

UDK: 635.076:634.18

Izvorni naučni rad *Original scientific paper*

UNUTARLOKUSNI POLIMORFIZAM *SORBUS SPP.* NA TERITORIJI REPUBLIKE SRBIJE

Galović Vladislava¹, Orlović Saša¹, Trudić Branislav¹, Pekeč Saša¹, Vasić Sreten¹

Izvod: Genus *Sorbus* sa svim svojim predstavnicima je morfološki divergentan, te je moguće na osnovu fenotipskih karakteristika odrediti taksonomsku pripadnost jedinki unutar jedne populacije na određenom lokalitetu. Predstavnici roda su karakteristični za šumski biodiverzitet Republike Srbije, mada se mogu naći i kao soliterne jedinke na određenim staništima različitog stepena pošumljenosti. Oskoruša (*Sorbus domestica*), brekinja (*S. torminalis*), muginja (*S. aria*) su predstavnici roda *Sorbus* koji se mogu naći na teritoriji južne, jugoistočne i centralne Srbije i koje imaju primenu u ljudskoj ishrani. Takođe su poznati po jedinstvenoj vrsta drveta za izradu alata, ogreva, nameštaja, instrumenata itd.

U radu je analiziran intralokusni polimorfizam uzorkovanih jedinki roda *Sorbus* sa 7 lokaliteta Republike Srbije- Bukovik I i II, Razni lokaliteti (teritorija koju određuju tačke- Bor, Čačak, Novi Pazar, Raška), Orovnica, planina Kopaonik, Roška Banja i Žirave. Ova vrsta analize je bila neophodna da bi se utvrdio unutarpopulacionog diverziteta na nivou analiziranih lokusa (MSS1, MSS6, MSS9, MSS13 i MSS16) koji predstavljaju karakteristične polimorfne markere. Rezultati su pokazali da postoji visok stepen alelnog polimorfizma unutar MSS16 lokusa i da postoje signifikantne razlike između samih populacija (Bukovik I i II najmanja vrednost alelnog polimorfizma $P_{asr}=26$; uzorci uzeti sa raznih lokaliteta-najveća vrednost alelnog polimorfizma $P_{asr}=66, 8$). Dobijeni rezultati predstavljaju svojevrsnu platformu za razvijanje daljih molekularno-genetičkih analiza roda na teritoriji Srbije, radi očuvanja genofonda i prirodnog biodiverziteta roda *Sorbus*.

Ključne reči: aleli, lokusi, *Sorbus spp.*, polimorfizam, populacije

INTRA-LOCI POLYMORPHISM OF *SORBUS SPP.* ON THE TERRITORY OF REPUBLIC OF SERBIA

Abstract: Genus *Sorbus*, with all its representatives, is morphologically divergent, and it is possible on the basis of phenotypic characteristics to determine the relative taxonomic background of individuals within a population in a particular locality. Representatives of the genus are characteristic of forest biodiversity of Serbia, although they can be found as solitary individuals in certain habitats of various degrees of forestation. The service tree

¹ Dr Galović Vladislava, naučni saradnik, dr Orlović Saša, naučni savetnik, dipl. biol. Trudić Branislav, istraživač saradnik, dr Pekeč Saša, naučni saradnik, dipl. ing. Vasić Sreten, tehnički saradnik, Institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Univerzitet u Novom Sadu, Antona Čehova 13, 21000 Novi Sad

(*Sorbus domestica*), *The wild service tree (S. torminalis)*, *The whitebeam (S. aria)* are the names of the representatives of the dominant species of genus *Sorbus* which can be found in the territory of southern, southeastern and central Serbia, and which are used in human nutrition, as well as a unique species wood for making different instruments, materials, fuel, furniture, tools, etc.

In our study we analyzed the intra-loci polymorphism in the genus *Sorbus* specimens sampled from 7 localities of the Republic of Serbia - Bukovik I and II, Various locations (the territory of which is determined by the point-Bor, Čačak, Novi Pazar, Raška), Orovica, Kopaonik mountain, Roška and Spa Žirave. This type of analysis was necessary to determine the initial stage intrapopulation diversity at the level of the analyzed loci (MSS1, MSS6, MSS9, MSS13 and MSS16), which are characteristic polymorphic markers. Our results showed that there is a high degree of allelic polymorphism within certain loci (MSS16) and that there are significant differences between the populations themselves (Bukovik and second lowest value of allelic polymorphism $Pa_{sr} = 26$; samples taken from various locations (Bor, Čačak, Novi Pazar, Raška) are of the largest value of allelic polymorphism $Pa_{sr} = 66, 8$). The results represent a platform for further development of molecular genetic analysis of the genus in Serbia, in order to preserve the gene pool and for breeding purposes.

Key words: alleles, loci, *Sorbus* spp., polymorphism, populations

UVOD

Rod *Sorbus* (ime: odnosi se na ukus plodova) (fam. *Rosaceae*) obuhvata preko 80 listopadnih vrsta drveća i žbunja severne hemisfere. Lišće im stoji naizmenično, prosto ili neparno perasto. Cvetovi su raspoređeni u gronjama. Prividni plod je raznih boja (Jovanović, 1991).

Predstavnici roda *Sorbus* su pionirske vrste, sa širokom ekološkom valencom. To su polusciofitne vrste, koje u mladosti dobro podnose prostore sa malo prirodnog osvetljenja, a kasnije tokom rasta i razvića, zahtevaju dosta svetla (slika 1.). Spadaju u termofilne do mezofilne vrste dosta otporne na sušu, hladnoću i kasne prolećne mrazove. U našim šumama su sporedne vrste, koja doprinosi biodiverzitetu, stabilnosti sastojine, pruža fizičku potporu glavnim vrstama drveća i doprinosi poboljšanju kvalitetu tla. Vrlo je osetljiva na kompeticiju ostalih vrsta u zajednici, te su za njen uspešan razvoj neophodne prikladne uzgojne mere. Stabla u seni rastu sporo, no u optimalnim svetlosnim i drugim stanišnim uslovima, raste brže od hrasta. Doživi starost oko 100 godina, a prema nekim izvorima i preko 200 godina (Jovanović, 1991; Nelson-Jones et al., 2002; Demesure-Musch i Oddou-Muratorio, 2004). Drvo dobijeno od *Sorbus* vrsta je sitnozrno, vrlo gusto i ima dobru otpornost na savijanje. Ova visoko cenjena karakteristika drveta se koristi u industriji nameštaja, izradi bilijarskih štapova, buradi u vinskoj industriji i izradi različitih muzičkih instrumenata. Takođe, drvo dobijeno iz stabala ovih vrsta je jedno od najvrednijih tvrdih drveta u Evropi i od 1990-ih, njihova eksploatacija je u izuzetnom porastu (Nelson-Jones et al., 2002; Demesure-Musch i Oddou-Muratorio, 2004).

U zapadnoj Evropi su prijavljene vrlo visoke cene koje postiže drvo *Sorbus spp.*, a kao posledica toga, dolazi do intenzivnog iskorišćavanja sa malo brige o kvalitetnoj obnovi te plemenite vrste (Nelson-Jones et al., 2002; Demesure-Musch i Oddou-Muratorio, 2004)

Puni urod je svake dve godine ili tri puta u četiri godine, a u sastojini plodonose stabla koja imaju osvetljenu krošnju. *Sorbus spp.* ima jaku izbojnu snagu iz korena i u prečniku oko matičnog stabla se mogu naći biljke istoga genotipa. Takav način vegetativnog razmnožavanja čest je kod potisnutih, zasenjenih stabala (Nelson-Jones et al., 2002, Demesure-Musch i Oddou-Muratorio, 2004).



Slika 1. *Sorbus spp.*-izgled cele biljke (preuzeto sa: <http://sophy.u-3mrs.fr/photohtm/SI4996.HTM>, 31.10.2012.)

Picture 1. *Sorbus spp.*-the look of the whole plant (taken from: <http://sophy.u-3mrs.fr/photohtm/SI4996.HTM>, 31.10.2012.)

Predstavnici roda *Sorbus* koji su karakteristični za diverzitet Republike Srbije

Sorbus domestica L.- Oskoruša je submediteranska vrsta sa severnom granicom u južnoj Švajcarskoj, južnom Tirolu i južnoj Mađarskoj. Izraste u drvo visoko do 20 m i staro do 500 godina. Kod nas se javlja u pojasevima hrastova, npr. u šumama sladuna-cera. Često je gajena kao zimska voćka. Ima dosta jaku izdanačku snagu iz panja. Predstavlja vrstu svetlosti i dobrog, plodnog zemljišta (Jovanović, 1991).

Brekinja (tačan taksonomski naziv: *Sorbus torminalis* L. (Crantz)) je diploidna vrsta ($2n = 2x = 34$ TT (Bailey et al., 2008)). Ova vrsta se može ukrštati sa još najmanje dve druge vrste iz roda *Sorbus*: *Sorbus aria* (mukinja-kod nas se javlja obično na karbonatnim zemljištima, na stenovitim terenima u pojasevima bukva-jela, ali i niže (Jovanović, 1991)) i *Sorbus aucuparia* ($2n = 2x = 34$ BB (Bailey et al., 2008)) (jarebika-ima izvesne morfološke sličnosti sa oskorošom, ali se ekološki bitno razlikuju i uspeva u visoko-planinskim predelima bukva-jela (Jovanović, 1991)). Hibridizacija sa *Sorbus aria* se posebno vrši tamo gde se staništa te dve vrste preklapaju. Većina tih hibrida su triploidi (*S. bristolensis*: $2n = 3x = 51$ AAT (Bailey et al. (2008)) a neke od njih (uglavnom *Sorbus latifolia* vrsta) su tetraploidi ($2n = 4x = 68$ AATT (Bailey et al., 2008)). Tako nastali hibridi se reprodukuju putem apomiksisa. Ovu vrstu karakteriše i brzorastuće stablo, koje dostiže maksimalnu visinu oko 80.-100. godine, kada su 20-25 m visoka i sa deblima 50-70 cm u prečniku. Izuzetni primerci stabala mogu narasti do 30 m visine i biti 1 m u prečniku, kada su oko 200 godina stari (Demesure-Musch i Oddou-Muratorio, 2004). Za ostale hromozomske formule i mape predstavnika roda *Sorbus*, preporučljivo je pogledati Bailey et al., (2008).

Brekinja daje hermafroditne cvetove i spada u retke vrste, koja se oprašuje insektima i drugim životinjama i od velikog je uzgojnog interesa (Demesure-Musch i Oddou-Muratorio, 2004). Prirodna distribucija ove vrste je uglavnom u delovima južne Evrope, na području Balkana i Apenina, u istočnoj Španiji i južnoj Francuskoj. Na istoku su registrovane individue ove vrste na poluotoku Krima i u Maloj Aziji. Srednje-centralna distribucija je registrovana u južnoj Nemačkoj, donjoj Austriji i na jugu Slovačke (Rotach, 2003). Brekinja favorizuje duboko i plodno tlo, ali može tolerisati veliki broj tipova tla, od karbonatnog, preko suvih do privremeno plavljenih. Ove vrste se mogu prilagoditi različitim klimatskim uslovima, ali se najčešće javljaju u nizijskim delovima zemlje sa umereno kontinentalnom klimom. *Sorbus torminalis* (brekinja) je često ugrožena od strane drugih vrsta, npr. bukve. Kada je prekrivena stablima i krošnjama drugih visokorastućih vrsta, *Sorbus spp.* brzo slabi. Vrste koje spadaju u rod *Sorbus*, spadaju u post-pionirske vrste i one se mogu naći kako rastu kao manje komponente hrastovih i bukovih šuma. Lako i brzo kolonizuju šumske čistine i šume male gustine, zahvaljujući velikoj disperziji semena (Demesure-Musch i Oddou-Muratorio, 2004).



Slika 2. *Sorbus torminalis* L. vrsta u vreme cvetanja (preuzeto sa: <http://sophy.u-3mrs.fr/photohtm/SI4996.HTM>, 31.10.2012.)

Picture 2. *Sorbus torminalis* L. species in the time of flowering (taken from: <http://sophy.u-3mrs.fr/photohtm/SI4996.HTM>, 31.10.2012.

Sve navedene vrste ovog roda se izuzetno cene u lovstvu, jer daju plodove različitih boja i hranjivog sastava i stoga privlače mnoge vrste ptica i sisara. Plodovi se takođe koriste za proizvodnju likera i drugih alkoholnih i konditorskih proizvoda, naročito u Nemačkoj, Austriji i Slovačkoj (Demasure-Musch i Oddou-Muratorio, 2004).

Genetička istraživanja roda *Sorbus*

Genetičke analize na regionalnim i višim geografskim nivoima su dale razne podatke o biodiverzitetu unutar populacija ovog roda, zahvaljujući upotrebi nuklearnih i molekularnih markera. Nivo razlika između populacija posmatran sa aspekta citoplazmatskih markera je bio iznenađujuće nizak u poređenju sa drugim evropskim širokolisnim vrstama. Za brekinju, protok gena među jedinkama u okvirima iste populacije je bio jednako zastupljen i preko polena i preko semena. Obrasci genetske raznolikosti na taj način ukazuju da je mnogo češće rasejavanje polena i semena na malim udaljenostima među stablima, kao što je i kod većine biljnih vrsta i da će rasejavanje na velike udaljenosti retko uticati na dugoročnu dinamiku genetske raznolikosti u ovim vrstama. To može biti opšti trend kod vrsta kod kojih se javlja kombinacija osobina kao što su dobra sposobnost rasejavanja i dinamika naseljavanja novih staništa. Studije na hloroplastnoj DNK (dezoksiribonukleinske kiseline) u evropskim razmerima su otkrile slabe filogeografske veze. Razlike u frekvencijama haplotipova, posmatrane između zapadnih i istočnih delova Evrope, može ukazivati na prisutnost različitih stanišnih

uslova u Evropi u periodu zadnje glacijacije (Demesure-Musch i Oddou-Muratorio, 2004; Demesure et al., 2000).

Sorbus vrste su osjetljive na intenzivnu interspecijsku kompeticiju i na antropogeni ekološki faktor. Stoga postoji visok rizik od ugrožavanja diverziteta ovih vrsta u gustim, visokim šumama koje sadrže visok udeo dugotrajnih vrsta. Visok nivo interspecijske konkurencije bi mogla sprečiti proces regeneracije i dovesti do lokalnog izumiranja *Sorbus* vrsta. Kao i kod većine šumskog drveća, fragmentacija prirodnog staništa oskoruše može izazvati snažan pad genetske raznolikosti kroz smanjenje broja jedinki, čime bi se naglo redukovao i protok gena unutar populacija. Fragmentacija staništa može dovesti do uništenja šuma ili ako upravljanje šumama nije usmereno u korist *Sorbus* vrsta. Inače se šume sastavljene od pretežno *Sorbus* vrsta karakterišu niskom gustinom na jedinici staništa i ovo se može izbeći prikupljanjem i sadnjom alohtonih semena dobijenih iz ograničenog broja nepoznatih stabala *Sorbus* jedinki (Demesure-Musch i Oddou-Muratorio, 2004, Demesure et al., 2000)

MATERIJAL I METODE

U tabeli 2. se može videti broj uzoraka uzetih sa svakog od lokaliteta. Našom genetičkom analizom je obuhvaćeno pet lokusa za koje se smatralo da mogu dati pouzdane podatke o genetičkom biodiverzitetu među jedinkama roda *Sorbus* uzetih sa različitih lokaliteta širom Srbije. Pretpostavka o pouzdanosti primenjenih markera je proistekla iz studije Oddou-Muratorio et al., koja je objavljena 2001. godine gde su autori izvestili o kloniranju i karakterizaciji 9 parova prajmera iz drvenaste vrste *Sorbus torminalis* i pokazali njihov pun potencijal za dalju upotrebu u 36 vrsta iz *Rosaceae* podfamilije- *Maloideae*, koja obuhvata važne voćkarice i ukrasne vrste. Ovi prajmeri su dizajnirani iz nukleotidne biblioteke konstruisane iz genomske DNK (dezoksiribonukleinske kiseline) *S. torminalis*. Od navedenih 9, odabrano je i analizirano 5 najpolimorfnijih lokusa razvijenih za *S. torminalis*: MSS1, MSS6, MSS9, MSS13 i MSS16 (Tabela 1). Broj uzoraka predstavlja i broj jedinki koje su pronađene upravo na tim lokalitetima i time je pokriven većinski prirodni genofond sa svakog od lokaliteta.

Uzorkovane su mlade grančice sa lisnim pupoljcima. U laboratoriji Instituta za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu je rađena dalja obrada uzorka i izolacija genomske DNK iz lisnih pupoljaka, koji su pre izolacije bili sušeni na 35 stepeni celzijusa preko noći. Dalje je suvi biljni material (0,5-1g po uzorku je uzeto) usitnjen na Retsch homogenizatoru u sterilnim Eppendorf tubicama, zapremine 1,5 ml. Izolacija genomske DNK je rađena standardnim protokolom za biljni material *Sorbus* jedinki po Oddou-Muratorio et al., (2001a). Čistoća i prinos izolovane genomske DNK je proverena spektrofotometrijski na Shimadzu Biospec Nano aparatu, na $A=260\text{nm}$ i $A=280\text{ nm}$ a vizuelno je potvrđen elektroforetski na 1% agaroznom gelu, u $0,5 \times \text{TBE}$ puferu.

Tabela 1. Karakteristike pet *Sorbus torminalis* lokusnih prajmera, sa veličinom PCR produkta u baznim parovima sekvenciranog lokusnog prajmera i podacima aniling temperature i EMBL pristupnim brojem (Oddou-Muratorio et al., 2001)

Table 1. Characteristics of five *Sorbus torminalis* primer-loci, with PCR product size (bp) of the sequence, with also optimal annealing temperature (Ta) and EMBL accession number (No) (Oddou-Muratorio et al., 2001)

Lokus Locus	Sekvence prajmera Primer sequences	Veličina Size (bp)	Opseg veličine Size range	Temperatura anilinga Aniling temperature Ta (°C)	Pristupni broj u EMBL Accession number in EMBL
MSS1	ATGTTTCGGTAGTCATCCCCT GCTCAGATAGCCACTCCCC	162	150-174	59	AJ313035
MSS6	CGAAACTCAAAAACGAAATCAA ACGGGAGAGAAACTCAAGACC	258	252- 332	56	AJ313039
MSS9	AAGTTTTCAAGCCATTTTCATT CTTCACCATTTTTGTTGTGTGT	216	216-256	57	AJ313040
MSS13	TATGCGTCTTTCCATTCCG GCGTTTGACTCACTCAGATTTG	250	252- 266	56	AJ313042
MSS16	CTCCCCTTGTGTGATGCC TTGCCCTCAAAGAATGCC	186	154-210	57	AJ313043

Protokol za pripremu PCR master mix-a i postavljanje reakcije je urađena po protokolu Oddou-Muratorio et al., 2001. Nakon što je utvrđeno postojanje lokusa u određenim uzorcima, 15 µl PCR produkta svakog uzorka je pripremljeno u sterilne mikrotitar ploče. Analiza alelna polimorfnosti je urađena na MultiNA Bioanalyzer-u na Institutu za nuklearna istraživanja, Vinča, Beograd.

REZULTATI I DISKUSIJA

Istraživanja sa aspekta populacione genetike na predstavnicima roda *Sorbus* počeo je tek nedavno. Do danas, dostupni rezultati se temelje na istraživanjima neutralnih molekularnih markera. Ova istraživanja su dala prve uvide u pravi biodiverzitet i srodničke odnose među vrstama *Sorbus* roda. Do sada se pokazalo da je ukrštanje između divlje oskoruše *S. domestica* L. (kao otac-biljke) i *S. aria* L. (kao biljka-majka) najzastupljenije kako u prirodnim, tako i u veštačkim uslovima, za potrebe selekcionisanja i fundamentalnih istraživanja srodničkih odnosa. Do sada se

pokazalo da protok gena među vrstama ne bi trebao značajno da utiče na fenotipski diverzitet na nivou vrste divlje oskoruše. Stopa samooplodnje kod divlje oskoruše se procenjuje da je manja od 1% u prirodnim staništima prilikom nastajanja potomstva i predstavlja promenljivi faktor preko majke-stabla. Ovako vrlo nisku stopu samooplodnje delimično podržava hipoteza o delimičnoj genetičkoj inkompatibilnosti reproduktivnih ćelija u okviru vrste *Sorbus aucuparia* (Raspeš et al., 2000). Obrasci mobilnosti polena divlje oskoruše pokazuju dva glavna trenda: prisutno je parenje između susednih stabala, zbog lokalnog raspršivanja polena na nivou stablo-stablo i trend oprašivanja na nivou velike udaljenosti među stablima (dokumentovani su slučajevi polinacije na udaljenosti čak i na 2,5 km) (Demesure et al., 2000).

Međutim, polinacija vetrom najčešće nije dovoljna i stoga oprašivanje pomoću pčela i drugih socijalnih insekata je neophodno i u prirodnim staništima oskoruše je veoma često. Bumbari spadaju u vrstu socijalnih insekata koji su spremni da pređu i po nekoliko kilometara kako bi pronašli izvor hranjivog nektara sa *Sorbus* vrsta i ujedno oprašili jedinke (Demesure et al., 2000).

Uz pomoć mofoloških karakteristika utvrđeno je da analizirane jedinke pripadaju svakako rodu *Sorbus*, što je potvrđeno i literaturnim navodima (Jovanović, 1991). U tabeli 2. su predstavljeni rezultati fragmentne (alelne) polimorfne analize *Sorbus spp.* sa različitih staništa R Srbije- Bukovik I i II, Razni lokaliteti (Bor, Čačak, Novi Pazar i Raška), Orovnica, planina Kopaonik, Roška Banja i Žirave. Na osnovu tabele 2. se mogu sagledati genetička srodnost ili udaljenost *Sorbus spp.* u okviru lokaliteta i između populacija. Iz tabele se direktno može videti različita distribucija alela po lokusima u okviru staništa, kao i na različito bročano stanje alela u okviru lokusa. Prosečni broj lokusa po alelu može dati prvi dublji uvid u polimorfnost u okviru genskih lokusa na različitim staništima. Alelni polimorfizam je najveći u okviru jedinki uzorkovanih sa raznih lokaliteta na teritoriji Srbije ($P_{asr}=66,8$), a najmanji je registrovan na teritorijama Bukovik I i II (za oba je isti: $P_{asr}=26$). Rezultati za uzorke uzetih sa različitih lokaliteta može ukazati da što je populacija više fragmentirana, može doći do većeg ukrštanja i razmene genetičkog materijala, preko insekata, sisara i drugih životinja, pa i ljudi, što može i prouzrokovati visoku intralokusnu polimorfnost. Sa druge strane, treba uzeti u obzir i tzv. "efekat malih populacija" za koje je karakteristično da tokom filo- i ontogeneze genetički divergiraju i postanu nosioci novih, polimorfnijih lokusa sa većim brojem ili drugačijom nukleotidnom dužinom alela. Ove uzorke smo posmatrali kao delove jedinki koje pripadaju jednoj fragmentiranoj metapopulaciji, s obzirom da se nalaze na objedinjenom geografskom području- areal centralne Srbije- Bor kao najistočnija tačka, Čačak-najsevernija, Novi Pazar kao najjužnija, sa Raškim okrugom u sredini.

Lokalitet Žirave je takođe pokazao relativno nizak polimorfizam na nivou alela po lokusu i on iznosi $P_{asr}=36,2$. Ostali lokaliteti (Kopaonik, Orovnica, Roška Banja) su pokazali srednju distribuciju polimorfnosti alela, s obzirom da su njihove vrednosti zastupljene između najmanje i najveće registrovane vrednosti.

Tabela 2. Unutarlokusna analiza polimorfizma alela posmatranih *Sorbus spp.* na teritoriji R Srbije**Table 2.** Intra-loci polymorphic analysis of observed *Sorbus spp.* on territory of Republic of Serbia

Br. Lokaliteta No. of locality	Naziv lokaliteta Name of locality	Broj uzoraka Number of samples	Lokus: MSS1 (162 bp)		Lokus: MSS6 (258 bp)		Lokus: MSS9 (216 bp)		Lokus: MSS13 (250 bp)		Lokus: MSS16 (186 bp)		Ukupan br. alela The sum of alleles	Br. alela po lokusu No. of alleles per locus
			Broj alela Number of alleles	Opseg Range	Broj alela Number of alleles	Opseg Range	Broj alela Number of alleles	Opseg Range	Broj alela Number of alleles	Opseg Range	Broj alela Number of alleles	Opseg Range		
1.	RS Bukovik I	8	30	151-251	26	242-333	47	216-343	5	250-398	22	159-252	130	26
2.	RS Bukovik II	7	29	150-265	25	240-320	34	222-342	15	231-339	27	170-275	130	26
3.	RS ruzni lokaliteti	31	66	117-272	64	235-528	80	211-395	28	239-299	96	147-305	334	66,8
4.	RS Kopaonik	20	69	157-291	32	192-293	40	211-436	27	240-287	37	164-279	205	41
5.	RS Lokalitet Orovice	15	31	159-253	43	195-397	46	219-365	12	241-286	46	141-267	178	35,6
6.	RS Roška Banja	20	26	151-254	50	246-337	46	211-355	20	244-313	63	147-299	205	41
7.	RS Lok. Žirave	18	28	150-217	31	248-296	39	179-277	26	213-391	57	154-277	181	36,2
Ukupan broj alela The sum of alleles			279		271		332		133		348			

Najveći broj dobijenih alela (koji je indikator unutarlokusne polimorfnosti) je pokazao lokus MSS16 ($n_{al}=348$), a najmanji je broj alela ($n_{al}=133$) je pokazao lokus MSS13. Da bi se tačno utvrdio razlog za ovakav zastupljenosti alela unutar analiziranih lokusa, neophodno je obaviti obimnija istraživanja kako bi se utvrdio uzrok ovakvoj dinamici protoka gena i alelnih formi unutar analiziranih populacija *Sorbus* roda.

Da bi se uspostavilo adekvatno očuvanje populacije ovih vrsta, seme za proizvodnju sadnog materijala moraju biti prikupljene od mnogih stabala sa udaljenosti više od 200 m između njih, radi povećanja genetičkog biodiverziteta i željene heterozigotnosti i kako bi se izbeglo ukrštanje u srodstvu. Sadnja ovih vrsta se mora pratiti u strogo kontrolisanim uslovima! Poželjno je da se konstruišu banke gena populacija sa različitim staništa, kako bi mogle male populacije da se šire. Udaljenost među bankama gena mora biti više od 10 km u radijusu, kako bi se izbegao nepoželjan protok gena (Demesure-Musch i Oddou-Muratorio, 2004).

ZAKLJUČAK

Sumiranjem svih rezultata dobijenih alelnom analizom jedinki *Sorbus spp.* sa teritorije Republike Srbije, potvrđen je nedvosmislen napredak u upotrebi molekularno-genetičkih analiza u genetičkoj determinaciji genofonda kod populacija isotanih na 7 lokaliteta u R Srbiji. *Sorbus* vrste su značajne, ne samo sa ekonomskog aspekta kao kvalitetan materijal u prerađivačkoj industriji, već i za mapiranje raspoloživih kvalitetnih resursa za reprodukciju i podmlađivanje vrsta u izumiranju i pripremanje tačnih podataka baziranih na DNK (dezoksiribonukleinske kiseline) nivou za budući uspešan oplemenjivački rad. Sledeći korak u daljim analizama jeste određivanje tačne taksonomske pripadnosti jedinki unutar određenih populacija uzorkovanih na teritoriji Srbije pomoću različitih marker sistema- SSR (mikrosateliti), AFLP (polimorfizam dužine umnoženih fragmenata) ili RFLP (polimorfizam dužine restrikcionih fragmenata) itd. Konstruisanje taksonomskih i filogenetskih stabala bi dalo znatno precizniju sliku o evolutivnim odnosima

populacija roda *Sorbus* i označila tačan specijski diverzitet ovog roda. Bilo bi značajno nastaviti dalji rad u ovoj problematici, kako bi se razvila adekvatna strategija očuvanja ove industrijski i biološki vredne vrste u šumskom biodiverzitetu Republike Srbije.

Zahvalnica

Ovaj rad je realizovan u okviru projekta III 43002 "Biosenzing tehnologije i globalni sistem za kontinuirana istraživanja i integralno upravljanje ekosistemima", finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

LITERATURA

- Bailey, JP, Kay, QON, McAllister, H., Rich, TCG. (2008): Chromosome numbers in *Sorbus* L. (Rosaceae) in the British Isles. *Watsonia*, 27, 69–72.
- Demesure, B., B. Le Guerroué, G. Lucchi, D. Prat and R.J. Petit. (2000): Genetic variability of a scattered temperate forest tree: *Sorbus torminalis* L. (Crantz). *Annals of Forest Science*, 57: 63–71.
- Demesure-Musch, B. and S. Oddou-Muratorio (2004): EUFORGEN, Technical Guidelines for genetic conservation and use for wild service tree (*Sorbus torminalis*). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 6 pages
- Jovanović, B. (1991): *Dendrologija*, Univerzitet u Beogradu, Šumarski fakultet, pp. 282-287
- Nelson-Jones, E.B., Briggs, D., Smith A.G. (2002): The origin of intermediate species of the genus *Sorbus*, *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 953–963
- Oddou-Muratorio, S., Petit, R.J., Le Guerroué, B., Guesnet, D., Demesure, B. (2001a): Pollen-versus seed-mediated gene flow in a scattered woody species. *Evolution*, 55: 1123–1135.
- Oddou-Muratorio, S., Aligon, C., Decroocq, S., Plomion, C., Lamant, T. and Mush-Demesure, B. (2001): Microsatellite primers for *Sorbus torminalis* and related species, *Molecular Ecology Notes*, 1: 297-299
- Raspeâ, O., Findlay, C. and Jacquemart, A. L. (2000): *Sorbus aucuparia* L., *Journal of Ecology* 88: 910-930
- Rotach, P. (2003): EUFORGEN, Technical Guidelines for genetic conservation and use for service tree (*Sorbus domestica*), International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 6 p.

Summary

INTRA-LOCI POLYMORPHISM OF SORBUS SPP. ON THE TERRITORY OF REPUBLIC OF SERBIA

by

Galović, V., Orlović, S., Trudić, B., Pekeč, S., Vasić S.

Representatives of the genus *Sorbus* are pioneer species with wide ecological valence. These are semisciofilic species that are well tolerated in spaces with little natural light, but later in the growth and development require a lot of light. They belong to the thermophilic to mesophilic species which are quite resistant to drought, cold and late spring frosts. In Serbian forests, *Sorbus* spp. are secondary species, contributing to biodiversity, the stability of the stand, providing physical support for the main tree species and contributes to improving the quality of the soil. *Sorbus* spp. is very sensitive to the competition of other species in the forest community, and for their successful development they need necessary appropriate silvicultural measures.

The wild service tree (exact taxonomic name: *Sorbus torminalis* L. (Crantz)) is a diploid species ($2n = 2x = 34 TT$). This species can interbreed with at least two other species of the genus *Sorbus*: *Sorbus aria* (Whitebeam- usually occurs on calcareous soils, on rocky terrain in a belt of beech-fir, and lower) and *Sorbus aucuparia* ($2n = 2x = 34 BB$), (European rowan-has some morphological similarities with the Service tree, but has a very different ecological properties and thrives in high mountain regions of beech-fir). Hybridization with *Sorbus aria* may be performed separately where the habitats of the two species overlap. Majority of these hybrids are triploids (*S. bristoliensis*: $2n = 3x = 51 AAT$) and some of them (mainly *Sorbus latifolia* species) are tetraploids ($2n = 4x = 68 AATT$).

Sorbus species are susceptible to intense interspecific competition and anthropogenic environmental factor. Therefore, there is a high risk of compromising diversity of these species in the dense, tall forests that contain a high proportion of long-term species. The high level of interspecific competition could prevent the regeneration process and lead to local extinction of *Sorbus* spp. species. As with most forest trees, fragmentation of natural habitats of Service tree can cause a sharp drop in genetic diversity by reducing the number of individuals, which would sharply reduce and gene flow among populations. Habitat fragmentation can lead to the destruction of forests or forest management is not properly directed in favor of the *Sorbus* species.

In our study we analyzed the intra-loci polymorphism in the genus *Sorbus* specimens sampled from 7 localities of the Republic of Serbia- Bukovik I and II, Various locations (the territory of which is determined by the point-Bor, Čačak, Novi Pazar, Raška), Orovica, Kopaonik mountain, Roška and Spa Žirave. This type of analysis was necessary to determine the initial stage intrapopulation diversity at the level of the analyzed loci (MSS1, MSS6, MSS9, MSS13 and MSS16), which are characteristic polymorphic markers. Our results showed that there is a high degree of allelic polymorphism within certain loci (MSS16) and that there are significant differences between the populations themselves (Bukovik and second lowest value of allelic polymorphism $Passr = 26$; samples taken from various locations (Bor, Čačak, Novi Pazar, Raška) are of the largest value of allelic polymorphism $Passr = 66, 8$). The results represent a platform for further development of molecular genetic analysis of the genus in Serbia, in order to preserve the gene pool and for breeding purposes.