

INSTITUCIONALNI ISTRAŽIVAČKI PROJEKT

Genetska, fenotipska i ekološka karakterizacija izvora šumskog reprodukcijskog materijala gospodarski važnih hrastova - ŠRM *Quercus*

OPIS PROJEKTA:

Osnovni cilj gospodarenja šumama je osiguravanje potrajnosti i održivosti šumskih ekosustava u gospodarskom i ekološkom smislu, pogotovo u kontekstu klimatskih promjena. Suvremeno gospodarenje šumama neodvojivo je od brige za očuvanje adaptivnosti i bioraznolikosti ekosustava.

Jedna od najvažnijih stavki održivog gospodarenja je osiguravanje prikladnog šumskog reprodukcijskog materijala (ŠRM) za obnovu sastojina.

Klimatske promjene dovele su do potrebe za nizom istraživanja šumskih ekosustava kako bi se na razini Europe moglo kvalitetno raspravljati o širokom prometovanju ŠRMom u svjetlu sadašnjih i budućih ekoloških uvjeta. Istraživanja podrazumijevaju genetsku karakterizaciju vrsta i njihovih sastojina različitim molekularnim i morfološkim markerima te povezivanjem raznih aspekata genetske raznolikosti sa ekološkim uvjetima (Toth i dr. 2023, Temunović i dr. 2020)

Radi osiguravanja dostupnosti znanstveno utemeljeno kvalitetnog ŠRMa neophodne su tri predispozicije:

- 1) genetska i ekološka karakterizacija populacija ciljanih vrsta kako bi se detaljno upoznale značajke ŠRMa proizvedenog u raznim područjima provenijencija, odnosno značajke ŠRMa kojeg je u izostanku prirodne obnove potrebno unijeti na određeno područje.
- 2) razvoj metoda monitoringa reproduktivne fenologije i uroda uz paralelno praćenje ekoloških uvjeta za potrebe kreiranja modela za predviđanje uroda u uvjetima klimatskih oscilacija
- 3) razvoj biotehnoloških mjera za stimulaciju plodonošenja u kontroliranim uvjetima proizvodnje ŠRMa (plantaže), pogotovo u situacijama kada je pojava uroda u prirodnim populacijama ugrožena.

Ovaj projekt se bavi upravo problematikom navedenih predispozicija u okviru gospodarski i ekološki važnih vrsta hrastova u Hrvatskoj i njihovog međusobnog odnosa. Osnovni cilj prva tri radna paketa ovog projekta je genetska, morfološka i ekološka karakterizacija odabranih sastojina hrasta kitnjaka (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) na različitim staništima, s naglaskom na dodirna područja sa hrastom lužnjakom (*Quercus robur* L.) i hrastom meduncem (*Quercus pubescens* Willd.). Četvrti paket istražuje potencijal ŠRMa hrasta lužnjaka za upotrebu u adekvatnim uvjetima. Ova istraživanja obuhvaćaju dosad neistraženo područje areala ovih vrsta, koristeći inovativne metode i osiguravajući znanstvene spoznaje neophodne za pravilnu primjenu Zakona o šumskom reprodukcijskom materijalu (Bogdan i dr. 2024). Cilj zadnjeg radnog paketa odnosi se na druge dvije predispozicije za znanstveno utemeljeno pridobivanje adekvatnog ŠRMa; monitoring i istraživanje reproduktivne fenologije i uroda te razvoj inovativnih biotehnoloških mjera za poboljšanje uroda. Urodi žira značajno variraju prostorno

i vremenski, uvjetovani akumulacijom fotoasimilata i vremenskim čimbenicima. Nedostatak sustavnih podataka u Hrvatskoj motivira potrebu za istraživanjem radi osiguranja kvalitetnih izvora autohtonog ŠRMa.

Na Zavodu za šumarsku genetiku, dendrologiju i botaniku se kroz nekoliko projekata istraživala problematika genetske i ekološke karakterizacije populacija hrasta lužnjaka u Hrvatskoj i Europi. Pritom su molekularnim biljezima (kloroplastnim i jezgrinim SSR biljezima, te potencijalno adaptivnim biljezima iz genskih regija DNA), te metodama kvantitativne genetike analizirane populacije i plantaže lužnjaka (Franjić i dr. 2011, Bogdan i dr. 2017, Katičić Bogdan i dr. 2018, Katičić Bogdan i dr. 2019, Temunović i dr. 2020, Gavranović Markić i dr. 2022, Popović i dr. 2023, Sever i dr. 2023, Bačurin i dr. 2025) a u genetičkom testu ispitivan je utjecaj suše na različita svojstva biljaka iz europskih i hrvatskih populacija (Čehulić i dr. 2019). Ovim je projektom predviđeno daljnje proširenje istraživanja na lužnjaku.

Fiziološka i fenološka svojstva pod utjecajem suše i sadržaja fosfora u tlu ispitivana su na po dvije populacije hrasta kitnjaka i obične bukve (Sever i dr. 2022, Bačurin i dr. 2023, Vukmirović i dr. 2024 a, 2024b, 2025). Međutim, sveukupno su populacije hrasta kitnjaka u Hrvatskoj vrlo slabo istražene.

Genetska varijabilnost hrasta kitnjaka rezultat je složene interakcije klimatske povijesti, postglacijalnih migracija, hibridizacije sa srodnim vrstama, okolišnih uvjeta i ljudskog djelovanja. Razumijevanje tih faktora ključno je za očuvanje vrste i razumijevanje genetskih značajki ŠRMa nastalog u populacijama pod utjecajem evolucijskih procesa. Zbog učestale hibridizacije s hrastom lužnjakom i meduncem, istraživane prvo morfološkim, a kasnije molekularnim metodama, kitnjak se često promatra kao dio kompleksa vrsta (Kremer i sur. 1991, Bacilieri i dr. 1996, Petit i dr. 1997, Gömöry i dr. 2001, Petit i dr. 2004, Curtu i dr. 2007a, 2007b, Gugerli i dr. 2008, Lepais i dr. 2009, Neophytou i dr. 2010, Antonecchia i dr. 2015, Toth i dr. 2023, Reutimann i dr. 2023). Većina dosadašnjih istraživanja fokusirala se na zapadne populacije, dok su jugoistočne slabije istražene.

RADNI PAKETI (RP)

- 1. Genetska karakterizacija prirodnih populacija hrasta kitnjaka te potencijalnih hibrida sa lužnjakom i meduncem, pomoću molekularnih metoda** - U 25 populacija kitnjaka bit će uzorkovani listovi sa po 20 jedinki. Na odabranim dodirnim područjima sa lužnjakom ili meduncem bit će uzorkovane i populacije lužnjaka i medunca. Bit će izolirana DNA i analizirana pomoću molekularnih biljega. Izolacija i priprema DNA uzoraka i statistička analiza podataka bit će napravljena u Molekularno-biološkom laboratoriju FŠDT, a genotipizacija pomoću molekularnih biljega u laboratoriju PGTB, Université de Bordeaux – INRAE.

Ciljevi - Utvrditi genetsku varijabilnost uzorkovanih populacija i njezinu moguću povezanost s klimatskim čimbenicima te molekularno identificirati potencijalne hibride.

- 2. Morfološka karakterizacija prirodnih populacija hrasta kitnjaka te potencijalne hibridizacije sa lužnjakom i meduncem.**

Na istim jedinkama bit će prikupljeni uzorci po 20 listova. Materijal će biti herbariziran i skeniran u Laboratoriju za morfologiju i anatomiju bilja FŠDT, te analiziran pomoću softvera WinFOLIA (Leaf Morphology).

Ciljevi - utvrđivanje morfološke varijabilnosti populacija kitnjaka, lužnjaka i medunca i identifikacija mogućih hibrida.

3. Floristička i ekološka karakterizacija staništa prirodnih populacija hrasta kitnjaka te staništa potencijalne hibridizacije sa lužnjakom i meduncem.

U odabranim populacijama kitnjaka, medunca i lužnjaka bit će uzorkovana vegetacija pomoću fitocenoloških snimki, standardnom srednjeeuropskom metodom. Na svakoj snimci odredit će se geomorfološke značajke staništa koje uključuju geografske koordinate, nadmorsku visinu, izloženost i nagib terena. Analiza diferencijacije karakterističnih staništa i istraživanje njihovog odnosa s okolišnim varijablama provest će se metodom nemetričkog višedimenzionalnog skaliranja (NMDS) korištenjem Bray-Curtisove matrice sličnosti. Nemetričko višedimenzionalno skaliranje s pasivnom projekcijom okolišnih varijabli provest se korištenjem R paketa ‘vegan’ upravljanim softverom za vegetacijske snimke JUICE. Za svaku vegetacijsku snimku odredit će se dijagnostičke, konstantne i dominantne vrste te udio životnih oblika i ekološke indikatorske vrijednosti.

Ciljevi – Utvrditi florističke i ekološke značajke tipičnih staništa šuma hrasta kitnjaka, medunca i lužnjaka te istražiti koji ekološki čimbenici imaju najveći utjecaj na genetsku strukturu populacija i određenu razinu hibridizacije između kitnjaka i medunca te kitnjaka i lužnjaka

4. Identifikacija potencijalno prikladnog ŠRMa hrasta lužnjaka u uvjetima klimatskih promjena

Istražit će se otpornost, elastičnost i oporavak fenotipskih značajki (fotosinteze i visinskog rasta) odabranih hrvatskih i europskih provenijencija lužnjaka pod utjecajem dugotrajne suše u genetičkom testu lužnjaka.

Cilj - identifikacija populacija koje su najprilagodljivije na sušni stres u kontekstu klimatskih promjena. Takve populacije mogle bi predstavljati izvor ŠRMa koji će omogućiti prilagodbu lužnjaka u ugroženim područjima.

5. Reproductivna fenologija i poboljšanje uroda

Istraživanje će se provoditi u klonskoj sjemenskoj plantaži na 50 stabala hrasta lužnjaka, gdje će biti označene četiri grane za standardizirano praćenje fenologije. Kontinuirano će se pratiti meteorološki uvjeti putem automatskih senzora za temperaturu, vlagu i količinu oborina. Urod žira kvantificirat će se standardiziranim metodama procjene, brojanja i vaganja.

Eksperimentalno će se primijeniti ciljne biotehnološke mjere (gnojidba, zaštita lisne mase) za povećanje uroda. Prikupljeni podaci analizirat će se mješovitim linearnim modelima (LMM), generaliziranim mješovitim linearnim modelima (GLMM) te naprednim metodama strojnog učenja poput *random forests* i *gradient boosting*.

Cilj – utvrđivanje dinamike reproductivne fenologije i uroda, preciznih prediktivnih modela te formuliranje znanstveno utemeljenih preporuka za optimizaciju gospodarenja hrastovim plantažama i očuvanje njihove genetske raznolikosti.

Literatura:

Antonecchia, G., Fortini, P., Lepais, O., Gerber, S., Legér, P., Scippa, G. S., & Viscosi, V. (2015). Genetic structure of a natural oak community in central Italy: Evidence of

gene flow between three sympatric white oak species (*Quercus*, Fagaceae). *Annals of Forest Research*, 58(2), 205-216.

Bacilieri, R., Ducouso, A., Petit, R. J., & Kremer, A. (1996). Mating system and asymmetric hybridization in a mixed stand of European oaks. *Evolution*, 50(2), 900-908

Bačurin, M., Bogdan, S., Katičić Bogdan, I., & Sever, K. (2023). Leaf Phenological Responses of Juvenile Beech and Oak Provenances to Elevated Phosphorus. *Forests*, 14(4), 834.

Bačurin, M., Katičić Bogdan, I., Sever, K., & Bogdan, S. (2025). The Effects of Drought Timing on Height Growth and Leaf Phenology in Pedunculate Oak (*Quercus robur* L.). *Forests*, 16(3), 397.

Bogdan, S., Ivanković, M., Temunović, M., Morić, M., Franjić, J., & Bogdan, I. K. (2017). Adaptive genetic variability and differentiation of Croatian and Austrian *Quercus robur* L. populations at a drought prone field trial. *Annals of Forest Research*, 60(1), 33-46.

Curtu, A. L., Gailing, O., & Finkeldey, R. (2007). Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 1-15.

Curtu, A. L., Gailing, O., Leinemann, L., & Finkeldey, R. (2007). Genetic variation and differentiation within a natural community of five oak species (*Quercus* spp.). *Plant Biology*, 9(01), 116-126.

Čehulić, I., Sever, K., Katičić Bogdan, I., Jazbec, A., Škvorc, Ž., & Bogdan, S. (2019). Drought impact on leaf phenology and spring frost susceptibility in a *Quercus robur* L. provenance trial. *Forests*, 10(1), 50.

Franjić, J., Sever, K., Bogdan, S., Škvorc, Ž., Krstonošić, D., & Alešković, I. (2011). Phenological asynchronization as a restrictive factor of efficient pollination in clonal seed orchards of pedunculate oak (*Quercus robur* L.). *Croatian Journal of Forest Engineering: Journal for Theory and Application of Forestry Engineering*, 32(1), 141-154.

Gavranović Markić, A., Bogdan, S., Gradečki Poštenjak, M., Lanščak, M., Vujnović, Z., Bogunović, S., & Ivanković, M. (2022). Acorn yields and seed viability of pedunculate oak in a 10-year period in forest seed objects across Croatia. *South-east European forestry: SEEFOR*, 13(1), 27-36.

Gömöry, D., Yakovlev, I., Zhelev, P., Jedináková, J., & Paule, L. (2001). Genetic differentiation of oak populations within the *Quercus robur*/*Quercus petraea* complex in Central and Eastern Europe. *Heredity*, 86(5), 557-563.

Gugerli, F., Brodbeck, S., & Holderegger, R. (2008). Utility of multilocus genotypes for taxon assignment in stands of closely related European white Oaks from Switzerland. *Annals of botany*, 102(5), 855-863.

Katičić Bogdan, I., Kajba, D., & Bogdan, S. (2019). Varijabilnost klonova u proizvodnji žira i njezin učinak na efektivne veličine populacija i genetsku raznolikost potomstva u klonskim sjemenskim plantažama hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u Hrvatskoj. *Šumarski list*, 143(3-4), 111-122.

Katičić Bogdan, I., Kajba, D., Šatović, Z., Schüller, S., & Bogdan, S. (2018). Genetic diversity of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in clonal seed orchards in Croatia, assessed by nuclear and chloroplast microsatellites. *South-east European forestry: SEEFOR*, 9(1), 29-46.

Kremer, A., Petit, R., Zanetto, A., Fougère, V., Ducousso, A., Wagner, D., & Chauvin, C. (1991). Nuclear and organelle gene diversity in *Quercus robur* and *Q. petraea*. Genetic variation in European populations of forest trees.

Lepais, O., Petit, R. J., Guichoux, E., Lavabre, J. E., Alberto, F., Kremer, A., & Gerber, S. (2009). Species relative abundance and direction of introgression in oaks. *Molecular Ecology*, 18(10), 2228-2242.

Neophytou, C., Aravanopoulos, F. A., Fink, S., & Dounavi, A. (2010). Detecting interspecific and geographic differentiation patterns in two interfertile oak species (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Q. robur* L.) using small sets of microsatellite markers. *Forest Ecology and Management*, 259(10), 2026-2035.

Petit, R. J., Bodénès, C., Ducousso, A., Roussel, G., & Kremer, A. (2004). Hybridization as a mechanism of invasion in oaks. *New Phytologist*, 161(1), 151-164.

Petit, R. J., Pineau, E., Demesure, B., Bacilieri, R., Ducousso, A., & Kremer, A. (1997). Chloroplast DNA footprints of postglacial recolonization by oaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(18), 9996-10001.

Popović, M., Katičić Bogdan, I., Varga, F., Šatović, Z., Bogdan, S., & Ivanković, M. (2023). Genetic diversity in peripheral pedunculate oak (*Quercus robur* L.) provenances—Potential climate change mitigators in the center of distribution despite challenges in natural populations. *Forests*, 14(12), 2290.

Sever, K., Bogdan, S., & Škvorc, Ž. (2023). Response of photosynthesis, growth, and acorn mass of pedunculate oak to different levels of nitrogen in wet and dry growing seasons. *Journal of Forestry Research*, 34(1), 167-176.

Sever, K., Vukmirović, A., Hodak, L., Bogdan, S., Katičić Bogdan, I., Krstonošić, D., ... & Škvorc, Ž. (2022). Funkcionalna prilagodba prirodnog pomlatka hrasta kitnjaka i obične bukve na različite stanišne prilike. *Šumarski list*, 146(7-8), 293-307.

Temunović, M., Garnier-Géré, P., Morić, M., Franjić, J., Ivanković, M., Bogdan, S., & Hampe, A. (2020). Candidate gene SNP variation in floodplain populations of

pedunculate oak (*Quercus robur* L.) near the species' southern range margin: Weak differentiation yet distinct associations with water availability. *Molecular ecology*, 29(13), 2359-2378.

Tóth, E. G., Cseke, K., Benke, A., Lados, B. B., Tomov, V. T., Zhelev, P., ... & Köbölkuti, Z. A. (2023). Key triggers of adaptive genetic variability of sessile oak [*Q. petraea* (Matt.) Liebl.] from the Balkan refugia: outlier detection and association of SNP loci from ddRAD-seq data. *Heredity*, 131(2), 130-144.

Vukmirović, A., Škvorc, Ž., Bogdan, S., Krstonošić, D., Bogdan, I. K., Karažija, T., ... & Sever, K. (2024). Photosynthetic response to phosphorus fertilization in drought-stressed common beech and sessile oak from different provenances. *Plants*, 13(16), 2270.

Vukmirović, A., Škvorc, Ž., Bogdan, S., Krstonošić, D., Bogdan, I. K., Karažija, T., ... & Sever, K. (2025). The Role of Phosphorus Fertilization in Antioxidant Responses of Drought-Stressed Common Beech and Sessile Oak Provenances. *International journal of molecular sciences*, 26(7), 3053.

Vukmirović, A., Škvorc, Ž., Bogdan, S., Krstonošić, D., Katičić Bogdan, I., Karažija, T., ... & Sever, K. (2024). Effects of drought, phosphorus fertilization and provenance on the growth of common beech and sessile oak. *Forests*, 15(1), 219.

OČEKIVANI REZULTATI I POKAZATELJI:

1. Kreirana baza genotipova svih analiziranih jedinki, uključena u međunarodne baze podataka (GD2)
2. Kreirana baza podataka skeniranih listova svih istraživanih jedinki te baza podataka dobivena morfometrijskim mjerenjima
3. Kreirana baza vegetacijskih snimki tipičnih staništa hrasta kitnjaka, lužnjaka i medunca, te njihovih dodirnih područja, snimke pohranjene u digitalnu bazu vegetacijskih snimki Republike Hrvatske
4. Znanstvena publikacija s rezultatima molekularnih, morfoloških i ekoloških analiza objavljena ili pripremljena za objavu u časopisima indeksiranim u WoS/Scopus
5. Identificirane populacije hrasta lužnjaka prikladne kao izvor ŠRMa u uvjetima produljenog sušnog stresa, sa bazom podataka izmjera visinskog rasta i fotosinteze
Znanstvena publikacija s rezultatima istraživanja otpornosti provenijencija lužnjaka pod utjecajem dugotrajne suše objavljena ili pripremljena za objavu.
6. Kreirani modeli za predikciju uroda žira temeljeni na fenološkim i meteorološkim parametrima.
7. Znanstveno evaluirane biotehnoške mjere za stimulaciju uroda, sa pokazateljem u vidu postotka poboljšanja uroda
8. Znanstvena publikacija s rezultatima istraživanja RP5 objavljena ili pripremljena za objavu. Definirane preporuke za uvođenje inovacija u praksu gospodarenja klonskim sjemenskim plantažama.
Rezultati projekta diseminirani i prezentirani na relevantnim znanstvenim skupovima.
(4 usmene ili poster prezentacije projektnih rezultata na međunarodnim ili domaćim skupovima)

Iznos odobren za financiranje: 122.566,15 eur