysis of molecular variance showed higher intrapopulation variability in regard to genetic variability between populations. All populations are found to be in Hardy-Weinberg equilibrium. The lowest genetic distance was observed between Konjic and Banjaluka populations. To have an understanding of genetic diversity is the structure of sweet chestnut natural populations is beneficial to restoration and conservation processes of existing populations. To have an understanding of morphology variability, as well of fruit chemical structure and quality is crucial for future programs of sweet chestnut breeding when it comes too qualitative fruit properties. The conducted research activities present initial steps in promoting stable and productive sweet chestnut forests and plantations.

Keywords*: Castanea sativa* Mill., SSR markers, genetic structure, morphology, variability, germination rate, chemical properties of fruit.

Scientific area: Forest genetics and planted forest (seeds since, seedling production and afforestation)

Scientific field: Forestry

Classification code: B430; B225

Creative Commons licence type: CC BY-NC

ZAHVALNICA

Izrada disertacije finansijski je podržana od strane Ministarstva nauke i tehnologije, Vlade Republike Srpske i ASP - Bayerisches Amt für forstliche Saat-und Pflanzenzuch, Teisendorf, Germany. Posebnu zahvalnost dugujem prof. dr Moniki Konnert, direktoru ASP i Barbari Fussi, šefu laboratorije za genetiku kao i osoblju ovog instituta. Zahvalna sam i na sradnji i podršci direktoru Instituta za genetičke resurse, Univerziteta u Banjoj Luci prof. dr Gordani Đurić.

Od same ideje i tokom cijelog procesa izrade disertacije imala sam veliku čast da učim od mog mentora prof. dr Vasilija Isajeva. Dugujem mu ogromnu zahvalnost za profesionalno, mudro i požrtvovano vođenje kroz postupak istraživanja uz nesebično prenošenje znanja i iskustva. Hvala za danonoćnu dostupnost, dragocjenu podršku, ljudske i stručne savjete, vjeru u mene i moj rad. Dragi profesore, hvala Vam na svemu.

Za nesebičnu posvećenost i savjete prilikom izrade disertacije zahvalnost dugujem i komentoru prof. dr Milanu Matarugi .

Veliko hvala prof. dr Daliboru Ballianu na vrhunskoj stručnoj pomoći, interesovanju i sugestijama koje su bile od velike koristi kao i za riječi ohrabrenja.

Zahvaljujem se rukovodstvu Šumarskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci na kolegijalnoj pomoći i podršci.

Želim da se zahvalim kolegama iz JP „Šume Republike Srpske“ a.d. Sokolac na tehničkoj podršci. Upravniku Područnice „Šumarija“ Cazin, dipl. ing. Ibrahimu Kapiću i dipl. ing. Voloder Fedži iz Konjica na pomoći pri terenskim istraživanjima i tehničkoj podršci.

Zahvaljujem se kolegi Branislavu Cvjetkoviću, ma, za kolegijalnost, nesebičnu podršku i pomoć koju ću uvijek pamtiti.

Zahvalnost dugujem dr Marijani Kapović Solomun za nesebičnu pomoć prilikom prikupljanja uzoraka na terenu i obradi pedoloških podataka kao i dipl. ing. Jovanu Jovi Travaru i dipl. ing. Đorđiji Milanoviću za prikupljanje i obradu fitocenoloških podataka.

Hvala dr Vladimiru Stuparu za svu ukazanu pomoć, razumjevanje i spremnost da pruži svoj kritički sud o radu ili bilo kojoj nedoumici.

Zahvaljujem se dr Jeleni Aleksić za uvođenje u bogati svijet molekularne genetike i za sve korisne sugestije pri obradi podataka dobijenih genetičkim analizama.

Hvala mojim koleginicama iz 15-ice prof. dr Ljiljani Došenović i mr Danijeli Petrović za sve razgovore i podršku, dijeljenje mudrosti i kolegijalnost.

Želim da se zahvalim pre svega mojim prijateljima i kolegama Božici Marić i Branislavu Višekruni za posvećenu pažnju, podsticanje i spremnost da pomognu u bilo kom trenutku.

Takođe, zahvaljujem se svim dragim kolegama i prijateljima koji su na bilo koji način pomogli u realizaciji ovog rada.

Suprugu Zoranu i sinovima Nikoli i Luki, nemam dovoljno pravih riječi da se zahvalim, ali oni znaju da su moje zvijezde vodilje, moja najveća snaga i moj život.

Vanja Daničić

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Cilj istraživanja 3
1.2. Rasprostranjenost i porijeklo pitomog kestena 5
1.2.1. Naziv pitomog kestena 7
1.3. Bioekološke karakteristike pitomog kestena 8
1.3.1. Sistematska pripadnost vrste 8
1.3.2. Biološke, morfološke i ekološke karakteristike pitomog kestena 10
1.3.3. Upotrebna vrijednost pitomog kestena 13
1.4. Pregled dosadašnjih istraživanja bio-ekološkog potencijala pitomog kestena 15
1.5. Genetičke metode u proučavanju varijabilnosti 23
1.6. Mikrosateliti kao molekularni markeri 27
2. OBJEKAT ISTRAŽIVANJA 29
2.1. Opšti podaci o objektu istraživanja 29
2.2. Klimatske karakteristike 33
2.2.1. Temperatura vazduha 35
2.2.2. Padavine 36
2.2.3. Karakterisanje klime pomoću koeficijenata 38
2.2.4. Klimatski elementi za godine istraživanja 43
2.3. Karakteristike zemljišta 48
2.3.1. Morfološke osobine zemljišta 48
2.3.2. Fizičke i hemijske osobine zemljišta 55
2.4. Fitocenološke karakteristike 59
3. METOD RADA 69
3.1. Terenska istraživanja 70
3.1.1. Selekcija stabala 70
3.1.2. Karakterisanje klime 74
3.1.3. Karakterisanje zemljišta 74
3.1.4. Fitocenološke karakteristike 74
3.1.5. Premjer taksacionih elemenata stabala pitomog kestena 75
3.1.6. Ocjena krošnje 75
3.1.7. Prikupljanje uzoraka lista 76
3.1.8. Prikupljanje uzoraka ploda 76
3.1.9. Prikupljanje uzoraka za DNK analizu 78
3.2. Laboratorijska istraživanja 79
3.2.1. Analiza zemljišta 79
3.2.2. Morfometrijska analiza lista 80
3.2.3. Pomološka analiza 82
3.2.4. Analiza klijavosti ploda 84
3.2.4.1. Direktni metod naklijavanja 84
3.2.4.2. Indirektni metod 86
3.2.5. Analiza nutritivnih vrijednosti ploda 87
3.2.6. Molekularno-genetička analiza 88

3.2.6.1. DNK izolacija ... 88
3.2.6.2. Genetička analiza ... 90
3.3. Obrada podataka ... 92
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA ... 97
4.1. Fenotipske karakteristike test stabala ... 97
4.2. Varijabilnost morfometrijskih svojstava listova i habitusa test stabala ... 100
4.2.1. Deskriptivna statistika svojstava listova ... 100
4.2.2. Analiza varijanse ... 111
4.2.3. Diskriminantna analiza ... 116
4.2.4. Klaster analiza ... 122
4.2.5. Ocjena habitusa ... 123
4.3. Varijabilnost morfometrijskih svojstava plodova test stabala ... 124
4.3.1. Deskriptivna statistika svojstava ploda ... 124
4.3.2. Analiza varijanse ... 142
4.3.3. Diskriminantna analiza ... 147
4.3.4. Klaster analiza ... 152
4.4. Hemijske analize ploda pitomog kestena ... 154
4.5. Varijabilnost kvaliteta ploda ... 159
4.5.1. Direktni metod ispitivanja klijavosti ... 159
4.5.2. Indirektni metod ispitivanja klijavosti ... 167
4.6. Analiza genetičke strukture i varijabilnosti ... 170
4.6.1. Alelna varijabilnost ... 170
4.6.2. Hardy-Weinbergova ravnoteža ... 175
4.6.3. Genetički usko grlo ... 180
4.6.4. Genetička diferencijacija populacija ... 181
4.6.5. Analiza molekularne varijanse (AMOVA) ... 184
4.6.6. Koordinatna analiza (Principal Coordinate Analisis-PCoA) ... 186
4.6.7. Genetska udaljenost ... 188
4.6.8. Mantel test ... 190
4.6.9. Analiza procjene genetičke strukture populacija ... 192
5. ZAKLJUČNA RAZMATRANJA ... 197
5.1. Dalji rad na oplemenjivanju pitomog kestena u Bosni i Hercegovini ... 201
6. ZAKLJUČCI ... 206
7. LITERATURA ... 211
8. PRILOG ... 239

1. UVOD

Pitomi kesten (*Castanea sativa Mill.*) i šume koje gradi u Evropi, predstavljaju svojevrstan fenomen jer se razlikuju od šuma drugih vrsta drveća po svom bioekološkom i proizvodnom potencijalu i meliorativnim osobinama (CONEDERA ET AL. 2004). Sastojine pitomog kestena, su prava prirodna blagodet za stanovnike pojedinih područja, kako zbog upotrebne vrijednosti drveta, tako i zbog značaja njegovog ploda za humanu i animalnu ishranu. Međutim, ova vrsta, u odnosu na vrste hrastova (rod *Quercus* L.), znatno manje je predmet uzgojnih i eksplotacionih aktivnosti u šumarstvu, što je posljedica relativno malog udijela šuma pitomog kestena u šumskom fondu Evrope. Bez obzira na to, što je trenutno komercijalni doprinos pitomog kestena u šumarskoj privredi skroman, biološki potencijal ove vrste, i time njen značaj za humanu populaciju uslovio je da se i dalje sprovedu brojne analize njenog potencijala od značaja je za višenamjensku upotrebu.

Više od jednog vijeka u domaćim i inostranim istraživanjima proučavaju se bioekološka svojstva pitomog kestena - taksonomske karakteristike, rast i razvoj stabala i sastojina, produktivnost, individualna i grupna varijabilnost kvantitativnih i kvalitativnih svojstava vegetativnih i generativnih organa, adaptivnost, kao i tolerantnost na bolesti i dr. i obavljaju se biocenološke analize šumskih zajednica u kojima se on spontano javlja. Međutim, u domaćoj naučnoj i stručnoj literaturi vrlo je malo podataka o pitomom kestenu kao pomološkoj vrsti, što je neprihvatljivo, s obzirom na njegovu potencijalnu vrijednost i značaj za humanu i animalnu ishranu.

Pitomi kesten (*Castanea sativa Mill.*) ima višestruki značaj za privredu Republike Srpske. On je ekonomski značajna vrsta drveta šuma Bosne i Hercegovine, čije plansko gajenje u vještačkim populacijama i sprovođenje adekvatnih mjera njege i zaštite u prirodnim populacijama treba da bude permanentna aktivnost šumarske struke. U pojedinim krajevima Bosne i Hercegovine, na lokalitetima koji se karakterišu, veoma različitim ekološkim uslovima, pitomi kesten pokazuje izraženu adaptivnost i proizvodnost. Bez obzira na navedene odlike pitomog kestena, prisutni su, brojni uzroci koji su uslovili da se zajednice pitomog kestena smanjuju, i da se on potiskuje iz naših šuma. Neadekvatno gazdovanje šumama pitomog kestena uslovilo je da su one u lošem stanju, da njihova proizvodnost opada i da se one sve više suše usljed širenja, gljive – *Cryphonectria parasitica* (Murrill Barr), uzročnika raka kestenove kore.

Od sredine XX vijeka, prvi put zabilježena 1938. godine u Italiji, šume pitomog kestena u Evropi doživljavaju pravu prirodnu katastrofu (HALAMBEK 1988). Sušenje kestenovih stabala i propadanje kestenovih sastojina uslijed pojave bolesti raka kore kestenovih stabala, činilo se nezaustavljivim. Agresivni patogen kestena *Cryphonectria parasitica* (Murr. Barr), uzrokuje brzo odumiranje kore stabala kestena, time i njihovo sušenje. Šumari širom Evrope bili su nemoćni svjedoci brzog nestajanja pitomog kestena i pored svih nastojanja da se bolest suzbije. Za šumarsku privredu pitomi kesten je bio praktično izgubljen.

U vrijeme naglog razvoja tehnologije prerade drveta, nastanka novih materijala i širenja njihove upotrebljivosti, mnogi tradicionalni načini korišćenja drveta pitomog kestena su nestajali. U toku borbe za opstanak i nestajanja sastojina pitomog kestena, prerađivači drveta se preorijentišu na korišćenje drugih vrsta drveta, a tržište drvnih proizvoda postepeno „zaboravlja“ kesten, čime on još više gubi na značaju. Velike površine šumskog zemljišta, koje su nekad pokrivale sastojine pitomog kestena su pošumljene drugim vrstama drveća, a većina ostalih sastojina je privredno zapuštena. Unapređenjem načina gazdovanja sastojinama pitomog kestena gotovo da se niko ne bavi, jer se čini besmislenim. Ostala je samo nada da će se kesten očuvati i održati, bar kao biološka vrsta. Nova pojava, bolest samog patogena, uzrokovana virusnom zarazom, zaustavila je propadanje kestenovih sastojina. Opadanje vitalnosti patogena *C. parasitica*, nazvana je hipovirulencija, uzrokuje sporo napredovanje bolesti na stablima kestena, čime ona dobijaju potrebno vrijeme za reakciju - kalusiranje i zatvaranje rana. Konstatovano širenje i napredovanje hipovirulencije u populaciji patogena pružilo je nadu šumarima da će pitomi kesten ipak opstati. Pojava hipovirulencije je ukazala na mogućnost biokontrole ove opasne parazitne gljive. Svi navedeni problemi imali su za posljedicu smanjenje areala pitomog kestena i sužavanje njegovog genetskog diverziteta.

Genetska raznolikost, jedan je od najvažnijih preduslova za adaptivni potencijal šumskih vrsta drveća u promjenljivim uslovima sredine. Primjenom opštih principa šumarske genetike, (ERIKSSON 2001, 2004, VILLANI I ERIKSSON 2006), proučavanje, očuvanje i usmjereno korišćenje genofonda pitomog kestena bazirano je na analizama njegove postojeće varijabilnosti, kao i na uzrocima i opsegu variranja kvantitativnih i kvalitativnih svojstava ove vrste.

Proučavanje i unapređenje usmjerenog korišćenja bioekološkog potencijala pitomog kestena, dijelom je realizovano u ovoj tezi. Obavljena istraživanja su neophodna, kako sa naučnog aspekta - u aktivnostima na izradi mreže banke gena drveća Evrope i očuvanja i usmjerenog korišćenja genofonda ove vrste metodama *in situ* i *ex situ* konzervacije tako i sa privrednog aspekta.

Višestruki značaj pitomog kestena proizilazi iz njegovog bioekološkog potencijala, koji i determiniše:

- njegov meliorativni uticaj na ekološke faktore u šumama gdje se spontano javlja ili gdje se antropogeno gaji;
- upotrebnu vrijednost njegovog drveta kao sirovine za drvoprerađivačku industriju;
- posjedovanje pomološkog značaja, čije korišćenje je usmjereno na podizanje namjenskih plantaža za proizvodnju sirovina za prehrambenu, farmaceutsku i hemijsku industriju;
- potrebu za očuvanje njegovog biodiverziteta za šta je pokazan interes u zemljama u okruženju;

Polazeći od navedenih odlika pitomog kestena, u ovom disertacionom radu, planiranim istraživanjima i primjenom adekvatnih metoda rada, proučavan je dio ekološkog i genetskog diverziteta pitomog kestena, ukazano je na važnost kestenovih šuma za šumarstvo Bosne i Hercegovine i date su preporuke za usmjereno korišćenje ove vrste za potrebe šumarstva i voćarstva. Istraživanja su obavljena primjenom morfoloških, biohemijskih i genetičkih analiza na nivou selekcionisanih populacija i individua pitomog kestena sa teritorije Bosne i Hercegovine.

1.1. CILJ ISTRAŽIVANJA

Značaj očuvanja i usmjerenog korišćenja potencijala pitomog kestena za potrebe šumarstva i poljoprivrede odredio je ciljeve istraživanja u ovim višegodišnjim aktivnostima. Bliže upoznavanje biodiverziteta pitomog kestena, na ekološkom i genetičkom nivou, u populacijama na prostoru Bosne i Hercegovine, realizovano je kroz niz sukcesivnih i povezanih istraživanja koja su obuhvatila sljedeće aktivnosti.

- Primjenom metoda tipologije šume, obavljene su analize stanišnih uslova - klimatskih, orografskih, pedoloških i fitocenoloških karakteristika prirodnih sastojina u kojim se nalaze populacije pitomog kestena u Bosni i Hercegovini.
- Analizama inter- i intra- populacione varijabilnosti pitomog kestena, primjenom genetičkih - molekularnih markera; DNK markera, precizirani su: individualni i grupni genetski diverzitet ove vrste. U istraživanjima je, poseban akcenat dat primjeni molekularnih markera, kao savremenih metoda istraživanja uzroka, opsega i značaja variranja svojstava, jer su oni, znatno manje pod uticajem ekoloških faktora, za razliku od morfoloških markera.
- Proučavanjem varijabilnosti morfoloških svojstava vegetativnih – list i generativnih organa pitomog kestena - plod, utvrđene su granice varijacija, i vrijednosti statističkih parametara

(srednje vrijednosti, standardne devijacije, varijacioni koeficijenti) i obavljene su korelacione analize uticaja ekoloških činilaca na veličinu varijacija analiziranih svojstava.

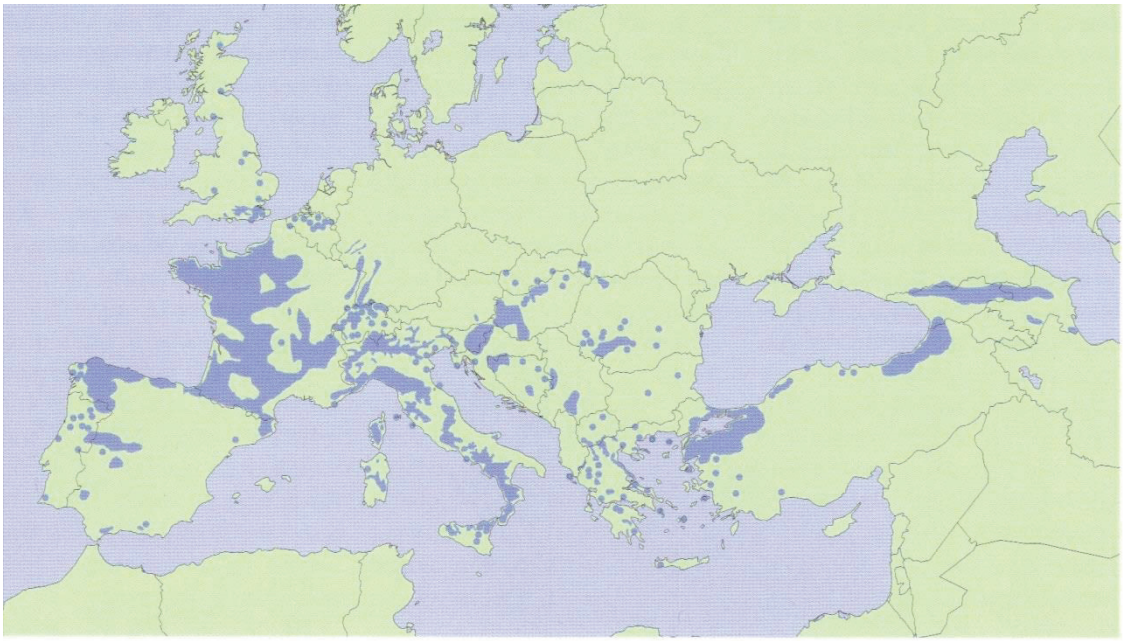
- Proučavanjima molekularnog i morfološkog diverziteta upoznata je i precizirana korelacija između genetičke i geografske distance analiziranih populacija.
- Putem analiza pomoloških karakteristika plodova pitomog kestena, i njihove veze sa prethodnim rezultatima istraživanja daje se doprinos budućem osnivanju namjenskih plantaža ove vrste za proizvodnju plodova.

Dobijeni rezultati su osnova za realizaciju ciljeva u pravcu daljeg razvoja i primjene programa oplemenjivanja pitomog kestena. Testiranjem populacija pitomog kestena iz različitih ekoloških područja na prostoru Bosne i Hercegovine stvorena je osnova za preciziranje hipoteza:

- postojanja unutarpopulacione i međupopulacione varijabilnosti pitomog kestena na nivou morfoloških markera;
- prirode molekularne osnove genetske raznovrsnosti;
- postojanje unutarpopulacione i međupopulacione varijabilnosti pitomog kestena na nivou molekularnih markera;
- postojanja korelacija morfoloških i molekularnih obilježja između jedinki pitomog kestena unutar selekcionisanih populacija, kao i varijabilnost između populacija;
- prijedloga provinijencija pitomog kestena, koje svojim genetskim potencijalom odgovaraju ekološkim odlikama lokacija gdje se planira osnivanje namjenskih plantaža ove vrste;
- izbora provinijencija pitomog kestena za osnivanje plantaža na određenim staništima;
- opravdanosti podizanja namjenskih plantaža ove vrste usmjerenim korišćenjem genetskog potencijala analiziranih populacija pitomog kestena.

1.2. RASPROSTRANJENOST I PORIJEKLO PITOMOG KESTENA

Rezultati do sada obavljenih istraživanja, ne ukazuju sa sigurnošću na to koje je prvobitno područje odakle se proširio pitomi kesten na prostore današnjeg areala. Neki autori navode da se Bliski istok može smatrati kao područje odakle on potiče i da je na osnovu obavljenih fito-istorijskih istraživanja utvrđeno da evropski pitomi kesten pripada elementima tercijarne flore (FERRINI I NICESE 1999). Smatra se da je domovina pitomog kestena Mala Azija, odakle je još u V vijeku p.n.e. prenesen u Europu, prvo u Grčku, Italiju i Španiju. Za širenje ove vrste duž Mediteranske regije, kao i u zemlje centralne Europe (Njemačka, Francuska, Švicarska, Austrija, Mađarska i druge) mnogo su doprinjeli Rimljani (HUNTLEY I BIRKS 1983). Danas je ova vrsta rasprostranjena od Španije i Francuske preko Italije, Balkanskog poluostrva i Male Azije, sve do Kaspijskog mora (slika 1).



Slika 1. Areal pitomog kestena (FERNÁNDEZ-LOPEZ I ALIA 2003)

Prema JOVANOVIĆ-u 1991.do kraja tercijera pitomi kesten bio je rasprostranjen u cijeloj Evropi, ne vjeruje se da je preživio glacijaciju u predjelima sjevernije od Alpi, ovdje je on migrirao poslije glacijacije ili je donijet. HORVAT ET AL. 1974. navode da je ova vrsta zapadni dio Balkanskog poluostrva naselila u predborealu, za vrijeme borove faze.

Prema HUNTLEY I BIRKS (1983) prvi fosilni postglacijalni podaci o ovoj vrsti su pronađeni u Španiji i Grčkoj prije 9.000 godina, dok se prema fosilnim podacima iz tercijara, javlja i u području Skandinavije, što upućuje da je toplija klima dopustila širenje ove vrste i na

sjever Evrope. U istom periodu, pitomi kesten se javlja i na područjima Francuske, Italije, bivše Jugoslavije, Austrije i Mađarske (KONSTANTINIDIS ET AL. 2008). Osim u Evropi, pitomi kesten rasprostranjen je i na Sjevernoameričkom i Azijskom kontinentu, iz čega proizilaze i četiri komercijalno najvažnije vrste: američki, evropski, japanski i kineski kesten. U Aziji je japanski kesten kultivisan od XI vijeka, a kineski kesten vjerovatno još 6.000 godina prije (VOSSEN, 2000). U Ameriku je prenesen u XVIII vijeku, a raste i u sjevernim i u zapadnim dijelovima Afrike, u Maloj Aziji, na jugu Kavkaza i u Perziji. Danas je najviše rasprostranjen u Evropi, kao samoniklo šumsko drvo ili kao kultivisana vrsta, te se pretpostavlja da je kesten autohton u Evropi (MURATOVIĆ ET AL. 1999).

Prema SUČIĆU (1953a) u Bosni i Hercegovini postoje tri značajna lokaliteta pitomog kestena. Prvi je na prostoru sjeverozapadne Bosne od Une do granice sa Hrvatskom, na zapadnim obroncima planine Kozare, Prosare i Motajice. Drugi značajan lokalitet je u istočnoj Bosni između Srebrenice, Bratunca i rudnika Sase. Treći je hercegovački lokalitet gdje se kesten javlja na južnim padinama Bitovine, kod Konjica, Jablanice, Jablaničkog jezera i doline Rame. Manje grupe stabala u Hercegovini zabilježene su kod Prozora, Mostara, Lištice i Trebinja, a u Bosni kod Prijedora, Sanskog Mosta, Banja Luke, Kotor Varoši, Ključa, Prnjavora, Tešnja, Žepča, Dervente, Gradačca, Sebrenika, Tuzle, Zvornika, Rudog, Čajniča, Goražda i Foče. Smatra se da je ovo područje prirodnih populacija pitomog kestena u Bosni i Hercegovini, dio linije rasprostranjenja evropskog pitomog kestena, koja ide od Španije i Francuske, preko Italije, Balkanskog poluostrva i Male Azije sve do Kaspijskog mora (BUBIĆ 1977).

SUČIĆ (1953a) smatra da je areal pitomog kestena u sjeverozapadnoj Bosni nastavak prirodnog areala u Hrvatskoj i Sloveniji te da je autohton i u sjevernoj Hercegovini dok je srebrenički areal rezultat širenja ove vrste od strane Rimljana. Prema HORVATU (1938), sredozemni florni elementi, među koje spada i pitomi kesten preživjeli su period glacijala u ledenom dobu zahvaljujući toplim ljetima na obalama panonske nizije na ovim prostorima, te po njemu znači da je pitomi kesten na područjima sjeverozapadne Bosne autohtona vrsta. WRABER 1958, pominjući Sučićevo istraživanje, smatra da je čak i srebrenički areal vjerovatno prirodan.

1.2.1. Naziv pitomog kestena

Prema GLIŠIĆ-u (1969), najstariji istorijski pomeni o kestenu potiču iz III vijeka pre Hrista i to iz grčkih izvora. Prema HADROVIĆU (1981) u staroj Jeladi (Grčkoj) plod kestena su nazivali *"Dios balanos"* - žir bogova ili *"Kastanaikonkarion"* - kestenov orah, drvo kestena *"Kastanon"*. Stari Latini (Rimljani) su naziv kestena preuzeli od Jelina (Grka), pa se u latinskoj transkripciji javlja pod imenom "*Castanea*", a budući se korijen ove riječi nalazi u svim evropskim jezicima. Iz latinskog jezika ovaj naziv je ušao transkripcijom u sve ostale jezike. Kod naših naroda Stefanović - Karadžić 1827. godine ga naziva kesten ili kostanj dok Pančić 1987. godine upotrebljava naziv kesten za drvo, a za plod koštanj. U zemljama ex Jugoslavije preovladavaju sljedeći nazivi: u Srbiji, BiH – kesten; u južnim dijelovima Srbije, Kosovu i Metohiji i Crnoj Gori - koštanj; u Makedoniji - kosten; u Dalmaciji, Hrvatskom primorju i Istri - maroni; i u Sloveniji - kostanj. Nazivi za pitomi kesten u drugim jezicima su sljedeći: ruski jezik - kašten, češki – kaštan, italijanski – Castagno, španski – castano, rumunski – castan, engleski – chestnut, njemački – Kastanie, Edelkastanie, holandski – kastanje-boom, grčki – kastanon, albanski – geshtenje, turski – kestane agaći itd. Iz ovog pregleda se vidi, da kod svih imena za pitomi kesten ima skoro isti korijen riječi, što dovodi do zaključka da svi ovi nazivi vode zajedničko porijeklo (GLIŠIĆ 1969). Naziv pitomi kesten ukazuje na to da ga se diferencijalno ne smatra u potpunosti šumskom voćkaricom i divljim voćem, već da je uzgajan i kao pitomo voće. U srednjevjekovnoj staroj slovenskoj književnosti plod pitomog kesten spominje se pod imenom grünes, slatki kruševac, što ukazuje na to da se koristio za pravljenje hljeba. Smatra se da je latinski naziv transkribiran iz aranskog jezika, jer mu je pradomovina prednja Azija, područje Kavkaza, zemlja Kolhida (ZELIĆ 1998).

1.3. BIOEKOLOŠKE KARAKTERISTIKE PITOMOG KESTENA

1.3.1. Sistematska pripadnost vrste

U tabeli 1. je prikazana pripadnost pitomog kestena u sistematici biljaka prema TAKHTAJAN-*u* (1987).

Tabela 1. Sistematska pripadnost *Castanea sativa* Mill.

ODJELJAK	*Spermatophyta* (sjemenjače)
PODODJELJAK	*Magnoliophytina* (*Angiospermae*, skrivenosjemenjače)
RAZRED	*Magnoliatae (Dicotyledoneae*, dikotile)
PODRAZRED	*Hamamelididae (Amentiferae*)
RED	*Fagales*
PORODICA/FAMILIJA	*Fagaceae*
ROD	*Castanea*

RUTTER ET AL. 1991 dijele rod *Castanea* Mill. na tri sekcije (*Eucastanon, Balanocastanon* i *Hypocastanon*) i sedam vrsta koji su prikazani u tabeli 2.

Tabela 2. Vrste i porijeklo kestena

SEKCIJE I VRSTE		BROJ HROMOZOMA U TJELESNM ĆELIJAMA	PORIJEKLO
LATINSKI NAZIV	**DOMAĆI NAZIV**		
SEKCIJA EUCASTANON			
Castanea mollisima Blume	KINESKI KESTEN	24	KINA, KOREJA
Castanea crenata Sieb.et Zucc	JAPANSKI KESEN	24	JAPAN, KOREJA, SJEVEROISTOČNA KINA
*Castanea sati*va Mill.	EVROPSKI (PITOMI) KESTEN	24	JUŽNA EVROPA, MALA AZIJA
Castanea dentate Borkh.	OBIČNI AMERIČKI KESTEN	24	ISTOČNI DIO SJEVERNE AMERIKE
Castanea seguinii Dodde	SEGVINIJEV KESTEN	24	KINA
SEKCIJA BALANOCASTANON			
Castanea pumila Mill.	MALI AMERIČKI KESTEN	24	JUGOISTOČNI DIO SAD
SEKCIJA HYPOCASTANON			
Castanea henryi Rehd. et Wils.	HENRIJEV KESTEN	24	JUGOZAPADNA KINA

Rod *Castanea* obuhvata 5-10 vrsta, čija je rasprostranjenost zabilježena u područjima jugoistočnog dijela Sjeverne Amerike, južne Evope, sjeverozapadne Afrike te zapadne i istočne Azije (FERNANDEZ-LOPEZ I ALIA 2003). Rod *Castanea* Mill. pripada familiji *Fagaceae,*

u koju spadaju i rodovi *Quercus* i *Fagus,* a obuhvata sedam ekonomski i ekološki značajnih vrsta drveća koje su široko rasprostranjene u umjerenom pojasu sjeverne hemisfere (JOHNSON 1988, DANE ET AL. 2003, LANG ET AL. 2006, WANG ET AL. 2008). Prema MENCARELLI (2001) prikazane su botaničke vrste kestena u tabeli 3. Naziv roda *Castanea* L. je po Kastanei-u, gradu na istočnoj obali Tesalijske Magnezije u Grčkoj (CVJETIĆANIN ET AL. 2016).

Tabela 3. Botaničke vrste kestena (FAO CORPORATE DOCUMENT REPOSITORY, MENCARELLI 2001)

VRSTE		
EVROPSKE	**AZIJSKE**	**AMERIČKE**
Castanea sativa (EVROPSKI PITOMI KESTEN)	*C. crenata* (JAPANSKI KESTEN)	*C. dentata* (ISTOČNE DRŽAVE)
	C. mollissima (KINESKI KESTEN)	*C. pumila* (ISTOČNE DRŽAVE)
	C. seguinii (KINA)	*C. ashei* (JUŽNE DRŽAVE)
	C. davidii (KINA)	*C. floridana* (JUŽNE DRŽAVE)
	C. henryl (KINA)	*C. alnifolia* (JUŽNE DRŽAVE)
		C. paupisina (JUŽNE DRŽAVE)

1.3.2. Biološke, morfološke i ekološke karakteristike pitomog kestena

Prema JOVANOVIĆ (2001) pitomi kesten je listopadno drvo visine 20-30 m (-40) m sa znatnim prsnim prečnikom i jako razgranatom krošnjom. Kesten ima duboko korijenje koje u početku ima žilu srčanicu od koje se kasnije razviju i duboke žile. Kora je u mladosti maslinastosmeđa, glatka (slika 2), kasnije uzdužno puca, prelazeći u plutu (slika 3).

Pupoljci su kod kestena spiralno raspoređeni. Terminalni pupoljak je okruglasto-jajast, više ušiljen i veći od postranih koji su jajoliki i sa zatupastim vrhom. Boja im je crvenkastosmeđa, pokrivena su zaštitnim ljuspama koje su dosta krupne, gole i sjajne (slika 4).

Listovi se javljaju početkom maja (a cvijet u junu, na novom izbojku), ranije na izdancima. List je jajasto-lancetast, bodljasto zašiljen sa sabljasto savijenim zubićim, po ivici oštro nazubljen, kožasto jedar. Listovi se nalaze na grančicama naizmjenično raspoređeni. Baza liske je nekad ovalna (kod većih širina), ali kod uskog lišća je klinasta ili kopljasta. Nervatura je perasta, sredinom lista je razvijen glavni nerv od koga se na obe strane šire prostrani nervi. Listovi su sa gornje strane tamni ili sjajni, zelene boje. Naličje lista je blijedozelene boje i nekad je obrasla dlačicama (SUČIĆ 1969).

Počinje plodonositi od 20-30 godine; iz izdanka čak i u 6. godini, a u sastojinama između 40-50 godine. Cvijet se javlja poslije listanja u junu, dosta kasno. Ženski cvjetovi su malobrojni, sakupljeni su u grupicama od 3-7, smješteni pri dnu resa odnosno muških cvjetova-resa (slika 5). Oni su u početku zaštićeni zelenim ljuskavim omotačem od koga će se poslije razviti bodljikavi omotač-jež (slika 6).

Plod-ahenija, sa kožastom ljuspom, široko ovalna sa zašiljenim vrhom. Obično se u kupoli nalaze tri ploda, rijetko više ili manje, koji sazrevaju krajem oktobra (slika 7). Plod pitomog kestena sastoji se od jezgre (mezokarpa), sjemenjače (epiderma), sjemenke i ljuske (perikarpa). Oblik ploda je vrlo promjenljivog izgleda i dimenzija. Naročito je srednji plod ravnih strana uslijed postranog pritiska vanjskih plodova. Veličina ploda u najvećem stepenu zavisi od inteziteta toplote, od stepena vlažnosti vazduha i zemljišta, od fizičkog i hemijskog sastava zemljišta itd. Plod kestena je vrlo važan za proučavanje sorti i tipova pitomog kestena. Plod kestena podnosi niske temperature, jer jezgra ima samo 40% vode koja je zaštićena ljuskom (MUJIĆ ET AL. 2006).

Kesten je vrsta koja traži toplije položaje te dublja i umjereno svježa zemljišta, a izbjegava suva te hladna i maglovita staništa (ANIĆ 1940, 1942).

Prema JOVANOVIĆ-u (1991), kestenu je za uspijevanje potrebna blaga klima gdje uspijevaju vinova loza i pitome voćke, gdje je dug vegetacioni period, blagu jesen za sazrijevanje plodova i gdje nema poznih proljećnih mrazeva niti ranih jesenjih. Raste na veoma kiselim zemljištima, na gnajsu, granitu, porfiru, pješčaru i flišu.

Pitomi kesten je jedričava prstenasto-porozna vrsta. Bjeljika je prljavo bijela do žućkastobijela i uska. Srčevina je svjetlosmeđa do tamnosmeđa. Prstenovi prirasta su markantni. Traheje su prstenasto raspoređene u prstenovima prirasta. Trake drveta su niske i uske, nevidjive golim okom na poprečnim i uzdužnim presjecima drveta. U hemijskom pogledu drvo kestena sadrži 28,8-34,7% lignina, 42-52,6% celuloze i 16,7%-19,7% pentozana. Kesten se lako cijepa i pod vodom je veoma trajno drvo. Prirodna trajnost je od 8 do 12 godina, a toplotna moć industrijski suvog drveta je oko 14.000 kJ/kg (POPOVIĆ I TODOROVIĆ 2007).

Slika 2. Kora mladog stabla (orig. 2012)

Slika 3. Kora starog stabla (orig. 2012)

Slika 4. Zimska grančica (orig. 2014)

Slika 5. Muški i ženski cvjetovi (orig. 2012)

Slika 6. Bodljikavi omotač (orig. 2013)

Slika 7. Plod (orig. 2012)

1.3.3. Upotrebna vrijednost pitomog kestena

Pitomi kesten ima veoma širok spektar upotrebe. Pokazuje niz povoljnih osobina od kojih će biti navedene samo neke od njih.

U prošlosti pitomi kesten uzgajan je ponajprije za prehranu plodom, kao medonosna i ljekovita biljka, a sekundarno su korišćeni drugi dijelovi stabla: drvo, lišće, kora i liko. Plod pitomog kestena ima visoku hranljivu vrijednost, sadrži vitamine i minerale, skrob, šećere, masti, bjelančevine, organske kiseline i celulozu, od čega skrob, šećer, bjelančevine i masti sadrže 80% od mase ploda. Zbog visoke hranljive vrijednosti upotrebljava se za oporavak bolesnika rekovalescenata. Koristi se u ishrani domaćih životinja i divljači. U novije vrijeme koristi se za brzi tov teladi u kombinaciji sa mlijekom i na taj način dobija najkvalitetnije meso (*baby beef*). Rado ga upotrebljavaju u pekarskoj proizvodnji hljeba i proizvodnji poslastica (kesten pire). U tabeli 4. prikazani su najveći proizvođači plodova pitomog kestena u Evropi, dok u tabeli 5. prikazana je produkcija u Aziji (www.faostat).

Tabela 4. Proizvodnja ploda pitomog kestena u Evropi (www.faostat)

DRŽAVA	PLOD (t)				
	2010	**2011**	**2012**	**2013**	**2014**
BOSNA I HERCEGOVINA	1000	1000	1000	1100	1111
BUGARSKA	39	37	37	439	410
FRANCUSKA	9376	7036	8581	9200	8668
GRČKA	20900	21500	28700	27800	28440
MAĐARSKA	280	256	330	270	300
ITALIJA	48810	50134	52000	55086	51959
PORTUGAL	22350	18271	19100	24739	18465
SLOVENIJA	38	13	7	5	17
ŠPANIJA	10000	10000	10000	17200	16136

Tabela 5. Proizvodnja ploda pitomog kestena u Aziji (www.faostat)

DRŽAVA	PLOD (t)				
	2010	**2011**	**2012**	**2013**	**2014**
AZARBEJDŽAN	816	803	793	817	756
KINA	1620000	1600000	1650000	1719410	1683815
JAPAN	23500	19100	20900	21000	21400
REPUBLIKA KOREJA	68630	64586	70000	64184	56551
TURSKA	59171	60270	59789	60019	63762

Zbog relativno kasnog cvjetanja, početkom ljeta, a poslije cvjetanja drugog voća, koristi se za ispašu pčela i proizvodnju specifičnog meda, nektra i polena. Zbog visokog sadržaja tanina, pektina, fitosterina, flobofena, K-vitamina u listu kestena koristi se u farmaceutskoj industriji za dobijanje lijekova. List kestena koristi se za ishranu stoke, ali i kao stelja. Zbog povoljnih tehničkih i tehnoloških svojstava, drvo pitomog kestena služilo je za mnoge potrebe u prošlosti a i danas. U poljoprivredi rado se, zbog lake obrade i trajnosti, upotrebljava za vinogradarsko kolje i kao stupovlje u hmeljarnicima.

Zbog lake cjepljivosti i obrade te trajnosti, koristi se u zanatstvu za izradu galanterije, u tokarstvu, kolarstvu i stolarstvu, te bačvarstvu za izradu bačvi i posuda za čuvanje piva i vina. U prošlosti su ga rado koristili za izradu bačvi u vinorodnim i hmeljskim krajevima Evrope, to je bio dodatni razlog za vještačko podizanje kestena od vremena Rimljana pa do danas. Vino u takvim bačvama dobija poseban buke. Danas se za izradu bačvi koristi hrast kitnjak. Za istu namjenu i krajnji rezultat, drvo pitomog kestena bilo bi ekonomičnije.

U građevinarstvu se upotrebljava za podove i parkete, za drvene konstrukcije, mostove, skele, krovnu građu, te kao rudničko i tunelsko drvo. Upotrebljava se za izradu električnih i telefonskih stubova, željezničke pragove, u brodogradnji za šipove, u drvnoj industriji za građu, gredice, panel-ploče, šperploče i iverice. Površina drveta pitomog kestena je lijepe strukture, svjetlosmeđe boje pa se upotrebljava za furnirske listove. U hemijskoj industriji služi za dobijanje tanina, celuloze i papira. Zbog lijepog habitusa, drva, cvijeta i ploda koristi se kao dekorativna i parkovska hortikulturna vrsta (ZELIĆ 1998).

1.4. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA BIO-EKOLOŠKOG POTENCIJALA PITOMOG KESTENA

Postglacijalna rasprostanjenost pitomog kestena na Bliskom Istoku i u basenu Meridijana podudarala se sa oblastima u kojima su se razvijale i civilizacije Stare ere, tako da su vrijednosti ove vrste za potrebe humane populacije rano upoznate i korišćene kako, u izradi proizvoda na bazi drveta, tako i u ishrani. Višestruki značaj ove vrste za humanu populaciju vremenom je uslovio i rast interesovanja za njene opšte osobine, kako bi se unaprijedilo korišćenje ove vrste i po kvantitetu i kvalitetu proizvoda. U ranim fazama nesvjesnog oplemenjivanja pitomog kestena, kada je dubina poznavanja osnovnih mehanizama usmjerene promijenljivosti bila veoma mala, obavljala se samo selekcija najboljih individua, a selekcioni kriterijumi su određivani prema kvantitetu i kvalitetu proizvedene drvne mase i rodnosti. Početna proučavanja bio-ekoloških svojstava pitomog kestena odnose se na njegovu postglacijalnu distribuciju, morfološke karakteristike njegovih vegetativnih i generativnih organa, horološke odlike, kao i fitoekološke karakteristike zajednice koje on gradi i u kojima se on spontano javlja. Razvojem genetike i fiziologije biljaka u XX vijeku i sintetskog oplemenjivanja biljaka, primjenom novih metoda analiza genetskog potencijala individua i genofonda populacija – biohemijskim i molekularnim markerima, i novih programa u statističkim obradama dobijenih podataka, znatno je unaprijeđeno usmjereno korišćenje potencijala ove vrste osnivanjem plantaža za proizvodnju drvene mase i (ili) plodova za potrebe prehrambene i farmaceutske industrije.

Fosilni ostaci ukazuju na to da se familija *Fagaceae* pojavila na prelazu između mezozoika i tercijara. Fosilni ostaci izumrlog roda *Dryophyllum* Deby koji je pripadao ovoj familiji otkriveni su početkom krede (JONES 1986). Prema filogenetskim istraživanjima MANOS I STEELE (1997) diferencijacija rodova familije *Fagaceae* je bila veoma brza i to sredinom tercijara. Prvo se odvojio rod *Fagus*, a do razdvajanja rodova *Quercus* i *Castanea* došlo je prije oko 60 miliona godina. Osvajanje vrsta unutar ovih rodova odvijalo se od pre 22 do 3 miliona godina. BOUNOUS (2002) pojavu roda *Castanea* vezuju za kraj miocena, pre oko 15 miliona godina u vrijeme širenja *Cupiliferae.*

Prema БАХТЕЕВ (1970), Харьюзова 1936, godine navodi da je direkni predak *Castanea sativa* je fosilna vrsta *Castanea kubinyi* Kov., koja se tokom tercijara prostirala od Iberijskog poluostrva do krajnjih dijelova Azije. U današnje vrijeme savremena sistematika dvije fosilne vrste, *Castanea kubinyi* i *Castanea ungeri*, smatra za *Castanea satavia Ung*., a ova vrsta je predak *Castanea sativa* (Гожева 1955 citat БАХТЕЕВ 1970).

Pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill.) je tercijarni relikt i jedina je autohtona vrsta iz roda *Castanea* u Evropi. Prema JOVANOVIĆU (2001) do nastupanja ledenog doba bio je rasprostranjen širom Evrope. Ni do dan danas se ne zna koje je zapravo prvobitno područje odakle se proširio pitomi kesten. Prema BENNETT ET AL. (1991), HEWITT (1996), TABERLET ET AL. (1998), FINESCHI ET AL. (2000) istorija kestena poslije zadnjeg ledenog doba nije u potpunosti jasna, iako je navjerovatnije da je pitomi kesten preživio posljednju glacijaciju i nastanio se na Mediteranu kao i ostale evropske vrste drveća. Takođe, prema KREBS ET AL. (2004) *Castanea sativa* najvjerovatnije preživio ledeno doba iz perioda prošle glacijacije u Evropi u šest regija koje se prostiru na mikro-ekološki povoljnim staništima: južnoj obali Crnog mora, Balkanskog poluostrva, južnoj i centralnoj Italiji, između Tirenske obale i Apeninskog grebena do Francuske Isère, brda pred-Alpi istočno od Lago di Garda na području sjevernog Iberia.

Prema SKENDER (2010) autori Ferrini i Nicese (1999) slažu se da se srednji istok može označiti kao područje odakle potiče pitomi kesten. Mišljenja da pitomi kesten potiče iz Azije su ZOHARY I HOPF (1988).

Na osnovu fosilne analize polena prema HUNTLEY I BIRKS (1983), prvi post-glacijalni ostaci pitomog kestena nađeni su u Španiji i Grčkoj pre 9.000 godina. Fosilni ostaci iz tercijarnog perioda prikazali su prisustvo pitomog kestena u oblasti Skandinavije, takođe je kesten u tom periodu bio prisutan i u Francuskoj, Italiji, zemljama bivše Jugoslavije, Austriji i Mađarskoj.

Pitomi kesteni autohtoni su na mediteranskom području, gdje su pronađeni fosili kestena čija se starost procjenjuje na oko 8 miliona godina. Postoji jedan sačuvan primjerak pronađen u Francuskoj krajem trećeg vijeka i nalazi se u paleontološkom muzeju Voulte (MUJIĆ 2014).

Fitocenološkim istraživanjima u prošloti su se bavili GRISEBACH (1841), MATTFELD (1927), GANIATSAS (1939, 1963), REGEL (1943), OBERDORFER (1948), RAUH (1949) I STOJANOV I KITANOV (1950). HORVAT ET AL. (1974) opisuje ekologiju i teoriju porijekla kao i klasifikaciju šuma pitomog kestena na južnom Balkanu, KARAGIANNAKIDOU–IATROPOULOU (1983) rade studije u sjevernoj Grčkoj. ZOLLER ET AL. (1977) bave se istraživanjima kestenovih šuma na Atosu i RAUS (1980) opisuje ih u regiji Tesaliji u Grčkoj. Dalje, GAMISANS I HEBRARD (1979, 1980) opisuju kestenove šume u Epiru, sjeveroistoku Makedonije i regije Trakija. Krajem prošlog i početkom ovog vijeka se znatno inteviziraju fitocenološka i ekološka istraživanja u većem dijelu Evrope (ARRIGONI ET AL. 1996, ARRIGONI I VICIANI 2001, CONEDERA ET AL. 2001, 2004, DIMITROVA ET AL. 2005, DINIĆ ET AL. 1998, GALLARDO ET AL. 2000, GONDARD ET AL. 2005, 2006, KONSTANTINIDIS ET AL. 2008, LYUBENOVA ET AL. 2004, POORBABAEI 2007, VELEV 2007).

U Hrvatskoj je istraživanja šuma pitomog kestena započeo još Ivo Horvat 1938. godine na području sjeverozapadne Hrvatske, kada je prvi put opisao šumu hrasta kitnjaka i pitomog kestena. Iako je opisana asocijacija *Querceto-Castanetum croaticum* HORVAT 1938, obuhvatala je i čiste kitnjakove acidofilne šume, sve do 90-tih godina, mnogi su fitocenolozi (ŠUGAR 1972, ŠEGULJA 1979) u svojim istraživanjima, naziv asocijacije priključivali isključivo kestenovim šumama.

Kada je VUKELIĆ (1991) izdvojio čiste acidotermofilne šume hrasta kitnjaka iz Horvatovog *Querco-Castanetum*-a, opisujući novu zajednicu (*Hieracio racemosi-Quercetum petraeae* Vukelić 1990 nom. illeg. = *potentillo micranthae-quercetum petraeae* VUKELIĆ ET AL. 2010), pozivajući se također na ANIĆA (1940), koji je već tada pod Q*uerco-castanetum*-om smatrao samo one sastojine u kojima je kesten izuzetno konkurentna vrsta, riješeno je pitanje acidofilnih šuma hrasta kitnjaka i pitomog kestena.

U Bosni i Hercegovini, SUČIĆ (1953) opisuje drugačije šume od Horvatovog *Querceto-Castanetum croaticum* te naglašava veće učešće bukve u odnosu na kitnjak, ali većina snimaka se odnosi na područje Srebrenice. GLIŠIĆ (1954) opisuje zajednicu bukve i pitomog kestena (*Castaneto-Fagetum*), a WRABER (1958) je u svoju Tablicu kestenovih šuma u Bosni i Hercegovini uključio i Sučićeve snimke te opisao četiri zajednice u kojima dolazi kesten: *Querceto-Carpinetum croaticum castanetosum, Luzuleto-Fagetum castanetosum, Querceto-Castanetum croaticum* i *Querceto-Castanetum hercegovinicum.* HORVAT ET AL. (1974) donose snimke zajednice *Querceto-Carpinetum croaticum castanetosum* Wrabera i Anića te nagovještavaju da se vjerovatno radi o rangu asocijacije i to *Castaneo-Carpinetum*. Istraživanja kestenovih šuma sjeverozapadne Hrvatske (MEDAK 2004) potvrdila su postojanje mezofilnih šuma pitomog kestena, koje su tada, u nedostatku kompleksnijih istraživanja

širega područja, svrstane u spomenutu subasocijaciju. STUPAR ET AL. 2014 bavio se fitocenološkom analizom mezofilnih šuma pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Privrednoj jedinici "Pastirevo" kod Kostajnice. Istraživane sastojine su degradirane, izdanačkog porijekla. Floristička analiza je pokazala da pripadaju mezofilnoj asocijaciji *Aposeri foetidae-Castanetum sativae* Medak 2011 sveze *Aremonio-Fagion* i to njenoj degradiranoj varijanti var. *Rubus hirtus*. Ovaj osnovni tip se dalje raščlanjuje na mezofilniju varijantu bez kitnjaka (subasocijacija *typicum*) i acidotermofilniju varijantu sa kitnjakom. MACANOVIĆ (2012) istraživao je sintanomski položaj šumskih asocijacija pitomog kestena na području Bosanske krajine, Srebrenice i Hercegovine gdje ukazuje na razlike u prisutnosti biljnih vrsta u različitim šumskim asocijacijama kestena, te ukazuje na drugačiji floristički sastav, naročito asocijacije *Querceto - Castaneum "hercegovinicum"* Wraber.

Smanjenje areala pitomog kestena, kako kod nas tako i u svijetu, pored antropogenog faktora, doprinijele su *Cryphonectria parasitica* koja izaziva "rak kore kestena" i vrste iz roda *Phytophtora*, koje izazivaju "mastiljavu bolest" kestena. *Cryphonectria parasitica* prvi put je opisana 1906. godine pod imenom *Dioporthe parasitica* Murr., a preimenovana 1912. je u *Enothia parasitica* Murrill (RADULOVIĆ 2013). Na osnovu građe i strukture plodonosnih tijela rodovi *Cryphonectria* i *Endothia* su razdvojeni (ROANE ET AL. 1986.). Prema KRSTIĆ-u (1950) rak kore kestena je prvi put konstatovan u Sloveniji, dok u Hrvatskoj je prvi put zabilježio Halambek 1955. godine na lovranskom podučju u okolini Opatije (HALAMBEK 1988).

Na prostoru Bosne i Hercegovine prvi put rak kestena je ustanovio UŠČUPLIĆ 1961. godine. U Makedoniji je rak kore kestena prvi put zabilježen 1974. godine (ПАПАЗОВ ET AL. 1974), a na prostoru Kosova i Metohije 1975. godine (MARINKOVIĆ I KARADŽIĆ 1985).

U borbi protiv *C. parasitica* korišćene su različite metode borbe. Jedan od načina je unošenje otpornih azijskih vrsta kestena i njihovo ukrštanje sa pitomim kestenom u cilju dobijanja otpornih formi. Pokušano je i sa primjenom direktnih mehaničkih mjera (sječa zaraženih stabala ili njihovih dijelova) kao i hemijskih mjera (premazivanje panjeva uljanim antisepticima ili drugim fungicidima), (RADULOVIĆ 2013). Pored ovih, za biokontrolu ove gljive korišćeni su i neki antagonistički i konkurentski mikroorganizmi, *Trichoderma sp., Pencilium rubrum, Bacilus sutiis*, (KRSTIĆ I HOČEVAR 1959; UŠČUPLIĆ I LAZAREV 1972; KARADŽIĆ 1992; HOWELL 2003 itd.).

Danas se najviše koriste hipovirulentni sojevi gljive *C. parasitica* i njihova upotreba predstavlja najefikasniji način biokontrole *C. parasitica*. Hipovirulenciju kod ove vrste izaziva prisustvo dvostruke ribonukleinske kiseline (dsRNK) koja je virusnog porijekla i prenosi se konidijama ali ne i askosporama. Unošenje hipovirulentnih formi gljive u zaražene sastojine kestena koriste se kao biološki metod borbe. Ako je broj vegetativno kompatibilnih

tipova (vc) manji metod je uspješniji (RADULOVIĆ 2013). Hipovirulencija se u Evropi primjenjuje od 1974. godine (HEINIGER I RIGLING 1994).

Najveći broj vc tipova (30) od svih Evropskih zemalja konstatovano je u Francuskoj (ROBIN ET AL. 2000). Istražujući diverzitet vc tipova u Bosni i Hercegovini utvrđeno je 29 vc tipova (TREŠTIĆ ET AL. 2001), u Portugaliji konstatovano je 9 vc tipova (BRAGANÇA ET AL. 2007), u Hrvatskoj 18 vc tipova (KRISTIN ET AL. 2008). U istraživanjima u Srbiji ustanovljeno je 3 vc tipa (EU-1, EU-2 I EU- 12). Od svih lokaliteta najveći diverzitet vc tipova je ustanovljen na lokalitetu Kostajnica u Republici Srpskoj, potom na Svetoj gori, zatim na lokalitetu Hisardžik kod Prijepolja, a najmanje u Vranju (RADULOVIĆ 2013).

Većina zemalja u kojima raste evropski pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill.) ima svoje autohtone sorte, koje su dobijene decenijskom selekcijom. U Italiji je selekcionisano više od 300 različitih sorti (PICCOLI 1992, BELLINI 2005), dok u Francuskoj je selekcionisano preko 250 sorti (CAMUS 1929). Među najboljim italijanskim marunima ubrajaju se kultivari: 'Chiusa Pesio', 'Luserna', 'Val Susa', 'Castel del Rio', 'Marradi', 'Fiorentino', kao i francuski 'Montagne', 'Sardonne' i 'Comballe' (BOUNOUS 2009; HENNION 2009). Za južnu Švajcarsku CONEDERA ET AL. (1994) navodi više od 120 kultivara, za Španiju PEREIRA-LORENZO ET AL. (2001) navode više od 200 kultivara, dok RUSSEL (2002) za Veliku Britaniju navodi oko 30 kultivara. Selekcijom za produkciju drveta Španskih i Evropskih populacija pitomog kestena bavio se MÍGUEZ-SOTO I FERNÁNDEZ-LÓPEZ (2015), a selekcijom na kvalitet ploda u Indiji (PANDIT ET AL. 2011).

Bar do sad u Bosni i Hercegovini nije bilo aktivnosti na selekciji i oplemenjivanju pitomog kestena, a takođe ne postoje ni intenzivni zasadi pitomog kestena.

Za veliki broj kultivara tj. sorti u Evropi rađena su istraživanja morfoloških karakteristika pitomog kestena. U Turskoj AYFER I SOYLU (1993) proučavali su deset godina tipove i kultivare pitomog kestena. Istraživanjima morfoloških i pomoloških karakteristika kestena u Turskoj bavili su se i drugi istraživači, ÖZGAN (2003), ERTAN ET AL. (2007), SERDAR (1999), SERDAR I SOYLU (1999), SERDAR ET AL. (2011a), SERDAR I KURT (2011). U Španiji PEREIRA-LORENZO ET AL. (1996), PEREIRA-LORENZO ET AL. (2001), FURONEZ-PÉREZ I FERNÁNDEZ-LÓPEZ (2008, 2009), RAMOS-CABRER I PEREIRA-LORENZO (2005), u Portugalu GOULAO ET AL. (2001), COSTA ET AL. (2008), u Grčkoj ALIZOTI I ARAVANOPOULOS (2005) u Italiji BORGHETTI ET AL (1986), PONCHIA ET AL. (1993), JACOBNI (1993).

Neki autori koriste klasične morfometrijske metode u svrhu dobijanja spoznaje o međupopulacijskoj i unutarpopulacijskoj varijabilnosti unutar šumskih sastojina i prirodnih populacija. VILLANI ET AL. (1992), ARAVANOPULUS ET AL. (2001b), BOLVANSKÝ I UŽIK (2003, 2005), IDŽOJTIĆ (2009), POLJAK ET AL. (2012) uspješno primjenjuju multivarijantne

statističke analize za razlikovanje populacija na osnovu morfometrijskih karakteristika ploda, dok PODJAVOREŠEK ET AL. (1999) i SOLAR ET AL. (2001, 2005) navedene metode koristi za proučavanje varijabilnosti i predselekciju novih genotipova superiornijih osobina.

Primjena DNK markera u identifikaciji genotipova ima veliku prednost zbog svoje brzine i tačnosti, kao i nezavisnosti o starosti biljke i utjecaju spoljašnjih faktora. Zbog toga su posebno našli primjenu u identifikaciji sorti različitih vrsta s jestivim plodovima, određivanju sličnosti, odnosno međusobne genetske udaljenosti između različitih sorti, razjašnjavanju sinonima, utvrđivanju geografskog porijekla i dr. (WÜNSCH I HORMAZA 2002). Za velik broj različitih sorti u pojedinim zemljama ili regijama rađena su istraživanja genetske raznolikosti pitomog kestena uz pomoć različitih genetskih markera. Od molekulatno-bioloških markera neki autori koriste izoenzime u svojim istraživanjma (MALVOTI I FINESCHI 1987; GIANNINI ET AL. 1993; PODJAVORŠEK ET AL. 1997; MÜLLER-STARCK ET AL. 1994; PEREIRA-LORENZO, ET AL. 1996, 1999; SAWANO ET AL 1984; RAMOS-CABRER I PEREIRA-L. 2005). Neki autori koriste u svojim istraživanjima RAPD markere (FINESCHI ET AL. 1994; FINESCHI I MALVOLTI 1991; GALDERISI ET AL. 1998; ORAGUZIE ET AL. 1998; SANTANA ET AL. 1999; GOULAO ET AL. 2001), dok u novije vrijeme sve veću primjenu imaju SSR markeri (SOWCOCK ET AL. 1994; MARINONI ET AL. 2003; BUCK ET AL. 2003; BELAJ ET AL. 2004; BOCCACCI I DR. 2004; BOTTA ET AL. 2005, 2001; COSTA ET AL. 2005; MARTIN ET AL. 2005; GOBBIN ET AL. 2007; MARTIN ET AL. 2010; CANTINI I AUTINO 2010, POLJAK 2014).

Nekoliko studija na regeneraciji, rastu i upravljanju šuma kestena provedena su u različitim evropskim regijama (EVERARD I CHRISTIE 1995; PIVIDORI ET AL. 2005.), kao i studija uticaja stanišnih faktora na rast stabala u mladim sastojinama i plantažama (ALVAREZ-ALVAREZ ET AL. 2010; RADOGLOU ET AL. 2003; ZYSSET ET AL. 1996).

Pitomi kesten kao vrsta za prozvodnju biomase prikazana je u nekoliko istraživanja kao i kapaciteti sekvestracije ugljenika (LANCHO I GONZALEZ 2005; LEONARDI ET AL. 1996; PATRICIO ET AL. 2005).

Što se tiče kestena kao drvo, mnoga istraživanja u Evropi su rađena vezano za anatomiju, strukturu, sastav, tehnološka i hemijska svojstva drveta (ATES ET AL. 2010; CLAIR ET AL. 2003; FONTI ET AL. 2002; GUNDUZ ET AL. 2009). Neka istraživanja koja su fokusirana na koristi od drveta: za pravljenje furnira, za građevinarsko drvo, za vinogradarstvo, preko namještaja pa do tanina (CANAS ET AL 2009; MARINO ET AL 2010; OZGAN I KAP 2008).

Plodovi pitomog kestena se intenzivno koriste u ljudskoj ishrani i u obliku raznih komercijalnih formi su dostupni, npr. svježi i industrijski obrađeni. Postoje mnogi naučni radovi i članci kao i komentari o sastavu kestena kao voćkarice i zdravstvene koristi koji ovi plodovi i njihovi proizvodi mogu da obezbijede (HARDMAN 2002; SENTER ET AL. 1994; BARREIRA ET AL. 2009; DE VASCONCELOS ET AL. 2010a; ERTÜRK ET AL. 2006; BORGES ET AL. 2006), kao i opsežno dokumentovan pregled o uticaju industrijske prerade na nutrijentre i nehranljivi sastav plodova (DE VASCONCELOS ET AL. 2009, 2010b).

Prilikom obrade ploda kestena stvara se velika količina ostataka što perikarp (8,9 do 13,5%) i integument (6,3 do 10,1%). Ovi materijali imaju potencijal kao izvor sporednih proizvoda i nedavne studije (DE VASCONCELOS ET AL. 2010c; VAZQUEZ ET AL. 2008) procjenjuju potencijalnu upotrebu ljuske kestena za ekstrakciju pigmenata, polifenola i antioksidant spojeva. Ovakva istraživanja treba nastaviti u budućnosti i proširiti i na druge potencijalne koristi od ostataka koje proizlaze iz proizvodnje kestena, kao i na njihovu upotrebu pri apsorpciji teških metala (VAZQUEZ ET AL. 2009).

Istraživanja o pitomom kestenu u Bosni i Hercegovini su vrlo oskudna. Pedesetih-šezdesetih godina prošlog vijeka SUČIĆ (1953a) detaljno opisuje areal pitomog kestena u BiH i daje opis tadašnjeg stanja i površine sastojina pitomog kestena. U drugom svom radu SUČIĆ (1953b) daje osvrt na srebreničko područje sa osvrtom na sjeverozapadni i hercegovački dio areala pitomog kestena. O porijeklu pitomog kestena kao i fitocenozama na našem području pisao je WREBER (1958), GLIŠIĆ (1954).

Posljednjih par decenija u glavnom su rađene analize hemijskog sastava ploda (MUJIĆ ET AL. 2006a, 2006b; DANIČIĆ ET AL. 2008) kao i morfološke karakteristike, uglavnom istraživanja vezana za sjevero-zapadni dio BiH (MUJIĆ ET AL. 2010; MUJAGIĆ-PAŠIĆ I BALLIAN 2012) i u okolini Konjica (MIĆIĆ ET AL. 1987). Vršena su istraživanja na nivou citogenetičkih aspekata mikrosporogeneze i mikrogametogeneze kestena u regionu Potkozarja u svrhu izdvajanja visokorodnih stabala (ĆOPIĆ 2014). Utvrđivanje veličine taksacionih elemenata sastojina pitomog kestena u Cazinskoj Krajini bavio se LOJO (2000). SKENDER (2010) bavila se proučavanjem autohtonih genotipova tj. prirodnih populacija u BiH na tri lokaliteta, Pećigrad, Bratunac i Konjic metodama morfološke i pomološke analize kao i primjenom molekularnih metoda.

1.5. GENETIČKE METODE U PROUČAVANJU VARIJABILNOSTI

Genetička divergentnost se može utvrditi korišćenjem različitih metoda (SMITH ET AL. 1987). Osnovne metode za utvrđivanje genetičke divergentnosti se zasnivaju na utvrđivanju morfoloških karakteristika i na osnovu podataka dobijenih primjenom genetičkih markera (LUČIĆ 2011). Razvojem DNK markera stvoren je potpuno novi alat za određivanje genetičke divergentnosti, koji je nezavisan od faze razvoja biljke i uslova spoljašnje sredine. DNK markeri odražavaju stvaran nivo genetičke divergentnosti između postojećih genotipova na DNK nivou i u isto vrijeme daju preciznije procjene različitosti nego fenotipske informacije (SMITH I SMITH 1992; WESTMANN I KRESOVICH 1997).

Genetički markeri predstavljaju dijelove genoma koji oslikavaju genetičke razlike između različitih organizama ili vrsta, a na osnovu kojih se indirektno dobija informacija o genima (ili dijelovima genoma) koji se odnose na određene osobine koje se ispituju. Oni predstavljaju polimorfizam u strukturi DNK ili produkata ekspresije koji je moguće detektovati. Svrstavaju se u tri velike grupe: oni koji su zasnovani na osobinama koje se mogu vizuelno uočiti - morfološka svojstva, zatim markeri bazirani na genskim produktima - biohemijski markeri i oni čiju osnovu čine DNK sekvence - molekularni marker (MATARUGA ET AL. 2013).

Ideja genetičkih markera nije nova: Gregor Mendel je upotrijebio genetičke markere zasnovane na fenotipu u svojim eksperimentima tokom devetnaestog vijeka. Kasnije, genetički markeri zasnovani na fenotipu za *Drosophila melanogaster* (vinska mušica) doveli su do razvoja teorije o vezanosti gena (AGARWAL ET AL. 2008). Morfološki markeri su obično vizuelno ocjenjene fenotipske karakteristike kao što su boja cvijeta, boja ploda, oblik sjemena, pigmentacija itd. Međutim ovi markeri imaju brojne nedostatke, kao što su ograničena dostupnost, nemogućnost razlikovanja heterozigota od homozigota, asocijacija sa štetnim fenotipskim efektom (NIKOLIĆ 2012). Biohemijske markere predstavljaju proteini (strukturni, rezervni) kao i izoenzimi (različiti alelni vidovi jednog enzima). Praktično najstarija metoda direktne genetičke indetifikacije šumskog drveća je analiza izoenzima, a predstavlja osnovnu biohemijsku metodu za utvrđivanje razlika unutra vrste ili razlika među populacijama (KONNERT 1996).

Glavni nedostatak ovih markera je nedovoljan broj kao i moguće posttranslacione modifikacije (STAUB ET AL. 1982).

Ograničenja tih metoda dovela su do razvoja markera utemeljenih na redoslijedu baznih parova unutar DNK, koji su precizniji i univerzalniji. Molekularni markeri su u širokoj upotrebi u istraživanjima na biljkama i definisani su kao određeni polimorfni segment DNK koji prezentuje razlike na nivou genoma (SEFC ET AL. 2008). Pojavom molekularnih markera postalo je moguće stvarati zaključke o genetičkoj raznolikosti i međuodnosima između organizama na nivou DNK nezavisno od faktora spoljašne sredine. Molekularni marker može ali i ne mora biti u korelaciji s fenotipskom ekspresijom svojstva (AGARWAL ET AL. 2008). Pružaju mnoge prednosti naspram genetičkih markera zasnovanih na fenotipu jer su stabilni i prepoznatljivi u svim tkivima bez obzira na rast, diferencijaciju, razvoj ili odbrambeno stanje ćelije, te ne podliježu pleiotropskom i epistatičkom djelovanju drugih gena (THIS ET AL. 2007).

Od početka devedesetih godina razvijaju se tehnike detekcije genetske varijabilnosti koje su bazirane na lančanoj reakciji polimerazom (PCR) - Polymerase Chain Reaction (AGARWAL ET AL. 2008), stoga molekularne metode markera dijele se u dvije osnovne kategorije–one koje se baziraju na hibridizaciji, bez PCR-a, i one koje se baziraju na PCR-u. U osnovi PCR metoda je biohemijska reakcija koja omogućava *in vitro* umnožavanje (amplifikaciju) određenog fragmenta dezoksiribonukleinske kiseline-DNK i u suštini je imitacija sinteze DNK (replikacija) koja se normalno odvija u svim živim organizmima (FARKAS 1993). Godine 1983. Kary Mullis je otkrio i opisao metodu kojom se *in vitro* umnožava DNK bez kloniranja i to iz malih količina DNK. Za to otkriće je 1993. godine dobio Nobelovu nagradu za hemiju. Osnovni princip PCR metode je selektivna amplifikacija jedne željene sekvence DNK molekula (gen ili dio gena) milion do milijardu puta bez prethodnog izolovanja iz mase DNK molekula prisutnih u uzorku.

Proces izvođenja PCR može se podijeliti u 3 faze:

1. faza: DENATURACIJA DNK molekula koja se obično odvija na temperaturi od 93-95°C, što prouzrokuje razdvajanje dvostrukih lanaca DNK i na taj način omogućava vezivanje prajmera
2. faza: ANILING - odvija se na nižim temperaturama (50-60°C) koje omogućavaju strogo specifično vezivanje prajmera za komplementarni region DNK.
3. faza: ELONGACIJA- sinteza novih lanaca. U ovom koraku Taq polimeraza dodaje dezoksinukleotide prema matrici i na taj način kopira željenu sekvencu. Temperatura na kojoj se odvija ovaj proces je oko 72°C.

DNK markeri zasnovani na PCR analizi mogu se podijeliti u dvije kategorije:

- Markeri zasnovani na umnožavanju nespecifičnih DNK sekvenci, od kojih su u oplemenjivanju biljaka najčešće primjenjivani RAPD (**R**ANDOM **A**MPLIFED **P**OLYMORPCIH**D**NA) i AFLP (**A**MPLIFIED **F**RAGMENT **L**ENGHT **P**OLYMORPHIS),
- Markeri zasnovani na umnožavanju specifičnih DNK sekvenci, kao što su SSR (**S**IMPLE **E**QUENCE **R**EPETS), CAPS (**C**LEVED **A**MPLIFIED **P**OLYMORPHIC **S**EQUENCES) i SNPs (**S**INGLE **N**ULCEOTIDE **P**OLYMORPHISM).

Prema načinu nasljeđivanja DNK markere možemo podijeliti na dominantne, koji detektuju samo jedan alel (RAPD, AFLP), i kodominantne koji detektuju dva ili više alela (SSR, CAPS). Detekcijom dva alela moguće je razlikovati homozigote od heterozigota, dok detekcijom jednog alela to nije moguće. DNK markeri se takođe razlikuju po broju lokusa čiji se polimorfizam istovremeno detektuje. RAPD i AFLP detektuju višestruke lokuse, SSR markeri detektuju jedan do pet lokusa, dok CAPS markeri detektuju pojedinačne lokuse.

Izbor markera koji se primenjuju u određenom istraživanju zavisi od velikog broja faktora. Prema LUČIĆ-u (2011) idealni marker sistem bi trebao da ispunjava sljedeće kriterijume: visok nivo polimorfizma, kodominantno nasljeđivanje, ravnomjerna saturacija genoma, visoka reprodoktivnost rezultata unutar i između laboratorija, jednostavan i brz način detekcije, prihvatljiva cijena i laka dostupnost.

Prilikom izbora treba obratiti pažnju i na pouzdanost različitih DNK markera. Pouzdanost većine marker sistema je visoka, sa izuzetkom RAPD markera, koja je povezana sa povećanim rizikom genotipskih grešaka, zbog pojave nazvane „kompeticija“, odnosno konkurencije između različitih DNK fragmenata za umnožavanjem (HALLDÉN ET AL. 1996).

U tabeli 6. dat je prikaz najčešće korišćenih markera i poređenje njihovih osobina prema MATARUGA ET AL. (2013).

Tabela 6. Poređenje najčešće korišćenih markera (MATARUGA ET AL. 2013)

SVOJSTVO	IZOENZIMI	RFLP	SSR	RAPD	AFLP
PORIJEKLO	GENSKO	ANONIMNO	ANONIMNO	ANONIMNO	ANONIMNO
KODOMINANTNOST	KODOMINANTNA	KODOMINANTNA	KODOMINANTNA	DOMINANTNA	DOMINANTNA
NIVOI POLIMORFNOSTI	NIZAK	SREDNJI	VISOK	SREDNJI	SREDNJI
OBILNOST	NISKA	VISOKA	VISOKA	VISOKA	VISOKA
PRENOSIVOST	ŠIROM PORODICA I RODA	ŠIROM RODA	U OKVIRU RODA ILI VRSTE	U OKVIRU VRSTE	U OKVIRU VRSTE
REPRODUKTIVNOST	VRLO VISOKA	VISOKA DO VEOMA VISOKA	SREDNJA DO VISOKA	NISKA DO SREDNJA	SREDNJA DO VISOKA
JEDNOSTAVNOST TESTA	LAKO DO SREDNJE	TEŠKO	LAKO DO SREDNJE	LAKO DO SREDNJE	SREDNJE DO TEŠKO
OPERACIONI TROŠKOVI	NISKI	VISOKI	NISKI	NISKI	VISOKI
AUTOMATIZACIJA	NE	NE	DA	DA	DA

Genetička analiza biljnih i životinjskih populacija i vrsta za taksonomske, evolucijske i ekološke studije su imale veliku korist od razvoja različitih tehnika molekularnih markera. Svaka se zasniva na različitim principima ali je na njihovoj primjeni da ispolji raznolikost cijeloga genoma. Molekularni markeri su u širokoj upotrebi u istraživanjima na biljkama. Njihova primjena danas predstavlja nezamjenljivi dio selekcije i oplemenjivanja. Korišćenje molekularnih markera omogućava određivanje stepena genetičkog diverziteta između različitih vrsta, unutar populacija, između srodnih vrsta.

Dobijeni podaci mogu se koristiti za "otisak" genotipova (*fingerprinting*), u cilju njihove identifikacije i zaštite, razumjevanja veza između jedinki koje se ispituju, efikasnog upravljanja genetičkim resursima, olakšavanja unošenja hromozomskih segmenata iz različitih vrsta, čak i u cilju obilježavanja specifičnih gena. Koriste se i za utvrđivanje filogenetskih i evolutivnih odnosa populacija i vrsta.

1.6. MIKROSATELITI KAO MOLEKULARNI MARKERI

Mikrosateliti (eng. SIMPLE SEQUENCE REPEATS-**SSRs**, SHORT TANDEM REPEATS-**STRs** ili VARIABLE NUMBER OF TANDEM REPEATS-**VNTRs**) su kratki dijelovi DNK, sačinjeni od uzastopno, prosto ponovljive sekvence koja se sastoji od 1 do 6 baznih parova (ELLEGREN 2004; SELKOE I TOONEN 2006; GUICHOUX ET AL. 2011). Primjer $(AG)_n$ ili $(AT)_n$, pri čemu vrijednost n može iznositi 100-300. Široko su zastupljeni duž cijelog genoma eukariota. Međutim, njihova distribucija unutar hromozoma nije uniformna, odnosno manje su raspoređeni u regionima u blizini telomera. Većina mikrosatelitskih lokusa se nalazi u nekodirajućim regionima, dok je samo oko 8% prisutno u kodirajućim regionima. Takođe, njihova gustina blago varira među parovima hromozoma (FAN I CHU 2007). U genomu biljaka, frenkvencija mikrosatelita je u negativnoj korelaciji sa veličinom genoma, za razliku od drugih grupa eukariota. Ovo se može objasniti time što su mikrosateliti biljaka slabo prisutni u dijelovima genoma koji su odgovorni za njegovu ekspanziju, kao što su LTR retrotranspozoni (ELLEGREN 2004).

Prema dužini ponovljive sekvence, SSR se dijele na mono-, di-, tri-, tetra-, penta- i heksanukleotidne mikrosatelite. Ukupna zastupljenost određenog tipa mikrosatelitskog motiva se smanjuje povećanjem dužine njegove ponovljive sekvence. Najzastupljeniji su dinukleotidni mikrosatelitski ponovci kod većine vrsta, praćeni sa tetra- i mononukleotidnim mikrosatelitima (ELLEGREN 2004; FAN I CHU 2007). Kod većine biljnih genoma najčešći je dinukleotidni ponovak motiva $(AT)_n$. Mononukleotidni ponovci su česti, ali zbog problema u amplifikaciji tokom lančane reakcije polimeraze PCR su manje pouzdani i stoga slabije korišćeni kao molekularni markeri. Trinukleotidni ponovci, zajedno sa heksanukleotidnim, predstavljaju najzastupljenje klase ponovljivih sekvenci u kodirajućim regionima. Dinukleotidni, trinukleotidni i tetranukleotidni mikrosatelitski lokusi su najčešći izbor za dizajniranje markera u molekularnim i populaciono-genetičkim istraživanjima (ELLEGREN 2004; SELKOE I TOONEN 2006).

Nasljeđivanje ovih markera je kodominantno, visoko su ponovljivi i pouzdani. Kod šumskog drveća korišćeni su kao kodominantne vezne tačke u mapiranju genoma hrasta (BARRENECHE ET AL. 1988), genoma bukve (SCALFI ET AL. 2004), genoma smrče (PEGLIA ET AL. 1988).

Na individualnom nivou imaju potencijal da identifikuje individue ili klonove (GOMEZ ET AL. 2001). Odlični su za proučavanje protoka gena, efikasne veličine populacije, procese migracije i širenja, roditeljstva i povezanosti (DOW I ASHLEY 1996).

Za veliki broj različitih sorti u pojedinim zemljama rađena su istraživanja genetske raznolikosti pitomog kestena uz pomoć različitih genetskih markera.

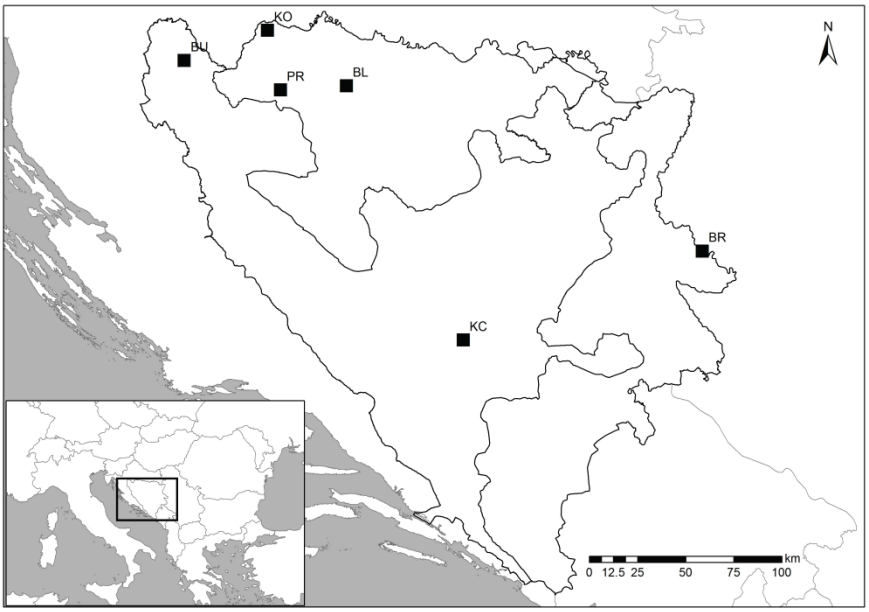
Prvi biohemijski i molekularni markeri za analizu genetske raznolikosti kultivara pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) bili su izoenzimi (SAWANO ET AL. 1984; MÜLLER - STARCK ET AL. 1994; PEREIRA-LORENZO ET AL. 1996) kao i RAPD markeri (FINESCHI ET AL. 1994; CASASOLI ET AL. 2001). Nakon toga intenzivnija je upotreba mikrosatelita (BOTTA ET AL. 1999, 2001; BUCK ET AL. 2003; MARINONI ET AL. 2003; MARTIN ET AL. 2005; GOBBIN ET AL. 2007; HOZOVA ET AL. 2009, SKENDER 2010, POLJAK 2014) u genetskim istraživanjima pitomog kestena.

Osnovni nedostatak u poređenju sa ostalim DNK markerima je razvoj mikrosatelita iz DNK biblioteka. Neophodno je dosta vremena i ulaganja za njihov razvoj, jer prvo moraju da se identifikuju regioni koji ih nose. Jednom utvrđene sekvence jednostavno se razmjenjuju, a i početnice namjenjene za analizu određenog lokusa jedne vrste mogu se koristiti za isti lokus druge vrste unutar istog roda (SEFC ET AL. 1998).

2. OBJEKAT ISTRAŽIVANJA

2.1. OPŠTI PODACI O OBJEKTU ISTRAŽIVANJA

Populacije u kojima su obavljena istraživanja su dozrijevajuće i zrele sastojine pitomog kestena na području prirodnog rasprostranjenja u Bosni i Hercegovini. Uzorkom su obuhvaćene sastojine na šest lokaliteta sa različitim ekološko-vegetacijskim karakteristikama na području Banjaluke, Prijedora, Kostajnice, Bratunca, Bužima i Konjica (slika 8).



Slika 8. Geografski položaj istraživanih lokaliteta, BU - Bužim, KO - Kostajnica, BL - Banjaluka, PR - Prijedor, BR - Bratunac i KC - Konjic

U navedenim populacijama pitomog kestena, primjenom metoda individualne selekcije, selekcionisano je po 15 individua, koja su prema fenotipskim svojstvima superiornija u odnosu na druga stabla u populaciji. Pored izabranih fenotipski 15 najboljih test stabala, metodom slučajnog uzorka selekcionisano je još po 35 stabala prostorno distribuiranih po cijeloj populaciji sa kojih su uzeti uzorci za genetičku analizu. Ukupan broj stabala čija su genetska svojstva laboratorijski analizirana u svakoj populaciji bio je (15+35) – ukupno 50. Sumarno, svih šest selekcionisanih populacija pitomog kestena u analizama bilo je zastupljeno sa 300 stabala. Selekcijom je obuhvaćeno 6 populacija pitomog kestena, koje se svojom prostornom distribucijom mogu smatrati dobrim reprezentom ekološko-vegetacijske

raznolikosti Bosne i Hercegovine, a uzorak od 300 test stabala je pouzdan za upoznavanje varijabiliteta i davanje smjernica za usmjereno korišćenje ove vrste.

Teritorija Bosne i Hercegovine, prema ekološko-vegetacijskoj rejonizaciji, podjeljena je u četiri oblasti: Pripanonska, Prelazno ilirsko-mezijska, unutrašnjih Dinarida i Mediteransko-dinarska oblast (STEFANOVIĆ ET AL. 1983.). U tabeli 7. je dat prikaz kojoj oblasti, području i regionu pripadaju istraživani lokaliteti, dok na slici 9. prikazana je karta eko-vegetacijskog područja BiH sa skiciranim oznakama istraživanih lokaliteta.

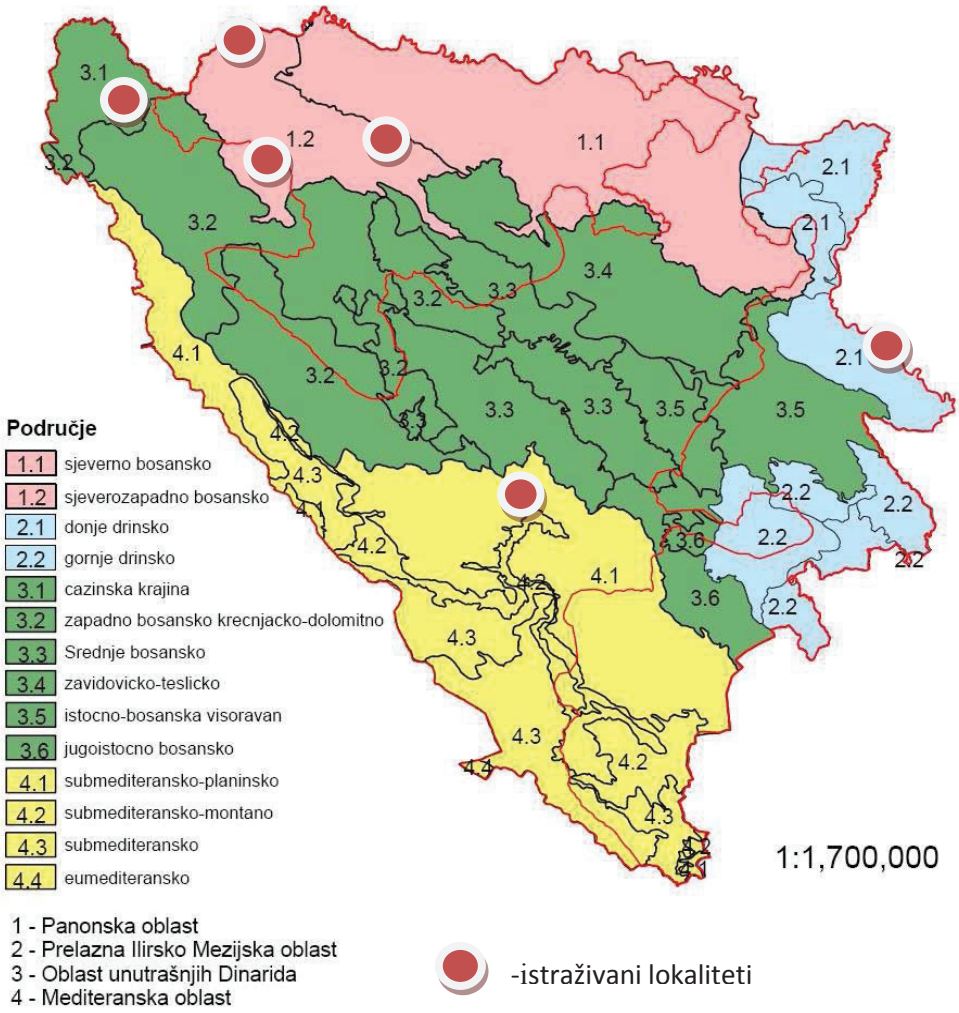
Tabela 7: Pripadnost istraživanih lokaliteta prema ekološko-vegetacijskoj rejonizaciji BiH (STEFANOVIĆ ET AL. 1983)

LOKALITET	OBLAST	PODRUČJE	REJON
BANJALUKA PRIJEDOR KOSTAJNICA	PRIPANONSKA OBLAST	SJEVEROZAPADNO BOSANSKO	-
BRATUNAC	PRELAZNO ILIRSKO-MEZIJSKA	DONJEDRINSKO	SREBRENIČKI
BUŽIM	UNUTRAŠNJIH DINARIDA	CAZINSKE KRAJNE	-
KONJIC	MEDITERANSKO-DINARSKA	SUBMEDITERANSKO-PLANINSKO	-

U tabeli 8. prikazane su koordinate istraživanih lokaliteta i osnovne stanišne karakteristike, nadmorska visina, nagib terena i ekspozicija.

Tabela 8. Položaj i stanišne karakteristike

LOKALITET	SKRAĆENICA	GAUS-KRIGEROVE KOORDINATE		NADMORSKA VISINA /m/	NAGIB / º /	EKSPOZICIJA
		X	Y			
BUŽIM	BU	6343705	4989607	400	16	SZ
KOSTAJNICA	KO	6387025	5005326	360	0-7	JI
PRIJEDOR	PR	6393735	4974337	280	21	JI
BANJALUKA	BL	6428044	4976467	450	22	SZ
BRATUNAC	BR	6612968	4890671	180-270	37-42	SI
KONJIC	KC	6488724	4844505	680	28	Z



Slika 9. Položaj istraživanih populacija u kontekstu eko-vegetacijskog područja u BiH (STEFANOVIĆ ET AL. 1983)

U tabeli 9. dat je opis kojem šumskom gazdinstvu, šumskoprivrednom području, privrednoj jedinici, odjelu i odsjeku pripadaju istraživane populacije. Opis gazdinskih klasa istraživanih populacija prikazan je u tabeli 10.

Tabela 9. Karakteristike nalazišta

	ŠUMSKO GAZDINSTVO	ŠUMSKOPRIVREDNO PODRUČJE	PRIVREDNA JEDINICA	ODJEL	ODSJEK	GAZDINSKA KLASA	LOKALNI NAZIV
BU	ŠG"UNSKO"	ŠPD"UNSKO-SANSKE ŠUME"	"GLINICA"	74	00	1103	BRADAREVAC
KO	ŠG"PRIJEDOR"-ŠU"KOSTAJNICA"	„KOZARAČKO"	"PASTIREVO"	14/1	03	4405	GRABLJIVA KOSA
PR	ŠG"PRIJEDOR"	„KOZARAČKO"	"VOLAR - LJUBIJA"	11	01	4204	RASAVCI
BL	ŠG"BANJALUKA"	"DONJE VRBASKO"	"KOZARA-BANJALUČKA"	9	03	4230	BOBIJA
BR	ŠG"DRINA"		"SASE-ŽABOKVICA"	214	00	2104	BJELOVAC
KC	KONJIC	PRIVATNI POSJED	-	-	-	-	LOKVE

Tabela 10. Opis gazdinskih klasa

GAZDINSKA KLASA	OPIS GAZDINSKE KLASE
1103	Montane šume bukve na pretežno dubokom distričnom kambisolu, luvisolu, pseudogleju i njihovim kombinacijama na silikatnim i silikatno-karbonatnim sedimentnim supstratima i eruptivnim kiselim stijenama. Osnovni tip na gornjim zemljištima i supstratima: šume bukve i pitomog kestena
4405	Izdanačke šume pitomog kestena (sa bukvom i cerom) na dubokim kiselim–smeđim zemljištima i ilimerizovanim zemljištima na kiselim silikatnim stijenama
4204	Izdanačke šume hrasta kitnjaka i bukve na dubokim kiselo-smeđim ilimerizovanim zemljištima na kiselim silikatnim stijenama
4230	Izdanačke šume hrasta kitnjaka i bukve
2104	Visoke degradirane šume bukve i hrasta kitnjaka na dubokim kiselim smeđim i ilimerizovanim zemljištima na kiselim silikatnim stijenama

2.2. KLIMATSKE KARAKTERISTIKE

Klima je bitan element za normalan život biljnih vrsta odnosno šumskog drveća. Na slici 10. prikazana je karta klime Bosne i Hercegovine iz koje se vidi sva heterogenost klimata koja se zasigurno odražava na karakter vegetacije, zemljišta i dr.

Pitomi kesten pripada termofilnim vrstama koje traže sunčanu toplinu i svjetlo. Taj zahtjev je jači ukoliko se kesten približava svojoj sjevernoj granici, jer tu traži južne i svjetlije položaje (SUČIĆ 1969).

Slika 10. Klima Bosne i Hercegovine (izvor: HMZFBiH)

Klimatska karta nekog područja se formira korišćenjem jednog od prihvaćenih kriterijuma klasifikacije klime (npr. *Kepen*-ove ili *Thornthwait*-ove koje su najčešće u upotrebi) i prikazuje oblast u kojima je godišnji hod izabranih klimatskih elemenata sličan (MIHAILOVIĆ 1988). Na ovaj način mogu da se dobiju samo okvirne informacije o klimi nekog područja osim ako ona nije proširena uvođenjem novih kriterijuma za manju oblast (SAVIĆ 1979). Međutim ako je potrebno da se o tipu klime zna više informacija, onda je neophodno da se poznaju pojedini klimatski indeksi ili detaljniji klimadijagrami. U ovom radu je, u cilju karakterizacije klime istraživanih područja, dat prikaz vrijednosti najvažnijih klimatskih elemenata značajnih za razvoj vegetacije: temperaturni uslovi i pluviometrijski režim. Za karakterisanje klime korišćena je klasifikacija po *Lang*-u tj. kišni faktor, indeks suše po *De Martonne*-u i metod hidričnog bilansa po metodi *Thornthwaite-Mather*-u.

Za analizu klimatskih prilika područja, korišćeni su podaci o prosječnoj godišnjoj temperaturi i prosječnoj godišnjoj količini padavina dobijeni od strane Republičkog hidrometeorološkog zavoda RS i HMZFBiH, sa lokalnih meteoroloških stanica: Cazin, Kostajnica, Prijedor, Banjaluka, Bratunac i Konjic, za referentni period 1961-1990. godina.
Na sjednici Komisije za klimatologiju pri WMO, koja je održana u novembru 2001. godine, određeno je da se period 1961-1990. koristi kao referentni niz za poređenje, sve do završetka sljedećeg niza 1991-2020. godina, tj. do 2021. godine.
Osnovni podaci o položaju meteoroloških stanica dati su u tabeli 11.

Tabela 11. Meteorološke stanice-položaj

METEOROLOŠKA STANICA	S.G.Š.	I.G.D.	NV /m/	OBJEKAT ISTRAŽIVANJA	
				LOKALITET	NV/m/
CAZIN	44° 58'	15° 57'	376	BU	400
KOSTAJNICA	45° 14'	16° 32'	112	KO	360
PRIJEDOR	44° 59'	16° 45'	135	PR	280
BANJALUKA	44° 47'	17° 13 '	153	BL	450
BRATUNAC	44° 07'	19° 19'	550	BR	270
KONJIC	43° 39 '	-	280	KC	680

2.2.1. Temperatura vazduha

Prosječne godišnje temperature vazduha date su u tabeli 12. Prosječna godišnja temperatura vazduha za područje Cazina iznosi 9,6°C a tokom vegetacionog perioda iznosi 15,7°C. Najtopliji je mjesec jul 19,1°C, a najhladniji januar sa prosječnom temperaturom -1,0°C.

Prosječna godišnja temperatura vazduha za područje Kostajnice iznosi 10,7°C, dok je u vegetacionom periodu 17,0°C. Najtopliji je jul sa 20,8°C, a najhladniji januar sa prosječnom temperaturom -0,6°C.

Prosječna godišnja temperatura vazduha za područje Prijedora iznosi 10,7°C, u vegetacionom periodu njena prosječna vrijednost je 17,3°C, najtopliji je mjesec jul 20,8°C, a najhladniji januar sa prosječnom temperaturom -0,9°C.

Banja Luka ima prosječnu temperaturu od 10,6°C, a u vegetacionom periodu 16,9°C. Prosječni maksimum se javlja u julu 20,5°C, dok prosječni minimum iznosi -0,7°C (januar).

Za područje Bratunca prosječna temperatura vazduha iznosi 9,7°C, a u vegetacionom periodu je16,5°C, prosječni maksimum je u julu 18,7°C, a minimum u januaru i iznosi -0,7°C.

Prosječna godišnja temperatura vazduha za područje Konjica iznosi 10,8°C. U vegetacionom periodu iznosi 16,6 °C. Najtopliji je mjesec jul 20,1°C, a najhladniji januar sa prosječnom temperaturom 0,8°C. To je ujedno i jedino područje koje nema mjeseci sa negativnom prosječnom temperaturom za istraživani period.

U ostalim područjima januar je jedini mjesec sa negativnom prosječnom temperaturom za istraživani period što ukazuje da se snježni pokrivač uglavnom ne zadržava dugo.

2.2.2. Padavine

Pored temperature, količina padavina je najvažniji klimatski element za rast i razvoj biljnog svijeta. Godišnji tokovi padavina u Bosni i Hercegovini vrlo su raznovrsni, tako da ih je i pored vidne razlike, uslijed istovremenog djelovanja i preplitanja različitih i lokalno uslovljenih klimatskih faktora, teško dovesti u realne uzročne povezane odnose. Otuda raspored i visina padavina često lokalno variraju (MILOSAVLJEVIĆ 1973).

Prosječna godišnja količina padavina za analizirani period je relativno varijabilna i razlikuje se između područja. Tako najveću količinu padavina imaju Konjic (1449 mm) I Cazin (1153 mm), zatim slijede Banjaluka (1028 mm), Kostajnica (1004 mm) i Prijedor (927 mm) dok najmanju količinu padavina ima Bratunac (848 mm) što je prikazano u tabeli 13.

Prosječna godišnja količina padavina tokom vegetacionog perioda je nešto ujednačenija u odnosu na godišnju vrijednost i iznosi: Cazin (606 mm), Kostajnica (528 mm), Prijedor (501 mm), Banjaluka (566 mm), Bratunac (488 mm) i Konjic (539 mm).

Tabela 12. Prosječna godišnja temperatura vazduha (period 1961-1990)

METEOROLOŠKA STANICA	T_{SR} /°C/												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	SRED
CAZIN	-1,0	1,3	4,9	9,7	14,3	17,3	19,1	18,7	15,2	10,2	5,2	1,3	9,6
KOSTAJNICA	-0,6	2,0	6,1	10,7	15,3	19,1	20,8	19,9	16,3	11,0	7,0	2,0	10,7
PRIJEDOR	-0,9	1,9	6,2	11,2	15,8	19,2	20,8	20,2	16,5	11,2	5,5	1,9	10,7
BANJALUKA	-0,7	1,9	6,1	10,9	15,7	18,9	20,5	19,7	15,9	10,8	5,8	1,9	10,6
BRATUNAC	-0,7	1,7	5,3	10,0	14,5	17,1	18,7	18,3	15,0	10,4	5,5	1,7	9,7
KONJIC	0,8	3,0	6,5	10,6	14,8	18,0	20,1	19,8	16,3	11,4	6,6	3,0	10,8

Tabela 13. Prosječna godišnja količina padavina (period 1961-1990)

METEOROLOŠKA STANICA	P/mm/												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	∑
CAZIN	76	76	82	102	104	115	93	95	97	88	129	96	1153
KOSTAJNICA	77	60	72	91	79	103	94	93	69	97	85	84	1004
PRIJEDOR	65	55	68	80	85	89	89	82	77	74	88	76	927
BANJALUKA	69	63	79	87	98	111	95	93	82	72	91	86	1028
BRATUNAC	53	54	60	65	90	107	90	69	66	61	65	68	848
KONJIC	121	140	145	123	87	83	57	83	105	144	196	164	1449

2.2.3. Karakterisanje klime pomoću koeficijenata

Korišćena je formula $A_r = [(H_{max}-H_{min})/H_g]*100$ za određivanje relativnog godišnjeg kolebanja padavina gdje je A_r-relativno godišnje kolebanje padavina; H_{max}-količina padavina mjeseca sa najvećom količinom padavina; H_{min}-količina padavina mjeseca sa najmanjom količinom padavina; H_g- godišnja količina padavina. Na osnovu gore navedene formule utvrđeno je sljedeće relativno godišnje kolebanje padavina i to: 3,67% Prijedor, 4,28% Kostajnica, 4,60% Cazin, 4,67% Banja Luka, 6,37% Bratunac i 9,59% za područje Konjica (tabela 14). Najmanje relativno godišnje kolebanje padavina je u Prijedoru i Kostajnici što pokazuje da su padavine tokom godine ravnomjernije raspoređene u odnosu na Bratunac i Konjic (tabela 14).

Tabela 14. Relativno godišnje kolebanje padavina

METEO. STANICA	H_{max}	H_{min}	H_g	A_r
CAZIN	129	76	1153	4,60
KOSTAJNICA	103	60	1004	4,28
PRIJEDOR	89	55	927	3,67
BANJALUKA	111	63	1028	4,67
BRATUNAC	107	53	848	6,37
KONJIC	196	57	1449	9,59

Bioklimatska klasifikacija po *Lang*-u omogućava definisanje uslova za razvoj određenog vegetacijskog tipa u istraživanom području (KOLIĆ 1988). Kišni faktor po *Lang*-u (KF) predstavlja odnos između godišnje količine padavina i prosječne godišnje temperature vazduha. Vrijednosti kišnog faktora za istraživane lokalitete prikazani su u tabeli 15. dok je u tabeli 16. prikazana klasifikacija klime prema *Lang*-u.

Tabela 15. Kišni faktor po *Lang*-u

METEO. STANICA	GOD. PADAVINE	SREDNJAGOD. TEMPERATURA	KF
CAZIN	1153	9,6	120
KOSTAJNICA	1004	10,7	94
PRIJEDOR	927	10,7	87
BANJALUKA	1028	10,6	97
BRATUNAC	848	9,7	87
KONJIC	1449	10,8	134

Prema *Lang*-ovom kišnom faktoru (tabela 15) područja Cazina (KF=120) i Konjica (KF=134) imaju humidnu klimu, oblast visokih šuma u kojoj su šume u svom klimatsko-fiziološkom optimumu. Bratunac (KF 87), Prijedor (KF 87), Kostajnica (KF 94) i Banjaluka (KF 97) imaju takođe humidnu klimu, ali se ipak radi o oblasti slabijih šuma.

Tabela 16. Klasifikacija klime prema *Lang*-u

VRIJEDNOST KIŠNOG FAKTORA	OZNAKA KLIME	OBLAST
0-20	ARIDNA	PUSTINJA
20-40	ARIDNA	POLUPUSTINJA
40-60	HUMIDNA	STEPA I SAVANA
60-100	HUMIDNA	SLABE ŠUME
100-160	HUMIDNA	VISOKE ŠUME
> 160	PERHUMIDNA	PUSTARE I TUNDRE

Tip oticanja vode i potreba za navodnjavanjem je određena na osnovu veličine indeksa suše po *DeMartonne*-u koji predstavlja funkciju padavina i temperature vazduha. Indeks suše (ariditeta) prema *DeMartonne*-u određuje se prema sljedećem obrascu I_s=Q/T+10 gdje je Q-godišnja količina padavina u mm; T-srednja godišnja temperatura vazduha u $^{\circ}$C (DUKIĆ 1998).

U istraživanim područjima indeks suše iznosi I_s> 40 (tabela 17), što govori da vlada izraziti egzoreizam (voda od padavina otiče rijekama i odlazi u okean). Oticanje vode je obilno pa navodnjavanje nije potrebno. Sa porastom nadmorske visine opada temperatura vazduha, a visina padavina raste, uslijed čega raste i vrijednost indeksa suše (KAPOVIĆ 2012). Područja istraživanja su izrazito šumska, što predstavlja jedan od osnovnih pokazatelja hidroloških uslova područja.

Tabela 17. Indeks suše po *DeMartonne*-u

METEO. STANICA	GOD. PADAVINE	SREDNJA GOD. TEMPERATURA	I_s
CAZIN	1153	9,6	59
KOSTAJNICA	1004	10,7	48
PRIJEDOR	927	10,7	45
BANJALUKA	1028	10,6	50
BRATUNAC	848	9,7	43
KONJIC	1449	10,8	70

Primjenjen je i metod hidričkog bilansa po *Thornthwaite–Mather*-u gdje se proračun vrši na osnovu prosječne mjesečne vrijednosti temperature i padavina za svaku godinu u periodu 1961-1990 godine. Tabela 18. pokazuje da je na godišnjem nivou klima perhumidnog karaktera u području Cazina i Konjica, a humidna u ostalim analiziranim lokalitetima.

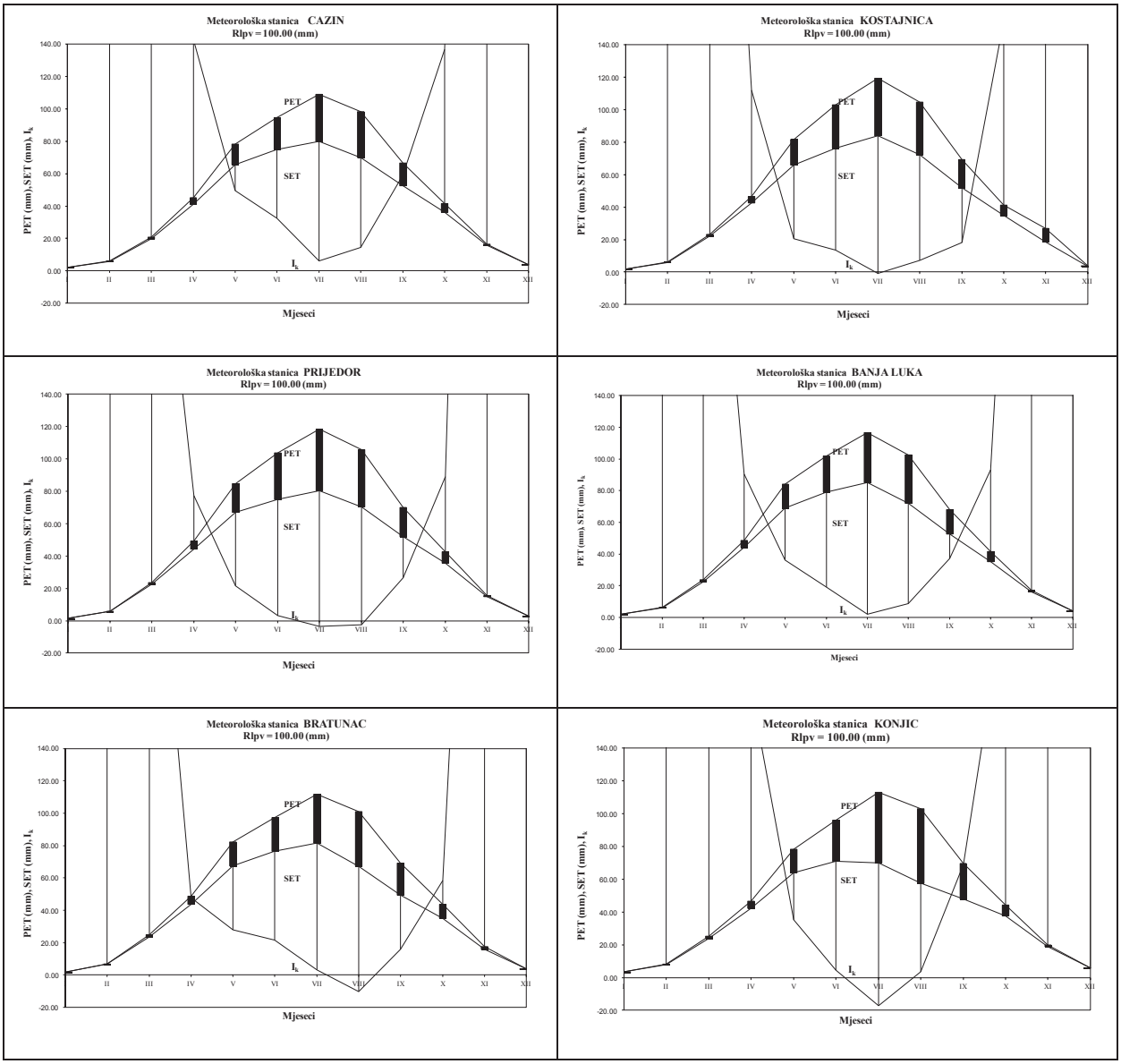
Tabela 18. Klimatski indeksi po *Thornthwaite*-u

METEO. STANICA	I_K	TIP KLIME	VRSTA KLIME
CAZIN	111,2	PERHUMIDNA	-
KOSTAJNICA	75,8	HUMIDNA	UMJERENA
PRIJEDOR	64,9	HUMIDNA	UMJERENA
BANJALUKA	80,5	HUMIDNA	JAKA
BRATUNAC	54,7	HUMIDNA	SREDNJA
KONJIC	153,6	PERHUMIDNA	-

Vrijednosti indeksa klime tokom vegetacionog perioda ukazuju na humidan blag do subhumidan vlažni karakter klime (tabela 19).

Tabela 19. Klimatski indeksi po *Thornthwaite*-u za vegetacioni period

METEO. STANICA	I_K	TIP KLIME	VRSTA KLIME
CAZIN	37,4	HUMIDNA	BLAGA
KOSTAJNICA	17,7	SUBHUMIDNA	VLAŽNA
PRIJEDOR	12,3	SUBHUMIDNA	VLAŽNA
BANJALUKA	23,6	HUMIDNA	BLAGA
BRATUNAC	12,2	SUBHUMIDNA	VLAŽNA
KONJIC	26,9	HUMIDNA	BLAGA



Grafikon 1, 2, 3, 4, 5, 6. Analiza prema *Thornthwaite–Mather*-u za period 1961-1990. po meteorološkim stanicama

Hidrički bilans karakteriše nekoliko parametara. Rezerva biljkama pristupačne vode (R) je ona količina vlage u zemljištu koju zemljište ima pri poljskom vodnom kapacitetu. Kao polazna osnova za izračunavanje hidričkog bilansa po metodu *Thornthwaite-Mather*-a, uzima se R=100 *mm*.

Potencijalna evapotranspiracija (PET**)** je ona količina vode koja bi isparila sa zemljišta i biljnog pokrivača pod uslovom da zemljište zadrži svoju optimalnu vlagu (u svim mjesecima). Stvarna evapotranspiracija (SET) predstavlja onu količinu vlage koja stvarno evapotranspiriše evaporacijom, transpiracijom i intercepcijom. Grafikoni 1-6 prikazuju odnose SET i PET pri čemu se prikazuje i deficit vode u zemljištu (M) koji predstavlja onu količinu biljkama pristupačne vode koja zemljištu nedostaje do poljskog vodnog kapaciteta.

Manjak vode u aktivnom adsorpcionom sloju zemljišta je evidentiran u vegetacionom periodu, ali je najizraženiji tokom jula i avgusta mjeseca. Konjic ima najveći deficit vode u odnosu na ostala područja (jul 43,10 mm i avgust 45,53 mm), a Cazin najmanji (jul 29,13 mm i avgust 28,57 mm). Uprkos činjenici da oba područja imaju humidnu klimu tokom vegetacionog perioda, Cazin ima manju prosječnu temperaturu i veću količinu padavina tokom vegetacionog perioda u odnosu na Konjic, pa mu je i indeks humidnosti veći, a deficit vode slabije izražen. Zemljišta Prijedora imaju sličan hidrički bilans kao zemljišta Banja Luke, sa neznatno većim deficitom vode tokom vegetacije. Područje Kostajnice karakteriše nedostatak vode u julu mjesecu od 35,13 mm i veći je u odnosu na avgust.

Višak vode u zemljištu (V) predstavlja vodu koja pri optimalnoj vlažnosti zemljišta (poljskom vodnom kapacitetu) površinskim i dubinskim tokovima odlazi u vodotoke. Najviše je izražen na području Konjica tokom šest mjeseci (oktobar-mart). Evidentno je da je Konjic najtopliji, ali i istovremeno sa najvećom količinom padavina koja se izluči tokom godine. Međutim, neravnomjeran raspored padavina pri kojem se najveći dio izluči u periodu oktobar-april, je uzrokovalo pojavu viška vode u istom periodu. Bratunac se karakteriše najmanjom prosječnom godišnjom količinom padavina, što uz temperaturni režim čini da se višak vode preko 50 mm javlja samo tokom dva mjeseca godišnje (decembar i januar). U ostalim područjima višak vode preko 60 mm je registrovan uglavnom u periodu novembar-februar.

2.2.4. Klimatski elementi za godine istraživanja

Za analizu temperature vazduha i padavina u istraživanim godinama prikupljeni su podaci prosječnih mjesečnih temperatura vazduha i padavina sa meteoroloških stanica prikazanih u tabeli 20.

Tabela 20. Položaj meteoroloških stanica prikupljenih podataka za 2011 i 2012. godinu

METEOROLOŠKA STANICA	NV /m/	OBJEKAT ISTRAŽIVANJA	
		LOKALITET	NV/m/
CAZIN	376	BU	400
NOVI GRAD	119	KO	360
PRIJEDOR	135	PR	280
BANJALUKA	153	BL	450
SREBRENICA	400	BR	270
AMS GRAČANICA AMS JASENIK	310 1011	KC	680

Podaci za istraživani objekat na području Konjica prikupljeni su sa Automatskih meteoroloških stanica Gračanica i Jasenik koje su podjednako udaljene (10 km) od istraživanog objekta.

Prosječne godišnje temperature vazduha za prvu godinu istraživanja kretale su se od 10,7-11,9°C, a za 2012. godinu vrijednosti su se kretale od 10,7 – 12,5°C (tabela 21.). Prosječne godišnje temperature vazduha kao i prosječne temperature u toku vegetacionog perioda su bile znatno više u 2012. godini u odnosu na prvu godinu istraživanja.

Ukupne sume padavina su u 2012. godini bile znatno više u odnosu na 2011. godinu i kretale su se od 741 mm (Prijedor) do 1076 mm (Cazin-lokalitet Bužim). U 2011. godini najveća količina padavina (ukupna suma padavina) iznosila je 769 mm za područje Bratunca (tabela 22), a najmanja za područje Prijedora 491mm.

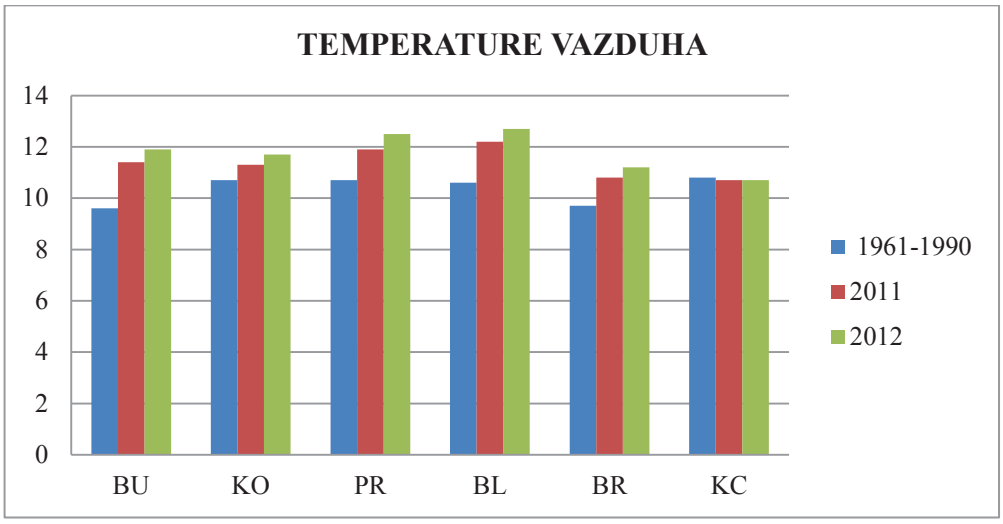
Tabela 21. Prosječne mjesečne temperature vazduha

LOKALITET/GODINA		T_{SR} /°C/													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	SRED	VEG. PERIOD
BUŽIM	2011	1,7	1,1	6,4	12,6	15,4	19,4	21,3	22,2	19,2	10,2	3,3	3,7	**11,4**	**18,4**
	2012	1,8	-3,3	9,1	11,7	15,1	21,8	23,0	23,2	17,0	12,1	9,6	2,0	**11,9**	**18,6**
KOSTAJNICA	2011	1,8	1,4	6,5	12,4	15,4	19,7	21,4	21,7	18,7	9,9	3,2	3,3	**11,3**	**18,2**
	2012	1,2	-3,1	8,8	11,7	15,4	21,4	23,1	22,3	17,3	11,7	9,1	1,3	**11,7**	**18,5**
PRIJEDOR	2011	1,2	1,5	6,9	13,1	16,4	20,8	22,6	23,2	19,7	10,7	3,3	3,2	**11,9**	**19,3**
	2012	1,3	-3,1	9,3	12,4	16,5	22,8	24,8	24,1	18,5	12,3	9,4	1,2	**12,5**	**19,9**
BANJALUKA	2011	1,9	1,7	7,1	13,0	16,0	21,2	23,1	23,7	20,2	11,0	3,1	3,9	**12,2**	**19,5**
	2012	2,0	-2,8	9,3	12,7	16,1	23,0	25,2	24,4	18,9	12,5	9,9	1,3	**12,7**	**20,1**
BRATUNAC	2011	1,0	0,9	5,9	11,8	14,9	19,2	20,2	20,5	18,8	9,8	3,5	3,4	**10,8**	**17,6**
	2012	-0,2	-4,1	7,1	11,1	13,8	20,5	22,7	22,2	17,8	12,4	9,3	1,3	**11,2**	**18,0**
KONJIC	2011	1,2	1,8	5,2	11,0	13,9	18,5	19,4	21,9	18,4	9,2	5,0	2,5	**10,7**	**17,2**
	2012	-0,6	-4,2	7,6	9,4	13,1	20,2	22,4	22,0	17,2	12,0	8,9	0,4	**10,7**	**17,4**

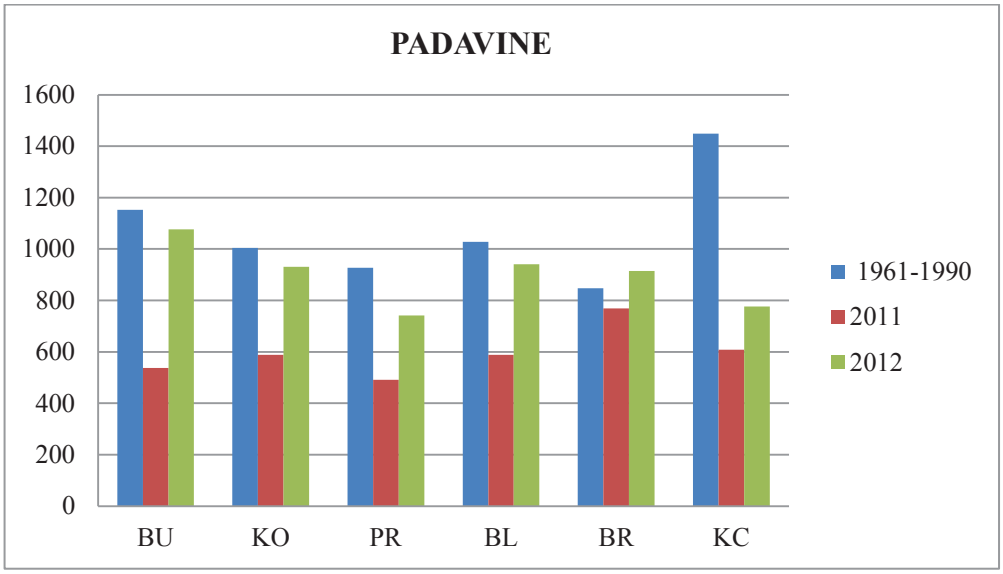
Tabela 22. Prosječne mjesečne količine padavina

LOKALITET/GODINA		P/mm/													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	∑	VEG. PERIOD
BUŽIM	2011	37	19	37	69	62	0	22	31	46	113	7	94	**537**	**230**
	2012	44	57	17	84	154	53	79	18	157	103	122	188	**1076**	**545**
KOSTAJNICA	2011	30	23	35	34	42	99	121	12	40	79	4	70	**589**	**348**
	2012	42	61	21	124	108	82	65	8	97	85	90	148	**931**	**484**
PRIJEDOR	2011	16	14	25	24	39	53	138	20	30	60	3	69	**491**	**304**
	2012	42	46	13	87	116	64	35	1	64	97	70	106	**741**	**367**
BANJALUKA	2011	52	29	34	38	63	37	113	9	26	62	5	121	**589**	**286**
	2012	68	68	5	103	168	70	53	2	92	88	78	146	**941**	**488**
BRATUNAC	2011	37	65	30	47	158	45	142	8	80	60	11	86	**769**	**480**
	2012	135	97	24	90	266	37	14	1	33	49	38	131	**915**	**441**
KONJIC	2011	34	20	58	42	94	4	74	10	36	83	40	113	**608**	**260**
	2012	38	67	4	141	89	11	49	7	47	142	101	80	**776**	**344**

Upoređivanje srednjih temperatuta u godinama istraživanja sa standardnim normalnim vrijednostima (1961-1990) prikazana je na grafikonu 7. Srednje temperature u 2011. i 2012. godini su bile više od standardne normalne vrijednosti (1961-1990) na svim istraživanim lokalitetima sem lokaliteta Konjic gdje su bile jednake.



Grafikon 7. Usporedba srednjih temperatura sa referentnim periodom



Grafikon 8. Usporedba količine padavina sa referentnim periodom

Ukupne količine padavina u obje godine istraživanja su bile manje u odnosu na referentne vrijednosti na 5 istraživanih lokaliteta, dok na lokalitetu Bratunac vrijednosti su bile nešto više u odnosu na referentnu vrijednost (grafikon 8).

U toku vegetacionog perioda prosječne temperature u prvoj godini istraživanja kretale su se od 17,2°C (Konjic) do 19,5°C (Banjaluka), a u drugoj godini istraživanja od 17,4°C (Konjic) do 20,1°C (Banjaluka). U obje godine istraživanja najniže prosječne temperature vazduha u toku vegetacionog perioda zabilježene su na lokalitetu Konjic dok najviše u Banjojluci (tabela 21).

Najviše prosječne temperature u toku vegetacionog perioda u prvoj godini istraživanja zabilježene su na svim lokalitetima u mjesecu avgustu sem na lokalitetu Bužim (julu) dok u drugoj godini istraživanja zabilježene su na svim lokalitetima u mjesecu julu sem lokaliteta Bužim (avgustu).

Količine padavina u vegetacionom periodu za prvu godinu istraživanja kretale su se od 230 mm (Bužim) do 480 mm (Bratunac) dok u drugoj godini istraživanja kretale su se od 344 mm (Konjic) do 545 mm (Bužim), (tabela 22). U toku vegetacionog perioda na lokalitetu Bužim u 2011-toj godini palo je najmanje kiše, dok je u 2012-toj godini palo najviše kiše. Mjeseci sa najviše padavina u toku vegetacionog perioda u 2011-toj godini za lokalitetea Banjaluka, Konjic i Bratunac su maj i jul, za lokalitete Kostajnica i Prijedor su jun i jul, dok za lokalitet Bužim su april i maj. Situacija vezana za količinu padavina u toku vegetacionog perioda je nešto drugačija i količine padavina su bile na svim lokalitetima najviše u mjesecima april i maj sem na lokalitetu Bužim (maj i septembar). Najveća mjesečna količina padavina u toku vegetacionog perioda registrovana je u maju 2012. godine na lokalitetu Bratunac, 266 mm. Bez padavina zabilježen je mjesec jun 2011. godine na lokalitetu Bužim.

2.3. KARAKTERISTIKE ZEMLJIŠTA

U okviru ispitivanja ekoloških osobina pitomog kestena na istraživanim lokalitetima izvršena su pedološka istraživanja morfoloških svojstava, mehaničkog sastava, fizičkih i hemijskih osobina zemljišta. Pedološka istraživanja su izvršena radi utvrđivanja tipova zemljišta kao i njihove varijabilnosti. Otvoreno je ukupno 6 pedoloških profila, na svakom lokalitetu po jedan osnovni profil. Svi profili su analizirani laboratorijskim putem.

2.3.1. Morfološke osobine zemljišta

Morfološka svojstva su prikazana za svaki profil posebno. Za lokalitet Banjaluka na slici 11 dat je izgled pedološkog profila, dok je na slici 12 izgled vegetacije.

Slika 11. Pedološki profil 1 (orig. 2011)

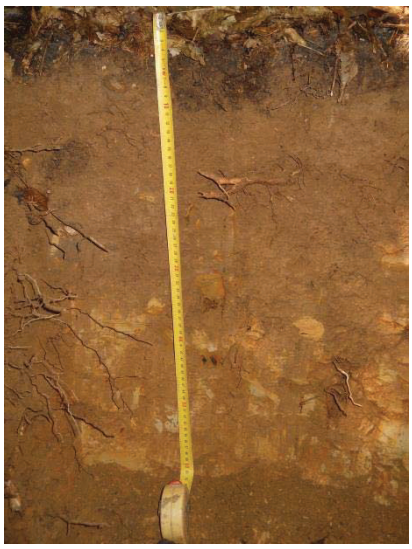
Slika 12. Izgled vegetacije – BL (orig. 2011)

PROFIL BROJ 1:

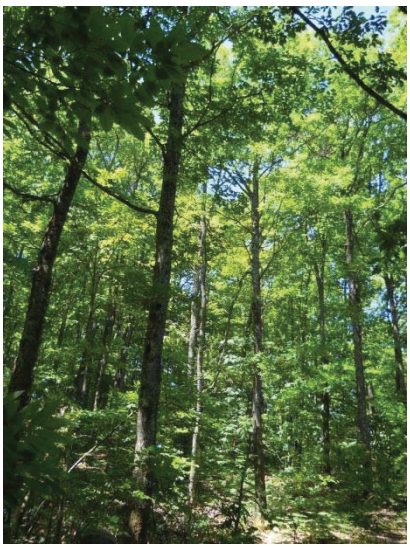
OZNAKA / LOKALNI NAZIV	BL / BOBIJA
PRIVREDNA JEDINICA	KOZARA BANJALUČKA
ODJEL	09
NADMORSKA VISINA	450
EKSPOZICIJA	
NAGIB TERENA	22°
GEOMORFOLOŠKA FORMA	PADINA-SREDINA PADINE
KARAKTER RELJEFA PO IZOHIPSI	UJEDNAČEN
KARAKTER RELJEFA PO NAGIBU	RELATIVNO IZRAŽEN
MIKRORELJEF	RELATIVNO IZRAŽEN
EROZIJA	POVRŠINSKA
STJENOVITOST	DO 5%
KAMENITOST	DO 5%
DRENIRANOST	VISOKA
DUBINA PRODIRANJA KORIJENA /cm/	65 CM
MATIČNI SUPSTRAT	ROŽNJAK

Analizirani pedološki profil dostiže dubinu od 87 cm. Izdvojeni su Olfh, A, E i B horizont. Organogeni horizont dostiže moćnost od 4 cm, sa svim podhorizontima. Ispod njega se nalazi humusno – akumulativni horizont moćnosti svega 7 cm, boje Hue 7.5YR, 4/2 (prema *Munsell*-u). Struktura mu je sferoidnog oblika, sa sitnozrnastim agregatima. Vodopropustljiv je i sa malom količinom oštrobridnog skeleta. Nepravilno i postepeno prelazi u dobro razvijen eluvijalni horizont koji se prostire do dubine od 48 cm, boje Hue 7.5YR, 4/4. Sferoidne je strukture, sa zrnastim agregatima i značajnom količinom skeleta. Na dubini od 48-87 cm razvijen je B horizont kojeg karakteriše povećan sadržaj gline, poliedrični agregati i nešto glinovitija tekstura, ali zahvaljujući visokoj skeletnosti, vodopropustljivost je dobra i nema suvišnog zastoja vode.

Prema Klasifikaciji zemljišta Jugoslavije (ŠKORIĆ ET AL. 1985) analizirani profil pripada tipu **ilimerizovano zemljište, podtip na silikatima**.



Slika 13. Pedološki profil 2 (orig. 2011)



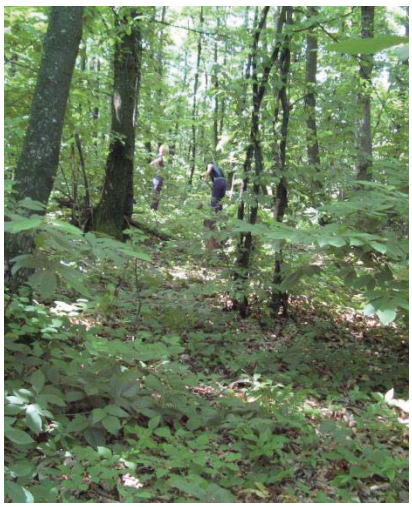
Slika 14. Izgled vegetacije – PR (orig. 2011)

PROFIL BROJ 2:

OZNAKA / LOKALNI NAZIV	PR / RASAVCI
PRIVREDNA JEDINICA	VOLAR-LJUBIJA
ODJEL	11
NADMORSKA VISINA	280
EKSPOZICIJA	JUGOISTOK
NAGIB TERENA	21
GEOMORFOLOŠKA FORMA	PADINA-SREDINA PADINE
KARAKTER RELJEFA PO IZOHIPSI	SLABO IZRAŽEN
KARAKTER RELJEFA PO NAGIBU	UJEDNAČEN
MIKRORELJEF	NIJE IZRAŽEN
EROZIJA	SLABA POVRŠINSKA
STJENOVITOST	0
KAMENITOST	0
DRENIRANOST	VISOKA
DUBINA PRODIRANJA KORIJENA /cm/	52 cm
MATIČNI SUPSTRAT	PJEŠČAR

Na slici 13 prikazan je izgled pedološkog profila i izgled vegetacije (slika 14) populacije Prijedor. Ukupna dubina analiziranog zemljišta iznosi 61 cm. Izdvojeni su Olfh, A, (B) i C_1 horizonti. Organogeni horizont ima moćnost 5 cm. Humusno-akumulativni horizont se prostire na dubini 5-13 cm, boja je Hue 10YR, 4/4, sa neznatnim sadržajem sitnog i oštrobridnog skeleta. Struktura je sferoidna, veličine zrna. Vodopropustljiv je i rastresit. Postepeno prelazi u kambični horizont, moćnosti 27 cm, boje Hue 10YR, ¾, krupno zrnastih strukturnih agregata i sa znatno većom količinom skeleta. Takođe je vodopropustljiv i rastresit. Na dubini od 40 cm počinje horizont rastresitog dijela supstrata koji doseže do 61 cm. Prema Klasifikaciji zemljišta Jugoslavije (ŠKORIĆ ET AL. 1985) analizirani profil pripada tipu **distrično smeđe zemljište, podtip tipično**.

Slika 15. Pedološki profil 3 (orig. 2011)



Slika 16. Izgled vegetacije – KO (orig. 2011)

PROFIL BROJ 3:

OZNAKA / LOKALNI NAZIV	KO / GRABLJIVA KOSA
PRIVREDNA JEDINICA	PASTIREVO
ODJEL	14/1
NADMORSKA VISINA	360
EKSPOZICIJA	JUGOISTOK
NAGIB TERENA	7
GEOMORFOLOŠKA FORMA	ZARAVAN-PLATO
KARAKTER RELJEFA PO IZOHIPSI	UJEDNAČEN
KARAKTER RELJEFA PO NAGIBA	SLABO IZRAŽEN
MIKRORELJEF	NIJE IZRAŽEN
EROZIJA	NEMA
STJENOVITOST	0
KAMENITOST	0
DRENIRANOST	RELATIVNO DOBRA
DUBINA PRODIRANJA KORIJENA / cm /	65
MATIČNI SUPSTRAT	PJEŠČAR

Na slici 15 prikazan je izgled pedološkog profila i izgled vegetacije (slika 16) populacije Kostajnica. Pedološki profil dostiže dubinu od 80 cm, sa horizontima Olfh–A–(B)-C_1. Organogeni horizont je slabije razvijen, pravilno i difuzno prelazi u humusno akumulativni čija je moćnost 10 cm. Boja mu je Hue 7YR, 4/3. Karakterišu ga zrnasti i relativno nestabilni strukturni agregati. Nepravilno prelazi u kambični horizont čija je moćnost 20 cm, struktura sferoidna i krupno zrnasta, a boja Hue 10YR, 5/4. Na dubini od 34 cm počinje C_1 koji ima smanjenu vodopropustljivost u odnosu na horizonte iznad, boje je Hue 10YR, 4/6, i karakteriše ga krupno zrnasta struktura. Prema Klasifikaciji zemljišta Jugoslavije (ŠKORIĆ ET AL. 1985) analizirani profil pripada tipu **distrično smeđe zemljište, podtip tipično**.

Slika 17. Pedološki profil 4 (orig. 2011)

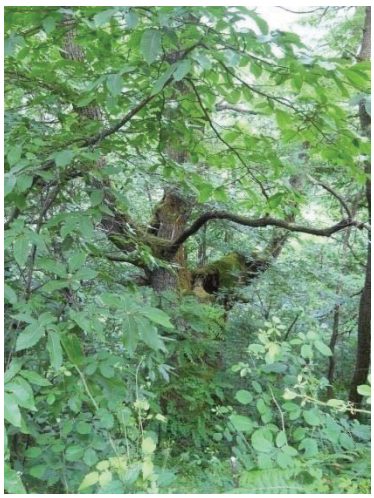
Slika 18. Izgled vegetacije – BU (orig. 2011)

PROFIL BROJ 4:

OZNAKA / LOKALNI NAZIV	BU / BRADAREVAC
PRIVREDNA JEDINICA	GLINICA
ODJEL	74
NADMORSKA VISINA	400
EKSPOZICIJA	SJEVEROZAPAD
NAGIBTERENA	24
GEOMORFOLOŠKA FORMA	PADINA-SREDINA
KARAKTER RELJEFA PO IZOHIPSI	UJEDNAČEN
KARAKTER RELJEFA PO NAGIBU	UJEDNAČEN
MIKRORELJEF	NIJE IZRAŽEN
EROZIJA	NEMA
STJENOVITOST	0
KAMENITOST	0
DRENIRANOST	VISOKA
DUBINA PRODIRANJA KORIJENA / cm /	62 cm
MATIČNI SUPSTRAT	ROŽNJAK

Izgled pedološkog profila (slika 17) i vegetacije (slika 18) istraživane populacije Bužim. Ukupna dubina zemljišta iznosi 87 cm sa svim razvijenim horizontima tipičnim za luvisol. Zemljište karakteriše organogeni horizont moćnosti 6 cm sa svim podhorizontima. Nepravilno prelazi u A horizont. Humusno-akumulativni horizont doseže do dubine od 11 cm (ima moćnost 5cm). Boja mu je Hue 10YR, 3/3 (prema *Munsell*-u). Sadrži malo sitnog skeleta, zrnaste je strukture i rastresit je. Postepeno prelazi u eluvijalni horizont čija je moćnost 22 cm. Boja mu je Hue 7.5YR, 4/4, ispran je i skeletan. Ima graškaste strukturne agregate. Iluvijalni horizont je veoma dobro razvijen, moćnosti 54 cm, boja Hue 7.5YR, 4/4. Uprkos glinovitoj teksturi, zemljište je u dubljim partijama veoma skeletno, što ga čini relativno vodopropustljivim. Prema Klasifikaciji zemljišta Jugoslavije (ŠKORIĆ ET AL. 1985) analizirani profil pripada tipu **ilimerizovano zemljište, podtip na silikatima**.

Slika 19. Pedološki profil 5 (orig. 2011)



Slika 20. Izgled vegetacije – KC (orig. 2011)

PROFIL BROJ 5:

OZNAKA / LOKALNI NAZIV	KC / LOKVE
PRIVREDNA JEDINICA	-
ODJEL	-
NADMORSKA VISINA	682
EKSPOZICIJA	SJEVER
NAGIB TERENA	28°
GEOMORFOLOŠKA FORMA	STRMA PADINA - SREDINA
KARAKTER RELJEFA PO IZOHIPSI	UJEDNAČEN
KARAKTER RELJEFA PO NAGIBU	UJEDNAČEN
MIKRORELJEF	SLABO IZRAŽEN
EROZIJA	POVRŠINSKA
STJENOVITOST	0%
KAMENITOST	DO 10%
DRENIRANOST	VISOKA
DUBINA PRODIRANJA KORIJENA / cm /	58 cm
MATIČNI SUPSTRAT	VERFENSKI SEDIMENTI (PJEŠČARI-GLINCI)

Na slici 19 prikazan je izgled pedološkog profila i na slici 20 izgled vegetacije istraživane populacije Konjic. Profil dostiže dubinu od 89 cm, a fiziološki je aktivan do 58 cm. Organogeni horizont ima moćnost 7 cm, oštro i nepravilno prelazi u humusno-akumulativni moćnosti svega 5 cm. Boja mu je 10 YR, 2/1. Struktura je zrnasta i slabo izražena. U donjem dijelu postepeno i nepravilno prelazi u kambični horizont čija je moćnost 38 cm. Boja mu je 10 YR, 3/6. Veoma je skeletan do propustljiv, graškastih strukturnih agregata, stabilnih na dodir. Na dubini od 50 cm nastaje horizont rastresitog matičnog supstrata C_1, takođe veoma skeletan i dobro razvijen. Prostire se do 89 cm i ima dobru vodopropustljivost.

Prema Klasifikaciji zemljišta Jugoslavije (ŠKORIĆ ET AL. 1985) analizirani profil pripada tipu **eutrično smeđe zemljište, podtip tipično.**

Slika 21. Pedološki profil 6 (orig. 2011)

Slika 22. Izgled vegetacije – BR (orig. 2011)

PROFIL BROJ 6:

OZNAKA / LOKALNI NAZIV	BR / BJELOVAC
PRIVREDNA JEDINICA	SASE-ŽABOKVICA
ODJEL	214
NADMORSKA VISINA	150
EKSPOZICIJA	SJEVEROISTOK
NAGIB TERENA	38°
GEOMORFOLOŠKA FORMA	VEOMA STRMA PADINA (DNO PADINE)
KARAKTER RELJEFA PO IZOHIPSI	RELATIVNO IZRAŽEN
KARAKTER RELJEFA PO NAGIBU	UJEDNAČEN
MIKRORELJEF	IZRAŽEN
EROZIJA	POVRŠINSKA (U KRPAMA)
STJENOVITOST	0%
KAMENITOST	0%
DRENIRANOST	VEOMA VISOKA
DUBINA PRODIRANJA KORIJENA / cm /	21 cm
MATIČNI SUPSTRAT	ARGILOŠISTI-ŠKRILJAVI GLINCI

Izgled profila prikazan je na slici 21 i vegetacije na slici 22 za populaciju Bratunac. Ukupna dubina analiziranog profila iznosi svega 16 cm, s tim što korijenje prodire do dubine od 21 cm. Moćnost organogenog horizonta je 6 cm, sa polurazloženim i dobro razloženim organskim ostacima. Razvijen je tanak humusno-akumulativni horizont (4 cm) koji oštro i nepravilno prelazi u horizont rastresitog matičnog supstrata. Boja A horizonta je Hue 7 YR, 2/3. Veoma je skeletan i rastresit. Strukturni agregati imaju veličinu zrna i relativno su stabilni na dodir. Horizont rastresitog matičnog supstrata ima moćnost 6 cm i boju Hue 7 YR, 4/1. Profil je fiziološki aktivan cijelom dubinom. Prema Klasifikaciji zemljišta Jugoslavije (ŠKORIĆ ET AL. 1985) analizirani profil pripada tipu **ranker, podtip distrični.**

2.3.2. Fizičke i hemijske osobine zemljišta

U tabeli 23 i 24 su prikazane fizičke i hemijske osobine svakog od proučenih tipova zemljišta i njihove varijabilnosti.

Luvisol (ilimerizovano zemljište) na silikatima

Razvijeni su na silikatnim supstratima i to rožnjacima (profil 1) te rožnjak – kvarcitu (profil 4). Karakterišu ih dobro razvijeni osnovni genetički horizonti. Ukupna dubina ima je iznad 80 cm, što ih svrstava u vrlo duboka zemljišta.

Kiselost im neznatno raste sa dubinom. Sadržaj humusa je iznad 5% u humusno – akumulativnom horizontu. Naglo opada sa dubinom. Stepen zasićenosti bazama je relativno nizak, ali u profilu broj 1 raste sa dubinom, pa u iluvijalnom horizontu dostiže više od 50%. Suma baza je takođe veoma niska što je u korelaciji sa siromaštvom supstrata (rožnjak), ali i karakterom humusa. Hidrolitička kiselost opada sa dubinom i njena vrijednost je najveća u A horizontu. Snabdjevenost hranljivima je takođe vezana za površinske dijelove profila, odnosno sadržaj je vezan više za organsku materiju nego za matični supstrat. Sadržaj azota ne prelazi 0,30% i skoncentrisan je u humusno akumulativnom horizontu. Fosfor je deficitaran, dok kalijuma ima dovoljno. Eluvijalni horizont je ispran i siromašniji od oba horizonta sa kojima graniči. Prisutno je teksturno diferenciranje profila.

Distrični kambisol (kiselo smeđe zemljište)

Razvijeni su na pješčarima. Analizirani profili (profil 2 i profil 3) su srednje do vrlo duboki. Stepen zasićenosti bazama je ispod 35%, a suma baza ne prelazi 12 cmol/kg. Nezasićenost adsorptivnog komplesa kiselog smeđeg zemljišta je evidentna. Vrijednost hidrolitičke kiselosti je ujednačena cijelom dubinom kao i totalni kapacitet adsorpcije. Sadržaj humusa je relativno nizak (do 4%) u humusno-akumulativnom horizontu. Karakter humusa je uticao na veoma slabu obezbjeđenost azotom i fosforom. Kalijuma ima dovoljno. Tekstura kiselog smeđeg zemljišta je ilovasta.

Eutrični kambisol

Eutrični kambisol (profil 5) je razvijen na crvenom pješčaru – glincu i dostiže dubinu od 90 cm, sa dobro razvijenim horizontom C1. Aktivna kiselost se smanjuje sa dubinom i kreće se u intervalu 5,77 – 5,96. Sadržaj humusa je 5,45%, pa je i stepen zasićenosti bazama najveći u A horizontu, kao i suma baza te totalni kapacitet adsorpcije. Uticaj organomineralnog kompleksa (humusa) na adsorptivni kompleks zemljišta je veoma izražen. Sadržaj ugljenika i azota je najveći takođe u A horizontu. Biljkama pristupačnog fosfora nedostaje, a snabdjevenost kalijumom je zadovoljavajuća. Tekstura je pjeskovito ilovasta do ilovasta.

Ranker

Razvijen je na argilošistima – škriljavim glincima (profil 6). Zemljište dostiže ukupnu dubinu od 16 cm. Karakteriše ga visok sadržaj skeleta, koji se veoma lako raspada. Imajući u vidu da ranker spada u humusno – akumulativna zemljišta, koja pored ostalog karakteriše i visok sadržaj humusa, u ovom slučaju je situacija nešto drugačija. Naime, uslijed velikog nagiba te makroskopski prisutne erozije zemljišta, organska materija se kontinuirano odnosi što se reflektuje na nizak sadržaj humusa, a i njegov karakter. Zemljište je veoma kiselo. Humusa ima oko 5%, ali je stepen zasićenosti bazama i suma baza jednaka nuli. Ovaj primjer nam potvrđuje činjenicu da količina humusa, ne znači nužno i njegov kvalitet. Očito se radi o kiselom humusu, koji dodatno osiromašuje adsorptivni kompleks ionako siromašnog zemljišta. Hidrolitička kiselost je visoka u A horizontu, a sa dubinom se neznatno smanjuje. Snabdjevenost hranljivima je niska. Tekstura je ilovasta.

Tabela 23. Fizička svojstva zemljišta

Lokalitet	Broj profila	Tip	Horizont	Dubina	Higr. voda /%/	Granulometrijski sastav zemljišta /%/								Tekst. klasa
						2,0-0,2	0,2-0,06	0,06-0,02	0,02-0,006	0.006-0,002	manje od 0,002	Ukupan		
						mm	mm	mm	mm	mm	mm	Pijesak	Glina	
BL	1	Luvisol	A	4-11	1,99	9,50	10,80	20,10	33,60	10,90	15,10	40,40	59,60	Ilovača
			E	11-48	1,61	4,40	4,80	21,30	34,80	13,00	21,70	30,50	69,50	Ilovača
			B	48-87	2,35	4,20	1,90	19,00	28,50	11,60	34,80	25,10	74,90	Glinovita ilovača
PR	2	Distrični kambisol	A	5-13	1,73	5,30	5,20	27,80	33,50	12,00	16,20	38,30	61,70	Ilovača
			(B)	13-40	1,52	2,40	4,50	26,90	33,60	11,30	21,30	33,80	66,20	Ilovača
			C1	40-60	1,64	4,30	6,40	24,90	25,80	12,30	26,30	35,60	64,40	Ilovača
KO	3	Distrični kambisol	A	5-15	1,82	1,70	10,20	32,10	32,30	9,50	14,20	44,00	56,00	Ilovača
			(B)	15-30	2,07	1,40	7,70	25,50	27,00	10,50	27,90	34,60	65,40	Ilovača
			(B)1	30-80	2,33	5,50	20,70	21,20	19,00	10,50	23,10	47,40	52,60	Ilovača
BU	4	Luvisol	A	5-10	2,15	12,80	5,50	22,70	33,80	10,10	15,10	41,00	59,00	Ilovača
			E	15-30	1,86	9,20	2,60	20,50	38,00	12,20	17,50	32,30	67,70	Praškasta ilovača
			B	35-80	1,77	8,60	1,30	18,70	31,40	12,10	27,90	28,60	71,40	Glinovita ilovača
KC	5	Eutrični kambisol	A	7-12	1,68	32,00	13,90	13,40	17,50	8,10	15,10	59,30	40,70	Pjeskovita ilovača
			(B)	12-50	1,19	29,00	12,60	8,20	18,30	11,30	20,60	49,80	50,20	Ilovača
			(B)1	50-90	1,08	23,90	18,30	5,70	17,20	10,90	24,00	47,90	52,10	Ilovača
BR	6	Ranker	A	6-10	1,41	17,10	25,20	7,40	25,30	10,90	14,10	49,70	50,30	Ilovača
			A1	10-16	1,14	14,00	27,70	6,70	25,10	11,40	15,10	48,40	51,60	Ilovača

Tabela 24. Hemijska svojstva zemljišta

Lokalitet	Broj profila	Tip	Horizonti	Dubina	pH		Y1 mL NaOH/ 50g	Adsorptivni kompleks			V	Humus	C	N	C/N	Lako pristupačni	
								(T-S)	S	T						P_2O_5	K_2O
					H_2O	$CaCl_2$		cmol/kg			/%/	/%/	/%/	/%/		mg/100g	
BL	1	Luvisol	A	4-11	5,10	4,15	36,09	23,46	5,40	28,86	18,71	5,05	2,93	0,20	14,6	1,80	21,50
			E	11-48	5,62	4,40	19,50	12,68	6,00	18,68	32,12	1,39	0,81	-	-	-	7,90
			B	48-87	5,85	4,72	13,00	8,45	9,80	18,25	53,70	0,53	0,31	-	-	-	16,50
PR	2	Distrični kambisol	A	5-13	4,90	3,90	36,00	23,40	3,20	26,60	12,03	3,12	1,81	0,14	12,9	1,00	10,50
			(B)	13-40	4,84	3,88	33,50	21,78	1,80	23,58	7,63	1,66	0,96	-	-	0,20	5,60
			C1	40-60	5,00	3,84	35,41	23,02	2,40	25,42	9,44	1,00	0,58	-	-	-	6,40
KO	3	Distrični kambisol	A	5-15	5,40	4,45	32,29	20,99	9,20	30,19	30,47	3,60	2,09	0,15	13,9	1,20	18,20
			(B)	15-30	5,26	3,97	33,50	21,78	6,40	28,18	22,71	0,84	0,49	-	-	0,20	10,50
			(B)1	30-80	5,20	3,92	38,50	25,03	11,80	36,83	32,04	0,35	0,21	-	-	0,20	6,60
BU	4	Luvisol	A	5-10	5,06	4,04	41,66	27,08	5,60	32,68	17,14	5,29	3,07	0,21	14,6	4,00	19,40
			E	15-30	5,16	3,98	37,00	24,05	3,40	27,45	12,39	2,90	1,68	0,15	11,2	1,30	10,50
			B	35-80	5,16	4,04	28,00	18,20	2,80	21,00	13,33	0,97	0,56	-	-	0,50	7,00
KC	5	Eutrični kambisol	A	7-12	5,96	4,98	20,00	13,00	10,40	23,40	44,44	5,45	3,16	0,25	12,6	2,20	21,00
			(B)	12-50	5,77	4,43	17,50	11,38	3,00	14,38	20,86	0,95	0,55	-	-	0,20	11,20
			(B)1	50-90	6,46	5,17	8,50	5,53	3,80	9,33	40,73	0,48	0,28	-	-	-	9,10
BR	6	Ranker	A	6-10	4,22	3,52	45,61	29,65	0,00	29,65	0,00	5,76	3,34	0,27	12,4	1,90	9,50
			A1	10-16	4,30	3,55	38,50	25,03	0,00	25,03	0,00	2,55	1,48	0,14	10,6	1,20	6,00

2.4. FITOCENOLOŠKE KARAKTERISTIKE

Šume pitomog kestena u Bosni i Hercegovini imaju isprekidan areal. Najveće površine (oko 7.000 ha) nalaze se u Bosanskoj Krajini Ilirske flornogeografske provincije, dok znatno manje površine nalazimo u istočnoj i sjeveroistočnoj Bosni (800 ha) prelazne Ilirsko-Mezijske provincije te na tek oko 200 ha u dolini Neretve u Hercegovini, koje leži u istočnomediteranskoj provinciji Mediteranskog regiona (SUČIĆ 1953, GLIŠIĆ 1954, 1975, STUPAR ET AL. 2014). Da bi se, za potrebe ovog rada, obuhvatio genetski potencijal pitomog kestena u Bosni i Hercegovini, analizirane su površine na svim područjima gdje se nalaze šume pitomog kestena, odnosno u kojima je pitomi kesten jedan od edifikatora. Kod osnivanja ogleda vodilo se računa o zastupljenosti, kako geografske tako i ekološke različitosti staništa pitomog kestena. U tom smislu dat je pregled ekoloških karakteristika i geografski položaj oglednih površina (tabela 25).

Fitocenologija i sintaksonomija kestenovih šuma naročito je interesantna i još nedovoljno riješen problem u Bosni i Hercegovini, ali i na cijelom arealu ove vrste. Osim Male Azije, pradomovine vrste (KETENOGLU ET AL. 2010), smatra se da je kesten u Evropi autohton na Balkanskom i Apeninskom poluostrvu (JALAS I SUOMINEN 1976). Obzirom na njegovu dosta široku ekološku amplitudu, po pitanju skoro svih osnovnih ekoloških faktora, kesten gradi veoma heterogene fitocenoze: od kserofilnih, heliofilnih i termofilnih u području Mediterana i ostrva Egejskog mora do mezofilnih, poluskiofilnih i mezotermnih dublje u kontinentu zapadnog Balkana. U pogledu zahtjeva za reakciju zemljišta registrovane su acidofilne i neutrofilne kestenove šume, koje su značajno sintaksonomski udaljene. Heterogenosti njegovih sastojina doprinosi činjenica da je zbog kvaliteta drveta i jestivih plodova često sađen još u doba Rimskog carstva, te je danas teško razlučiti koje sastojine su zapravo prirodne, a koje zaostavštine prastarih kultura u kojima se kesten odomaćio, naročito ako je riječ o kulturama u okviru prirodnog areala vrste. Pitomi kesten jedino ne podnosi hladne klimate, iako su neke kulture uspješno podignute čak i na obali Baltičkog mora u Poljskoj (HALTOFOVA I JANKOVSKY 2003).

Za sintaksonomiju kestenovih šuma važnu ulogu igraju orografski i edafski faktori. Na dubokim kiselim zemljištima, najčešće distričnom kambisolu, te silikatnim podlogama (na kojima zemljište može biti i plitko) razvijaju se acidofilne kestenove šume, za razliku od mezofilnih koje su najčešće razvijene na zemljištima drugačijeg tipa, najčešće eutričnom kambisolu ili luvisolu. Takođe, na sjevernim padinama kesten se javlja u zajednici sa bukvom i običnim grabom, gdje u zavisnosti od omjera smjese i karakteristične kombinacije biljnih vrsta uglavnom govorimo o kestenovim šumama sa bukvom ili o bukovim šumama sa

kestenom. Na južnim padinama i grebenima kesten se udružuje najčešće sa kitnjakom ili obrazuje čiste sastojine, koje su po pravilu kserofilnije i termofilnije.

Pored osnovnih abiotičkih faktora, naročit uticaj na sastav i građu fitocenoza sa pitomim kestenom ima snažno i intenzivno djelovanje čovjeka i u njegovim prirodnim sastojinama. Gazdovanje ovim šumama, koje se do skoro sastojalo u primjeni čistih sječa, je izazvalo velike i lako uočljive promjene. Sječom sjemenskih stabala pitomog kestena, kitnjaka, bukve i drugih vrsta drveća, visoke šume su pretvorene u izdanačke, i takve danas dominiraju u cijelom arealu kestena u BiH. Osim što je često izmjenjen omjer smjese vrsta drveća u smislu većeg učešća običnog graba, naročito u blizini naselja, sastojine su u prizemnom sloju često zakorovljene te normalno podmlađivanje šume ometa dominacija ostruge (*Rubus hirtus*) ili bujadi (*Pteridium aquilinum*). Takođe, uslijed ugroženosti pitomog kestena kao vrste, zbog raka kestenove kore, učešće kestena kao edifikatora može biti značajno smanjeno.

Poseban i krucijalan problem fitocenologije šuma sa pitomim kestenom u Bosni i Hercegovini je njihova nedovoljno razjašnjena sintaksonomija i nomenklatura. Iako je isti problem u Hrvatskoj razrađen i razlučen (MEDAK 2009, 2011), čime je djelimično razriješena i problematika kestenovih šuma na zapadu areala u BiH (STUPAR 2014), ista problematika izolovanih šuma kestena u području gornje Neretve kao i sa istoka i sjeveroistoka BiH ostala je do donas aktuelna. Iako su pokušaji raščlanjenja šuma pitomog kestena u BiH (WRABER 1958, MACANOVIĆ 2012) dali doprinos poznavanju heterogenosti kestenovih šuma, oni ipak pitanje nomenklature niti sintaksonomije nisu doticali niti rješavali. Zbog toga i danas imamo u upotrebi nevalidne nazive fitocenoza kao što su: *Querceto-Castanetum hercegovinicum* Wraber 1958, *Querceto-Castanetum croaticum* Horvat 1938 itd. Obzirom na prirodu ovog rada nismo se upuštali u detaljnije sintaksonomske analize kestenovih šuma te smo zadržali ustaljene nazive, bez obzira na njihovu (ne)validnost.

Tabela 25. Ekološke karakteristike ispitivanih sastojina sa pitomim kestenom

OBJEKAT / REALNA VEGETACIJA	NADMO-RSKA VISINA /m/	NAGIB/ EKSPOZICIJA	GEOLOŠKA PODLOGA	TIP ZEMLJIŠTA	PODTIP/ VARIJETET	SREDNJE GOD. TEMPE./ PADAVINE	FITOCENOZA / ASOSCIJACIJA
KOSTAJNICA/ Izdanačke šume pitomog kestena	360	0-7 ravno	Pješčar	Distrični kambisol	Ilimerizovano duboko	10,7 / 1004	*Aposeridi foetidae-Castaneetum sativae* Medak 2011
PRIJEDOR/ Izdanačke šume pitomog kestena	280-315	21 SE	Subgrauv. pješčari	Distrični kambisol	Tipičan, skeletan	10,7/ 927	*Aposeridi foetidae-Castaneetum sativae* Medak 2011
BANJALUKA/ Šume pitomog kestena sa bukvom	450	22 NW	Rožnjaci	Luvisol	Tipičan ilovast, srednje dubok	10,6/ 1028	*Castaneo sativae-Fagetum* Mar.et Zup. (1979) 1995
BUŽIM/ Šuma pitomog kestena sa bukvom i običnim grabom	400	16 NW	Rožnjaci	Luvisol	Na silikatnim stijenama, oglejen	9,6/ 1153	*Aposeridi foetidae-Castaneetum sativae* Medak 2011
KONJIC/ Termofilne šume pitomog kestena	680	W; NW 28	Crveni pješčari i glinci	Eutrični kambisol	Tipičan, dubok	10,8/ 1449	*Helleboro multifidi-Castaneetum sativae* Medak 2009
BRATUNAC/ Degradirana šuma pitomog kestena sa običnim grabom	180-270	NE 37-42	Filiti	Ranker	Distrični regolit, ilovast	9,7/ 848	*Aposeridi foetidae-Castaneetum sativae* Medak 2011

Tipovi zemljišta na analiziranim površinama uglavnom pripadaju skupini kiselih zemljišta (distrični kambisol i luvisoli), osim na jednoj sa eutričnim kambisolom (Konjic). Svojstva distričnih kambisola su u velikoj mjeri zavisna od matičnih supstrata, sa čim je u vezi i plodnost datog podtipa, varijeteta ili forme distričnih kambisola.

Sintaksonomska pripadnost šuma pitomog kestena prikazana je sljedećom sintaksonomskom šemom (prema VUKELIĆ 2012):

QUERCO-FAGETEA Br.-Bl. et Vlieger 1937

Fagetalia sylvaticae Pawl. 1928

Erythronio-Carpinion betuli (Horvat 1938) Marinček 1993

Epimedio-Carpinetum betuli (Horvat 1938) Borhidi 1963 subass. *castaneetosum sativae* Wraber 1958

(ilirske šume kitnjaka i graba sa pitomim kestenom)

Fagion sylvaticae Laquet 1926

Castaneo sativae-Fagetum Marinček et Zupančič (1979) 1995

(mezo-acidofilne šume bukve sa pitomim kestenom)

Aremonio-Fagion (Horvat 1938) Borhidi 1989

Aposeridi foetidae-Castaneetum sativae Medak 2011

(mezofilne šume pitomog kestena)

Quercetalia robori-petraeae Tx. (1931) 1937

Quercion robori-petraeae Br.-Bl. 1932

Querco-Castaneetum sativae Horvat 1938

(acidofilne šume pitomog kestena i kitnjaka)

Quercetalia pubescentis Klika 1933

Quercion pubescenti-petraeae Br.-Bl. 1932

Helleboro multifidi-Castaneetum sativae Medak 2009

(termofilne šume pitomog kestena submediterana i mediterana)

Preliminarnom fitocenološkom analizom ustanovljeno je da analizirane površine pripadaju sljedećim asocijacijama:

Castaneo sativae-Fagetum Marinček et Zupančič (1979) 1995. Analizirana površina - BL iz Banjalučkog gazdinstva po florističkom sastavu najviše odgovara ovoj asocijaciji. Obzirom na vegetacijske karakteristike planine Kozare, gdje je analizirana površina, navedena asocijacija tipično je razvijena u pojasu između brdskih termoacidofilnih kitnjakovih šuma *Potentillo micranthae-Quercetum* Vukelić et al. ex Vukelić, Baričević et Šapić 2015 (u kojima se ponekad u manjem obimu i sa manjim dijagnostičkim značajem javlja pitomi kesten) prema mezo-acidofilnim šumama bukve srednje evropskog tipa, što je

praktično pravilo pojavljivanja ove zajednice i na ostrvskim planinama susjedne Hrvatske (VUKELIĆ 2012). Prelazne odlike ove fitocenoze vidljive su kroz značajno prisustvo i kombinaciju acidofilnih, termofilnih i mezofilnih biljnih vrsta, što je tipično za pomenutu asocijaciju. Sprat drveća obrazuju pitomi kesten, kitnjak i bukva, sa značajnijim prisustvom trešnje, dok u spratu grmlja dominira termofilni crni jasen (*Fraxinus ornus*). Od acidofilnih vrsta pojavljuju se samo *Luzula luzuloides, Melampyrum pratense* i mahovina *Polytrichum formosum*; u prizemnom sloju dominira bujad (*Pteridium aquilinum*), dok visoku zastupljenost imaju vrste mezofilnih bukovih šuma (*Aposeris foetida, Anemone nemorosa, Symphytum tuberosum, Pulmonaria officinalis, Sanicula europaea, Aremonia agrimonoides* itd), kao i termo-acidofilnih šuma kitnjaka (*Festuca heterophylla, Potentilla micrantha, Melittis melissophyllum* itd.)

Aposeridi foetidae-Castanetum sativae Medak 2011. Ova mezofilna ilirska zajednica šuma pitomog kestena izgleda da je najzastupljenija u prostranim šumama sjeverozapadne Bosne. Praktično sve studirane sastojine iz ovog dijela države pripadaju ovoj zajednici, i to njenoj osiromašenoj varijanti sa dominacijom *Rubus hirtus*, koja je rezultat istorijata gazdovanja, kao i trenutnog sistema gazdovanja ovim šumama, kao što su to ustanovili i STUPAR ET AL. (2014). Asocijacija je razvijena na blago kiselim do neutralnim zemljištima (luvisol, distrični kambisol), zbog čega izostaju tipične acidofilne biljke (*Vaccinium myrtillus, Hieracium racemosum, Calluna vulgaris, Melampyrum pratense, Veronica officinalis* i dr.), a pojavljuju se dijagnostičke *Galeopsis tetrahit, Aposeris foetida* i *Circaea lutetiana*, kao i druge vrste koje opravdavaju svrstavanje ovih šuma u ilirske: *Fraxinus ornus, Primula vulgaris, Aposeris foetida* i *Potentilla micrantha*. Izostanak drugih vrsta ilirske provincije pripisuje se jakoj zakorovljenosti ostrugom u skoro svim analiziranim sastojinama. Kao što je to i tipično za ovu asocijaciju, sastav grmlja je prilično bogat, a česte su i redovne vrste mezofilnih bukovih šuma. Ovoj asocijaciji pripadaju površine iz Prijedora, Kostajnice i Bužima. Analizirana površina kod Bratunca takođe ima neke odlike ove asocijacije, gdje smo je privremeno i svrstali. Ipak, treba naglasiti da je posljednja sastojina ekstremno degradirana i izuzetno siromašnog florističkog sastava (svega 14 vrsta), što otežava njen jasniji sintaksonomski položaj, dok je njeno pojavljivanje na granici ilirske i mezijske provincije pojava koju tek treba istražiti analizirajući veći broj tipičnije razvijenih sastojina.

Helleboro multifidi-Castaneetum sativae Medak 2009. ovoj asocijaciji pripadaju analizirane sastojine iz okoline Konjica, koje je prvobitno opisao WRABER (1958) kao *Querco-Castaneetum hercegovinicum*. Iako se asocijacija iz doline Neretve ne može potpuno uklopiti u opisanu zajednicu, jer joj nedostaje većina dijagnostičkih biljnih vrsta, zadržali

smo koncept objedinjenosti submediteranskih i mediteranskih asocijacija uz Jadransko more u jedinstvenu asocijaciju (MEDAK 2009, VUKELIĆ 2012). Za razliku od svih drugih šuma kestena u BiH, submediteranske sastojine su najtermofilnije i razvijene su na eutričnom kambisolu. Od ostalih studiranih kontinentalnih sastojina odvajaju je termofilni elementi: *Fraxinus ornus, Carpinus orientalis, Sesleria autumnalis* (obilno)*, Lathyrus venetus, Silene nutans*, dok prisustvo acidofilnih i mezofilnih elemenata govori o mikroklimatskim uslovima koji su omogućili preživljavanje kestena u ovim toplim klimatima. U tabeli 26. dat je prikaz opštih karakteristika staništa , tip zemljišta i spisak vrsta sa zastupljenošću.

Tabela 26. Fitocenološka tabela

LOKALITET		**BL**	**PR**	**KO**	**BU**	**KC**	**BR**
NADMORSKA VISINA		450	280-315	360	400	680	180-270
EKSPOZICIJA		NW	SE	RAVNO	NW	W; NW	NE
NAGIB		22	21	0-7	16	28	37-42
RELJEF		PADINA UZ GREBEN	PADINA	BLAG GREBEN	PADINA	PADINA	PADINA UZ DOLINU DRINE
TIP ZEMLJIŠTA		LUVISOL	DISTRIČNI KAMBISOL	DISTRIČNI KAMBISOL	LUVISOL	EUTRIČNI KAMBISOL	RANKER
VRSTE	**SPRAT**						
Castanea sativa	A^1	2.1	4.5	5.5	2.1	4.5	.
	A^2	3.2	2.1	2.1	3.3	3.3	3.2
	B	4.4	3.3	4.3	4.4	4.3	2.2
	C	+.1	1.2	2.3	1.1	1.3	+.1
Quercus petraea	A^2	2.1	.	.	.	.	.
	B	3.2	.	+	.	R	.
Fagus silvatica	A1	.	.	.	2.1	.	.
	A^2	2.1	.	.	.	.	.
	B	+	3.2	+	+.1	.	.
Cerasus avium	A^2	2.1	.	.	.	.	.
	B	+	3.2	.	.	R	.
	C	.	1.1	.	.	.	.
Quercus cerris	C	.	.	.	.	.	+
Carpinus betulus	A^2	.	2.1	.	+	.	2.1
	B	.	4.3	.	4.3	+	4.3
Populus tremula	A^1	.	.	.	.	+	.
	B	.	.	.	.	+	.
Acer obtusatum	A^2	.	.	.	2.1	.	.
	B	.	.	.	+	.	.
Acer pseudoplatanus	A^2	.	.	.	+	.	.
	B	.	+	+	3.2	.	.
	C	.	+	.	.	.	.
Acer campestre	B	+	+	.	.	.	.
Fraxinus ornus	B	4.4	+	.	.	+.2	.
	C	1.1	.	.	.	1.1	.
Sorbus torminalis	B	.	.	+	.	.	.
	C	+	.	.	.	.	.
Malus silvestris	B	.	.	+	.	.	.
Corylus avellana	B	.	.	1.2	.	+.2	3.2
	C	.	R	.	.	.	.

VRSTE	SPRAT	LOKALITET					
		BL	PR	KO	BU	KC	BR
Cornus sanquinea	B	.	R	.	.	.	.
Rosa arvensis	B	.	.	.	.	+	.
Pyrus piraster	B	.	.	R	.	.	.
Carpinus orientalis	B	.	.	.	.	+.2	.
Crataegus monogyna	B	.	.	R	.	+	.
Sambucus nigra	C	.	.	.	.	.	+
Pteridium aquilinum	C	2.2	2.3	2.2	2.2	2.3	.
Melampyrum pratense	C	+.1	.	.	.	.	.
Primula vulgaris	C	1.1	+.1	.	.	+.1	.
Stellaria media	C	1.2	1.3	.	.	.	.
Anemone nemorosa	C	1.2	.	.	1.2	.	.
Viola reichenbachiana	C	+	.	.	.	.	.
Symphytum tuberosum	C	1.1	.	+	.	+.1	.
Aposeris foetida	C	1.1	.	.	.	2.3	.
Convallaria maialis	C	1.3	.	.	.	.	.
Mycelis muralis	C	+.1	+	.	+	+	.
Serratula tinctoria	C	+	.	.	.	.	.
Pulmonaria officinalis	C	1.1	.	.	.	.	.
Melica nutans	C	+.2	.	.	.	.	.
Galium vernum	C	+.1	.	.	.	.	.
Brachypodium silvaticum	C	+.2	.	.	.	.	.
Festuca heterophylla	C	1.2	.	.	.	+.2	.
Gentiana asclepiadea	C	+	.	.	.	.	+
Polygonatum multiflorum	C	+.2	.	.	.	.	+
Veronica urticifolia	C	+	.	.	.	.	.
Luzula albida	C	1.2	+.3	.	.	1.2	.
Sanicula europaea	C	1.2	+.3	.	.	1.2	.
Ajuga reptans	C	+	.	.	.	.	+

VRSTE	SPRAT	LOKALITET					
		BL	PR	KO	BU	KC	BR
Aremonia agrimonoides	C	+	.	.	.	.	.
Asplenium adiantum-nigrum	C	+	.	.	.	.	.
Potentilla micrantha	C	+	+.1	.	.	+.1	.
Helleborine latifolia	C	R	.	.	.	.	.
Luzula forsteri	C	+.1	1.2	.	.	2.2	.
Milium effusum	C	+	R	.	.	.	.
Rubus hirtus	C	+	2.3	4.5	4.5	2.2	1.2
Campanula persicifolia	C	+	.	.	.	.	.
Dactylis glomerata	C	+.2	1.2	.	.	1.2	.
Melittis melissophyllum	C	+	.	.	.	+	.
Dianthus barbatus	C	+	.	.	.	.	.
Galeopsis tetrahit	C	+.1	1.1	+.2	.	.	+
Galium schultesii	C	+	.	.	.	.	.
Lathyrus venetus	C	1.1	.	.	.	1.1	.
Hieracium murorum	C	.	1.2	.	.	2.2	.
Veronica chamaedrys	C	.	1.1	.	+	1.1	.
Fragaria vesca	C	.	+	.	.	1.2	.
Campanula patula	C	.	R	.	.	.	.
Nephrodium filix mas	C	.	R	+	+	.	+
Galium odoratum	C	.	+	.	.	.	.
Epilobium montanum	C	.	R	.	.	+	.
Satureja vulgaris	C	.	+	.	.	+	.
Circea lutetiana	C	.	+	1.1	+.1	.	.
Athyrium filix femina	C		R	1.1	3.4	.	3.3
Luzula campestris	C	.	+.2	.	.	.	.

VRSTE	SPRAT	LOKALITET					
		BL	PR	KO	BU	KC	BR
Genista tinctoria	C	.	.	+	.	.	.
Lilium martagon	C	.	.	.	+	.	.
Cardamine bulbifera	C	.	.	.	+	.	.
Sesleria autumnalis	C	.	.	.	.	3.3	.
Digitalis ambiquia	C	.	.	.	.	+	.
Hieracium silesiacum	C	.	.	.	.	1.2	.
Euphorbia amygdaloides	C	.	.	.	.	+.1	.
Silene nutans	C	.	.	.	.	+	+
Vicia sp.	C	.	.	.	.	+.1	.
Polystichum setiferum	C	.	.	.	.	R	2.2
Asplenium trichomanes	C	.	.	.	.	R	.
Hieracium sp.	C	.	.	.	.	+.2	.
Epilobium lanceolatum	C	.	.	.	.	+	.
Lamiastrum galeobdolon	C	.	.	.	.	2.3	.
Luzula pilosa	C	.	.	.	.	1.2	.
Polytrichum formosum	D	1.2	2.2	.	.	.	.

3. METOD RADA

Metode rada u ovoj tezi sprovedene su sinhronizovano na nivou terenskih i laboratorijskih istraživanja, tabela 27. Istraživanja su bazirana u sastojinama pitomog kestena na šest lokaliteta sa različitim ekološko-vegetacijskim karakteristikama, na području prirodnog rasprostranjenja pitomog kestena u Bosni i Hercegovini. Izabrani lokoliteti obuhvataju sjeverozapadno područje BiH (Banjaluke, Prijedora, Kotajnice, Bužima), područje sjeverne Hercegovine (Konjic) i istočni dio BiH (Bratunac). Sadržaj istraživanja koja su sprovedena u prirodnim sastojinama pitomog kestena prikazan je u tabeli 27.

Tabela 27. Sadržaj istraživanja

TERENSKA ISTRAŽIVANJA	Selekcija	
	Analiza stanišnih karakteristika	
	Ocjena krošnje	
	Premjer taksacionih elemenata stabala pitomog kestena	
	Fitocenološka istraživanja	
	Uzimanje uzoraka zemljišta za pedološke analize	
	Prikupljanje plodova i listova za rad u laboratoriji	
	Prikupljanje zimskih pupoljka za rad u laboratoriji	
LABORATORIJSKA ISTRAŽIVANJA	Hemijska i fizička svojstva zemljišta	
	Analiza lista	Morfološka svojstva
	Analiza ploda	Morfološka svojstva
		Kvalitativna svojstva
		Kvantitativna svojstva
	DNK analiza	

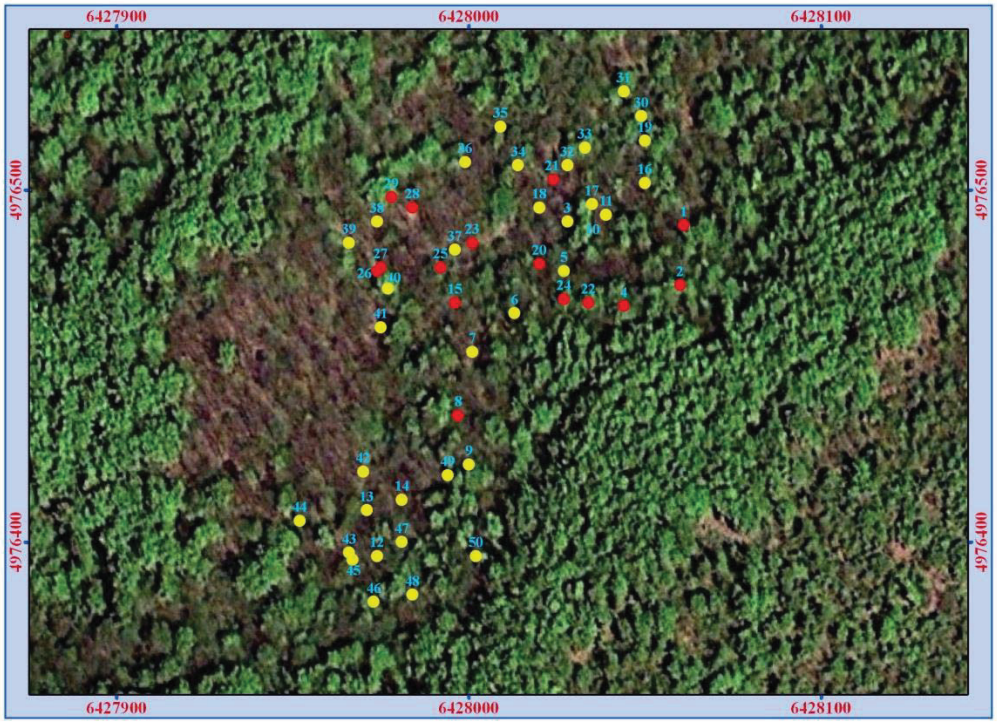
3.1. TERENSKA ISTRAŽIVANJA

3.1.1. Selekcija stabala

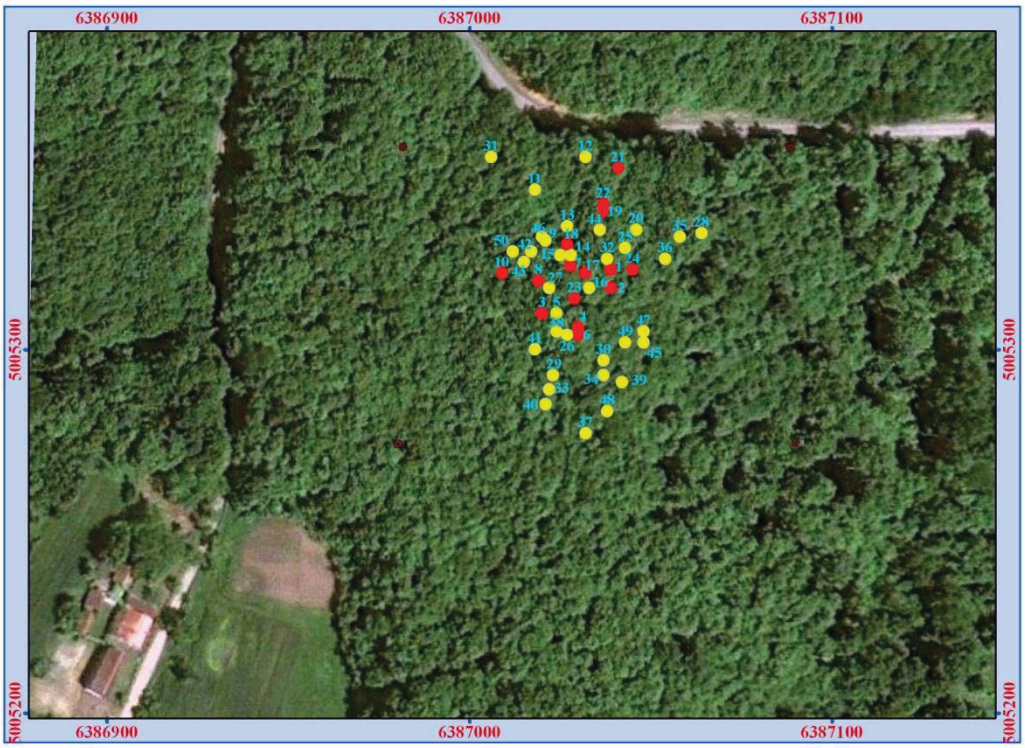
Na svakom od šest izabranih lokaliteta, primjenom metoda individualne selekcije, selekcionisano je po 15 individua na svakom lokalitetu, koja su prema fenotipskim svojstvima superiornija u odnosu na druga stabla u populaciji. Sa selekcionisanih individua sakupljani su uzorci za morfometrijsku analizu i kvalitativna svojstva ploda, morfometrijsku analizu lista i vršen je premjer taksacionih elemenata. Prostorni raspored selekcionisanih stabala na istraživanim lokalitetima za morfometrijsku analizu (crvene oznake) prikazan je na slici 23-28. Pored izabranih fenotipski 15 najboljih test stabala, metodom slučajnog uzorka selekcionisano je još po 35 stabala prostorno distribuiranih po cijeloj populaciji sa kojih su uzeti uzorci za genetičku analizu. Ukupan broj stabala čija su genetska svojstva laboratorijski analizirana u svakoj populaciji bio je (15+35) – ukupno 50. Sumarno, svih šest selekcionisanih populacija pitomog kestena u analizama bilo je zastupljeno sa 300 stabala. Na slici od 23-28 prikazan je prostorni raspored selekcionisanih stabala za genetičku analizu (suma crvenih i žutih oznaka). Sva stabla su na terenu pozicionirana GPS. U tabeli 28 prikazane su oznake stabala sa kojih su se sakupljali uzorci za kvantitativnu i kvalitativnu analizu organa pitomog kestena.

Tabela 28. Oznake stabala sa kojih su sakupljani uzorci za kvantitativnu i kvalitativnu analizu

LOKALITET	OZNAKA LOKALITETA	OZNAKA STABLA
BUŽIM	BU	1, 2, 4, 10, 11, 15,16, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25, 26
KOSTAJNICA	KO	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24
PRIJEDOR	PR	1, 4, 5, 8, 10, 14, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26
BANJALUKA	BL	1, 2, 4, 8, 15, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29
BRATUNAC	BR	1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 18, 20, 21, 23
KONJIC	KC	1, 3, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 20, 22, 23, 24, 25, 26



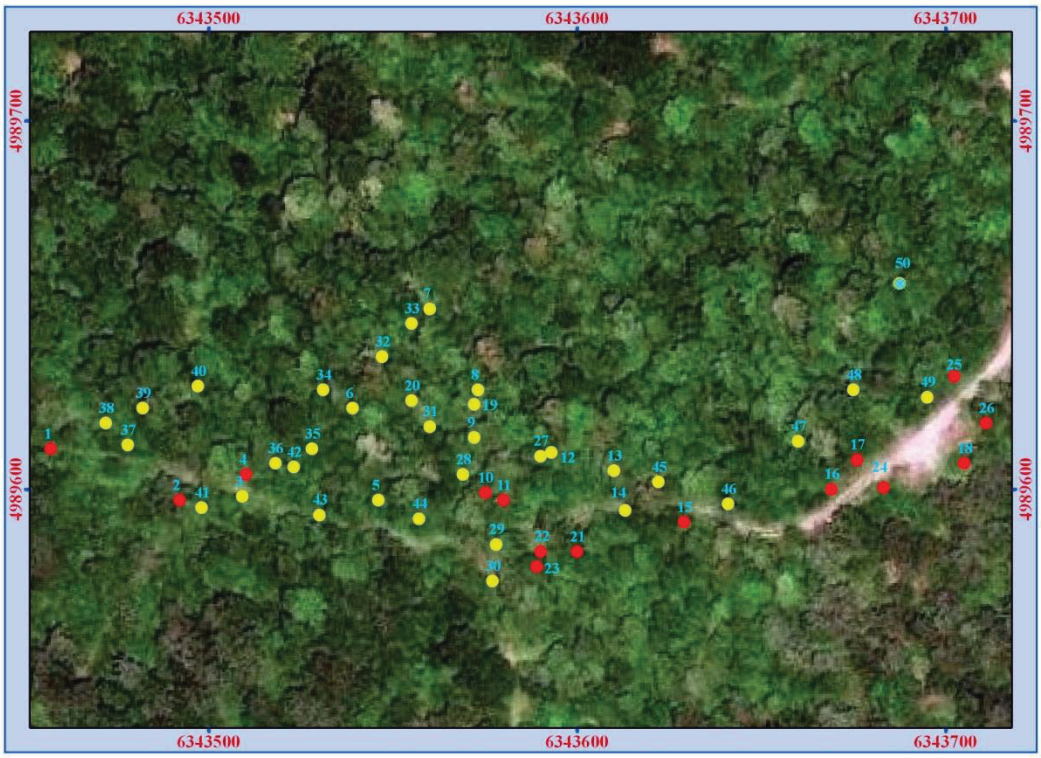
Slika 23. Raspored selekcionisanih stabala – Banjaluka (BL)



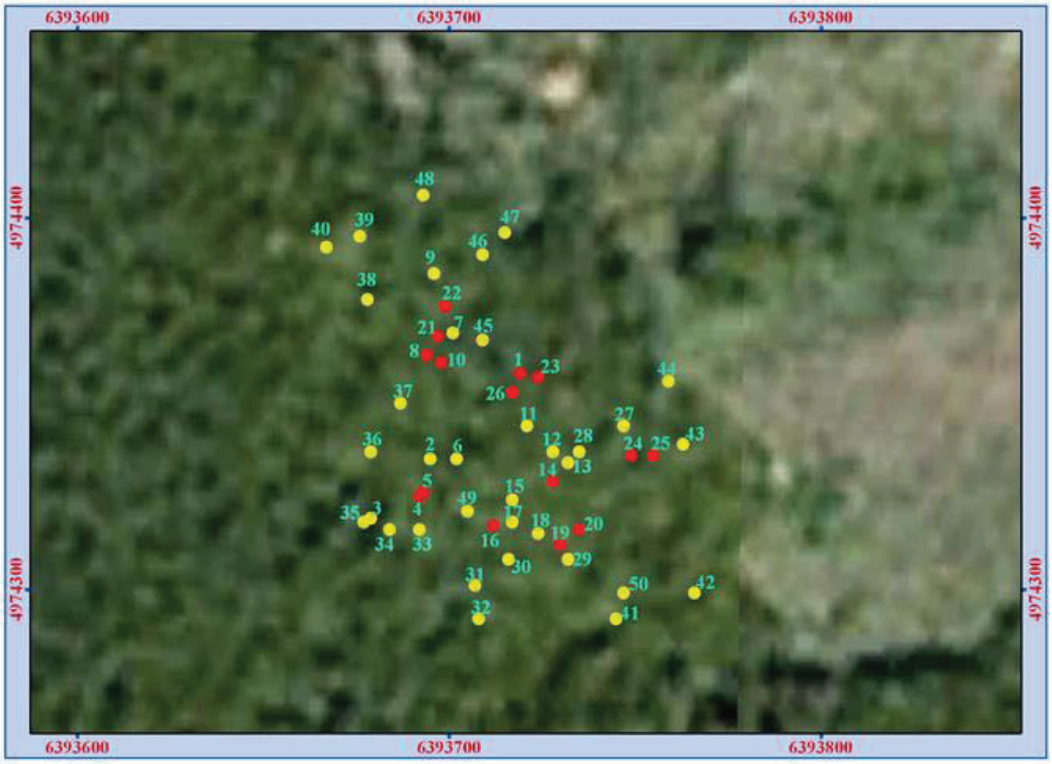
Slika 24. Raspored selekcionisanih stabala - Kostajnica (KO)

Legenda: ● - stabla sa kojih su uzimani uzorci za morfometrijske analize

● + ● - stabla sa kojih su sakupljani uzorci za DNK analize



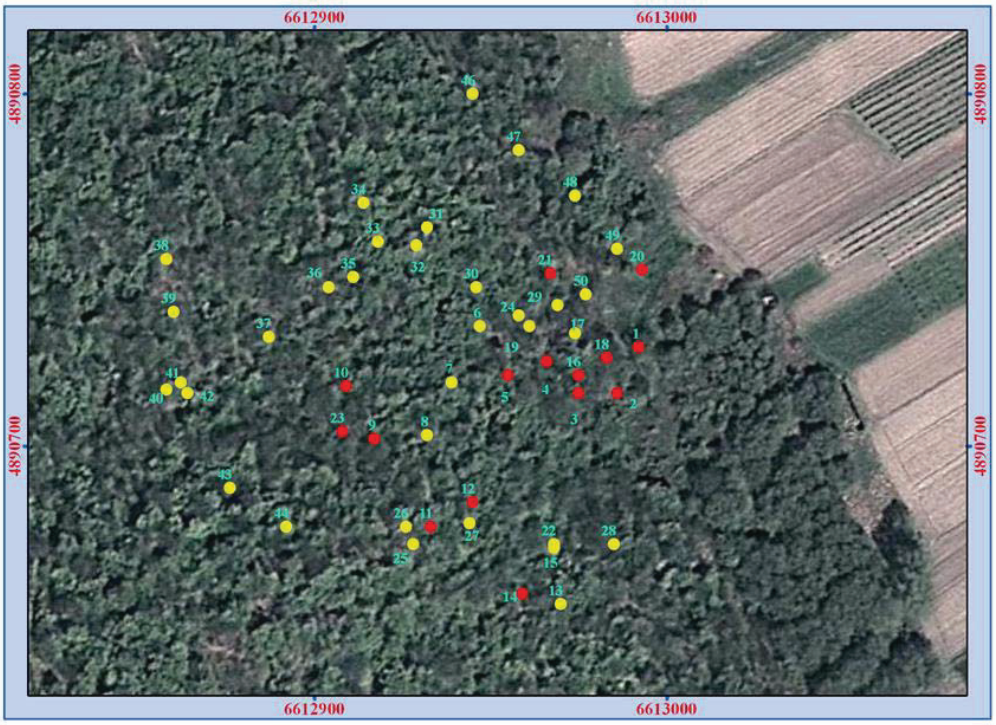
Slika 25. Raspored selekcionisanih stabala – Bužim (BU)



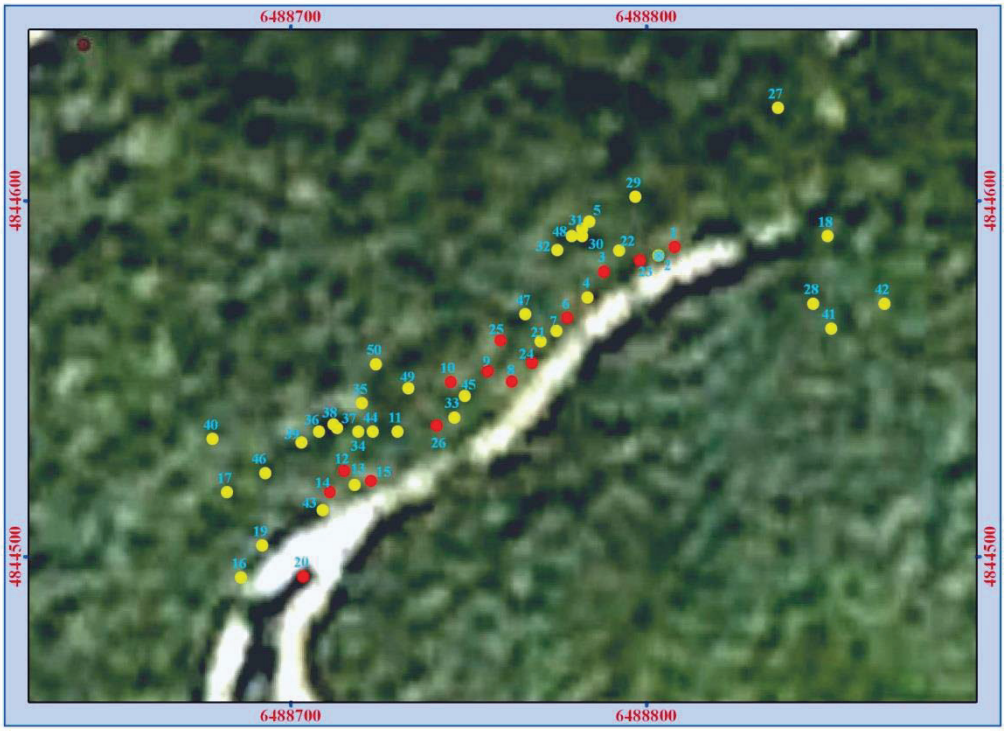
Slika 26. Raspored selekcionisanih stabala - Prijedor (PR)

Legenda: ● - stabla sa kojih su uzimani uzorci za morfometrijske analize

● + ● - stabla sa kojih su sakupljani uzorci za DNK analize



Slika 27. Raspored selekcionisanih stabala – Bratunac (BR)



Slika 28. Raspored selekcionisanih stabala - Konjic (KC)

Legenda: ● - stabla sa kojih su uzimani uzorci za morfometrijske analize

● + ● - stabla sa kojih su sakupljani uzorci za DNK analize

3.1.2. Karakterisanje klime

Za karakterisanje klime korišćeni su podaci Hidrometeorološkog Zavoda Federacije Bosne i Hercegovine za meteorološke stanice Banja Luka, Prijedor, Cazin, Kostajnica, Srebrenica i Konjic za period 1961 – 1990. U radu je data klasična analiza klimatskih elemenata, bazirana na srednjim vrijednostima referentnog perioda. Primjenjene su klasifikacija klime po *Lang*-u (1920), metoda hidričnog bilansa po *Thornthwaite*-u (1954) i *Thornthwaite-Matter*-u (1957). Određeni su i klimatsko-geografski pokazatelji: relativno godišnje kolebanje padavina i indeks suše (Is) po *DeMartonn*-u (1926a).

Podaci temperature vazduha i padavina za 2011. i 2012. godinu uzeti su iz Hidrometeorološkog zavoda Republike Srpske, Hidrometeoroloških godišnjaka Hidrometeorološkog Zavoda Federacije Bosne i Hercegovine i automatske meteorološke stanice.

3.1.3. Karakterisanje zemljišta

Za određivanje karakteristika zemljišta otvoreni su osnovni pedološki profili na svakom objektu istraživanja. Spoljašnja i unutrašnja morfologija osnovnih pedoloških profila je detaljno proučena, izdvojeni su i proučeni genetički horizonti, a zatim uzet odgovarajući broj uzoraka u narušenom stanju za laboratorijska ispitivanja standardnih fizičkih i hemijskih osobina. Otvoreno je ukupno 6 pedoloških profila. Na osnovu terenskog i laboratorijskog proučavanja zemljišta, definisane su pedosistematske jedinice prema principima Klasifikacije zemljišta Jugoslavije (ŠKORIĆ ET AL. 1985).

3.1.4. Fitocenološke karakteristike

Fitocenološki snimci uzimani su krajem juna i početkom jula mjeseca 2011. godine.

3.1.5. Premjer taksacionih elemenata stabala pitomog kestena

Na svim selekcionisanim stablima pitomog kestena izvršen je premjer prečnika na visini od 1,30 m od zemlje, sa prečnicom tačnosti od 0,5 mm. Poslije premjera prečnika mjerena je visina stabala i to totalna visina i visina do prve zelene grane. Računskim putem dobijene su vrijednosi dužine krune. Premjer visina rađen je sa visinomjerom VERTEX, koji je kalibrisan na dužini od 10 m uz pomoć pantljike ponovljeno više puta uslijed promjena temperatura kako je definisano instrukcijama za upotrebu. U posebnom manualu dobijeni podaci pri mjerenjima taksacionih elemenata test stabala evidentirani su odvojeno za svako stablo.

3.1.6. Ocjena krošnje

UPOV (*Union Internationale pour la Protection des Obtentions Vegetales*) je međunarodna organizacija za zaštitu novih biljnih varijeteta. Ova organizacija je 1989. godine izdala uputstva za opis novih varijeteta pitomog evropskog kestena (*Castanea sativa* Mill.). Po ovom uputstvu, odnosno metodi, utvrđena je ocjena krošnje tj. habitusa za selekcionisana stabla na šest lokaliteta koja su na slikama od 23-28 označena crvenim krugovima. Po ovoj metodi uspravan habitus označen je sa brojem (3), polu uspravan brojem (5), a širok habitus (7), slika 29.

3 -uspravan **5**-polu-uspravan **7**- širok

Slika 29. Habitus stabla (UPOV 1989)

3.1.7. Prikupljanje uzoraka lista

Listovi za morfometrijsku analizu sakupljani su u dvogodišnjem vegetacijskom periodu iz šest populacija pitomog kestena. Listovi su sakupljani krajem juna i početkom jula mjeseca 2011. i 2012. godine, po formiranju terminalnih pupoljaka na grančicama. Sa 15 selekcionisanih stabala (na slikama 23-28 predstavljaju stabla sa crvenim krugom) sakupljeno je 40 listova i herbarizovano.

Sakupljeni listovi su markirani u cilju očuvanja identiteta stabala. Na jednom odraslom drvetu kestena listovi sjenke se nalaze na donjim granama i unutrašnjosti krune, a listovi svjetla se nalaze na vrhu krune i vrhovima grana. Između ova dva tipa listova postoje mnogobrojni prelazi zavisno od uticaja ekoloških faktora (GLIŠIĆ 1969). Prilikom uzimanja uzoraka, sa svih stabala sakupljeni su listovi svjetla i to sa dijela krune orijentisane na istu stranu svijeta tj. vodilo se računa o ujednačenosti metoda samog postupka.

3.1.8. Prikupljanje uzoraka ploda

Plodovi pitomog kestena za morfometrijsku analizu ploda sakupljani su tokom oktobra 2011 i 2012. godine iz šest izabranih populacija. Plodovi su sakupljani sa 15 selekcionisanih stabala sa kojih su se sakupljali i listovi za morfometrijsku analizu. Sakupljanje se vršilo trešenjem grana i sakupljanjem opalih plodova sa zemlje. S obzirom na to da je plod osjetljiv na gubljenje vlage (ALDHOUS 1972, PRITCHARD I MANGER 1990), sakupljenih 30 zdravih plodova po stablu, odmah je pakovano u vrećice sa oznakom stabla i populacije kako bi se sačuvao identitet za dalji rad u laboratoriji (slika 30). Istovremeno sa sakupljanjem plodova za morfometrijsku analizu sakupljali su se i plodovi za ispitivanje klijavosti i za laboratorijsku analizu nutritivnih vrijednosti ploda. Ispitivanje klijavosti i analiza nutritivnih vrijednosti ploda vršila se na populacionom nivou tj. utvrđivana je međupopulacijska varijabilnost. Za ispitivanje klijavosti direktnom metodom uzimano je po 14 plodova sa svakoga stabla i stavljano je u jednu kesu sa oznakom populacije.

Za ispitivanje nutritivne vrijednosti ploda, na svakom od šest lokaliteta, sakupljeno je 30 plodova, sa svakoga stabla su uzimana po 2 ploda, koja su stavljana u posebne kese sa oznakom populacije.

Slika 30. Uzorci ploda (orig. 2012)

3.1.9. Prikupljanje uzoraka za DNK analizu

Za utvrđivanje genetičkog diverziteta tj. genetičke raznolikosti populacija korišćeni su uzorci zimskih grančica tj. zimskih pupoljaka. Zimske grančice za izolaciju DNK sakupljani su tokom februara 2013. godine iz šest populacija. U svakoj populaciji izabrano je po 50 stabala, metodom slučajnog uzorka (na slici 23-28 oznake žutih i crvenih krugova). Koordinate svakog stabla su snimljene GPS-om. Sa teleskopskim makazama su uzimani uzorci grančica sa 3-5 pupoljaka (slika 31). Grančice su stavljane u najlon vrećice (slika 32) sa oznakama stabla i populacije i kao takve stavljene su u prenosivi frižider do laboratorije gdje su uzorci pohranjeni u zamrzivač na -20°C, do izolacije.

Slika 31. Sakupljanje zimskih grančica u populaciji Bratunac (orig. 2013)

Slika 32. Uzorci zimskih grančica (orig. 2013)

3.2. LABORATORIJSKA ISTRAŽIVANJA

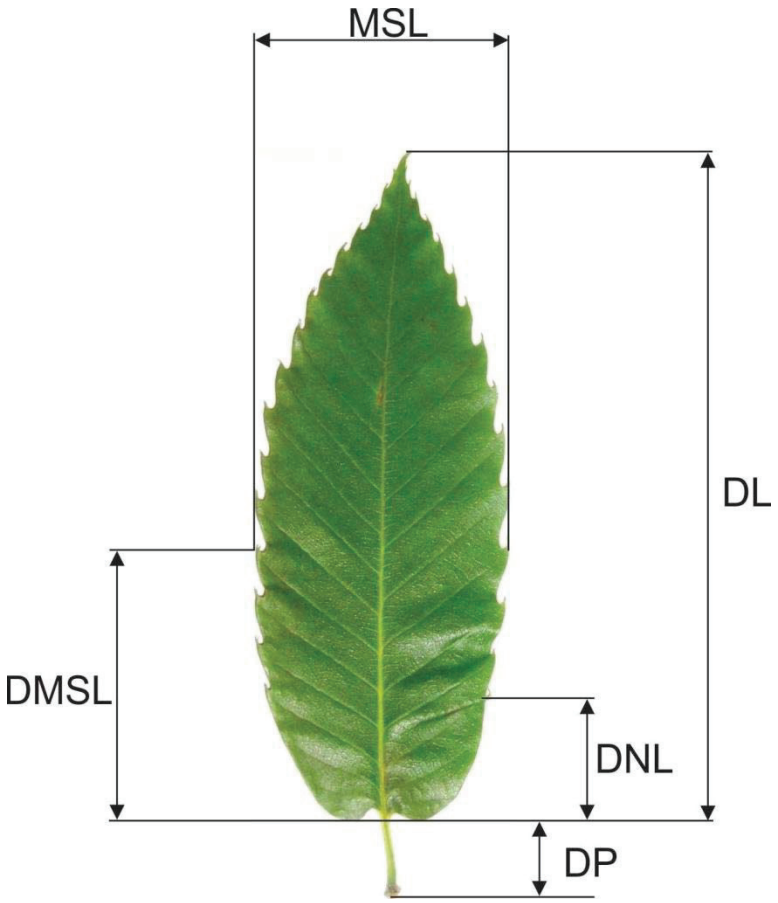
3.2.1. Analiza zemljišta

Laboratorijske analize zemljišta obavljene su u pedološkoj laboratoriji Šumarskog fakulteta u Beogradu. Analize zemljišta obavljene su po sljedećim metodama:

- sadržaj higroskopske vode sušenjem u sušnici na temperaturi od 105ºC u toku 6-8 časova;
- granulometrijski sastav je određen tretiranjem uzoraka sa natrijum - pirofosfatom. Frakcionisanje zemljišta je izvršeno kombinovanom pipet metodom i metodom elutracije pomoću sita po *Atteberg*-u, uz određivanje procentualnog sadržaja frakcija od: 2-0,2 mm, 0,2-0,06 mm, 0,06-0,02 mm, 0,02-0,006 mm, 0,006-0,002 mm i manjih od 0,002 mm;
- aktivna kiselost zemljišta - pH u H_2O elektrometrijski;
- supstituciona kiselost - pH u 0,01 M $CaCl_2$, elektrometrijski;
- hidrolitička kiselost po *Kappen*-u;
- suma adsorbovanih baznih katjona po *Kappen*-u (S, u cmol.kg -1);
- totalni kapacitet adsorpcije za katjone (T, u cmol.kg -1);
- suma kiselih katjona (T-S, cmol.kg -1) određena je računskim putem;
- stepen zasićenosti zemljišta bazama po *Hissink*-u (V %);
- sadržaj humusa i ugljenika (C) po metodi *Tjurina, I.V.* (1960), u modifikaciji *Simakov*-a;
- ukupan azot u zemljištu određen je po *Kjeldahl*-u;
- sadržaj lakopristupačnog P_2O_5 i K_2O određen je *AL* metodom.

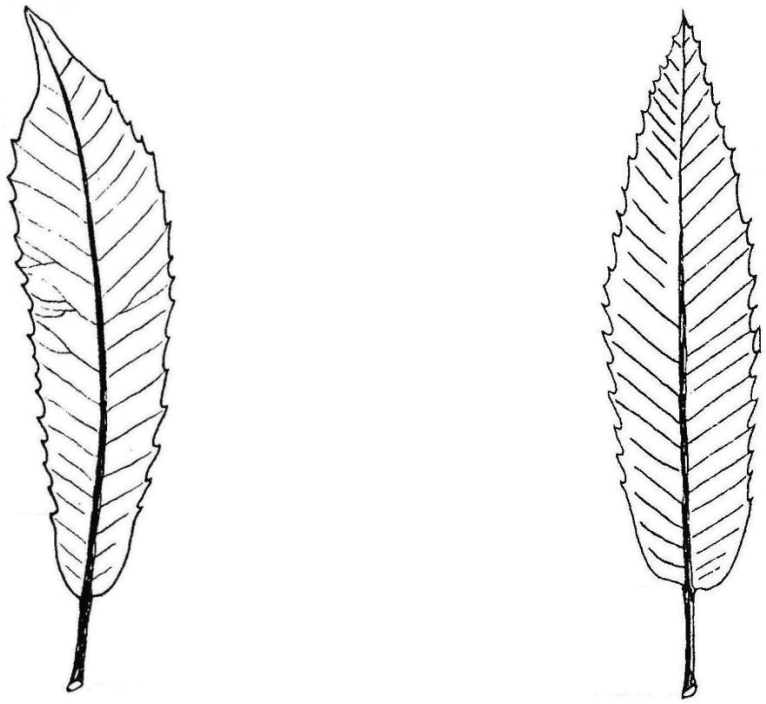
3.2.2. Morfometrijska analiza lista

Na herbarizovanom lišću su mjerena sljedeća morfološka svojstva (slika 33): maksimalna širina lista (MSL), udaljenost maksimalne širine lista od osnove lista (DMSL), dužina lista (DL), dužina peteljke (DP) i dužina nenazubljenog dijela lista (DNL). Izračunavan je koeficijent lista tj. odnos širine lista prema dužini lista (SL/DL), kao i odnos dužine peteljke i dužine lista (DP/DL). Brojani su sekundarni bočni nervi i osmatrani oblici vrha (slika 34), osnove lista (slika 35) kao i margina lista (slika 36). Dimenzije su mjerene na milimetarskom papiru sa tačnošću 1/10 cm.



Slika 33. Mjerena svojstva lista

Prema GLIŠIĆU (1969), oblik vrha lista može biti postepeno dugo ušiljen (1) i kratko ušiljen (2).



1- Postepeno dugo ušiljen **2**-Kratko ušiljen

Slika 34. Oblik vrha lista prema GLIŠIĆU (1969)

Prema UPOV 1989, oblik osnove lista, slika 35, može biti: oštro klinasta osnova (1), klinasto zaobljena (2) i srcolika osnova lista (3).

1-oštro klinasta **2**- klinasto zaobljena **3**- srcolika

Slika 35. Oblici osnove lista (UPOV 1989)

Prema UPOV (1989) oblici margine lista mogu biti: oštrog kratkog vrha margina lista (1) i nazubljena margina lista (2), slika 36.

1- ošrog kratkog vrha margina lista **2-** nazubljena margina lista

Slika 36. Oblik margine lista prema UPOV (1989)

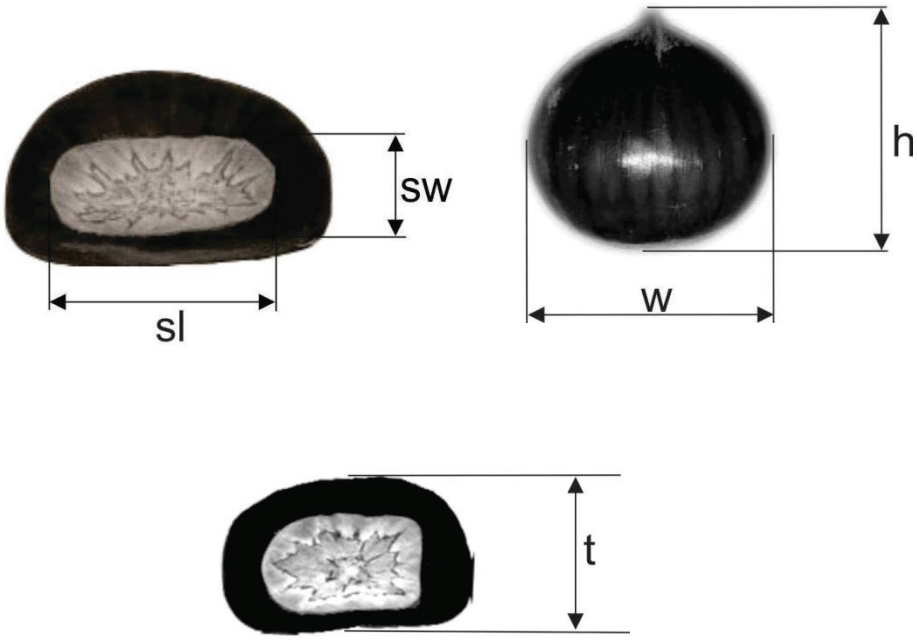
3.2.3. Pomološka analiza

Odmah po sakupljanju plodova na terenu, pristupilo se mjerenju plodova radi utvrđivanja mase ploda u svježem stanju (m), dužina ploda (h), širina ploda (w), debljina ploda (t), dužina hiluma (sl) i širina hiluma (sw), (slika 37). Prema FURONEZ-PÉREZ I FERNÁNDEZ-LÓPEZ (2009) iz mjerenih obilježja izvedene su sljedeće veličine tj. odnosi: dužina ploda/širina ploda (h/w), debljina ploda/dužina ploda (t/h), dužina hiluma/širina ploda (sl/w), širina hiluma/debljina ploda (sw/t), širina hiluma/dužina hiluma (sw/sl).

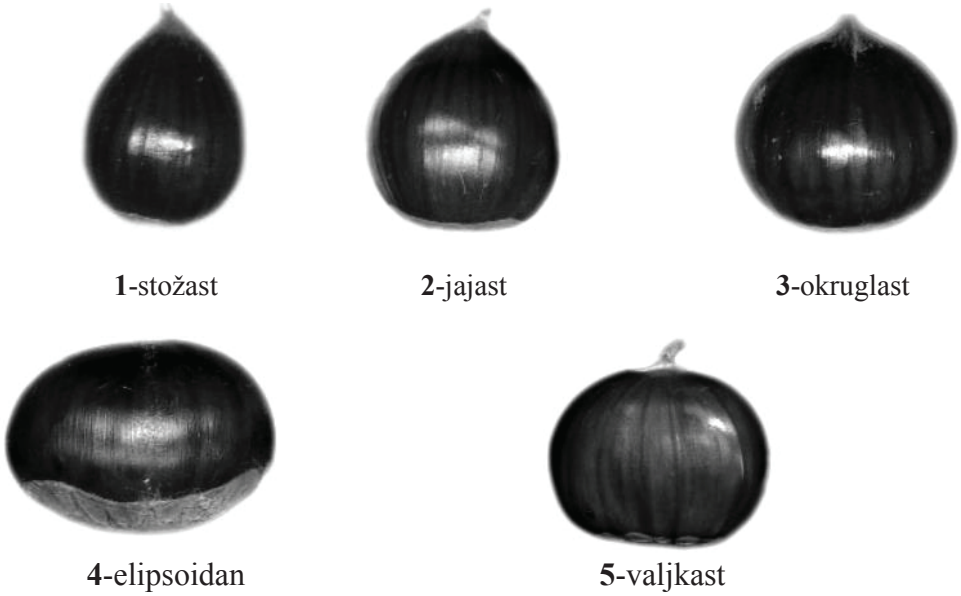
Mjerenje mase ploda vršeno je na analitičkoj vagi sa tačnošću od 0,01gr dok za mjerenje morfoloških karakteristika koristio se digitalni šubler sa tačnošću od 0,01 mm.

Pored morfometrijske analize ploda na osnovu UPOV uputstva utvrđivani su oblik i boja ploda. Oblik ploda je utvrđivan na osnovu skice iz UPOV uputstva (slika 38), a to su sljedeći oblici: stožast (1), jajast (2), okruglast (3), elipsoidan (4) i valjkast (5).

Prema UPOV 1989, boja ploda (perikarpa) može biti: svijetlo smeđa (1), smeđa (2), tamnosmeđa (3), crveno smeđa (4) i crnosmeđa (5).



Slika 37. Mjerene karakteristike ploda



Slika 38. Oblik ploda po UPOV metodi

3.2.4. Analiza klijavosti ploda

U Laboratoriji Šumarskog fakulteta u Banjoj Luci vršeno je ispitivanje kvaliteta ploda. Klijavost ploda ispitivana je direktnom metodom naklijavanja i indirektnom metodom – metod određivanja vitaliteta embriona pomoću Tetrazolijum testa po uputstvima „*The International Seed Testing Association*“ (ISTA 2003).

3.2.4.1. Direktni metod naklijavanja

Ispitivanje kvaliteta ploda tj. tehnička klijavost ploda pitomog kestena ispitivana je po ISTA standardima. Plod je prije ispitivanja tretiran fungicidom.Za potrebe ogleda korišten je fungicid komercijalnog naziva Kaptan P50. To je organski fungicid, pripada grupi dikarboksimida. Aktivna materija je kaptan i po svom hemijskom sastavu kaptan je N-trichlorometil-tio-3a,4,7,7a-tetrahidroftalimid. Sintetisao ga je 1947. godine Kitelson. Koristi se za dezinfekciju sjemena i zaštitu asimilacionih organa u toku vegetacije. Kao sredstvo za dezinfekciju naročito se preporučuje za tretiranje sjemena (slika 39), pri čemu onemogućava naseljavanje brojnih parazitskih gljiva. Prednost kaptana je i u tome što, pored preventivne, ispoljava i izvjesnu kurativnu aktivnost ako se upotrijebi do 36 časova poslije ostvarene infekcije. Kaptan ima kratkotrajnu efikasnost i to, kako zbog lakog spiranja od kiše, tako i zbog brzog razlaganja pod uticajem raznih atmosferskih faktora (LAZAREV 2005). Kaptan, koji je korišćen u ovom radu, je komercijalni proizvod preduzeća „Pionir“ iz Slovenije. Sadrži 50% aktivne materije.

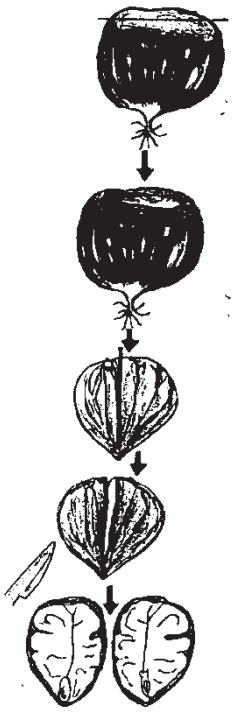
Slika 39. Plod tretiran fungicidom (orig. 2012)

Tretirani plod postavljen je na vlažni kvarcni pijesak granulaže 0,1-0,65 mm i prekriveno aluminijskom folijom (slika 40). Test klijavosti svježeg ploda trajao je 21 dan, a postavljeno je ukupno 200 plodova po jednoj populaciji i to po 50 plodova u 4 ponavljanja. Klijavost je evidentirana sedmog, četrnaestog i dvadesetprvog dana, a na kraju testa evidentiran je: broj normalno isklijalih plodova, kao i broj, trulih i svježih neisklijalih plodova.

Slika 40. Postavljanje pitomog kestena na naklijavanje (orig. 2012)

3.2.4.2. Indirektni metod

Pri utvrđivaju vitaliteta embriona uzet je uzorak od 4 x 50 plodova po populaciji. Pripremna faza (slika 41) obuhvatila je pripremu ploda tako što je poprečno odsječena 1/3 ploda na distalnom kraju, zatim je uklonjen perikarp i tako pripremljen plod ostavljen je u vodi 18h. Zatim je potrebno plod uzdužno prerezati po sredini i ukoliko je moguće skinuti sjemenjaču. Pripremljen plod staviti u rastvor da odstoji 24h. Za bojenje emriona i endosperma korišćen je 1% rastvor 2,3-5 trifeniltetrazolijum hlorid (ISTA 2003). Test se sprovodi u tami jer rastvor nije stabilan na svjetlosti. Broj vitalnog ploda se određuje na osnovu intenziteta i veličine obojene površine ploda u probi. U plodu se indukuju procesi sinteze enzima koji reaguju sa rastvorom uslovljavajući stvaranje jako crvenog formozana. Formozanom intezivno obojene ćelije endosperma i embriona su žive, dok nežive ćelije ostaju neobojene, slika 42, (ISAJEV I MANČIĆ 2001).



Slika 41. Faza pripreme ploda (ISTA 2003)

Slika 42. Primjer nevitalnog ploda (ISTA 2003)

3.2.5. Analiza nutritivnih vrijednosti ploda

Fizičko-hemijske analize ploda pitomog kestena rađene su u Laboratoriji za prehrambene tehnologije i biotehnologije Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Banjaluci. Rađene su analize sadržaja vode, pepela, skroba, proteina, masti i ukupni šećeri.

Analiza nutritivnih vrijednosti ploda rađena je po sljedećim metodama:

- sadržaj vode sušenjem na temperaturi od 105ºC;
- sadržaj pepela metodom direktnog spaljivanja na 550 ºC
- proteini-određivanje sadžaja azota (JUS/ISO 937/1992)
- masti-metod po *Soxhlet*-u ((JUS/ISO 1443/1992)
- sadržaj skroba-metod po *Evers*-u (BS EN ISO 10520: 1998)
- ukupni šećeri-Metoda po *Luff-Schoorlu*

Ispitivanje parametara sadržaj vode, sadržaj pepela i ukupni šećeri rađeni su po Pravilniku o metodama uzimanja uzoraka i vršenja hemijskih i fizičkih analiza radi kontrole kvaliteta proizvoda od voća i povrća. Analiza je vršena na nivou populacija. Uzorkovanje kestena vršeno je prikupljanjem plodova u svih šest populacija gdje se sa svakog selekcionisanog stabla za kvantitativne i kvalitativne analize uzimalo po 2 ploda i stavljalo u papirnu kesu kao uzorak populacije. Analize su rađene na dvogodišnjem nivou za 2011. i 2012. godinu. Analizirane su dvije kategorije ploda: oljušten i neoljušten plod pitomog kestena. Ispod kore kestena (perikarpa) plodovi su prekriveni pelikulom (MUJIĆ, 2014). Prilikom pripreme uzorka za analize oljuštenog ploda, skidana je vanjska kora ploda i pelikul. Tako pripremljen uzorak sitno se mljeo u mlinu i ostavljen je u staklene tegle (slika 43). Za kategoriju neoljušten plod, plod sa korom je sitnjen i samljeven na mlinu.

Slika 43. Pripremljen uzorak neoljušten (lijevo) i oljušten (desno) (orig. 2011)

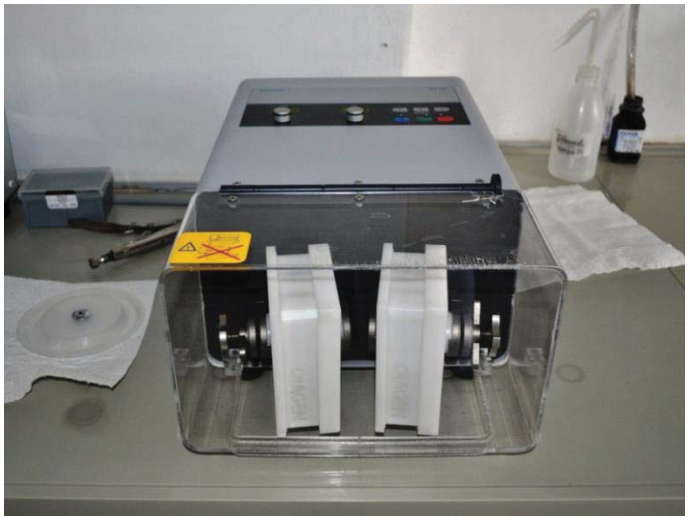
3.2.6. Molekularno-genetička analiza

3.2.6.1. DNK izolacija

DNK je izolovana iz zimskih pupoljaka. Iz pet populacija je uzeto 48 uzoraka, a iz populacije Konjic uzeto je 47 uzoraka tako da ukupni broj analiziranih individua je 287. DNK je izolovana iz zamrznutog materijala po ATMAB metodi opisana po DUMOLIN ET AL. 1995. Zimske grančie sa pupoljcima su čuvane u zamrzivaču na -20°C do analize. Priprema uzorka podrazumjevala je da se sa zimske grančice skine jedan do dva pupoljka zavisno od veličine pupoljka. Ukoliko je pupoljak krupniji dovoljno je jedan, a ako su sitniji 2-3 pupoljka. Oštrim žiletom i pincetom se skine tamno smeđa opna oko pupoljka, a svijetlo smeđi i zeleni dio pupoljka se koristi za ekstrakciju DNK (slika 44). Ovako pripremljen uzorak se stavi u Ependorf tube od 2,5 ml. Na tubama se upisuju oznake stabala i populacija kako bi se sačuvao identitet. Zatim se tube stave u kutiju od stiropora u kojem se nalazi silika gel sa indikatorom, kako bi se smanjila vlažnost. U zatvorenoj kutiji pripremljeni uzorci stoje 3-4 dana.

Slika 44. Pripremna faza (orig. 2013)

U Ependorf tube sa uzorkom stavljaju se 2 metalne kuglice i stavljaju se u mašinu za usitnjavanje biljnog materijala - *tissue shakers* (slika 45) gdje se tresu 3 minuta kako bi dobili fini prah od biljnog materijala.



Slika 45. Usitnjavanje biljnog materijala (orig. 2013)

Kad je dobijen biljni materijal u prahu u tube se dodaje 1ml ATMAB pufera koji je grijan na 55°C oko 1h. Iz Ependorf tuba magnetnim štapićima vade se metalne kugle. U svaku tubu se doda 400 µl dihlormetana i 2µl RNAse. Tube se stave u centrifugu deset minuta pri temperaturi od 4ºC pri 13.000 obrtaja u minuti. U tubama se istalože tri sloja (slika 46) gdje se iz gornjeg taloga (supernatant) uzima uzorak i stavlja u nove tube u koje se dodaje 400 µl isopropanola i ostavi se da odstoji preko noći na sobnoj temperaturi.

Slika 46. Uzorci u cenrifugi i gornji sloj taloga u kojoj se nalazi DNK (orig. 2013)

Sutradan se tube stave u centrifugu 10 minuta, temperatura 5°C, broj obrtaja u minuti 13.000. Sadržaj iz tube se prospe i ostave se tube sušiti na papiru 5 minuta na sobnoj temperaturi (slika 47), u tubama se nalazi talog DNK (slika 48).

Slika 47. Sušenje

Slika 48. Talog DNK

.

Zatim se doda 1 ml 76% etanola i stavi se u centrifugu (10 min, 5°C, 13.000 obrt/min), kako bi se isprao talog. Iz tuba se prospe sadržaj i ostavi se sušiti 1 sat na sobnoj temperaturi, poslije čega se doda 50 µl 1xTE bufera. Ovako izolovana DNK skladišti se u frižider na -4°C.

3.2.6.2. Genetička analiza

Genetička struktura selekcionisanih stabala pitomog kestena obavljena je primjenom mirkrosatelita SSR marker–*Simple Sequence Repeats.* Mikrosatelit su se pokazali kao pouzdani marker u proučavanju fluktacije gena, efektivne veličine populacije, migracionih i disperzionih procesa, roditeljstva i stepena srodnosti (DOW I ASHLY 1996; STREIFF ET AL. 1999).

Izolacija DNK je obavljena po ATMAB metodi (DUMOLIN ET AL. 1995). Izvršena je genotipizacija 287 individua sa visoko polimorfnim mikrosatelit prajmerima ICMA004, ICMA018, ICMA023, QpZAG15 (Cy5), ICMA007, ICMA020 i QrZAG7 (Cy5). U tabeli 29 su prikazane sekvence korišćenih prajmera.

Višestruka PCR reakcija je obavljena pomoću fluoroscentnih markera u dvije kombinacije A i B. U kombinaciji A reakcija je rađena u 15µl, sa 2 x reakcionim puferom, 2 µM ICMA004 i ICMA018 prajmer, 0,5 µM ICMA023 i 1 µM QpZAG15 prajmera i 20 ng DNK. U kombinaciji B reakcija je rađena u 15µl sa 2 x reakcionim puferom, 0,5 µM ICMA007, 2 µM ICMA020 prajmera i 1 µM QrZAG7 prajmer i 20 ng genomske DNK. Protokol PCR reakcije za kombinaciju A je bio sljedeći: inicijalna denaturacija na 94°C/3 min, 25 ciklusa 94°C/30 sec, 59°C/90 sec, 72°C/45°C i elongacija na 71°C/10 min. Protokol PSR reakcije za kombinaciju B je bio sljedeći: denaturacija 94°C/3 min, 24 ciklusa 94°C/30 sec, 59°C/90 sec, 72°C/45°C i elongacija na 71°C/10 min. Dužina PCR fragmenata je određena pomoću automatiziranog sekvencer (CEQ8000 Beckman - Coulter) i analizirana pomoću interne standardne veličine. Analiza dužine fragmenata i pozicije alela je provedena upotrebom bioanalizatora CEQ8000 (*Beckman - Coulter*).

Tabela 29. Sekvence korišćenih markera

LOKUS	PONAVLJAJUĆI MOTIV	SEKVENCA (5'-3')	DUŽINA (bp)	IZVOR
ICMA004	$(CT)_{37}$	F:ACCACAGAGAGAGCCACACC R: TTTCATGAGCACGAAAGCTG	194-252	INOUE ET AL. 2009
ICMA007	$(AG)_{22}$	F:TAGTCACGCCTCTCCGTCTT R:GCCATTTGAGGACTGAGGTT	201-282	INOUE ET AL. 2009
ICMA018	$(CT)_{25}$	F:ACAACGATCCCAGACCAAAG R: CTAGGCGATCGGAGAGAGAC	155-207	INOUE ET AL. 2009
ICMA020	$(CT)_{15}(AC)_{11}$	F:ACACCCACCTCCAAACACAT R: GAAAGTCGTGAGGAGGGAGA	186-209	INOUE ET AL. 2009
ICMA023	$(AG)_{14}$	F:GCATACACAAGAATTACCCTTCA R: AGGCGCCAAATGATGTTTC	214-222	INOUE ET AL. 2009
QRZAG7	$(TC)_{17}$	F:CAACTTGGTGTTCGGATCAA R: GTGCATTTCTTTTATAGCATTCAC	115-153	KAMPFER ET AL.1998
QPZAG15	$(AG)_{23}$	F:CGATTTGATAATGACACTATGG R: CATCGACTCATTGTTAAGCAC	144-216	STEINKELLNER ET AL. 1997

3.3. OBRADA PODATAKA

Uzimanje uzoraka i obrada podataka dobijenih mjerenjima obavljeni su prema standardnim metodskim postupcima koji se primjenjuju pri istraživanju varijabiliteta kvantitativnih i kvalitativnih svojstava vrsta drveća. Kvantitativne osobine ispitivanih morfometrijskih parametara obrađeni su metodom deskriptivne statistike, odnosno srednje vrijednosti i mjere varijabiliteta (HADŽIVUKOVIĆ 1989; KOPRIVICA 2015) radi jasnog i preciznog raščlanjivanja podataka o posmatranoj pojavi s ciljem isticanja sastava i strukture pojave. Osnovni parametri deskriptivne statistike korišćeni u radu su: minimum (Min), maksimum (Max), srednja vrijednost (As), standardna devijacija (Sd), greška stendardne devijacije (Sg) i koeficijent varijacije (Cv).

Procjene statističke značajnosti različitih faktora fenotipskog variranja analiziranih karakteristika izvršeno je primjenom analize varijanse sa jednim faktorom (ANOVA) i dvofaktorijalna analiza varijanse (MANOVA) sa 95%-tnim nivoom povjerenja. Najveća prednost metoda analize varijanse je u tome što omogućava da se iz totalne varijacije izdvoje varijacije između grupa, kao rezultat dejstva „tretmana“ i varijacija unutar grupa, kao rezultat slučajnih variranja unutar svakog tretmana. Međutim, analiza varijanse (F - test) daje odgovor o homogenosti eksperimenta u cjelini, a ništa ne govori o razlikama između pojedinih „tretmana“. Ako analiza varijanse pokaže da je razlika statistički signifikantna, odnosno da uzorci ne potiču iz istog skupa, potrebno je utvrditi koje se sredine signifikantno razlikuju pa su dobijeni rezultati provjereni i testirani primjenom Duncan-ovog testa (Dankanovim testom višestrukih intervala) (HADŽIVUKOVIĆ 1991). Rezultati obavljenih analiza prikazani su tabelarno i putem grafikona.

Za utvrđivanje sličnosti tj. različitosti analiziranih populacija na osnovu mjerenih morfoloških osobina korišćen je i multivarijantni statistički metod – klaster analiza (*Cluster*). Cilj klaster analize jeste utvrđivanje homogenih grupa ili klastera. Za udruživanje klastera korišćen je metod *Complete Linkage* - potpuno povezivanje (metoda najdaljeg susjeda). Kod ove metode udaljenost između dva klastera računa se na osnovu udaljenosti između dva najudaljenija člana. Za definisanje udaljenosti između istraživanih populacija korišćena je Euklidska udaljenost. Rezultat hijerarhijske klaster analize su prikazani u grafičkoj formi poznatoj kao dendrogram.

Dendrogram je stablo koje pokazuje putem granjanja kako su klasteri povezani jedni sa drugim kroz nizove mjera. Rezultat klaster analize uvijek predstavlja klasifikaciju objekata u neke grupe, što zavisno od korišćene tehnike može dovesti do različitih rješenja. Jedan od važnih kriterijuma može biti "smislenost" dobijene solucije, odnosno kompatibilnost sa drugim statističkim metodama (ILIĆ I REŠOVIĆ 2009; FIELDING 2007). Takođe je primijenjen i multivarijantni metod diskriminacione analize. Diskriminaciona analiza je metod koji omogućava da se utvrde koje varijable prave razlike između dvije ili više formiranih grupa. Cilj ove analize je da se definiše manji broj novih varijabli koje bi opisale razlike između grupa. Nove varijable su ustvari diskriminantne varijable.

Svi dobijeni numerički podaci obrađeni su korišćenjem računarskih programa Microsoft Excel i Statistica 13 STATSOFT inc. Rezultati obavljenih analiza prikazani su tabelarno i na grafikonima.

Ulazni podaci za statističku obradu genetskih analiza pripremani (konvertovani) su u softveru PGDSpider version 2.1.1.3. (LISCHER I EXCOFFIER 2017). PGDSpider može da čita 27 i da eksportuje 29 različitih formata podataka. Dostupan je kao besplatan softverski paket, hgttp://cmpg.unibe.ch/softwarwe/PGDSpider/.

Za određivanje parametara genetičke varijabilnosti korišćen je programski paket GenAlEx 6.5 (PEAKALL I SMOUSE, 2012). Izračunat je prosječan broj alela po lokusu (Na), broj jedinstvenih alela (Ap), broj efektivnih alela (N_e), Mantel test, PCo analiza, Nei genetička distanca.

Softver FSTAT 2.9.3 (GOUDET, 2001) upotrebljen je za dobijanje "allelic richnes" (r) - parametra koji predstavlja prosječan broj alela po lokusu, baziran na minimalnoj veličini uzorka od 39 individua. Takođe je korišćen u kombinaciji sa ARLEQUIN version 3.5.2.2**.** softverom za izračunavanje Hardy-Weinbergova ravnoteža, (Ho) i očekivana heterozigotnost (He) i fiksacioni indeks (F), kao i signifikantnost i odstupanja od Hardy-Weinbergova ravnoteže. Signifikantnost je izračunata na osnovu 10.000 permutacija.

Za provjeru prisustva nultih alela u dobijenom setu mikrosatelitskih podataka, korišćen je program Micro-Checker 2.2.3. (VAN OOSTERHOUT ET AL. 2004).

U svrhu analize postojanja genetičkog uskog grla (*genetic bottleneck*) korišćen je program BOTTLENECK version 1.2.0.2. (PIRY ET AL. 1999). Utvrđena očekivana heterozigotnost poređena je sa očekivanom heterozigotnošću populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka (*mitation-drift equilibrium*) na osnovu zapaženog broja alela i to na osnovu tri mutacijska modela. Model IAM (*infinite allele model*) model beskonačnog broja alela (KIMURA I CROW 1964), koji pretpostavljaju da svakom novom mutacijom nastaje jedan novi alel; SMM (*stepwise mutation model*) model postupnih mutacija (OHTA I KIMURA 1973), koji pretpostavlja kako je varijabilnost mikrosatelitnih markera najčešče uzrokovana greškom prilikom replikacije DNK, što ima za posljedicu povećanja ili smanjenja broja ponavljanja svojstvenog motiva za jedan (+1 ili -1); i TPM (*two-phase model*) dvofazni model (DI RIENZO ET AL. 1994) je sastavljeni evolucijski model koji uzima u obzir oba prethodna modela. Model TPM sa pretpostavkom da se u 30% slučajeva mutacije događaju na osnovu modela beskonačnog broja alela (IAM) i 70% slučajeva na osnovu modela postupnih mutacija (SMM) (PASCUAL ET AL. 2001; KUHEN ET AL. 2003). Signifikantnost viška ili nedostatka heterozigotnosti utvrđena je Wilcoxon-ovim testom signifikantnosti.

Urađena je koordinatna analiza (*Principal Coordinate Analysis* – PCoA) u programskom paketu GenAlEx 6.5. PCo analiza je metoda vizualizacije genetičkih odnosa između ispitivanih populacija i omogućava pregledan prikaz i laku interpretaciju velikog broja obrađenih podataka. U osnovi PCo analiza predstavlja prikaz podataka u koordinatnom sistemu u čijem centru se nalaze glavne ose varijacije. Prve dvije ili tri koordinatne ose otkrivaju većinu varijacija, kao i moguće grupisanje populacija, pri čemu svaka naredna osa (koordinata) objašnjava proporcionalno manje varijacija u ukupnoj količini varijacija.

STRUCTURE 2.3.4. (PRITCHARD ET AL. 2000) softverski paket baziran na Bajesovom klaster metodu je upotrebljen u analizi genetičke strukture populacija. Dužina "*burn-in*" perioda je podešena na 10000 iteracija, dok je broj Markov chain Monte Carlo (MCMC) ponavljanja nakon burn-in perioda iznosio 10000. Upotrebljen je "*admixture ancestry*" model u kombinaciji sa "*correlated allele frequency*" modelom. K vrijednost je podešena na 1-12, a za svaku K vrijednost broj nezavisnih replikacija je bio 20. Analiza je uključivala i informacije o pripadnosti inividua određenoj populaciji, dok su ostali parametri podešeni po *default* vrijednostima.

Za određivanje najvjerovatnijeg broja klastera (K) u ispitivanom setu podataka, upotrebljen je softver STRUCTURE HARVESTER (EARL I VON HOLDT 2012). Primjenjena su dva *ad hoc* metoda: ΔK metod (EVANNO ET AL. 2005), baziran na veličini (stopi) promjene između dvije K vrijednosti i metod po PRITCHARD ET AL. (2000), baziran na određivanju K vrijednosti prema lnP(D) vrijednostima (*log probability of data*).

Softver DendroUPGM za hijarhijsko klasterovanje, UPGMA metodom (*unweighted pair group method using arithmetic averages*) (SNEATH I SOKAL 1973) koji predstavlja prosječnu vezu između grupa tj. definiše udaljenost između dva klastera kao prosjek udaljenosti između svih parova koji se mogu definisati između objekata. Kao rezultat dobijemo dijagram iz matrice udaljenosti (rastojanja) pri čemu je korišćena Euklidska distanca. Standardna Euklidska udaljenost se računa kao kvadratni korijen iz sume kvadratnih razlika vrijednosti za sve varijable. Ulazni podatak je matrica Nei genetičke distance. Softverski paket dostupan je kao besplatan http://genomes.urv.cat/UPGMA.

U programu Past 138 kao ulazni podatak korišćena je F_{ST} matrica kako bi se utvrdila multidimenzionala ordinacija pomoću MDS (*non-matric*) koji ne uzima u obzir apsolutne udaljenosti (HAMMER ET AL. 2001). Softverski paket dostupan je kao besplatan https://folk.uio.no/ohammer/past/.

U tabeli 30 dat je prikaz korišćenja softverskih paketa i njihova primjena u ovom radu.

Tabela 30. Softverski paketi korišćeni za obradu podataka za genetičku analizu

SOFTVER	SVRHA	REFERENCA
PGDSpider version 2.1.1.3.	Formiranje ulaznih podataka Konverzija podataka	LISCHER AND EXCOFFIER 2017
GenAlEx version 6.5	Prosječan broj alela Jedinstveni aleli Broj efektivnih alela PCo analiza Nei genetska distanca Mantel test	PEAKALL I SMOUSE 2012
F-STATversion 2.9.3	Bogatstvo alela Parametri F- statistike Indeks genetičke diferencijacije	GOUDET 2001
Micro-Checker version 2.2.3.	Nul aleli	VAN OOSTERHOUT ET AL. 2004
ARLEQUIN version 3.5.2.2.	Analiza molekularne varijanse Uočena heterozigotnost Očekivana heterozigotnost Fiksacijski indeks, p – vrijednost Matrica vijednosti indeksa genetičke diferencijacije	EXCOFFIER I LISCHER 2010
BOTTLENECK version 1.2.0.2	Genetičko usko grlo	PIRY ET AL. 1999
STRUCTURE version 2.3.4.	Procjena genetičke strukture	PRITCHARD ET AL. 2000
Structure Harvester	Određivanje najvjerovatnijeg broja klastera	EARL I VON HOLDT 2012
Past 138	Multidimenzionalna ordinacija pomoću MDS	HAMMER ET AL. 2001
DendroUPGM	Klaster dendrogram iz matrice rastojanja	GARCIA-VALLVE I PUIGBO 2002

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. FENOTIPSKE KARAKTERISTIKE TEST STABALA

Spoljašnji izgled stabla (fenotip) je rezultanta uticaja sredine na njegovu nasljednu osnovu (genotip), tako da se na osnovu fenotipa može dosta pouzdano zaključivati o vrijednostima i interakciji oba činioca. Imajući to u vidu, analizirane su fenotipske karakteristike test stabala pitomog kestena na svih šest istraživanih lokaliteta. Bonitirana su isključivo test stabla kao nosioci proizvodnje kvalitetnih plodova analiziranih populacija. Cilj ovog dijela istraživanja je da se na osnovu fenotipskih karakteristika test stabala, ekoloških karakteristika staništa analiziranih u predhodnim poglavljima i genetičke karakterizacije populacija čiji su rezultati predstavljeni u narednom poglavlju, utvrdi prijedlog za njihovo usmjereno korišćenje pri budućem osnivanju namjenskih plantaža – za proizvodnju drveta i (ili) plodova.

Dobijeni rezultati nominalnih vrijednosti i varijabilnosti taksacionih elemenata test stabala, prikazani su tabelarno i grafički. Cilj ovih analiza je da se detaljnije prikažu ova svojstva rasta kao komponente ukupnih fenotipskih odlika stabala sa kojih su uzimani uzorci za morfometrijske analize ploda i lista i proizvodnog potencijala drvne mase u ovim populacijama. Analizirani su sljedeći elementi: prečnik stabla (d), ukupna visina stabla (h), visina do prve zelene grane (H_{zg}) i dužina krošnje (L_k). U tabeli 31 su prikazani rezultati deskriptivne statističke veličine za analizirane elemente po istraživanim lokalitetima.

U cilju sagledavanja opšteg stanja u tabeli 31 iznijeti su i zbirni statistički parametri za 90 stabala, za četiri analizirana svojstva pitomog kestena. Prosječan prečnik za sve populacije iznosi 32,22 cm. Selekcionisana stabla pitomog kestena imaju srednje vrijednosti prečnika od 27,50 cm (Prijedor) do 40,67 cm (Bratunac). Stabla sa minimalnim prečnikom evidentirana su Bužim (18,0 cm) i Banjaluka (18,20), a stablo najvećeg prečnika (111,50) u populaciji Konjic. Ukupna varijabilnost za ovo svojstvo je 38,87%, dok najmanja varijabilnost izmjerenih prečnika je u populaciji Kostajnica (Cv=13,70%), a najveća u populaciji Konjic (61,26%). Veće prosječne vrijednosti prečnika od srednje prosječne vrijednosti imaju populacija Bratunac, Konjic i Banjaluka.

Tabela 31. Deskriptivna statistika za analizirane elemente

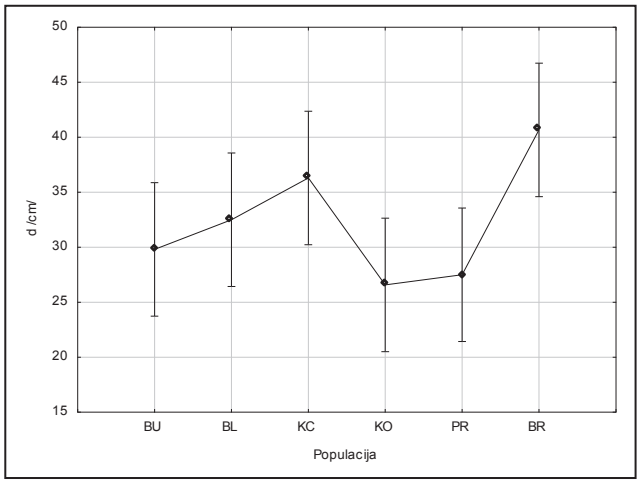
ANALIZIRANI ELEMENTI		BL	KC	BU	KO	PR	BR	SVE POPULACIJE
PREČNIK d	As	32,50	36,30	29,80	26,57	27,50	40,67	32,22
	Min	18,20	25,00	18,00	20,00	19,00	24,50	18,00
	Max	46,40	111,50	45,00	32,20	45,50	60,00	111,50
	Sd	7,35	22,24	8,45	3,64	8,86	11,27	12,53
	Sg	1,90	5,74	2,18	0,94	2,29	2,91	1,32
	Cv	22,63	61,26	28,35	13,70	32,20	27,72	38,87
UKUPNA VISINA h	As	13,39	12,93	14,63	19,57	14,12	11,83	14,41
	Min	11,00	7,60	9,90	14,20	10,80	9,30	7,60
	Max	16,50	17,40	19,40	26,30	17,70	15,50	26,30
	Sd	1,89	2,56	2,79	3,12	1,71	1,97	3,40
	Sg	0,49	0,66	0,72	0,80	0,44	0,51	0,36
	Cv	14,14	19,76	19,08	15,92	12,12	16,64	23,61
VISINA DO PRVE ZELENE GRANE H_{zg}	As	5,54	4,46	4,96	10,36	6,26	3,69	5,88
	Min	3,80	1,80	2,50	8,50	4,00	1,30	1,30
	Max	7,90	6,70	6,90	13,60	8,90	7,20	13,60
	Sd	1,38	1,66	1,39	1,61	1,19	1,59	2,60
	Sg	0,36	0,43	0,36	0,42	0,31	0,41	0,27
	Cv	24,84	37,11	27,99	15,58	19,02	43,12	44,31
DUŽINA KROŠNJE L_k	As	7,85	8,47	9,67	9,21	7,86	8,15	8,54
	Min	5,00	4,70	6,50	3,00	5,40	5,60	3,00
	Max	11,30	11,80	13,10	14,20	12,30	12,20	14,20
	Sd	1,76	2,02	2,05	3,40	1,87	2,02	2,30
	Sg	0,45	0,52	0,53	0,88	0,48	0,52	0,24
	Cv	22,36	23,87	21,17	36,93	23,78	24,78	26,90

Srednja visina stabala za sve populacije iznosi 14,41 m. Selekcionisana stabla imaju srednje vrijednosti visina od 11,83 m (Bratunac) do 19,57 m (Kostajnica). Najniže stablo je ostvarilo visinu od 7,60 m u populaciji Konjic dok je najviše izmjereno stablo 26,30 m u Kostajnici. Variranje ukupne visine za sve populacije iznosi 23,61%. Najmanja varijabilnost visina je u populaciji Prijedor (12,12%) a najveća varijabilnost za ovo svojstvo je u populaciji Konjic (Cv=19,76%). Veće vrijednosti od srednje prosječne vrijednosti imaju populacije Kostajnica i Bužim.

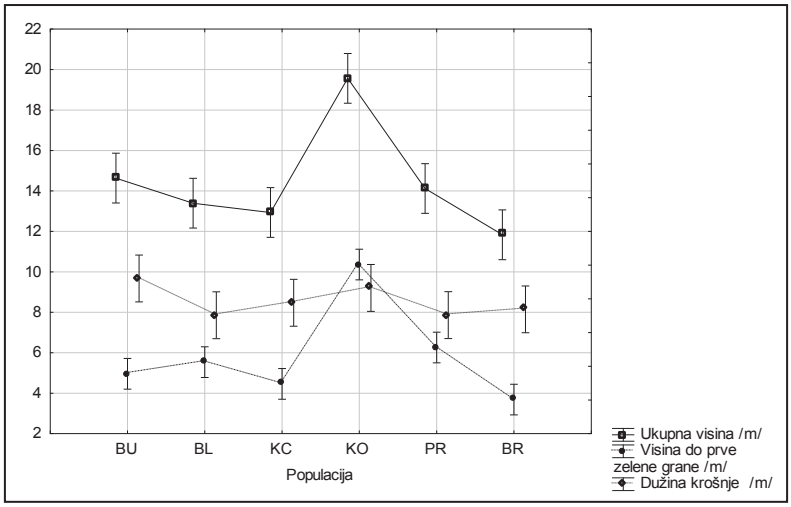
Prosječna visina do prve zelene grane za sve istraživane populacije iznosi 5,88 m, a prosječne vrijednosti su se kretale od 3,69 m za populaciju Bratunac do 10,36 m Kostajnica. Minimalna visina do prve zelene grane evidentirana je u populaciji Bratunac 1,30 m dok maksimalna vrijednost iznosi 13,60 m u Kostajnici. Koeficijent varijacije iznosi 44,31% i ovo svojstvo je najvarijabilnije u odnosu na ostala četiri prikazana svojstva. Po populacijama

Bratunac ima najveći koeficijent varijabilnosti (43,12%) dok najmanju varijabilnost za svojstvo visine do prve zelene grane ima populacija Kostajnica (15,58%).

Srednja dužina krošnje za sve populacije iznosi 8,54 m, a prosječni koeficijent varijabilnosti je 26,90%. Najmanja dužina krošnje je 3,0 m i najveća dužina krošnje je 14,20 m evidentirane su u populaciji Kostajnica. Vrijednosti koeficijenta varijabilnosti su se kretale od 21,17% (Bužim) do 36,93% (Kostajnica). Selekcionisana stabla istraživanih populacija su slične po varijabilitetu većine analiziranih elemenata. Na grafikonu 9 i 10 grafički je predstavljena varijabilnost aritmetičkih sredina analiziranih elemenata.



Grafikon 9. Varijabilnost aritemetičkih sredina analiziranih prečnika



Grafikon 10. Varijabilnost aritmetičkih sredina analiziranih visina

4.2. VARIJABILNOST MORFOMETRIJSKIH SVOJSTAVA LISTOVA I HABITUSA TEST STABALA

U novije vrijeme morfometrijske metode imaju sve manji značaj u istraživanjima inter- i intra-populacione varijabilnosti u odnosu na molekularne metode koje omogućavaju pouzdano proučavanje individualnog i grupnog diverziteta. Iako imaju sve manji značaj morfometrijske metode i dalje se često primjenjuju u istraživanjima fenotipske varijabilnosti drveća (POLJAK 2012; KRAUZE-MICHALSKA I BORATYNSKA 2013; ZEBEC ET AL. 2014; ČORTAN 2015; POPOVIĆ I KERKEZ 2016). Postojanje fenotipske varijabilnosti osobina biljaka omogućava adaptaciju na heterogene uslove u novim sredinama sa stresnim faktorima ili suboptimalnim uslovima životne sredine (ANDERSON ET AL. 2012). Suboptimalni uslovi prije svega svjetlost, vlažnost itd. mogu usloviti različite nivoe fenotipske varijabilnosti. Isto tako genetička osnova u interakciji sa uslovima spoljašne sredine, produkuje i reguliše fenotipsku varijabilnost (HOFFMANN I WOODS 2001). Kod drveća je većina morfoloških osobina, kao i kod drugih organizama, kontrolisana velikim brojem gena, tako da morfološka analiza nije dovoljno pouzdana kao primjena genetičkih markera (ISAJEV ET AL. 2008).

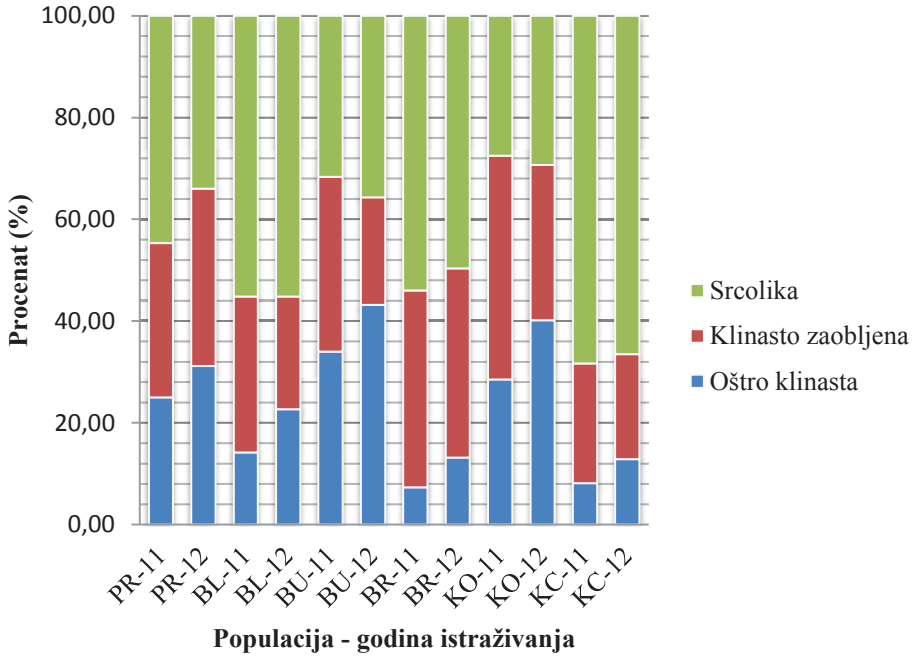
4.2.1. Deskriptivna statistika svojstava listova

Listovi pitomog kestena su vrlo plastični tj. varijabilni i varijabilnost listova je pod velikim uticajem mikroklimatskih faktora i uslovljena je djelovanjem spoljašnjih faktora prvenstveno od intenziteta svjetlosti, toplote i količine vazdušne vlage (GLIŠIĆ 1975; POLJAK 2014). Kod pitomog kestena postoje tri tipa listova: list svjetlosti (nalaze se na vrhu krune i vrhovima grana), list sjenke (na donjim granama i u unutrašnjosti krune), list izdanka iz panja. Između listova sjenke i svjetlosti postoji čitav niz prelaza u zavisnosti od uticaja ekoloških faktora (GLIŠIĆ 1975). Prilikom sakupljanja uzoraka vodilo se računa o ujednačenosti uslova sakupljanja. U ispitivanju varijabiliteta listova pitomog kestena izvršen je premjer od 7200 listova, gdje je na svakom listu mjereno, brojano, opažano i izvedeno 13 karakteristika, te se zaključci donose na osnovu 93.600 podataka. Rezultati su prikazani kroz sljedeće deskriptivne statističke parametre: aritmetička sredina (As), standardna devijacija (Sd), greška standardne devijacije (Sg), Minimum (Min), Maksimum (Max) i koeficijent varijacije (Cv).

Oblik osnove lista

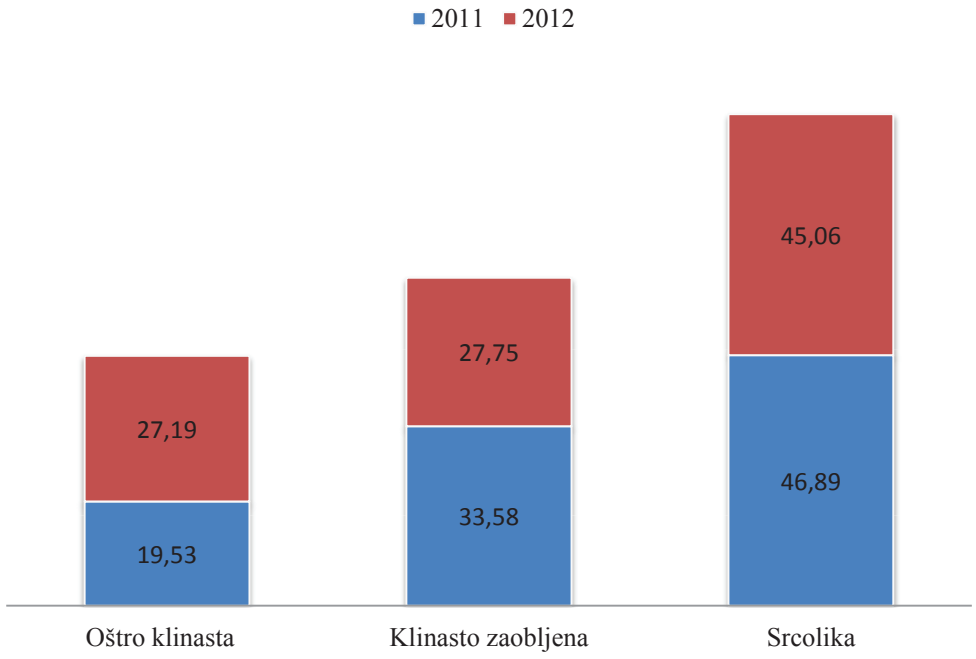
Prema UPOV (1989), oblik osnove lista može biti: oštro klinasta osnova, klinasto zaobljena i srcolika osnova lista. Prikaz procentualnog učešća pojedinog oblika lisne osnove po populacijama i godinama istraživanja prikazan je na grafikonu 11.

U prvoj godini istraživanja učešće srcolikog oblika osnove lista kretalo se od 27,50% (Kostajnica) do 68,33% populacija Konjic, klinasto zaobljen oblik osnove lista 23,50% (Konjic) do 44,00% (Kostajnica) i oštro klinast oblik osnove lista 7,33% (Bratunac) do 34,00% (Bužim). U drugoj godini istraživanja je slična distribucija vrijednosti sa prvom godinom istraživanja. Srcoliki oblik osnove lista najzastupljeniji je kao i u prvoj godini istraživanja u populaciji Konjic sa 66,50% a najmanje u populaciji Kostajnica (29,33%). Klinasto zaobljen oblik osnove lista najzastupljeniji u populaciji Bratunac (37,17%) a najmanje u populaciji Konjic (23,50%). Oštroklinast oblik osnove lista je kao i u prvoj godini istraživanja najzastupljeniji u populaciji Bužim sa nešto većim procentom (43,17%), dok najmanje je zastupljen u populaciji Konjic (12,83%).



Grafikon 11. Učešće oblika osnove lista po populacijama i godinama istraživanja

Kada sagledamo situaciju kroz sve istraživane populacije u obje godine istraživanja (grafikon 12) najzastupljeniji je srcoliki oblik osnove lista (prva godina istraživanja 46,89%, druga godina 45,06%) zatim slijedi klinasto zaobljena osnova lista (prva godina istraživanja 33,58%, druga godina 27,75%) i najmanje zastupljen je oštro klinasta osnova lista (19,53% - prva godina istraživanja, 27,19 - druga godina istraživanja).

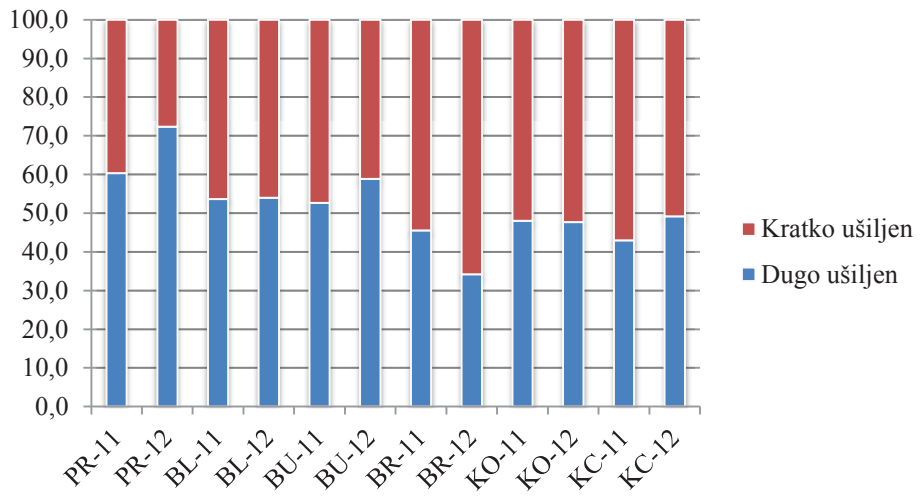


Grafikon 12. Učešće oblika osnove lista za sve istraživane populacije

Oblik vrha lista

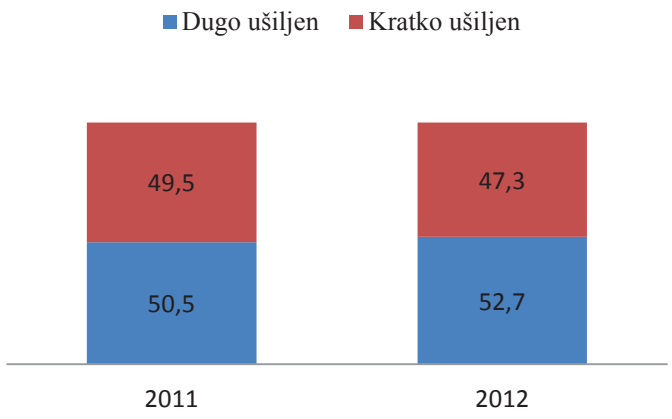
Prema GLIŠIĆU (1969), oblik vrha lista može biti postepeno dugo ušiljen i kratko ušiljen. U prvoj kao i drugoj godini istraživanja u populacijama Prijedor, Banjaluka i Bužim preovladava dugo ušiljen oblik vrha lista, dok u populacijama Bratunac, Kostajnica i Konjic takođe u obje godine istraživanja dominira kratko ušiljen oblik vrha lista (grafikon 13). U prvoj godini istraživanja učešće za dugo ušiljen oblik vrha lista kretao se od 43,0% (Konjic) do 60,3% (Prijedor), za kratko ušiljen oblik vrha vrijednosti su se kretale od 39,7% (Prijedor) do 57,0% (populacija Konjic).

U drugoj godini istraživanja 72,3% je bio zastupljen dugo ušiljen oblik vrha kod populacije Prijedor, a 34,2% kao najmanja vrijednost kod populacije Bratunac. Kratko ušiljen oblik vrha sa procentualnim učešćem od 27,7% je bio prisutan kod populacije Prijedor dok kod populacije Bratunac je bilo najveće učešće sa vrijednošću od 65,8%.



Grafikon 13. Oblik vrha lišća po populacijama i godinama

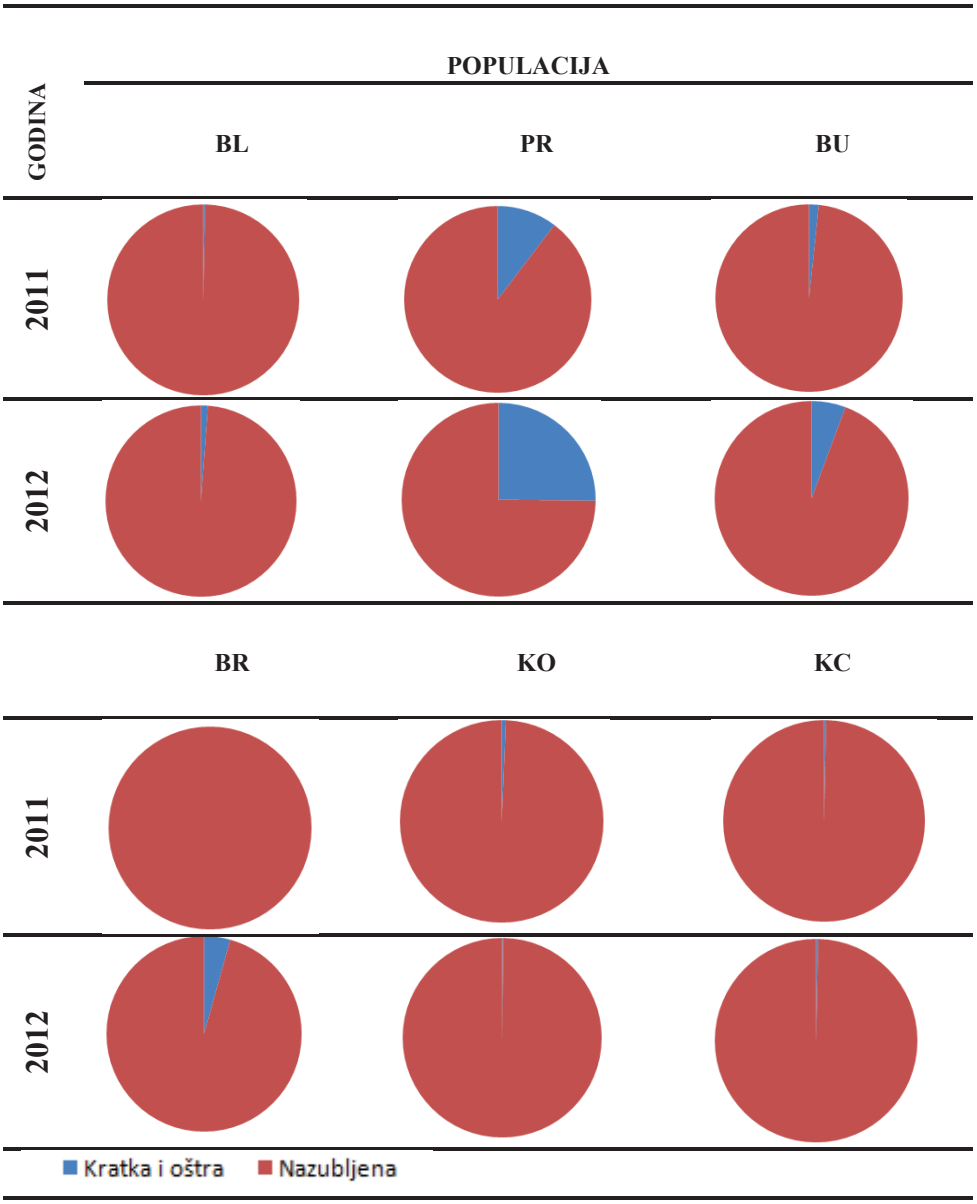
Na nivou svih istraživanih populacija u Bosni i Hercegovini u obje godine istraživanja možemo zaključiti da je učešće dugoušiljenog oblika vrha zastupljenije od kratko ušiljenog oblika vrha lista (grafikon 14).



Grafikon 14. Oblik vrha lišća za sve populacije

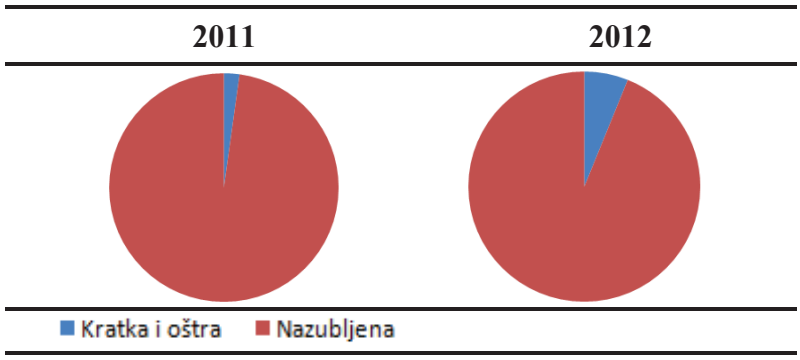
Oblik margine lista

Oblik margine lista prema UPOV (1989) može da bude kratak oštar vrh margine lista i nazubljena margina lista. U svim istraživanim populacijama, u obje godine istraživanja dominira učešće nazubljene margine lista (grafikon 15). U populaciji Prijedor je malo izraženije učešće kratke i oštre margine lista u odnosu na ostale populacije, u prvoj godini zastupljeno je 10,3% dok u drugoj godini istraživanja 25,2%.



Grafikon 15. Margina listova

Kad se uzmu sve istraživane populacije u prvoj godini istraživanja zastupljenost kratke i oštre margine lista iznosi svega 2,19%, dok nazubljene margine lista je 97,81%. U drugoj godini istraživanja je slična situacija sa nešto većim učešćem kratke i oštre margine lista 6,14%, a 93,86% je učešće nazubljene margine lista (grafikon 16)



Grafikon 16. Margina lista za sve istraživane populacije

Deskriptivni statistički parametri za mjerena morfometrijska svojstva lista prikazana su u tabeli 32. U nastavku su opisani rezultati po ispitivanim varijablama.

***Dužina lista* (DL)**

Prosječna dužina lista za sve istraživane populacije iznosi 18,10 cm. Prosječno veće vrijednosti ove osobine imale su populacija Bratunac (19,76 cm), Prijedor (19,49 cm) i populacija Bužim (18,52 cm), a manje vrijednosti su imale populacija Konjic (17,24 cm), Kostajnica (17,15 cm) i populacija Banjaluka (16,46 cm). Minimalna vrijednost dužine lista kretala se od 10,00 cm (populacija Prijedor) pa sve do 12,30 cm (populacija Bratunac). Maksimalne vrijednosti dužine lista kretale su se od 24,80 cm (populacija Konjic) pa do 29,90 cm kod populacije Bratunac. Prosječna vrijednost koeficijenta varijabilnosti iznosila je 16,99%, a kreće se od 12,94% (Banjaluka) do 17,06% (Bratunac). SKENDER (2010) za tri populacije pitomog kestena pokazuje nešto veće prosječne vrijednosti za ovo svojstvo i iznosi 19,52 cm, dok minimalna vrijednost dužine lista se kretala od 8,00 cm za populaciju Konjic pa do 11,20 cm za populaciju Pećigrad. Maksimalne vrijednosti su se kretale od 28,50 cm (Konjic) pa do 31,20 cm za populaciju (Bratunac). Prema istraživanjima MUJAGIĆ-PAŠALIĆ I BALLIAN (2012) u 16 subpopulacija pitomog kestena u Bosanskoj Krajini prosječna vrijednost dužine lista iznosi 17,31 cm. POLJAK (2014) u svojim istraživanjima navodi prosječnu vrijednost dužine lista 15,19 cm.

Za šest populacija sa tri različita geografska lokaliteta u Grčkoj prosječna dužina lista se kreće između 13,00 i 20,00 cm (ARAVANOPOULOS 2005). U svojim istraživanjima, na prirodnim nalazištima u Srbiji GLIŠIĆ (1975) navodi za ovo svojstvo prosječne vrijednosti od 13,68 cm do 14,91 za listove svjetla, dok za listove sjenke prosječne vrijednosti se kreću od 14,84 cm do 16,97 cm. Za tri prirodne populacije pitomog kestena u provinciji Guilan u Iranu ATEFE ET AL. (2015) navode prosječne rezultate dužine lista od 22,4 cm do 25,04 cm, što su znatno veće vrijednosti u odnosu na ova istraživanja.

Dužina peteljke (DP)

Prosječna dužina peteljke u ukupnom uzorku iznosi 1,24 cm. Populacija Konjic izdvaja se sa prosječno najdužom peteljkom (1,59 cm), a populacija Kostajnica sa prosječno najmanjom dužinom peteljke (0,96 cm). Koeficijent varijacije je visok i kretao se od 25,22% (populacija Prijedor) do 35,82% (populacija Konjic). Prosječna vrijednost za sve istraživane populacije za dužinu peteljke iznosi 34,36%. Slične rezultate navode i ARAVANOPOULOS (2005), MUJAGIĆ-PAŠALIĆ I BALLIAN (2012), GLIŠIĆ (1975) dok nešto veću prosječnu vrijednost (2,33 cm) navodi POLJAK (2014) i ATEFE ET AL. (2015).

Dužina nenazubljenog dijela lista (DNL)

Najveća varijabilnost od svih mjerenih svojstava lista upravo je dužina nenazubljenog dijela lista pitomog kestena sa prosječnom vrijednošću koeficijenta varijacije za sve istraživane populacije 42,15%. Najmanjom varijabilnošću odlikuje se populacija Banjaluka (27,72%), a najvećom populacija Bratunac (44,22%). Prosječna dužina nenazubljenog dijela lista za sve populacije iznosi 3,21 cm. Niže vrijednosti od prosječne ukupne vrijednosti imale su populacije Konjic (3,13 cm) i Banjaluka (2,41 cm), dok više vrijednosti od prosječne su imale populacije Prijedor (3,72 cm), Bužim (3,40 cm), Bratunac (3,26 cm) i Kostajnica (3,33 cm).

Dužina od osnove lista do maksimalne širine lista (DMSL)

Prosječna vrijednost dužine od osnove lista do maksimalne širine lista kretala se od 8,01 cm (populacija Konjic) do 11,43 cm (populacija Prijedor). Prosječna vrijednost za sve istraživane populacije iznosi 9,72 cm, dok prosječni koeficijent varijabilnosti za sve istraživane populacije iznosi 22,82%. Minimalna vrijednost za ovo svojstvo kreće se od 3,50 cm (populacija Konjic) do 5,50 cm (populacija Kostajnica), dok maksimalna vrijednost se kreće od 13,50 cm (populacija Banjaluka) do 18,50 (populacija Prijedor). Za ovo svojstvo u svojim istraživanjima POLJAK (2014) dobio je manju prosječnu vrijednost (6,42 cm) ali veći ukupni koeficijent varijabilnosti (29,92%).

Maksimalna širina lista (MSL)

Od šest analiziranih populacija, prosječno najširi list ima populacija Prijedor (7,58 cm) dok najuži listovi su kod populacije Konjic i Banjaluka (6,53 cm). Prosječna širina listova za sve istraživane populacije iznosi 6,98 cm sa koeficijentom varijabilnosti 17,55%. Veće vrijednosti od prosječne vrijednosti koeficijenta varijabilnosti imaju populacije Kostajnica i Konjic. Minimalna vrijednost maksimalne širine lista kretala se od 3,50 cm (populacije Konjic i Bužim) do 4,20 cm (populacija Bratunac), dok maksimalne vrijednosti maksimalne širine kretale su se od 9,50 cm (populacija Konjic) do 12,10 cm (populacija Kostajnica). MUJAGIĆ-PAŠALIĆ I BALLIAN (2012) za šesnaest subpopulacija u regionu Bosanke Krajine navodi prosječne vrijednosti za maksimalnu širinu lista od 6,43 cm što je približno jednako rezultatima ovog istraživanja. SKENDER (2010) u istraživanjima tri populacije u BiH dobija prosječnu vrijednost nešto veću u odnosu na ova istraživanja (7,58 cm) dok POLJAK (2014) za 30 analiziranih populacija dobija nešto manju prosječnu vrijednost (5,06 cm). GLIŠIĆ (1975) u Srbiji navodi prosječne vrijednosti širine lista sjenke koje se kreću od 6,05 cm do 6,53 cm, dok za listove svjetlosti od 3,43 cm do 5,03 cm. ARAVANOPOULOS (2005) za šest istaživanih populacija u Grčkoj dobija prosječne vrijednosti koje su se kretale od 5,00 cm do 7,00 cm.
U Iranu za tri populacije prosječne širine lista se kreću 6,98 cm do 8,66 cm (ATEFE ET AL. 2015).

Broj zubaca (BZ)

Prosječan broj zubaca u ukupnom uzorku je 16,09, a kreće se od 14,05 za populaciju Kostajnica do 17,42 za populaciju Bužim. Prosječni ukupni koeficijent varijabilnosti iznosi 20,13%. Najmanja varijabilnost broja zubaca svojstvena je za populaciju Banjaluka (15,45%), a najveća za populaciju Bužim (21,75%). Slične rezultate dobija POLJAK (2014) u svojim istraživanjima gdje prosječan broj zubaca iznosi 15,49.

Broj lisnih nerava (BN)

Od svih mjerenih osobina lista broj lisnih nerava je najmanje varijabilna osobina sa ukupnom prosječnom vrijednošću koeficijenta varijacije 15,76%. Prosječne vrijednosti koeficijenta varijacije kretale su se od 12,41% za populaciju Banjaluka pa do 16,82% za populaciju Bužim. Prosječan broj lisnih nerava u ukupnom uzorku iznosi 19,28, a kreće se od 17,41 za populaciju Kostajnica do 20,62 za populaciju Bužim. Slične rezultate u svojim istraživanjim dobija POLJAK (2014) sa prosječnom vrijednošću za ovo svojstvo 19,58, a kretalo se od 17,23 pa do 22,28. GLIŠIĆ (1975) na nalazištima u Srbiji navodi prosječan broj nerava na listu od 16,18 cm do 19,27 cm za list sjenke, a za list svjetlosti od 16,04 cm do 19,37 cm.

Tabela 32. Parametri deskriptivne statistike za mjerene veličine lista

OSOBINA		PR	BL	BU	BR	KO	KC	SVE POPULACIJE
DUŽINA LISTA **DL**	As	19,49	16,46	18,52	19,76	17,15	17,24	18,10
	Min	10,00	11,30	12,20	12,30	11,00	11,30	10,00
	Max	28,50	25,80	25,80	29,90	26,70	24,80	29,90
	Sd	3,30	2,13	2,70	3,37	2,84	2,32	3,08
	Sg	0,10	0,06	0,08	0,10	0,08	0,07	0,04
	Cv	16,92	12,94	14,60	17,06	16,56	13,49	16,99
DUŽINA PETELJKE **DP**	As	1,29	1,22	1,19	1,21	0,96	1,59	1,24
	Min	0,50	0,60	0,50	0,50	0,40	0,50	0,40
	Max	2,30	2,60	3,50	2,60	4,00	3,80	4,00
	Sd	0,33	0,34	0,39	0,32	0,29	0,57	0,43
	Sg	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01
	Cv	25,22	27,85	33,20	26,30	30,09	35,82	34,36
DUŽINA NENAZUBLJEOG DIJELA LISTA **DNL**	As	3,72	2,41	3,40	3,26	3,33	3,13	3,21
	Min	1,00	0,80	1,00	0,90	0,80	0,50	0,50
	Max	10,40	5,40	11,50	11,00	11,00	9,50	11,50
	Sd	1,42	0,67	1,37	1,44	1,39	1,30	1,35
	Sg	0,04	0,02	0,04	0,04	0,04	0,04	0,02
	Cv	38,09	27,72	40,13	44,22	41,62	41,61	42,15
DUŽINA DO MAKSIMALNE ŠIRINE LISTA **DMSL**	As	11,43	8,73	9,69	10,96	9,52	8,01	9,72
	Min	4,80	4,80	5,00	5,10	5,50	3,50	3,50
	Max	18,50	13,50	16,10	17,20	17,50	13,90	18,50
	Sd	2,44	1,26	1,68	2,05	1,87	1,75	2,22
	Sg	0,07	0,04	0,05	0,06	0,05	0,05	0,03
	Cv	21,33	14,46	17,33	18,67	19,68	21,91	22,82
MAKSIMALNA ŠIRINA LISTA **MSL**	As	7,58	6,53	6,79	7,46	6,99	6,53	6,98
	Min	3,80	4,00	3,50	4,20	4,00	3,50	3,50
	Max	12,00	10,20	11,90	11,00	12,10	9,50	12,10
	Sd	1,31	0,92	1,16	1,06	1,27	1,16	1,23
	Sg	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,01
	Cv	17,26	14,04	17,12	14,19	18,15	17,78	17,55
BROJ ZUBACA **BZ**	As	15,10	17,02	17,42	16,04	14,05	16,93	16,09
	Min	7,00	8,00	8,00	7,00	6,00	9,00	6,00
	Max	26,00	25,00	31,00	26,00	22,00	27,00	31,00
	Sd	2,85	2,63	3,79	2,99	2,70	2,98	3,24
	Sg	0,08	0,08	0,11	0,09	0,08	0,09	0,04
	Cv	18,91	15,45	21,75	18,63	19,21	17,61	20,13
BROJ NERAVA **BN**	As	18,48	19,73	20,62	19,06	17,41	20,37	19,28
	Min	10,00	12,00	10,00	10,00	10,00	11,00	10,00
	Max	29,00	28,00	32,00	30,00	24,00	30,00	32,00
	Sd	2,82	2,45	3,47	2,78	2,69	2,66	3,04
	Sg	0,08	0,07	0,10	0,08	0,08	0,08	0,04
	Cv	15,25	12,41	16,82	14,59	15,48	13,04	15,76

Maksimalna širina lista / dužina lista (MSL/DL)

Najveći odnos MSL/DL zabilježen je kod populacije Kostajnica (0,41), a najmanji kod populacije Bužim (0,37), (tabela 33). Prosječna maksimalna širina lista za sve istraživane populacije iznosila je 39% od ukupne dužine lista (MSL/DL=0,39). Najmanji koeficijent varijabilnosti karakteriše populaciju Banjaluka (12,91%) dok najveći koeficijent varijabilnosti karakteriše populaciju Bužim (17,76%). Ukupni prosječni koeficijent varijabilnosti iznosi 15,25%. Nešto veće vrijednosti (0,34) dobijaju u svojim istraživanjima MUJAGIĆ-PAŠALIĆ I BALLIAN (2012) i POLJAK (2014) sa vrijednošću od 0,34.

Dužina od osnove lista do maksimalne širine lista / dužina lista (DMSL/DL)

Od izvedenih veličina ova veličina je sa najmanjom varijabilnošću, gdje je prosječni koeficijent varijabilnosti za sve istraživane populacije 12,24 % (tabela 33). Prosječna dužina od osnove lista do maksimalne širine lista za sve populacije iznosi 53% od dužine lista (DMSL/DL =0,53). Najmanja prosječna dužina lista do maksimalne širine lista za populaciju Konjic iznosi 46% od dužine lista, a najveća prosječna dužina lista do maksimalne širine za populaciju Prijedor iznosi 58% od dužine lista. Ukupni prosječni koeficijent varijabilnosti iznosi 12,24%. POLJAK (2014) dobija nešto manje vrijednosti za ovo svojstvo 42% sa nešto većim prosječnim koeficijentom varijacije 17,53%.

Dužina peteljke / dužina lista (DP/DL)

Od izvedenih veličina odnos dužine peteljke i dužine lista je sa najvećom varijabilnošću (Cv=33,62%). U prosjeku za sve istraživane populacije dužina peteljke iznosi 7% od dužine lista. Najveća vrijednost ovog odnosa je za populaciju Konjic gdje dužina peteljke iznosi 9% od dužine lista, dok najmanje vrijednosti ovog odnosa javljaju se podjednako u tri populacije, Bužim, Bratunac i Kostajnica gdje dužina peteljke iznosi 6% od dužine lista. Vrijednosti ovog odnosa su iste sa prosjekom za istraživane populacije Prijedor i Banjaluka gdje dužina peteljke iznosi 7% od dužine lista.

Tabela 33. Parametri deskriptivne statistike za izvedena morfometrijska svojstva lista

OSOBINA	STATISTIČKI PARAMETRI	PR	BL	BU	BR	KO	KC	SVE POPULACIJE
MSL/DL	As	0,39	0,40	0,37	0,38	0,41	0,38	0,39
	Min	0,23	0,20	0,19	0,20	0,22	0,23	0,19
	Max	0,58	0,66	0,77	0,55	0,72	0,63	0,77
	Sd	0,05	0,05	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06
	Sg	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,001
	Cv	13,79	12,91	17,76	15,26	14,51	15,01	15,25
DMSL/DL	As	0,58	0,53	0,52	0,55	0,55	0,46	0,53
	Min	0,36	0,22	0,30	0,38	0,37	0,24	0,22
	Max	0,77	0,78	0,94	0,69	0,72	0,63	0,94
	Sd	0,06	0,04	0,05	0,05	0,04	0,07	0,07
	Sg	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001
	Cv	9,99	8,28	9,79	8,60	7,72	15,50	12,24
DP/DL	As	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06	0,09	0,07
	Min	0,04	0,04	0,03	0,03	0,02	0,04	0,02
	Max	0,11	0,15	0,22	0,12	0,25	0,26	0,26
	Sd	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,03	0,02
	Sg	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000
	Cv	18,94	24,65	26,00	22,51	24,81	37,22	33,62

4.2.2. Analiza varijanse

Kako bi se utvrdilo postojanje statistički značajnih razlika analiziranih morfoloških osobina urađena je univarijantna metoda, analiza varijanse (ANOVA) (tabela 34 i 35). Rezultati sprovedene analize varijanse pokazuju statistički značajne razlike između istraživanih populacija za sva analizirana svojstva, to jeste i za mjerena i izvedena svojstva .

U prilogu A i B prikazana dvofaktorijalna analiza varijanse na individualnom nivou, po godinama istraživanja za sva mjerena svojstva lista pokazuje da su statistički značajne razlike po faktoru stablo i faktoru stablo*ponavljanje za obje godine istraživanja.

Primjenom *post hoc* analize korišćen je Dankan test (*Dunncan test*) kako bi se prikazalo grupisanje populacija u homogene grupe na osnovu analiziranih svojstava.

Tabela 34. Analiza varijanse za mjerene osobine listova

ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	p
DL	Populacija	5	11050	2210	278,8	0,00
	Pogreška	7194	57031	8		
	Ukupno	7199	68081			
DP	Populacija	5	250,75	50,15	339,04	0,00
	Pogreška	7194	1064,15	0,15		
	Ukupno	7199	1314,90			
DNL	Populacija	5	1159,10	231,82	138,88	0,00
	Pogreška	7194	12007,83	1,67		
	Ukupno	7199	13166,93			
DMSL	Populacija	5	10110,2	2022,0	574,2	0,00
	Pogreška	7194	25335,2	3,5		
	Ukupno	7199	35445,7			
MSL	Populacija	5	1234,1	246,8	185,4	0,00
	Pogreška	7194	9574,8	1,3		
	Ukupno	7199	10808,9			
BZ	Populacija	5	10184	2037	224,1	0,00
	Pogreška	7194	65380	9		
	Ukupno	7199	75563			
BN	Populacija	5	8864	1773	221,5	0,00
	Pogreška	7194	57569	8		
	Ukupno	7199	66432			

Tabela 35. Analiza varijanse za izvedene osobine listova

ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	p
MSL/DL	Populacija	5	1,237	0,247	73,5	0,00
	Pogreška	7194	24,193	0,003		
	Ukupno	7199	25,429			
DMSL/DL	Populacija	5	10,225	2,045	713,3	0,00
	Pogreška	7194	20,626	0,003		
	Ukupno	7199	30,850			
DP/DL	Populacija	5	1,06213	0,21243	540,65	0,00
	Pogreška	7194	2,82661	0,00039		
	Ukupno	7199	3,88874			

Iz tabele 36 vidimo da je za svojstvo dužina lista izdvojeno 5 homogenih grupa gdje su populacija Kostajnica i populacija Konjic svrstane u jednu homogenu grupu, a ostale populacije čine svaka za sebe grupu. Za osobinu dužina peteljke isto je izdvojeno 5 homogenih grupa gdje jednu grupu čine populacija Bratunac i populacija Bužim. U pet homogenih grupa izdvojeno je i svojstvo maksimalna širina lista, gdje su populacije Banjaluka i Konjic svrstane u jednu homogenu grupu kao one populacije koje imaju najuži list dok ostale populacije čine zasebne grupe. Analizirana svojstva gdje je izdvojeno 5 homogenih grupa su: dužina nenazubljenog dijela lista (DNL), broj zubaca (BZ) kao i odnosi maksimalna širina lista/ dužina lista (MSL/DL) i dužina od osnove lista do maksimalne širine lista/dužin lista (DMSL/DL). U 6 homogenih grupa izdvojena su svojstva dužina do maksimalne širine lista (DMSL) i broj nerava na listu (BN) a od izvedenih veličina dužina peteljke/dužina lista (DP/DL). Može se zaključiti da su razlike između populacija evidentne, na šta ukazuje veći broj homogenih grupa koje su se izdvojile kod svih analiziranih svojstava. Međutim, na osnovu primjenjenih metoda za analizu promjenljivosti navedenih svojstava lista nije moguće utvrditi postojanje pravilnosti po kojima se populacije grupišu. Populacije se za različita svojstva homogenizuju u različite grupe.

Tabela 36. Duncan test za morfološka svojstva listova

ANALIZIRANE OSOBINE	POST-HOC (α=0.05)						BROJ HOMOGENIH GRUPA
	BL	KC	BU	KO	PR	BR	
DL	16,46^{b}	17,24^{a}	18,52^{c}	17,15^{a}	19,49^{d}	19,76^{e}	5
DP	1,22^{b}	1,59^{e}	1,19^{a}	0,96^{c}	1,29^{d}	1,21^{ab}	5
DNL	13.91^{c}	15.63^{d}	14.68^{b}	14.31^{ab}	14.91^{e}	15.55^{a}	5
DMSL	8,73^{b}	8,01^{a}	9,69^{d}	9,52^{c}	11,43^{f}	10,96^{e}	6
MSL	6,53^{a}	6,53^{a}	6,79^{b}	6,99^{c}	7,58^{e}	7,46^{d}	5
BZ	17,02^{a}	16,93^{a}	17,42^{e}	14,05^{b}	15,10^{c}	16,04^{d}	5
BN	19,73^{d}	20,37^{e}	20,62^{f}	17,41^{a}	18,48^{b}	19,06^{c}	6
MSL/DL	0,3997^{d}	0,3803^{a}	0,3712^{b}	0,4110^{e}	0,3997^{c}	0,3836^{a}	5
DMSL/DL	0,5310^{d}	0,4628^{b}	0,5233^{c}	0,5539^{a}	0,5841^{e}	0,5544^{a}	5
DP/DL	0,0743^{e}	0,0934^{f}	0,0634^{c}	0,0561^{a}	0,0662^{d}	0,0613^{b}	6

Provedenom dvofaktorijalnom analizom varijanse dobijeni rezultati ukazuju na postojanje statistički značajne razlike za sva mjerena morfometrijska svojstva za faktor populacija, kao i za faktor godina, isto i kad posmatramo ova dva faktora u interakciji takođe su razlike statistički značajne za sva analizirana svojstva (tabela 37).

Tabela 37. Dvofaktorijalna analiza varijanse za mjerene osobine listova

ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	p
DL	Populacija	5	11050	2210	283,9	0,0000
	Godina	1	392	392	50,4	0,0000
	Popu*god	5	686	137	17,6	0,0000
	Pogreška	7188	55952	8		
	Ukupno	7199	68081			
DP	Populacija	5	250,75	50,15	347,20	0,0000
	Godina	1	1,89	1,89	13,07	0,0003
	Popu*god	5	24,00	4,80	33,24	0,0000
	Pogreška	7188	1038,25	0,14	347,20	0,0000
	Ukupno	7199	1314,90			
DNL	Populacija	5	1159,10	231,82	140,50	0,0000
	Godina	1	8,06	8,06	4,88	0,0271
	Popu*god	5	139,59	27,92	16,92	0,0000
	Pogreška	7188	11860,18	1,65		
	Ukupno	7199	13166,93			
DMSL	Populacija	5	10110,2	2022,0	587,3	0,0000
	Godina	1	142,6	142,6	41,4	0,0000
	Popu*god	5	444,4	88,9	25,8	0,0000
	Pogreška	7188	24748,6	3,4		
	Ukupno	7199	35445,7			
MSL	Populacija	5	1234,1	246,8	187,6	0,0000
	Godina	1	57,5	57,5	43,7	0,0000
	Popu*god	5	60,9	12,2	9,3	0,0000
	Pogreška	7188	9456,4	1,3		
	Ukupno	7199	10808,9			
BZ	Populacija	5	10184	2037	226,6	0,0000
	Godina	1	93	93	10,3	0,0013
	Popu*god	5	681	136	15,2	0,0000
	Pogreška	7188	64606	9		
	Ukupno	7199	75563			
BN	Populacija	5	8864	1773	225,0	0,0000
	Godina	1	377	377	47,8	0,0000
	Popu*god	5	559	112	14,2	0,0000
	Pogreška	7188	56633	8		
	Ukupno	7199	66432			

Primjena dvofaktorijalne analize na izvedene veličine lista (tabela 38) pokazuju da su razlike statistički značajne po faktoru populacija, dok po faktoru godina nisu statistički značajne razlike, ali kada se ova dva faktora posmatraju u interakciji onda su razlike statistički značajne i ovo je slučaj za sva tri izvedena svojstva. Izvedene veličine za oblik lista tj. odnosi izračunati na osnovu mjerenih veličina ostaju nepromjenjeni bez obzira što se mjenjaju veličine mjerenih obilježja po faktoru godina. Promjene dimenzija lista ne dovode do promjene oblika lista.

Tabela 38. Dvofaktorijalna analiza varijanse za izvedene osobine listova

ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	p
MSL/DL	Populacija	5	1,237	0,247	74,4	0,0000
	Godina	1	0,000	0,000	0,0	0,9600
	Popu*god	5	0,297	0,059	17,8	0,0000
	Pogreška	7188	23,896	0,003		
	Ukupno	7199	25,429			
DMSL/DL	Populacija	5	10,225	2,045	723,3	0,0000
	Godina	1	0,007	0,007	2,5	0,1166
	Popu*god	5	0,296	0,059	20,9	0,0000
	Pogreška	7188	20,323	0,003		
	Ukupno	7199	30,850			
DP/DL	Populacija	5	1,06213	0,21243	554,46	0,0000
	Godina	1	0,00009	0,00009	0,22	0,6375
	Popu*god	5	0,07264	0,01453	37,92	0,0000
	Pogreška	7188	2,75388	0,00038		
	Ukupno	7199	3,88874			

4.2.3. Diskriminantna analiza

Kanonička diskriminantna analiza je korišćena radi sagledavanja značaja ispitivanih svojstava u razlikovanju populacija pitomog kestena, zatim radi grupisanja svojstava i radi sagledavanja odnosa među ispitivanim populacijama na osnovu sličnosti. Ovom multivariacionom statističkom metodom se formiraju nove kanoničke promjenljive koje su međusobno ortogonalne tj. međusobno nisu u korelaciji. Takođe se postupkom vrši preraspodjela ukupne varijanse na način da je što veća količina informacija sadržana u što manjem broju kanoničnih promjenljivih. Zahvaljujući tome, omogućeno je lakše sagledavanje i tumačenje odnosa među svojstvima i ispitivanim populacijama.

Prema rezultatima sprovedene kanoničke diskriminantne analize izvedeno je pet kanoničkih promjenljivih (broj populacija -1), kojima je u cijelosti opisano variranje ispitivanih populacija prema ispitivanim svojstvima. Učešće variranja prve dvije kanoničke varijable je iznosilo 80,3% ukupnog variranja, što znači da izabrane kanoničke promjenljive zadovoljavajuće reprezentuju originalne varijable.

Neki osnovni pokazatelji diskriminantne moći ispitivanih svojstava su prikazani u tabeli 39. Wilk-ova lambda je pokazatelj statističke značajnosti diskriminacijske snage, a vrijednosti se kreću od 1 (nema diskriminacijske snage) do 0 (perfektna diskriminacijska snaga). U ovom slučaju značaj posmatranog svojstva (tabela 39) se sagleda na osnovu Wilk-ove lambde za model koji se formira od preostalih svojstava, te što je Wilk-ova lambda sa preostalim svojstvima veća, to je taj model slabiji, te je značaj svojstva veći. Parcijalna Wilk-ova lambda predstavlja mjeru pojedinačnog doprinosa varijable u diskriminaciji grupa. Što je manja vrijednost parcijalne Wilk-ove lambde to je veći pojedinačni doprinos varijable u diskriminaciji populacija. F-test koji je prezentovan testira značajnost razlike u diskriminacionoj moći diskriminacionog modela sa svim svojim svojstvima osim svojstva za maksimalnu širinu lista i modela u kome je izostavljeno posmatrano svojstvo. Na osnovu vrijednosti Wilk-ove lambde i parcijalne Wilk-ove lambde, kao i F-testa, varijabla dužina do maksimalne širine lista (DMSL) najviše doprinosi razlikovanju grupa (najniža vrijednost parcijalne lambde). Po snazi efekta slijede varijabla dužina lista (DL), dužina peteljke (DP), broj nerava (BN), broj zubaca (BZ), dužina nenazubljenog dijela lista (DNL) i maksimalna širina lista (MSL).

Tabela 39. Pokazatelji značaja ispitivanih svojstava u razlikovanju populacija isključivanjem iz diskriminacionog modela sa svim svojstvima

VARIJABLA	WILK-OVA LAMBDA	PARCIJALNA LAMBDA	F	p VRIJEDNSOT
DUŽINA LISTA	0,086265	0,589110	10,88065	0,000000
DUŽINA PETELJKE	0,081869	0,620739	9,53135	0,000000
DUŽINA NENAZUBLJENOG DIJELA LISTA	0,061851	0,821638	3,38647	0,008046
DUŽINA DO MAX ŠIRINE LISTA	0,110294	0,460765	18,25674	0,000000
MAX ŠIRINA LISTA	0,053685	0,946623	0,87964	0,498837
BROJ ZUBACA	0,064017	0,793845	4,05118	0,002544
BROJ NERAVA	0,066603	0,763023	4,84501	0,000654

U okviru kanoničke diskriminantne analize formirano je pet kanoničkih varijabli, gdje su, prema χ^2-testu, sukcesivnog izostavljanja kanoničkih varijabli, izostavljanje svih kanoničkih varijabli se pokazalo statistički značajnim (tabela 40). Oštar rast Wilk-ove lambde kao i oštar pad karakterističnih korijenova, kao i pad kanoničkih korelacija, kao mjere asocijacije između populacija i posmatrane kanoničke varijable, ukazuju na neujednačenost raspodjele ukupne varijanse među formiranim kanoničkim varijablama.

Tabela 40. Statistika za sukcesivne kanoničke varijable

	KARAKTERISTIČNI KORIJEN	KANONIČKA KORELACIJA	WILKS-OVA LAMBDA	χ^2	STEPENI SLOBODE	p-VRIJEDNOST
0	3,337	0,877	0,051	245,807	35	0,000000
1	0,900	0,688	0,220	124,756	24	0,000000
2	0,544	0,594	0,419	71,807	15	0,000000
3	0,343	0,505	0,647	35,958	8	0,000018
4	0,151	0,363	0,868	11,637	3	0,008737

Standarizovani koeficijenti kananoničkih varijabli prikazani su u tabali 41. Što je veći standarizovani koeficijent po svojoj apsolutnoj vrijednosti to je veći značaj pripadne varijable razlikovanju grupa koje je definisano dotičnom diskriminacionom funkcijom. Razlikovanje koje je definisano kanoničkom varijablom 1 najviše je određeno varijablom broj nerava i dužinom do maksimalne širine lista, kanonička varijabla 2 u najvećoj mjeri je uslovljena varijablom dužina lista, a kod kanoničke varijable 3 svoje najviše standarizovane koeficijente imaju dužina peteljke, maksimalna širina lista i broj zubaca, a sa petom kanoničkom varijablom ima dužina nenazubljenog dijela lista. Prve četiri kanoničke varijable opisuju 97,1%, dok već prve dvije opisuju 80,3% ukupnog variranja među populacijama.

Prethodno navedene informacije mogu da budu iskorišćene u smislu grupisanja svojstava, s obzirom da su kanoničke varijable međusobno nekorelisane. Kod svojstava koja svoje najviše standarizovane koeficijente imaju kod iste kanoničke varijable, može se očekivati da su i međusobno u korelaciji, dok bi se u suprotnom mogao očekivati izostanak korelacije.

Tabela 41. Standarizovani koeficijenti kanoničkih varijabli

VARIJABLA	KANONIČKA VARIJABLA 1	KANONIČKA VARIJABLA 2	KANONIČKA VARIJABLA 3	KANONIČKA VARIJABLA 4	KANONIČKA VARIJABLA 5
DUŽINA LISTA	-1,127	2,083	0,128	-1,164	1,171
DUŽINA PETELJKE	-0,273	-0,692	1,008	0,406	-0,232
DUŽINA NENAZUBLJENOG DIJELA LISTA	0,445	0,630	-0,864	0,535	-1,394
DUŽINA DO MAX ŠIRINE LISTA	1,966	-1,517	0,200	1,079	-0,654
MAX ŠIRINA LISTA	-0,289	0,087	0,315	0,039	0,260
BROJ ZUBACA	2,034	0,351	-2,155	2,037	-1,186
BROJ NERAVA	-2,195	-0,174	1,250	-0,915	0,742
KARAKTERISTIČNI KORJEN	3,337	0,900	0,544	0,343	0,151
KUMULATIVNO UČEŠĆE KARAKTERISTIČNIH KORIJENOVA U UKUPNOM VARIRANJU	0,633	0,803	0,906	0,971	1,000

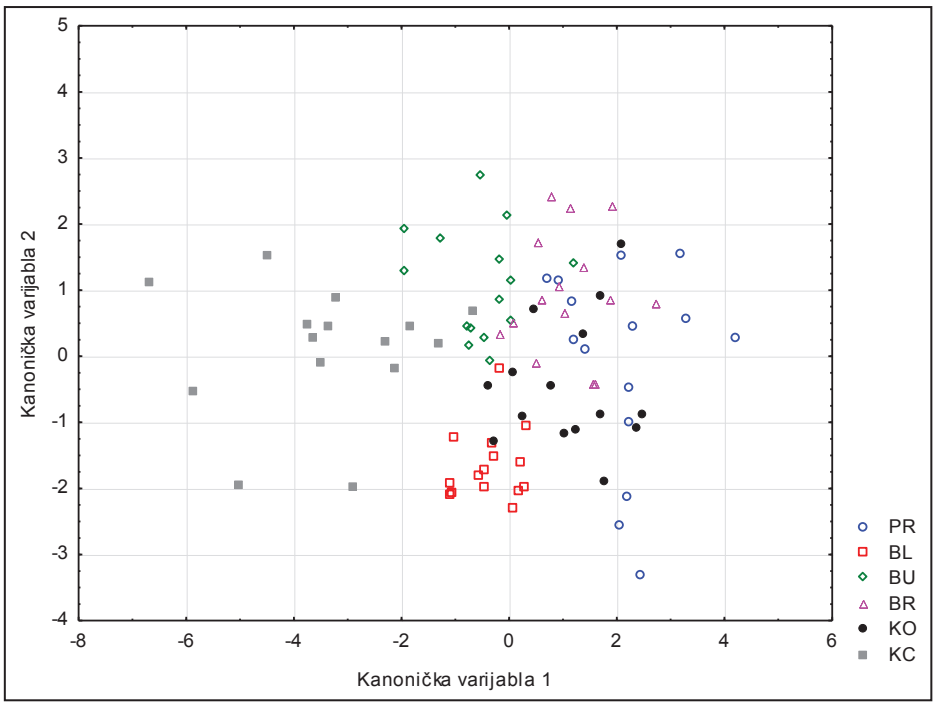
Ipak smatra se da su za grupisanje svojstava pouzdanija diskriminaciona opterećenja, koja predstavljaju koeficijente korelacije između svojstava i kanoničkih varijabli (tabela 42). I u ovom slučaju smatra se da su svojstva koja imaju svoja najviša opterećenja sa istom kanoničkom varijablom u međusobnoj korelaciji i obrnuto, za svojstva koja svoja najviša opterećenja imaju sa različitim kanoničkim varijablama se očekuje slaba korelacija. Prema rezultatima prikazanim u tabeli 42 većina ispitivanih svojstava imaju svoja najviša opterećenja sa prvom kanoničkom varijablom, pa ih možemo smatrati prvom grupom. S obzirom da ova kanonička varijabla opisuje najveći dio ukupnog variranja, može se reći da svojstva koja imaju svoja najveća opterećenja sa ovom kanoničkom varijablom najviše variraju među ispitivanim populacijama. Posebno se ističu dužina do maksimalne širine lista (DMSL) i maksimalna širina lista (MSL) sa opterećenjima iznad 0,8. Drugu grupu čine svojstvo dužina nenazubljenog dijela lista (DNL) koje ima najviše opterećenje sa drugom

kanoničkom varijablom, a treću grupu čine broj zubaca (BZ), koje ima svoje najveće opterećenje sa četvrtom kanoničkom varijablom.

Tabela 42. Diskriminativna opterećenja između kanoničkih varijabli i mjerenih svojstava

VARIJABLA	KANONIČKA VARIJABLA 1	KANONIČKA VARIJABLA 2	KANONIČKA VARIJABLA 3	KANONIČKA VARIJABLA 4	KANONIČKA VARIJABLA 5
DUŽINA LISTA	0,532	0,724	0,337	0,274	0,072
DUŽINA PETELJKE	-0,709	0,087	0,599	0,360	-0,050
DUŽINA NENAZUBLJENOG DIJELA LISTA	0,403	0,667	0,317	-0,175	-0,512
DUŽINA DO MAX ŠIRINE LISTA	0,870	0,384	0,239	0,198	0,009
MAX ŠIRINA LISTA	0,818	0,379	0,430	0,021	0,045
BROJ ZUBACA	-0,654	0,143	-0,255	0,670	0,193
BROJ NERAVA	-0,729	0,249	-0,184	0,608	0,056
SVOJSTVENA VRIJEDNOST	3,337	0,900	0,544	0,343	0,151
KUMULATIVNO UČEŠĆE KANONIČKIH KORIJENOVA U UKUPNOM VARIRANJU	0,633	0,803	0,906	0,971	1,000

Kad je utvrđeno koja svojstva lista i u kojoj mjeri doprinose razlikovanju istraživanih grupa (populacija) duž prve i druge kanoničke ose, formirana su dva grafikona na osnovu prve dvije kanoničke varijable, jedan na nivou stabala (grafikon 17) i jedna na nivou populacija (grafikon 18), kako bi se sagledali odnosi među ispitivanim populacijama. Prema grafikonu 17 jasno je izdvajanje stabala populacije Konjic, dok se disperzija stabala ostalih populacija u manjoj ili većoj mjeri preklapaju. Na ovom grafikonu se isto vidi da je populacija Konjic od ostalih populacija izdvojena na osnovu prve kanoničke varijable.

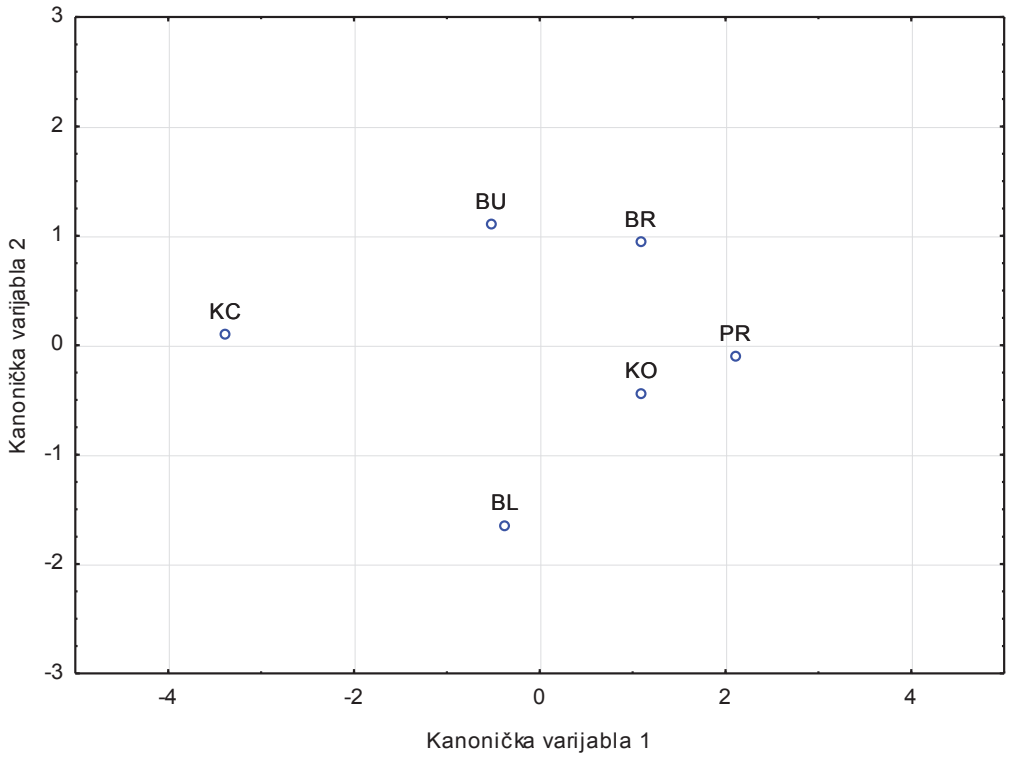


Grafikon 17. Prikaz rezultata prve i druge kanoničke varijable na nivou stabala ispitivanih populacija

Odnosi među populacijama su ispitani na osnovu centroida populacija (grafikon 18) za prve dvije kanoničke varijable koje zajedno opisuju 80,3% ukupnog variranja među populacijama. Prva kanonička varijabla (diskriminaciona funkcija) u najvećoj meri razlikuje populaciju Konjic, a druga kanonička varijabla najbolje razlikuje populaciju Banjaluka od ostatka ispitivane grupe populacija. (tabela 43 i grafikon 18). Veće je variranje dobijeno na osnovu prve kanoničke varijable, kojom su populacije raspoređene od populacije Prijedor (PR) do populacije Konjic (KC), a nešto slabije po drugoj kanoničkoj varijabli kojom su populacije raspoređene od populacije Banjaluka (BL) do populacije Bužim (BU).

Tabela 43. Sredine kanoničkih varijabli po grupama

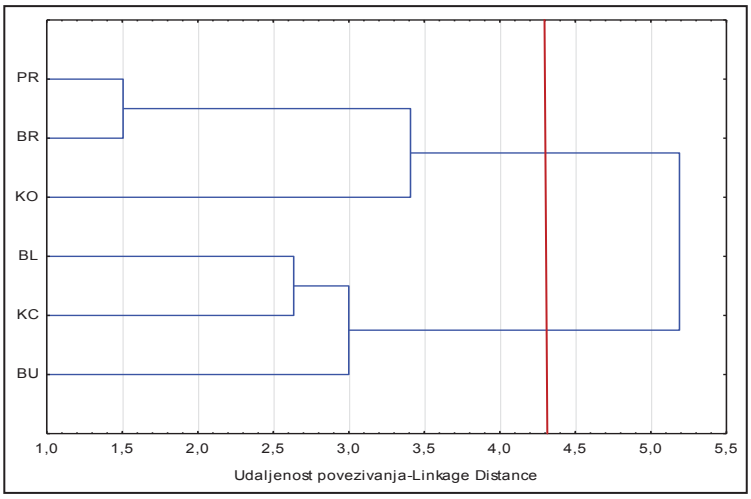
GRUPA (POPULACIJA)	KANONIČKA VARIJABLA 1	KANONIČKA VARIJABLA 2	KANONIČKA VARIJABLA 3	KANONIČKA VARIJABLA 4	KANONIČKA VARIJABLA 5
PRIJEDOR (PR)	2,10179	-0.09592	0,91410	0,43495	-0,434406
BANJALUKA (BL)	-0,37073	-1,63988	-0,47055	0,51941	0,259195
BUŽIM (BU)	-0,52482	1,11085	-1,09037	0,39331	-0,295700
BRATUNAC (BR)	1,08273	0,95108	0,28722	-0,00999	0,691698
KOSTAJNICA (KO)	1,09907	-0,43638	-0,39236	-1,12245	-0,143305
KONJIC (KC)	-3,38805	0,11024	0,75197	-0,21524	-0,077482



Grafikon 18. Prikaz centroida ispitivanih populacija za prve dvije kanoničke varijable

4.2.4. Klaster analiza

U cilju procjene udaljenosti tj. bliskosti grupisanja istraživanih populacija, na osnovu analiziranih mjerenih morfoloških svojstava urađena je Klaster analiza. Iz dendrogram klaster analize (grafikon 19) možemo vidjeti da su se formirale dvije velike grupe. Prvu grupu formiraju populacije Bratunac i populacija Prijedor, koje su međusobno najsličnije i povezuju se na distanci 1,51 i na koji se nadovezuje populacija Kostajnica na distanci 3,41 i one čine jedan klaster. Drugi klaster formiran je od populacije Banjaluka i populacije Konjic koje su slične i povezuju se na distanci 2,63, a pridružena im je populacija Bužim na distanci 3,0 i čine jedan klaster gdje se naknadno vezuju za postojeći klaster na distanci 5,19.



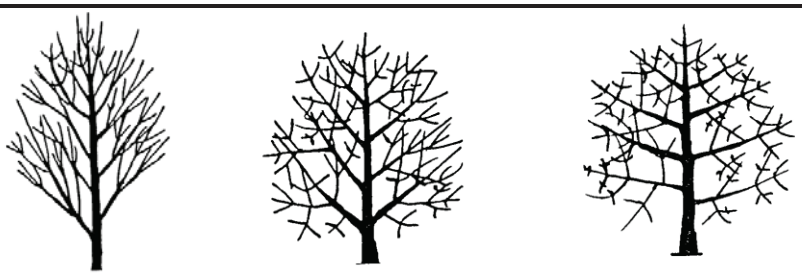
Grafikon 19. Klaster analiza za mjerena svojstva listova

Klaster analizom za analizirana svojstva lista nije došlo do geografske izdiferenciranosti populacija čiji uzrok se može objasniti isključivo po mikroekološkom principu. Slični rezultati u kontekstu nepostojanja geografske izdiferenciranosti zabilježeni su i na drugim drvenastim vrstama (BRUS ET AL. 2011; KRAUZE-MICHALSKA I BORATYNSKA 2013). Do sličnih rezultata tj. do velike heterogenosti folijarnih osobina pitomog kestena dolaze i drugi autori iako način sakupljanja i obrada materijala u svim istraživanjima nije ista (SUČIĆ 1969; GLIŠIĆ 1975, ARAVANOPOULOS 2005, SKENDER 2010, MUJAGIĆ-PAŠALIĆ I BALLIAN 2012, POLJAK ET AL. 2014; ATEFE ET AL. 2015). Do sličnih rezultata tj. do velike varijabilnosti morfoloških osobina lista dolaze i autori koji su vršili istraživanja na drugim vrstama. ZEBEC ET AL. (2014) za populacije nizijskog brijesta u kontinentalnoj Hrvatskoj, POPOVIĆ I KERKEZ (2016) za populacije divlje trešnje u Srbiji; BALLIAN ET AL. (2014) za populacije makedonskog hrasta u Bosni i Hercegovini i Crnoj Gori.

4.2.5. Ocjena habitusa

Prema UPOV (1989) utvrđena je ocjena krošnje tj. habitusa za selekcionisana stabla sa šest istraživanih lokaliteta. Po ovoj metodi uspravan habitus označen je sa brojem (3), polu uspravan brojem (5), a širok habitus (7). U tabeli 44 dati su rezultati ocjene habitusa po procentualnom učešću za istraživane populacije.

Tabela 44. Ocjena habitusa prema UPOV (1989)



	USPRAVAN (3)	POLU- USPRAVAN (5)	ŠIROK (7)
BANJALUKA	33,3%	26,7%	40%
KONJIC	66,7%	13,3%	20%
BUŽIM	20%	46,7%	33,3%
KOSTAJNICA	73,3%	6,7%	20%
PRIJEDOR	40%	26,7%	33,3%
BRATUNAC	33,3%	33,3%	33,3%
SVE POPULACIJE	44,4%	25,6%	30%

Uspravan habitus najzastupljeniji je u populacijama Kostajnica (73,3%), Konjic (66,7%) i Prijedor (40%), a polu-uspravan habitus je najzastupljeniji u populaciji Bužim (46,7%) dok u populaciji Banjaluka najzastupljenini je široki habitus sa 40%. Populacija Bratunac ima podjednako zastupljena sva tri tipa habitusa. U istraživanim populacijama uspravan tip habitusa zastupljen je sa 44,4%, široki habitus sa 30% dok najmanje zastupljen je polu-uspravan sa 25,6%. Svi tipovi habitusa su zastupljeni u svim istraživanim populacijama što nas navodi na zaključak da je habitus pitomog kestena prilično varijabilan jer ekološki uslovi staništa, prije svega zavisno od toga da li se stablo nalazi na ravnom ili nagnutom terenu kao i uticaja sklopa (neravnomjerno osvjetljene krune), dosta utiče na položaj i oblik njegovog debla i krune.

4.3. VARIJABILNOST MORFOMETRIJSKIH SVOJSTAVA PLODA TEST STABALA

Varijabilitet obilnosti uroda i kvaliteta šišarica, plodova i sjemena svih važnijih vrsta šumskog drveća odavno je predmet proučavanja šumarske naučne i stručne javnosti. Brojni su radovi u zemlji i inostranstvu koji obrađuju ovu, za šumarstvo, veoma važnu naučnu oblast. Međutim, stepen istraženosti genetičke varijabilnosti kvantiteta i kvaliteta uroda plodova i sjemena naših najvažnijih vrsta šumskog drveća i mogućnosti adekvatnog korišćenja istog u našim uslovima, još uvijek je ispod stvarnih potreba i nije u skladu sa ekonomskim značajem vrsta.

Višegodišnje proučavanje prirodne promjenljivosti plodova pitomog kestena, obavljano je u cilju definisanja niže taksonomske pripadnosti u okviru vrste, veze između provenijencija, uslova sredine. Dobijeni rezultati u istraživanju varijabilnosti morfometrijskih svojstava ploda i kvaliteta klijanja ploda (sjemena), su značajni za preliminarno upoznavanje genetičkog varijabiliteta na nivou proučavanih populacija.

Obavljenim morfometrijskim analizama svojstava plodova kod pitomog kestena, utvrđen je stepen međupopulacione i individualne varijabilnosti za ova svojstva. Istovremeno, dobijeni rezultati pokazuju da na njihovu vrijednost i obim variranja integralno utiču definisane stanišne odlike i genofond populacije.

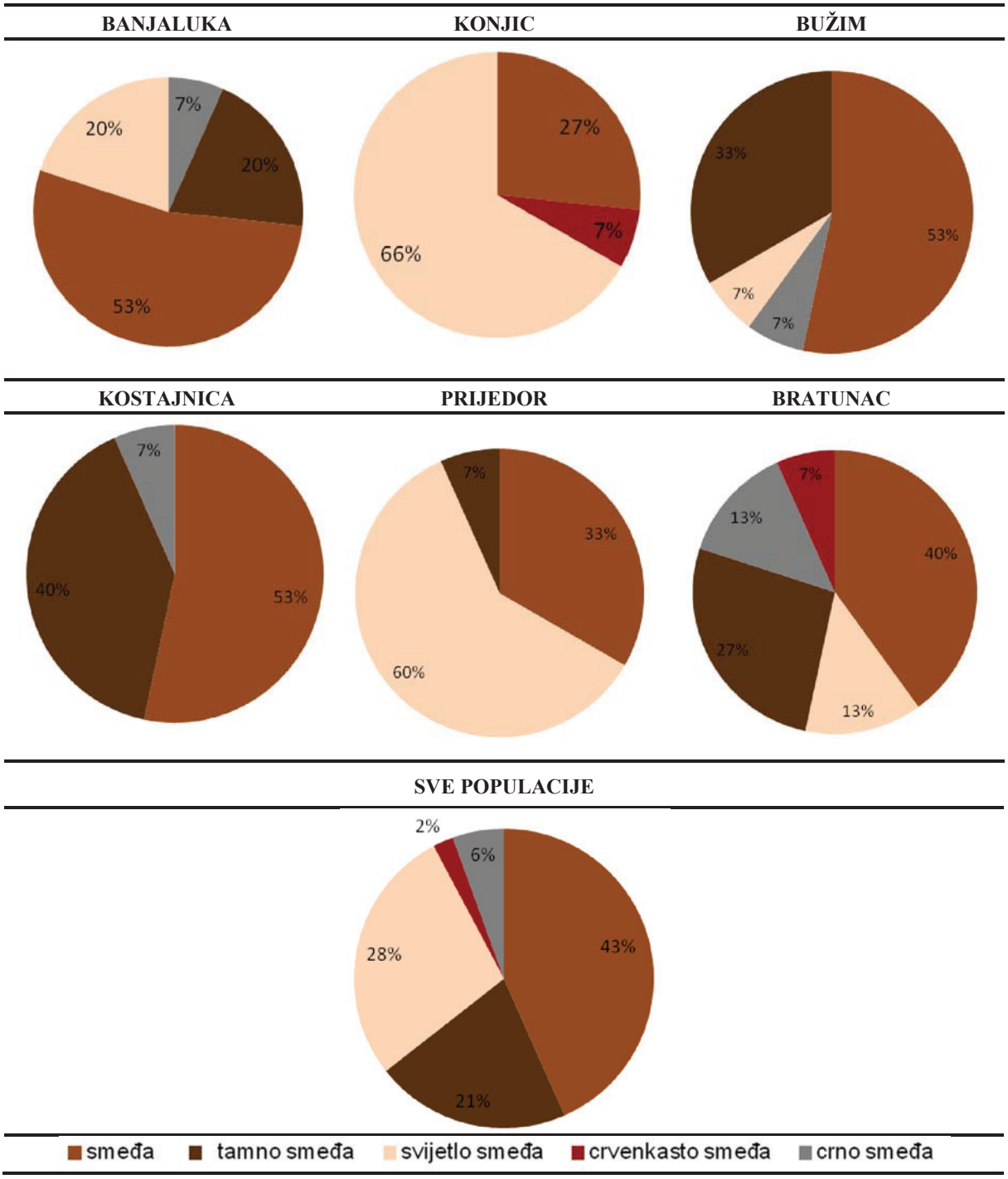
4.3.1. Deskriptivna statistika svojstava ploda

Za pomološku analizu ploda analizirano je ukupno 5.400 plodova, a na svakom plodu mjerilo se šest karakteristika te se zaključci izvode na osnovu 33.600 podataka. Pomološka analiza je vršena u dvije vegetacijske sezone. Pored mjerenih karakteristika izvedeno je još šest karakteristika i vršeno je opažanje boje ploda. Ukupno za pomološku analizu, prema UPOV metodi analizirano je 14 karakteristika ploda. Izmjerene pomološke karakteristike prikazane su u deskriptivnim statističkim parametrima: aritmetička sredina (As), standardna devijacija (Sd), greška standardne devijacije (Sg), Minimum (Min), Maksimum (Max) i koeficijent varijacije (Cv). Rezultati provedene deskriptivne statističke analize za karakteristike ploda prikazane su u tabeli 46.

Boja ploda

U populacijama pitomog kestena Republike Srpske (Bosne i Hercegovine) zastupljene su sve boje ploda (perikarpa) propisane prema UPOV (1989), (tabela 45). Smeđa boja ploda preovladava u populacijama Banjaluka, Bužim i Kostajnica, sa zastupljenošću od 53% i u populaciji Bratunca sa nešto manjim procentom od 40%. Smeđa boja ploda javlja se i u populaciji Prijedora sa 27% i Konjic sa učešćem od 33%. Tamno smeđa boja ploda javlja se u svim populacijama sem u populaciji Konjic, sa učećem od 40% populaciji Kostajica, 33% u populaciji Bužim, 27% Bratunac i 20% Banjaluka. U populacijama Prijedor i Konjic preovladava svijetlo smeđa boja ploda sa procentualnim učešćem od 60% i 66%. Svijetlo smeđa boja ploda javlja se i u populacijama Banjaluka (20%), Bužim (7%) i Bratunac (13%) dok u populaciji Kostajnica nema ove boje ploda. Crno smeđa boja perikarpa najzastupljenija je u populaciji Bratunac sa 13%, u populacijama Banjaluka, Bužim i Kostajnica zastupljena je 7%, dok u populacijama Konjic i Prijedor nema crno smeđe boje perikarpa. Crveno smeđa boja javlja se samo u dvije populacije Konjic i Bratunac i to sa istim procentom (7%). U bosansko hercegovačkim populacijama 43% plodovi su smeđe boje, 21% tamnosmeđe boje, 28 % svijetlo smeđe boje, 6% crno smeđe i 2% crvenkasto smeđe boje. Može se zaključiti da u populacijama BiH preovladava tipična smeđa kestenjasta boja ploda i tamno smeđa boja ploda. U Slovenačkim populacijama preovladava tamno smeđa boja ploda (SOLAR ET AL. 2005), takođe prema PODJAVORŠEK (1999) navodi da u slovenačkim populacijama preovladava tamno smeđa boja ploda dok u primorskom dijelu Slovenije preovladava crno smeđa boja ploda koja je karakteristična za marune. U Rumunskim populacijama preovladava tamno smeđa boja ploda ali se javljaju i svijetlo smeđa i crvenkastosmeđa boja ploda (BOTU ET AL. 1999). U Turskoj lokalne populacije u blizini Sinop (SERDAR 1999) i u blizini Samsun (SERDAR I SOYLU 1999) imaju samo smeđu i tamno smeđu boju ploda.

Tabela 45. Boja plodova pitomog kestena



Masa ploda i broj plodova u kilogramu

Prosječna masa plodova za šest istraživanih populacija, u dvije vegetacijske sezone je 4,96 g (tabela 46). Za svih šest populacija prosječni koeficijent varijacije je 36,59%. Koeficijent varijacije se kreće od 26,84% za populaciju Kostajnica do 41,06% za populaciju Bratunac. Prosječne mase ploda kretale su se za populaciju Bratunac 5,58 g, Konjic 5,14 g, Prijedor 5,08 g, Banjaluka 4,69 g, Bužim 4,68 g i za populaciju Kostajnica 4,60 g. Masa ploda je visoko varijabilna osobina s obzirom na visoke vrijednosti koeficijenta varijacije. Maksimalne mase ploda su se kretale od 15,60 g (Bratunac) do 10,48 g (Kostajnica). Minimalne mase kretale su se od 1,62 g (Bratunac) do 2,28 g (Bužim). U populaciji Bratunac se javlja i minimalna i maksimalna masa ploda s toga je i koeficijent varijacije za ovu osobinu i najveći u ovoj populaciji (41,06%).

Tabela 46. Parametri deskriptivne statistike za mjerene osobine ploda

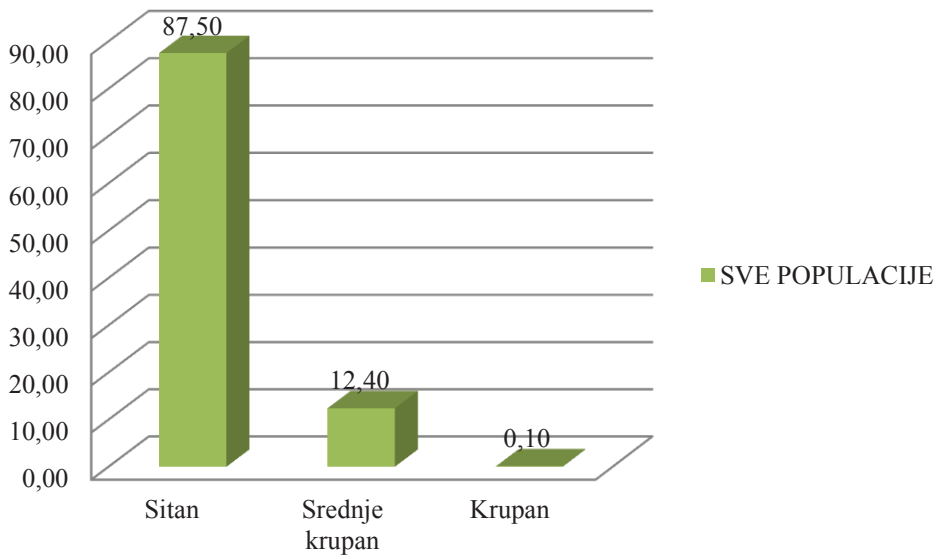
OSOBINA	STATISTIČKI PARAMETRI	BL	KC	BU	KO	PR	BR	UKUPNO
MASA PLODA m	As	4,69	5,14	4,68	4,60	5,08	5,58	4,96
	Min	1,58	1,66	2,28	2,16	2,02	1,62	1,58
	Max	12,76	14,36	11,22	10,48	12,06	15,60	15,60
	Sd	1,86	2,06	1,36	1,23	1,67	2,29	1,82
	Sg	0,06	0,07	0,05	0,04	0,06	0,08	0,02
	Cv	39,58	39,94	29,02	26,84	32,89	41,06	36,59
ŠIRINA PLODA w	As	23,42	23,46	23,31	23,76	24,39	24,78	23,85
	Min	17,00	14,33	14,59	16,92	17,98	15,84	14,33
	Max	34,28	33,30	33,53	32,93	32,80	38,25	38,25
	Sd	3,39	3,35	2,85	2,60	2,51	3,50	3,11
	Sg	0,11	0,11	0,10	0,09	0,08	0,12	0,04
	Cv	14,49	14,30	12,25	10,94	10,29	14,14	13,03
DEBLJINA PLODA t	As	13,91	15,63	14,68	14,31	14,91	15,55	14,83
	Min	9,03	9,06	9,75	8,23	9,70	9,33	8,23
	Max	22,94	27,02	22,21	24,14	23,62	28,00	28,00
	Sd	2,49	2,73	1,98	2,03	2,16	2,89	2,48
	Sg	0,08	0,09	0,07	0,07	0,07	0,10	0,03
	Cv	17,91	17,45	13,49	14,22	14,52	18,58	16,74
DUŽINA PLODA h	As	21,88	22,61	21,19	20,87	21,61	23,21	21,89
	Min	11,61	13,46	14,65	12,41	16,26	13,26	11,61
	Max	31,80	30,81	27,23	27,93	29,12	35,38	35,38
	Sd	3,16	2,69	2,19	2,08	2,11	3,11	2,71
	Sg	0,11	0,09	0,07	0,07	0,07	0,10	0,04
	Cv	14,46	11,91	10,34	9,95	9,75	13,14	12,36
DUŽINA OŽILJKA sl	As	17,44	17,20	17,31	18,17	17,33	17,65	17,52
	Min	7,68	7,30	10,19	9,89	9,06	8,87	7,30
	Max	28,79	28,03	29,11	28,57	28,00	26,66	29,11
	Sd	3,56	3,51	2,96	2,88	2,86	3,04	3,16
	Sg	0,12	0,12	0,10	0,10	0,10	0,10	0,04
	Cv	20,38	20,39	17,08	15,88	16,50	17,21	18,05
ŠIRINA OŽILJKA sw	As	8,70	9,71	9,03	9,02	8,77	9,51	9,12
	Min	5,47	5,67	5,33	4,82	5,25	4,30	4,30
	Max	17,39	19,91	16,63	16,90	16,92	16,74	19,91
	Sd	1,77	1,84	1,54	1,66	1,55	1,90	1,76
	Sg	0,06	0,06	0,05	0,06	0,05	0,06	0,02
	Cv	20,38	18,96	17,06	18,39	17,69	20,01	19,24

Prema BELLINI ET AL. (2009) plodovi kestena na osnovu mase ploda mogu se svrstati u tri kategorije: sitan (do 7 g), srednje krupan (od 7,1-14 g) i krupan (preko 14 g). U tabeli 47 dat je prikaz kategorija mase ploda po populacijama.

Tabela 47. Procentualno učešće ploda po klasifikaciji BELLINI ET AL. (2009)

KATEGORIJA PLODA	BL	BR	BU	KC	KO	PR	PROSJEK
SITAN	87,1	76,7	94,0	83,8	95,3	87,9	87,5
SREDNJE KRUPAN	12,9	23,1	6,0	16,1	4,7	12,1	12,4
KRUPAN	0,0	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1

Najzastupljenija je kategorija sitan plod u svim istraživanim populacijama. Najmanje je zastupljena ova kategorija u populaciji Bratunac sa 76,7% dok najzastupljenija je u populaciji Kostajnica sa 95,3%. Kategorija srednje krupan plod javlja se u svim populacijama sa vrijednostima od 23,1% (Bratunac) pa do 4,7% (Kostajnica). U kategoriji krupan plod u neznatnom procentu se javlja i to samo u dvije populacije Bratunac (0,02%) i Konjic (0,01%). Na osnovu analize šest populacija prosječna masa ploda je najzastupljenija u kategoriji sitan plod (87,5%) zatim srednje krupan plod (12,4%) dok u kategoriji krupan plod zastupljena je sa svega 0,10% (grafikon 20).



Grafikon 20. Procentualno učešće ploda po kategorijama za sve istraživane populacije

Kad uporedimo prosječnu masu ploda sa ostalim istraživanjima vidimo da je niža prosječna masa ploda u istraživanim populacijama u BiH u odnosu na druga istraživanja i druge države. Na području Unsko - sanskog kantona u četiri populacije prosječna masa ploda kretala se od 4,42 g (Bužim), 5,04 g (Velika Kladuša), 5,10 g (Bosanska Krupa) pa do 6,33 g (Cazin) (MUJIĆ ET AL. 2010), što se i poklapa sa ovim istraživanjem. Prosječna masa ploda za pet istraživanih populacija pitomog kestena na području sjeverozapadne Hrvatske iznosi 8,27 g (POLJAK ET AL. 2012), dok u istraživanim populacijama u ostalom dijelu Hrvatske iznosi 7,1 g (IDŽOJTIĆ ET AL. 2009). U Slovenačkim populacijama srednja masa ploda je 10,4 g (SOLAR ET AL. 2005).

U Srbiji za sedam provenijencija na području Ljevoša prosječna masa ploda je iznosila 4,88 g, za provenijencije (jedanaest) Dečani prosječna masa ploda je 6,34 g i na Metohiji 5,87 g (GLIŠIĆ 1975). U Turskoj u prirodnim populacijama u regiji Nazilli prosječna masa ploda iznosi 16,5 g (ERTAN 2007), dok u blizini Samsun u Turskoj iznosi 5,3-15,1 g (SERDAR I SOYLU 1999).

U Italiji u regiji Spoloteo prosječna masa ploda iznosi 12.2-17.2 g (JACOBONI 1993), dok prosječna masa ploda u populacijama Firence iznosila je 9,2-12,7 g (CASINI ET AL. 1993), u Grčkoj 11,1-15,3 g (ZAKYNTHINOS I LIONAKIS 1993) dok u Portugalu prosječna masa ploda je iznosila od 10,0-20,0 g (PEREIRA I FERNANDEZ 1993). Prema BOTU ET AL. (1999) u Rumunskim populacijama prosječna masa ploda kretala se od 2,8 g-19,1 g.

Broj plodova u kilogramu po godinama istraživanja i populacijama prikazan je u tabeli 48. Prosječna vrijednost broja ploda po kilogramu kretala se od 180 (Bratunac) pa do 218 (Kostajnica). Prosječan broj plodova po kilogramu za sve populacije iznosi 203/kg. Rezultati MUJIĆ ET AL. (2010) na području Unsko sanskog kantona pokazuju da u jednom kilogramu ima 160 do 222,5 plodova pitomog kestena. Plod kestena sa područja Bosne i Hercegovine je sitniji od ploda kestena sa područja Slovenije čija vrijednost iznosi 107 plodova po kilogramu (SOLAR ET AL. 2005). U Španiji prosječna broj plodova pitomog kestena po kilogramu iznosi oko 100, po regijama broj plodova po kg se kretao za regiju Asturias 119 plodova/kg, 113 plodova/kg Casrilla Leon, 108 plodova/kg Galicia, 87 u regiji Extremadura i 73 ploda u kilogramu u regiji Andalucia (PERIERA-LORENZO ET AL. 2006a).

Tabela 48. Prosječne vrijednosti karakteristike kestena za ukupan broj ploda u 1 kg

	GODINA	BL	KC	BU	KO	PR	BR	A_S
BROJ PLODOVA U KILOGRAMU	2011	202	207	228	214	238	187	213
	2012	207	183	201	221	172	172	193
	PROSJEK	205	195	215	218	205	180	203

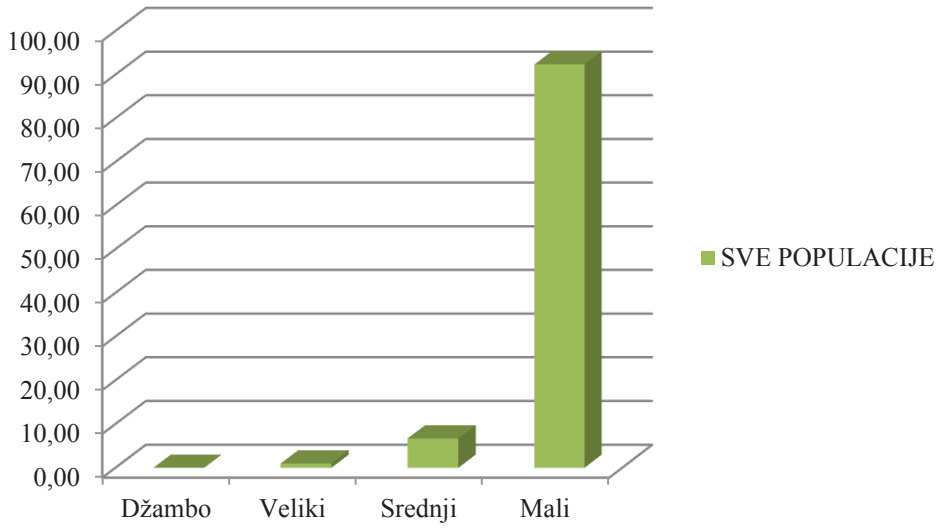
Širina ploda

Prema deskriptivnim pokazateljima (tabela 46) za karakteristiku širina ploda prosječna širina za sve istraživane populacije iznosi 23,85 mm. Vrijednosti iznad prosječne širine ploda za sve populacije imale su populacije Bratunac (24,78 mm) i Prijedor (24,39 mm) dok ostale populacije imale su vrijednost ispod prosječne i kretale su se za populaciju Kostajnica (23,76 mm), Konjic (23,46 mm), Banjaluka (23,42 mm) i 23,31 mm za populaciju Bužim. Prosječni koeficijent varijabilnosti za ovu osobinu je 13,03%, a kretao se od 10,29% (Prijedor) do 14,49% (Banjaluka). Dosadašnja istraživanja ovoga svojstva u četiri populacije Unsko sanskog kantona prosječne širine ploda kretale su se od 23,60 mm do 25,30 mm (MUJIĆ ET AL. 2010), što odgovara rezultatima ovog rada. U istraživanjima (SKENDER 2010) na tri lokaliteta prosječne širine ploda su se kretale od 24,88 mm za populaciju Pećigrad, 26,93 mm populacija Konjic i za populaciju Bratunac 27,71 mm. U sjeverozapadnoj Hrvatskoj za šest istraživanih populacija za ovo svojstvo vrijednosti su iznosile od 24,34 mm pa do 29,27 mm (POLJAK ET AL. 2012), a u ostalim populacijama u Hrvatskoj za 10 istraživanih populacija prosječne širine ploda su iznosile 21,50 mm do 30,00 mm (IDŽOJTIĆ ET AL. 2009). U Sloveniji vrijednosti za ovo svojstvo su iznosile 28,00 mm do 33,00 mm. Veće vrijednosti za osobinu širinu ploda imale su ostale populacije u Italiji - 20,3 mm do 30,8 mm (JACOBONI 1993), Španiji - 32,76 mm do 39,30 mm (ALVAREZ ET AL. 2005). Jedino populacije u regiji Naizilli u Turskoj (ERTAN 2006) imaju manje prosječne vrijednosti za širinu ploda (18,6 mm- 23,7 mm) u odnosu na vrijednost dobijene u ovom radu. Prema MUJIĆ ET AL. (2010) i PRINCIPE (1989) plodove pitomog kestena možemo klasifikovati u četiri kategorije: džambo (>38,1 mm), veliki (31,75-38,00 mm), srednji (28,60-31,75 mm) i mali (<28,6 mm). U tabeli 49 data je klasifikacije kestena prema širini ploda za istraživane populacije. Najzastupljenija je klasa mali plod sa učešćem od 83,78% (Bratunac), 91,78% (Banjaluka), 93,56% (Konjic), 94,22% (Prijedor), 94,89% (Bužim). Učešće klase srednji plod po populacijama se kretala sa vrijednostima od 3,89% za populaciju Kostajnica do 13,00% za populaciju Bratunac, za klasu veliki plod učešće po populacijama je od 0,22% populacija Konjic do 3,11% populacija Bratunac. Džambo klasa javlja se samo u jednoj istraživanoj populaciji sa jako niskim procentom (0,11%) Bratunac.

Tabela 49. Klasifikacija kestena prema širini ploda

KLASA	POPULACIJA					
	BL	KC	BU	KO	PR	BR
	(%)					
DŽAMBO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11
VELIKI	1,00	0,22	0,67	0,44	0,33	3,11
SREDNJI	7,22	6,22	4,44	3,89	5,44	13,00
MALI	91,78	93,56	94,89	95,67	94,22	83,78

Klasifikacijom plodova prema širini ploda utvrđeno je da se prosječno za sve istraživane populacije 92,31% nalazi u klasi mali plod (< 28,6 mm), u klasi srednji plod se nalazi 6,70%, u klasi srednji plod 0,96%, dok u klasi džambo nalazi se neznatan procenat plodova 0,02 (grafikon 21).



Grafikon 21. Klasifikacija ploda kestena na osnovu širine ploda

Dužina ploda

Najveću dužinu (visinu) ploda imaju plodovi populacije Bratunac (23,21 mm), zatim slijede Konjic (22,61 mm), Banjaluka (21,88 mm), Prijedor (21,61 mm), Bužim (21,19 mm) i najmanju dužinu imaju plodovi populacije Kostajnica (20,87 mm). Prosječna vrijednost za sve analizirane genotipove sa svih šest lokaliteta iznosi 21,89 mm. Maksimalne vrijednosti ovog svojstva iznose 35,38 mm (Bratunac), 31,81 mm (Banjaluka), 30,81 mm (Konjic), 29,12 mm (Prijedor), 27,93 mm (Kostajnica) i 27,23 mm (Bužim). Koeficijent varijacije za osobinu dužina ploda kretao se od 9,75% (Kostajnica) do 14,46% (Banjaluka), dok prosječni koeficijent varijacije je 12,36%. Neznatno niže vrijednosti dobijene su u istraživanju četiri populacije Unsko - sanskog kantona i vrijednosti su se kretale od 20,62 do 21,10 mm, dok za kalemljeni kesten prosječna vrijednost je iznosila 24,70 mm (MUJIĆ ET AL. 2010). Znatno više prosječne vrijednosti dobijene su istraživanjima SKENDER (2010), za tri populacije su iznosile i to za Konjic (25,14 mm), Bratunac (25,06 mm) i Pećigrad (22,61 mm). POLJAK ET AL. (2012) navodi da u pet populacija pitomog kestena sa područja sjeverozapadne Hrvatske prosječne vrijednosti za visinu ploda iznosile su od 23,56 mm do 26,60 mm, dok prosječna vrijednost za sve analizirane populacije iznosi 25,74 mm. IDŽOJTIĆ ET AL. (2009) za deset hrvatskih populacija navodi vrijednosti od 19,6 mm do 29,3 mm, a prosječna vrijednost svih populacija za ovo svojstvo iznosi 25,3 mm.

Prema SOLAR ET AL. (2005) prosječne vrijednosti su za populacije istočnog dijela Slovenije (grupa A) 28,0 mm, za populacije u centralnoj Sloveniji (grupa B) prosječna vrijednost je iznosila 25,0 mm,a za populacije na jugozapadu (grupa C) vrijednost je 29,00mm, dok maksimalne vrijednosti su se kretale od 31,0 mm (grupa B), 34,0 mm (grupa C) i 37,0 mm (grupa A). ÖZGAN (2003) je dobio rezultat za visinu ploda 17,30 do 30,88 mm, pri ispitivanju prirodnih populacija pitomog evropskog kestena u Turskoj u oblastima İkizce i Şenbolluk. ERTAN (2006) navodi vrijednosti za populacije u regiji Naizilli u Turskoj za ovo svojstvo od 30,4 do 34,3 mm. BORGHETTI ET AL. (1986) navode vrijednosti visine ploda ispitivanih genotipova kestena na sedam lokaliteta u Italiji od 25,89 do 30,41 mm.

Debljina ploda

Rezultati istraživanja za svojstvo debljina ploda za svih šest analiziranih populacija u BiH u vidu prosječne vrijednosti iznosi 14,83 mm. Najmanju izračunatu srednju vrijednosti za debljinu ploda imala je populacija Banjaluka (13,91 mm), a najveću populacija Konjic (15,63 mm), dok srednje vrijednosti ostalih populacija su 14,31 mm (Kostajnica), 14,68 mm (Bužim), 14,91 mm (Prijedor) i 15,55 mm (Bratunac). Minimalna vrijednost zabilježena je kod populacije Kostajnica (8,23 mm) dok kod ostalih populacija minimalne vrijednosti su se kretale od 9,03 mm do 9,75 mm. Maksimalnu vrijednost debljine ploda imali su genotipovi populacije Bratunac 28,0 mm, dok kod ostalih populacija za ovo svojstvo vrijednosti su se kretale od 22,21 mm do 27,02 mm. Koeficijent varijabilnosti se kretao od 13,49% do 18,58%. Ukupna vrijednost izračunate varijabilnosti za sve istraživane populacije iznosi 16,74% i veća je u odnosu na varijabilnost širine i visine ploda. S obzirom na to da debljina ploda zavisi od broja plodova u kupoli, samim tim su i koeficijenti varijabilnosti viši u odnosu na vrijednosti koje su dobijene za visinu i širinu ploda.

Rezultati istraživanja SKENDER (2010), u tri istraživane populacije u BiH pokazuju veće vrijednosti koje se kreću od 15,28 mm (Pećigrad), 16,91 mm (Konjic) i 17,17 mm (Bratunac), dok prosječna vrijednost za sve analizirane populacije iznosi 16,34 mm.

Prosječne vrijednosti ovog svojstva u pet hrvatskih populacija se kreću od 15,11 mm do 18,93 mm, a prosječna vrijednost za sve analizirane populacije iznosi 17,44 mm (POLJAK ET AL. 2012).

IDŽOJTIĆ ET AL. (2009) za deset hrvatskih populacija navodi prosječne vrijednosti za debljinu ploda od 14,3 mm do 18,5 mm, dok prosječna vrijednost svih analiziranih populacija iznosi 17,00 mm.

U Sloveniji rezultati za ovo svojstvo se kreću od 18,0 mm do 19,0 mm (SOLAR ET AL. 2005). U Italiji (Toskana) prosječna debljina plodova je između 19,09 mm i 23,96 mm (BORGHETTI ET AL. 1986). Srednja vrijednost istraživanih populacija u ovom radu je niža od prosječne debljine plodova u slovenačkim, hrvatskim i italijanskim populacijama.

Dužina hiluma (ožiljka)

Najveću izračunatu vrijednost za dužinu hiluma ima kesten iz populacije Kostajnica (18,17 mm), dok neznatno manje vrijednosti imaju ostale populacije, 17,65 mm (Bratunac), 17,44 mm (Banjaluka), 17,33 mm (Prijedor), 17,31 mm (Bužim), 17,20 mm (Konjic). Najmanja minimalna vrijednost zabilježena je u populaciji Konjic (7,30 mm), dok su se ostale minimalne vrijednosti kretale od 7,68 mm do 10,19 mm. Najveća maksimalna vrijednost zabilježena je u populaciji Bužim (29,11 mm), a najmanja maksimalna vrijednost u populaciji Bratunac (26,66 mm). Prosječna srednja vrijednost svih istraživanih populacija iznosi 17,52 mm. Koeficijent varijabilnosti dužine hiluma je najmanji u populaciji Kostajnica (15,88%) dok je najveći u populaciji Konjic (20,39%). Ukupna vrijednost za sve istraživane populacije koeficijenta varijabiliteta je 18,05%.

Prema SKENDER (2010), vrijednosti za ovo svojstvo su znatno veće i iznose od 19,54 mm do 20,44 mm, dok je prosječna vrijednost svih populacija 19,97 mm. Takođe veće vrijednosti ovog svojstva ima kesten iz populacija u Sloveniji gdje su zabilježene vrijednosti od 20,0 mm do 23,0 mm, dok prosječna vrijednost svih populacija za ovo svojstvo je 20,3 mm (SOLAR ET AL. 2005). U populacijama u Hrvatskoj vrijednosti se kreću od 18,02 do 23,55 mm (POLJAK ET AL. 2012) i preme IDŽOJTIĆ ET AL. (2009) zabilježene su vrijednosti od 17,0 do 23,9 mm.

Širina hiluma (ožiljka)

Najmanju srednju vrijednost za ovo svojstvo imala je populacija Banjaluka (8,70 mm), a najveću populacija Konjic (9,71 mm). Najmanju minimalnu vrijednost širine hiluma imao je kesten iz populacije Bratunac (4,30 mm) dok najveću minimalnu vrijednost imao je kesten iz populacije Konjic (5,67 mm). Najveću maksimalnu vrijednost je imao kesten iz populacije Konjic (19,91 mm), a najmanju maksimalnu vrijednost kesten iz populacije Bužim sa vrijednošću od 16,63 mm. Koeficijent varijabilnosti kretao se od 17,06% (Bužim) do 20,38% (Banjaluka), dok za sve istraživane populacije koeficijent varijacije je 19,24%. Kada dobijene rezultate uporedimo sa rezultatima sa istraživanjima SKENDER (2010), SOLAR ET AL. (2005), POLJAK ET AL. (2012) i IDŽOJTIĆ ET AL. (2009) možemo zaključiti da vrijednosti za širinu hiluma istraživanih populacija sa vrijednostima navedenih istraživača su znatno niže.

Izvedene veličine

Iz mjerenih veličina izvedeni su sljedeći odnosi: dužina ploda/širina ploda (h/w), debljina ploda/dužina ploda (t/h), debljina ploda/širina ploda (t/w), dužina hiluma/širina ploda (sl/w), širina hiluma/debljina ploda (sw/t), širina hiluma/dužina hiluma (sw/sl). Parametri deskriptivne statistike za izvedene veličine prikazani su u tabeli 50.

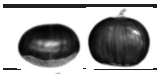
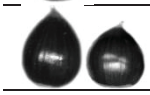
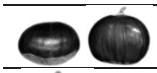
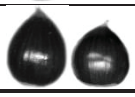
Tabela 50. Parametri deskriptivne statististike za izvedene veličine ploda

OSOBINA	STATISTIČKI PARAMETRI	BL	KC	BU	KO	PR	BR	UKUPNO
h/w	As	0,94	0,97	0,91	0,88	0,89	0,94	0,92
	Min	0,54	0,60	0,67	0,58	0,68	0,60	0,54
	Max	1,25	1,46	1,38	1,21	1,28	1,31	1,46
	Sd	0,09	0,10	0,08	0,08	0,08	0,09	0,09
	Sg	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,001
	Cv	9,93	10,28	9,13	8,70	8,52	9,09	9,93
t/h	As	0,64	0,69	0,70	0,69	0,69	0,67	0,68
	Min	0,44	0,45	0,46	0,43	0,48	0,41	0,41
	Max	1,41	1,75	1,20	1,12	1,08	1,73	1,75
	Sd	0,09	0,12	0,10	0,09	0,10	0,12	0,10
	Sg	0,003	0,004	0,003	0,003	0,003	0,004	0,001
	Cv	14,01	16,68	14,91	13,02	14,40	17,13	15,41
t/w	As	0,60	0,67	0,64	0,60	0,61	0,63	0,62
	Min	0,42	0,45	0,42	0,34	0,42	0,43	0,34
	Max	1,03	1,08	1,13	1,01	0,96	1,04	1,13
	Sd	0,08	0,09	0,09	0,07	0,08	0,10	0,09
	Sg	0,003	0,003	0,003	0,002	0,003	0,003	0,001
	Cv	12,94	13,45	14,40	12,07	12,64	15,17	14,08
sl/w	As	0,74	0,73	0,74	0,76	0,71	0,71	0,73
	Min	0,30	0,35	0,48	0,48	0,43	0,48	0,30
	Max	1,02	1,02	1,21	1,00	1,08	0,95	1,21
	Sd	0,09	0,11	0,09	0,08	0,10	0,09	0,10
	Sg	0,003	0,004	0,003	0,003	0,003	0,003	0,001
	Cv	12,60	14,45	12,37	10,91	13,74	12,65	13,03
sw/t	As	0,63	0,63	0,62	0,63	0,59	0,62	0,62
	Min	0,37	0,36	0,37	0,34	0,38	0,29	0,29
	Max	0,93	1,58	1,32	1,71	0,91	1,12	1,71
	Sd	0,08	0,11	0,10	0,10	0,09	0,10	0,10
	Sg	0,003	0,004	0,003	0,003	0,003	0,003	0,001
	Cv	13,41	16,98	16,03	15,25	15,28	16,79	15,81
sw/sl	As	0,51	0,58	0,53	0,50	0,52	0,55	0,53
	Min	0,30	0,33	0,32	0,35	0,32	0,34	0,30
	Max	1,07	1,34	1,23	1,08	0,91	1,09	1,34
	Sd	0,11	0,15	0,10	0,08	0,11	0,11	0,12
	Sg	0,004	0,005	0,003	0,003	0,004	0,004	0,002
	Cv	21,48	25,69	19,54	16,79	21,13	20,36	21,89

Oblik ploda

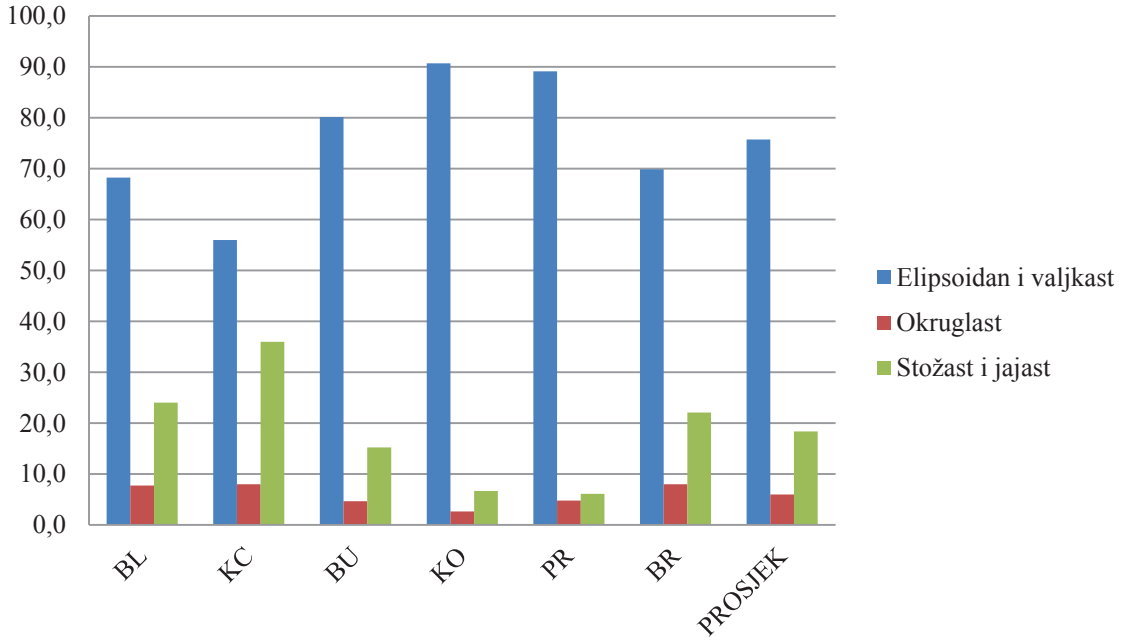
Prema UPOV metodi na osnovu izmjerenih osobina visine ploda i širine ploda koje su stavljene u međusobni odnos (h/w) i na osnovu tog odnosa dobijen je indeks na osnovu kojega se može definisati oblik ploda. U tabeli 51 dat je prikaz procentualnog učešća oblika ploda po populacijama i godinama istraživanja. Broj uzoraka po populaciji je iznosio 450 plodova. Analizom izvedenih varijabli možemo zaključiti da sve istraživane populacije imaju prosječno šire plodove nego što je to njihova visina tj. imaju elipsoidan i valjkast plod. Približno jednake široke i visoke plodove tj. okruglast plod je najmanje zastupljen u svim populacijama i kreće se od 2,4% do 10,0% zavisno od godine istraživanja, dok plodovi koji imaju veću visinu nego širinu tj. jajast ili stožast plod su zastupljeni zavisno od godine istraživanja od 2,9% do 47,1%. Od ovog zaključka odstupa populacija Konjic gdje oblik ploda varira po godinama istraživanja. U 2011-toj godini najzastupljeniji oblik ploda je elipsoidan i valjkast plod (66,7%), dok u 2012-toj godini približno je jednako zastupljen elipsoidan i valjkast (45,3%), kao i stožast i jajast (47,1%), a u obje godine istraživanja je najmanje zastupljen okruglast plod.

Tabela 51. Oblik ploda

OBLIK PLODA	2011					
	BL	KC	BU	KO	PR	BR
	%					
	78,9	66,7	87,8	94,2	93,3	83,8
	5,6	8,4	3,8	2,4	3,8	6,4
	15,6	24,9	8,4	3,3	2,9	9,8
OBLIK PLODA	2012					
	BL	KC	BU	KO	PR	BR
	%					
	57,6	45,3	72,4	87,1	84,9	56,0
	10,0	7,56	5,6	2,9	5,8	9,6
	32,4	47,1	22,0	10,0	9,3	34,4

Analizom izvedene varijable na 900 uzoraka po populaciji, ukupno 5.400 plodova, za obje godine istraživanja dobijemo da u svim istraživanim populacijama prosječno plodovi imaju veću širinu nego visinu ploda 75,7%, približno jednaku visinu i širinu 6,0% dok prosječno veću visinu nego širinu ploda ima 18,4% (grafikon 22). Prema SKENDER (2010) u tri populacije na području BiH (Konjic, Bratunac i Pećigrad) preovladava valjkast oblik ploda tj. imaju veću širinu nego visinu ploda. Na slici 49 prikazana je varijabilnost plodova po obliku.

Prema SOLAR ET AL. (2005) u slovenačkim mediteranskim populacijama najzastupljeniji oblik ploda je elipsoidan, dok u populacijama u kontinentalnom dijelu Slovenije mogu se naći svi ostali oblici ploda. Analizom podataka u Srbiji prema GLIŠIĆU (1975) nalazišta na području Loznice, Vranja i cijele Metohije dužina plodova je veća od njegove visine, dok sa nalazišta Sremski Karlovci, Kostajnik, Hisardžik i Trnava plodovi imaju veću širinu od visine. Na području sjeverozapadne Hrvatske prema POLJAK ET AL. (2012) istraživane populacije imaju prosječno šire plodove nego što je njihova visina, izuzev populacije Kalnik koja ima približno jednako široke i visoke plodove.



Grafikon 22. Procentualno učešće oblika ploda po populacijama u obje godine istraživanja

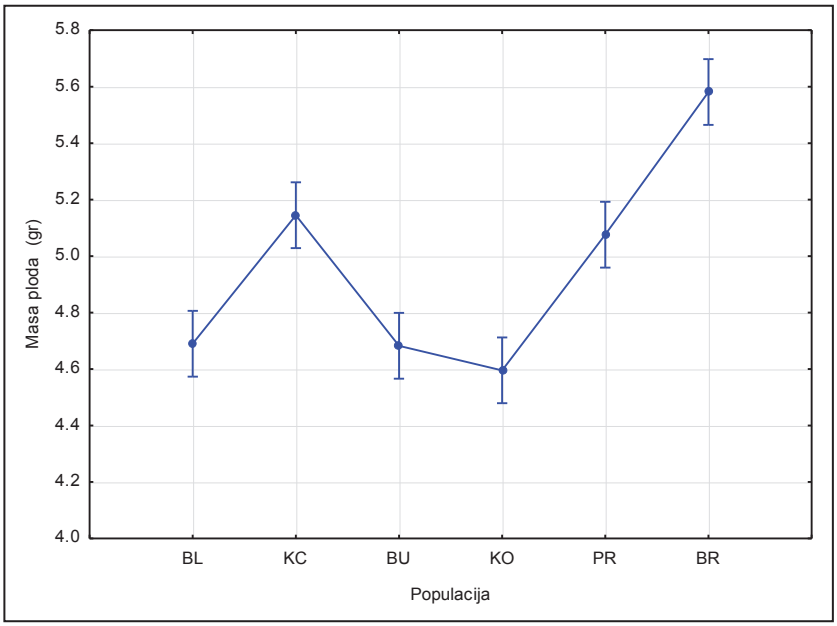
Odnos debljine i visine ploda (t/h) u prosjeku za sve populacije iznosi 0,68, što odgovara rezultatima istraživanja hrvatskih populacija (IDŽOJTIĆ ET AL. 2009; POLJAK ET AL. 2012). U prosjeku po populacijama vrijednosti su se kretale od 0,64 (Banjaluka) do 0,70 (Bužim). Koeficijent varijabilnosti za sve populacije za ovaj odnos je 15,41%. Odnosi debljine i širine ploda (t/w) u prosjeku za sve populacije iznosi 0,62 što takođe odgovara istraživanjima u hrvatskim populacijama (IDŽOJTIĆ ET AL. 2009; POLJAK ET AL. 2012). Po populacijama vrijednosti su se kretale od 0,60 (Banjaluka i Kostajnica) do 0,67 (Konjic). Koeficijent varijacije iznosi za sve populacije 14,08%.

Varijable odnosa dužine i širine hiluma (sl/w) upoređene su sa odnosom širine i debljine ploda (sw/t). Za sve istraživane populacije zajedno odnos sl/w je 0,73 i kretao se od 0,71 do 0,76, a odnos sw/t je za sve populacije zajedno 0,62 i kretao se od 0,59 do 0,63.

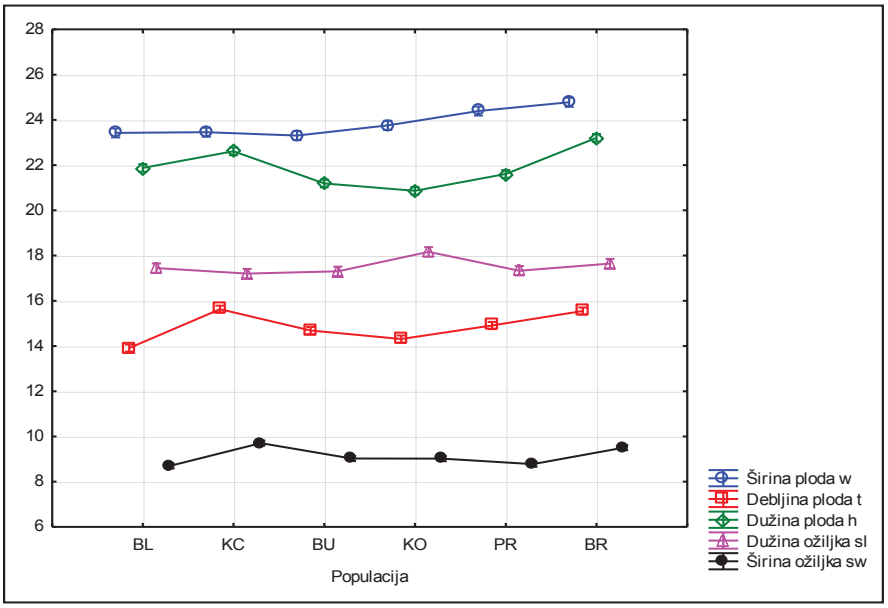
Varijable dužine i širine hiluma stavljene su i u međusobni odnos (sw/sl) iz kojeg je vidljivo da plodovi svih istraživanih populacija imaju hilum koji je u prosjeku dvostruko duži od svoje širine (0,53). Koeficijent varijabilnosti kretao se od 16,79% (Kostajnica) do 25,69% (Konjic), dok prosječna vrijednost je 21,89%. Od svih izvedenih veličina najmanji koeficijent varijabilnosti je za odnose visine i širine ploda (9,93%), a najveći za odnose sw/sl (dužine/širine hiluma) koji iznosi 21,89%.

Rezultati izvedenih veličina poklapaju se sa rezultatima istraživanja hrvatskih populacija (IDŽOJTIĆ ET AL. 2009; POLJAK ET AL. 2012). Prikaz varijabilnosti srednjih vrijednosti mjerenih i izvedenih veličina dat je na grafikonima 23, 24 i 25.

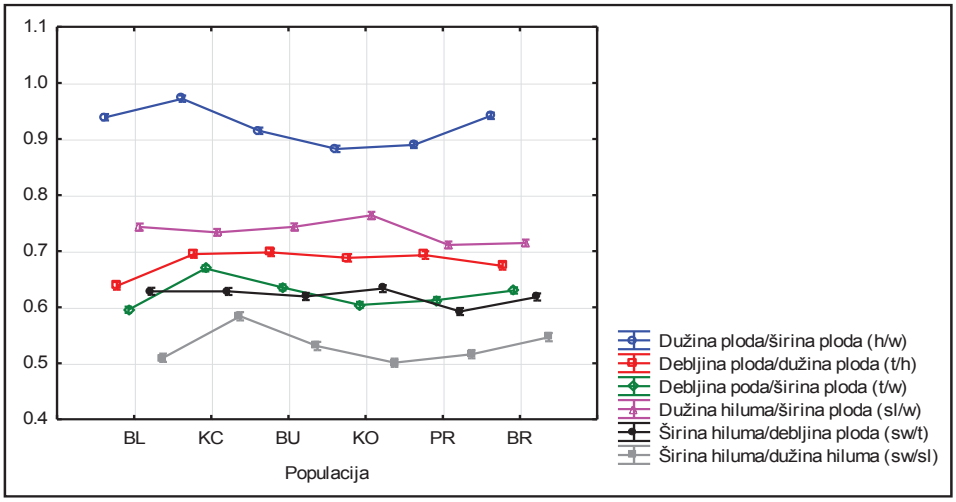
Slika 49. Varijabilnosti plodova po obliku



Grafikon 23. Varijabilnost srednjih vrijednosti mase ploda



Grafikon 24. Varijabilnost srednjih vrijednosti širine, debljine, dužine ploda, dužine i širine ožiljka



Grafikon 25. Varijabilnost srednjih vrijednosti izvedenih veličina ploda

4.3.2. Analiza varijanse

U cilju utvrđivanja postojanja statistički značajnih razlika za analizirana svojstva urađena je analiza varijanse (ANOVA). Dobijeni rezultati prikazani su u tabeli 52. Sprovedena analiza varijanse pokazuje statistički značajne razlike između istraživanih populacija za sva analizirana svojstva. S obzirom na to da su rezultati sprovedene analize varijanse pokazali da se populacije međusobno signifikantno razlikuju za sva istraživana svojstva, sprovedena je *post hoc* analiza Dankanovim testom (*Dunncan test*) za sve populacije (tabela 53). Rasporedom homogenih grupa prikazane su značajnosti razlika između populacija za sva analizirana svojstva.

Iz tabele 53 vidi se da je Dankan testom za osobinu masa ploda izdvojeno 3 homogene grupe i da populacije Kostajnica, Bužim i Banjaluka imaju najsitniji plod, populacija Prijedor i Konjic imaju nešto krupniji plod dok populacija Bratunac kao jedna homogena grupa ima najkrupniji plod. Rezultati pokazuju da su se za širinu ploda izdvojile 4 homogene grupe, gdje populacije Bužim, Banjaluka i Konjic imaju najmanje vrijednosti dok populacija Bratunac kao jedna homogena grupa ima najveće vrijednosti za ovo svojstvo. Za svojstvo debljina ploda izdvojeno je 5 homogenih grupa, a za visinu ploda 6 homogenih grupa što potvrđuje značajne razlike između populacija za ova svojstva. Za svojstvo debljina ploda kao jedna homogena grupa izdvajaju se populacija Konjic i Bratunac sa najvećim vrijednostima za ovo svojstvo dok za osobinu dužina ploda Bratunac kao jedna homogena grupa ima najveće vrijednosti. Prema dobijenim rezultatima može se zaključiti da su razlike između populacija evidentne, na šta ukazuje veći broj homogenih grupa koje su se izdvojile kod svih analiziranih svojstava. Takođe možemo zaključiti da populacija Bratunac za većinu mjerenih svojstava se razlikuje od ostalih istraživanih populacija.

Tabela 52. Analiza varijanse za morfometrijske osobine ploda

ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	p
MASA PLODA **m**	Populacija	5	644,5	128,9	40,55	0,00
	Pogreška	5394	17148	3,2		
	Ukupno	5399	17792,5			
ŠIRINA PLODA **w**	Populacija	5	1623	325	34,6	0,00
	Pogreška	5394	50558	9		
	Ukupno	5399	52182			
DEBLJINA PLODA **t**	Populacija	5	2067	413	71,4	0,00
	Pogreška	5394	31230	6		
	Ukupno	5399	33297			
DUŽINA PLODA **h**	Populacija	5	3487	697	104,3	0,00
	Pogreška	5394	36054	7		
	Ukupno	5399	39541			
DUŽINA OŽILJKA **sl**	Populacija	5	558	112	11,3	0,00
	Pogreška	5394	53395	10		
	Ukupno	5399	53953			
ŠIRINA OŽILJKA **sw**	Populacija	5	731,8	146,4	49,7	0,00
	Pogreška	5394	15898,1	2,9		
	Ukupno	5399	16629,9			
h/w	Populacija	5	5,245	1,049	141,1	0,00
	Pogreška	5394	40,109	0,007		
	Ukupno	5399	45,354			
t/h	Populacija	5	2,308	0,462	43,6	0,00
	Pogreška	5394	57,135	0,011		
	Ukupno	5399	59,443			
t/w	Populacija	5	3,199	0,640	89,6	0,00
	Pogreška	5394	38,533	0,007		
	Ukupno	5399	41,733			
sl/w	Populacija	5	1,773	0,355	40,1	0,00
	Pogreška	5394	47,744	0,009		
	Ukupno	5399	49,517			
sw/t	Populacija	5	0,975	0,195	20,7	0,00
	Pogreška	5394	50,896	0,009		
	Ukupno	5399	51,871			
sw/sl	Populacija	5	4,146	0,829	64,9	0,00
	Pogreška	5394	68,885	0,013		
	Ukupno	5399	73,031			

Tabela 53. Duncan test za morfološka svojstva ploda

ANALIZIRANE OSOBINE	POST-HOC (α=0,05)						BROJ HOMOGENIH GRUPA
	BL	KC	BU	KO	PR	BR	
MASA PLODA m	4,69^{a}	5,14^{b}	4,68^{a}	4,60^{a}	5,08^{b}	5,58^{c}	3
ŠIRINA PLODA w	23,42^{a}	23,46^{a}	23,31^{a}	23,76^{b}	24,39^{c}	24,78^{d}	4
DEBLJINA PLODA t	13,91^{b}	15,63^{a}	14,68^{d}	14,31^{c}	14,91^{e}	15,55^{a}	5
DUŽINA PLODA h	21,88^{d}	22,61^{e}	21,19^{b}	20,87^{a}	21,61^{c}	23,21^{f}	6
DUŽINA OŽILJKA sl	17,45^{ab}	17,20^{a}	17,31^{a}	18,15^{c}	17,33^{a}	17,65^{b}	3
ŠIRINA OŽILJKA sw	8,70^{a}	9,71^{d}	9,03^{b}	9,02^{b}	8,77^{a}	9,51^{c}	4
h/w	0,94^{b}	0,97^{d}	0,91^{c}	0,88^{a}	0,89^{a}	0,94^{b}	4
t/h	0,64^{b}	0,69^{a}	0,70^{a}	0,69^{a}	0,69^{a}	0,67^{c}	3
t/w	0,59^{b}	0,67^{e}	0,64^{a}	0,60^{c}	0,61^{d}	0,63^{a}	5
sl/w	0,74^{b}	0,73^{c}	0,74^{b}	0,76^{d}	0,71^{a}	0,71^{a}	4
sw/t	0,63^{ab}	0,63^{ab}	0,62^{ac}	0,63^{b}	0,59^{d}	0,62^{c}	4
sw/sl	0,51^{ab}	0,58^{e}	0,53^{c}	0,50^{a}	0,52^{b}	0,55^{d}	5

Provedenom dvofaktorijalnom analizom varijanse dobijeni rezultati ukazuju na postojanje statistički značajne razlike za sva mjerena morfometrijska svojstva za faktor populacija, kao i za faktor godina. Kad posmatramo ova dva faktora u interakciji takođe su razlike statistički značajne za sva analizirana mjerena svojstva ploda (tabela 54).

Tabela 54. Dvofaktorijalna analiza varijanse za mjerene osobine plodova

ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	p
MASA PLODA	Populacija	5	644,5	128,9	42,25	0,000
	Godina	1	395,2	395,2	129,55	0,000
	Popu*God	5	315,1	63,0	20,66	0,000
	Pogreška	5388	16437,7	3,1		
	Ukupno	5399	17792,5			
ŠIRINA PLODA	Populacija	5	1623	325	36,9	0,000
	Godina	1	2808	2808	319,4	0,000
	Popu*God	5	385	77	8,7	0,000
	Pogreška	5388	47366	9		
	Ukupno	5399	52182			
DEBLJINA PLODA	Populacija	5	2067	413	75,2	0,000
	Godina	1	1198	1198	218,0	0,000
	Popu*God	5	411	82	14,9	0,000
	Pogreška	5388	29621	5		
	Ukupno	5399	33297			
DUŽINA PLODA	Populacija	5	3487	697	105,6	0,000
	Godina	1	37	37	5,7	0,017
	Popu*God	5	428	86	13,0	0,000
	Pogreška	5388	35588	7		
	Ukupno	5399	39541			
DUŽINA OŽILJKA	Populacija	5	558	112	11,8	0,000
	Godina	1	1590	1590	168,1	0,000
	Popu*God	5	843	169	17,8	0,000
	Pogreška	5388	50962	9		
	Ukupno	5399	53953			
ŠIRINA OŽILJKA	Populacija	5	731,8	146,4	51,5	0,000
	Godina	1	239,7	239,7	84,3	0,000
	Popu*God	5	344,6	68,9	24,3	0,000
	Pogreška	5388	15313,8	2,8		
	Ukupno	5399	16629,9			

U prilogu C i D prikazana je dvofaktorijalna analiza varijanse na individualnom nivou, po godinama istraživanja za analizirana morfološka svojstva ploda. Primjenjena analiza pokazuje da su statistički značajne razlike za sva analizirana mjerena svojstva ploda po faktoru stablo i faktoru stablo*ponavljanje za obje godine istraživanja.

Primjenom dvofaktorijalne analize za izvedena svojstva ploda nisu se signifikantno razlikovale za oblik ploda pri izvoru varijacije faktora populacija i godine u njihovoj interakciji, kao i za faktor godina za odnose debljina ploda/širina ploda i dužina hiluma/širina ploda (tabela 55).

Tabela 55. Dvofaktorijalna analiza varijanse za izvedene osobine plodova

ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	p
h/w	Populacija	5	5,245	1,049	154,9	0,000000
	Godina	1	3,624	3,624	535,2	0,000000
	Popu*god	5	0,007	0,001	0,2	0,953780
	Pogreška	5388	36,478	0,007		
	Ukupno	5399	45,354			
t/h	Populacija	5	2,308	0,462	45,4	0,000000
	Godina	1	2,064	2,064	202,9	0,000000
	Popu*god	5	0,268	0,054	5,3	0,000077
	Pogreška	5388	54,803	0,010		
	Ukupno	5399	59,443			
t/w	Populacija	5	3,199	0,640	90,1	0,000000
	Godina	1	0,001	0,001	0,1	0,747789
	Popu*god	5	0,272	0,054	7,7	0,000000
	Pogreška	5388	38,260	0,007		
	Ukupno	5399	41,733			
sl/w	Populacija	5	1,773	0,355	40,4	0,000000
	Godina	1	0,002	0,002	0,2	0,642558
	Popu*god	5	0,440	0,088	10,0	0,000000
	Pogreška	5388	47,303	0,009		
	Ukupno	5399	49,517			
sw/t	Populacija	5	0,975	0,195	21,2	0,000000
	Godina	1	0,174	0,174	18,9	0,000014
	Popu*god	5	1,171	0,234	25,5	0,000000
	Pogreška	5388	49,551	0,009		
	Ukupno	5399	51,871			
sw/sl	Populacija	5	4,146	0,829	65,2	0,000000
	Godina	1	0,179	0,179	14,1	0,000180
	Popu*god	5	0,145	0,029	2,3	0,043984
	Pogreška	5388	68,561	0,013		
	Ukupno	5399	73,031			

Na osnovu izvedenih analiza možemo zaključiti da postoji sezonska varijabilnost plodova pitomog kestena što potvrđuju i dosadašnja istraživanja postojanja sezonske varijabilnosti plodova pitomog kestena (BOLVANSKY I MENDEL 2001, POLJAK 2014).

4.3.3. Diskriminantna analiza

Rezultatima sprovedene kanoničke diskriminantne analize izdvojeno je pet kanoničkih promjenljivih. Izabrane kanoničke promjenljive zadovoljavajuće reprezentuju originalne varijable jer je učešće variranja prve dvije kanoničke varijable 83,3%. Osnovni pokazatelji diskriminantne analize prikazani su u tabali 56. Ukupni podaci diskriminantne analize upućuju da je razlikovanje između ispitivanih grupa signifikantno, Wilk-ova lambda =0,22027, F=4,8727 i p < 0 ,0000.

Tabela 56. Pokazatelji značaja ispitivanih svojstava ploda u razlikovanju populacija isključivanjem iz diskriminacionog modela sa svim svojstvima

VARIJABLA	WILK-OVA LAMBDA	PARCIJALNA LAMBDA	F VRIJEDNOST	P VRIJEDNOST
MASA PLODA	0,238610	0,923150	1,315311	0,266127
ŠIRINA PLODA	0,259455	0,848983	2,810503	0,021801
DEBLJINA PLODA	0,270443	0,814487	3,598716	0,005527
DUŽINA PLODA	0,265662	0,829145	3,255769	0,010042
DUŽINA OŽILJKA	0,271710	0,810689	3,689594	0,004720
ŠIRINA OŽILJKA	0,289117	0,761880	4,938178	0,000552

U okviru kanoničke diskriminativne analize formirano je pet kanoničkih varijabli (tabela 57). Oštar pad karakterističnih korijenova i rast Wilk-ove lambde kao i pad kanoničkih korelacija ukazuju na neujednačenost raspodjele ukupne varijanse među formiranim kanoničkim varijablama.

Tabela 57. Statistika za sukcesivne kanoničke varijable ploda pitomog kestena

	KARAKTERISTIČNI KORIJEN	KANONIČKA KORELACIJA	WILK-OVA LAMBDA	χ^2	STEPENI SLOBODE	p-VRIJEDNOST
0	1,367	0,76	0,220	125,57	30	0,000000
1	0,400	0,534	0,521	54,046	20	0,000057
2	0,301	0,486	0,730	26,147	12	0,010233
3	0,045	0,207	0,956	3,746	6	0,711027
4	0,002	0,039	0,998	0,126	2	0,938940

Standarizovani koeficijenti kanoničkih varijabli prikazani su u tabeli 58. Prve četiri kanoničke varijable opisuju 99,9% , dok već prve dvije opisuju 83,2% ukupnog variranja između populacija. Razlikovanje koje je definisano kanoničkom varijablom 1 najviše je određeno varijablom širina ožiljka. Kanonička varijabla 2 u najvećoj mjeri je uvjetovana varijablom dužina ploda, a treća kanonička varijabla uslovljena je širinom ploda. Sa petom kanoničkom varijablom najveći standarizovani koeficijent ima masa ploda, zatim debljina ploda i dužina ožiljka.

Tabela 58. Standarizovani koeficijenti kanoničkih varijabli mjerenih svojstava ploda

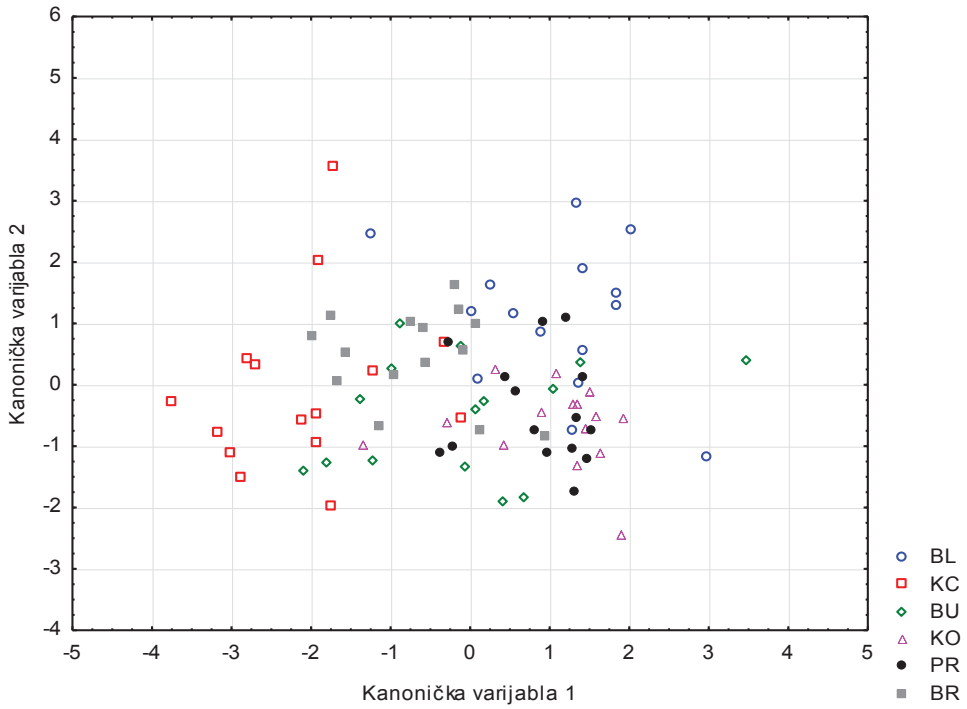
VARIJABLA	KANONIČKA VARIJABLA 1	KANONIČKA VARIJABLA 2	KANONIČKA VARIJABLA 3	KANONIČKA VARIJABLA 4	KANONIČKA VARIJABLA 5
MASA PLODA	1,084	1,392	-1,197	2,478	-2,805
ŠIRINA PLODA	0,744	-0,818	2,637	-1,893	-0,361
DEBLJINA PLODA	-1,066	-1,856	0,525	0,225	2,058
DUŽINA PLODA	-0,510	1,602	0,086	-0,565	1,419
DUŽINA OŽILJKA	1,315	-0,262	-1,495	0,017	1,636
ŠIRINA OŽILJKA	-1,791	0,004	-0,380	-0,909	-1,783
KARAKTERISTIČNI KORIJEN	1,367	0,400	0,310	0,045	0,002
KUMULATIVNO UČEŠĆE KARAKTERISTIČNIH KORIJENOVA U UKUPNOM VARIRANJU	0,644	0,832	0,978	0,999	1,000

Za grupisanje svojstava pouzdanija su diskriminaciona opterećenja između varijabli i mjerenih svojstava ploda (tabela 59). Prema rezultatima (tabela 59) većina ispitivanih svojstava imaju svoja najviša opterećenja sa prvom kanoničkom varijablom tako da ta svojstva najviše variraju među ispitivanim populacijama. Prvu grupu čine svojstva širina ožiljka, debljina ploda i dužina ploda. Drugu grupu čine svojstva širina ploda i masa ploda, koje ima najviše opterećenje sa trećom kanoničkom varijablom, a treću grupu čini svojstvo dužina ožiljka koje ima najviše opterećenje sa četvrtom kanoničkom varijablom.

Tabela 59. Diskriminativna opterećenja između kanoničkih varijabli i mjernih svojstava ploda

VARIJABLA	KANONIČKA VARIJABLA 1	KANONIČKA VARIJABLA 2	KANONIČKA VARIJABLA 3	KANONIČKA VARIJABLA 4	KANONIČKA VARIJABLA 5
MASA PLODA	-0,574	0,250	0,729	-0,278	-0,021
ŠIRINA PLODA	0,035	0,049	0,879	-0,472	-0,018
DEBLJINA PLODA	-0,855	-0,141	0,479	-0,142	0,003
DUŽINA PLODA	-0,663	0,577	0,426	-0,214	0,009
DUŽINA OŽILJKA	0,458	-0,206	-0,213	-0,838	-0,006
ŠIRINA OŽILJKA	-0,931	-0,038	0,014	-0,363	-0,021
KARAKTERISTIČNI KORIJEN	1,367	0,400	0,310	0,045	0,002
KUMULATIVNO UČEŠĆE KARAKTERISTIČNIH KORIJENOVA U UKUPNOM VARIRANJU	0,644	0,832	0,978	0,999	1,000

Poslije utvrđivanja koja svojstva ploda i u kojoj mjeri doprinose razlikovanju ispitivanih populacija (grupa) duž prve i druge kanoničke ose, formirani su grafikoni na nivou stabala (grafikon 26) i na nivou populacija (grafikon 27). Sa grafikona 26 vidimo jasno izdvajanje stabala populacije Konjic dok disperzija stabala drugih populacija se preklapaju u manjoj ili većoj mjeri.



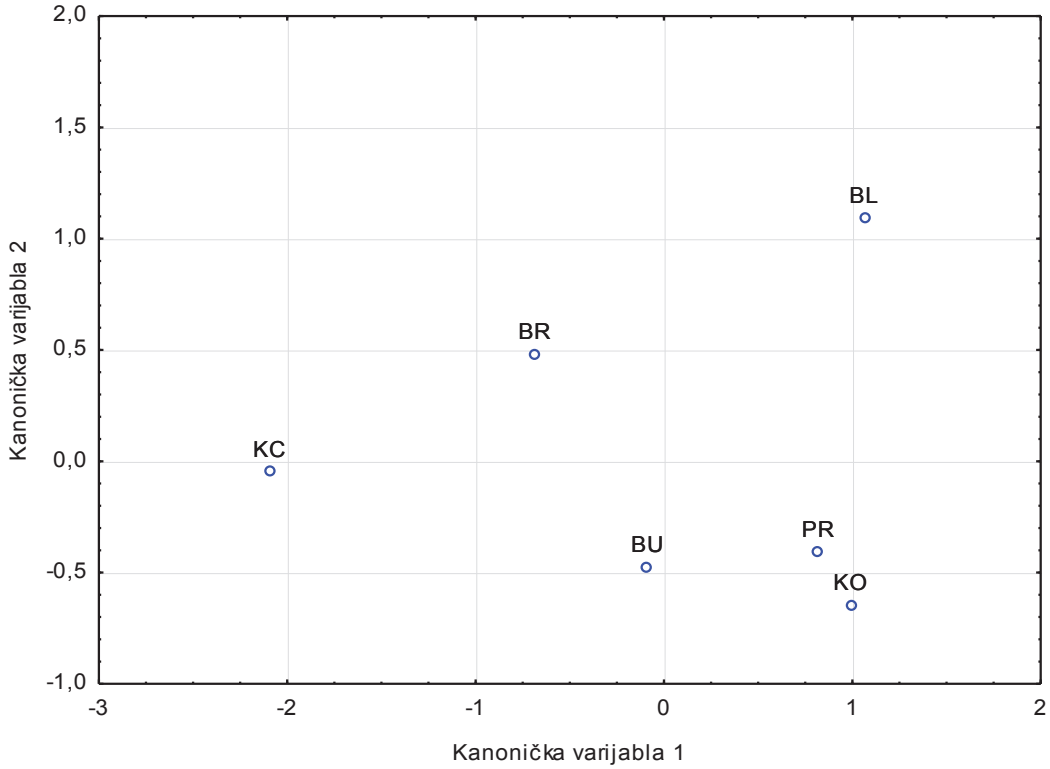
Grafikon 26. Prikaz rezultata prve i druge kanoničke varijable na nivou stabala ispitivanih populacija za mjerena svojstva ploda

Na osnovu centroida populacija za prve dvije kanoničke varijable ispitani su odnosi među populacijama (grafikon 27 i tabela 60). Sa grafikona vidimo da prva kanonička varijabla najbolje razlikuje populaciju Konjic, dok druga kanonička varijabla najbolje razlikuje populaciju Banjaluka. Na osnovu prve kanoničke varijable populacije su raspoređene od populacije Konjic do populacije Banjaluka, a na osnovu druge kanoničke varijable populacije su raspoređene od populacije Banjaluka do populacije Kostajnica.

.

Tabela 60. Sredine kanoničkih varijabli po populacijama

POPULACIJA	KANONIČKA VARJABLA 1	KANONIČKA VARIJABLA 2	KANONIČKA VARIJABLA 3	KANONIČKA VARIJABLA 4	KANONIČKA VARIJABLA 5
BL	1,06409	1,092271	-0,399684	0,107122	0,010979
KC	-2,09568	-0,047565	-0,302627	0,060688	0,040331
BU	-0,08959	-0,476206	-0,291301	0,219850	-0,064462
KO	0,99154	-0,645220	-0,503478	-0,292954	0,015697
PR	0,81746	-0,406624	0,859597	0,171547	0,033050
BR	-0,68782	0,483344	0,637493	-0,266252	-0,035594

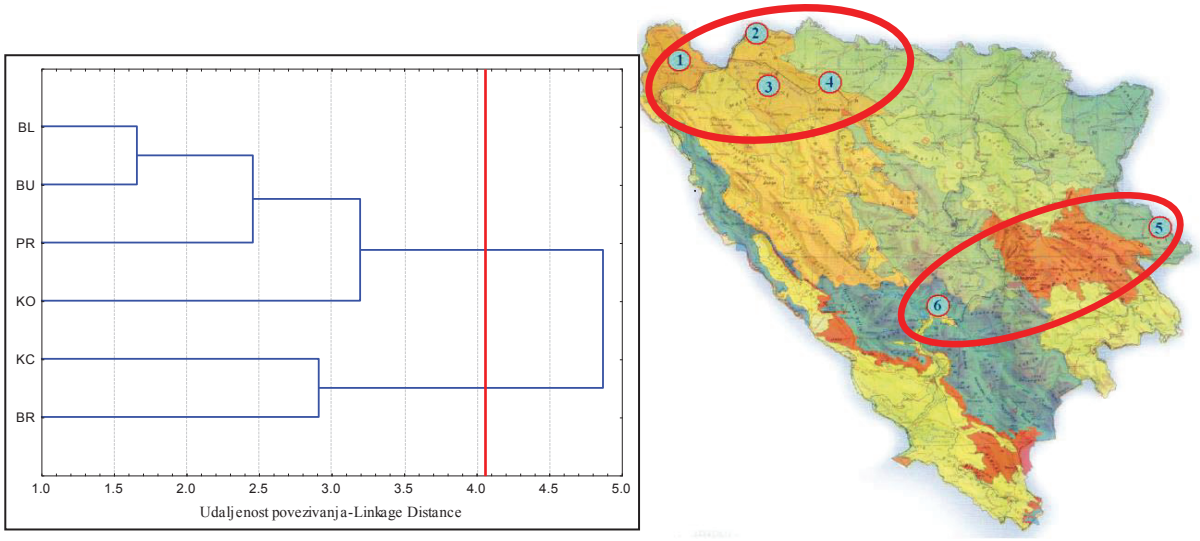


Grafikon 27. Prikaz centroida ispitivanih populacija za prve dvije kanoničke varijable za svojstva ploda

Slični rezultati diskriminantne analize dobijeni su i za svojstva lista gdje se takođe izdvajaju stabla populacije Konjic, kao i na nivou populacija, populacija Konjic i populacija Banjaluka.

4.3.4. Klaster analiza

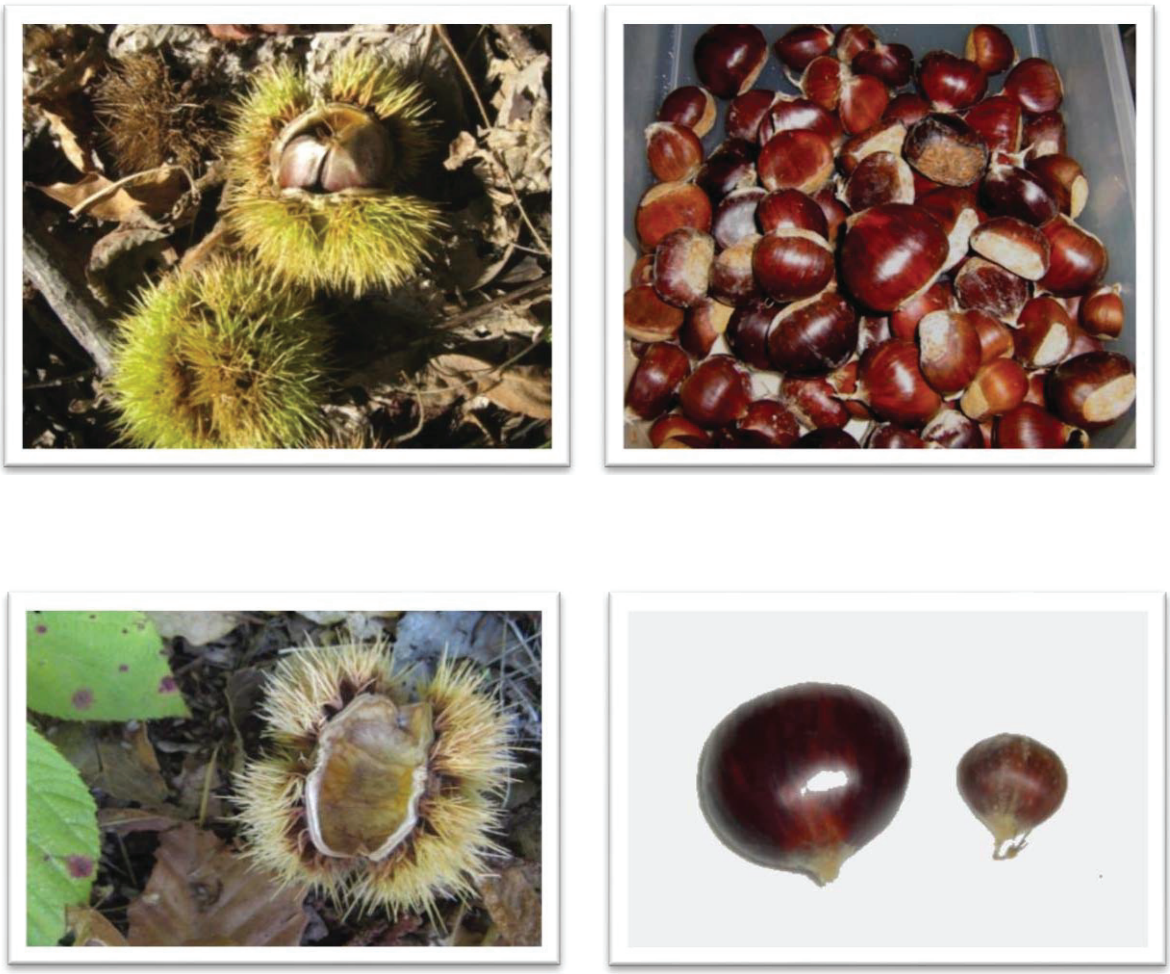
Klaster analizom je izvršena klasifikacija provenijencija u pojedine grupe, odnosno, utvrđena je bliskost odnosno udaljenost između analiziranih provenijencija. Iz dendrograma klaster analize (grafikon 28) se može vidjeti da su prema istraživanim mjerenim svojstvima plodova formirana dva klastera sa potpunom vezom. Prvi klaster čine populacije Banjaluka i Bužim koji se povezuju na distanci 1,66, dok im se populacija Prijedor pridružuje na distanci 2,46 i populacija Kostajnica 3,20. Drugi klaster čine populacija Bratunac i populacija Konjic koji se povezuju na distanci od 2,91. Ova dva klastera se povezuju na distanci od 4,87. Populacije Bratunac i Konjic se najviše razlikuju od ostalih analiziranih populacija. Dendrogram klaster analize izdvojio je populacije u klastere koji su se poklopili sa geografskom rasprostranjenosti populacija. Prvi klaster čine populacije pitomog kestena koje se nalaze na sjeveru i sjeverozapadu dok drugi klaster čine populacija na jugu i istoku. Klaster analizom za analizirana svojstva ploda došlo je do geografske izdiferenciranosti populacija.



Grafikon 28. Klaster analiza istraživanih populacija za mjerena morfometrijska obilježja ploda

Imajući u vidu složenost biologije cvjetanja i plodonošenja kod pitomog kestena, rezultati obavljenih statističkih analiza populacione i individualne varijabilnosti za promenljivosti dimenzije plodova pitomog kestena, treba koristiti samo kao okvirne pokazatelje (slika 50). Daljim višegodišnjim i sukcesivnim istraživanjima u populacijama ove vrste, a koja će obuhvatiti: fenologiju cvjetanja, analizu redovnosti i obilnosti cvjetanja, odnos broja muških i ženskih reproduktivnih organa, kvalitet polena i lokalne meteorološke pojave, dobiće se precizni podaci o uticaju i među zavisnosti navedenih faktora na kvantitet i kvalitet uroda.

Obavljenim morfometrijskim analizama svojstava ploda kod pitomog kestena, utvrđen je stepen međupopulacione varijabilnosti za ova svojstva. Istovremeno, dobijeni rezultati pokazuju da na njihovu vrijednost i obim variranja integralno utiču definisane stanišne odlike i genofond populacije.



Slika 50. Izgled ježice i plodova pitomog kestena

4.4. HEMIJSKE ANALIZE PLODA PITOMOG KESTENA

Komponente hemijskog sastava voća sumarno, količinom i međusobnim odnosima formiraju senzorna, nutritivna i biološka svojstva voća (STOJANOVIĆ 2014). Ova specifičnost ploda varira u određenom opsegu, a uslovljena je, pored vrste i sorte voća klimatskim faktorima, pedološkim osobinama zemljišta, agrotehničkim mjerama, stepena zrelosti i dr. Pitomi kesten se ubraja u grupu orašastih plodova (lješnjaci, bademi, orasi, kikiriki i druge). U poređenju sa većinom orašastih plodova, plod pitomog kestena posjeduje više komparativnih prednosti. Sadržaj minimalne količine vode je karakteristika većine orašastih plodova, međutim, taj sadržaj kod pitomog kestena je i do 60% vode. Za razliku od plodova oraha, lijeske i bukve, u kojima je glavni sastojak masno ulje, glavni sastavni dio kestena je skrob. Zbog visokog sadržaja skroba, od ploda kestena dobija se brašno, koje je cijenjena sirovina u prehrambenoj industriji. Jedini je orašasti plod koji ima vitamin C i ne sadrži gluten.

Analiza varijabilnosti hemijskog sastava plodova test stabala obavljena je na nivou dva tipa uzoraka – oljušteni i neoljušteni plod, odvojeno po godinama sakupljanja – u 2011. i 2012. Dobijeni rezultati su upoređivani sa razultatima hemijskih analiza ploda kestena drugih autora iz Evrope imajući pri tome u vidu, da je sastav ploda pitomog kestena pod velikim uticajem uslova sredine i vremena sakupljanja.

U tabeli 61 i 62 prikazani su rezultati istraživanja hemijskog sastava oljuštenog i neoljuštenog ploda pitomog kestena. Iz rezultata možemo vidjeti da u obje godine istraživanja vrijednosti svih analiziranih parametara su kod kategorije oljušten plod znatno veće nego kod kategorije neoljušten plod pitomog kestena. Sadržaj vlage za kategoriju oljušten plod u prvoj godini istraživanja se kretao od 37,4% (Kostajnica) do 48,1 (Konjic), dok u drugoj godini istraživanja vrijednosti su se kretale od 39,3% (Bratunac) do 54,9% (Banjaluka). Prosjek za prvu godinu je 41,6%, a drugu godinu istraživanja 49,2% u kategoriji oljušten plod, dok u kategoriji neoljušten plod prosjek 39,1% u prvoj godini a u drugoj godini istraživanja 46,5%. Slični rezultati dobijeni su istraživanjima MUJIĆ ET AL. (2006b) u četiri populacije Unsko - sanskog kantona (Bužim, Velika Kladiša, Cazin i Bosanska Krupa) gde prosječna vrijednost sadržaja vode iznosila je 47%.

Tabela 61. Hemijski sastav oljuštenih plodova pitomog kestena

GOD	LOKALITET	SADRŽAJ VODE %	SADRŽAJ PEPELA %	PROTEINI %	MASTI %	SADRŽJ SKROBA %	UKUPNI ŠEĆERI %
				OLJUŠTEN			
2011	PR	37,5	1,2	3,4	3,0	37,6	8,5
	BU	42,6	1,1	3,0	2,3	29,5	5,5
	BR	42,7	1,0	3,7	1,6	31,4	8,0
	KO	37,4	1,1	3,4	3,4	32,0	9,9
	BL	41,0	1,2	3,4	3,0	39,0	5,7
	KC	48,1	0,9	3,2	1,1	29,9	3,9
	PROSJEK	**41,6**	**1,1**	**3,4**	**2,4**	**33,2**	**6,9**
2012	PR	52,2	1,1	3,3	1,1	25,1	0,8
	BU	48,1	0,6	3,3	1,9	36,3	0,4
	BR	39,3	0,8	3,6	2,6	42,0	0,8
	KO	52,0	1,3	4,5	1,1	31,6	0,8
	BL	54,9	1,1	3,7	1,0	22,0	0,5
	KC	48,6	0,9	2,9	2,1	31,6	0,8
	PROSJEK	**49,2**	**1,0**	**3,6**	**1,6**	**31,4**	**0,7**

Tabela 62. Hemijski sastav neoljuštenih plodova pitomog kestena

GOD	LOKALITET	SADRŽAJ VODE %	SADRŽAJ PEPELA %	PROTEINI %	MASTI %	SARŽAJ SKROBA %	UKUPNI ŠEĆERI %
				NEOLJUŠTEN			
2011	PR	39,0	0,8	3,1	1,8	33,9	6,3
	BU	38,5	0,9	3,3	2,0	32,6	4,9
	BR	38,9	0,8	4,3	1,1	31,4	1,9
	KO	39,1	1,0	3,2	1,5	31,0	5,1
	BL	40,1	1,0	3,2	2,0	29,1	4,4
	KC	38,9	0,9	3,7	1,4	29,7	4,3
	PROSJEK	**39,1**	**0,9**	**3,5**	**1,6**	**31,3**	**4,5**
2012	PR	48,9	1,1	3,0	0,7	25,9	0,8
	BU	43,5	0,9	3,2	1,5	25,7	0,4
	BR	37,7	0,9	3,2	1,9	36,0	0,5
	KO	49,4	1,1	4,0	0,8	27,0	0,8
	BL	52,5	0,6	2,9	0,6	20,7	0,6
	KC	46,7	0,9	2,7	1,3	31,0	0,8
	PROSJEK	**46,5**	**0,9**	**3,2**	**1,1**	**27,7**	**0,7**

Dobijene vrijednosti sadržaja vlage su nešto niže u odnosu na istraživanja u drugim zemljama Evrope. Prosječan sadržaj vlage za plod kesten u Španiji je 54% (PEREIRA-LORENZO ET AL. 2006), slične vrijednosti navodi i MC CARTHY I MEREDITH 1998. U Hrvatskoj sadržaj vlage u plodu hrvatskog varijeteta "Lovran Maron" prosječna vrijednost je iznosila 56,7% tj. 56,7 g u 100 g (POLJAK ET AL. 2016b).

Prema ranijim istraživanjima u drugim evropskim zemljama sadražaj vlage u kultivarima pitomog kestena kreće se u vrijednostima od 40-60% (SACCHETTI ET AL. 2009; PEÑA-MÉNDEZ ET AL. 2008; BORGES ET AL. 2008; ERTÜRK ET AL. 2006; BELLINI ET AL. 2005a).

Prosječne vrijednosti dobijene ovim istraživanjem su niže od vrijednosti koje je BREISCH 1995 utvrdio da vrijednosti sadržaja vlage u plodu pitomog kestena ne bi trebalo da budu niže od 49% niti više od 60% za adekvatnu konzervaciju ploda.

Sadržaj pepela za oljušten plod u prvoj godini istraživanja iznosio je od 0,9% (Konjic) do 1,2% (Prijedor i Banjaluka), a u drugoj godini istraživanja 0,6% (Bužim) do 1,3% (Kostajnica). Prosječna vrijednost sadržaja pepela u prvoj godini istraživanja je 1,1% dok u drugoj godini 1,0%. Za kategoriju neoljušten plod u obje godine istraživanja prosječna vrijednost je iznosila 0,9%. U 2011. vrijednosti sadržaja pepela su se kretale od 0,8% (Bratunac i Prijedor) do 1,0% (Banjaluka i Kostajnica), a u 2012. godini od 0,6% (Banjaluka) do 1,1% (Prijedor i Kostajnica). Prema istraživanjima na području Unsko - sanskog kantona u 4 populacije prosječna vrijednost pepela je iznosila 1,1 (MUJIĆ ET AL. 2006b). Za hrvatski varijetet "Lovran Maron" prosječna vrijednost je iznosila 2,43g u 100g (POLJAK ET AL. 2016). Sadržaj pepela španskih kultivara je između 1,8 do 3,2%, sa prosječnom vrijednosti od 2,3% (PEREIRA-LORENZO ET AL. 2006). Prema ERTÜRK ET AL. (2006) sadržaj pepela za turske kultivare kretao se između 1,02 do 3,22 g /100 g, dok drugi autori prikazuju vrijednosti od 0,83 do 4,92 g u 100g (BRIGHENTI ET AL. 1998; DEMIATE ET AL. 2001; ÜSTÜN ET AL. 1999).

Srednja vrijednost sadržaja proteina za oljušten plod u prvoj godini istraživanja je iznosio 3,4%, a u drugoj godini 3,6%, dok za kategoriju neoljušten plod prosječna vrijednosti za prvu godinu je 3,5%, a drugu godinu istraživanja 3,2%. U populacijama Unsko - sanskog kantona prosječne vrijednosti proteina za sirovi oljušten plod iznosi 2,9% dok za sirovi neoljušten plod 3,8%.

Prosječna vrijednost sadržaja proteina za španske kultivare i genotipove iznosila je 5,8% prema PEREIRA-LORENZO ET AL. 2006, čije vrijednosti su znatno više u odnosu na istraživanja ENSMINGERA ET AL. 1995., 2,9%, a slične vrijednosti sa istraživanjima BREISCH 1995, koje su se kretale između 3-6%. Prosječna vrijednost sadržaja proteina u „Lovran Maron“ plodovima u Hrvatskoj je 3,52g u 100g što odgovara vrijednostima BiH populacija. Istraživanja autora BELLINI ET AL. 2005a i SACCHETTI ET AL. 2009, prikazane su više vrijednosti sadržaja proteina za italijanske kultivare i ekotipove (4,18-8,12 g u 100 g), BORGES ET AL. 2008. za portugalske kultivare pitomog kestena (4,87-12 g u 100 g). Sadržaj proteina je znatno niži kod plodova kestena nego kod drugih orašastih plodova, badem (19%) ili orasi (21%) (PEREIRA-LORENZO ET AL. 2006).

Sadržaj masti u plodovima pitomog kesetna (2-3%) je znatno niži nego kod badema (53,9%), lješnjaka (35,9%) ili oraha (63,4%) (PEREIRA-LORENZO ET AL. 2006). Kod BiH populacija prosječna vrijednost sadržaja masti za oljušteni plod je 2,4% za prvu godinu istraživanja, a za drugu 1,6%. Prosječna vrijednost za sirovi neoljušteni plod 1,6% za prvu godinu istraživanja, a 1,1% za drugu godinu istraživanja. Za populacije Unsko - sanskog kantona prosječne vrijednosti za oljušten plod su 2,0% dok za neoljušten 1,8% (MUJIĆ ET AL. 2006b). Veće prosječne vrijednosti sadržaja masti prikazane su u radovima sljedećih autora: SACCHETTI ET AL. 2009 i BELLINI ET AL. 2005a za italijanske kultivare i ekotipove (4,18-8,12 g u 100 g), BARREIRA ET AL. 2012 i BORGES ET AL. 2008. portugalski pitomi kesten (4,8 -12 g u 100 g), POLJAK ET AL. 2016 za hrvatski varijetet “Lovran Maron” (2,55 gr u 100 g). Prema MC CARTHY I MEREDITH (1988) i DESMAISON I ADRIAN (1986) vrijednosti sadržaja masti kod američkog kestena je 2,34 dok kod Kineskog kestena 1,98%.

Skrob predstavlja rezervne ugljikohidratne komponente biljaka i on je djelimično hidrolizovan u ukupne šećere što daje slatkoću plodu pitomog kestena (PEREIRA-LORENZO ET AL. 2006). Prosječne vrijednosti sadržaja skroba su niske i za prvu godinu istraživanja za kategoriju oljušten (33,2%), a za neoljušten (31,3%), dok za drugu godinu istraživanja vrijednosti za oljušten (31,4%), a neoljušten (27,7%). Dobijene vrijednosti su niže nego vrijednosti dobijene istraživanjima MUJIĆ ET AL. 2006b za populacije u Unsko - sanskom kantonu, oljušten (40g u 100 g) i neoljušten (38,6 g u 100 g).

U odnosu na istraživanja tri populacije pitomog kestena u BiH dobijene su visoke prosječne vrijednosti skroba za populaciju Srebrenica 73,13%, Kozarska Dubica 75,22% i 69,93 Konjic (DANIČIĆ ET AL. 2008) gdje se rezultati podudaraju sa rezultatima objavljeni od strane BASSI I MARANGONI 1984 za Italijanske varijatete pitomog kestena, DESMAISON I ADRIAN (1986) za francuske kultivare. Prosječan sadržaj skroba španskog pitomog kestena je 57% (PEREIRA-LORENZO ET AL. 2006). MC CARTHY I MEREDITH (1988) navode vrijednosti skroba za *Castanea dentata* 50%, za *Castanea mollissima* 49% i za *Castanea sativa* 40%.

Ukupni šećeri u prvoj godini istraživanja u obje kategorije su bili znatno viših vrijednosti nego u drugoj godini istraživanja. Vrijednosti su se kretale za oljušten plod od 3,9% (Konjic) do 9,9% (Kostajnica) za prvu godinu, a za drugu godinu istraživanja od 0,4% (Bužim) do 0,8% (Prijedor, Bratunac, Kostajnica, Konjic), sa prosječnom vrijednosti za sve populacije 6,9% u 2011. godini i 0,7% u 2012. godini. Za sirovi neoljušten plod u prvoj godini istraživanja vrijednosti su se kretale od 1,9% (Bratunac) do 6,3% (Prijedor), dok u drugoj godini istraživanja 0,4% (Bužim) do 0,8% (Prijedor, Kostajnica i Konjic). Prosječne vrijednosti svih populacija iznose 4,5% (2011. godina) i 0,7% (2012. godina).

Više vrijednosti ispitivanih hemijskih analiza ploda u prvoj godini u odnosu na drugu godinu istraživanja su posljedica različitih vremenskih prilika u godinama istraživanja. Srednje temperature u 2011. godini bile su više od standardne normalne vrijednosti (period 1961-1990.) na čitavaom prostoru, kao i u 2012. godini s tim da su odstupanja od normalne vrijednosti u 2012. bila više pozitivna. 2011-ta je jedna od toplijih, ali i sušnijih godina. Padavine ne samo u toku proljeća već tokom cijele godine su bile znatno manje u odnosu na prosječne sume. To nije slučaj sa 2012. godinom gdje su padavine bile na većini istraživanih područja iznad normalnih vrijednosti osim na području Konjica i Prijedora.

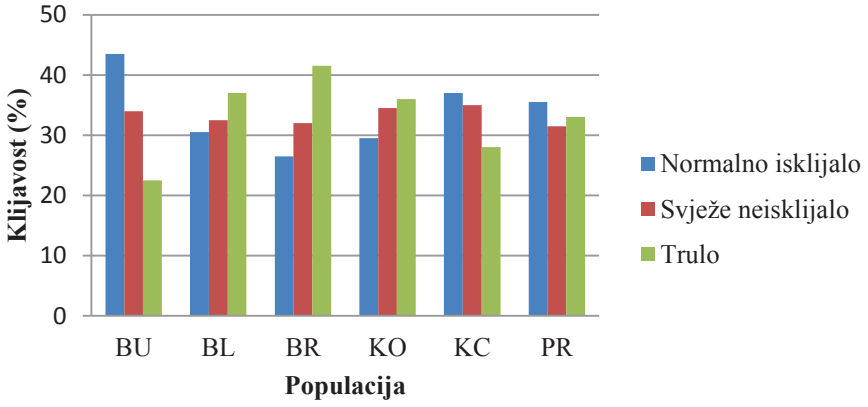
4.5. VARIJABILNOST KVALITETA PLODA

Analiziranje kvaliteta plodova i njihovo klijanje ima veliku važnost u proučavanju varijabiliteta pitomog kestena. Ovim analizama se u najranijem uzrastu biljaka može pratiti veliko učešće prisutne i potencijalne genetičke varijabilnosti u populacijama ove vrste. Od posebnog je značaja detaljnije upoznavanje morfoloških svojstava i varijabilnosti klijanja i klijavaca, jer pojava razlika, koje se mogu zapaziti u toj najranijoj fazi ontogenetskog razvića pitomog kestena, u najvećoj mjeri je posljedica genetske varijabilnosti (polimorfizma). U ciklusu razvića svake vrste brojnost klijavaca je veća kako u prirodnim tako i u gajenim uslovima u odnosu na odrasle individue. Brojnost genotipova je najveća u ovoj fazi razvića drveća, pa one sadrže i najveći stepen genofonda roditeljskih stabala. Rezultati obavljenih analiza klijanja su najvažniji parametar njegove upotrebne vrijednosti jer kvalitetan sjetveni materijal je osnova za rasadničku proizvodnju sadnog materijala visokog kvaliteta (ISAJEV ET AL. 2001).

Po svojim osobinama plod pitomog kestena spada u kategoriju „rekalcitrat“ (tzv. rekalcitrantno sjeme - *recalcitrant seed*). U tu kategoriju sjemena spada nekoliko vrsta sjemena s krupnim plodovima i visokim sadržajem vlage kao što su: hrastovi, divlji kesten, pitomi kesten, gorski javor, sve vrste tropskog sjemena i dr. (MATARUGA ET AL. 2013). Takvo sjeme je osjetljivo na sušenje i ima ograničeni potencijal skladištenja tj. sjeme je jako osjetljivo na gubitak vlage i mora se skladištiti u kontrolisanim uslovima koji uključuju i razdoblje prekidanja dormantnosti (GRADEČKI ET AL. 2006).

4.5.1. Direktni metod ispitivanja klijavosti

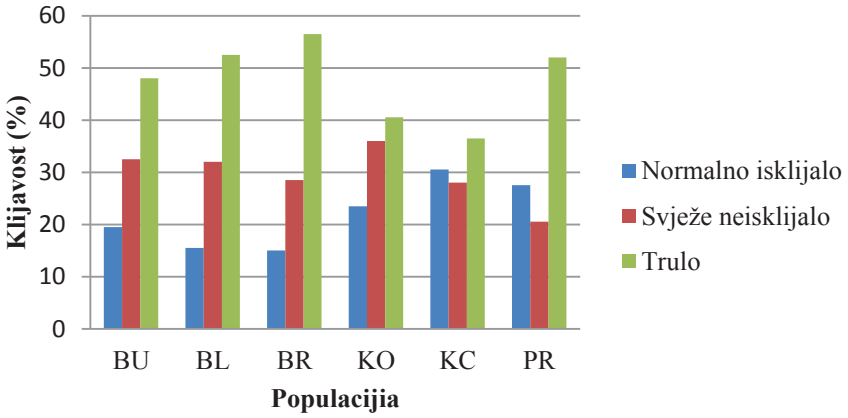
Uporedna analiza klijavosti ploda pitomog kestena 6 različitih populacija iz BiH, obavljena je u cilju bližeg utvrđivanja karaktera genetičke, fiziološke i morfološke varijabilnosti. Dobijeni statistički podaci pokazuju postojanje znatne genetičke promjenljivosti u izabranim populacijama pitomog kestena. Test klijavosti ploda u laboratorijskim uslovima trajao je 21 dan, gdje se dvadeset i prvog dana konstatovala tehnička klijavost (slika 51). Postavljeno je 200 plodova po populaciji i to 50 plodova u 4 ponavljanja. Klijavost ploda pitomog kestena u 2011. godini prosječno iznosi 33,75% za sve istraživane populacije. Klijavost po populacijama se kretala od 26,5% (Bratunac), 29,5% (Kostajnica), 30,5% (Banjaluka), 35,5% (Prijedor), 37% (Konjic) do 43,5% (Bužim) (grafikon 29).



Grafikon 29. Klijavost sjemena (ploda) u prvoj godini istraživanja

U populaciji Bratunac zabilježene su vrijednosti trulog ploda 41,5%, dok u ostalim populacijama vrijednosti su se kretale za populaciju Banjaluka 37%, Kostajnica 36%, Prijedor 33%, Konjic 28% i Bužim 22,5%. Vrijednosti svježe neisklijalog ploda kretale su se od 20,5% (Prijedor) pa do 32,5% u populaciji Bužim.

U drugoj godini istraživanja prosječna klijavost za sve istraživane populacije iznosila je 21,92%, dok po populacijama prosječne vrijednosti su se kretale za Konjic 30,5%, Prijedor 27,5%, Kostajnica 23,5%, Bužim 19,5%, Banjaluka 15,5% i Bratunac 15% (grafikon 30).

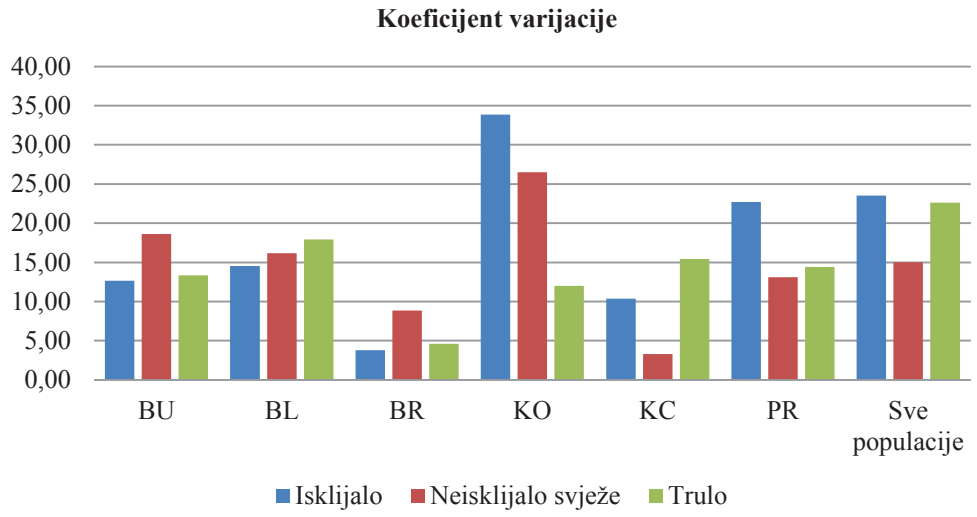


Grafikon 30. Klijavost sjemena (ploda) u drugoj godini istraživanja

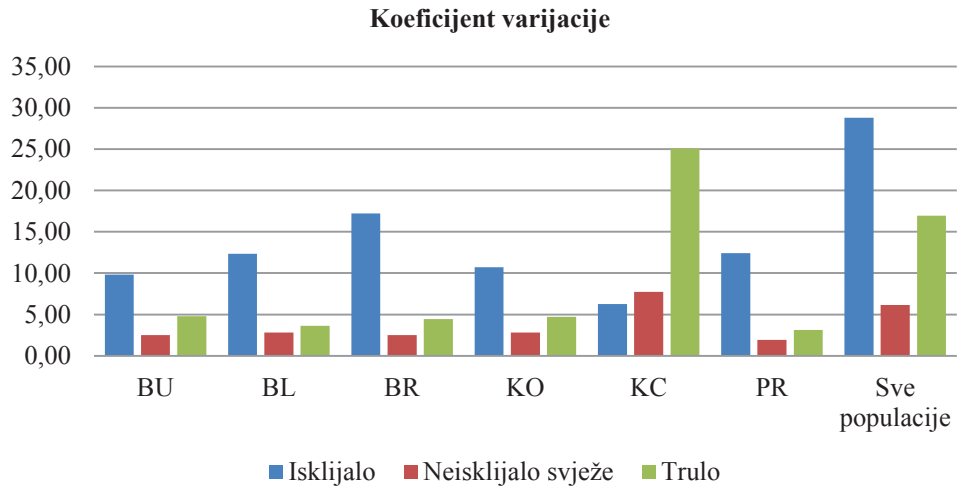
Visoke vrijednosti šturog tj. mrtvog ploda su zabilježene u svim istraživanim populacijama i kretale su se od 36,5% (Konjic) do 56,5% (Bratunac). Vrijednosti svježe nesklijalog ploda (vitalan plod) su iznosile 20,5% (Prijedor), 28,5% (Bratunac), 32% (Banjaluka),28% (Konjic), 32,5% (Bužim) i 36% (Kostajnica).

Analizom kvantitativnih parametara kvaliteta sjemena, u prvom redu koeficijenata varijacije, datih u grafikonima 31 i 32 kao i na bazi istraživanja o varijabilnosti vrste može se pretpostaviti da postoje značajne razlike u klijavosti na inter i intrapopulacionom nivou koje je potrebno testirati u praćenju više uzastopnih godina.

Koeficijent varijacije u prvoj godini istraživanja kretao se od 3,77% (Bratunac) pa do 33,84% (Kostajnica), dok u drugoj godini istraživanja se kretao od 6,28% (Konjic) pa do 17,21% (Bratunac) za kategoriju normalno isklijali plod (grafikon 31 i 32). Prosječna vrijednost koeficijenta varijacije za kategoriju isklijalog sjemena za prvu godinu istraživanja je 23,35% dok za drugu godinu istraživanja 28,79%, za kategoriju neisklijalo svježe sjeme koeficijent varijacije za sve populacije je 15,03% u 2011. godini dok u 2012. iznosi 6,13%, dok za trulo sjeme iznosi 22,61% i 16,95%.

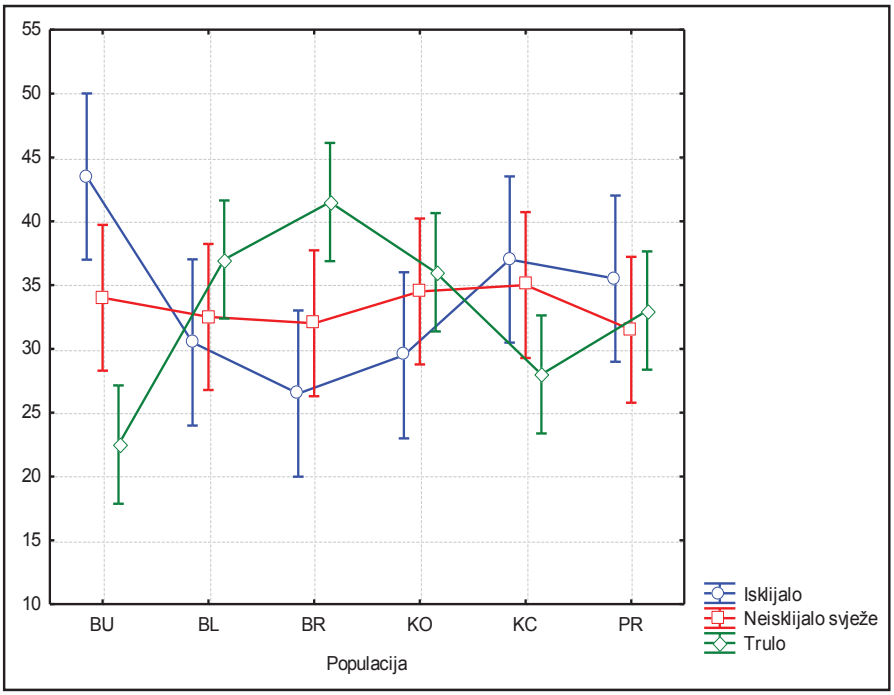


Grafikon 31. Koeficijent varijacije za klijavost sjemena u prvoj godini istraživanja

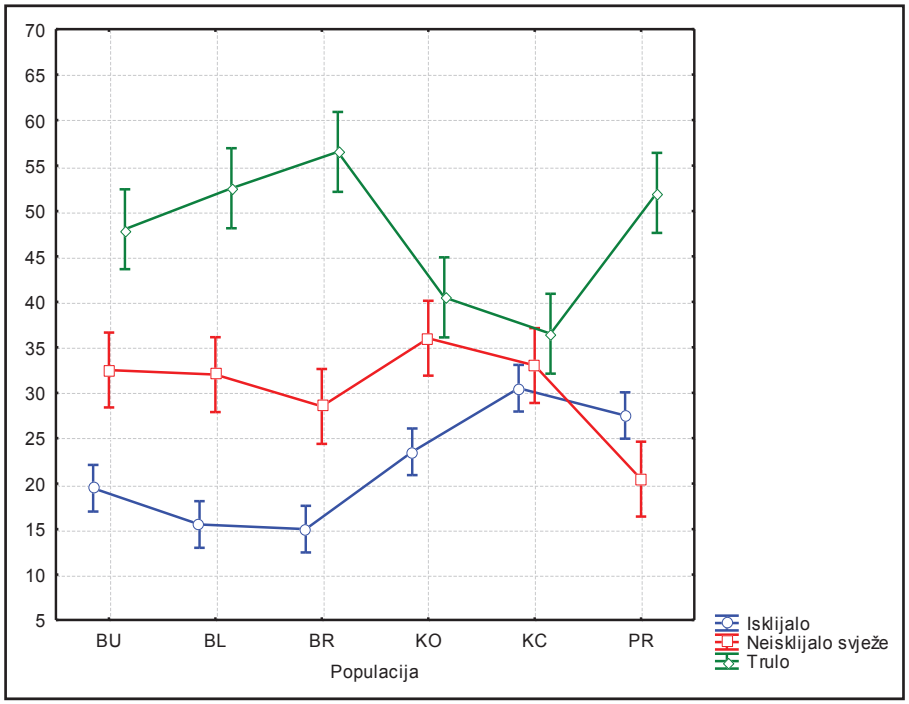


Grafikon 32. Koeficijent varijacije za klijavost sjemena u drugoj godini istraživanja

Na grafikonima 33 i 34 može se jasno vidjeti da u prvoj godini istraživanja populacije imaju širi opseg variranja za parametre klijavosti sjemena nego u drugoj godini istraživanja.



Grafikon 33. Razlike klijavosti sjemena na nivou populacija u 2011. godini



Grafikon 34. Razlike klijavosti sjemena na nivou populacija u 2012. godini

U cilju utvrđivanja postojanja i opsega variranja razlike između populacija za navedene parametre, urađena je analiza varijanse koja ukazuje na postojanje razlika na nivou populacija.

Na interpopulacionom nivou analiza varijanse je pokazala da postoji statistički značajna razlika za sve ispitivane parametre za obje godine istraživanja (tabela 63).

Tabela 63. Analiza varijanse klijavosti sjemena na nivou populacija po godinama istraživanja

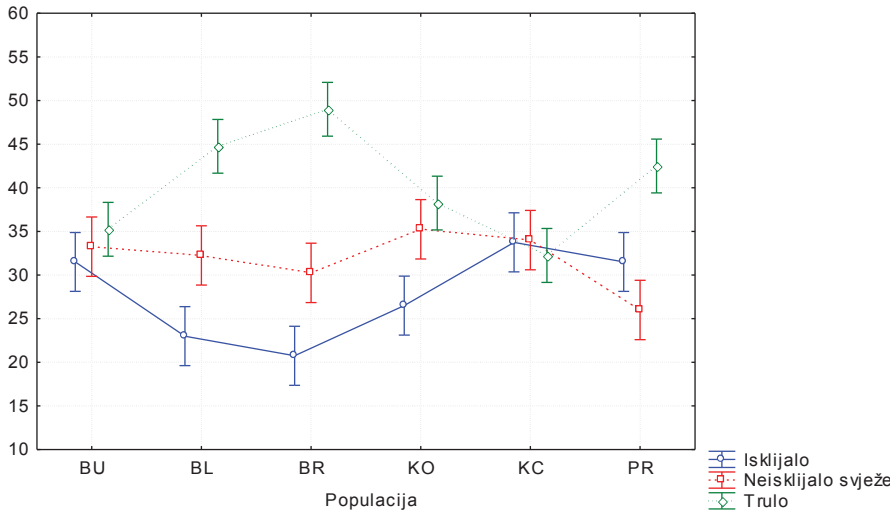
ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	P
			2011			
ISKLIJALO	Populacija	5	759,50	151,90	3,9569	0,00
	Pogreška	18	691,50	3,55		
	Ukupno	23	1450,50			
SVJEŽE NEISKLIJALO	Populacija	5	41,50	8,30	0,2803	0,00
	Pogreška	18	533,00	29,61		
	Ukupno	23	574,50			
TRULO	Populacija	5	930,00	186,00	9,566	0,00
	Pogreška	18	350,00	19,44		
	Ukupno	23	1280,00			
			2012			
ISKLIJALO	Populacija	5	808,83	161,77	27,213	0,00
	Pogreška	18	107,00	5,94		
	Ukupno	23	915,83			
SVJEŽE NEISKLIJALO	Populacija	5	586,83	117,37	7,627	0,00
	Pogreška	18	277,00	15,39		
	Ukupno	23	863,83			
TRULO	Populacija	5	1185,33	237,07	13,504	0,00
	Pogreška	18	316,00	17,56		
	Ukupno	23	1501,33			

U cilju utvrđivanja između kojih populacija postoje značajne razlike, urađeni su Dankan testovi. Rasporedom homogenih grupa, na osnovu Dankan testa, prikazane su značajnosti razlika između populacija, za sve analizirane parametre (tabela 64). Rezultati pokazuju da su za kategoriju normalno isklijali plod u prvoj godini istraživanja izdvojene 3 homogene grupe gdje najmanju vrijednost ima populacija Bratunac. Za kategoriju neisklijalo svjež plod sve istraživane populacije pripadaju istoj homogenoj grupi, dok za kategorija trulo izdvojile su se 4 homogene grupe gdje populacija Bužim ima najmanje vrijednosti i izdvojena je kao zasebna grupa. U drugoj godini istraživanja za kategoriju isklijalo izdvojeno je 4 homogene grupe sa najmanjom vrijednošću za populaciju Bratunac, dok u druge dvije kategorije izdvojene su po 3 homogene grupe.

Tabela 64. Duncan test za parametre klijavosti sjemena

ANALIZIRANE OSOBINE	POST-HOC(α=0.05)						BROJ HOMOGENIH GRUPA
	BL	KC	BU	KO	PR	BR	
2011							
ISKLIJALO	30.50[ab]	37.00[bc]	43.50[c]	29.50[ab]	35.50[abc]	26.50[a]	3
SVJEŽE NEISKLIJALO	32.50[a]	35.00[a]	34.00[a]	34.50[a]	31.50[a]	32.00[a]	1
TRULO	37.00[ab]	28.00[cd]	22.50[c]	36.00[ab]	33.00[ad]	41.50[b]	4
2012							
ISKLIJALO	15.00[a]	30.50[b]	19.50[c]	23.50[d]	27.50[b]	15.00[a]	4
SVJEŽE NEISKLIJALO	32.00[ab]	33.00[ab]	32.50[ab]	36.00[b]	20.50[c]	28.50[a]	3
TRULO	52.50[ab]	36.50[c]	48.00[a]	40.50[c]	52.00[ab]	56.50[b]	3

Dvofaktorijalna analiza varijanse, sa interakcijom populacija*godina, pokazala je statistički značajnu razliku za kategorije normalno isklijalo i trulo sjeme dok nema statistički značajnih razlika za kategoriju neisklijalo svježe sjeme. Na grafikonu 35 prikazan je opseg variranja ispitivanih parametara u interakciji populacija*godina.



Grafikon 35. Variranja ispitivanih parametara kvaliteta sjemena u interakciji populacija*godina

U obje godine istraživanja najmanju tehničku klijavost imala je populacija Bratunac. U drugoj godini istraživanja tehnička klijavost sjemena je znatno manja za sve istraživane populacije u odnosu na prvu godinu istraživanja. Varijabilnost u kvalitetu sjemena po godinama istraživanja je rezultat genetske konstitucije i različitih ekoloških faktora i vremenskih prilika u godinama istraživanja (klimatski faktor).

Vremenske prilike u toku vegetacionog perioda su jedan od razloga lošije klijavosti. U 2012. godini u toku vegetacionog perioda bile su znatno veće količine padavina u odnosu na prvu godinu istraživanja, a i temperature vazduha su imale veće vrijednosti. Velika vlaga i ljetnja suša su jedan od razloga lošeg kvaliteta ploda.

Veliki procenat trulog sjemena, pored vremenskih prilika, sigurno i jedan od razloga način sakupljanja ploda za analizu. Poslije sazrijevanja ploda i odvajanja od matične biljke sakupljao se plod sa zemlje. Plod koji je sakupljan sa zemlje uslijed loših vremenskih prilika (padavine) podložan je većoj prisutnosti entomofaune i gljiva koje mogu znatno redukovati kvalitet ploda.

Razlike u klijavosti sjemena pojedinih populacija mogu biti i rezultat različitog stepena dormantnosti sjemena. Stepen dormantnosti sjemena može na istoj lokaciji varirati od godine do godine ili unutar iste godine po provenijencijama (WANG 1976).

Slika 51. Naklijavanje sjemena, test (orig. 2012)

Slika 52. Tetrazolijum test (orig. 2012)

4.5.2. Indirektni metod ispitivanja klijavosti

Vitalitet ili životna sposobnost sjemena predstavlja broj za život sposobnih sjemenki, utvrđen na propisan način bojenjem njihovih vitalnih organa određenim organskim bojama (slika 52) ili rastenjem embriona na određenoj podlozi u određenom roku, izražen u procentima od ukupnog broja sjemenki uzetih za ispitivanje iz komponente čistog sjemena (STILINOVIĆ 1985).

Kvalitet ploda pitomog kestena praćen na osnovu vitaliteta kretao se u rasponu od 34,75% (Bratunac) do 55,50% (Bužim) u prvoj godini istraživanja, dok prosječna vrijednost za sve populacije iznosila je 43,50%. U drugoj godini istraživanja vitalitet sjemena kretao se od 28% (Bužim) do 44% (Konjic), prosječno 34,46%. U tabeli 65 i 66 prikazane su prosječne procentualne vrijednosti za kategorije vitaliteta sjemena po populacijama.

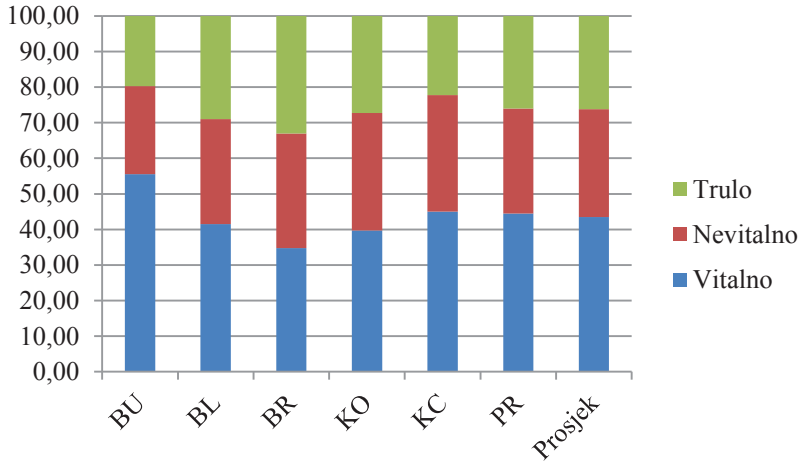
Tabela 65. Prosječne vrijednosti TZ-testa u prvoj godini istraživanja

POPULACIJA	KATEGORIJE PLODA U TZ-TESTA		
	VITALNO	NEVITALNO	TRULO
	%	%	%
BU	55,50	24,75	19,75
BL	41,50	29,50	29,00
BR	34,75	32,25	33,00
KO	39,75	33,00	27,25
KC	45,00	32,75	22,25
PR	44,50	29,50	26,00
PROSJEK	43,50	30,29	26,21

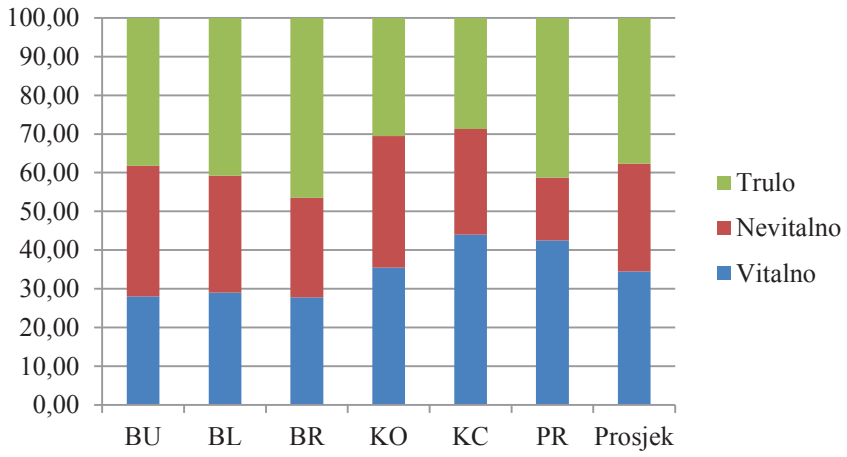
Tabela 66. Prosječne vrijednosti TZ-testa u drugoj godini istraživanja

POPULACIJA	KATEGORIJE PLODA U TZ-TESTA		
	VITALNO	NEVITALNO	TRULO
	%	%	%
BU	28,00	33,75	38,25
BL	29,00	30,25	40,75
BR	27,75	25,75	46,50
KO	35,50	34,00	30,50
KC	44,00	27,25	28,75
PR	42,50	16,25	41,25
PROSJEK	34,46	27,88	37,67

Najmanji vitalitet ploda u obje godine istraživanja imao je plod iz populacije Bratunac, što se podudarilo sa istraživanjima direktnim metodom. Najveći vitalitet ploda u prvoj godini istraživanja imao je plod iz populacije Bužim (55,50%), a u drugoj godini populacija Konjic (44%). Učešće trulog ploda kretalo se od 19,75% (Bužim) do 33,00% (Bratunac) u prvoj godini istraživanja, dok u drugoj godini istraživanja od 28,75% (Konjic) do 46,50% (Bratunac).



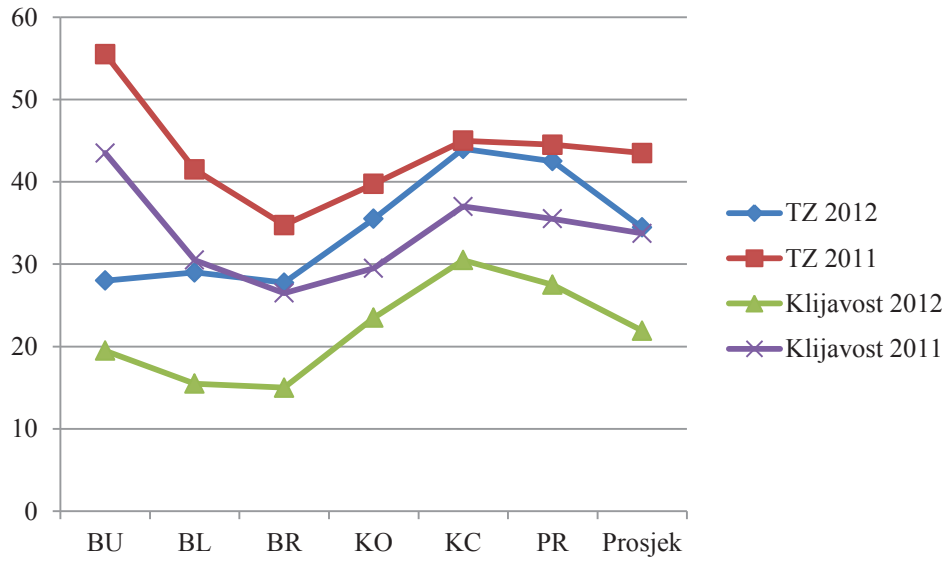
Grafikon 36. Učešće pojedinih kategorija ploda (sjemena) u TZ-testu u prvoj godini istraživanja



Grafikon 37. Učešće pojedinih kategorija ploda (sjemena) u TZ-testu u drugoj godini istraživanja

Prosječne vrijednosti po kategorijama vitaliteta ploda za prvu godinu istraživanja izsnosile su za vitalni plod 43,50%, nevitalni plod 30,29% i trulo 26,21% dok u drugoj godini istraživanja vrijednosti su se kretale za vitalni plod 34,46%, nevitalni plod 27,88% i trulo 37,67%. U prvoj godini istraživanja sve kategorije su imale znatno veće prosječne vrijednosti u odnosu na drugu godinu istraživanja (grafikon 36 i 37).

Ispitivanjem vitaliteta ploda TZ metodom dobijeni su viši rezultati nego ispitivanjem klijavosti ploda (direktnom metodom) u obje godine istraživanja. Odnos laboratorijske klijavosti i vitaliteta ploda prikazan je na grafikonu 38.



Grafikon 38. Odnos laboratorijske klijavosti i vitalijteta sjemena pitomog kestena

Prema literaturnim podacima, klijavost svježeg sjemena pitomog kestena je do 60% (ISAJEV I MANČIĆ 2001). Iz rezultata dobijenih u navedenim analizama, može se zaključiti da je prosječna klijavost sjemena kao i njegov vitalitet niska. Ovi rezultati su vjerovatno posljedica uticaja vremenskih prilika tokom dozrijevanja ploda u godinama istraživanja.

4.6. ANALIZA GENETIČKE STRUKTURE I VARIJABILNOSTI

Karakterizacija genotipova morfološkim markerima nije dovoljno pouzdana jer je ekspresija ovih osobina pod snažnim uticajem spoljašnje sredine. Varijabilnost genotipova procjenjena preko morfoloških osobina ne odgovara uvijek varijabilnosti na nivou genoma. U analizama genetičke strukture i varijabilnosti prirodnih populacija pitomog kestena, korišćeno je 7 molekularnih markera. Lokus QrZAG7 pokazao se kao monomorfan i nije korišćen u statističkoj obradi podataka.

4.6.1. Alelna varijabilnost

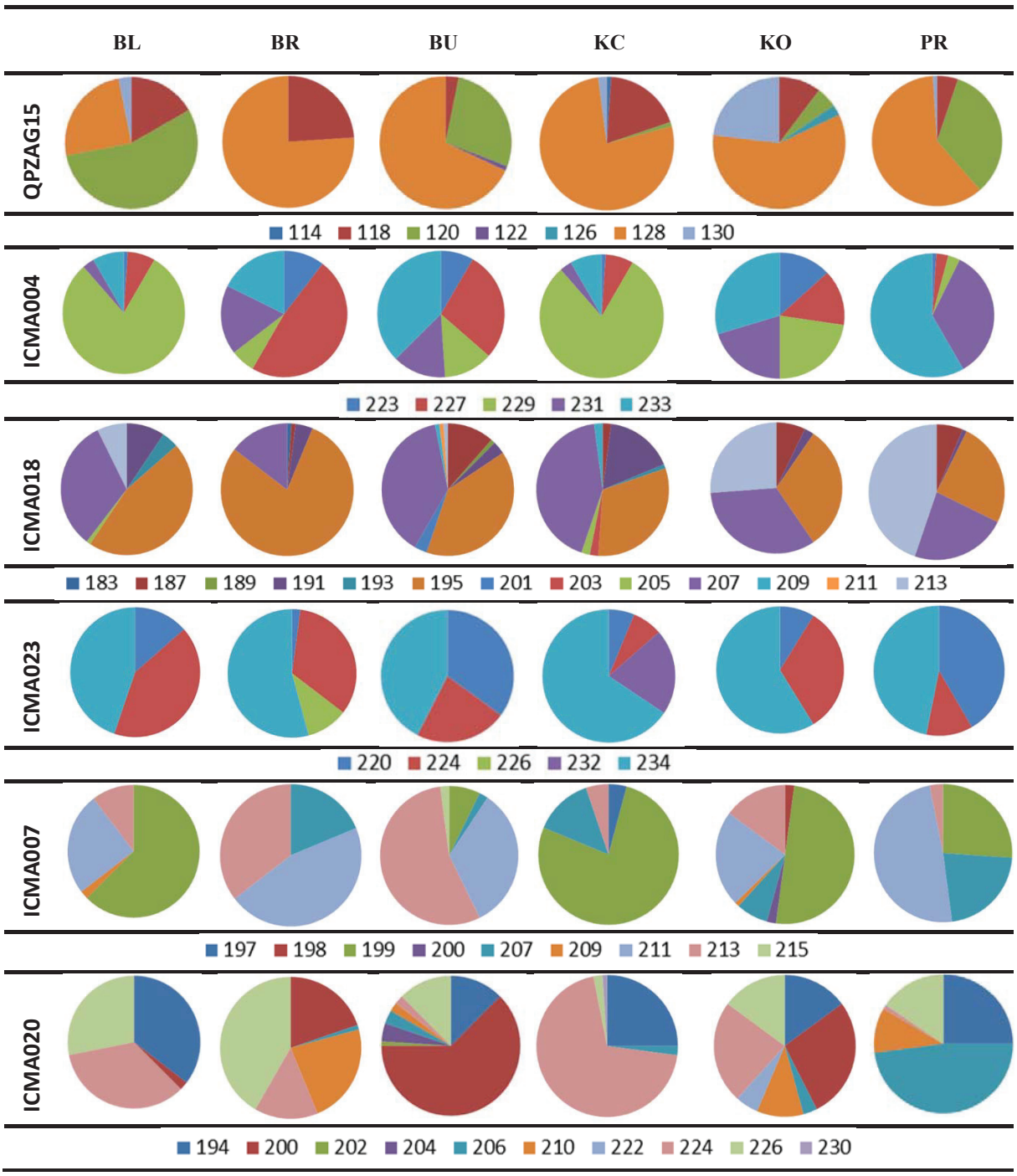
Alelne frekvencije kod 6 analiziranih genskih lokusa pokazuju određeni stepen polimorfnosti. Ukupan broj različitih alela, kod 287 analiziranih individua iznosi 49 različitih alela, dok najmanji prosječan broj alela utvrđen je na lokusu QpZAG15 (2 alela), a najveći na lokusu ICMA018 sa 9 alela (tabela 67). Za populacije pitomog kestena na području BiH vrijednosti prosječnog broja alela (Na) kretala se od 4,00 kod populacije Bratunac do 5,67 kod populacije Bužim dok ostale populacije su imale sljedeću distribuciju: populacije Prijedor i Banjaluka imale su jednake vrijednosti 4,33, popucija Konjic 5,17 i populacija Kostajnica sa vrijednošću 5,33. Inače veličina prosječnog broja alela je u direktnoj vezi sa brojem analiziranih individua, ali pošto je broj analiziranih individua 48 u svim populacijama osim populacije Kostajnica koji je 47, dobijenu nešto veću vrijednost u populaciji Bužim ne možemo povezati sa brojem analiziranih individua.

Tabela 67. Broj alela po genskom lokusu po populacijama

GENSKI LOKUS	BL	BR	BU	KC	KO	PR	UKUPAN BROJ ALELA
QpZAG15	4	2	4	5	5	4	7
ICMA004	5	5	5	5	5	5	5
ICMA018	6	5	9	8	5	5	13
ICMA023	3	4	3	4	3	3	5
ICMA007	4	3	5	4	7	4	9
ICMA020	4	5	8	5	7	5	10
SUMA	26	24	34	31	32	26	49
PROSJEK	4,33	4,00	5,67	5,17	5,33	4,33	8,17

U tabeli 68 dat je grafički prikaz alelnih frekvencija po istraživanim populacijama za šest genskih lokusa.

Tabela 68. Alelne frekvencije po populacijama za 6 genskih lokusa



Prema istraživanjima SKENDER (2010) za tri populacije pitomog kestena u BiH sa 13 lokusa koji su različiti u odnosu na lokuse ovih istraživanja, prosječan broj alela za ukupan uzorak i sve lokuse je iznosio 5,3077. Za iste lokuse koje je koristila SKENDER (2010) u Velikoj Britaniji BUCK ET AL. (2003) navodi prosječan broj alela 4,4615. U četiri iranske populacije pitomog kestena na osnovu 10 SSR lokusa (tipa CsCAT, EMC i QpZAG110) prosječan broj alela je 2,85 (JANFAZA ET AL. 2017), što je znatno manje u odnosu na ova istraživanja gdje prosjek iznosi 8,17. Prema POLJAK (2014) nešto veće vrijednosti u prirodnim populacijama kestena su utvrđene za 10 populacija evropskog pitomog kestena pomoću 10 mikrosatelitnih markera čiji prosječan broj alela od 11,7. Prema LUSINI ET AL. (2013) prosječan broj alela za 6 bugarskih populacija, sa 7 lokusa tipa CsCAT i EMCs, iznosio je od 5,14 do 12,86. Prosječan broj alela u 16 populacija pitomog kestena u Španiji na 7 lokusa tipa CsCAT i EMCs je 13,14 (MARTIN ET AL. 2012). S obzirom na broj istraživanih populacija i broj lokusa u prirodnim populacijama pitomog kestena BiH utvrđena je velika raznolikost alela. Jedinstveni aleleli (*Private alleles*), (A_p), definisani su kao aleli koji se pojavljuju u jedinkama samo jedne od analiziranih populacija. U populaciji Bratunac utvrđena su dva jedinstvena alela i to na genskim lokusima ICMA018 (alelna varijanta 183) i genski lokus ICMA023 (alelna varijanta 226). U populaciji Bužim nađeno je 7 jedinstvenih alela na sljedećim genskim lokusima QpZAG15-122, ICMA018-189, 201 i 211 alelna varijanta, ICMA007-215 i genski lokus ICMA020 alelne varijante 202 i 204. U populaciji Konjic utvrđeno je 5 jedinstvenih alela na genskom lokusu QpZAG15-114, ICMA018-203, ICMA023-232, ICMA007-197 i ICMA020-230. U populaciji Kostajnica utvrđeno je 4 jedinstvena alela na genskom lokusu QpZAG15 alelna varijanta 126, ICMA007-198 i 200, ICMA020 alelne varijante 222. Distribucije vrijednosti prosječnog broja jedinstvenih alela po populaciji (A_r) je sljedeća: u populacijama Banjaluka i Prijedor nije zabilježeno prisustvo jedinstvenih alela, niske vrijednosti ima populacija Bratunac (0,333), nešto veće vrijednosti zabilježene su u populacijama Kostajnica (0,667) i Konjic (0,833), dok populacija Bužim ima najveći prosječni broj jedinstvenih alela (1,167), (tabela 69). Slične rezultate navodi POLJAK (2014) za 10 populacija gdje broj jedinstvenih aleala se kretao od 1 do 7, dok SKENDER (2010) za tri populacije u BiH navodi 3-6 jedinstenih alela. Prema (MARTIN ET AL. 2012) detektovano je 10 jedinstvenih alela u sjevernim populacijama i 13 u južnim populacijama Španije od ukupno 16 istraživanih populacija.

Tabela 69. Broj jedinstvenih alela po lokusima i populacijama

LOKUS	POPULACIJA						UKUPNO
	BL	BR	BU	KC	KO	PR	
QPZAG 15	-	-	1	1	1	-	3
ICMA004	-	-	-	-	-	-	0
ICMA018	-	1	3	1	-	-	5
ICMA023	-	1	-	1	-	-	2
ICMA007	-	-	1	1	2	-	4
ICMA023	-	-	2	1	1	-	4
UKUPNO	0	2	7	5	4	0	18
PROSJEK	0,000	0,333	1,167	0,833	0,667	0,000	0,500

Bogatstvo alela (*Allelic Richness*) po populacijama i lokusima prikazano je u tabeli 70. Bogatstvo alela (r) predstavlja prosječan broj alela po lokusu nezavisno od veličine uzorka gdje se svi uzorci svode na veličinu najmanjeg uzorka. Bogatstvo alela bazirano je na minimalnoj veličini uzorka od 39 diploidnih individua. Najveće prosječne vrijednosti zabilježene su kod populacije Bužim (8,239) za genski lokus ICMA018, a najniže vrijednosti su zabilježene kod populacije Bratunac (2,000) za genski lokus QPZAG15. Prosječno za sve populacije najniže vrijednosti bogatstva alela ima genski lokus QPZAG15 (4,517), dok najveće prosječne vrijednosti ima lokus ICMA018 (7,257).

Vrijednosti prosječnog broja alela po lokusu nakon metode refrakcije uzorka (r), čime se populacije svode na zajednički minimalan broj individua, su imale sličnu distribuciju vrijednosti kao vrijednosti parametra Na. Najmanju vrijednost parametra imala je populacija Bratunac (3,900), zatim populacija Prijedor (4,205) i Banjaluka (4,258). Veće vrijednosti ovog parametra su imale populacije Konjic (4,970), Kostajnica (5,132) i Bužim (5,456). Slične vrijednosti bogatstva alela dobijene su u bugarskim populacijama gdje su se prosječne vrijednosti kretale od 5,14 do 7,73 (LUSINI ET AL. 2013) kao i u španskim populacijama čije vrijednosti za šesnaest populacija su se kretale od 3,99 do 5,82 (MARTIN ET AL. 2012). Prema MATTIONI ET AL. (2013) za četiri populacije u Španiji (6 lokusa tipa CsCAT) prosječne vrijednosti su se kretale od 5,16 do 7,00, za 9 italijanskih populacija od 5,66 do 8,33, četiri populacije u Grčkoj od 5,00 do 7,16.

Tabela 70. Bogatstvo alela po populacijama i lokusima

LOKUS	POPULACIJA						PROSJEK
	BL	BR	BU	KC	KO	PR	
QPZAG 15	3,994	2,000	3,826	4,591	5,000	3,812	4,517
ICMA004	4,807	5,000	5,000	4,807	5,000	4,801	4,993
ICMA018	5,812	4,624	8,239	7,678	4,996	4,812	7,257
ICMA023	3,000	3,966	3,000	4,000	3,000	3,000	4,735
ICMA007	3,966	3,000	4,933	3,999	5,802	3,994	5,306
ICMA023	3,966	4,812	7,739	4,745	6,996	4,812	7,233
PROSJEK	4,258	3,900	5,456	4,970	5,132	4,205	5,674

Efektivni broj alela (*Effective alleles*) se mjeri po funkciji učestalosti svakog alela na posmatranom lokusu. U tabeli 71 prikazan je broj efektivnih alela (Ne) po lokusima i populacijama. Lokus ICMA020 ima najveću vrijednost (5,241) za populaciju Kostajnica dok isti lokus ima i prosječnu najveću vrijednost za svih šest istraživanih populacija (3,174). Lokus ICMA004 ima najmanju vrijednost (1,523) za populacije Banjaluka i Konjic. Najmanju prosječnu vrijednost za sve populacije ima lokus QpZAG15 (2,005).

Velike vrijednosti genetičkog diverziteta populacija Kostajnica (3,502) i Bužim (2,724) leži u povezanosti ovih populacija sa nastavkom prirodnog areala pitomog kestena u Hrvatskoj i Sloveniji. Manje vrijednosti genetičkog diverziteta u populacijama Prijedor (2,618), Bratunac (2,493), Banjaluka (2,478) i Konjic (1,974) su vjerovatno uzrok što su ove populacije izolovane.

Tabela 71. Efektivni broj alela po populacijama i lokusima

LOKUS	POPULACIJA						PROSJEK
	BL	BR	BU	KC	KO	PR	
QPZAG 15	2,525	1,573	1,848	1,587	2,410	2,088	2,005
ICMA004	1,523	3,257	3,837	1,523	4,582	2,172	2,815
ICMA018	3,028	1,539	3,118	3,229	3,556	3,128	2,933
ICMA023	2,547	2,405	2,823	2,069	2,181	2,460	2,414
ICMA007	2,153	2,698	2,369	1,621	3,043	2,806	2,448
ICMA020	3,095	3,488	2,350	1,816	5,241	3,054	3,174
PROSJEK	2,478	2,493	2,724	1,974	3,502	2,618	2,632

Prosječna vrijednost efektivnih alela je veća od vrijednosti u iranskim populacijama (4 populacije, 10 SSR) koja je iznosila 2,163 (JANFAZA ET AL. 2017). Manja prosječna vrijednost efektivnih alela je u odnosu na vrijednosti koje su dobijene u istraživanjima 16 populacija, 7 lokusa u Španiji (6,50) (MARTIN ET AL. 2012),kao i kod populacija u Bugarskoj (6 populacija,7 lokusa) čija prosječna vrijednost je 3,928 (LUSINI ET AL. 2013), italijanske populacije (9 populacija, 6 lokusa) vrijednost 3,901, Grčke (4 populacije, 6 lokusa) vrijednost 3,608 (MATTIONI 2013).

Postojanje nul-alela (*Null alleles*) testirano je u programu MICRO-CHECER ver. 2.2.3. (VAN OOSTERHOUT ET AL. 2004). Procjena učestalosti nul-alela vršena je pomoću metoda po Brookfield-u (BROOKFIELD 1996). Imenovani programski softver bazira se na upoređivanju očekivane i uočene homozigotnosti, pri čemu detektovano povećanje broja homozigota objašnjava prisustvom nultih alela. Ni u jednoj od šest istraživanih populacija, niti ni na jednom od šest lokusa nije utvrđeno postojanje nul-alela.

4.6.2. Hardy-Weinbergova ravnoteža

Kako bi utvrdili da li se istraživane populacije nalaze u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži (HW) izračunat je fiksacijski indeks (F_{IS}) (WRIGHT 1931) i izvršeno testiranje signifikantnosti odstupanja od Hardy-Weinbergove ravnoteže. Fiksacijski indeks-F_{IS} označava višak ili manjak heterozigotnosti, a mjera je odstupanje stvarnih alelnih frekvencija od frekvencija kakve bi bile prisutne pri panmiksiji. Ukoliko odstupanje postoji, uzrok može biti samooplodnja unutar populacija ili genetska diferencijacija između populacija (BOGDAN 2016). Izračunava se prema klasičnoj formuuli po Wright-u, $F_{IS}=1-(H_O/H_E)$, gdje je H_O-uočena heterozigotnost (*observed heterozigosity*), H_E-očekivana heterozigotnost (*exepted heterzygosity*). Vrijednost fiksacijskog indeksa se kreće između -1 i 1. Kada je $F_{IS}= 0$ populacija je u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži, tj. prisutan je proces panmiksije u populaciji. Kad je $F_{IS}> 0$ u populaciji postoji manjak (nedostatak) heterozigota, ukolik je $F_{IS}< 0$ postoji višak heterozigota u populaciji. Ako postoji višak heterozigota u populaciji može da znači da prirodna selekcija favorizuje heterozigote. F_{IS} se još zove i koeficijent samooplodnje (*inbredding coefficient*) tj. indeksom unutarpopulacione endogamije. Uopšte endogamija je tip razmnožavanja nastao kada su seksulni partneri u nekom stepenu genetičkog srodstva.

Uočena heterozigotnost (H_O) predstavlja udio heterozigotnih individua u analiziranim populacijama, dok očekivana heterozigotnost (H_E) tj. genetska raznolikost (*gene diversity*) definiše se kao udio individua u grupi analiziranih genotipova koje su bile heterozigotne nakon jedne generacije slobodne oplodnje odnosno vjerovatnoća da su dva nasumično odabrana alela iz analiziranih grupa međusobno različita. Vrijednosti heterozigotnosti se generalno kreću od 0 (kad ne postoji heterozigotnost) do 1 (za sisteme sa velikim brojem jednako frekventnih alela).

U tabeli 72 su prikazani parametri uočena heterozigotnosti (H_O), očekivane heterozigotnosti (H_E), fiksacijski indeks (F_{IS}) i p vrijednost signifikantnosti po lokusu i populaciji. Heterozigotnost u okviru svih istraživanih lokusa u populaciji je prilično visoka što nam ukazuje na veliku varijabilnost na nivou populacija.

Najveća vrijednost uočene heterozigotnosti javlja se kod populacije Bratunac na genskom lokusu ICMA004 (0,938) dok najmanja vrijednost je kod populacije Bužim na genskom lokusu ICMA018 (0,354).

U populaciji Kostajnica na genskom lokusu ICMA020 zabilježena je najveća vrijednost očekivane heterozigotnosti (0,818) dok najniža vrijednost je zabilježena kod populacija BL i KC na genskom lokusu ICMA004 (0,347). Prilikom procjene fiksacijskog indeksa po lokusima i populacijama značajno odstupanje od Hardy - Weinbergove ravnoteže utvrđeno je za sljedeće lokuse: ICMA007 - populacija Banjaluka, ICMA020 - populacija Bužim, ICMA004 i ICMA020 - populacija Bratunac, ICMA007 - populacija Konjic, ICMA004, ICMA007 i ICMA020 - populacija Kostajnica i u populaciji Prijedor nema značajnog odstupanja od Hardy - Weinbergove ravnoteže ni za jedan lokus (tabela 72).

Tabela 72. Parametri genetičke raznolikosti

POPULACIJA	LOKUS	HO	HE	FIS	P – VRIJEDNOST
BL	QPZAG 15	0,667	0,610	-0,092	0,10151^{ns}
	ICMA004	0,396	0,347	-0,141	1,00000^{ns}
	ICMA018	0,729	0,677	-0,077	0,82843^{ns}
	ICMA023	0,729	0,614	-0,188	0,41366^{ns}
	ICMA007	0,563	0,541	-0,039	0,04140*
	ICMA020	0,771	0,684	-0,127	0,44264^{ns}
BU	QPZAG 15	0,396	0,368	-0,075	0,70866^{ns}
	ICMA004	0,771	0,700	-0,101	0,10391^{ns}
	ICMA018	0,354	0,354	-0,001	0,21464^{ns}
	ICMA023	0,729	0,590	-0,235	0,19366^{ns}
	ICMA007	0,708	0,636	-0,114	0,74112^{ns}
	ICMA020	0,625	0,721	0,133	0,00741**
BR	QPZAG 15	0,574	0,464	-0,239	0,24474^{ns}
	ICMA004	0,938	0,747	-0,255	0,03378*
	ICMA018	0,667	0,686	0,029	0,08809^{ns}
	ICMA023	0,596	0,653	0,087	0,80648^{ns}
	ICMA007	0,563	0,584	0,037	0,05171^{ns}
	ICMA020	0,542	0,580	0,067	0,00305**
KC	QPZAG 15	0,396	0,374	-0,059	0,75068^{ns}
	ICMA004	0,396	0,347	-0,141	1,00000^{ns}
	ICMA018	0,792	0,698	-0,135	0,59400^{ns}
	ICMA023	0,563	0,522	-0,077	0,82227^{ns}
	ICMA007	0,375	0,387	0,031	0,00293**
	ICMA020	0,500	0,454	-0,101	0,77642^{ns}
KO	QPZAG 15	0,513	0,593	0,135	0,09775^{ns}
	ICMA004	0,833	0,791	-0,053	0,01578*
	ICMA018	0,643	0,727	0,116	0,48291^{ns}
	ICMA023	0,675	0,548	-0,231	0,28686^{ns}
	ICMA007	0,617	0,657	0,061	0,01883*
	ICMA020	0,702	0,818	0,142	0,00127**
PR	QPZAG 15	0,521	0,527	0,011	0,27954^{ns}
	ICMA004	0,500	0,545	0,083	0,52967^{ns}
	ICMA018	0,813	0,688	-0,182	0,21265^{ns}
	ICMA023	0,750	0,600	-0,250	0,18025^{ns}
	ICMA007	0,688	0,650	-0,057	0,27357^{ns}
	ICMA020	0,792	0,680	-0,165	0,72659^{ns}

U svim ispitivanim populacijama prosječne vrijednosti uočene heterozigotnosti (Ho) su se kretale od 0,503 kod populacije Konjic do 0,677 - populacija Prijedor, dok prosječna vrijednost za sve istraživane populacije i lokuse iznosi 0,622. Vrijednosti prosječne očekivane heterozigotnosti (He) su se kretale od 0,464 za populaciju Konjic do 0,689 za populaciju Kostajnica, a ukupna prosječna vrijednost je 0,588. Dobijena prosječna vrijednosti He-očekivane heterozigotnosti (0,588) niža je od vrijednosti istraživanja u Hrvatskoj (0,650) (POLJAK 2014), u Španiji (0,804) (MARTIN ET AL. 2012), u Bugarskoj (0,720) (LUSINI ET AL. 2013), dok je približno jednaka vrijednosti istraživanja dobijenih u četiri populacije Irana (0,512) (JANFAZA ET AL. 2017), kao i za tri populacije u BiH (0,550) (SKENDER 2010).

Vrijednosti fiksacijskog indeksa su se kretale od -0.111 (BL) pa do 0,028 (KO).

Uočena heterozigotnost (Ho) u pet populacija je veća od očekivane heterozigotnosti (He) što je rezultiralo negativnim vrijednostima fiksacijskog indeksa (F_{IS}), samo je u populaciji Kostajnica (KO) očekivana heterozigotnost veća od uočene, pa je vrijednost fiksacijskog indeksa pozitivna, ali jako je bliska ekvilibrijumu. Pozitivna vrijednost fiksacijskog indeksa ukazuje na prisustvo deficita heterozigota u populaciji Kostajnica, tj. povećano prisustvo homozigota. S obzirom, da je jedan od razloga deficita heterozigota prisustvo nulti alela, urađena je analiza podataka pomoću Micro checker programa. U svih šest analiziranih populacija, za šest genskih lokusa nije uočeno prisustvo nultog alela. Takođe multilokusnim testom statistički značajno odstupanje od Hardy-Weinbergove ravnoteže nije utvrđeno niti kod jedne populacije (tabela 73), što nas navodi na zaključak da su sve populacije vjerovatno u Hardy-Weinberg ekvilibrijumu.

Tabela 73. Prosječne vrijednosti Ho, He i F_{IS} prametara genetičke raznolikosti

POPULACIJA	HO	HE	FIS	P VRIJEDNOST
BL	0,642	0,579	-0,111	$0{,}47127^{ns}$
BR	0,597	0,562	-0,066	$0{,}32823^{ns}$
BU	0,646	0,619	-0,046	$0{,}20464^{ns}$
KC	0,503	0,464	-0,080	$0{,}65772^{ns}$
KO	0,664	0,689	0,028	$0{,}15057^{ns}$
PR	0,677	0,615	-0,093	$0{,}36705^{ns}$
PROSJEK	0,622	0,588	-0,061	$0{,}36325^{ns}$

SKENDER (2010) navodi da (tri populacije, 13 lokusa tipa EMCs) za ukupnu populaciju je uočena izrazita tendencija statistički signifikantnog odstupanja od Hardy - Weinbergovog ekvilibrijuma osim za lokuse EMCs4 i EMCs17.

Prema istraživanjima POLJAK (2014) statističko odstupanje od Hardy-Weinbergove ravnoteže nije utvrđeno ni kod jedne populacije, dok kod procjene koeficijenta inbridinga (samooplodnje) po lokusu i populacijama značajno odstupanje utvrđeno je za jedan lokus CsCAT2 kod populacije Samoborsko gorje, gdje pretpostavlja da je uzrok odstupanja od HWE prisustvo nul alela na tom mikrosatelitnom lokusu. MATTIONI ET AL. (2013) u radu navodi pozitivno i signifikantno značajno odstupanje za koeficijent inbridinga, na bazi 5 lokusa tipa CsCAT, za sve istraživane populacije pitomog kestena u istočnoj Turskoj (pet) i dvije populacije od pet istraživanih u centralnoj Turskoj, dvije populacije od četiri u zapadnoj Turskoj, dvije od četiri u Grčkoj, jedna do četiri populacije u Španiji i jedna od devet populacija u Italiji.

4.6.3. Genetički usko grlo

U svrhu detekcije skorašnjeg prolaska populacija kroz usko grlo (*genetic bottleneck*) korišćen je programski paket BOTTLENECK version 1.2.0.2 (PIRY ET AL. 1999). Program je baziran na testiranju utvrđene očekivane heterozigotnosti koja je upoređena sa ravnotežnom očekivanom heterozigotnošću to jeste sa očekivanom heterozigotnošću populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka (*mutation-drift equilibrium*) na osnovu detektovanog broja alela. Korišćena su tri različita mutacijska modela: model beskonačnog broja alela (IAM-*infinite allele model*) i ovaj model nije informativan za SSR, model postupnih mutacija (SMM-*stepwise mutation model*) i dvofazni model (TPM-*two phase mutation model*). Najprecizniji među testovima je TPM. U tabeli 74 dati su rezultati sva tri metoda i Wilcoxon test signifikantnosti, gdje je p(D) signifikantnost Wilcoxon testa za nedostatak heterozigotnosti u odnosu heterozigotnost populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka i p(E) signifikantnost Wilcoxon testa za višak heterozigotnosti u odnosu heterozigotnost populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka. Vrijednosti p manje od 0,05 su smatrane signifikantnim.

Tabela 74. Genetičko usko grlo primjenom tri mutacijska modela

POPULACIJA	MUTACIJSKI MODEL					
	IAM		TMP		SMM	
	p(D)	p(E)	p(D)	p(E)	p(D)	p(E)
BL	0,96094	0,05469	0,92188	0,21875	0,50000	0,57813
BR	0,98438	0,02344	0,92188	0,21875	0,92188	0,21875
BU	0,94531	0,07813	0,34375	0,71875	0,07813	0,94531
KC	0,07813	0,94531	0,01563	0,99219	0,00781	1,00000
KO	1,00000	0,00781	0,98438	0,02344	0,65625	0,42188
PR	1,00000	0,00781	0,98438	0,02344	0,65625	0,42188

S obzirom na to, da model IAM nije informativan za SSR neće biti ni komentarisan. Najinformativniji je test dvofaznog modela-TMP koji je pokazao da od šest analiziranih populacija dvije populacije (Kostajnica i Prijedor) imaju značajan višak očekivane heterozigotnosti u odnosu na heterozigotnost populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka, što ukazuje na skorašnji prolazak ovih populacija kroz genetičko grlo. Nedostatak heterozigotnosti bio je signifikantan pod pretpostavkom TMP modela i SMM modela za populaciju Konjic.

4.6.4. Genetička diferencijacija populacija

Indeks genetičke diferencijacije (F_{ST}) (WRIGHT 1931) kao mjera opisuje smanjenje heterozigotnosti u populaciji uzrokovana razlikama u alelnim učestalostima pojedinih subpopulacija od kojih se sastoji, a nastaje uslijed smanjenja protoka gena između subpopulacija i slučajnog genetskog drifta. U cilju utvrđivanja stepena genetičke diferencijacije između svih parova ispitivanih populacija utvrđen je indeks genetičke diferencijacije (F_{ST}) po metodi WEIR I COCKERHAM (1984), a signifikantnost je utvrđena pomoću permutacija u programu F STAT (GOUDET 2002). Prema HADŽISELIMOVIĆ (2005) konvencijalno rangiranje vrijednosti F_{ST} je:

- 0,00-0,05= mala,
- 0,05-0,15= umjerena,
- 0,15-0,25= velika,
- >0,25= veoma velika genetička diferencijacija.

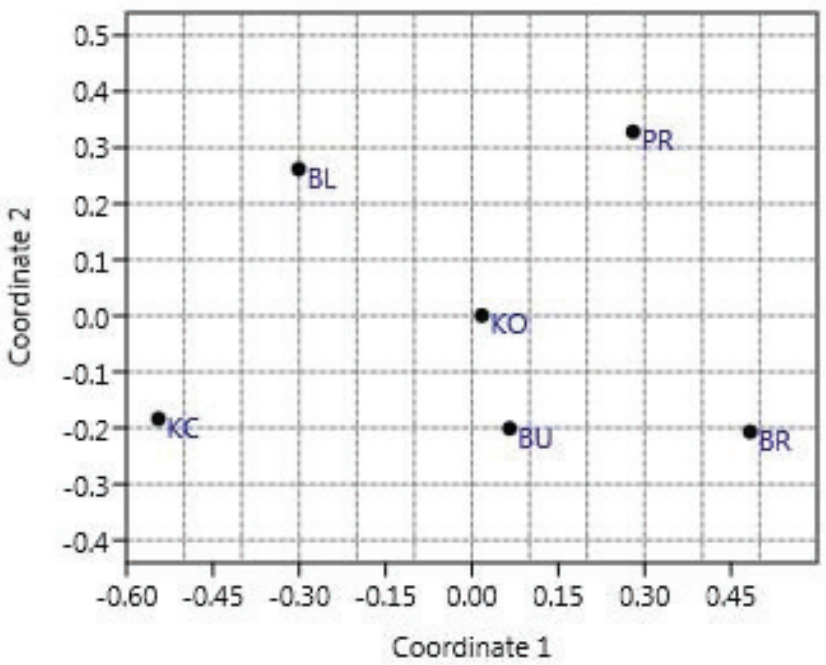
U tabeli 75 data je matrica vrijednosti F_{ST} između šest istraživanih populacija pitomog kestena. Detektovana vrijednost indeksa genetičke diferencijacije između parova ispitivanih populacija pitomog kestena u Bosni i Hercegovini 7 poređenja od ukupno 15 poređenja (46,67%) imalo je F_{ST} vrijednost između 0,05-0,015 što govori o umjerenoj genetičkoj diferencijaciji, 5 poređenja (33,33%) imalo je veliku genetičku diferencijaciju sa vrijednostima F_{ST} od 0,15 do 0,25, dok 3 poređenja (20%) imala su vrijednosti veće od 0,25 što nam govori da je u pitanju velika genetička diferencijacija. Vrijednosti od 0,00 do 0,05 nisu detektovane. Najveća vrijednost indeksa genetičke diferencijacije detektovana je između populacije Konjic i Bratunac (0,303), a najmanja između populacije Kostajnica i Bužim (0,095). Veoma velika genetička diferencijacija detektovana je još između populacija Konjic-Prijedor i Konjic-Bužim. Statistički signifikantne vrijednosti indeksa genetike diferencijacije utvrđene su za sve parove populacija. Ukupan (*global*) indeks genetičke diferencijacije za sve populacije i lokuse iznosio je 0,190, potvrđujući veliku genetičku diferencijaciju između analiziranih populacija (tabela 75).

Tabela 75. Matrica vrijednosti indeksa genetičke diferencijacije

POPULACIJA	BL	BR	BU	KC	KO	PR
BL						
BR	0,247					
BU	0,217	0,118				
KC	0,146	0,303	0,289			
KO	0,115	0,129	0,095	0,147		
PR	0,229	0,205	0,154	0,296	0,108	

Gradijanti boja kojim su označene veličine F_{ST}	
0,00-0,05	
0,05-0,15	
0,15-0,25	
>0,25	

U programu PAST na osnovu matrice F_{ST} urađena je multidimenzionalna ordinacija pomoću MDS (non-matric) gdje je vrijednost Stress=0,06956 (grafikon 39). Populacije koje su koordinirane bliže jedna drugoj one su sličinije od onih koje su udaljenije jedna od druge.



Grafikon 39. Ordinacija populacija na osnovu matrice F_{ST}

WRIGHT (1965) je razvio pristup opisivanja genetičke diferencijacije genetičke varijabilnosti u fragmentisanoj populaciji. Pristup se sastoji od tri različita F koeficijenta koji se odnose na genetičku varijabilnost na nivou cijele populacije (F_{IT}), između subpopulacija (F_{ST}) i između jedinki (F_{IS}). Ova tri koeficijenta predstavljaju takozvanu „F“ statistiku. F_{IS} koeficijent je prosječno odstupanje od Hardy - Weinberg ekvilibrijuma (HWE) unutar populacije ili korelacija između alela unutar jedinki u odnosu na populaciju kojoj pripadaju. F_{ST} koeficijent je proporcija genetske raznolikosti uzrokovane razlikama u frekvencijama alela između populacija ili korelacija između alela unutar populacije u odnosu na cijelu populaciju. F_{IT} koeficijent kvantificira odstupanje frekvencija genotipova u kombinovanom uzorku od HWE ili korelacija između alela unutar jedinki u odnosu na kombinovani uzorak. Pozitivne vrijednosti koeficijenta F_{IS} i F_{IT} ukazuju na deficijenciju, a negativne na višak heterozigota (ANĐELKOVIĆ I STAMENKOVIĆ-RADAK 2013). Male vrijednosti F_{ST}-a označavaju sličnost frekvencije alela unutar svake populacije, dok veće vrijednosti označavaju različitost frekvencije alela (HOLSINGER I WEIR 2009). U tabeli 76 dat je prikaz navedenih koeficijenata gdje na osnovu vrijednosti F_{IT} indeksa (0,141) možemo reći da ova vrijednost pokazuje jednu stabilnu populaciju sa zanemarljivim uticajem inbridinga.

Protok gena između populacija u generaciji izračunat je na osnovu F_{ST} vrijednosti preko formule $Nm=0,25*(1-F_{ST})/F_{ST}$. Sa visokom stopom protoka gena F_{ST} je nizak. Dobijena vrijednost nam pokazuje broj migranata u generaciji između populacija, i ukupna vrijednost je 1,333 (tabela 76). Prema WRIGHT (1969) dovoljno je jedan migrant po generaciji da se spriječi potpuna diferencijacija tj. fiksacije alela u fragmentima.

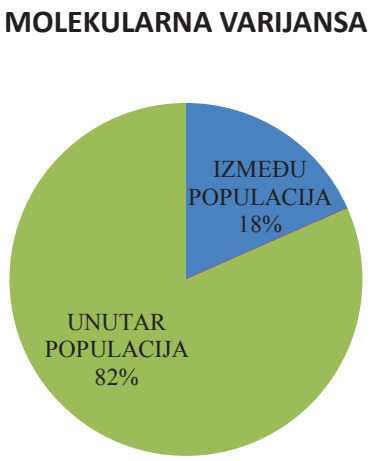
Tabela 76. Parametri F – statistike

LOKUS	F_{IT}	F_{ST}	F_{IS}	Nm
QPZAG15	0,123	0,166	-0,052	1,256
ICMA004	0,195	0,271	-0,105	0,673
ICMA018	0,074	0,117	-0,048	1,887
ICMA023	-0,043	0,090	-0,146	2,528
ICMA007	0,219	0,232	-0,017	0,828
ICMA020	0,232	0,232	0,001	0,828
	0,141	0,190	-0,060	1,333

Prosječna vrijednost F_{ST} iznosi 0,190 što je približno jednako sa vrijednostima u populacijama Irana (0,198), dok su nešto veće vrijednosti u odnosu na bugarske populacije čije prosječna vrijednosti je 0,073 i populacije u Španiji (0,152) (MARTIN ET AL. 2012), populacije u Hrvatskoj 0,111 (POLJAK 2014) i među populacija Italije i Španije (0,126) i populacija zapadne Turske i Grčke (0,123) MATTIONI ET AL. (2013). Takođe MATTIONI ET AL. (2013) navodi znatno veće vrijednosti F_{ST} između populacija pitomog kestena Italije i istočne i zapadne Turske (0,255), kao i SKENDER (2010) gdje je za tri populacije u BiH vrijednost nešto veća i iznosi 0,229. Ovim istraživanjima je potvrđena velika genetička diferencijacija BiH populacija kao i kod istraživanja SKENDER (2010).

4.6.5. Analiza molekularne varijanse (AMOVA)

Da bi se utvrdilo koji je procenat varijabilnosti prisutan unutar populacija, kao i između ispitivanih populacija, urađena je analiza molekularne varijanse. Rezultati analize, su pokazali da su genetičke varijacije prisutne u većem procentu unutar populacija u odnosu na procenat genetičke varijabilnosti između populacija. Procenat varijabilnosti između populacija iznosi 18%, dok unutar populacija genetička varijabilnost iznosi 82% (grafikon 40). Mnogi faktori doprinose visokom nivou genetičkog diverziteta tj. varijabiliteta unutar populacija koje je tipično za populacije šumskih vrsta drveća, a to je veličina populacije, starost, visok nivo out-krosinga, migracije između populacija i selekcije tj. selekcionog balansa (LEDIG 1986; WHITE ET AL. 2009). Uopšte kod višegodišnjih drvenastih vrsta ukupna genetička varijabilnost je većim dijelom rezultat unutarpopulacijske varijabilnosti (POLLEGIONI ET AL. 2011).



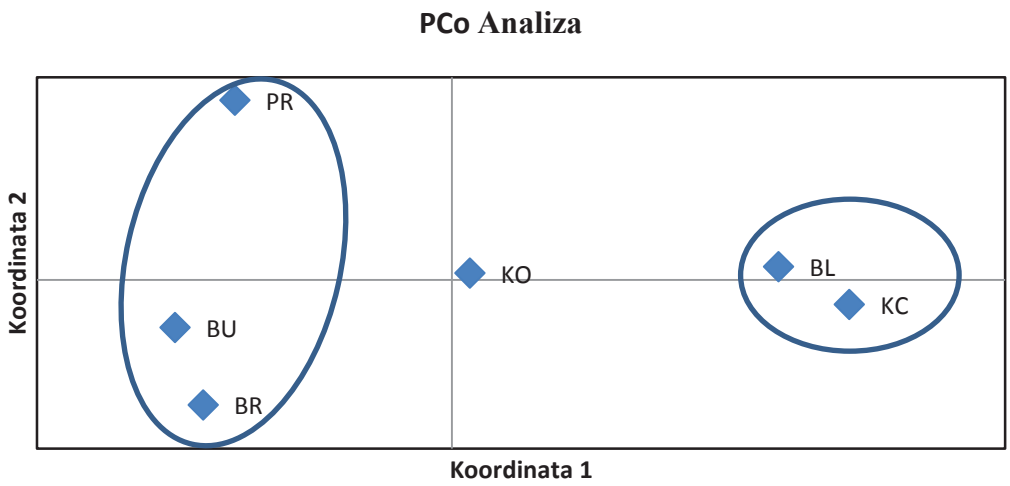
Grafikon 40. Analiza molekularne varijanse između i unutar šest populacija pitomog kestena

Slične rezultate molekularne analize varijanse sa rezultatima ovog istraživanja dobijaju i drugi autori. Prema SKENDER (2010) od ukupne genetičke varijacije praćene tri populacije pitomog kestena u BiH na osnovu promatranih mikrosatelitnih lokusa, 17,40% čini varijacija između populacija, dok 82,6% čini unutarpopulacijsku varijabilnost. POLJAK (2014) u svojim istraživanjima populacija pitomog kestena utvrdio je da 88,96% od ukupne varijanse otpada na unutarpopulacijsku raznolikost, dok 11,4% otpada na raznolikost između populacija. Rezultati analize varijanse prema JANFAZA ET AL. (2017) pokazali su da 84% od ukupne genetske varijabilnosti otpada na unutarpopulacijsku dok 16% na varijabilnost između populacija. POLJAK (2016) pri analizi 15 populacija iz 7 zemalja analiza molekularne varijanse pokazala je da se najveći udio varijabilnosti može pripisati razlikama između jediniki unutar populacija (86,4%).

4.6.6. Koordinatna analiza (Principal Coordinate Analisis –PCoA)

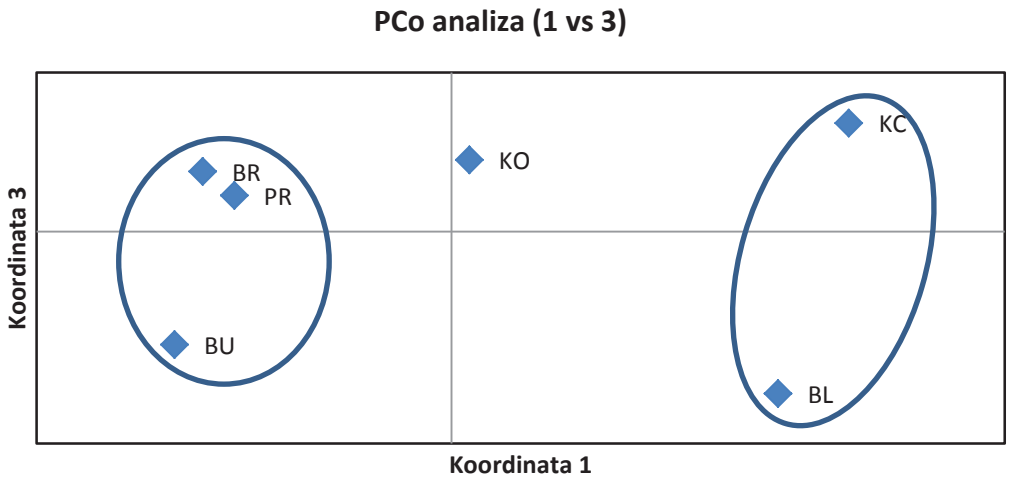
Da bi se sagledala genetička udaljenost, odnosno bliskost među populacijama analiziranih područja, izračunate su Nei genetičke distance između parova populacija u programskom paketu GenAlex Version 6.5 (PEAKALL I SMOUSE 2012). U cilju vizualizacije ovih odnosa primjenjena je PCo analiza, koja pruža pregledan prikaz genetičke udaljenosti analiziranih populacija, ali omogućava i da se uoči potencijalno grupisanje ovih populacija.

Na grafičkom prikazu genetičke udaljenosti populacija Bosne i Hercegovine (grafikon 41), uočeno je grupisanje analiziranih populacija u odvojene klastere. Posmatrajući prve dve koordinatne ose, koje su zajedno opisale 75,53% varijacija od ukupne količine varijacija, ispitivana populacija Kostajnica je postavljena oko centra koordinatnog sistema, dok su se populacije Banjaluka i Konjic grupisale u jedan klaster, što znači da su ove dvije populacije genetički slične. Populacije Bužim i Bratunac su se takođe grupisale u jedan klaster gdje im se može pridružiti populacija Prijedor (PR).



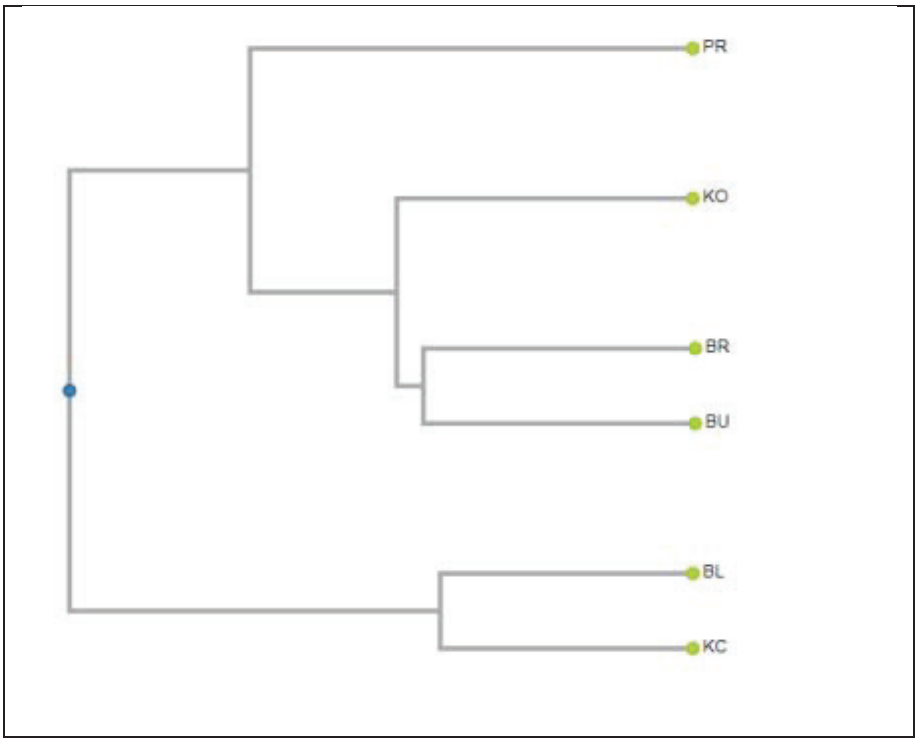
Grafikon 41. Koordinatna analiza 6 populacija pitomog kestena - kordinata 1 i 2

Na grafikonu 42 prikazana je treća koordinatna osa, koja je opisala 11,76% varijacija od ukupne količine varijacija, dok ukupna varijacija koordinate 1 i koordinate 3 je 62,96%, koja je dovela do stvaranja grupa analiziranih populacija, gdje populacija Prijedor (PR), Bratunac (BR) i Bužim (BU) čine jednu grupu, dok je populacija Kostajnica (KO) i dalje ostala blizu koordinatnog centra. Populacije Banjaluka (BL) i Konjic (KC) i dalje ostaju genetički slične. U oba grafikona kao najstabilnija populacija je populacija Kostajnica (KO) koja je najvjerovatnije oslobođena pritiska prirodne selekcije.



Grafikon 42. Koordinatna analiza 6 populacija pitomog kestena - koordinata 1 i 3

Klaster analiza rađena je na osnovu Euklidove distance razdvajanja (grafikon 43) u programu DendroUPGMA. Za analizu je korišćena Nei genetička distanca. Na osnovu dendrograma populacija Bužim, Bratunac, Kostajnica i Prijedor čine jedan klaster kao najsličnije populacije, dok populacija Banjaluka i Konjic čine drugi klaster naknadno se vezujući za postojeći klaster. Klaster analiza je u skladu sa urađenom PCoA analizom.



Grafikon 43. UPGMA dendrogram

4.6.7. Genetska udaljenost

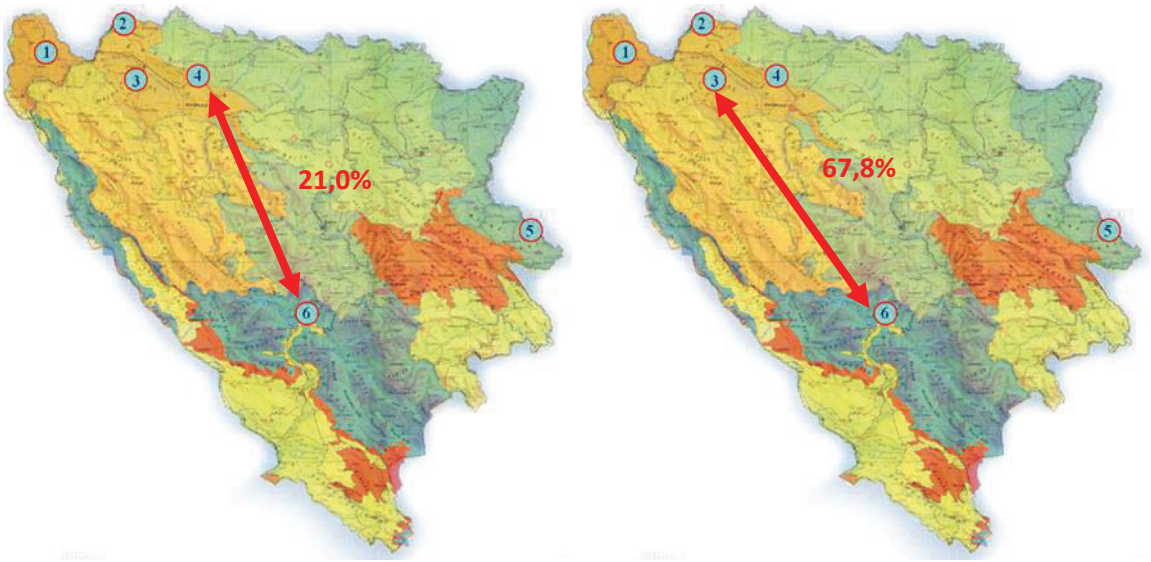
Genetska udaljenost po Nei-u (NEI 1972) između populacija određuje se na osnovu alelnih učestalosti analiziranih lokusa između parova populacija. Genetska udaljenost kreće se od 0 do beskonačno i što su vrijednosti bliže nuli to je genetska udaljenost između tog para populacija manja.

Najudaljenije populacije na osnovu Nei genetičke distance su populacije Konjic i Prijedor (0,678), (tabela 77 i slika 53), a tokođe je velika genetička distanca između populacije, Konjic-Bužim (0,645), Konjic–Bratunac (0,615).

Najmanja genetička distanca je između populacije Konjic i Banjaluka, tj. genetički su ove dvije populacije najsličnije (slika 53), što je vrlo interesantno jer su geografski jako udaljene jedna od druge. Moguće objašnjenje leži u distribuciji pitomog kestena koja je pod antropogenim uticajem.

Tabela 77. Nei genetska distanca

	BL	BR	BU	KC	KO	PR	
BL	0,000						**BL**
BR	0,584	0,000					**BR**
BU	0,547	0,225	0,000				**BU**
KC	0,210	0,615	0,645	0,000			**KC**
KO	0,276	0,263	0,230	0,230	0,000		**KO**
PR	0,567	0,473	0,362	0,678	0,269	0,000	**PR**

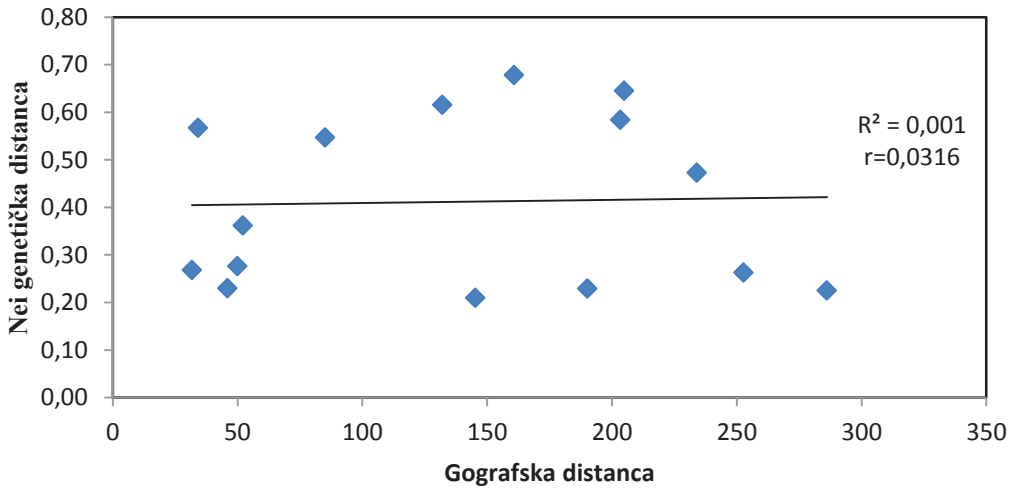


Slika 53. Prikaz najmanje i najveće Nei genetičke distance između populacija 1-BU, 2-KO,3-PR, 4-BL, 5-BR, 6-KC

4.6.8. Mantel test

Analiza povezanosti između genetičke i geografske udaljenosti između individua tj. populacija i opisivanje prostorne raspodijele genetičke raznolikosti bavi se grana populacijske genetike koja se zove prostorna genetika (*spatila genetics*) (HEYWOOD 1991, GUILLOT ET AL. 2009). Jedna od standardnih metoda za zajedničku analizu genetičke i geografske udaljenosti koja je primjenjena u ovom radu je analiza izolacije uslijed udaljenosti (*isolation by distance*) (ROUSSET 1997) i to pomoću Mantel-ovog testa (MANTEL 1967).

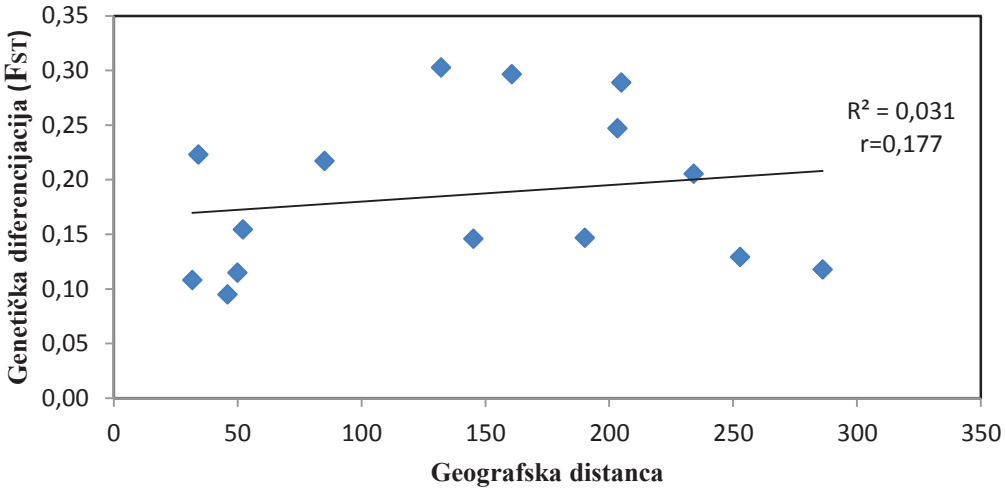
Korelacija između matrice Nei genetičke distance i matrice geografske distance između istraživanih populacija iznosila je r=0,0316 i nije statistički značajna p=0,380. Koeficijent determinacije (R^2) iznosio je 0,001 (grafikon 44).



Grafikon 44. Mantel-ov test za utvrđivanje korelacije između geografske distance i genetičke distance između parova istraživanih populacija

Analiza matrice F_{ST} (indeksa genetičke diferencijacije) i matrice geografske distance pokazuje pozitivnu korelaciju koja nije statistički značajna (r=0,177, p=0,320), (grafikon 45). Koeficijent determinacije iznosio je R^2=0,031 tj. 3,1% genetske diferencijacije između analiziranih populacija može se objasniti njihovom prostornom udaljenošću.

Rezultati Mantelovog testa govore nam da prostorna udaljenost između istraživanih populacija ne utiče na genetičku diferencijaciju.



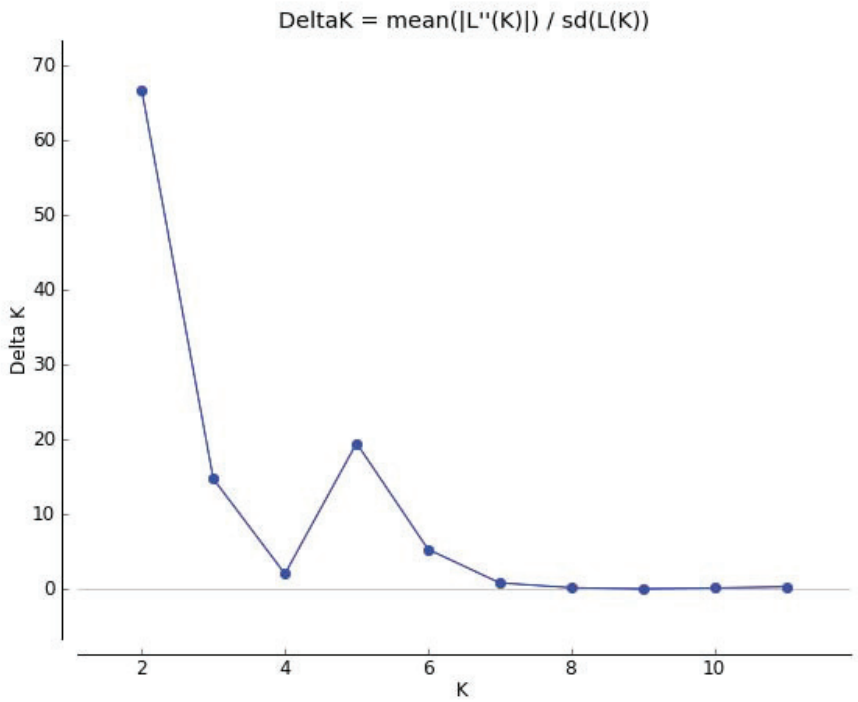
Grafikon 45. Mantel-ov test za utvrđivanje korelacije između geografske distance i genetičke diferencijacije između parova istraživanih populacija

Korelacijom između matrice Nei-genetičke distance, F_{ST} i matrice geografskih udaljenosti između parova populacija utvrđeno je da prostorna udaljenost nema signifikantan udio u raspodjeli genetičke raznolikosti populacija.

Rezultati Mantel testa govore u prilogu i s pretpostavkom da ekološka niša ima uticaja na genetičku strukturu istraživanih populacija i da ekološka niša predstavlja barijeru protoka gena.

4.6.9. Analiza procjene genetičke strukture populacija

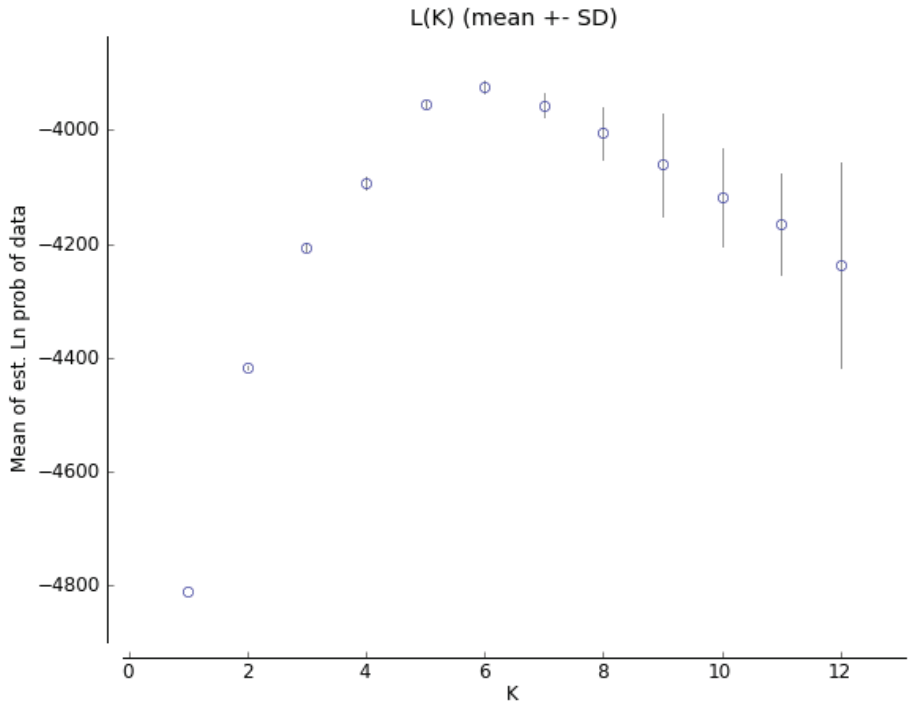
Obradom podataka u programskom paketu STRUCTURE (PRITCHARD ET AL., 2000) na osnovu frenkvencije alela ispitivanih lokusa omogućeno je definisanje struktuiranosti analiziranih populacija i pripadnosti individua određenom klasteru. Pri analizi podataka prilikom određivanja najvjerovatnijeg broja klastera (K) povećanjem lnD(P) vrijednosti dolazi i do povećanja vrijednosti K (grafikon 46 i 47). Za određivanje najvjerovatnijeg broja klastera korišćen je je softver STRUCTURE HARVESTER (EARL I VON HOLDT 2012).



Grafikon 46. ΔK (EVANO ET AL. 2005), baziran na veličini promjene između dvije vrijednosti

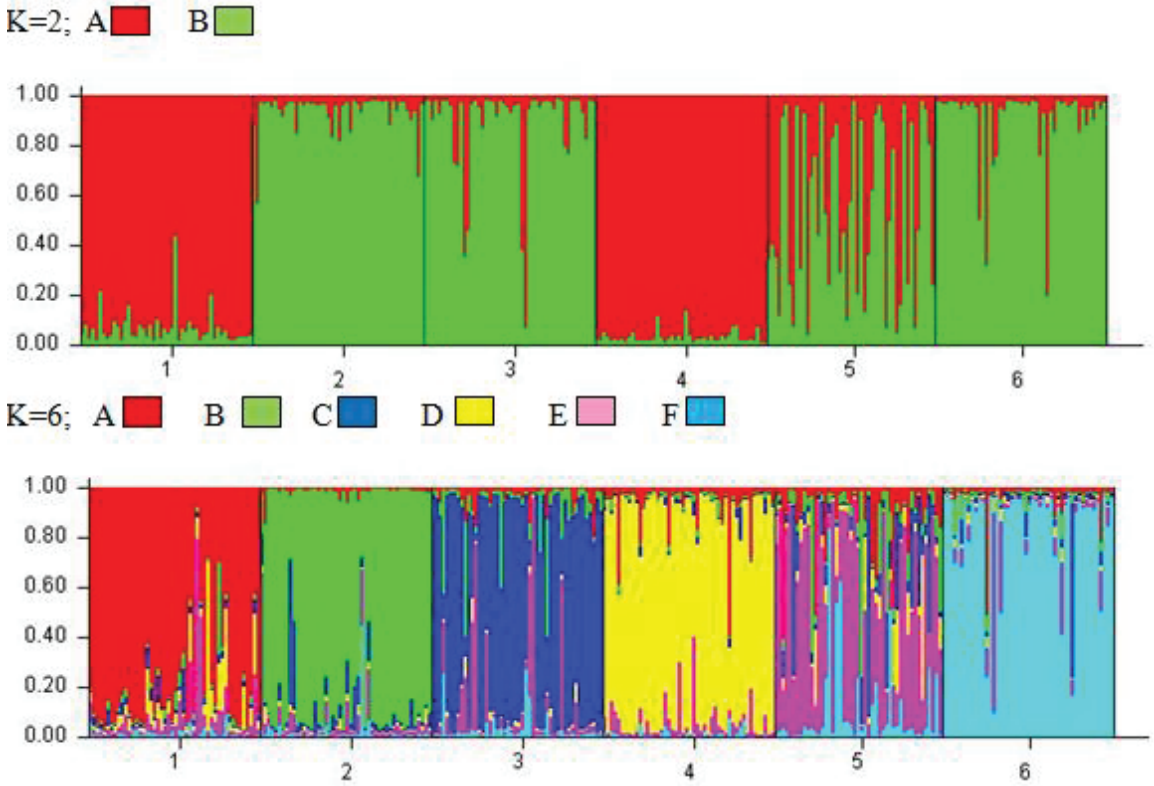
U analizi populacija pitomog kestena, prema ΔK metodu (EVANNO ET AL., 2005), utvrđeno je da je najverovatniji broj klastera prisutan u populacijama ispitivanog regiona K=2, sa sekundarnim pikom na K=5 (grafikon 46).

Po metodu PRITCHARDU ET AL. 2000 došlo je do izdvajana klastera 6 tj. K=6 (grafikon 47).



Grafikon 47. Metod po PRITCHARDU ET AL. (2000), baziran na određivanju K vrijednosti prema lnP(D) vrijednostima (log probability of data)

Prema klasteru K=2 (slika 54) možemo vidjeti da su individue iz populacije 1-Banjaluka i populacije 4-Konjic veoma slične, zatim 2-Bratunac, 3-Bužim i 6-Prijedor dok individue iz populacije 5-Kostajnica su različite u odnosu na ostale populacije. Prema klasteru K=6 pripadnost individua u svim populacijama je različita, gdje u populaciji 5-Kostajica imamo mješavinu gena iz svih ostalih populacija i predstavlja jedan mix gena ostalih istraživanih populacija.



Slika 54. Struktura izvornih populacija na osnovu Bayesovske analize pomoću programa STRUCTURE pri K=2 i K=6; Oznake populacija 1-BL, 2-BR, 3-BU, 4-KC, 5-KO, 6-PR

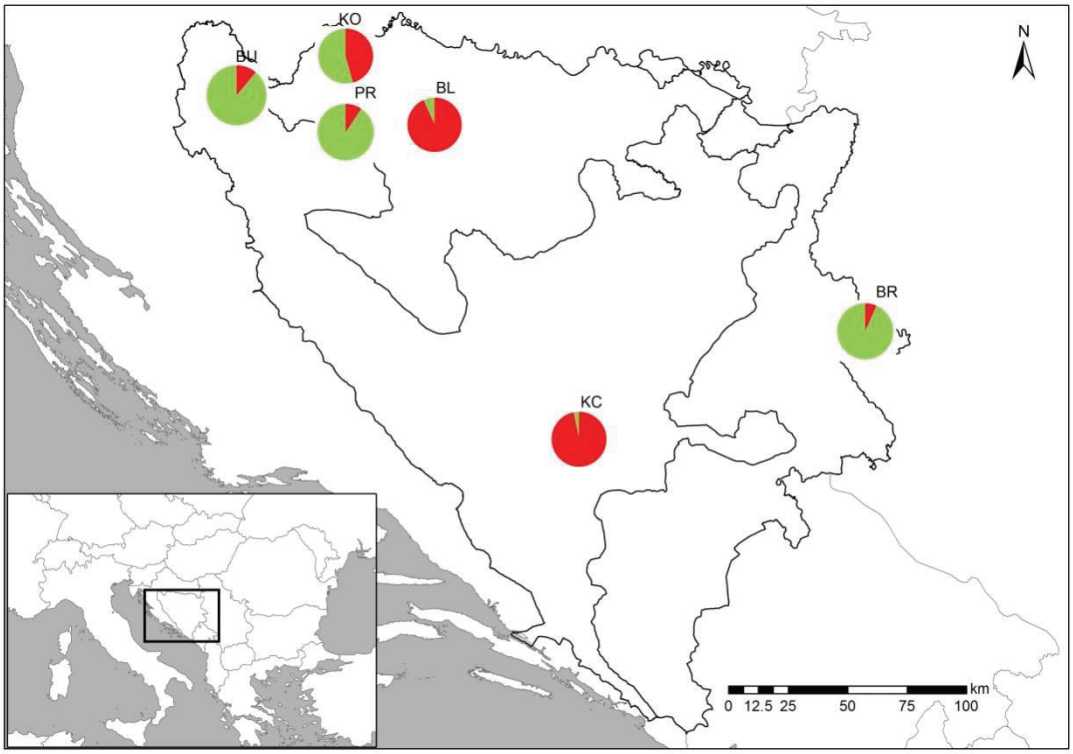
Prosječan udio pripadnosti (Q) istraživanih populacija pitomog kestena izvornim populacijama prikazan je u tabeli 78. Kad je udio određene izvorne populacije jednak ili veći od 0,750 pretpostavlja se da jedinke pripadaju jednoj izvornoj populaciji, a ako je manji od 0,750 tada se pretpostavlja da jedinke imaju mješovito porijeklo iz dvije ili više populacija (POLJAK 2014).

Tabela 78. Prosječan udio pripadnosti (Q) istraživanih populacija pitomog kestena izvornim populacijama

POPULACIJA	K=2		K=6					
	Q1	Q2	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6
BL	**0,933**	0,067	**0,788**	0,026	0,025	0,075	0,069	0,017
BR	0,065	**0,935**	0,016	**0,840**	0,059	0,015	0,047	0,023
BU	0,110	**0,890**	0,036	0,072	0,734	0,016	0,108	0,034
KC	**0,968**	0,032	0,066	0,014	0,016	**0,839**	0,050	0,015
KO	0,456	0,544	0,107	0,088	0,115	0,076	0,506	0,107
PR	0,093	**0,907**	0,033	0,022	0,033	0,015	0,057	**0,840**

Na slici 55 prikazana je struktura izvornih populacija ne osnovu Bayesovske analize pomoću programa STRUCTURE za K=2, dok na slici 56 prikazana je za K=6. Svaka je populacija predstavljena prosječnim procentom genoma (Q) jedinki koji potiču iz određene izvorne populacije.

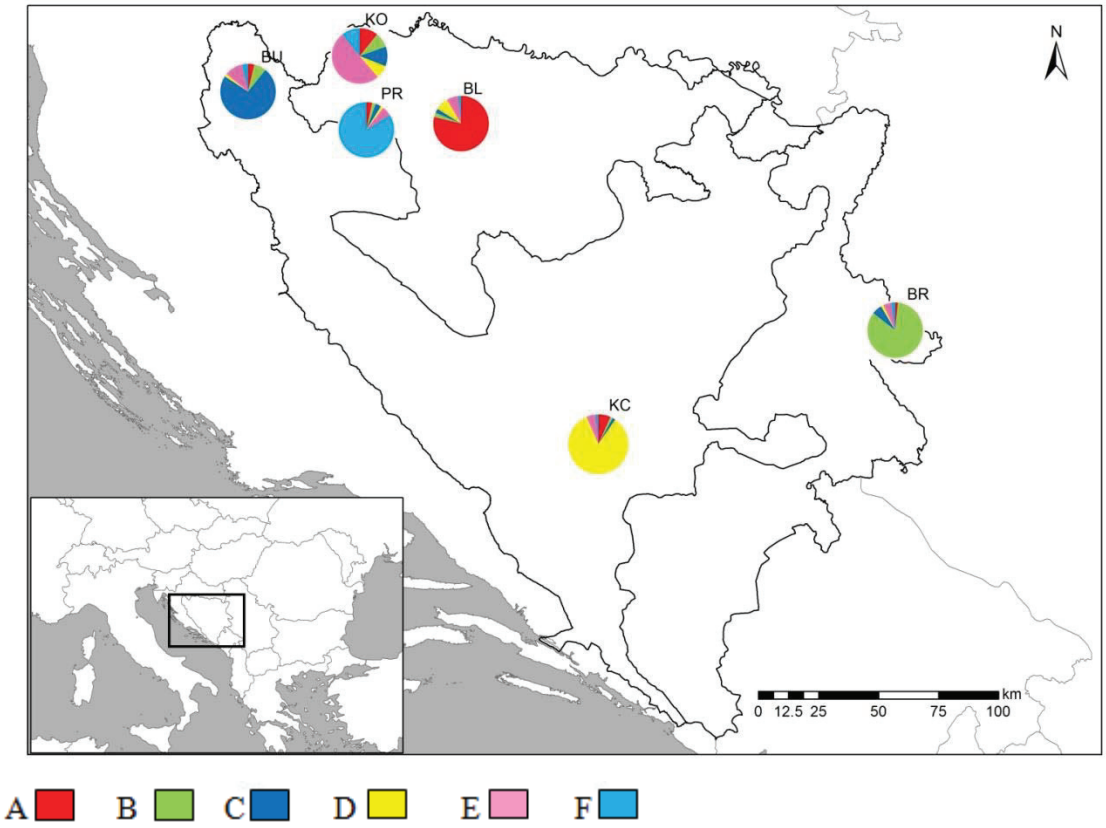
Kod K=2 populacija Banjaluka i Konjic pripadaju izvornoj populaciji A, dok ostale populacije pripadaju izvornoj populaciji B, dok populacija Kostajnica je mješovotog porijekla.



A B

Slika 55. Struktura populacija pri K=2

Kod K=6 došlo je do izdvajanja populacija u zasebne skupine tj. izvorne populacije. Populacija Banjaluka pripada izvornoj populaciji A, populacija Bratunac pripada izvornoj populaciji B, populacija Konjic pripada izvornoj populaciji D, populacija Prijedor pripada izvornoj populaciji F. Populacija Kostajnica pokazuje mješovito porijeklo s dominantnim udjelom izvorne populacije E, a i populacija Bužim pokazuje mješovito porijeklo sa dominacijom izvorne populacije C.



Slika 56. Struktrua populacija pri K=6

Dobijeni rezultati na osnovu SSR markera pokazuju da su razlike između ili unutar populacija pitomog kestena vidljive i jasne. Uzroci tih razlika mogući su, sem prirodne selekcije, u jakom antropogenom uticaju.

5. ZAKLJUČNA RAZMATRANJA

Nalazišta pitomog kestena u Bosni i Hercegovini su disjunktnog areala i reliktnog karaktera. U našim krajevima pokazao se kao prilično plastična vrsta drveća koja raste u različitim uslovima sredine sa određenim dijapazonom valenci pojedinih ekoloških faktora.

Pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill.) ima višestruki značaj za privredu Bosne i Hercegovine. On je ekonomski značajna drvenasta vrsta šuma ovih prostora, čije plansko gajenje i sprovođenje adekvatnih mjera njege i zaštite u prirodnim populacijama i u osnivanju i korišćenju vještačkih populacija, treba da bude permanentna aktivnost šumarske struke i šire društvene javnosti. U pojedinim krajevima Bosne i Hercegovine, na lokalitetima koji se karakterišu, veoma različitim ekološkim uslovima, pitomi kesten pokazuje izraženu adaptivnost i proizvodnost. Bez obzira na navedene odlike pitomog kestena, prisutni su, brojni uzroci koji su uslovili da se zajednice pitomog kestena smanjuju, i da se on potiskuje iz naših šuma. Neadekvatno gazdovanje šumama pitomog kestena uslovilo je da su one u lošem stanju, da njihova proizvodnost opada i da se one sve više suše usled širenja, gljive – *Cryphonectria parasitica* (Murr. Barr), koja je uzročnik raka kore kestena. Polazeći od navedenih odlika pitomog kestena, u ovom disertacionom radu, sprovedenim istraživanjima i primjenom adekvatnih metoda rada, analiziran je dio ekološkog i genetskog diverziteta pitomog kestena, ukazano je na važnost kestenovih šuma za šumarstvo Bosne i Hercegovine i date su proporuke za usmjereno korišćenje ove vrste za potrebe šumarstva i voćarstva. Istraživanja su obavljena primjenom morfoloških, biohemijskih i genetičkih analiza na nivou selekcionisanih populacija i test stabala pitomog kestena sa teritorije Bosne i Hercegovine. Provedena je serija morfoloških istraživanja lista i ploda, fiziološka istraživanja u kontrolisanim uslovima kao i molekularno genetska istraživanja.

Genetička, morfološka i pomološka karakterizacija pitomog kestena sprovedena je u šest populacija koje se nalaze na različitim ekološko – vegetacijskim karakteristikama u Bosni i Hercegovini. Na osnovu analize i rezultata klimatskih, pedoloških, ekoloških kao i navedenih morfoloških istraživanja može se pouzdano zaključiti da pitomi kesten posjeduje veliki adaptacioni potencijal.

Za morfološku analizu lista analiziran je materijal sa 7.200 listova gdje je mjereno, opažano i izvedeno 13 karakteristika dok za morfološku analizu ploda analizirano je 5.400 plodova gdje je mjereno, izvedno i opažano ukupno 14 karakteristika ploda.

Analiza deskriptivnih pokazatelja morfoloških karakteristika lista i ploda je pokazala da u populacijama postoji velika varijabilnost koja je prisutna i na međupopulacionom nivou.

Multivarijantna klaster analiza sprovedena na osnovu Euklidove distance nije dovela do rezultata geografske izdiferenciranosti populacija za morfometrijska svojstva lista dok za morfometrijska svojstva ploda je došlo do geografske izdiferenciranosti populacija. Multivarijantna diskriminaciona analiza je za svojstva lista i ploda pokazala jasno odstupanje populacije Konjic i Banjaluka od ostalih istraživanih populacija.

Rezultati analize mase ploda ukazuju na to, da plod analiziranih test stabala pitomog kestena spada u kategoriju „sitan plod“. U daljem programu oplemenjivanja pitomog kestena treba koristiti metode selekcije i hibridizacije u cilju sinteze *ful sib* linija koje će se odlikovati povećanim dimenzijama i masom ploda pitomog kestena. Pored značaja analize morfoloških odlika ploda, rezultati proučavanja hemijskog sastava ploda, bitni su za buduće programe oplemenjivanja pitomog kestena na kvalitativna svojstava ploda. U daljem radu, glavni kriterijumi za selekciju roditeljskih stabala iz prirodnih populacija pitomog kestena treba da budu, superiorne fenotipske karakteristike – pravnost i punodrvnost stabala, mali pad prečnika, zdravstveno stanje, redovnost, obilnost i kvalitet plodova. Reprodukcija selekcionisanih stabala treba da se odvija sinhronizovano - vegetativnim i generativnim načinom razmnožavanja tj. korišćenjem kombinovanog modela razmnožavanja. Testiranje individua pitomog kestena i masovno razmnožavanje testiranih selekcija unaprijedila bi se proizvodnja reproduktivnog materijala pitomog kestena potrebnog za osnivanje plantaža za proizvodnju plodova i u šumarskoj operativi za proizvodnju oblovine.

Heterovegetativno razmnožavanje selekcionisanih test stabala značajno je pri osnivanju klonskih zasada (klonski poljski testovi) u kojima se više godina prati i analizira međuklonska varijabilnost u dinamici rasta, plodonošenju i otpornostima na bolesti. Rezultati testiranja selekcionisanih individua su polazna osnova za masovnu proizvodnju sadnog materijala potrebnog za osnivanje namjenskih plantaža.

Generativnim razmnožavanjem selekcionisanih test stabla, u prvoj hibridnoj generaciji, dobija se različit sprektar varijabilnosti što za dalje oplemenjivanje pitomog kestena ima veliki značaj. Rekombinacijom i kombinacijom gena i slučajnom oplodnjom mogu se u potomstvu F_1 generacije javiti individue boljih osobina od matičnih stabala. Osnivanjem prvih poljski testova potomstva polusrodnika (*half-sib progeny test*) u kojima se višegodišnje proučava genetička varijabilnost, praćenje rasta, cvjetanja, otpornosti na bolest i sl, stvara se pouzdana osnova za sprovođenje kontrolisane hibridizacije ekstremnih genotipova i osnivanje pilot objekta od *full sib* potomstva.

Poznavanje genetičke varijabilnosti pitomog kestena može osigurati da se na području BiH donesu planovi za obnovu šuma pitomog kestena, njenu reintrodukciju, kao i očuvanje genetičke raznolikosti metodom *in situ.* Za održivost populacije *in situ* trebalo bi se uzeti u obzir činjenica da opstanak zavisi od osnovnih životnih faktora i od individue. Individua je nosilac genetskog izvora i treba voditi računa o sposobnosti individue da prenese genetski resurs na sljedeću generaciju. Zato je neophodno poznavati genetsku strukturu dobijenu uz pomoć genetičkih markera kao i osnovne ekološke faktore. Primarni populacijski genetski parametri mogu dati važne dokaze o adaptivnosti individue ili populacije, što se ogleda u podacima o genetskoj raznolikosti, efektivnom broju alela, broju alela, stepenu heterozigotnosti što je i dobijeno ovim istraživanjem.

Molekularna analiza genetske strukture šest prirodnih populacija pitomog kestena analizirana je pomoću 6 mikrosatelitskih genskih lokusa, pri analizi od 287 individua (48 individua za 5 populacija, 47 individua za jednu populaciju).

Analizom alelne raznolikosti vidi se da u posmatranim lokusima, preko 30 alela imaju populacija Bužim, Kostajnica i Konjic, a populacija Bratunac najmanji broj alela. Kad se analizira populacijska raznolikost, populacija Konjic ima najmanje prosječne vrijednosti. Vrlo bitno mjerilo genetske raznolikosti u populacijama je heterozigotnost koja označava broj heterozigota u istraživanoj populaciji. Stvarne heterozigotnosti su u skoro svim slučajevima veće od očekivane, sem populacije Kostajnica gdje su razlike minimalne, što ukazuje na odsustvo inbridinga ili su razlike minimalne. Fiksacijski indeks pokazuje negativne vrijednosti za pet populacija i male pozitivne vrijednosti za populaciju Kostajnica ali bez značajnijeg inbridinga u populaciji. Jedinstveni aleli nisu zabilježeni u populaciji Banja Luka i populaciji Prijedor dok su najviše zastupljeni u populaciji Bužim i populaciji Konjic. Populacijama s pojavom rijetkih alela prilikom obnove treba obratiti pažnju na strukturu mlade sastojine i omogućiti prenošenje rijetkih alela na sljedeću generaciju. Najveću genetsku diferencijaciju pokazuju populacija Konjic i Bratunac. U radu utvrđena je mala međupopulacijska u odnosu na unutarpopulacijsku raznolikost.

Na osnovu ovih podataka i sintezom rezultata mogu se donijeti odgovarajuće preporuke za očuvanje genetske, biološke raznovrsnosti populacija kao i same obnove populacija pitomog kestena.

Prilikom budućih aktivnosti, poseban naglasak treba staviti na populaciju "Konjic" koja pokazuje specifičnosti na osnovu morfoloških i genetskih istraživanja.

Za poboljšanje kvaliteta i zdravstvenog stanja sastojina pitomog kestena bilo bi neophodno provoditi šumsko-uzgojne mjere prorede i uklanjanja nekvalitetnih stabala kao i stabala koja su zaražena aktivnim rakom.

Veliki dio genetskog varijabiliteta i potencijala prirodnih populacija pitomog kestena trebalo bi ugraditi u antropogene populacije to jest u buduće plantaže i na taj način bi kesten postao pristupačniji za budući nučno-istraživački rad i korišćenje.

Na osnovu rezultata istraživanja može se zaključiti da i pored uskog i isprekidanog rasprostranjenja pitomog kestena u Bosni i Hercegovini, postoji visok stepen njegove genetske varijabilnosti u istraživanim populacijama što pokazuje da pitomi kesten posjeduje potencijal za uspješno gajenje na različitim staništima. Trenutno uzgojno stanje prirodnih populacija pitomog kestena je takvo da je njegova raznovrsnost i adaptibilnost ugrožena.

Proučavanje i unapređenje usmjerenog korišćenja bioekološkog potencijala pitomog kestena u prirodnim populacijama ove vrste u Bosni i Hercegovini, dijelom je realizovano u ovoj tezi. Obavljena istraživanja su neophodna, kako sa naučnog aspekta - u aktivnostima na izradi mreže banke gena drveća Evrope i očuvanja i usmjerenog korišćenja genofonda ove vrste metodama *in situ* i *ex situ* konzervacije tako i sa privrednog aspekta. Na osnovu rezultata istraživanja u ovoj tezi kao i valorizacije pitomog kestena u sklopu drugih opštekorisnih funkcija šuma, može se zaključiti da je neophodno i urgentno unapređenje povećanja površina pod kestenovim šumama u Bosni i Hercegovini.

Rezultati ovog rada su doprinos poboljšanja i revitalizacije stanja šuma pitomog kestena i prilog metodama rada pri budućem osnivanju namjenskih plantaža pitomog kestena. Dobijeni rezultati su osnova za dalje oplemenjivanje pitomog kestena, za podsticanje širenja areala pitomog kestena na površinama pogodnim za uzgoj ove vrste u Bosni i Hercegovini, kao i njegove valorizacije u sklopu opštekorisnih funkcija šuma.

Zbog aktuelnog stanja šuma pitomog kestena, neophodna je saradnja svih nivoa vlasti, naučne i šire društvene zajednice kako opstanak pitomog kestena ne bi bio ugrožen.

5.1. DALJI RAD NA OPLEMENJIVANJU PITOMOG KESTENA U BOSNI I HERCEGOVINI

Izraženi varijabilitet većeg broja morfoloških i genetsko-fizioloških svojstava pitomog kestena na prostoru Bosne i Hercegovine uslovljen je interakcijom genofonda njegovih populacija i opštim ekološkim odlikama područja gdje se on spontano javljaja u čistim i (ili) mješovitim populacijama. S obzirom na to, da se pitomi kesten odlikuje velikim individualnim i grupnim varijabilitetom, i da posjeduje unutarvrsne taksone - varijetete, biotipove i ekotipove, pristup u daljem radu na njegovom oplemenjivanju treba da bude multidisciplinaran i kompleksan. Zaštita i usmjereno korišćenje najvrijednijih genetičkih resursa pitomog kestena treba realizovati metodama konzervacione genetike i to:

- *in situ* - putem selekcije najboljih prirodnih populacija ove vrste kao i revizijom postojećih i izdvajanjem sjemenskih objekata, grupa i pojedinačnih stabala;
- *ex situ* – osnivanjem komparativnih međupopulacionih testova, živih arhiva, klonskih i generativnih sjemenskih plantaža.

Polazeći od sastojinskih prilika šuma u kojima se javlja pitomi kesten, kao i potreba šumarske struke i njegovog pomološkog potencijala dalji rad na oplemenjivanju pitomog kestena treba obavljati u dva smjera. Neophodno je nastaviti i osavremeniti aktivnosti u cilju poboljšanja stabilnosti, produktivnosti i genetskog bogatsva prirodnih populacija pitomog kestena uz istovremeno intenziviranje sintetskih metoda oplemenjivanja u cilju dobijanja novih genotipova i hibrida koji će biti bolji prema vrijednostima ciljnih karakteristika.

Prvom etapom rada, primjenom metode masovne selekcije, treba revidirati već izabrane i po potrebi izdvojiti nove populacije pitomog kestena tako da se obuhvati njegovo vertikalno i horizontalno rasprostranjenje u Bosni i Hercegovini.

Metodom individualne selekcije nastaviti izdvajanje većeg broja test stabala u selekcionisanim populacijama. Subpopulacije, treba testirati u mreži terenskih eksperimenata. Selekciju genotipova – test stabla – treba obaviti u svim regionima Bosne i Hercegovine kako bi se potpunije obuhvatile potencijalne vrijednosti njegove ekološke, cenološke i genetičke raznolikosti. U specijalizovanim kulturama i sjemenskim plantažama druge i narednih generacija, stvoriti uslove za višedecenijsku proizvodnju sortnog sjemena pitomog kestena.

Program osnivanja međupopulacionih testova pitomog kestena

Program osnivanja međupopulacionih testova kestena, koji obuhavata: *(a)* selekciju provenijencija koje će se testirati, *(b)* lokacije gdje će se testovi postavljati, i *(c)* izbor kontroln(ih)e populacije, treba da se bazira na već sprovedenim, i budućim višegodišnjim aktivnostima, kao što su:

- proučavanje klimatskih i edafskih sličnosti i razlika između oblasti koje pripadaju pojasu kestenovih šuma u izdvojenim regionima BiH;
- obavljanje bioloških i ekonomskih analiza šumskih zajednica pitomog kestena, posebno onih gdje je on dominantna vrsta, bez obzira na postajanje i stepen degradiranosti staništa i (ili) sastojina;
- primjena metoda klasične genetike i metoda molekularne genetike za otkrivanje i mjerenje genetičke varijabilnosti unutar i(ili) između, populacija i genotipova kestena;
- primjena masovne i individulne selekcije na kvantitativna i kvalitativna svojstva, u prirodnim populacijama kestena;
- permanentno praćenje, na populacionom i individualnom nivou, reproduktivnog ciklusa kestena u cilju preciznijeg upoznavanja gen-ekoloških interakcija koje utiču na redovnost, obilnost i kvalitet uroda;
- obezbjeđenje proizvodnje sjemena u velikim razmjerama, proizvodnji sadnica polu i punih srodnika, kalemova, reznica i ožiljenica s ciljem povećanja broja eksperimentalnih i proizvodnih sjemenskih plantaža pitomog kestena;

Višegodišnjim istraživanjima u populacionim testovima kestena, preciznije će se upoznati stepen genetičke determinacije proizvodnog potencijala pojedinih populacija, odnosno, dobiće se precizne informacije o karakteristikama i varijabilnosti kestena unutar i između izabranih populacija u mreži eksperimentalnih objekata u BiH. Boljim uvidom u genetski potencijal i stepen determinacije adaptivnosti, produktivnosti i kvaliteta različitih populacija kestena, dobiće se polazna osnova za rejonizaciju sjemenskih objekata na osnovama gen-ekoloških karakteristika.

Obavljena istraživanja, u mreži populacionih testova, imaju važnu ulogu za šumarsku struku jer olakšavaju izbor provenijencija ili grupe provenijencija, koje odgovaraju za pojedina staništa. Izborom i gajenjem reproduktivnog materijala pitomog kestena iz populacija gdje je upoznat raspon variranja adaptacionog i proizvodnog potencijala, obezbjediće se postavljeni ciljevi u planiranim radovima na područjima sa poznatim opštim ekološko-proizvodnim karakteristikama.

Rad na individualnom nivou oplemenjivanja pitomog kestena u prirodnim populacijama podrazumjeva selekciju najboljih sjemenskih stabala, a sprovođenjem postepene sječe

odstranjivanje negativnih stabla. Pri izboru test („plus“) - sjemenskih stabala treba obratiti pažnju na ove karakteristike:

- fenofazu listanja;
- dobar prirast;
- dobar oblik debla i krošnje;
- odsustvo usukanosti debla;
- ravno i monopodijalno deblo;
- mala sklonost ka obrazovanju vodenih izbojaka;
- otpornost na mraz;
- otpornost na bolesti i štetočine;

Primjenom navedenih metoda rada, selekcija će biti usmjerena u pozitivnom pravcu, na osnovu čega se u narednoj generaciji može očekivati izvjesno genetsko poboljšanje. Ako je roditeljska populacija fenotipski loša, tj. kada je visoka zastupljenost minus stabala, a mala ili nikakva zastupljenost nadprosječnih ili plus stabala, onda oplemenjivanje ovom metodom ne može dati pozitivne rezultate. Prilikom rada na dobijanju novih tipova i hibrida pitomog kestena oplemenjivanje će trajati duže, ali će zato genetska dobit biti veća.

Program osnivanja sjemenskih plantaža pitomog kestena

Pored očuvanja, testiranja i usmjerenog korišćenja genetskog potencijala pitomog kestena u prirodnim populacijama, na različitim staništima, osnivanjem namjenskih kultura – sjemenskih plantaža ove vrste obezbjeđuju se uslovi za:

- unapređenje proizvodnje selekcionisanog uroda;
- provjeru kombinatorne vrijednosti i nasljedljivosti selekcionisanih test stabala;
- upoznavanje veličine potencijalne promjenljivosti pitomog kestena unutar istog i različitih regiona provenijencija;
- testiranje i očuvanje biodiverziteta;
- proizvodnju perspektivnih hibrida.

Osnovne sukcesivne etape u modelu osnivanja, funkcionisanja i korišćenja generativne sjemenske plantaže za proizvodnju F1 generacije: *Castanea sativa* i recipročno prikazane su u shemi 1.

Sjemenske plantaže i pilot objekti, kao specijalizovane kulture, doprinjeće ne samo prevođenju potencijalne genetičke promjenljivosti u slobodnu, kao osnove usmjerenog korišćenja genofonda pitomog kestena, već i kao poligoni za testiranje i očuvanje njegovog biodiverziteta. Polazeći od florističkog, genetskog i proizvodnog potencijala pitomog kestena nije moguće osnivati sjemenske plantaže ove vrste, po jedinstvenom modelu. Izradom različitih modela klonskih i generativnih sjemenskih plantaža, omogućiće se pouzdanije

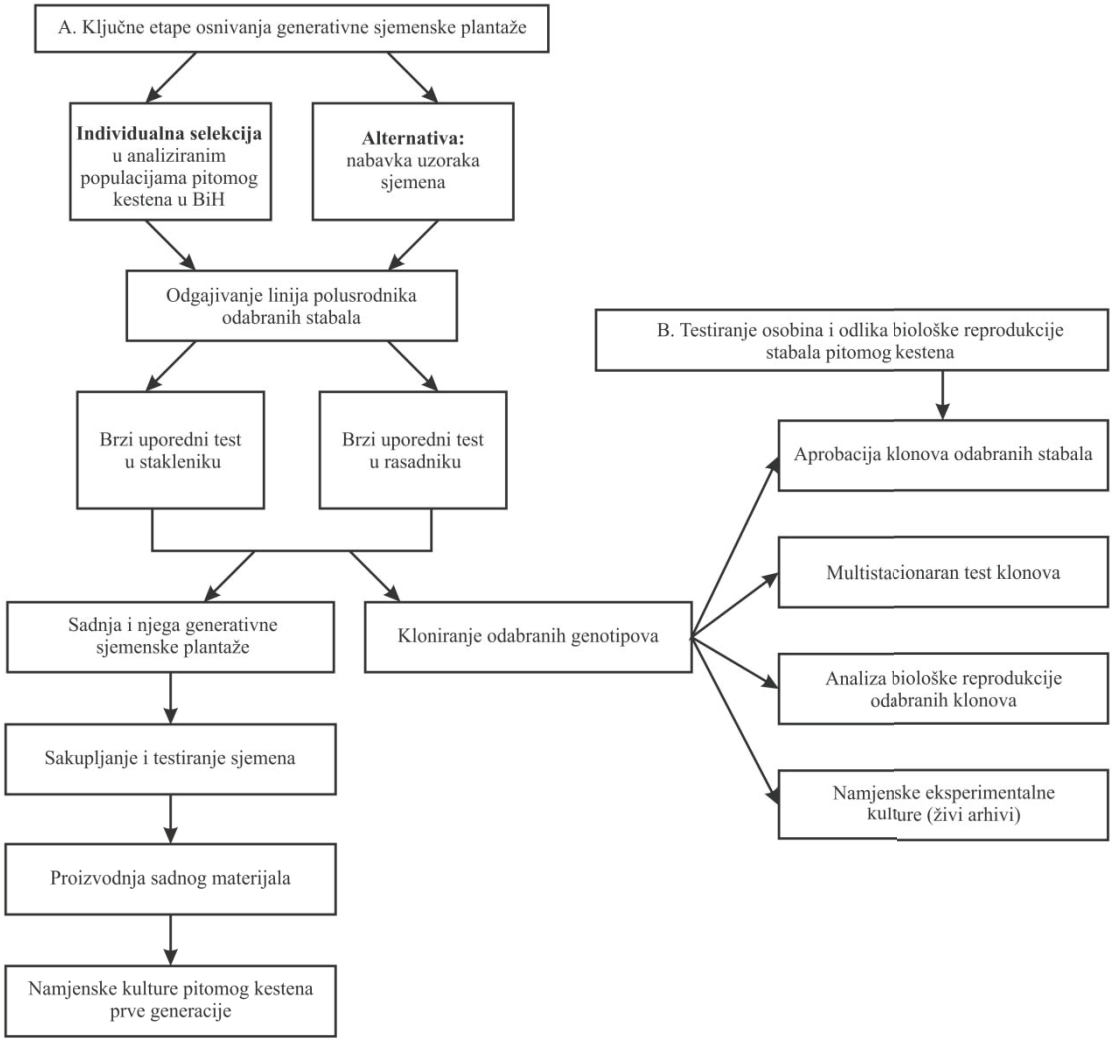
upoznavanje i usmjereno korišćenje nasljedne i kombinatorne vrijednosti selekcionisanih genotipova pitomog kestena. Kvalitet i redovnost uroda u klonskim sjemenskim plantažama prvenstveno je uslovljena genetskim potencijalom vegetativnih replika – rameta - selekcionisanih genotipova i ekološkim karakteristikama lokacija na kojima se one osnivaju. Selekciji genotipova, čije se vegetativne kopije ugrađuju u sjemensku plantažu, treba da prethode višegodišnje analize stepena genetske kontrole njihove reproduktivne funkcionalnosti i variranje svojstava, koja je potrebno kroz kvalitet uroda ugraditi u buduće generacije (ISAJEV ET AL. 2003). Primjenom kontrolisane hibridizacije i provjerom dobijenih hibrida putem testova potomstva pouzdanije će se utvrditi stepen nasljeđivanja svojstava na relaciji roditelji - hibridi. Ovim postupkom biće identifikovani potencijalno vrijedni genotipovi, koje treba kloniranjem fiksirati u sjemensku plantažu budućih generacija za proizvodnju perspektivnih hibrida.

Izbor roditeljskih individua, odnosno njihovih kombinacija, sa dobrom opštom i posebnom kombinatornom sposobnošću i nasljedljivošću polazna je osnova za podizanje klonskih sjemenskih plantaža za proizvodnju unutarvrsnih hibrida pitomog kestena. Na koju od genetskih kompozicija dobijenih hibrida će biti usmjeren dalji interes zavisiće prvenstveno od toga za kakve biotehničke uslove se stvara repromaterijal, kao i od zahtjeva tržišta. Navedeni činioci moraju se uzeti u obzir prilikom buduće masovne proizvodnje sjemena, tako da se već u inicijalnim fazama rada jasno planira kakav genotip sorte želimo stvoriti. Multilinijske sorte pitomog kestena koje će se dobiti kao rezultat kontrolisane hibridizacije i samog sastava sjemenske plantaže, po pravilu, treba da obezbjede veću stabilnost prinosa i adaptivnost.

Program daljeg oplemenjivanja pitomog kestena obuhvata održivo i usmjereno korišćenje genetske varijabilnosti stabala u cilju identifikacije i umnožavanja superiornih genotipova značajnih za šumarsku struku i pomologiju. U prirodnim populacijama ove vrste koje se gaje za potrebe industrijske prerade, i koje se genetički međusobno razlikuju, najviše se primjenjuju metodi višestruke selekcije. Genetska dobit će se postići u sjemenskim plantažama pri slobodnom oprašivanju dok će se značajni razultati postići primjenom unapređenih tehnika osnivanja i korišćenja klonskih sjemenskih plantaža i sjemenskih plantaža od linija punih srodnika, superiornih genotipova, sprovođenjem kontrolisane hibridizacije.

Primjena savremenih metoda biotehnologije, kao što su *molekularni markeri*, *somaklonalna varijabilnost*, *genetičko inženjerstvo*, *fuzija protoplasta*, *mikropropagacija* i druge, treba primjenjivati u daljim programima oplemenjivanja pitomog kestena, kako za potrebe industrije prerade drveta, pomologije tako i u druge svrhe.

Shema 1. Osnovne sukcesivne etape u modelu osnivanja, funkcionisanja i korišćenja sjemenske plantaže za proizvodnju F1 generacije: *Castanea sativa* Mill., recipročno



6. ZAKLJUČCI

Bliže upoznavanje biodiverziteta pitomog kestena, na ekološkom i genetičkom nivou, u populacijama na prostoru Bosne i Hercegovine, realizovano je kroz niz sukcesivnih i povezanih istraživanja. Na osnovu proučenog dijela ekološkog i genetskog diverziteta pitomog kestena, date su proporuke za usmjereno korišćenje ove vrste za potrebe šumarstva i voćarstva. Istraživanja su obavljena primjenom morfoloških, biohemijskih i genetičkih analiza na nivou selekcionisanih populacija i individua pitomog kestena sa teritorije Bosne i Hercegovine.

Na osnovu istraživanja u šest prirodnih populacija pitomog kestena na području sjeverozapadne, istočne i južne Bosne i Hercegovine mogu se izvesti sljedeći zaključci.

Na osnovu analize klimatskih prilika u području istraživanih populacija utvrđeno je da je klima perhumidnog karaktera u području Bužima i Konjica, a humidna u ostalim analiziranim lokalitetima.

Pedološkim analizama utvrđeni su tipovi zemljišta na oglednim površinama istraživanih populacija koji pripadaju skupini kiselih zemljišta (distrični kambisol i luvisoli), osim na jednoj sa eutričnim kambisolom (Konjic).

Fitocenologija šuma je interesantan i još nedovoljno riješen problem u Bosni i Hercegovini, ali i na cijelom arealu ove vrste. Istraživane populacije pripadaju uglavnom mezofilnim zajednicama.

Obavljenim istraživanjima za šest populacija pitomog kestena utvrđena je velika varijabilnost morfoloških svojstava lista na području BiH. Na osnovu opažanih osobina oblik osnove lista koji preovladava u istraživanim populacijama je srcolikog oblika. Najzastupljeniji oblik vrha lista je dugoušiljen vrh lista, dok dominira nazubljena margina lista u istraživanim prirodnim populacijama pitomog kestena.

Morfometrijskom analizom lista najmanje varijabilne osobine pokazale su se izvedene osobine, maksimalna širina lista/dužina lista i odnos dužina do maksimalne širine lista/ dužine lista, kao i kod mjerenih osobina broj nerava, dužina lista i maksimalna širina lista. Preko 30% koeficijent varijacije je iznosio za osobine dužina nenazubljenog dijela lista, dužina peteljke i odnost dužina peteljke/dužina lista. Analizom varijanse utvrđeno je da istraživane populacije na osnovu morfologije listova se statistički značajno razlikuju na nivou populacija i na nivou individua. Dvofaktorijalna analiza je pokazala da postoji statistički značajna razlika za sva mjerena svojstva za faktor populacija, faktor godina kao i za faktor

interakcije populacija i godina, što nam govori da su listovi pitomog kestena vrlo plastični i da varijabilnost listova je pod velikim uticajem djelovanja spoljašnjih faktora prvenstveno klimatskih faktora. Kod izvedenih obilježja ne postoji statistički značajna razlika za faktor godina, što znači da oblik lista ne zavisi od promjena dimenzija lista.

Multivarijantnom statističkom metodom - disktiminantnom analizom došlo je do razdvajanja stabala populacije Konjic, a na nivou populacija izdvojile su se populacija Konjic i Banjaluka. Primjenom klaster analize nije utvrđena prisutnost geografske povezanosti i izdiferenciranosti istraživanih populacija. Populacije se nasumično grupišu i njihov raspored je vjerovatno uslovljen mikroekološkim uslovima staništa.

Na osnovu ocjene habitusa i zastupljenosti svih tipova oblika krošnje u istraživanim populacijama možemo zaključiti da je habitus pitomog kestena dosta varijabilan i da je pod uticajem ekoloških uslova staništa, prvenstveno zaviseći od toga da li se stablo nalazi na ravnom ili nagnutom terenu te i od osvjetljenosti krune (uticaj sklopa).

U bosanskohercegovačkim populacijama pitomog kestena zastupljene su sve boje ploda (perikarpa) propisane UPOV metodom, a preovladava tipična smeđa boja kestena.

Na osnovu sprovedenih istraživanja ploda pitomog kestena, na osnovu analizirane mase i broja plodova po kilogramu, plodovi pitomog kestena spadaju u kategoriju sitan plod. Takođe na osnovu klasifikacije za širinu ploda, plodovi pitomog kestena spadaju u klasu mali plod. U svim istraživanim populacijama po obliku plodovi imaju veću širinu nego visinu ploda.

Morfometrijskom analizom morfoloških obilježja ploda visoki koeficijenti varijabilnosti dobijeni su za svojstvo masa ploda preko 30% dok najmanje varijabilne osobine pokazale su se širina ploda, dužina ploda i izvedene veličine, oblik ploda kao i odnos dužina hiluma/širina ploda. Na osnovu analize varijanse potvrđeno je prisustvo statistički značajnih razlika između populacija za sve analizirane osobine ploda, kao i da postoji unutarpopulaciona i međupopulaciona varijabilnost dimenzija plodova pitomog kestena. Dvofaktorijalna analiza pokazala je da postoje razlike između populacija kao i godina istraživanja za sva istraživana mjerena svojstva. Interakcija faktora populacija i godina takođe pokazuje razlike za mjerena svojstva ploda. Za izvedena svojstva ploda nisu se pokazale razlike po godinama istraživanja za odnose debljina ploda/širina ploda i dužina hiluma/ širina ploda. Za svojstvo oblik ploda nije utvrđena razlika za interakciju faktora populacija i godina.

Primjenom multivarijantnog statističkog metoda diskriminantne analize došlo je do razdvajanja stabala populacije Konjic, dok na nivou populacija izdvojile su se populacija Konjic i Banjaluka. Multivarijantnom klaster analizom došlo je do geografske izdiferenciranosti istraživanih populacija.

Na osnovu istraživanja kvantitativnih hemijskih svojstava ploda može se zaključiti da hemijski sastav ploda je pod velikim uticajem godine sakupljanja tj. sezonske varijabilnosti.

Kvalitet ploda pitomog kestena je praćen na osnovu vitaliteta i klijavosti sjemena (ploda), (indirektni i direktni metod). Najmanju tehničku klijavost kao i najmanji vitalitet ploda je imao plod iz populacije Bratunac i to u obje godine istraživanja. Sama geološka podloga i tip zemljišta imaju uticaj na loš kvalitet ploda iz bratunačke populacije. Utvrđen je visok procenat trulog sjemena gdje pored vremenskih prilika imao je i uticaj način sakupljanja plodova. Ispitivanjem vitaliteta ploda dobijeni su viši rezultati nego ispitivanjem klijavosti u obje godine istraživanja, a za oba metoda ustanovljen je niži kvalitet ploda. Uzrok lošeg kvaliteta ploda kao i razlike između populacija mogu biti rezultat genetske konstitucije individua kao i loše vremenske prilike u toku vegetacionog perioda.

Prilikom istraživanja molekularne analize korišćeno je sedam mikrosatelitnih lokusa (ICMA004, ICMA007, ICMA018, ICMA020, ICMA023, QrZAG7 , QpZAG15) od kojih šest su bili polimorfni, dok lokus QrZAG7 pokazao se kao monomorfan i nije korišćen u statističkoj obradi podataka.

Analiza genetičke varijabilnosti šest populacija pitomog kestena na osnovu šest SSR markera utvrdila je prisustvo od 49 alela sa prosječnim brojem alela po lokusu i populaciji 8,17. Najmanji prosječan broja alela je imala populacija Bratunac (4,00) dok najveći populacija Bužim (5,67).

Ukupno je zabilježeno 18 jedinstvenih alela (*Private alleles*) s tim da populacija Bužim je imala najviše detektovanih jedinstvenih alela (7), a kod populacija Prijedor i Banjaluka uopšte nije detektovano prisustvo jedinstvenih alela.

Postojanje nul-alela (*Null alleles*) ni u jednoj populaciji ni za jedan lokus nije utvrđeno.

Efektivni broj alela (*Effective alleles*) tj. velike vrijednosti genetičkog diverziteta pokazale su populacije Kostajnica i Bužim.

Sve istraživane populacije nalaze se u Hardy - Weinbergovoj ravnoteži.

Statistički signifikantne vrijednosti indeksa genetičke diferencijacije utvrđene su za sve parove populacija. Najveća vrijednost indeksa genetičke diferencijacije detektovana je između populacije Konjic i Bratunac (0,303), a najmanja između populacije Kostajnica i Bužim (0,095).

Ukupan (*global*) indeks genetičke diferencijacije za sve populacije i lokuse potvrdio je veliku genetičku diferencijaciju između analiziranih populacija.

Analiza molekularne varijanse (AMOVA) pokazala je da većina genetičke raznolikosti posljedica je razlika između jedinki unutar populacija, dok ostatak genetičke raznolikosti je posljedica razlika između populacija.

Najveće Nei genetičke distance zabilježene su kod populacija Konjic i Prijedor dok najmanja genetička distanca je između populacija Konjic i Banjaluka, što ukazuje na najveću genetičku sličnost ove dvije populacije.

Korelacija između prostornog rasporeda istraživanih populacija i njihovih Nei genetičkih distanci kao i njihovog indeksa genetičke diferencijacije analizirane pomoću Mantelovog testa pokazuje da ne postoji korelacija, što znači da prostorna udaljenost između istraživanih populacija ne utiče na njihovu genetičku diferencijaciju. Geografski faktori koji mogu da utiču na veću genetičku udaljenost populacija su razlike u nadmorskoj visini, prisustvo planinskih vjenaca kao i druge fizičke barijere što sve utiče na protok gena među populacijama.

Kod testiranja genetičkog uskog grla, pod pretpostavkom dvofaznog modela, populacija Kostajnica i Prijedor imaju značajan višak heterozigotnosti u odnosu na heterozigotnost populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka, što može biti posljedica uticaja ekološke niše.

Koordinatna analiza i klaster analiza su u skladu i odvajaju populacije Konjic i Banjaluka od populacija Bužim, Bratunac, Prijedor i Kostajnica.

Analiza populacijske strukture koja je provedena na šest prirodnih populacija kestena pri K=2, upućuje na postojanje dva genska skupa gdje populacija Konjic i Banjaluka pripadaju jednoj izvornoj populaciji, dok ostale istraživane populacije (Prijedor, Bužim, Bratunac) pripadaju drugoj izvornoj populaciji. Populacijska struktura pri K=6 upućuje na postojanje 6 genskih skupova gdje svaka populacija je jedinstvena ali u oba slučaja tj. individue populacija Kostajnica imaju mješovito porijeklo.

Na osnovu rezultata istraživanja morfoloških i genetičkih markera došlo je do izdvajanja populacija Konjic i Banjaluka. Konjic je geografski veoma udaljena populacija od populacije Banjaluka dok sa druge strane su genetski veoma slične. Rezultati nas navode na zaključak da populacija Banjaluka vodi porijeklo od stabala konjičke populacije ili obrnuto i širenja pod uticajem čovjeka. Takođe populacija Bratunac s obzirom na rezultate morfoloških i genetičkih markera kao populacija koja je izolovana i nepovezana sa arealom pitomog kestena navodi na zaključak da je možda alohtona. Buduća istraživanja treba usmjeriti ka navedenim populacijama pitomog kestena na osnovu kompleksnijih i višegodišnjih

istraživanja pomenutih karaktera koja bi trebala dati rezultate na osnovu kojih bi se moglo doći do sigurnijih zaključaka.

Usmjereno korišćenje potencijala pitomog kestena, na nivou selekcionisanih populacija i test stabala unutar postojećih sastojina u Bosni i Hercegovini, polazna je osnova za unapređenje proizvodnje sjemena, sadnog materijala i buduće biotehničke radove pri podizanju šuma ove vrste različitih namjena. Proizvodnjom sadnog materijala od sjemena poznatog porijekla i proučenih opštih ekoloških odlika populacija iz kojih ono potiče, ključna je osnova unapređenja podizanja stabilnih i produktivnih šuma i plantaža ove vrste.

Poznavanje genetičkog kvaliteta sadnog materijala i reakcije na faktore spoljašnje sredine, predstavlja osnovu razvoja strategije za uspješno podizanje i upravljanje podignutim plantažama pitomog kestena. Fiziološki procesi kao rezultat uticaja spoljašnje sredine i faktora nasljeđa su veoma kompleksni, a njihovo poznavanje i razumijevanje su neophodni u cilju predviđanja uspjeha podizanja šuma, odnosno preživljavanja i porasta sadnica pitomog kestena poslije sadnje. Poznavanjem reakcije fizioloških procesa i limitirajućih faktora spoljašnje sredine, može se, primjenom genetičko-selekcionih programa pristupiti proizvodnji sadnog materijala željenih i definisanih svojstava koji bi zahvaljujući svojim morfološkim, anatomskim i fiziološkim svojstvima mogao izdržati stresne faktore spoljašnje sredine.

7. LITERATURA

- AGARWAL, M., SHRIVASTAVA, N., PADH, H. (2008): Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences, Plant Cell Rep 27, p: 617-631.
- ALDHOUS, J.R., MASON, W.L. (1972): Nursery practice. For. Comm. Bull. 43. London: Her Majesty's Stationery Office, p:184.
- ALIZOTI, P.G., ARAVANOPOULOS, F.A. (2005): Genetic Variation of Fruit Traits in Hellenic Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) Populations: A First Assessment, Proc. IIIrd Intl. Chestnut Congress Eds.: C.G. Abreu, E. Rosa & A.A. Monteiro Acta Hort. 693, p: 413-420.
- ALVAREZ, J.B., MARTIN, M.A., MUNOZ, C., LOPEZ, S., MARTIN, L.M. (2005): Genetic variability of chestnut in Andalusia (Spain). Acta Hort. (ISHS) 693, p: 471-476.
- ALVAREZ-ALVAREZ, P., DIAZ-VARELA, E., CAMARA-OBREGON, A., AFIF-KHOURI, E. (2010): Relating growth and nutrition to site factors in young chestnut plantations established on agricultural and forest land in northern Spain. Agroforestry Systems 79(3), p: 291-301.
- ANDERSON, J.T., PANETTA, A.M., MITCHELL–OLDS, T. (2012): Evolutionary and ecological responses to anthropogenic climate change: Update on anthropogenic climate change. Plan Physiol., 160, p: 1728–1740.
- ANĐELKOVIĆ, M., STAMENKOVIĆ-RADAK, M. (2013): Geni u populacijama, Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet, Beograd, p:1-444.
- ANIĆ, M. (1940): Pitomi kesten u Zagrebačkoj gori, Glas. šum. pokuse 7, p:103-113.
- ANIĆ, M. (1942): O rasprostranjenosti evropskog pitomog kestena s osobitim obzirom na nezavisnu državu Hrvatsku i susjedne zemlje, Tiskara C. Albrecht (P. Acinger), Zagreb, p:142.
- ARAVANOPOULOS, F.A., BUCCI, G., AKKAK, A., BLANCO SILVA, R., BOTTA, R., BUCK, E., CHERUBINI, M., DROUZAS, A.D., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., MATTIONI, C., MARINONI, D., PAPADIMA, A., RUSSELL, K., ZAS, R. AND VILLANI, F. (2005): Molecular population genetics and dynamics of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Europe: Inferences for gene conservation and tree improvement. Acta. Hort. (ISHS) 693:403-412
- ARAVANOPOULOS, F.A., DROUZAS, A.D., ALIZOTI, P.G. (2001b): Electrophoretic and quantitative variation in chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Hellenic populations in old-growth natural and coppice stands, For. Snow Landsc. Res., 76 (3), p: 429–434.

- ARRIGONI, P.V., VICIANI, D. (2001): Structural and phytosociological features of the Tuscan chestnut woods. Parlatorea v , p: 55-99.
- ARRIGONI, P.V., TOMMASO, P.L., CAMARDA, I., SATTA, V. (1996): The vegetation of the «Uatzo» regional forest (central Sardinia). Parlatorea, p: 61-72.
- ATEFE, K., ABKENAR, K., JAVADA, T. (2015): Variations in Leaf and Fruit Morphological Traits of Sweet Chestnut (*Castanea sativa*) in Hyrcanian Forest, Iran, International Journal of Plant Science and Ecology, Vol. 1, No 4. p: 155-161.
- ATES, S., AKYILDIZ, M.H., OZDEMIR, H., GUMUSKAYA, E. (2010): Technological and chemical properties of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) wood after heat treatment. Romanian Biotechnological Letters 15(1), p: 4949-4958.
- AYFER, A., SOYLU, A. (1993): Selection of chestnut cultivars (*Castanea sativa* Mill.) in Marmara region of Turkey. In: Proceedings of the International Congress on chestnut Spoleto, Italija, 20-23. octobar, Perugia, p: 285-289.
- BALLIAN, D., HAJRUDINOVIĆ, A., FRANJIĆ, J., BOGUNIĆ, F. (2014): Morfološka varijabilnost lista makednoskog hrasta (*Quercus trojana* Webb.) u Bosni i Hercegovini i Crnoj Gori, Šumarski list, 3-4, p: 135-144.
- BARREIRA, J., CASAL, S., FERREIRA, I., OLIVEIRA, M. B., PEREIRA, J.A. (2009): Nutritional, Fatty Acid and Triacylglycerol Profiles of *Castanea sativa* Mill. Cultivars: A Compositional and Chemometric Approach. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57(7), p: 2836-2842.
- BARREIRA, J.C.M., CASAL, S., FERREIRA, I.C.F.R., PERES, A.M., PEREIRA, J.A., OLIVEIRA, M.B.P.P. (2012): Chemical characterization of chestnut cultivars from three consecutive years: chemometrics and contributionfor authentication. Food Chem Toxicol. 50, p:2311–2317.htt p://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.04.008
- BARRENECHE, T., BODENES, C., LEXER, C., TRONTIN, J.F., FLUCH, S., STREIFF, R., PLOMION, C., ROUSSEL, G., STEINKELLNER, H., BURG, K., FAVRE, J.M., GLOSSI, J., KREMER, A. (1998): A genetic linkage map od *Quercus robur* L. (*Pedunculate oak*) based on RAPD, SCAR, microsatelite, minisatelite, isozyme and 5S rDNA markers. Theor. Appll. Genet. 97:1090-1103.
- BASSI, D., MARANGONI, B. (1984): Contributo allo studio varietale del castanago da fruto (*Castanea sativa* Mill.), Caratteri biometrici e analisi chemico-fisiche dei frutti, Rivisita di frutticoltura 6, p: 43-46.

- BELAJ, A., CIPRIANI, G., TESTOLINI, R., RALLO, L., TRUJILLO, I. (2004): Characterization and identification of the main Spanish and Italian olive cultivars by simple-sequence-repeat markers. Hort. Science 39, p: 1557–1561.
- BELLINI, E. (2005): The chestnut and its resources: Images and considerations. Acta Hort. 693 p: 85-92.
- BELLINI, E., GIORDANI, E., MARINELLI, C. (2009): Marrone del mugello pgi tradition and quality. Laboratorio chimico merceologico, Firenza.
- BELLINI, E., GIORDANI, E., MARINELLI, C., PERUCCA, B. (2005): Marrone del mugello, p.g.i. chestnut nutritional and organoleptic quality. Acta Hortic. 693 p:97–102. htt p://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.693.9
- BENNETT, K.D., TZEDAKIS, P.C., WILLESK, K.J. (1991): Quaternary refugia of the North Europens trees. Juornal of Biogeography18, p:103-115.
- BOCCACCI, P., AKKAK, A., MARINONI, D. T., BOUNOUS, G., BOTTA, R. (2004): Typing European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivars using oak simple sequence repeat markers. Hort. Science 39 (6), p: 1212–1216.
- BOGDAN, S. (2016): Genetska raznolikost hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u pokusnim nasadima s potomstvom iz odabranih sjemenskih sastojina, Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, p: 1-266.
- BOLVANSKY, M., MENDEL, M.L. (2001): Seasonal variation in quantitative traits of fruits in chestnut progenies of different origin. Folia Oecol 28, p: 33-42.
- BOLVANSKÝ, M., UŽIK, M. (2003): Phenotypic variation of nut characteristics in half-sib families of European chestnut (*Castanea sativa*). Biol. Bratislava 58 (Supl. 12):27-34.
- BOLVANSKÝ, M., UŽIK, M. (2005): Morphometric variation and differenation of European chestnut (*Castanea sativa*.) in Slovakia, Biologia (Bratislava) 60 (4), p:423-429.
- BORGES, O., GONÇALVES, B., DE CARVALHO, J.L.S., CORREIA, P., SILVA, A.P. (2008): Nutritional quality of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivars from Portugal, Food Chem. 106 (2008), p: 976-984.
- BORGES, O.P., CARVALHO, J.S., CORREIA, P.R., SILVA A.P. (2006): Lipid and fatty acid profiles of *Castanea sativa* Mill. Chestnuts of 17 native Portuguese cultivars, Journal of Food Composition and Analysis, p:1-10.
- BORGHETTI, M., MENOZZI, P., VENDRAMIN, G., GIANNINI, R. (1986): Morphological Variation in Chetnut Fruits (*Castanea sativa* Mill.) in Tuscany (Italy), Silvae Genetica 35, (2-3), p:124-128.

- BOTTA, R., AKKAK, A., GUARALDO, P., BOUNOUS, G. (2005): Genetic characterization and nut quality of chestnut cultivars from Piemont (Italy). U: C. G. Abreu i dr. (ur.), Proceedings of the Third international chestnut congress. Acta Hort. 693, p: 395–401.
- BOTTA, R., AKKAK, A., MARINONI, D., BOUNOUS, G., KAMPFER, S., STEINKELLNER, H., LEXER, C. (1999): Evaluation of microsatellite markers for characterizing chestnut cultivars. Acta Hort. 494, p: 277–282.
- BOTTA, R., MARINONI, D., BECCARO, G., AKKAK, A., BOUNOUS, G. (2001): Development of a DNA typing technique for the genetic certifi cation of chestnut cultivars. For. Snow Landsc. Res. 76, p: 425–428.
- BOTU, M., ACHIM, G., TURCU, E. (1999): Evulation of some chestnut selections from the population formed into ecological conditions from the north-east of Oltenia. Acta Hort. 494, p:77-83.
- BOUNOUS, G. (2002): Il castagno. Coltura, ambiente ed utilizzazioni in Italia e nel mondo. Edagricole, Bologna, Italia. ISBN: 88-506-4592-9. p:311.
- BOUNOUS, G. (2009): Sustainble manegment of the chestnut plantations to obtain quality produce. Acta Hort. 815, p:19-24.
- BOWCOCK, A.M. RUIZ-LINARES, A., TOMFOHRDE, J., MINCH, E., KIDD, J.R., CAVALLI-SFORZA, L.L. (1994): High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. Nature 368, p: 455–457.
- BRAGANÇA, H., SIMÕES, S., ONOFRE, N., TENREIRO, R., RIGLING, D. (2007): *Cryphonectria parasitica* in Portugal: diversty of vegatative compability types, mating types, and occurrence of hypovirulence. For. Path. 37, p:391-402.
- BREISCH, H. (1995): Chataignes et marrons. CTIFL. Paris, ISBN : 2-87911-050-5.
- BRIGHENTI, F., CAMPAGNOLO, M., BASSI, D. (1998): Biochemical characterization of the seed in instinct chestnut genotypes (*C. sativa*). In: International Symposium on Chestnut, 2., Bordeaux. *Proceedings,* Bordeaux, France.
- BROOKFIELD, J.F.Y. (1996): A simple new method for estimating null allele frequencey from heterozigote deficiency, Mol Ecol 5. p: 453-455.
- BRUS, R., BALLIAN, D., ZHELEV, P., PANDŽA, M., BOBINAC, M., ACEVSKI, J., RAFT OYANNIS, Y., JARNI, K., (2011): Absence of geographical structure of morphological variation in *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* in the Balkan Peninsula, Europ. J. Forest. Res., 130: 657–670.
- BUBIĆ, Š. (1977): Specijalno voćarstvo. Svjetlost Sarajevo, p. 570-575.

- BUCK, E. J., HADONOU, M., JAMES, J., BLAKESLEY, D., RUSSELL, K. (2003): Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in European chestnut (*Castanea sativa* Mill.). Mol. Ecol. Notes 3: 239–241.
- CAMUS, A. (1929): Les chataigniers. Monographie des genres *Castanea* et *Castanopisis*. Encycl. Econ. Sylvic 3 p: 1-604.
- CANAS, S., CALDEIRA, I., BELCHIOR, A.P. (2009): Comparison of alternative systems for the ageing of wine brandy. Wood shape and wood botanical species effect. Ciencia E Tecnica Vitivinicola 24(2), p: 91-99.
- CANTINI, C., AUTINO, A. (2010): Genetic characterization of Tuscan chestnut germplasm: genetic and genotypic variation among populations of three diff erent areas. Acta Hort. 866, p: 233–238.
- CASASOLI, M., MATTIONI, C., CHERRUBINI, M., VILLANI, F. (2001): A genetic linkage map od European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) baed on RAPD, ISSR and isozyme markers, Theoretical and Applied Genetics, Volume 102, Issue 8. p: 1190-1199.
- CASINI, E., ALESSANDRI, S., CAIVELLI, S. (1993): Quantitative description of chestnut (*Castanea sativa*) accessions, selected from a population grown in Florence province (Mugello zone). In: Proceedings of the International Congress on Chestnut. Spoleto, Italy, 20–23 October 1993. Perugia, Istituto di Coltivazioni Arboree, University of Perugia, p: 347–350.
- CLAIR, B., RUELLE, J., THIBAUT, B. (2003): Relationship between growth stress, mechanical-physical properties and proportion of fibre with gelatinous layer in chestnut (*Castanea sativa* Mill.). Holzforschung 57(2), p: 189-195.
- CONEDERA, M., KREBS, P., TINNER, W., PRADELLA, M., TORRIANI, D. (2004): The cultivation of *Castanea sativa* (Mill.) in Europe, from its origin to its diffusion on a continental scale. Veget Hist Archaeobot. 13, p:161-179.
- CONEDERA, M., MÜLLER-STARCK, G., FINESCHI, S. (1994): Genetic characterization of cultivated varieties of European Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Southern Switzerland. I. Inventory of chestnut varieties: history and perspectives. U: E. Antognozzi (ur.), Procedings of the International Congress on Chestnut, 20–23 October 1993, Spoleto, Italy, 299–302.
- CONEDERA, M., MANETTI, M.C., GIUDICI, F., AMORINI, E. (2004): Distribution and economic potential of the Sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Europe. Ecol. Med. 30, 179-193.

- CONEDERA, M., STANGA, P., OESTER, B., BACHMANN, P. (2001): Different post-culture dynamics in abandoned chestnut orchads and coppices. Forest snow and landscape research 7,6 p:487-492.
- COSTA, R., RIBERIO, C., VALDIVIESSO, T., COSTA, R.S.A. (2008): Variedades de Castanha das Regiões Centro e Norte de Portugal. Projecto Agro 448 Variedades, TécnicaEdiçãoInstituto Nacional dos Recursos Biológicos, Lisaboa, p: 1-79.
- COSTA, R., VALDIVIESSO, T., MARUM, L., FONSECA, L., BORGES, O., SOEIRO, J. (2005): Characterization of traditional Portugese chestnut cultivars by nuclear SSRs. Acta Hort. 693, p: 437–440.
- CVJETIĆANIN, R., BRUJIĆ, J., PEROVIĆ, M., STUPAR, V. (2016): Dendrologija, Univerzitet u Beogradu, Šumarski fakultet, p: 308-309.
- ČORTAN, D. (2015): Procena varijabilnosti prirodnih populacija crne topole (*Populus nigra* L.) na području Vojvodine primjenom genetičkih markera, Doktorska disertacija, Šumarski fakultet Univerzitet u Beogradu, p:1-218.
- ĆOPIĆ, M. (2014): Organogeneza muškog gametofita pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u regionu Potkozarje, Magistarski rad, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjoj Luci.
- DANE, F., LANG, P., HUANG, H., FU, Y. (2003): Intercontinental genetic divergence of *Castanea* speciesin estern Asia and etern North America, Heredity 91, p:314-321.
- DANIČIĆ, V., ISAJEV, V., MATARUGA, M. (2008): Hemisjki sastav ploda pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill) na području BiH, Glasnik Šumarskog fakulteta u Banjoj Luci , No. 9, pp. 41-46.
- DE MARTONNE E. (1926a): L'indice d'aridité. Bulletin de l'Association des géographes français 9, p: 3-5.
- DE VASCONCELOS, M.D.B.M., BENNETT, R.N., ROSA, E.A.S., FERREIRA-CARDOSO, J.V. (2010b): Composition of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and association with health effects: fresh and processed products. Journal of the Science of Food and Agriculture 90(10), p: 1578-1589.
- DE VASCONCELOS, M.D.B.M., BENNETT, R.N., ROSA, E.A.S., FERREIRA-CARDOSO, J.V. (2010c). Composition of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and association with health effects: fresh and processed products. Journal of the Science of Food and Agriculture 90(10), p: 1578-1589.
- DE VASCONCELOS, M.D.B.M., BENNETT, R.N., ROSA, E.A.S., FERREIRA-CARDOSO, J.V. (2009): Industrial processing effects on chestnut fruits (*Castanea sativa* Mill.). 2.

Crude protein, free amino acids and phenolic phytochemicals International Journal of Food Science and Technology 44(12), p:2613-2619.

- DE VASCONCELOS, M.D.B.M., NUNEZ, F., VIGUERA, C.G., BENNETT, R.N., ROSA, E.A.S., FERREIRA-CARDOSO, J.V. (2010a): Industrial processing effects on chestnut fruits (*Castanea sativa* Mill.). 3. Minerals, free sugars, carotenoids and antioxidant vitamins. International Journal of Food Science and Technology 45(3), p: 495-505.
- DEMIATE, I.M., OETTERER, M., WOSIACKI, G. (2001): Characterization of chestnut (*Castanea sativa*) starch for industrial utilization. *Braz. Arch Biol. Techn.,* 44.p: 69-78
- DESMAISON, A., ADRIAN, J. (1986): La place de la chataigne en alimentation. Medicine et Nutrition 22 (3), p:174-180.
- DI RIENZO, A., PETERSON, A.C., GARZA, J.C., VALDES, A.M., SLATKIN, M., FREIMER, N.B. (1994): Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. USA. Proc. Nati. Acad. Sci., 91. p: 3166-3170.
- DIMITROVA, V., APOSTOLOVA-STOYANOVA, N., LYUBENOVA, M., ČIPEV, N. (2005): Syntaxonomic analasys of sweet chestnut forests growing on the north Slopes of Belasitza mountain.
- DINIĆ, A., MIŠIĆ, V., JOVANOVIĆ, V., KALINIĆ, M. (1998): Šuma pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u okolici Vranja, njen značaj i zaštita. Zaštita prirode 50, Beograd, p: 341-345.
- DOW, B.D., ASHLEY, M.V. (1996): Microsatelite analysisof seed dispersal and parentage of saplings in bur oak Quercus macrocarpa. Mol.Ecol 5, p:615-627.
- DUKIĆ, D. (1988): Klimatologija, Geografski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd.
- DUMOLIN, S., DEMESURE, B., PETIT, R.J. (1995): Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomesin *Pedunculate oak* investigated with an efficient PCR-based method. Theoretical Applied Genetics 91, p:1253-1256.
- EARL, D.A., VON HOLDT, B.M. (2012): STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources vol. 4 (2) p. 359-361, from http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/
- ELLEGREN, H. (2004): Microsatellites: simple sequences with complex evolution. Nature Reviews Genetics, 5(6): 435-45.
- ENSMINGER, A.H., ENSMINGER, M.E., KONLANDE, J.E., ROBSON, J.R.K. (1995): The Concise Encyclopedia of foods and Nutrition, second edition CRC Press, BocaRaton.

- ERIKSSON, G. (2004): Evolution and evolutionay fators, adaptation and adaptability, Conservation and Management of Forest Genetic Resources in Europe, Arbor Publisheres, Zvolen, p:199-211.
- ERIKSSON, G., (2001): Conservation of noble hardwoods in Europe, Can. Jour. Fore. Res., 31 (4), p:577-587.
- ERTAN, E. (2007): Variability in leaf and fruit morphology and in fruit composition of chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) in the Nazilli region of Turkey, Genet. Resours Crop Evol 54, Springer, p: 691-699.
- ERTAN, E., SEFERO, G., DALKILIÇ, G.G., TEKINTAŞ, F.E. (2007): Selection of chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) grown in Nazilli District, Turkey. Turk J Agric For 31, p: 115-123.
- ERTÜRK, Ü., MERT, C., SOYLU, A. (2006): Chemical composition of fruits of some important chestnut cultivars. Brazilian Archives of Biology and Technology 49(2), p: 183-188.
- EVANNO, G. REGNAUT, S., GOUDET, J. (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Moecularl Ecology, 14, p: 2611-2620.
- EVERARD, J., CHRISTIE, J.M. (1995): Sweet Chestnut - Silviculture, Timber Quality and Yield in the Forest of Dean. Forestry 68(2), p: 133-144.
- EXCOFFIER, L., LISCHER, H.E.L. (2010): Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs toperform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources 10, p: 564-567.
- FAN, H., CHU, J.Y. (2007): A brief review of short tandem repeat mutation. Genomics Proteomics Bioinformatics, 5, p: 7-14.
- FAO - CORPORATE DOCUMENT REPOSITORY Food and agriculture organisation of the United Nations, Rim. http://www.fao.org.
- FARKAS, D.H. (1993): Establishing a molecular Biology and Pathology, A Guide Book for Quality control, Academic Press San Diego, p:1-38.
- FERNANDEZ-LOPEZ, J., ALIA, R. (2003): Technical Guidelines for genetic conservtion and usefor chestnut (*Castanea sativa*). EUFORGEN International Plant Geneic Resources Institute, Rome, Italy, p: 6.
- FERRINI, F., NICESE, F.P. (1999): The European chestnut. In: "EC project GENRES 29: Conservation, evaluation, exploitation and collection of minor fruit tree species", http://www.unifi.it/project/ueresgen29.

- FIELDING, H.A. (2007): Cluster and Classification Techniques for the Biosciences, Cambridge and New York, Cambridge University, p: 1-246.
- FINESCHI, S., MALVOLTI, M.E. (1991): Genetic conservation and genetic resources in chestnut (*Castanea sativa* Mill.) In: G. Muller-Starck and M. Ziehe (eds), Genetic variation in European Populations of Forest Trees, Sauerlaenderss Verrlag, Frankfurt am Main, p: 181-189.
- FINESCHI, S., TAURCHINI, D., MÜLLER-STARCK, G., CONEDERA, M. (1994): Genetic characterization of cultivated varieties of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Southern Switzerland. III. Analysis of RAPD's molecular markers. U: E. Antognozzi (ur.), Proceedings of the International Congress on Chestnut, 20–23 October 1993, Spoleto, Italy,p: 303–307.
- FINESCHI, S., TAURCHINI, D., VILLANI, F., VENDRAMIN, G. (2000): Chloroplast DNA polymorphisam reveals little geographical structure in *Castanea sativa* Mill. (*Fagaceae*) throught southern Europen countries, Molecular Ecology 9, p: 1495-1503.
- FONTI, P., MACCHIONI, N., THIBAUT, B. (2002): Ring shake in chestnut (*Castanea sativa* Mill.): State of the art. Annals Of Forest Science 59(2), p: 129-140.
- FURONEZ-PÉREZ, P., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. (2008): Uefulness of 13 morphological characteristics fo sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) for use in the DUS test. Eyphytica, DOI 10.1007/s10681-008-9848-5.
- FURONEZ-PÉREZ, P.,FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. (2009): Morphological and phenological destription of 38 sweet chetnut cultivars (*Castanea sativa* Miller) in a contemporary collection. Spanish Jurnal of Agricultutal Research 7 (4), p:829-843.
- GANIATSAS, K. (1939): Botanic investigation in Vermion Mt. (in Greek). Scientific yearbook of Physic and mathematic departure of Aristotelian University of Thessaloniki, Thessaloniki.
- GANIATSAS, K. (1963): Vegetation and folra of Athos Peninsula (in Greek), Athonidiki Politia, Thessaloniki, p:509-678.
- GALDERISI, U., CIPOLLARO, M., DIBERNARDO, C., DEMASI, L., GALANO, L., CASCINO, A. (1998): Molecular typing of Italian sweet chestnut cultivars by Random Amplifi ed Polymorphic DNA analysis. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 73 (2), p: 259–263.
- GALLARDO, J.F., RICO, M., GONZALEZ M.I., (2000): Some ecological aspects of a chestnut coppice located at the Sierra de Gata mountains (Western Spain) and its relationship with a sustainable management. Ecologia Mediteranea 26, ½, p: 53-69.

- GAMISANS, J., HEBRARD, J.P. (1979): A propos de la végétation des forêts d'Epire et de Macédoine grecque occidentale. Doc. Phytosoc.4, p: 289–341.
- GAMISANS, J., HEBRARD, J.P. (1980): A propos de la végétation des forêts en Grece du nord-est (Macédoine orientale et Thrace occidentale).*Doc. Phytosoc.*5, p: 243–289.
- GARCIA-VALLVE, S., PUIGBO, P. (2002): DendroUPGMA: a dendrogram construction utility, Biochemistry and Biotechnology Department, Universitat Rovira i Virgili (URV), Taragona. Spanin. http://genomes.urv.es/UPGMA/.
- GIANNINI, R., ROSSI, P., VENDRAMIN, G.G. (1993): Allozime variation within and among „marrone fiorentino" cultivated varieties. Proceedings of the International congres on chestnut, Spoleto, Italy, 20-23 October 1993. Perugia, Instito di Coltivazioni Arboree, University of Perugi, p: 327-330.
- GLIŠIĆ, M. (1954): Prilog poznavanju fitocenoza pitomog kestena i bukve u Bosni. Šumarstvo II, 7(3), 162–174.
- GLIŠIĆ, M. (1969): Pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill.) u Srbiji i njegov biološki i ekološki varijabilitet, Doktorska disertacija, Beograd, p:1-262
- GLIŠIĆ, M. (1975): Pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill.) u Srbiji i njegov biološki i ekološki varijabilitet, Institut za šumarstvo i drvnu industriju, Posebno izdanje 36, Beograd, p:1-208.
- GOBBIN, D., HOHL, L., CONZA, L., JERMINI, M., GESSLER, C., CONEDERA, M. (2007): Microsatellite-based characterization of the *Castanea sativa* cultivar heritage of southern Switzerland. Genome 50, p: 1089–1103.
- GOMEZ, A., PINTOS, B., AGUIRIANO, E., MANYANERA, J.A., BUENO, M.A. (2001): SSR markers for *Quecus suber* tree indetification and embrio analysis. J. Hered. 92, p:292-252.
- GONDARD, H., ROMANE, F., (2005): Long-term evolution of understorey plant species composition affter logging in chestnut coppice stands (Cevennes Mountains, Southern France). Annales for Forest Science 62, p: 333-342.
- GONDARD, H., ROMANE, F., SANTA REGINA, I., LEONARDI, S. (2006): Forest management and plant species diversity in chestnut stands of three Mediterranean Areas. Biodiversity and conservation 15, p: 1129-1142.
- GOUDET, J. (2001): FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (Version 2.9.3). http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html.
- GOUDET, J. (2002): FSTAT (version 2.9.3.2) Institute of Ecology, UNIL, Lausanne, Switzerland.

- GOULAO, L., VALDIVIESSO, T., SANTANA, C., MONIZ OLIVEIRA, C. (2001): Comparison between phenetic characterization using RAPD and ISSR markers and phenotypic data of cultivated chestnut (*Castanea sativa* Mill.). Genetic Resources and Crop Evolution 48, p: 329–338.
- GRADEČKI, M., POŠTENJAK, K., CRNKOVIĆ, S. (2006): Istraživanje kvalitativnih svojstava ploda, Rad. Šumarski inst. Izvanredno izdanje 9, Jasterbasko, p: 307-318.
- GRISEBACH, A. (1841): Reise durch Rumelien und nach Brussa im Jahre 1839. Göttingen.
- GUICHOUX, E., LAGACHE, L., WAGNER, S., CHAUMEIL, P., LÉGER, P., LEPAIS, O., LEPOITTEVIN, C., MALAUSA, T., REVARDEL, E., SALIN, F., PETIT, R.J. (2011): Current trends in microsatellite genotyping. Molecular Ecology Resources, 11, p: 591-611.
- GUILLOT, G., LEBLOIS, R., COULON, A., FRANTZ, A.C. (2009): Statistical methods in spatial genetics. Molecular Ecology, 18, p: 4734–4756.
- GUNDUZ, G., AYDEMIR, D., KAYGIN, B., AYTEKIN, A. (2009): The effect of treatment time on dimensionally stability, moisture content and mechanical properties of heat treated Anatolian chestnut (*Castanea Sativa* Mill.) wood. Wood Research 54(2), p: 117-126.
- HADROVIĆ, H. (1981): Gajenje pitomog kestena, Nolit, Beograd, p:1-58.
- HADŽISELIMOVIĆ, R. (2005): Bioantropologija – Biodiverzitet recentnog čovjeka, Institut za genetičko inžinjerstvo i biotehnologiju. Sarajevo, 2005.
- HADŽIVUKOVIĆ, S. (1989): Statistički metodi, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- HADŽIVUKOVIĆ, S. (1991): Statistički metodi, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- HALAMBEK, M. (1988): Istraživanja virulentne gljive Endothia parasitica (Murr) And. uzročnika raka kore pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill). Doktorska disertacija. Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- HALLDÉN, C., HANSEN, M., NILSSON, N.-O., HJERDIN, A. AND SÄLL, T. (1996): Competition as a source of errors in RAPD analysis. Theor Appl Genet 93, p: 1185-1192.
- HALTOFOVA, P., JANKOVSKY, L. (2003): Distribution of sweet chestnut *Castanea sativa* in the Czech Republic. Journal of Forest Science (Prague). 49 (6), p: 259-272.
- HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., RYAN, P.D. (2001): PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica 4(1): 9pp.http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.
- HARDMAN, E.W. (2002): Omega-3 fatty acids to augment cancer therapy. Journal of Nutrition 132, p: 3508–3512.

- HEINIGER, U., RIGLING, D. (1994): Biological control of chestnuts blight in Europe. Annual Review of Phytopathology 32, p: 581-599.
- HENNION, B. (2009): Avanzato (ur.), Following chestnut footprints (*Castanea* spp)- Cultivation and culture, folklore and history, traditions and use. Scripta Hortic. 9, p:44-47.
- HEWITT, W.M. (1996): Some genetic consequences of ice age and their role in divergence and speciation. Biological Jurnal of the Linnean Society 58, p:247-246.
- HEYWOOD, J.S. (1991): Spatial analysis of genetic variation in plant populations. Annu. Rev.Ecol. Syst., 22, p: 335-55.
- HOFFMANN, A.A., WOODS, R.E. (2001): Trait variability and stress: canalisation developmental stability and the need for a broad approach. *Ecol Lett.,* 4, p: 97–101.
- HORVAT, I. (1938): Biljnosociološka istraživanja šuma u Hrvatskoj. Glas. šum. pokuse 6, p:127-279.
- HORVAT, I., GLAVAČ, V., ELLENBERG, H. (1974): Vegetation Südosteuropas. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, p: 600.
- HOLSINGER, K.E., WEIR, B.S. (2009): Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F(ST). Nat rev Genet 10 (9), p: 639-650.
- HOWELL, C.R. (2003): Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Pland Dis. 87, p: 4-10.
- HOZOVA, L., JANKOVSKAY, L., AKKAK, A., TORELLO-MARIONI, D., BOTTA, R., ŠMERDA, J. (2009): Preliminary study of genetic structure of a chetnuts population in the Czech republic basd on SSR analisysis. Acta Hort. (ISHS) 815, p: 43-50.
- HUNTLEY, B., BIRKS, H.J.B. (1983): An atlas or past and present pollen mapes for europe: 0-13 000 YearsAgo. Cambridge Univerity Press, Cambridge.
- IDŽOJTIĆ, M., ZEBEC, M., POLJAK, I., MEDAK, J. (2009): Variation of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) populations in Croatia according to the morphology of fruits, Sauteria, 18, p: 232–333.
- ILIĆ, M., REŠOVIĆ, S. (2009): Klaster analiza, Pristupni rad, Univerzitet u Kragujevcu Ekonomski fakultet, Kragujevac, p: 1-37.
- INOUE, E., NING, L., HARA, H. (2009): Development of Simple Sequence Repeat Markers in Chinese Chestnut and Their Characterization in Diverse Chestnut Cultivars, J. Amer.Soc. Hor. Sci 134 (6), p: 610-617.
- ISAJEV, V., MANČIĆ, A. (2001): Šumsko semenarstvo, Banja Luka-Beograd, p:165-235.

- ISAJEV, V., MLADENOVIĆ-DRINIĆ, S., LUČIĆ, A. (2008): Primena molekularnih markera u oplemenjivanju četinara, Glasnik šumarskog fakulteta br. 98, Beograd, p: 7-24.
- ISAJEV, V., ŠIJAČIĆ-NIKOLIĆ, M., MATARUGA, M., IVETIĆ, V. (2003): Očuvanje, testiranje i korišćenje genofonda vrsta drveća u specijalizovanim kulturama. Održivi razvoj poljoprivrede i zaštita životne sredine – Monografija. Megatrend – Univerzitet primenjenih nauka, Beograd, p. 235 – 247.
- ISTA (2003): Working Sheets on Tetrazolium Testing, Vol.II, 1st Edition, p:23
- JACOBONI, A. (1993): Observation about ecotypes of chestnut in the Spoleto area. Proceedings of the International congres of cestnuts; Spoleto Italija, 20-23. october, 1993. Perugia, p: 381-386.
- JALAS, J., SUOMINEN, J. (Eds.). (1976): Atlas Florae Europaeae 3. Salicaceae to Balanophoraceae. The Committee for Mapping the Flora of Europe and Societas Biologica Fennica Vanamo. Helsinki
- JANFAZA, S., YOUSEFZADEH, H., HOSSEINI NASR, S.M., BOTTA, R., ASADI ABKENAR, A., MARINONI, D.T. (2017): Genetic diversity of *Castanea sativa* an endangered species in the Hyrcanian forest. Silva Fennica vol. 51 no. 1 article id 1705. p: 1-15. https://doi.org/10.14214/sf.1705.
- JOHNSON, G.P. (1989): Revision of *Castanea* sect. *Balanocastanon* (*Fagaceae*), J Arnold Arboretu 69, p: 25-49.
- JONES, J.H. (1986): Evolution of the Fagaceae: the implication of foliar features. Annals of Missouri Botanical garden No. 73, p: 213-219.
- JOVANOVIĆ, B. (1991): Dendrologija, Naučna knjiga, Beograd, p: 216-220.
- JOVANOVIĆ, B. (2010): Dendrologija, Naučna knjiga, Beograd, p:134-137.
- KAMPFER, S., LEXER, C., GLOSSL, J., STEINKELLNER, H. (1998): Characterization of (GA), microsatellite loci from *Quercus robur*, Brief report, Hereditas129, p: 183-186.
- KAPOVIĆ, M. (2012): Šumska zemljišta planine Javor u Republici Srpskoj, Doktorska disertacija, Šumarski fakultet Univerziteta u Beogradu, p: 29-50.
- KARADŽIĆ, D. (1992): Mogućnosti korišćenja *Penicillium rubrum, Trichotechium roseum* i *Trichoderma viride* u biokontroli nekih opasnih patogena šumskog drveća. Glasnik Šumarskog fakulteta, Beograd br. 74, p: 81-87.
- KARAGIANNAKIDOU-IATROPOULOU, V. (1983): Standort forschung in der Querco-Fagetea Zone des Chortiatis-Massiveenthalten (in Greek). Thesis. Thessaloniki, p:160.

- KETENOGLU, O., TUG, G.N., KURT, L. (2010): An ecological and syntaxonomical overview of *Castanea sativa* and a new association in Turkey. Journal of Environmental Biology 31, p:81–86.
- KIMURA, M., CROW, J.F. (1964): The number of alleles that can be maintained in a finite population. Genetics, 49, p: 725-738.
- KOLIĆ, B. (1988): Šumarska ekoklimatologija sa osnovama fizike atmosfere. Naučna knjiga. Beograd.
- KONNERT, M. (1996): Beeinfl ussen Nutzungen einzelner Bäume di genetische Struktur von Beständen. Die Wald. 23, p:1284-1291.
- KONSTANTINIDIS, P., TSIOURLIS, G., XOFIS, P., BUCKLEY, G.P. (2008): Taxonomy and ecology of *Castanea sativa* Mill. Forest in Greece. Plant Ecol 195, p: 235-256, DOI 10.1007/sl 1258-007-9323-8.
- KOPRIVICA, M. (2015): Šumarska statistika, Univerzitet u Banjoj Luci, Šumarski fakultet, p: 35-76.
- KRAUZE-MICHALSKA, E., BORATYNSKA, K. (2013): European geography of *Alnus incana* leaf variation. Plant Biosyst 147, p: 601-610.
- KREBS, P., CONDERA, M., PRADELLA, M., TORRIONI, D., FELBER, M., TINNER, W. (2004): Quaternary refugia of the sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.): an extended palynological approach. Vegatation History and Archaeobotany 13, p:145-160.
- KRISTIN, L., NOVAK-AGBABA, S., RIGLING, D., KARADŽIĆ, M., ĆURKOVIĆ, P.M. (2008): Chestnut bligh fungus in Croatia: diversity of vegatative compability types, mating types and genetic variability of associated *Cryphonectria hypovirus*, 1. Plant Pathology Vol. 57, Issue 6, p: 1-11.
- KRSTIĆ, M. (1950): *Endothia parasitica* u našoj zemlji. Zaštita bilja br.2, p:113-116.
- KRSTIĆ, M., HOČEVAR, S. (1959): Uticaj nekih antagonističkih mikroorgaizama na infekcije pitomog kestena od *Endothia parasitica* Anders. Zaštita bilja br. 54, p: 41-51.
- KUHEN, R., SCHOROEDER, W., PRICHNER, F., ROTTMANN, O. (2003): Genetic diversity, gene flow and drift in Bavarian red deer populations (*Cervus elaphus*). Conserv Genet 4, p: 157-166.
- LANCHO, J.F.G., GONZALEZ, M.I. (2005): Carbon sequestration in a Spanish chestnut coppice. In: Proceedings of the Third International Chestnut (Ed.: Abreu C.G., Rosa, E., Monteiro, A.A.). Acta Horticulturae 693, p: 201-207.

- LANG, P., DANE, F., KUBISIAK, T.L. (2006): Phylogeny of *Castanea* (*Fagaceae*) based on chloroplast *trn*T-L-F sequence data, Tree Genet. Genom. 2, p:132-19.
- LANG, R. (1920): Verwitterung und Bodenbildung als Einfuehrung in die Bodenkunde. Schweizer-bart Science Publishers, Stuttgart. Rivas-Martinez http://www.globalbioclimatics.org/.
- LAZAREV, V. (2005): Šumska fitopatologija, Univerzitet u Banjoj Luci, Šumarski fakultet, p: 109-228 i 224-246.
- LEDIG, F.T. (1986): Heterozigotsity, heterosis and fitness of trees in outbreeding plants. In Soule, M.E. (ed.), Conversation biology. Sinauer Associates, Sunderland, MA, p: 77-104.
- LEONARDI, S., RAPP, M., FAILLA, M., GUARNACCIA, D. (1996): Biomass, productivity and organic matter fluxes in *Castanea sativa* Mill. stands of various elevation in the Etna. Annales Des Sciences Forestieres 53 (5), p: 1031-1048.
- LISCHER, H.E.L., EXCOFFIER, L. (2017): PGDSpider: an automated data conversion tool for connecting population genetics and genomics programs *Bioinformatics*, Volume 28, Issue 2, 15 January 2012, Pages 298–299. http://cmpg.unibe.ch/softwarwe/PGDSpider/.
- LOJO, A. (2000): Taksacione osnove za gazdovanje šumama pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) na području Cazinske Krajine, Magistarski rad, Šumarski fakultet Univerzitet u Sarajevu.
- LUČIĆ, A. (2011): Podizanje šuma belog bora (*Pinus sylvestris* L.) u Srbiji na ekološko-genetičkim osnovama. Doktorska disertacija, Šumarski fakultet Univerziteta u Beogadu, p: 9-36.
- LUSINI, I., VELICHKOV, I., POLLEGIONI, P., CHIOCCHIMI, F., HINKOV, G., ZLATANOV, T., CHERUBINI, M., MATTIONI, C. (2013): Estimating the genetic diversity and sptial structure of Bulgarian *Castanea sativa* populations by SSRs: implications for conservation, Conserv Genet DOI 10.1007/s10592-013-0537-0.
- LYUBENOVA, M., DIMITROVA, V., VELEV, V., BRATANOVA-DONČEVA, S.V. (2004): Phytocoenologycal investigation of chestnut (C*astanea sativa* Mill.) communities in Belasitza ragion. In: Proceedings of 2nd Congress of Ecologists of Republic of Macedonia with Intetnational participation: Ohrid, Makedonija, p: 29-33.

- MACANOVIĆ, A. (2012): Ekološko-sintanomska analiza šuma pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) na području BIH, Međunarodni naučni skup „Struktura i dinamika Dinarida-Stanje, mogućnosti i perspektica“ 2011., Posebno izdanje CXLIX, Zbornik radova, p: 201-220.
- MALVOTI, M., FINESCHI, S. (1987): Analysis of enzyme systems in chestnut (*Castanea sativa* Mil.), Genetica agraria 41, p: 243-256.
- MANOS, P.S., STEELE, K.P. (1997): Phylogenetic analyses of „higher“ *Hamamelididae* based on plastid sequence data. American Journal of Botany No. 84, p: 1407-1419.
- MANTEL, N. (1967): The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer. Res. 27, p: 209–220.
- MARINKOVIĆ, P., KARADŽIĆ, D. (1985): Najvažnije bolesti u rasadnicima, kulturama i šumama Kosova. Šumarstvo 2-3, p: 29-38.
- MARINO, R.A., FERNANDEZ, M.E., FERNANDEZ-RODRIGUEZ, C., MENDEZ, M. (2010): Detection of pith location in chestnut lumber (*Castanea sativa* Mill.) by means of acoustic tomography and longitudinal stress-wave velocity. European Journal Of Wood And Wood Products 68(2), p: 197-206.
- MARINONI, D., AKKAK, A., BOUNOUS, G., EDWARDS, K.J., BOTTA, R. (2003): Development and characterization of microsatellite markers in *Castanea sativa* Mill. Mol. Breed. 11, p: 127–136.
- MARTIN, A.C., GIMENEZ, M.J., ALVAREZ, J.B. (2005): Varietal identifi cation of chestnut using microsatellites markers. Acta Hortic. 693, p: 441–446.
- MARTIN, M.A., MATTIONI, C., CHERUBINI, M., TAURCHINI, D., VILLANI, F. (2010): Genetic characterization of traditional chestnut varieties in Italy using microsatellites (simple sequence repeats). Annals of Applied Biology 157 (1), p: 37–44.
- MARTIN, M.A., MATTIONI, C., MOLINA, J.R., ALVARAZE, J.B., CHERUBINI, M., HERRERA, M.A., VILLANI, F., MARTIN, L.M. (2012): Landscape genetic structure of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Spain, Tree Genetics & Genomes 8, p:127-136.
- MATARUGA, M., ISAJEV, V., ORLOVIĆ, S. (2013): Šumski genetički resursi, Šumarski fakultet Univerziteta u Banjojluci, p: 335-345.
- MATTFELD, J. (1927): Aus Wald und Macchie in Griechenland. Mitt. Deutsch. Dedrol. Ges. 38, p: 106-151.

- MATTIONI, C., MARTIN, M.A., POLLEGIONI, P., CHERUBINI, M., VILLANI, F. (2013): Microsatellite markers reveal a strong geographical structure in European populations of *Castanea sativa* (*Fagaceae*): evidence for multiple glacial refugia, Am J Bot. 100, p: 951-961.
- MC CARTY, M.A., MEREDITH, F.I. (1988): Nutritient data on chestnuts consumed in the United States, Econ. Bot. 42 (1), p: 344-347.
- MEDAK, J. (2009): Šumske zajednice i staništa pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Hrvatskoj. Disertacija. Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- MEDAK, J. (2011): Šuma pitomog kestena s prasećim zeljem (*Aposeridi foetidae-Castaneetum sativae* ass. nova u Hrvatskoj, Šumarski list - posebni broj, 135,p: 5-24. Zagreb.
- MEDAK, J. (2004): Fitocenološke značajke šuma pitomog kestena u sjeverozapadnoj Hrvatskoj. Magistarski rad. Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- MENCARELLI, F. (2001): Postharvest handling and storge of chestnuts. Working document of the project: TCP/CRP/8925 „Integrated Pest Managment and Storge of Chestnuts“ in Xin Xian County, Henan-Provinee, China.
- MERZ, F. (1919): Die Edelkastanie ihre volkswirschaftliche Bedeutung ihr Anbau und ihre Bewirtschaftung, p: 17
- MIĆIĆ, N., ČORDAŠ, D., BALIĆ, D. (1987): Karakteristike ploda nekih tipova pitomog (evropskog) kestena, Jugosl. voćar 21, p: 11-16.
- MÍGUEZ-SOTO, B., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. (2015): Variation in adaptive traits among and within Spanish and European populations of *Castanea sativa*: selection of trees for timber production, New Forests, January 2015, Volume 46, Issue 1, p: 23-50.
- MIHAILOVIĆ, D.T. (1988): Osnove meteoroloških osmatranja i obrade podataka. Poljoprivredni fakultet, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Zbornik radova, Sv.32, p:207-212.
- MILOSAVLJEVIĆ, R. (1973): Klima Bosne i Hercegovine, Doktorska disertacija, Prirodno-matematički fakultet, Sarajevo.
- MUJAGIĆ-PAŠIĆ, A., BALLIAN, D. (2012): Variability of the sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) based on the morphological properties of the laeaf in naural populations of Bosanka Kraijna, Works of the Faculty of Forestry, University of Sarajevo, No1, p: 57-69.

- MUJIĆ, I. (2014): Prerada kestena-maruna, Tiskara Helvetica Rijeka, p:17-20.
- MUJIĆ, I., JAHIĆ, S., IBRAHIMPAŠIĆ, J., ALIBABIĆ, V. (2006): Nutritivne karakteristike prerađenog kestena (*Castanea sativa*) sa područja Unsko-Sanskog kantona i usporedba sa nutritivno sličnim nairnicama, Radovi Poljoprivrednog fakulteta Unverziteta u Sarajevu God.LI broj57/2006, p: 125-136.
- MUJIĆ, I., ALIBABIĆ, V., ŽIVKOVIĆ, J., JAHIĆ, S., JOKIĆ, S., PRGOMET, Ž., TUZLAK, Z. (2010): Morphological characteristics of *Castanea sativa* from the area Una-Sana canton, Journal Central European Agriculture Vol.11, No. 2, p:185-190.
- MUJIĆ, I., IBRAHIMPAŠIĆ, J., JAHIĆ, S., BAJRAMOVIĆ, M., ALIBABIĆ, V. (2006b): Kvalitativne karakteristike svježeg kestena (*Castanea sativa*) sa područja Unsko-sanskog kantona, Radovi Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, godina LI br.57, p: 27-34.
- MUJIĆ, I., JAHIĆ, S., IBRAHIMPAŠIĆ, J., ALIBABIĆ, V. (2006a): Nutritivne karakteristike prerađenog kestena (*Castanea sativa*) sa područja Unsko-sanskog kantona i usporedba sa nutritivno sličnm namirnicama, Radovi Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, godina LI br.57, p: 125-136.
- MÜLLER-STARCK, G., CONEDERA, M., FINESCHI, S. (1994): Genetic characterization of cultivated varieties of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Southern Switzerland. II. Genetic inventory based on enzyme gene markers. U: E. Antognozzi (ur.), Procedings of the International Congress on Chestnut, 20–23 October 1993, Spoleto, Italy, 303–307.
- MURATOVIĆ, A., KURTOVIĆ, M., JAREBICA, DŽ. (1999): Voćarstvo. Studenska štamparija, Sarajevo.
- NEI, M. (1972): Genetic distance between populations. Am. Nat., 106, p: 283-292.
- NIKOLIĆ, S.A. (2012): Idnetifikacija genskih lokusa QTL uključenih u kontrolu odgovora kukuruza (*Zea mays* L.) na stres suše, Doktorska diserrtacija, Biološki fakultet Univerzitet u Beogradu, p: 9-20.
- OBERDORFER, E. (1948): Gliederung und Umgrenzung der Mittelmeervegetation auf der Balkanhalbinsel. Ber Geobot Forschungsinst Rübel Zürich, p: 84-111.
- OHTA, T., KIMURA, M. (1973): A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population. Genet. Res., 22: p: 201-204.

- ORAGUZIE, N.C., MCNEIL, D.L., PATERSON, A.M., CHAPMAN, H. (1998): Comparison of RAPD and morpho-nut markers for revealing genetic relationships between chestnut species (*Castanea* spp.) and New Zealand chestnut selections. New Zeal. J. Crop Hort. Sci. 26, p: 109–115.
- OZGAN, E., KAP, T. (2008): Investigating the performance of the "L" type frame construction corner junctions exposed to the inclining moment. Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University 23 (2), p: 385-394.
- ÖZGAN, Y. (2003): Investigations on Morphological and Pomological Characteristics of Chestnut Genotypes in İkizce and Şenbolluk Natural Areas of OrduVicinity, Proc. IS on Sust. Use Of Plant Biodiv. Eds. E. D¸zyaman &Y.T¸zel Acta Hort. 598, p: 205-210.
- PANDIT, A.H., MIR, M.A., KOUR, A., BHAT, K.M. (2011): Selection of Chestnuts (*Castanea sativa*) in Srinagar District of the Kashmir Vally, India. International Journal of Fruit Science, no.11, p: 111-118.
- PASCUAL, M., AQUADRO, C.F., SOTO, V., SERRA, L. (2001): Microsatellite variation in colonizing and palearctic populations od Drosophila suboscura. Mol Biol Evol 18, p: 731-740.
- PATRICIO, M.S., MONTEIRO, M.L., TOME, M. (2005): Biomass equations for *Castanea sativa* high forest in the Northwest of Portugal. In: Proceedings of the Third International Chestnut (Ed.: Abreu C.G., Rosa, E., Monteiro, A.A.). Acta Horticulturae 693, p: 727-732.
- PEAKALL, R., SMOUSE, P.E. (2012): GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. Bioinformatics, 28: 2537-2539. Freely available as an open access article from: http://bioinformatics.oxfordjournals.org7content728/19/2537.
- PEGLIA, G.P., OLIVIERI, A.M., MORGANTE, M. (1998): Twords seconde generation STS (seqvence-tegged sites) linkage maps in coniferes: a genetic map Norway spruce (*Picea abies* K.). Mol. Gen Genet. 258, p: 466-478.
- PEÑA-MÉNDEZ, E.M., HERNÁNDEZ-SUÁREZ, M., DÍAZ-ROMERO, C., RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, E. (2008): Characterization of various chestnut cultivars by means of chemometrics approach, Food Chem. 107, p: 537-544.
- PEREIRA, M.J., CASTRO, L.F., TORRES-PEREIRA, J.M., LORENZO, S.P. (1999): Isozyme polymorphism in Portugese chestnut cultivars. Acta Hortic. 494, p: 283–286.

- PEREIRA, S., FERNANDEZ, J. (1993): Intra e intercultivar variability by isozymes characters for some important chestnut cultivars in Galicia, Spain. In: Proceedings of the International Congress on Chestnut. Spoleto, Italy, 20–23 October 1993. Perugia, Istituto di Coltivazioni Arboree, University of Perugia, p: 291–295.
- PEREIRA-LORENZO, S., RAMOS-CABRER, A.M., DÍAZ-HERNÁNDEZ, M.B., CIORDIA-ARA, M, RÍOS-MESA, D. (2006): Chemical composition of chestnut cultivars from Spain. Sci Hortic (Amsterdam).;107, p: 306–314.
- PEREIRA-LORENZO, S., DIAZ-HERNANDEZ, M.B., RAMOS-CABRER, A.M, (2006a): Use of Highly Discriminating Morphological Characters and Isozymes in the Study of Spanish Chestnut Cultivars, J. AMER. Soc. Hort. Sct 131 (6), p: 770-779.
- PEREIRA-LORENZO, S., FERNANDEZ-LOPEZ, J., MORENO-GONZALEZ, J. (1996): Variability and grouping of Northwestern Spanish chestnu cultivars. II. Isoenzymatic traits. J. Am. Soc. Hort. Sci. 121 (2) p: 190–197.
- PEREIRA-LORENZO, S., RAMOS-CABRER, A.M., DIAZ-HERNANDEZ, B., ASCASIBAR-ERRASTI, J., SAU, F., CIORDIA-ARA, M. (2001): Spanish chestnuts cultivars. Hortic. Sci 36 (2), p: 344-347.
- PICCOLI, L. (1992): Monografia del castagno. Suoi caratteri monrfologici, variegata, coltovazione, prodotti e nemici. Stabilimento Tipo-Litografico G. Spinelli, Florenz, p:178.
- PIRY, S., ALAPETITE, A., CORNUET, J. M., PAETKAU, D, BAUDOUIN, L. (2004): GeneClass2: a software for genetic assignment and first generation migrants detection. Journal of Heredity, 95, p: 536-539.
- PIVIDORI, M., ARMANDO, F., CONEDERA, M. (2005): Post cultural dynamics in a mixed chestnut coppice at its ecological border. In: Proceedings of the Third International Chestnut (Ed.: Abreu C.G., Rosa, E., Monteiro, A.A.). Acta Horticulturae 693, p: 219-224.
- PODJAVORŠEK, A., ŠTAMPAR, F., SOLAR, A. (1997): Pomological analysis of diferent types of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Slovenia. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani-Kmetijstvo 69, p: 85-90.
- PODJAVORŠEK, A., ŠTAMPAR, F., SOLAR, A., BATIČ, F. (1999): Morphological variation in chestnut (*Castanea sativa* Mill.) fruits in Slovenia. Acta Hortic., 494, p: 129–132.
- POLLEGIONI, P., WOESTE, K., OLIMPIERI, I., MARANDOLA, D., CANNATA, F., MALVOLTI, M.E. (2011): Long-term human impacts on genetic structure of Itlian walnut inferred by SSR markers. Tree Genet Genoms 7, p: 707-723.

- POLJAK, I. (2014): Morfološka i genetska raznolikost populacija i kemijski sastav plodova europskog pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Hrvatskoj. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, Doktorska disertacija, p: 1-233.
- POLJAK, I., IDŽOJTIĆ, M., ŠATOVIĆ, Z., JEŽIĆ, M., ĆURKOVIĆ PERICA, M., LIBER, Z. (2016): Genetička raznolikost pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u jugoistočnoj Europi i zapadnog dijela Balkanskog poluotoka, 5. Hrvatski botanički simpozij, Knjiga sažetaka/Rešetnik, I., Zagreb Hrvatsko botaničko društvo, p: 120-121.
- POLJAK, I., IDŽOJTIĆ, M., ZEBEC, M., PERKOVIC, N. (2012): Varijabilnost europskog pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) na području sjeverozapadne Hrvatske prema morfološkom obilježjima plodova. Šumarski list, 9-10, p: 479-489.
- POLJAK, I., VAHČIĆ, N., GAČIĆ, M., IDŽOJTIĆ, M. (2016b): Morphological characterization and chemical composition of fruits of the traditional Croatian chestnut variety 'Lovran Marron', Food Technol. Biotechnol. 54, p: 189-199.
- PONCHIA, G., BERGAMINI, A., TOMASI, G., GARDIMAN, M., FILA, G. (1993): Observations on some chestnut cultivare found in the Trento area. Proceedings of the Interntional congres on chetnut; Spoleto Italija, 20-23. october, 1993. Perugia, p: 343-346.
- POORBABAEI, H. (2007): Study on woody species diversity in the sweet chestnut (C*astanea sativa*) forests, Guilan, Iran. International Conference on mathematical biology (icmb07), 4th – 6th sept. Malaysia.
- POPOVIĆ, V., KERKEZ, I. (2016): Varijabilnost populacija divlje trešnje (*Prunus avium* L.) u Srbiji prema morfološkim svojstvima listova, Šumarski list, 7-8, p :347-355.
- POPOVIĆ, Z., TODOROVIĆ, N. (2007): Svojstva drveta pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) iz manastirskih šuma Hilandra, Prerada drveta br.17-18, Beograd, p:5-9.
- PRINCIPE, P. (1989): Economic significance of plants and their constituens as drugs, Econ. Med. Plant Res. 3, p:1-17.
- PRITCHARD H.W., MANGER K.R. (1990): Quantal response of ruit and seed germnatio rate in *Quercus robur* L. and *Castanea sativa* Mill. to constant temperatures and photo phose, Journal of Experimental Botany 41, p: 1549-1557.
- PRITCHARD, J.K., STEPHENS, M., DONNELLY, P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155, p: 945-959.
- RADOGLOU, K., RAFTOYANNIS, Y., HALIVOPOULOS, G. (2003): The effects of planting date and seedling quality on field performance of *Castanea sativa* Mill. and Quercus frainetto Ten. Seedlings. Forestry 76(5), p:569-578.

- RADULOVIĆ, Z. (2013): Najčešće mikoze pitomog kestena, sa posebnim osvrtom na vrstu *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr. Doktorska disertacija. Šumarski fakultet Univerziteta u Beogradu. Beograd.
- RAMOS-CABRER, A.M., PEREIRA-LORENZO, S. (2005): Genetic relationship between *Castanea sativa* Mill. trees from north-western to south Spain based on morphological traits and isoenzymes. Genetic Resources and Crop Evolution 52, p: 879–890.
- RAUH, W. (1949): Klimatologie und Vegetationsverhältnisse der Athos-Halbinsel und der ostägäischen Inslen Lemons, Evstratios, Mytiline und Chios. Silzungser. Heidelberger Akad. Wiss., Math. Naturwiss K1, p: 511-615.
- RAUS, T. (1980): Die Vegetation Ostthessaliens Griechenland. III. *Querco-Fagetea* und azonale Gehölzgesellschaften. Bot. Jahrb. Syst.101, p: 313–361.
- REGEL, C. (1943): Phlanzengeographische Studien aus Griechenland und Westanationlien. Bot. Jahrb. Syst. 73, p: 1-98.
- ROANE, M., GRIFFIN, G.J., ELIKINS, J.R. (1986): Chestnut Blight, Other Endothia Diseases and the Genus *Endothia*. APS Press. St.Paul, MN.
- ROBIN, C., ANZIANI, C., CORTESI, P. (2000): Relationship between Biologival Control, Incidence of Hypovirulence and Diversity of Vegatative Compability Types od *Cryphonectria parasitica* in France, Phytopatholog Vol.7, p: 730-737.
- ROUSSET, F. (1997): Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. Genetics, 145, p: 1219-1228.
- RUSSEL, K. (2002): in G. Bounous (ed), II Castagno: Cultura ambiente ed uttillization in Italia e nel mondo, Edagricole-Edizioni Agricole de II Sole 24 Ore, Bologna, Gran Bretagna, p: 249-253.
- RUTTER, P.A., MÜLLER, G., PAYNE, J.A. (1991): Chestnuts (*Castanea*). Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops, Acta Horticulturae 290, p: 761-785.
- SACCHETTI, G., NERI, L., DIMITRI, G., MASTROCOLA, D. (2009): Chemical composition and functional properties of three sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) ecotypes from Italy. Acta Hortic. p; 41–46.
- SANTANA, C., VALDIVIESSO, T., OLIVEIRA, C.M. (1999): Molecular typing of rootstock hybrids (*Castanea sativa* × *Castanea crenata*) and Portugese *Castanea sativa* cultivars based on RAPD markers. Acta Hortic. 494, p: 295–301.
- SAVIĆ, S. (1979): Klimatska klasifikacija Jugoslavije po Kepenu, Prilozi poznavanju vremena i klime SFRJ, Savezni hidrometeorološki zavod, Beograd, sv7, p:1-36.

- SAWANO, M., ICHII, T., NAKANISHI, T., KOTERA, Z. (1984): Studies on identifi cation of chestnut species and varieties by isozyme analysis. Sci. Rpt. Faculty Agr. Kobe Univ. 16:67–71.
- SCALFI, M., TROGGIO, M., PIOVANI, P., LEONARDI, S., MAGNASCHI, G., VENDARMIN, G.G., MENOZZI, P. (2004): A RAPD, AFLP and SSR linkage map and QTL analysis in Europian beech (F*agus sylvatica* L.). Theor. Appl. Genet.108, p: 433-441.
- SEFC, K.M., STEINKELLNER, H., GLÖSSL J., KAMPFER, S., REGNER, F. (1998): Reconstruction of a grapevine pedigree by microsatellite analysis, T.A.G. 97, p: 227-231.
- SELKOE, K.A., TOONEN, R.J. (2006): Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. Ecology Letters 9, p: 615-629.
- SENTER, S.D., PAYNE, J.A., MILLER, G., ANAGNOSAKIS, S.L. (1994): Comparison of total lipids, fatty acids sugars and non-volatile organic acids in nuts from four *Castanea* species. Journal of the Science of Food and Agriculture 65, p: 223–227.
- SERDAR, Ü. (1999): Selection of chestnuts (*C. sativa*) in Sinop vicinity, Acta. Hort. 494, p: 327-332.
- SERDAR, Ü., DEMIRSOY, H., DEMIRSOY, L. (2011a): A morphological and phenological comparison of chestnut (*Castanea*) cultivars 'Serdar' and 'Marigoule', Australian Journal of crop Science 5, p: 1311-1317.
- SERDAR, Ü., KURT, N. (2011): Some Leaf Characterisics are Better Morphometric Discriminators fo Chetnut Genotypes, J. Arg. Sci. Tech. Vol. 13, p:885-894.
- SERDAR, Ü., SOYLU, A. (1999): Selection of chestnuts (*C. sativa*) in Samsun vicinity, Acta. Hort. 494, p: 333-338.
- SKENDER, A. (2010): Genetska i pomološka varijabilnost populacije pitomog kestena u Bosni i Hercegovini, Doktorksa disertacija, Poljopivredno-prehrambeni fakultet Sarajevo,Unevirzitet u Sarajevu, p: 1-92.
- SMITH, J.S C. SMITH, O.S. (1992): Fingerprinting crop varieties. Adv Agro 47p: 85-140.
- SMITH, J.C.S., PASKIEWICZ, S., SMITH, O.S., SCHAFFER, J. (1987): Electrophoretic, chromatographic and genetic techniques for indentifying association and measuring genetic diversity among corn hybrids. In Proc, 42nd Annu. Corn and Sorghum Ind. Res. Conf. Chicago, IL, 9-11 dec., American Seed Trade Assoc., Washington, DC.
- SNEATH, P.H., SOKAL, R.R. (1973): Numerical Taxonomy. W.H. Freeman and Company, San Francisco.

- SOLAR, A., PODJAVORŠEK, A., OSTERC, G., ŠTAMPAR, F. (2001): Evaluation and comparison of domestic chestnut (*Castanea sativa* Mill.) populations in Slovenia. For. Snow Landsc. Res., 76 (3), p: 455–459.
- SOLAR, A., PODJAVORŠEK, A., ŠTAMPAR, F. (2005): Fenotypic and fenotypicdiversity of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Slovenia – opportunity for genetic improvement. Genetic Resources and Crop Evolution, 52, p: 381–394.
- STAUB, J.E., KUHNS, L.J., MAY, B., GRUN, P. (1982): Stability of potato tuber isozymes under different storage regimes. J. Am. Sci. 107, p: 405-408.
- STEFANOVIĆ, V., BEUS, V., BURLICA, Č., DIZDAREVIĆ, H., VUKOREP, I. (1983): Ekološko vegetacijska rejonizacija Bosne i Hercegovine. Posebna izdanja br. 18, Šumarski fakultet u Sarajevu, p: 1-49.
- STEINKELLNER, H., LEXER, C., TURETSCHEK, E., GLOESSL, J. (1997): Conservation of (GA)n microsatellite loci between *Quercus* species. Molecular Ecology 6: 1189 -1 194
- STILINOVIĆ, S. (1985): Semenarastvo šumskog i ukrasnog drveća i žbunja, OOUR Institut za šumarstvo šumarskog fakulteta u Beogradu, p: 77-124.
- STOJANOV, N., KITANOV, B. (1950): Ratitelint, otnošenija na ostrov Tasos. Iyv. Bot. Inst. (Sofia) 1, p:214
- STOJANOVIĆ, B. (2014): Hemijski sastav i antioksidativna aktivnost metanolnih i acetonskih ekstrakata pulpe i kore odabranih vrsta voća sa područja jugoistočne Srbije, Doktorska disertacija, Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, p:1-237.
- STREIFF, R., DUCOUSSO, A., LEXER, C., STEINKELLNER, H., GLOSSAL, J., KREMER, A. (1999): Pollen dis-persal inferred from paternity analyses in mixed oak stands of *Quercus robur* L. and *Q. petrea* Liebl. Mol. Ecol.8, p:831-841.
- STUPAR, V., ŠURLAN, M., TRAVAR, J., CVJETIĆANIN, R. (2014): Fitocenološka analiza mezofilnih šuma pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u okolini Kostajnice (Bosna i Hercegovina), Glasnik Šumarskog fakulteta u Banjoj Luci , No.21, p: 25-43.
- SUČIĆ J. (1953a): Rasprostranjenost pitomog kestena na području Bosne i Hercegovine. Narodni šumar 7(9-10), p: 361-378.
- SUČIĆ, J. (1953b): O arelu pitomog kestena na području Srebrenice, sa kratkim osvrtom na ostala nalazišta u Bosni i Hercgovini, NP „Oslobođenje“, Sarajevo, p: 10-55.
- SUČIĆ, J. (1969): Pitomi kesten na području Bratunca i Srebrenice, sa biološkog, ekološkog i ekonomskog gledišta, NP “Oslobođenje“ Sarajevo, p:1-136.

- ŠEGULJA, N. (1979): Šumska vegetacija Vukomeričkih gorica. Drugi kongres ekologa Jugoslavije II, p: 1115-1132.
- ŠKORIĆ, A., FILIPOVSKI, Đ., ĆIRIĆ, M. (1985): Klasifikacija zemljišta Jugoslavije, Posebno izdanje, knjiga LXXVIII, Odjeljenje prirodnih i matematičkih nauka, knjiga 13, Akademija nauka i umjetnosti BiH, Sarajevo.
- ŠUGAR, I. (1972): Biljni svijet Samoborskog gorja. Disertacija, Sveučilište u Zagrebu.
- TABERLET, P., FUMAGALLI, L., WUST-SAUCY, A.G., COSSON, J.F. (1998): Coparative phylogeography and postglacial implications, Molecular Plant Systematics. Ghamp & Hall, New York, p: 117-150.
- TAKHTAJAN, T. (1987): Accessed through: The Interim Register of Marine and Nonmarine Genera at http://www.irmng.org/aphia.php?p=taxdetails&id=119638.
- THIS, P., LACOMBE, T., CADLE-DAVIDSON, M., OWENS, C.L. (2007): Wine grape color associates with variation in the domestification gene VvmybA1, Theor. Appl. Genet. 114, p:723 – 730.
- THORNTHWAITE, C.W., MATHER, J.R. (1957): Instructions and tables for computing potential evapotranspiration and the water balances. Climatology 10, p: 185 – 311.
- THORNTHWAITE, C.W. (1954): A re-examination of the concept and measurements of potential evapotranspiration, Publication in Climatology (laboratory of Climatology) 7 (1), p: 200-209.
- TREŠTIĆ, T., UŠČUPLIĆ, M., COLINAS, C., ROLLAND, G., GIRAUD, A., ROBIN, C. (2001): Vegatative compatibility type diversitu *of Cryphonectria parasitica* populations in Bosnia-Herzegovina, Spain and France. For. Snow Landsc. Res. 76, 3, p: 391-396.
- UPOV (Union internationale poure la protection des obtentions vegetales), (1989): Guidlines for conduct of testes for distincness, hoogenuty and stability, *Castanea sativa* Mill., Geneva, p: 1-22.
- ÜSTÜN, N., TOSUN, Y., SERDAR, Ü. (1999): Technological properties of chestnut varieties grown in Erfelek district of Sinop city. *Acta Hort*, 494, p:107-110.
- UŠČUPLIĆ, M. (1961): Pojava raka kestenove kore u Bosni. Narodni šumar XV 10-12, p: 581-588.
- UŠČUPLIĆ, M., LAZAREV, V. (1972): Rezultati primarne antagonističke flore u borbi protiv raka pitomog kestena. Aktuelni problemi šumarstva, drvne industrije i hortikulture, Šumarski fakultet Beograd, p: 361-366.

- VAN OOSTERHOUT, C., HUTCHINSON, W.F., WILLS, D.P.M., SHIPLEY, P. (2004): MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes 4, p: 535-538. http://www.microchecker.hull.ac.uk/.
- VAZQUEZ, G., CALVO, M., FREIRE, M.S., GONZALEZ-ALVAREZ, J., ANTORRENA, G. (2009): Chestnut shell as heavy metal adsorbent: Optimization study of lead, copper and zinc cations removal. Journal of Hazardous Materials 172 (2-3), p: 1402-1414.
- VAZQUEZ, G., FONTENLA, E., SANTOS, J., FREIRE, M.S., GONZALEZ-ALVAREZ, J., ANTORRENA, G. (2008): Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. Industrial Crops and Products 28(3), 279-285.
- VELEV, V. (2007): Structure of the chestnut communities (*Castanea sativa* Mill.) in Belasitza mountain and a conception regarding the dynamic processes that go off in them. Sustainable management of sweet chestnut ecosystems-cast Bul. Blagoevgrad, Bulgaria.
- VILLANI, F., ERIKSSON, G., (2006): Conservation and Management of European chestnut (*Castanea sativa* L.) genetic resources: outputs of the CASADE projest. EUFORGEN Noble Hardwoods Network, Reort of the sixth (9-11 June 2002, Alter do Chao, Porugal) and seventh meeting (22-24 Aprile 2004, Arezzo-Italy). Internationa PlantGenetic Reources Institute, Rome, Italy.
- VILLANI, F., PIGLIUCCI, M., LAUTERI, M., CHERUBINI, M. (1992): Congruence between genetic, morphometric, and physiological data on diff erentiation of Turkish chestnut (*Castanea sativa*), Genome, 35, p: 251 256.
- VOSSEN, P. (2000): Chestnut culture in California. University of California Cooperative Extension Farm Advisor, Sonoma Country, p:1-18.
- VUKELIĆ, J. (2012): Šumska vegetacija Hrvatske. Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu i Državni zavod za zaštitu prirode Hrvatske, Zagreb, p: 403.
- VUKELIĆ, J. (1991): Šumske zajednice i staništa hrasta kitnjaka. Glasnik za šumske pokuse 27, p:1-82.
- VUKELIĆ, J., BARIČEVIĆ D., ŠAPIĆ I. (2010): Nomenclatural-phytocoenological analysy of the association *Potentillo Micranthae-quercetum petraeae ass*. nova in Croatia. Hacquetia 9/1: p: 5-18.
- WANG, B.S.P. (1976): Dormancy and laboratory germination criteria of white spruce seed. Proceedins of 2nd International Symposium of Physiology of Seed Germinarion, Tokyo, IUFRO Working Party S2.01.06, p: 179-188.

- WANG, Y., KANG, M., HUANG, H. (2008): Microsatelite Loci Transferabilityin Chestnut, J. Amer. Soc. Hort. Sci, 133, p: 692-700.
- WEIR, B.S., COCKERHAM, C.C. (1984): Estimating F-statistics for the analysis of population-structure. Evolution, 38, p: 1358-1370.
- WESTMANN, A.L., KRESOVICH, S. (1997): Use of molecullar marker techniques fordescription of plant genetic variation. In: Callow J.L., Ford-Lloyd, B.V. and Newburry, H.J. (eds), Biotechnology and Plant Genetic Resources. CAB International, p: 9-45.
- WHITE, T.L., ADAMS, W.T., NEALE, D.B. (2009): Forest genetics, CAB International 2007, p:149-186
- WRABER, M. (1958): Biljnosociološki prikaz kestenovih šuma Bosne i Hercegovine, Godišnjak biološkog instituta Univerziteta u Sarajevu 9 (1-2), p:139-182.
- WRIGHT, S. (1931): Evolution in Mendelian populations. Genetics, 16, p: 97-159.
- WRIGHT, S. (1965): The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. Evolution 19, p:395-420.
- WRIGHT, S. (1969): Evolution and Genetics of Populations, Vol.2. University of Chicago Press, Chicago, IL.
- WÜNSCH, A., HORMAZA, J.I. (2002): Cultivar identifi cation and genetic fingerprinting of temperate fruit tree species using DNA markers. Euphytica 125, p: 59–67.
- ZAKYNTHINOS, G., LIONAKIS, S. (1997): Chestnut: Preliminary Activities on Chestnut research in Greece. COST G4. Mulitdiscliplinary Chestnut Research. Workshop on Tree Physiology and Genetic Resourse of Chestnut, Torre Pellice (Torino), Italy 18-21 June 1997, Universita di Torino, Abstracts, p:34.
- ZEBEC, M., IDŽOJTIĆ, M., POLJAK, I. (2014): Morfološka varijabilnost nizinskog brijesta (*Ulmus minor* Mill. sensu latissimo) na području kontinentalne Hrvatske, Šumarski list 11-12, p:563-572.
- ZELIĆ, J. (1998): Pitanje autoktonosti i dalji uzgoj pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Požeškom Gorju; Šumarski list br.11-12, CXXII, Zagreb, p:525-536.
- ZOHARY, D., HOPF, M. (1988): Domestication of plants in the old world. Clarendon press, Oxford, England.
- ZOLLER, H., GEISSLER, P., ATHANASIADIS, N. (1977): Beiträge zurKenntnis der Wälder, Moos und Flechtenassoziationen inden Gebirgen Nordgriechenlands. Basel Bauhinia 6(1), p:215–255.

- ZYSSET, M., BRUNNER, I., FREY, B., BLASER, P. (1996): Response of European chestnut to varying calcium/aluminum ratios. Journal of Environmental Quality 25(4), p: 702-708.
- БАХТЕЕВ, Ф.Х. (1970): Важнейшие плодовые растения. Издательство“Просвещение“, Москва.
- ПАПАЗОВ, В., СЕРАФИМОВСКИ, М., ГРУЈОВСКА, М., КАМИЛОВСКИ, М. (1974): биоеколошки проучавања на габат *Cryphonectria parasitica* (Murr.). Причинител за сушењето на костенот во Македонија. Шумарски факултет Скопје.
- www.faostat

8. PRILOG

Prilog A

Tabela. Dvofaktorijalna analiza varijanse za mjerene osobine listova na individualnom nivou za prvu godinu istraživanja

ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	p
DL	Stablo	89	14671	165	32,8	0,0000
	Ponavljanje	3	181	60	12,0	0,0000
	Stablo*ponavljanje	267	356	13	2,7	0,0000
	Pogreška	3240	16308	5		
	Ukupno	3599	34729			
DP	Stablo	89	485,71	5,457	85,71	0,0000
	Ponavljanje	3	1,70	0,565	8,88	0,0000
	Stablo*ponavljanje	267	55,88	0,209	3,29	0,0000
	Pogreška	3240	206,30	0,064		
	Ukupno	3599	749,58			
DNL	Stablo	89	3030,11	34,05	32,85	0,0000
	Ponavljanje	3	1,53	0,51	0,49	0,6888
	Stablo*ponavljanje	267	321,08	1,20	1,16	0,0436
	Pogreška	3240	3358,23	1,04		
	Ukupno	3599	6710,95			
DMSL	Stablo	89	9572,1	107,6	53,5	0,0000
	Ponavljanje	3	73,2	24,4	12,1	0,0000
	Stablo*ponavljanje	267	1234,8	4,6	2,3	0,0000
	Pogreška	3240	6513,7	2,0		
	Ukupno	3599	17393,8			
MSL	Stablo	89	2577,0	29,0	40,1	0,0000
	Ponavljanje	3	31,5	10,5	14,6	0,0000
	Stablo*ponavljanje	267	594,4	2,2	3,1	0,0000
	Pogreška	3240	2337,3	0,7		
	Ukupno	3599	5540,1			
BZ	Stablo	89	19772,4	222,2	46,3	0,0000
	Ponavljanje	3	40,7	13,6	2,8	0,0374
	Stablo*ponavljanje	267	2831,2	10,6	2,2	0,0000
	Pogreška	3240	15551,7	4,8		
	Ukupno	3599	38196,0			
BN	Stablo	89	16349	184	39,7	0,0000
	Ponavljanje	3	188	63	13,6	0,0000
	Stablo*ponavljanje	267	3105	12	2,5	0,0000
	Pogreška	3240	14985	5		
	Ukupno	3599	34628			

Prilog B

Tabela. Dvofaktorijalna analiza varijanse za mjerene osobine listova na individualnom nivou za drugu godinu istraživanja

ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	p
DL	Stablo	89	15591	175	38,4	0,0000
	Ponavljanje	3	70	23	5,2	0,0015
	Stablo*ponavljanje	267	2524	9	2,1	0,0000
	Pogreška	3240	14775	5		
	Ukupno	3599	32960			
DP	Stablo	89	355,690	3,997	71,88	0,0000
	Ponavljanje	3	0,139	0,046	0,84	0,4738
	Stablo*ponavljanje	267	27,441	0,103	1,85	0,0000
	Pogreška	3240	180,156	0,056		
	Ukupno	3599	563,426			
DNL	Stablo	89	2625,86	29,50	27,54	0,0000
	Ponavljanje	3	4,53	1,51	1,41	0,2384
	Stablo*ponavljanje	267	346,15	1,30	1,21	0,0139
	Pogreška	3240	3471,38	1,07		
	Ukupno	3599	6447,92			
DMSL	Stablo	89	10826,3	121,6	66,2	0,0000
	Ponavljanje	3	66,1	22,0	12,0	0,0000
	Stablo*ponavljanje	267	1065,8	4,0	2,2	0,0000
	Pogreška	3240	5951,1	1,8		
	Ukupno	3599	17909,3			
MSL	Stablo	89	2430,4	27,3	36,6	0,0000
	Ponavljanje	3	3,8	1,3	1,7	0,1688
	Stablo*ponavljanje	267	357,8	1,3	1,8	0,0000
	Pogreška	3240	2419,4	0,7		
	Ukupno	3599	5211,3			
BZ	Stablo	89	18454,1	207,3	40,8	0,0000
	Ponavljanje	3	44,0	14,7	2,9	0,0342
	Stablo*ponavljanje	267	2311,5	8,7	1,7	0,0000
	Pogreška	3240	16465,0	5,1		
	Ukupno	3599	37274,6			
BN	Stablo	89	14250	160	34,8	0,0000
	Ponavljanje	3	31	10	2,2	0,0840
	Stablo*ponavljanje	267	2232	8	1,8	0,0000
	Pogreška	3240	14915	5		
	Ukupno	3599	31428			

Prilog C

Tabela. Dvofaktorijalna analiza varijanse za mjerene osobine plodova na individualnom nivou za prvu godinu istraživanja

ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	p
MASA PLODA	Stablo	89	4524,46	50,84	60,99	0,0000
	Ponavljanje	2	234,40	117,20	140,61	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	395,54	2,22	2,67	0,0000
	Pogreška	2430	2025,35	0,83		
	Ukupno	2699	7179,75			
ŠIRINA PLODA	Stablo	89	12989	146	51,8	0,0000
	Ponavljanje	2	703	352	124,7	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	1114	6	2,2	0,0000
	Pogreška	2430	6850	3		
	Ukupno	2699	21656			
DEBLJINA PLODA	Stablo	89	6933,6	77,9	25,9	0,0000
	Ponavljanje	2	471,9	235,9	78,4	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	1007,9	5,7	1,9	0,0000
	Pogreška	2430	7316,1	3,0		
	Ukupno	2699	15729,4			
DUŽINA PLODA	Stablo	89	14425	162	73,7	0,0000
	Ponavljanje	2	359	179	81,6	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	883	5	2,3	0,0000
	Pogreška	2430	5342	2		
	Ukupno	2699	21009			
DUŽINA OŽILJKA	Stablo	89	11762,7	132,2	29,5	0,0000
	Ponavljanje	2	821,9	411,0	91,7	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	1286,8	7,2	1,6	0,0000
	Pogreška	2430	10891,2	4,5		
	Ukupno	2699	24762,6			
ŠIRINA OŽILJKA	Stablo	89	3305,7	37,1	25,0	0,0000
	Ponavljanje	2	207,7	103,9	69,8	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	531,7	3,0	2,0	0,0000
	Pogreška	2430	3615,0	1,5		
	Ukupno	2699	7660,1			

Prilog D

Tabela. Dvofaktorijalna analiza varijanse za mjerene osobine plodova na individualnom nivou za drugu godinu istraživanja

ANALIZIRANA OSOBINA	IZVOR VARIJACIJE	STEPENI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F	p
MASA PLODA	Stablo	89	6573,60	73,86	71,25	0,0000
	Ponavljanje	2	563,61	281,80	271,83	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	561,24	3,15	3,04	0,0000
	Pogreška	2430	2519,13	1,04		
	Ukupno	2699	10217,58			
ŠIRINA PLODA	Stablo	89	17591	198	65,9	0,0000
	Ponavljanje	2	1217	608	202,7	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	1617	9	3,0	0,0000
	Pogreška	2430	7293	3		
	Ukupno	2699	27718			
DEBLJINA PLODA	Stablo	89	7216,6	81,1	26,0	0,0000
	Ponavljanje	2	550,2	275,1	88,2	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	1024,2	5,8	1,8	0,0000
	Pogreška	2430	7578,1	3,1		
	Ukupno	2699	16369,2			
DUŽINA PLODA	Stablo	89	11451	129	56,2	0,0000
	Ponavljanje	2	647	324	141,4	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	835	5	2,1	0,0000
	Pogreška	2430	5561	2		
	Ukupno	2699	18495			
DUŽINA OŽILJKA	Stablo	89	11571,7	130,0	23,1	0,0000
	Ponavljanje	2	910,7	455,3	81,0	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	1455,2	8,2	1,5	0,0000
	Pogreška	2430	13663,4	5,6		
	Ukupno	2699	27601,0			
ŠIRINA OŽILJKA	Stablo	89	4080,7	45,9	27,5	0,0000
	Ponavljanje	2	198,1	99,0	59,4	0,0000
	Stablo*ponavljanje	178	401,4	2,3	1,4	0,0000
	Pogreška	2430	4050,0	1,7		
	Ukupno	2699	8730,1			

PRILOG 1

Spisak tabela

Tabela 1. Sistematska pripadnost *Castanea sativa* Mill....8
Tabela 2. Vrste i porijeklo kestena....8
Tabela 3. Botanička vrsta kestena (FAO CORPORATE DOCUMENT REPOSITORY, MENCARELLI,2001)....9
Tabela 4. Proizvodnja ploda pitomog kestena u Evropi (www.faostat)....13
Tabela 5. Proizvodnja ploda pitomog kestena u Aziji (www.faostat)....14
Tabela 6. Poređenje najčešće korišćenih markera (MATARUGA ET AL. 2005) 26
Tabela 7. Pripadnost istraživanih lokaliteta prema ekološko-vegetacijskoj rejonizaciji BiH (STEFANOVIĆ ET AL. 1983) 30
Tabela 8. Položaj i stanišne karkateristike 30
Tabela 9. Karakteristike nalazišta 32
Tabela 10. Opis gazdinskih klasa 32
Tabela 11. Meteorološke stanice-položaj 34
Tabela 12. Prosječna godišnja temperatura vazduha (period 1961-1990) 37
Tabela 13. Prosječna godišnja količina padavina (period 1961-1990)....37
Tabela 14. Relativno godišnje kolebanje padavina 38
Tabela 15. Kišni faktor po *Lang*-u 38
Tabela 16. Klasifikacija klime prema *Lang*-u 39
Tabela 17. Indeks suše po *De Martonne*-u....39
Tabela 18. Klimatski indeks po *Thornthwaite*-u 40
Tabela 19. Klimatski indeks po *Thornthwaite*-u za vegetacioni period 40
Tabela 20. Položaj meteoroloških stanica prikpljenih podataka za 2011 i 2012. godinu....43
Tabela 21. Prosječne mjesečne temperature vazduha 44
Tabela 22. Prosječne mjesečne količine padavina 45
Tabela 23. Fizička svojstva zemljišta....57
Tabela 24. Hemijska svojstva zemljišta 58
Tabela 25. Ekološke karakteristike ispitivanih sastojina sa pitomim kestenom 61
Tabela 26. Ftocenološka tabela 65
Tabela 27. Sadržaj istraživanja....69
Tabela 28. Oznake stabala sa kojih su sakupljani uzorci za kvantitativnu i kvalitativnu analizu 70
Tabela 29. Sekvence korišćenih markera 91
Tabela 30. Softverski paketi za obradu podataka za genetičku analizu 96
Tabela 31. Deskriptivna statistika za analizirane elemente....98
Tabela 32. Parametri deskriptivne statistike za mjerene veličine lista 109
Tabela 33. Parametri deskriptivne statistike za izvedena morfometrijska svojstva lista....111

Tabela 34. Analiza varijanse za mjerene osobine listova 112
Tabela 35. Analiza varijanse za izvedene osobine listova 112
Tabela 36. Duncan test za morfološka svojstva listova 113
Tabela 37. Dvofaktorijalna analiza varijanse za mjerene osobine listova 114
Tabela 38. Dvofaktorijalna analiza varijanse za izvedene osobine lista 115
Tabela 39. Pokazatelji značaja ispitivanih svojstava u razlikovanju populacija isključivanjem iz diskriminacionog moedela sa svim svojstvima 117
Tabela 40. Statistika za sukcesivne kanoničke varijable 117
Tabela 41. Standarizovani koeficijenti kanoničkih varijabli 118
Tabela 42. Diskriminativna opterećenja između kanoničkih varijabli i mjerenih svojstava 119
Tabela 43. Sredine kanoničkih varijabli po grupama 121
Tabela 44. Ocjena habitusa prema UPOV (1989) 123
Tabela 45. Boja plodova pitomog kestena 126
Tabela 46. Parametri deskriptivne statistike za mjerene osobine ploda 128
Tabela 47. Procentualno učešće ploda po klasifikaciji BELLINI ET AL. (2009) 129
Tabela 48. Prosječne vrijednosti karakteristike kestena za ukupan broj ploda u 1 kg 131
Tabela 49. Klasifikacija kestena prema širini ploda 133
Tabela 50. Parametri deskriptivne statististike za izvedene veličine ploda 137
Tabela 51. Oblik ploda 138
Tabela 52. Analiza varijanse za morfometrijske osobine ploda 143
Tabela 53. Duncan test za morfološka svojstva ploda 144
Tabela 54. Dvofaktorijalna analiza varijanse za mjerene osobine plodova 145
Tabela 55. Dvofaktorijalna analiza varijanse za izvedene osobine plodova 146
Tabela 56. Pokazatelji značaja ispitivanih svojstava ploda u razlikovanju populacija isključivenjem iz diskriminacionog moedela sa svim svojstvima 147
Tabela 57. Statistika za sukcesivne kanoničke varijable ploda pitomog kestena 147
Tabela 58. Standarizovani koeficijenti kanoničkih varijabli mjerenih svojstava ploda 148
Tabela 59. Diskriminativna opterećenja između kanoničkih varijabli i mjerenih svojstava ploda 149
Tabela 60. Sredine kanoničkih varijabli po populacijama 151
Tabela 61. Hemijski sastav oljuštenih plodova pitomog kestena 155
Tabela 62. Hemijski sastav neoljuštenih plodova pitomog kestena 155
Tabela 63. Analiza varijanse klijavosti sjemena na nivou populacija po godinama istraživanja 164
Tabela 64. Duncan test za parametre klijavosti sjemena 165
Tabela 65. Prosječne vrijednosti TZ-testa u prvoj godini istraživanja 167
Tabela 66. Prosječne vrijednosti TZ-testa u drugoj godini istraživanja 167
Tabela 67. Broj alela po genskom lokusu po populacijama 170
Tabela 68. Alelne frekvencije po populacijama za 6 genskih lokusa 171
Tabela 69. Broj jedinstvenih alela po lokusima i populacijama 173

Tabela 70. Bogatstvo alela po populacijama i lokusima 174
Tabela 71. Efektivni broj alela po populacijama i lokusima 174
Tabela 72. Parametri genetičke raznolikosti 177
Tabela 73. Prosječne vrijednosti Ho, He i F_{IS} prametara genetičke raznolikosti 178
Tabela 74. Genetičko usko grlo primjenom tri mutacijska modela 180
Tabela 75. Matrica vrijednosti indeksa genetičke diferencijacije 182
Tabela 76.. Parametri F – statistike 183
Tabela 77. Nei genetska distanca 189
Tabela 78. Prosječan udio pripadnosti (Q) istraživanih populacija pitomog kestena izvornim populacijama 194

PRILOG 2

Spisak slika

Slika 1. Areal pitomog kestena (FERNÁNDEZ-LOPEZ I ALIA 2003) 5
Slika 2. Kora mladog stabla (orig. 2012) 12
Slika 3. Kora starog stabla (orig. 2012) 12
Slika 4. Zimska grančica (orig. 2014) 12
Slika 5. Muški i ženski cvjetovi (orig. 2012) 12
Slika 6. Bodljikavi omotač (orig. 2013) 12
Slika 7. Plod (orig. 2012) 12
Slika 8. Geografski položaj istraživanih lokaliteta, BU-Bužim, KO-Kostajnica, BL-Banjaluka, PR-Prijedor, BR-Bratunac i KC-Konjic 29
Slika 9. Položaj istraživanih populacija u kontekstu eko-vegetacijskog područja u BiH (STEFANOVIĆ ET AL. 1979) 31
Slika 10. Klima Bosne i Hercegovine (izvor: HMZFBiH) 33
Slika 11. Pedološki profil 1 (orig. 2011) 48
Slika 12. Izgled vegetacije - BL (orig. 2011) 48
Slika 13. Pedološki profil 2 (orig. 2011) 50
Slika 14. Izgled vegetacije - PR (orig. 2011) 50
Slika 15. Pedološki profil 3 (orig. 2011) 51
Slika 16. Izgled vegetacije - KO (orig. 2011) 51
Slika 17. Pedološki profil 4 (orig. 2011) 52
Slika 18. Izgled vegetacije - BU (orig. 2011) 52
Slika 19. Pedološki profil 5 (orig. 2011) 53
Slika 20. Izgled vegetacije - KC (orig. 2011) 53
Slika 21. Pedološki profil 6 (orig. 2011) 54
Slika 22. Izgled vegetacije - BR (orig. 2011) 54
Slika 23. Raspored selekcionisanih stabala - Banjaluka (BL) 71
Slika 24. Raspored selekcionisanih stabala - Kostajnica (KO) 71
Slika 25. Raspored selekcionisanih stabala - Bužim (BU) 72
Slika 26. Raspored selekcionisanih stabala - Prijedor (PR) 72
Slika 27. Raspored selekcionisanih stabala - Bratunac (BR) 73
Slika 28. Raspored selekcionisanih stabala - Konjic (KC) 73
Slika 29. Habitus stabla (UPOV 1989) 75
Slika 30. Uzorci ploda (orig. 2012) 77
Slika 31. Sakupljanje zimskih grančica u populaciji Bratunac (orig. 2013) 78
Slika 32. Uzorci zimskih grančica (orig. 2013) 78

Slika 33. Mjerena svojstva lista 80
Slika 34. Oblik vrha lista prema GLIŠIĆU (1969) 81
Slika 35. Oblici osnove lista (UPOV 1989) 81
Slika 36. Oblik margine lista prema UPOV (1989) 82
Slika 37. Mjerene karakteristike ploda 83
Slika 38. Oblik ploda po UPOV metodi 83
Slika 39. Plod tretiran fungicidom (orig. 2012.) 84
Slika 40. Postavljanje pitomog kestena na naklijavanje (orig. 2012) 85
Slika 41. Faza pripreme ploda (ISTA 2003) 86
Slika 42. Primjer nevitalnog ploda (ISTA 2003) 86
Slika 43. Pripremljen uzorak neoljušten (lijevo) i oljušten (desno) (orig. 2011.) 87
Slika 44. Pripremna faza (orig. 2013) 88
Slika 45. Usitnjavanje biljnog materijala (orig. 2013) 89
Slika 46. Uzorci u centrifugi i gornji sloj taloga u kojoj se nalazi DNK (original 2013) 89
Slika 47. Sušenje 90
Slika 48. Talog DNK 90
Slika 49. Varijabilnost plodova po obliku 140
Slika 50. Izgled ježice i plodova pitomog kestena 153
Slika 51. Naklijavanje sjemena, test (orig. 2012) 166
Slika 52. Tetrazolijum test (orig. 2012) 166
Slika 53. Prikaz najmanje i najveće Nei genetičke distance između populacija 1-BU, 2-KO, 3-PR, 4-BL, 5-BR, 6-KC 189
Slika 54. Struktura izvornih populacija na osnovu Bayesovske analize pomoću programa STRUCTURE pri K=2 i K=6; Oznake populacija 1-BL, 2-BR, 3-BU, 4-KC, 5-KO, 6-PR 194
Slika 55. Struktura populacija pri K=2 195
Slika 56. Struktura populacija pri K=6 196

PRILOG 3

Spisak grafikona

Grafikon 1, 2, 3, 4, 5, 6. Analiza prema *Thornthwaite - Mether*-u za period 1961-1990. po meteorološkim stanicama. 41
Grafikon 7. Usporedba srednjih temperatura sa referentnim periodom 46
Grafikon 8. Usporedba količine padavina sa referentnim perioda 46
Grafikon 9. Varijabilnost aritemetičkih sredina analiziranih prečnika 99
Grafikon 10. Varijabilnost aritmetičkih sredina analiziranih visina 99
Grafikon 11. Učešće oblika osnove lista po populacijama i godinama istraživanja 101
Grafikon 12. Učešće oblika osnove lista za sve istraživane populacije 102
Grafikon 13. Oblik vrha lišća po populacijama i godinama 103
Grafikon 14. Oblik vrha lišća za sve populacije 103
Grafikon 15. Margina listova 104
Grafikon 16. Margina lista za sve istraživane populacije 105
Grafikon 17. Prikaz rezultata prve i druge kanoničke varijable na nivou stabala ispitivanih populacija 120
Grafikon 18. Prikaz centroida ispitivanih populacija za prve dvije kanoničke varijable 121
Grafikon 19. Klaster analiza za mjerena svojstva listova 122
Grafikon 20. Procentualno učešće ploda po kategorijama za sve istraživane populacije 129
Grafikon 21. Klasifikacija ploda kestena na osnovu širine ploda 133
Grafikon 22. Procentualno učešće oblika ploda po populacijama u obe godine istraživanja 139
Grafikon 23. Varijabilnost srednjih vrijednosti mase ploda 141
Grafikon 24. Varijabilnost srednjih vrijednosti širine, debljine, dužine ploda, dužine i širine ožiljka 141
Grafikon 25. Varijabilnost srednjih vrijednosti izvedenih veličina ploda 141
Grafikon 26. Prikaz rezultata prve i druge kanoničke varijable na nivou stabala ispitivanih populacija za mjerena svojstva ploda 150
Grafikon 27. Prikaz centroida ispitivanih populacija za prve dvije kanoničke varijable za svojstva ploda 151
Grafikon 28. Klaster analiza istraživanih populacija za mjerena morfometrijska obilježja ploda 152
Grafikon 29. Klijavost sjemena (ploda) u prvoj godini istraživanja 160
Grafikon 30. Klijavost sjemena (ploda) u drugoj godini istraživanja 160
Grafikon 31. Koeficijent varijacije za klijavost sjemena u prvoj godini istraživanja 162
Grafikon 32. Koeficijent varijacije za klijavost sjemena u drugoj godini istraživanja 162
Grafikon 33. Razlike klijavosti sjemena na nivou populacija u 2011. godini 163
Grafikon 34. Razlike klijavosti sjemena na nivou populacija u 2012. godini 163

Grafikon 35. Variranja ispitivanih parametara kvaliteta sjemena u interakciji populacija*godina 165
Grafikon 36. Učešće pojedinih kategorija ploda (sjemena) u TZ-testu u prvoj godini istraživanja.....168
Grafikon 37. Učešće pojedinih kategorija ploda (sjemena) u TZ-testu u drugoj godini istraživanja...168
Grafikon 38. Odnos laboratorijske klijavosti i vitaliteta sjemena pitomog kestena.....169
Grafikon 39. Ordinacija populacija na osnovu matrice F_{ST}.....182
Grafikon 40. Analiza molekularne varijanse između i unutar šest populacija pitomog kestena.....185
Grafikon 41. Koordinatna analiza 6 populacija pitomog kestena - kordinata 1 i 2.....186
Grafikon 42. Koordinatna analiza 6 populacija pitomog kestena - koordinata 1 i 3.....187
Grafikon 43. UPGMA dendrogram.....188
Grafikon 44. Mantel-ov test za utvrđivanje korelacije između geografske distance i genetičke distance između parova istraživanih populacija.....190
Grafikon 45. Mantel-ov test za utvrđivanje korelacije između geografske distance i genetičke diferencijacije između parova istraživanih populacija.....191
Grafikon 46. ΔK (EVANO ET AL. 2005), baziran na veličini promjene između dvije vrijednosti.....192
Grafikon 47. Metod po PRITCHARDU ET AL. (2000), baziran na određivanju K vrijednosti prema lnP(D) vrijednostima (log probability of data).....193

Spisak shema

Shema 1. Osnovne sukcesivne etape u modelu osnivanja, funkcionisanja i korišćenja sjemenske plantaže za proizvodnju F1 generacije: *Castanea sativa* Mill., recipročno 205

BIOGRAFIJA AUTORA

Vanja Daničić je rođena od oca Bude Budimira i majke Branislave Budimir (rođene Olujić) 29.08.1974. godine u Bihaću. Završila je srednju Hemijsko - tehnološku školu u Beogradu 1992. godine i srednju Ekonomsku školu u Bihaću 1991. godine. Diplomirala je na Šumarskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2002. godine sa prosječnom ocjenom 8,50 i stekla zvanje diplomirani inženjer šumarstva. Na Šumarskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2008. godine je odbranila magistarski rad pod naslovom "Međuklonski varijabilitet u sjemesnkoj plantaži bijelog bora (*Pinus sylvestris* L.) na lokalitetu Stanovi Doboj", sa prosječnom ocjenom 10,00 i stekla zvanje magistar nauka iz oblasti šumarstva.

Autor i/ili koautor je 43 objavljenih naučnih publikacija u časopisima i na konferencijama u zemlji i inostranstvu, od kojih su 5 objavljeni radovi u časopisima sa SCI liste i 3 knjige. Boravila je na više stručnih i naučnih usavršavanja: Parco Monte Barro, Lombardy Seed Bank, Universita degli Studi di Pavia, Italy, (2005); Šumarski fakultet Univerzitet u Firenci 2007. godine; ASP - Bayerisches Amt für forstliche Saat-und Pflanzenzuch, Teisendorf, Njemačka 2013. i 2015. godine; Training Course on New Genetic Engineering Technigues for Tree Improvement, Oeiras Portugal, 2014. godine; Treninig school Genetic diversity of marginal populations: from genomics to phenotypic variation, Novi Sad Srbija, 2016. godine.

Član je „Društva gentičara Srbije" sekcije za oplemenjivanje organizama.

Udata je, majka dvoje djece.

Izjava 1

IZJAVA O AUTORSTVU

Izjavljujem
da je doktorska disertacija

Naslov rada: „Genetički diverzitet i morfološko-pomološki varijabilitet populacija pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Bosni i Hercegovini“

Naslov rada na engleskom jeziku: „Genetic Diversity and morphological and pomological variability of chestnut population (*Castanea sativa* Mill.) in Bosnia and Herzegovina“

- [x] rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- [x] da doktorska disertacija, u cjelini ili u dijelovima, nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- [x] da su rezultati korektno navedeni i
- [x] da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

U Banjoj Luci _____ Potpis doktoranta

_____

Izjava 2

Izjava kojom se ovlašćuje Univerzitet u Banjoj Luci da doktorsku disertaciju učini javno dostupnom

Ovlašćujem Univerzitet u Banjoj Luci da moju doktorsku disertaciju pod naslovom „Genetički diverzitet i morfološko-pomološki varijabilitet populacija pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Bosni i Hercegovini“

koja je moje autorsko djelo, učini javno dostupnom.

Doktorsku disertaciju sa svim prilozima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo
2. Autorstvo – nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – dijeliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – dijeliti pod istim uslovima

U Banjoj Luci _____ Potpis doktoranta

_____

Izjava 3

Izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije

Ime i prezime autora: Vanja Daničić

Naslov rada: Genetički diverzitet i morfološko-pomološki varijabilitet populacija pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Bosni i Hercegovini

Mentor: Prof. dr Vasilije Isajev

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije identična elektronskoj verziji koju sam predala za digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci.

U Banjoj Luci _____ Potpis doktoranta

_____