



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
DEPARTMAN ZA BIOLOGIJU I EKOLOGIJU



MSc Eleonora Bošković

**Molekularni i morfološki diverzitet populacija gljiva rodova  
*Marasmius* Fr. 1836, *Mycetinis* Earle 1909 i *Gymnopus* (Pers.) Gray 1821  
u šumskim ekosistemima Nacionalnih parkova Srbije i Crne Gore**

Doktorska disertacija

Novi Sad, 2019

*Mojim roditeljima*

## **Zahvalnica**

*Veliku zahvalnost dugujem mojoj mentorki, vanr. prof Maji Karaman na poverenju i podršci koje mi je ukazala, kao i na svemu što me je naučila tokom proteklih deset godina, od mojih prvih mikoloških koraka.*

*Veliko hvala mentorki dr Vladislavi Galović na nesebičnoj podršci, poverenju i što me je uvela u rad u laboratoriji za molekularna istraživanja.*

*Veliko hvala članovima komisije prof. dr Jeleni Vukojević, dr Nataši Kočiš Tubić i dr Ivici Tamašu na korisnim savetima i sugestijama koji su značajno doprineli ovoj doktorskoj disertaciji.*

*Zahvaljujem se mom dragom kolegi dr Dragiši Saviću što mi je omogućio da njegove izuzetne fotografije koristim u mojoj doktorskoj disertaciji, kao i na svim uzorcima koje mi je sakupio i zajedničkim terenima.*

*Hvala dr Zoranu Galiću na ustupljenim podacima o klimatskim faktorima za lokalitete ispitivane u ovom radu.*

*Hvala vanr. prof Dubravki Milić na velikoj pomoći prilikom statističke obrade podataka.*

*Istraživanje prezentovano u ovoj doktorskoj disertaciji urađeno je u Laboratoriji za mikrobiologiju, Departmana za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu i u Laboratoriji za molekularna istraživanja, Instituta za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Univerziteta u Novom Sadu.*

*Hvala mojim dragim prijateljicama Vanji i Ani na nesebičnoj podršci, razumevanju, savetima i druženjima.*

*Najveću zahvalnost dugujem mojim roditeljima, mojoj najvećoj podršci. Hvala vam što ste uvek bili tu kada je bilo teško.*

*Hvala mom sinu Vuku na svim trenucima radosti.*

Novi Sad, 20.07.2019.

Eleonora Bošković

## Sadržaj:

1. UVOD	10
2. OPŠTI DEO	12
2.1. Razdeo Basidiomycota	12
2.1.1. Sistematika	12
2.1.2. Opšte karakteristike	14
2.1.3. Životni ciklus	15
2.1.4. Populaciona struktura makromiceta i problem definisanja jedinki	25
2.1.5. Populaciona genetika makromiceta	27
2.1.6. Filogenija agarikoidnih gljiva i filogenetski odnosi unutar roda <i>Marasmius</i>	29
2.2. Molekularne metode korišćene u ovom istraživanju	34
2.3. Pregled ispitivanih rodova i vrsta	37
2.3.1. Rod <i>Marasmius</i>	37
2.3.2. Rod <i>Mycetinis</i>	45
2.3.3. Rod <i>Gymnopus</i>	47
3. CILJ ISTRAŽIVANJA	49
4. MATERIJAL I METODE	50
4.1. Materijal	50
4.1.1. Sakupljanje materijala	50
4.1.2. Opis lokaliteta istraživanih područja	52
4.2. Određivanje mikroklimatskih faktora	55
4.3. Morfološka analiza	56
4.4. Molekularna analiza	57
4.4.1. Izolacija DNK	57
4.4.2. Umnožavanje DNK lančanom reakcijom polimerizacije	57
4.4.2.1. ISSR metoda	57
4.4.2.2. Umnožavanje poznatih regiona (gena)	59
4.4.3. Elektroforetsko razdvajanje PCR produkata	61
4.4.4. Priprema PCR produkata za sekvencioniranje i obrada sekvenci	61
4.5. Obrada rezultata	62
4.5.1. Izračunavanje parametara molekularnog diverziteta	62
4.5.2. Filogenetska analiza	65
5. REZULTATI I DISKUSIJA	68
5.1. Morfološka analiza	68

5.1.1. <i>Marasmius rotula</i> (Scop.) Fr	68
5.1.2. <i>Marasmius bulliardii</i> Quél	69
5.1.3. <i>Marasmius torquescens</i> Quél.	69
5.1.4. <i>Marasmius oreades</i> (Bolton) Fr.	70
5.1.5. <i>Marasmius anomalus</i> Lash	71
5.1.6. <i>Marasmius epiphylloides</i> (Rea) Sacc. & Trotter (Pers.) Fr.	72
5.1.7. <i>Mycetinis alliaceus</i> (Jacq.) Earle ex A.W. Wilson & Desjardin	73
5.1.8. <i>Gymnopus androsaceus</i> (L.) Della Maggiora & Trassinelli	75
5.2. Statistička obrada	77
5.3. Identifikacija jedinki ISSR metodom	83
5.3.1. Populacije vrste <i>Mycetinis alliaceus</i>	83
5.3.2. Populacije vrste <i>Marasmius rotula</i>	86
5.3.3. Populacije vrste <i>Gymnopus androsaceus</i>	89
5.4. Parametri genetičke varijabilnosti	91
5.4.1. <i>Mycetinis alliaceus</i>	91
5.4.2. <i>Gymnopus androsaceus</i>	93
5.5. Filogenetski odnosi između ispitivanih vrsta	96
6. ZAKLJUČCI	102
7. LITERATURA	104
8. PRILOG	112

## Lista slika:

<b>Slika 1.</b> Klasifikacija i filogenetski odnosi između glavnih taksonomskih grupa carstva Fungi. I grana nisu proporcionalne genetičkoj udaljenosti (Hibbett i sar. 2007).....	12
<b>Slika 2.</b> Klasifikacija i filogenetski odnosi u okviru razdela Basidiomycota (Hibbett i sar., 2007).....	14
<b>Slika 3.</b> Tetrapolarnost kod Basidiomycota (prevod, Chang i Miles, 2004) .....	17
<b>Slika 4.</b> Životni ciklus agarikoidnih vrsta gljiva razdela Basidiomycota.....	20
<b>Slika 5.</b> Formiranje kukastih izraštaja .....	21
<b>Slika 6.</b> Formiranje plodonosnog tela na primeru <i>Coprinopsis cinereus</i> (prevod, Kües, 2000).....	22
<b>Slika 7.</b> Šematski prikaz preseka primordije kod vrste .....	23
<b>Slika 8.</b> Građa plodonosnog tela i himenijuma kod vrsta sa listastim himenoforom.....	24
<b>Slika 9.</b> Vegetativna inkompatibilnost kod <i>Trametes versicolor</i> .....	26
<b>Slika 10.</b> Filogenija agarikoidnih vrsta. Išrafirane klade najverovatnije nisu monofiletskog porekla ( <a href="http://tolweb.org/Agaricales/20551">http://tolweb.org/Agaricales/20551</a> ) .....	30
<b>Slika 11.</b> Filogenija agarikoidnih vrsta. Plave linije predstavljaju vrste sa pigmentisanim sporama. Vrste sa debolizidnim sporama predstavljene zadebljalim linijama. (Garnica i sar. 2007).....	30
<b>Slika 12.</b> Tipski predstavnici sekcija roda <i>Marasmius</i> prema Antonín i Noordeloos (2010). .....	33
<b>Slika 13.</b> Mesta vezivanja prajmera u regionima LSU, ITS i EF-1 $\alpha$ .....	35
<b>Slika 14.</b> Šematski prikaz ISSR metode (Reddy i sar., 2002) .....	36
<b>Slika 15.</b> <i>Marasmius rotula</i> (Scop.) Fr .....	37
<b>Slika 16.</b> <i>Marasmius bulliardii</i> Quél.....	38
<b>Slika 17.</b> <i>Marasmius torquescens</i> Quél. ....	39
<b>Slika 18.</b> <i>Marasmius oreades</i> (Bolton) Fr. ....	41
<b>Slika 19.</b> <i>Marasmius anomalus</i> Lash.....	42
<b>Slika 20.</b> <i>Marasmius epiphylloides</i> (Rea) Sacc. & Trotter (Pers.) Fr.....	43
<b>Slika 21.</b> <i>Mycetinis alliaceus</i> (Jacq.) Earle ex A.W. Wilson & Desjardin .....	45
<b>Slika 22.</b> <i>Gymnopus androsaceus</i> (L.) Della Maggiora & Trassinelli .....	47
<b>Slika 23.</b> Mapa ispitivanih lokaliteta Srbije i Crne Gore sa prikazom vrsta koje su uzorkovane sa svakog lokaliteta. ....	50
<b>Slika 24.</b> Ispitivani plot na lokalitetu Tara .....	52
<b>Slika 25.</b> Ispitivani plot na lokalitetu Kopaonik.....	53
<b>Slika 26.</b> Ispitivani plot na lokalitetu Vidlič (Stara planina).....	54
<b>Slika 27.</b> Ispitivani plot na lokalitetu Biogradska gora .....	55
<b>Slika 28.</b> Mikroskopske karakteristike <i>Marasmius rotula</i> .....	68
<b>Slika 29.</b> Mikroskopske karakteristike <i>Marasmius bulliardii</i> .....	69
<b>Slika 30.</b> Mikroskopske karakteristike <i>Marasmius torquescens</i> .....	70
<b>Slika 31.</b> Mikroskopske karakteristike vrste <i>Marasmius oreades</i> .....	71
<b>Slika 32.</b> Mikroskopske karakteristike <i>Marasmius anomalus</i> .....	72
<b>Slika 33.</b> Mikroskopske karakteristike <i>Marasmius epiphylloides</i> .....	73
<b>Slika 34.</b> Mikroskopske karakteristike vrste <i>Mycetinis alliaceus</i> .....	74
<b>Slika 35.</b> Analiza osnovnih komponenti (PCA) analiziranih populacija vrste <i>Marasmius alliaceus</i> .....	77
<b>Slika 36.</b> Diskriminantna analiza osnovnih komponenti (DCA) populacija <i>Marasmius alliaceus</i> .....	78
<b>Slika 37.</b> Euklidijeve distance između analiziranih populacija <i>Mycetinis alliaceus</i> .....	79
<b>Slika 38.</b> Analiza osnovnih komponenti (PCA) analiziranih populacija vrste <i>Gymnopus androsaceus</i> .....	80
<b>Slika 39.</b> Plodonosna tela <i>Marasmius alliaceus</i> na ispitivanim plotovima.....	84

<b>Slika 40.</b> Šematske mape plodonosnih tela vrste <i>Mycetinis alliaceus</i> sakupljenih sa sledećih lokaliteta: a) Tara; b) Stara planina; c) Biogradska gora; d) Kopaonik.....	85
<b>Slika 41.</b> Šematske mape plodonosnih tela <i>Marasmius rotula</i> sakupljenih sa sledećih lokaliteta: a) Stara planina - Tačke u skupovima predstavljaju plodonosna tela koja pripadaju istim genetima (oznake geneta A-D); b) Biogradska gora - Tačke u skupovima predstavljaju plodonosna tela koja pripadaju istim genetima (A, B i C).....	87
<b>Slika 42.</b> Šematski prikaz analiziranih plodonosnih tela <i>Gymnopus androsaceus</i> sa lokaliteta Tara: a) uzorci sakupljeni 2015 godine; b) uzorci sakupljeni 2016 godine.....	89
<b>Slika 43.</b> Šematski prikaz analiziranih plodonosnih tela <i>Gymnopus androsaceus</i> sa lokaliteta Kopaonik.....	89
<b>Slika 44.</b> UPGMA dendrogram populacija sa Biogradske gore (BG), Kopaonika (KO) i Stare planine (ST) vrste <i>Mycetinis alliaceus</i> konstruisan na osnovu Nei i Li koeficijenta genetičke distance. Brojevi predstavljaju bootstrap vrednosti (%) izračunate nakon 1000 ponavljanja.....	92
<b>Slika 45.</b> UPGMA dendrogram populacija sa Kopaonika (KO) i Tare (TA) <i>Gymnopus androsaceus</i> konstruisan na osnovu Nei i Li koeficijenta genetičke distance. Brojevi predstavljaju bootstrap vrednosti (%) izračunate nakon 1000 ponavljanja.....	94
<b>Slika 46.</b> ML filogenetsko stablo konstruisano na osnovu ITS i LSU sekvenci ispitivanih vrsta.....	98
<b>Slika 47.</b> Filogram konstruisan na osnovu Bajesove analize ITS i LSU sekvenci ispitivanih vrsta.....	99
<b>Slika 48.</b> ML stablo konstruisano na osnovu ITS, LSU i EF-1α sekvenci ispitivanih vrsta.....	100
<b>Slika 49.</b> Filogram konstruisan na osnovu Bajesove analize ITS, LSU i EF-1α sekvenci ispitivanih vrsta.....	100

## Lista tabela:

<b>Tabela 1.</b> Klase razdela Basidiomycota .....	13
<b>Tabela 2.</b> Koncentracije i zapremine korišćenih reagenasa u PCR reakcijama sa ISSR prajmerima ...	57
<b>Tabela 3.</b> Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata sa (GTG) <sub>5</sub> prajmerom (Zhou i sar., 1999) .....	58
<b>Tabela 4.</b> Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata prajmerom (GACA) <sub>4</sub> (Zhou i sar., 1999) .....	58
<b>Tabela 5.</b> Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata prajmerom (GCC) <sub>5</sub> (Zhou i sar., 1999) .....	58
<b>Tabela 6.</b> Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata prajmerom AG <sub>8</sub> T (Carlier i sar., 2011) .....	58
<b>Tabela 7.</b> Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata prajmerom Mj <sub>4</sub> (Nghia i sar. 2008) ....	59
<b>Tabela 8.</b> Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata prajmerom (AAG) <sub>6</sub> (optimizovano). ....	59
<b>Tabela 9.</b> Prajmeri korišćeni za amplifikaciju i sekvencioniranje ispitivanih regiona .....	59
<b>Tabela 10.</b> Koncentracije i zapremine korišćenih reagenasa u PCR reakcijama za ITS, EF-1 $\alpha$ i LSU regione u ukupnoj zapremini od 50 $\mu$ l .....	60
<b>Tabela 11.</b> Parametri PCR reakcije za umnožavanje ITS regiona (po protokolu datom uz polimerazu) ( <a href="https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/EP0701">https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/EP0701</a> ).....	60
<b>Tabela 12.</b> Parametri PCR reakcije za umnožavanje LSU regiona (Wilson i Desjardin, 2005).....	60
<b>Tabela 13.</b> Parametri PCR reakcije za umnožavanje EF-1 $\alpha$ regiona (Antonin i sar. 2013) .....	60
<b>Tabela 14.</b> Uzorci korišćeni za izračunavanje parametara molekularnog diverziteta .....	62
<b>Tabela 15.</b> Šifre vaučer vrsta, zemlja porekla i GenBank pristupni brojevi vrsta roda <i>Marasmius</i> korišćene za filogenetsku analizu .....	65
<b>Tabela 16.</b> Dimenzije plodnih tela <i>Marasmius toquescens</i> sakupljenih sa lokaliteta Tara .....	70
<b>Tabela 17.</b> Dimenzije plodonosnih tela vrste <i>Mycetinis alliaceus</i> sakupljenih sa lokaliteta Stara planina (ST), NP Biogradska gora (NPBG), i NP Kopaonik (KOP) .....	73
<b>Tabela 18.</b> Dimenzije plodonosnih tela vrste <i>G. androsaceus</i> sakupljenih sa lokaliteta Tara (TARA) i NP Kopaonik (KOP). .....	75
<b>Tabela 19.</b> PCA analiza za pojedinačne karaktere analiziranih populacija vrste <i>Marasmius alliaceus</i> .....	77
<b>Tabela 20.</b> Nivoi opterećenja dve diskriminantne ose .....	78
<b>Tabela 21.</b> PCA analiza za pojedinačne karaktere analiziranih populacija <i>Gymnopus androsaceus</i> ....	80
<b>Tabela 22.</b> Korelacije između merenih morfoloških karaktera i faktora sredine za <i>Mycetinis alliaceus</i> i <i>Gymnopus androsaceus</i> .....	81
<b>Tabela 23.</b> Populacije <i>Mycetinis alliaceus</i> , <i>Marasmius rotula</i> i <i>Gymnopus androsaceus</i> za koje je urađena identifikacija jedinki ISSR metodom .....	83
<b>Tabela 24.</b> Grupisanje uzoraka plodonosnih tela <i>Marasmius rotula</i> sa lokaliteta Biogradska gora .....	87
<b>Tabela 25.</b> Grupisanje uzoraka plodonosnih tela <i>Marasmius rotula</i> sa lokaliteta Stara planina .....	87
<b>Tabela 26.</b> ISSR fragmenti dobijeni analizom populacija <i>Mycetinis alliaceus</i> .....	91
<b>Tabela 27.</b> Analiza molekularne varijanse (AMOVA) za populacije vrste <i>Mycetinis alliaceus</i> .....	91
<b>Tabela 28.</b> Vrednosti indeksa fiksacije (F <sub>st</sub> ) između populacija vrste <i>Mycetinis alliaceus</i> .....	92
<b>Tabela 29.</b> ISSR fragmenti dobijeni analizom populacija <i>Gymnopus androsaceus</i> .....	93
<b>Tabela 30.</b> Analiza molekularne varijanse (AMOVA) za populacije <i>Gymnopus androsaceus</i> .....	93
<b>Tabela 31.</b> Vrednosti indeksa fiksacije (F <sub>st</sub> ) između populacija vrste <i>G.androsaceus</i> .....	93



## Lista priloga:

<b>Prilog 1.</b> Spisak sakupljenih i proučavanih uzoraka u ovom istraživanju .....	112
<b>Prilog 2.</b> ISSR profili prikazani na 1,5% agaroznom gelu za <i>Marasmius alliaceus</i> sa lokaliteta Kopaonik, Stara planina i Tara dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: a) GTG <sub>5</sub> ; b) GACA <sub>4</sub> , ST- Stara planina, KOP-Kopaonik; c) GACA <sub>4</sub> d) Mj <sub>4</sub> ; e) AG <sub>8</sub> T; f) GC .....	116
<b>Prilog 3.</b> ISSR profili prikazani na 1,5% agaroznom gelu za <i>Marasmius alliaceus</i> sa lokaliteta NP Biogradska gora dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: a) GTG <sub>5</sub> ; b) GTG <sub>5</sub> ; c) GACA <sub>4</sub> ; d) GACA <sub>4</sub> e) GCC <sub>5</sub> ; f)GCC <sub>5</sub> ; g)AG <sub>8</sub> T .....	117
<b>Prilog 4.</b> ISSR profili prikazani na 1.5% agaroznom gelu za vrstu <i>Marasmius alliaceus</i> sa lokaliteta NP Biogradska gora dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: a) AAG <sub>6</sub> ; b) Mj <sub>4</sub> .....	118
<b>Prilog 5.</b> ISSR profili prikazani na 1.5% agaroznom gelu za vrstu <i>Marasmius alliaceus</i> sa lokaliteta Stara planina dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: a) GTG <sub>5</sub> ; b) GACA <sub>4</sub> , ST-Stara planina, KOP-Kopaonik c) AAG <sub>6</sub> ; d) MJ <sub>4</sub> , GTG <sub>5</sub> ; e) GACA <sub>4</sub> , AG <sub>8</sub> T; f) AG <sub>8</sub> T; AAG <sub>6</sub> .....	119
<b>Prilog 6.</b> ISSR profili prikazani na 1,5% agaroznom gelu za vrstu <i>Marasmius alliaceus</i> sa lokaliteta Stara planina dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: GCC <sub>5</sub> i Mj <sub>4</sub> .....	120
<b>Prilog 7.</b> ISSR profili prikazani na 1,5% agaroznom gelu za vrstu <i>Gymnopus androsaceus</i> sa lokaliteta Kopaonik dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: a) GACA <sub>4</sub> ; b) GTG <sub>5</sub> c) GCC <sub>5</sub> .....	121
<b>Prilog 8.</b> ISSR profili prikazani na 1.5% agaroznom gelu za <i>Gymnopus androsaceus</i> sa lokaliteta Kopaonik i Tara (a, b, d i e) dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: a) AAG <sub>6</sub> ; b) AG <sub>8</sub> T; c) AG <sub>8</sub> T d) GCC <sub>5</sub> , Tara; e) GCC <sub>5</sub> , Tara .....	122
<b>Prilog 9.</b> ISSR profili prikazani na 1.5% agaroznom gelu za <i>Gymnopus androsaceus</i> sa lokaliteta Tara dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: a) AG <sub>8</sub> T i AAG <sub>6</sub> ; b) GTG <sub>5</sub> i GACA <sub>4</sub> ; c) GTG <sub>5</sub> i GACA <sub>4</sub> .....	123
<b>Prilog 10.</b> ISSR profili prikazani na 1.5% agaroznom gelu za <i>Marasmius rotula</i> sa lokaliteta Biogradska gora (NPBG) i Stara planina (ST) a) GTG <sub>5</sub> ; b) GACA <sub>4</sub> .....	124

## 1. UVOD

Gljive koje obrazuju krupna plodonosna tela (makromicete) (podrazdeo Agaricomycotina) predstavljaju vrstama najbrojniju grupu gljiva iz razdela Basidiomycota i čine istaknutu komponentu većine kopnenih ekosistema u kojima obavljaju širok spektar ekoloških uloga kao saprotrofi, mutualistički partneri i paraziti. U ovoj grupi gljiva su i vrste koje su ljudima najpoznatije kao jestive, lekovite i otrovne. Plodonosna tela su reproduktivne strukture na kojima ili u kojima se formiraju seksualne spore, bazidiospore. Somatsko telo tj. Micelija je najčešće u supstratu i o njenoj veličini, distribuciji, starosti i interakcijama se još uvek relativno malo zna. Među prvim istraživanjima u ovoj oblasti su radovi Rayner i Todd (1979) i Todd i Rayner (1980) gde je istaknuto da se prirodne populacije heterotalusnih bazidiomiceta sastoje od somatski inkompatibilnih, genetički i fiziološki različitih sekundarnih (dikariontskih) micelija za koje je uveden termin *genet* (Rayner i Boddy, 1988). S obzirom da se geneti ne mogu detektovati golim okom, istraživanja u ovoj oblasti su doživela ekspanziju tek nakon razvića molekularnih metoda. Ove metode su omogućile brže i jednostavnije detektovanje geneta u odnosu na metodu somatske inkompatibilnosti koja se prvobitno koristila za detekciju individua kod gljiva. Do sada su na ovaj način ispitane populacije tridesetak vrsta makromiceta od kojih najveći deo pripada ektomikoriznim i parazitskim vrstama (Anderson i sar., 1998; Zhou i sar., 1999; Sawyer i sar., 2003). Saprotrofne vrste koje kao supstrat koriste šumsku stelju (ovoj grupi pripadaju i vrste analizirane u ovom radu) su još uvek relativno slabo istražene.

Molekularni diverzitet predstavlja evolucioni potencijal populacija svih organizama i neophodan je da bi se populacije prilagodile stalnim promenama u životnoj sredini. Njegovo proučavanje predstavlja osnovu za razumevanje evolucionih procesa i polazna je tačka u konzervaciji vrsta. Zbog problema deifinsanja vrsta, jedniki i populacija kod gljiva, molekularni diverzitet gljiva je relativno slabo proučen, u poređenju sa drugim grupama organizama, iako broj publikacija iz ove oblasti konstantno raste (Douhan i sar., 2011). Protok gena je jedan od najvažnijih izvora genetičke varijabilnosti i njegovo kvantifikovanje nam može pomoći u donošenju zaključaka o migraciji, disperziji, rekombinaciji i evolutivnim mehanizmima i ukazati na strukturu populacija i način reprodukcije. Protok gena je od praktičnog značaja u patologiji biljaka i životinja, jer migracija može izazvati brze promene u rezistenciji kod populacija domaćina i promene u virulenciji u populaciji patogena (McDermott i McDonald, 1993). Zbog toga su do sada najbolje proučene ektomikorizne (Selosse, 2003; Kretzer i sar., 2005; Dunham i sar., 2003; Gryta i sar., 2006) i parazitske vrste

gljiva (Hogberg i sar., 1999; Heinzelmann i sar., 2012; Xing i sar., 2014). Genetički, ali i morfološki diverzitet saprotrofnih vrsta koje iskorišćavaju šumsku stelju je još uvek relativno malo istražen.

Tradicionalno, makromicete su klasifikovane na osnovu morfoloških karaktera njihovih plodonosnih tela. Tako je jedan od najranijih klasifikacionih sistema agarikoidnih i drugih vrsta razdela Basidiomycota, dat od strane Fries (1821) bio najzapaženiji po svojoj jasnoći, logičkoj jednostavnosti, ali i potpuno veštačkoj podeli u odnosu na filogenetske odnose. Molekularna sistematika koja je dovela do mnogih suštinskih promena u klasifikaciji carstva gljiva se danas više ne smatra novom oblašću, a analiza podataka dobijenih iz više lokusa, ekstenzivno uzorkovanje taksona i rigorozni analitički pristupi su postali standard (Hibbett i sar. 2007). Iako je do sada urađeno nekoliko sveobuhvatnih filogenetskih istraživanja agarikoidnih vrsta još uvek ne postoji jasan konsenzus o klasifikaciji unutar ove velike grupe gljiva (Moncalvo i sar., 2000, 2002; Matheny i sar. 2006). Takođe, za veliki broj rodova agarikoidnih vrsta potrebno je uraditi reviziju tradicionalnog sistema podele na sekcije kombinovanjem morfoloških i filogenetskih podataka, što je slučaj i sa rodom *Marasmius* koji je bio jedan od predmeta ovog istraživanja.

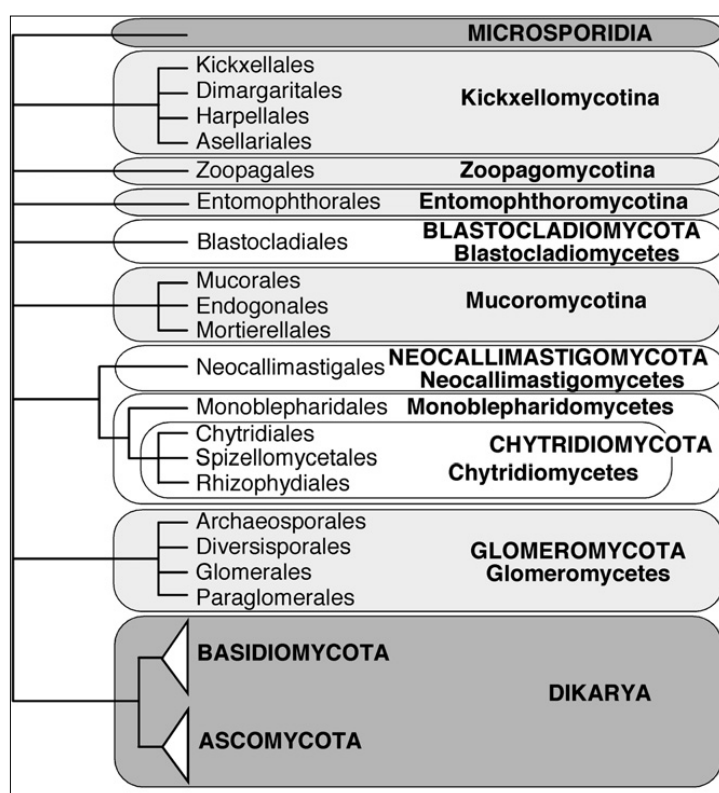
Iz navedenih podataka proističe potreba za sveobuhvatnim i integrativnim istraživanjem koje bi kombinovanjem molekularnih i morfoloških podataka omogućilo bolje poznavanje ekologije saprotrofnih makromiceta. Vrste gljiva koje su analizirane u ovom radu su široko rasprostranjene, česte i njihova plodonosna tela se mogu naći u većem broju u različitim šumskim ekosistemima, pa predstavljaju dobar model za analizu populacija saprotrofnih makromiceta.

## 2. OPŠTI DEO

### 2.1. Razdeo Basidiomycota

#### 2.1.1. Sistematika

Razdeo Basidiomycota prema Hibbett i sar. (2007) predstavlja jedan od 7 razdela carstva Fungi (Slika 1) i zajedno sa razdelom Ascomycota predstavljaju monofiletsku granu (podcarstvo Dikarya) s obzirom da dele jedinstvenu osobinu za carstvo gljiva – prisustvo dikariontskih hifa (James i sar., 2006).



**Slika 1.** Klasifikacija i filogenetski odnosi između glavnih taksonomskih grupa carstva Fungi. Dužine grana nisu proporcionalne genetičkoj udaljenosti (Hibbett i sar. 2007).

Prema klasifikaciji Ainsworth (1973) Basidiomycota je na nivou podrazdela (*subphylum*) Basidiomycotina i podeljen je na tri klase na osnovu toga da li formiraju bazidiokarpe (Hymenomycetes i Gasteromycetes) ili su oni zamenjeni teliosporama (Teliomycetes).

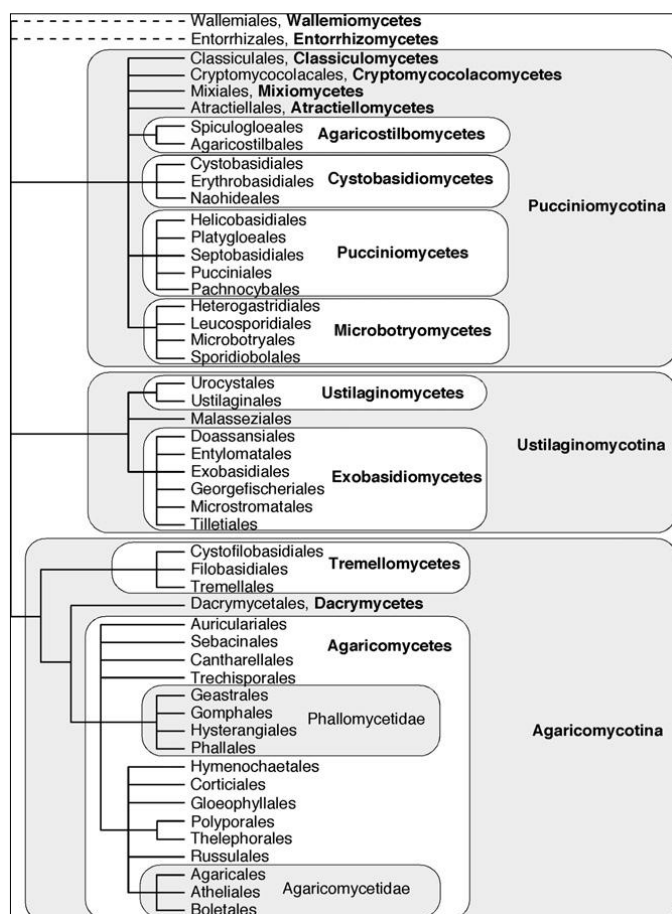
Međutim, upotrebom molekularnih metoda i filogenetskom analizom različitih regiona, uglavnom nuklearnog genoma gljiva (ITS, LSU, EF-1 $\alpha$ ) (James i sar., 2006; Hibbett i sar., 2007; Moncalvo i sar., 2002) utvrđeno je da su vrste u okviru navedenih klasa ivergentne i da je podela neadekvatna. Tako je danas prihvaćena savremenija klasifikacija Hibbett i sar. (2007) prema kojoj se razdeo Basidiomycota deli na tri podrazdela: Pucciniomycotina, Ustilaginomycotina i Agaricomycotina kojem pripada devetnaest klasa i manji broj vrsta kojima još uvek nije utvrđena sistematska pripadnost (Tabela 1) (<http://www.catalogueoflife.org>, <http://www.speciesfungorum.org/>).

**Tabela 1.** Klase razdela Basidiomycota\*

<b>Klasa</b>	<b>Broj vrsta</b>	<b>Klasa</b>	<b>Broj vrsta</b>
Agaricomycetes	36413	Malasseziomycetes	22
Agaricostilbomycetes	80	Microbotryomycetes	326
Atractiellomycetes	51	Mixiomycetes	1
Classiculomycetes	2	Pucciniomycetes	8367
Cryptomycocolacomycetes	2	Tremellomycetes	593
Cystobasidiomycetes	56	Tritirachiomycetes	16
Dacrymycetes	172	Ustilaginomycetes	1405
Entorrhizomycetes	17	Wallemiomycetes	10
Exobasidiomycetes	828	Incertae sedis	38
Geminibasidiomycetes	5		

\*<http://www.catalogueoflife.org/col/browse/tree/id/f88f6ffa7498d8bebe3e1c58cc327562>, pristupljeno 13.07.2019

Najbrojnija klasa Agaricomycetes, sa najvećim brojem vrsta koje obrazuju krupna plodonosna tela obuhvata himenomicetoidne i gasteroidne vrste sa bazidijama koje formiraju dve do osam spora i imaju kompleksne dopliporne septe sa perforiranim ili neperforiranim parentozomom (Hibbett i sar., 2007). Ova grupa pretežno obuhvata vrste koje su prethodno svrstavane u klase Hymenomycetes i Gasteromycetes (Ainsworth, 1973), odnosno u klasu Homobasidiomycetes zajedno sa Auriculariales i Sebaciniales (Hibbett i Thorn, 2001). Objekti proučavanja ove doktorske disertacije pripadaju klasi Agaricomycetes.



Slika 2. Klasifikacija i filogenetski odnosi u okviru razdela Basidiomycota (Hibbett i sar., 2007).

### 2.1.2. Opšte karakteristike

Razdeo Basidiomycota sadrži 48406 od procenjenih 50000 vrsta gljiva i po brojnosti je drugi u carstvu gljiva, iza razdela Ascomycota koji obuhvata 83837 od procenjenih 87000 vrsta (<http://www.catalogueoflife.org>). Iako najpoznatiji predstavnici Basidiomycota obrazuju krupna plodonosna tela, najčešće pečurke, prisutna je ogromna morfo-fiziološka raznovrsnost uključujući bazidiomicetozne kvasce (*Sporobolomyces*), mnoge važne biljne patogene (*Ustilago maydis*), kao i neke patogene čoveka (*Cryptococcus neoformans*). Jedinstvena osobina koja karakteriše ovu grupu gljiva je **bazidija**, sporonosna struktura na kojoj se nakon kariogamije i mejoze obrazuju seksualne spore (bazidiospore), koje se obično formiraju na kratkim drškama koje se nazivaju sterigme.

Većina vrsta pripadnika razdela Basidiomycota su terestrične sa sporama koje se raznose vetrom, međutim neke su u slatkovodnim ili morskim staništima. Mnoge su saprotrofi i uključene su u procese razgradnje šumske stelje i drvene mase. U ovoj grupi gljiva postoje i

biljni paraziti kao što su vrste roda *Armillaria* koje parazitiraju veliki broj drvenastih vrsta i *Heterobasidion annosum*, koji može ozbiljno oštetiti plantaže četinarara. Takođe, mnoge vrste rodova *Amanita* i *Boletus* su česte u šumskim zajednicama gde stupaju u simbiozu sa korenovim sistemom biljaka formirajući ektomikorizu.

Zbog apikalnog rasta hifa ćelijski zid je pri vrhu veoma tanak, oko 50 nm (primarni ćelijski zid), dok sa razvojem i starenjem zadebljava, pa je prema suprotnom kraju 125-250 nm (sekundarni ćelijski zid). Fibrilarne je građe i multilamelarne strukture. Kompleks mikrofibrila je sagrađen od polimera hitina tj. lanaca n-acetil glukozamina povezani  $\beta$ -1,4,  $\beta$ -1,3 ili  $\beta$ -1,6 vezama i utopljen u amorfni matriks.

Veličina jedra kod gljiva je veoma mala (1-2  $\mu$ m). Obavijeno je dvoslojnom jedarnom membranom, nukleolemom kao kod svih eukariota, međutim postoje neke specifičnosti u građi jedra i njegovoj deobi: 1) nukleolema i jedro ostaju netaknuti skoro tokom čitavog procesa mitoze, za razliku od drugih organizama kod kojih se ona raspada već u početnim fazama deobe jedra. Smatra se da je time sprečeno rasipanje jedrovog sadržaja po hifalnim odeljcima koji sadrže više jedara i brzo-strujuću protoplazmu. 2) tokom metafaze hromozomi ne formiraju metafaznu ploču već su nasumično rasejani 3) gljive imaju različite tipove igličastih tela (tj. mikrotubularnih centara) koji su odgovorni za raspodelu mikrotubula tokom deobe jedra, čime se obezbeđuje pravilno razdvajanje hromozoma. Većina gljiva je haploidna, sa brojem hromozoma od 6-20 (*Schizophyllum commune* ih ima 6, dok ih je 16 kod *Saccharomyces cerevisiae*) (Deacon, 2006).

### 2.1.3. Životni ciklus

Polni proces je glavni izvor genetske varijabilnosti i to pre svega preko mejotičkog *crossing overa*. Polno razmnožavanje kod svih organizama podrazumeva spajanje dve haploidne ćelije (plazmogamija), spajanje jedara (kariogamija) i mejozu, kako bi se stvorila haploidna rekombinantna jedra. Zavisno od vrste gljiva ove faze mogu biti vremenski i prostorno bliske ili udaljene i javljaju se i u različitim fazama životnog ciklusa (Deacon, 2006).

Predstavnici razdela Basidiomycota imaju dva osnovna sistema polnog razmnožavanja – homotalusni i heterotalusni. Kod homotalusnih organizama, reproduktivne strukture suprotnih polova razvijaju se na istom somatskom telu, odnosno na istoj individui, dok se kod heterotalusnih nalaze na različitim somatskim telima.

Oko 10% vrsta ovog razdela su homotalusne kod kojih možemo razlikovati primarni homotalizam, sekundarni homotalizam (pseudohomotalizam) i neklasifikovani homotalizam. Kod preostalih 90% vrsta razdela Basidiomycota koje su heterotalusne razlikuju se tetrapolarne i bipolarne vrste.

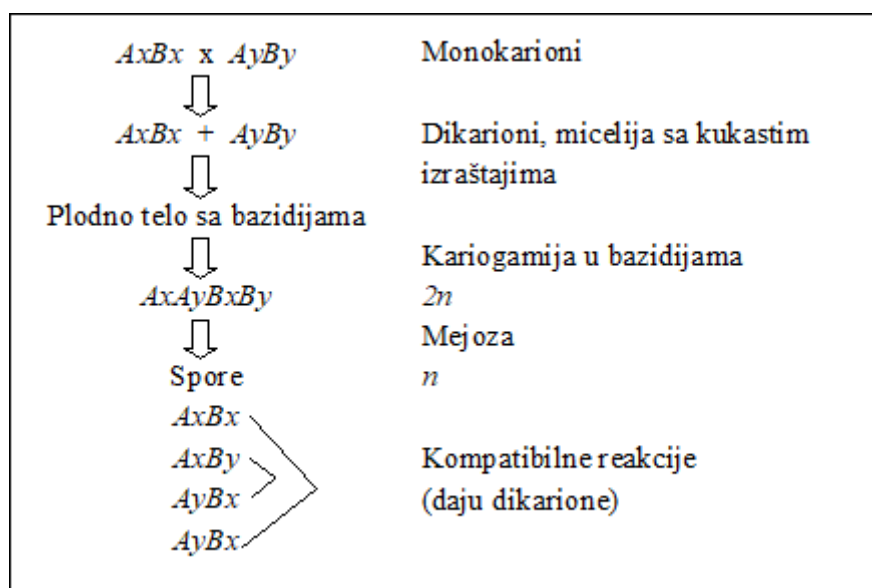
**Primarni homotalizam** je opisan kod vrste *Coprinus sterquilinus* (Webster i Weber, 2007). Nakon klijanja jedne bazidiospore, novonastala micelija uskoro postaje organizovana u binuklearne segmente, a dolazi i do obrazovanja kukastih izraštaja u regionima septi. Oba jedra u svakom segmentu hife su genetički identična. Na ovakvoj ovoj miceliji dolazi do obrazovanja plodonosnih tela.

**Sekundarni homotalizam** (pseudohomotalizam) prisutan kod vrsta *Coprinus ephemerus* f. *bisporus*, *Neurospora tetrasperma* i *Agaricus bisporus* (Webster i Weber, 2007). U ovom sistemu razmnožavanja, na bazidijama se formiraju samo dve spore koje nakon mejoze prelaze po dva jedra koja nisu genetički identična. Nakon klijanja jedne dvojedarne spore dolazi do formiranja dikarionske micelije sa kukastim izraštajima i sposobnošću formiranja plodonosnih tela. Povremeno se dešava da ovakve spore daju miceliju bez kukastih izraštaja i do formiranja plodonosnih tela će doći samo ako se ovakve micelije upare u određenoj kombinaciji, što ih zapravo čini heterotalusnim.

**Neklasifikovani homotalizam** je opisan kod vrste *Agaricus campestris* i predstavlja sposobnost formiranja plodonosnih tela iz micelije nastale klijanjem jedne spore. U bazidiji dolazi do spajanja jedara, nakon čega slede dve deobe novonastalog jedra. Formiranje kukastih izraštaja na miceliji nastaloj klijanjem ovakvih spora nije uočeno (Webster i Weber, 2007).

**Bipolarnost** je karakteristična za oko 25% vrsta razdela Basidiomycota. Nakon klijanja spora poreklom od različitih individua i sparivanja njihovih primarnih micelija (monokariona), sekundarna micelija (dikarionska), nastaje u polovini slučajeva. To se može objasniti prisustvom jednog gena (faktora) sa dva alela na svakoj monokarionskoj miceliji. Ovi polni faktori su multialelni i za uspešno sparivanje neophodno je da partneri poseduju različite alele (npr. A1 x A2). Za ovakve monokarione kaže se da su kompatibilni (Webster i Weber, 2007).





Slika 3. Tetrapolarnost kod Basidiomycota (prevod, Chang i Miles, 2004)

**Tetrapolarnost** je prisutna kod najvećeg broja vrsta razdela Basidiomycota (Slika 4). Ovaj sistem polnog načina razmnožavanja je određen sa dva polna faktora na nevezanim lokusima, koji su kod model organizama *Coprinus cinereus* i *Schizophyllum commune* označeni sa A i B, dok su kod *Ustilago maydis* označeni sa *a* i *b*. Seksualno kompatibilni su oni partneri koji poseduju različite alele na oba lokusa (npr.  $AxBx \times AyBy$ ). Za ove vrste se kaže da su tetrapolarne s obzirom da kao rezultat seksualnog procesa mogu nastati bazidiospore sa četiri različite kombinacije polnih faktora (npr.  $AxBx$ ,  $AxBy$ ,  $AyBx$ ,  $AyBy$ ) (Webster i Weber, 2007). Jedna od karakteristika Basidiomycota jeste prisustvo velikog broja alela na lokusima polnih gena, tako da je kod *U. maydis* utvrđeno 25 alela na *b* lokusu i 2 alela na *a* lokusu što ukupno omogućava 50 različitih kombinacija. Kod makromiceta oba polna lokusa su multialelna, što za posledicu ima mogućnost formiranja ogromnog broja kombinacija – 12000 kod *C. cinereus* i više od 20000 kod *S. commune* (Casselton i Olesnický, 1998).

Iako razdelu Basidiomycota pripadaju vrste sa raznovrsnim životnim strategijama, ovde će biti opisan životni ciklus tipičnih tetrapolarnih predstavnika koji obrazuju krupna plodnosna tela i pripadaju familiji Agaricomycetes kao i vrste ispitivane u ovom radu (Slika 5). Tetrapolarni životni ciklus obuhvata nekoliko faza:

- klijanje bazidiospora,
- formiranje monokarionske micelije,
- formiranje dikarionske micelije,
- nastanak plodnosnih tela,
- produkciju bazidiospora.

**Klijanje bazidiospora** - Obično se obrazuju po četiri bazidiospore na bazidiji sa kojom su povezane sterigmama. Najčešće su jednoćelijske i neseptirane, prečnika 3 – 20 µm i sadrže jedno haploidno jedro. Ćelijski zid im je kompleksan i sastoji se od nekoliko slojeva. Tako je utvrđeno da je ćelijski zid bazidiospora *Agaricus bisporus* troslojan i čini 35% suve mase, dok se ćelijski zid bazidiospora *Coprinus cinereus* sastoji od čak 6 slojeva (Chang i Miles, 2004).

Važna histohemijska karakteristika ćelijskih zidova spora nekih vrsta Basidiomycota jeste *amiloidnost*, odnosno sposobnost da sa rastvorom joda (Melzer reagens) daju plavo-ljubičastu boju. Ova reakcija nastaje usled prisustva amiloze, kratkog nerazgranatog polimera D-glukoze. Utvrđeno je da ovaj „fungalni skrob“ doprinosi dormantnosti spora tako što sprečava ulazak kiseonika. Nakon kontakta bazidiospora sa vodom, dolazi do rastvaranja amiloze i omogućeno je klijanje (Webster i Weber, 2007).

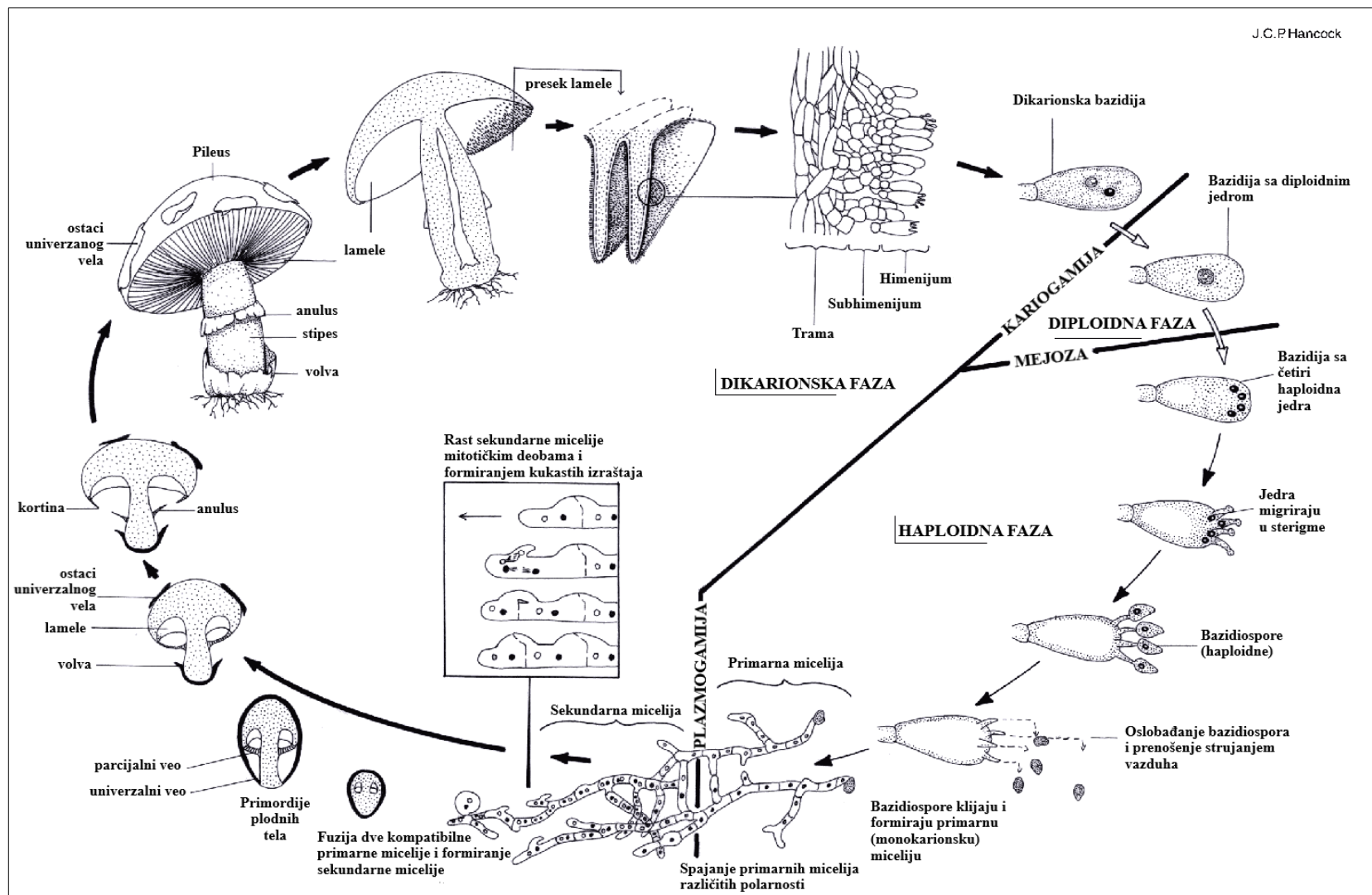
Pored karakteristika ćelijskog zida, na klijanje bazidiospora utiču i mnogi drugi faktori, kao što su prisustvo rezervnih materija, blizina spora i micelije iste ili druge vrste, aeracija, pH, temperatura i svetlost. Optimalne vrednosti za navedene faktore razlikuju se između vrsta. Tako je nekim vrstama za klijanje bazidiospora neophodna samo vlažnost i aerobni uslovi, dok druge zahtevaju prisustvo neorganskih soli i organskih molekula kao što su glukoza, aminokiseline ili određeni vitamini (Chang i Miles, 2004).

**Formiranje monokariontske (primarne) micelije** - Nakon klijanja bazidiospore, sledi nekoliko mitotičkih deoba tako da klijajuća cevčica postaje mnogojedarna - cenocitična. Iza rastućeg vrha hife formiraju se poprečne septe tako da biva izdvojena na odeljke koji sadrže samo po jedno jedro. Sva jedra su haploidna s obzirom da potiču iz bazidiospore. Daljim rastom hifa nastaje micelija koja je poznata kao monokariontska ili primarna micelija, a obzirom da su sva jedra genetički uniformna ona je *homokariontska* (Webster i Weber, 2007). Trajanje homokariontske faze micelije određeno je brojnim faktorima od kojih je možda najvažniji prisustvo lokalnih konspecifičkih monokariona. Monokarion egzistira kao takav dok ne stupi u kontakt sa drugim monokarionom, nakon čega dolazi do združivanja u parove i formiranja dikariontske micelije. Monokariontska faza se često smatra kratkoživcem, međutim utvrđeno je da to nije slučaj u regionima gde je broj monokariona mali, pa je duže postojanje monokariona nužno da bi došlo do njihovog sparivanja (Hiscox i sar., 2010).

**Formiranje dikariontske (sekundarne) micelije** - Kada dve monokariontske ćelije hifa stupe u kontakt, ćelijski zid koji ih razdvaja se razlaže i dolazi do **plazmogamije**, a nakon toga, ukoliko su dva monokariona kompatibilna dolazi do **migracije jedara**. Monokarion čija jedra migriraju naziva se „*donor*“, a koji prima jedro je „*recipijent*“. Pregrade koje razdvajaju ćelije unutar hife sadrže složene otvore – *dolipore*, koje sprečavaju kretanje jedara između

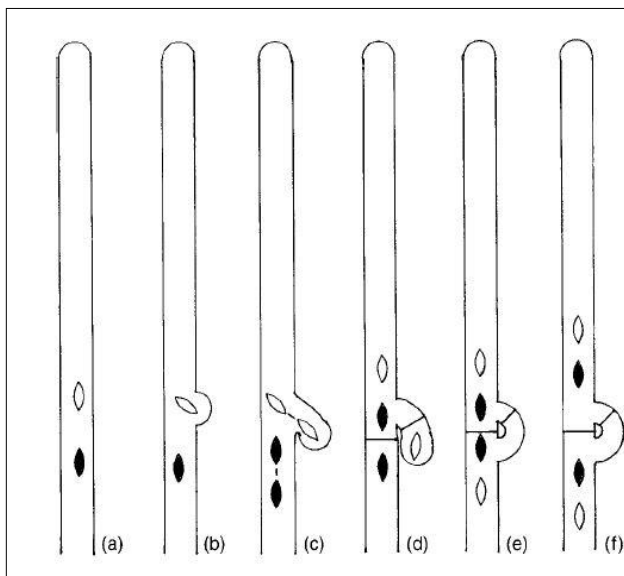
ćelija. Međutim, nakon fuzija ćelija hifa, dolazi do razlaganja dolipornih septi i omogućeno je kretanje jedara. Nuklearna migracija može biti veoma brza i odvija se mnogo brže nego rast hifa. Tako je utvrđeno da je brzina kretanja jedra kod *S. commune* iznosi 3mm/h, a najbrža zabeleženo nuklearno kretanje je kod vrste *Coprinus congregatus* i može da dostigne čak 4cm/h. Jednom kada su dva kompatibilna jedra prisutna unutar ćelije hifalnog vrha, kasniji rast je u obliku dikariona (Casselton i Olesnicky, 1998).

Dikariontska ili sekundarna micelija predstavlja fazu životnog ciklusa tipičnu samo za gljive razdela Basidiomycota. Za ovaj tip micelije karakteristično je da u svakoj ćeliji hifa koegzistiraju dva haploidna nukleusa, dikarion, poreklom od različitih monokariona. Utvrđeno je da u apikalnim i subapikalnim ćelijama dikariontske micelije jedra održavaju konstantnu udaljenost jedno od drugog što ukazuje da su upareni mikrotubulama. Ova pojava je uočena i prilikom unutarćelijskog kretanja jedara (Webster i Weber, 2007). Takođe, veoma je važna međusobna udaljenost jedara jer se u zavisnosti od njihovog položaja menja i genska ekspresija. Tako je na primeru kod *S. commune* utvrđeno da je sekrecija određenog tipa hidrofobina determinisana internuklearnom razdaljinom koja je različita u zavisnosti od toga da li hife rastu na hidrofobnoj ili hidrofilnoj podlozi. Na hidrofilnoj podlozi, jedra se nalaze blizu jedno drugome (1,6  $\mu\text{m}$ ) i dolazi do sekrecije SC4 (oblaže vazdušne kanale u plodnosnim telima) i SC7 hidrofobina, dok se na hidrofobnoj podlozi jedra nalaze na većoj udaljenosti (13 do 16  $\mu\text{m}$ ) i hife vrše sekreciju hidrofobina SC3 (oblaže vazdušne hife i hife na površini plodnog tela), ali ne i hidrofobina SC4 i SC7. Regulacija genske aktivnosti podešavanjem razdaljine između jedara predstavlja mehanizam jedinstven samo za gljive, obzirom da je jedinstvena i sama pojava dikariona, i čini važnu adaptaciju na promenljive uslove spoljašnje sredine (Maheshwari, 2005). Morfološki, dikariontska micelija se razlikuje od monokariontske u nekoliko karakteristika od čega je možda najvažnije prisustvo **kukastih izraštaja** (eng. clamp connection) u regionu formiranja septi. Uloga ovih struktura je veoma važna jer omogućava održavanje dikariontskog stanja na takav način da svaka novonastala ćelija hife sadrži po jednu kopiju jedra poreklom iz različitih monokariona (Webster i Weber, 2007).



Slika 4. Životni ciklus agarikoidnih vrsta gljiva razreda Basidiomycota (<https://www.kisspng.com/png-basidiomycota-biological-life-cycle-mushroom-mycor-1896642/download-png.html>)

**Formiranje kukastih izraštaja** (Slika 5) se odvija na sledeći način: na apikalnoj ćeliji, u blizini pozicije gde se nalaze jedra formira se mali hifalni izdanak (kukasta ćelija) koji raste i savija se unazad. Oba jedra dikariona se tada **simultano dele** i jedno od novonastalih jedara ulazi u kukasti izraštaj, drugo ostaje u bazalnom delu ćelije a dva nesestrinska jedra odlaze u vršni deo ćelije. Tada se formiraju dve septe – jedna u bazi kukastog izraštaja a druga na osnovnoj hifi formirajući tako novu, apikalnu ćeliju. U sledećoj fazi



**Slika 5.** Formiranje kukastih izraštaja (Webster i Weber, 2007).

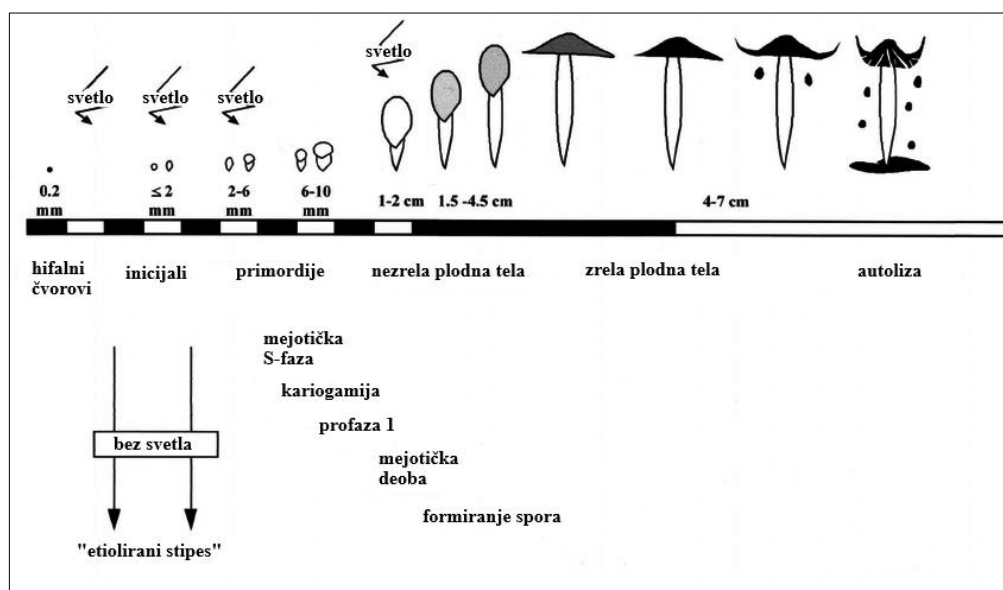
dolazi do fuzije sadržaja kukastog izraštaja i subapikalne ćelije. Na ovaj način stvorena je nova dikarionska ćelija sa genetički različitim jedrima. Dikarionska micelija se na ovaj način može održavati duži vremenski period, a utvrđeno je da se u laboratorijskim uslovima, na sobnoj temperaturi, kukasti izraštaji formiraju na otprilike svakih 60 minuta, dok se simultana deoba jedara dešava na svakih 2 do 3 minuta (Chang i Miles, 2004).

Oba **polna faktora, A i B**, su neophodni za razvoj i održavanje dikarionskog stanja. Genski produkti A lokusa su odgovorni za:

- represiju aseksualne sporulacije, tj. formiranje bespolnih spora,
- regulisanje uparivanja jedara unutar apikalne ćelije,
- koordinisanje deobe jedara,
- formiranje kukastih ćelija,
- stvaranje septi na subapikalnoj ćeliji.

Geni B lokusa regulišu inicijalnu migraciju jedara do apikalne ćelije, što podrazumeva indukciju enzima za razgradnju ćelijskog zida koji učestvuju u menjanju strukture dolipornih septi. Takođe, ovi geni regulišu fuziju kukaste ćelije sa subapikalnom ćelijom (Casselton i Olesnický, 1998).

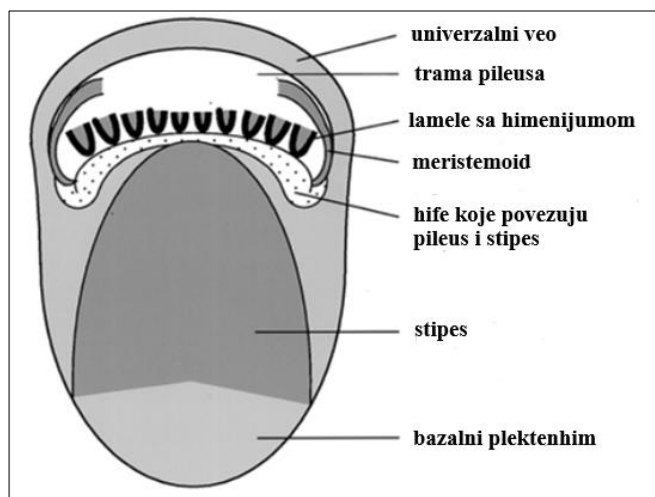
**Nastanak plodonosnih tela** - Plodonosna tela su najveće i najsloženije diferencirane strukture u carstvu gljiva. Formiranje plodonosnih tela se odvija na sekundarnoj miceliji, njihov razvoj još uvek nedovoljno istražen.



**Slika 6.** Formiranje plodonosnog tela na primeru *Coprinopsis cinereus* (prevod, Kües, 2000).

Generalizovana šema stvaranja plodonosnih tela opisana na primeru vrste *Coprinopsis cinereus* (Slika 6): Nakon što se formira "kritična masa" vegetativne micelije, hife se izdižu iznad supstrata i obrazujući vazdušne hife koje formiraju agregate, hifalne čvorove ili **nodule**. Unutar čvorova, dolazi do združivanja hifa i formiranja **inicijala** koji se dalje mogu razviti u **primordiju** (Slika 7). Primordiju karakteriše prisustvo svih tkiva koja se javljaju u zrelom plodonosnom telu. Iz donjeg dela razvije se drška, dok će se šešir razviti iz gornjeg dela primordije (Wendland, 2016).

Kod *Schizophyllum commune* uzgajanog u laboratorijskim uslovima utvrđeno je da je svetlost okidač koji inicira formiranje primordija, a njihov dalji razvoj se nastavlja kada se izvori ugljenika iz supstrata iscrpe, pa gljiva prelazi na unutrašnje izvore, iz same micelije. Glikogen, osnovni rezervni polisaharid gljiva, razlaže se na prostije šećere koji se translociraju u primordiju obezbeđujući energiju za njen dalji razvoj. Važnu ulogu u formiranju plodonosnih tela imaju i cisteinom bogati proteini (8-Cis-ostataka na konzerviranim mestima duž lanca amino-kiselina bogati proteini) - **hidrofobini** koji se izlučuju na površinu hifa. Hidrofobini su klasa malih sekretornih proteina sa 100-150 amino-kiselina koji su do sada pronađeni samo kod gljiva (Deacon, 2006).



**Slika 7.** Šematski prikaz preseka primordije kod vrste *Coprinopsis cinereus* (prevod, Kües, 2000).

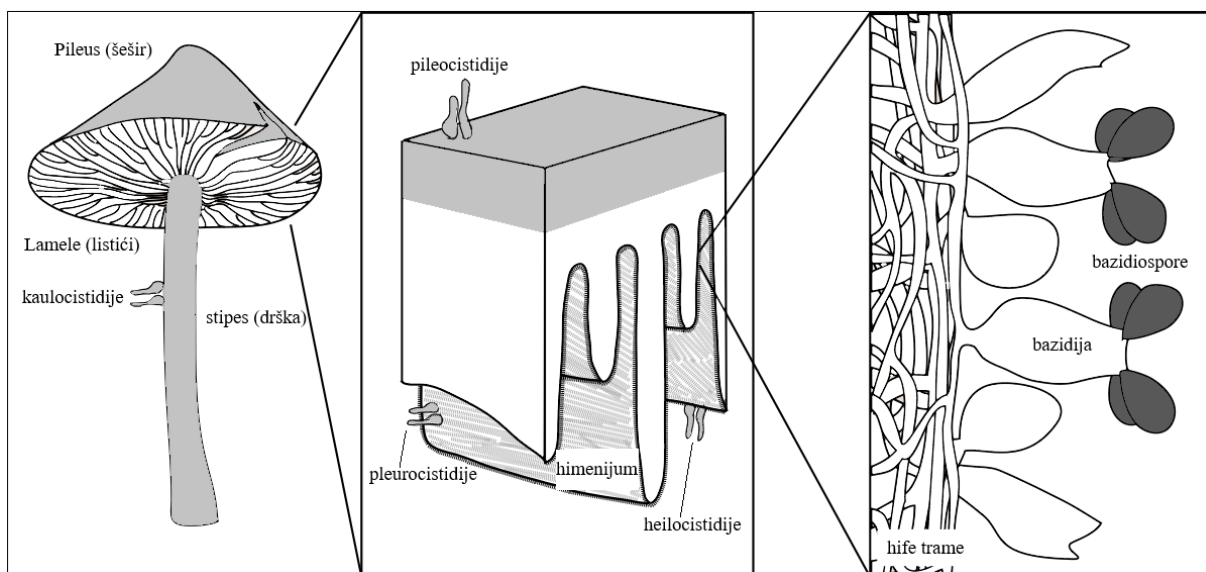
hifa, kao i hifa na površini plodonosnih tela, čineći ih hidrofobnim pa onemogućavaju da se plodonosna tela natope vodom. Takođe, ovi proteini utiču na adheziju ili površinske interakcije hifa pa samim tim i na formiranje pseudo tkiva i plodonosnih tela (Deacon, 2006). Prividna tkiva su ispresecana brojnim vazдушnim kanalima, čija je uloga u obezbeđivanju efikasne gasne razmene tokom respiracije. Da SC4 gen ne obezbeđuje hidrofobni omotač tj. gasne kanale otvorenim, oni bi se usled kapilarnih sila lako punili vodom. Slični omotači opisan su i kod vrste *Agaricus bisporus* (Wendland, 2016).

Formiranje plodonosnih tela je često pod uticajem kombinovanog delovanja različitih faktora sredine. Tako za plodonošenje *Lentinus edodes* potrebna je svetlost, vlaga i niska temperatura. U slučaju *Agaricus bisporus*, pad temperature inicira formiranje primordija, dok koncentracija ugljen dioksida utiče na brojnost plodonosnih tela. Kod vrste *C. cinereus*, najmanje tri faze obrazovanja plodonosnih tela zahtevaju svetlost, koja je potrebna za formiranje inicijala, za sazrevanje primordija i za kariogamiju (Wendland, 2016).

Plodonosna tela gljiva razdela Basidiomycota pokazuju izuzetnu morfološku raznovrsnost, međutim za sve je karakteristično obrazovanje **himenijskog sloja** (himenijuma) koji je sagrađen od bazidija sa bazidiosporama i sterilnih elemenata (Slika 8). Bazidije se formiraju kao terminalne ćelije na dikarionskim hifama, gusto su raspoređene jedna pored druge i mogu biti holobazidije (jednoćelijske) ili fragmobazidije (najčešće četvoroćelijske). Funkcija bazidija je formiranje bazidiospora. Mlada bazidija je ispunjena gustom citoplazmom, ali ubrzo dolazi do formiranja nekoliko malih vakuola pri njenoj osnovi koje se kasnije spajaju formirajući jednu veliku vakuolu koja svojim rastom potiskuje citoplazmu ka vrhu ćelije. Na samom vrhu bazidije se obrazuje providna kapa gde je ćelijski zid nešto tanji i

Otkriveno je da njihovi geni (SC1, SC3, SC4 i SC6 geni hidrofobina iz *S. commune*) proizvode ogromne količine iRNA u određenim stadijumima razvoja npr. u fazi formiranja vazдушnih hifa i plodonosnih tela. Geni ovih proteina ekspresuju se u monokarionu, kao i u dikarionu, međutim mnogo veća aktivnost gena za hidrofobine je uočena u dikariontskoj miceliji. Ovi proteini oblažu površinu vazдушnih

drugačije strukture što omogućava formiranje sterigmi, na kojima će se obrazovati bazidiospore (Webster i Weber, 2007).



**Slika 8.** Građa plodonosnog tela i himenijuma kod vrsta sa listastim himenoforom

(prevod, <https://en.wikipedia.org/wiki/Basidiocarp>).

**Produkcija bazidiospora** - Formiranju bazidiospora prethodi proces kariogamije i mejotičke deobe koji se odvijaju u bazidiji. Kariogamija, odnosno spajanje haploidnih i formiranje diploidnog jedra, odvija se u donjem delu bazidije, probazidiji. Odmah zatim, novonastalo diploidno jedro prolazi kroz redukcionu deobu, a ovaj proces se odvija u gornjem delu bazidije, metabazidiji. Rezultat mejoze je stvaranje četiri nova genetički različita haploidna jedra. Kod mnogih gljiva razdela Basidimycota sledi postmejotička mitoz, tako da je konačan broj haploidnih jedara u bazidiji osam. Međutim, samo će četiri jedra učestvovati u formiranju bazidiospora, dok ostala četiri jedara ostaju u bazidiji i propadaju (Webster i Weber, 2007).



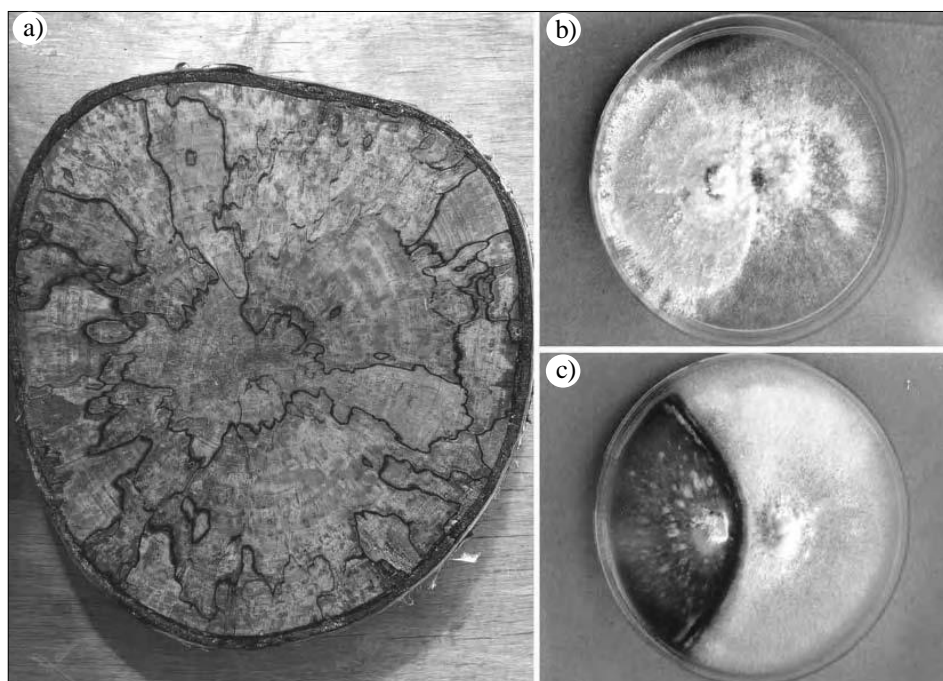
#### 2.1.4. Populaciona struktura makromiceta i problem definisanja jedinki

Jedan od izazova populacione biologije je kako definisati skup individua iste vrste koji bi predstavljao jednu populaciju. Populacija može biti sve, od jedne jedinke u određenom prostoru, do skupa svih jedinki jedne vrste koji naseljavaju planetu Zemlju. Zbog praktičnih razloga populacije se često definišu u okviru određenih geografskih granica. Međutim, geografske granice ne moraju predstavljati granice stvarnog protoka gena, što je kod gljiva posebno izraženo zbog mogućnosti njihovih spora da se aerosolno prenose na velike udaljenosti (Stenlid, 2008).

Zbog micelijarne prirode, neograničenog rasta i najčešće razvoja u susstratu, kod gljiva je prisutan problem definisanja i određivanja brojnosti jedinki u prirodnoj sredini. Među prvim istraživanjima u ovoj oblasti su radovi Rayner i Todd (1979) i Todd i Rayner (1980) gde je istaknuto da se prirodne populacije heterotalusnih bazidiomiceta sastoje od somatski inkompatibilnih, genetički i fiziološki različitih sekundarnih (dikariontskih) micelija za koje je uveden termin *genet* (Rayner i Boddy, 1988). Geneti koji pripadaju istoj vrsti pokazuju inkompatibilnu reakciju kada su u kontaktu jedni sa drugima koja je vidljiva kako na terenu (demarkacione zone, zone interakcije, na presecima poleglim stabala), tako i u laboratorijskim uslovima u testovima konfrontacije izolovanih sojeva (Slika 9) (Holmer i Stenlid, 1991). Somatska inkompatibilnost (SI) kod bazidiomikota je regulisana genima koji se nalaze na jednom do četiri ili više nezavisnih lokusa od kojih bar neki imaju više alela. Dva izolata su nekompatibilna ako imaju različite alele na jednom ili više SI lokusa. Ovaj sistem heterogene nekompatibilnosti praktično osigurava izolaciju, odnosno održavanje integriteta geneta u prirodi (Hansen i Hamelin, 1999).

S obzirom da je kod gljiva nemoguće neposredno odrediti broj i veličinu jedinki (geneta) potrebno je primeniti indirektan pristup koji podrazumeva mapiranje i sakupljanje plodonosnih tela ispitivane vrste na terenu, nakon čega se iz sakupljenih plodonosnih tela izoluje DNK i analizira različitim molekularnim metodama. Za plodonosna tela koja imaju identične genotipove pretpostavlja se da pripadaju istoj individui, pa se merenjem fizičke udaljenosti između ovih plodonosnih tela može proceniti njena veličina (Burchhardt i sar., 2011). Jasno je da ovakav pristup vremenski, finansijski i logistički izazovan, posebno prilikom prikupljanja podataka sa velikih geografskih područja tokom više godina. Međutim, ovakva istraživanja procene brojnosti i veličine jedinki su neophodna radi preciznijeg planiranja uzorkovanja za populacione genetičke studije sa većih geografskih područja. Na

ovaj način bi se izbeglo uzastopno uzorkovanje sporokarpa produkovanih od strane istog geneta (Dunham i sar., 2003).



**Slika 9.** Vegetativna inkompatibilnost kod *Trametes versicolor*

a) presek stabla na kojem su vidljive demarkacione zone koje predstavljaju granice različitih dikariontskih kolonija (geneta); b) reakcija dve genetički identične klonije inokulisane blizu jedna drugoj – micelija se preklapa; c) nekompatibilna reakcija nakon inokulacije dva genetički različita dikariona – formira se jasna granična zona, nema preklapanja micelije (Webster i Weber, 2007).

Do sada su na ovaj način ispitane populacije tridesetak vrsta makromiceta od kojih najveći deo pripada ektomikoriznim i parazitskim vrstama (Anderson i sar., 1998; Zhou i sar., 1999; Sawyer i sar., 2003). Utvrđeno je da su prečnici geneta u populacijama ektomikoriznih vrsta obično veličine 7 do 30 m (Anderson i sar., 1998; Sawyer i sar., 1999), međutim mogu dostići veličinu i od 600 m (genet vrste *Amanita pyramidifera*) (Sawyer i sar., 2003). Uočeno je da su veličina i brojnost geneta nekih ektomikoriznih vrsta varirali u zavisnosti od starosti šumske zajednice - u starijim šumama se javlja manje većih geneta, dok su kod mlađih detektovani brojniji manji geneti (Dahlberg i Stenlid, 1994, 1995). Takođe, sugerise se da se ektomikorizne gljive koje stvaraju relativno male genete češće razmnožavaju seksualno (Carriconde i sar., 2008; Gherbi i sar., 1999; Gryta i sar., 1997), dok one koje formiraju velike genete se rasprostiru vegetativno, rastom micelije tokom vremena (Bonello i sar., 1998; Dahlberg i Stenlid, 1994). Kod parazitskih vrsta, kao što je *Phellinus pini*, starost šume

predstavlja važan faktor koji utiče na brojnost geneta. Tako je utvrđeno da u devedesetogodišnjim šumama u Oregonu, samo 3% drveća je inficirano ovom vrstom, dok je u 450 godina staroj šumi *Phellinus pini* detektovana kod 60% stabala (Boyce i Wagg, 1953).

Veličina i prostorna distribucija geneta u populacijama saprotrofnih bazidiomikota, posebno u grupi razlagača šumske stelje su relativno slabo proučene (Holmer i Stenlid, 1991; Huss, 1993; Murphy i Miller, 1993; Kay i Vilgalys, 1992; Keirle i sar., 2014, Bošković i sar., 2017). Utvrđeno je da saprotrofne vrste koje se kroz supstrat prostiru isključivo rastom hifa formiraju manje genete [*Marasmiellus praecutus* – 4,6 m (Murphy i Miller, 1993), *Mycena galopus* – 2,5 m (Frankland i sar., 1995), *Pleurotus ostreatus* – 1 m (Kay i Vilgalys, 1992)] dok vrste koje se prostiru određenim diferencijacijama hifa (micelijarne vrpce i rozomorfi) formiraju nešto veće genete [*Clitocybe nebularis* – 60 m (Dowson i sar., 1989), *Resinicium bicolor* – 46 m (Kirby i sar., 1990), *Tricholomopsis platyphylla* – 150 m (Thompson i Rayner, 1982)] sa izuzetkom vrste *Gymnopus androsaceus* koja formira rizomorfe ali su joj geneti prečnika do 0,7 m (Holmer i Stenlid, 1991). U većini ovih studija identifikacija geneta izvršena je testiranjem SI, za koju je utvrđeno da ne omogućava tačno detektovanje geneta u svim slučajevima (Anderson i sar., 1998).

### 2.1.5. Populaciona genetika makromiceta

Molekularni diverzitet predstavlja evolucioni potencijal populacija svih organizama i neophodan je da bi se populacije prilagodile stalnim promenama u životnoj sredini. Njegovo proučavanje predstavlja osnovu za razumevanje evolucionih procesa i polazna je tačka u konzervaciji vrsta. Zbog problema definisanja vrsta, jedniki i populacija kod gljiva, molekularni diverzitet gljiva je relativno slabo proučen, u poređenju sa drugim grupama organizama, iako broj publikacija iz ove oblasti konstantno raste (Douhan i sar., 2011). Kod gljiva, visok nivo genetičke varijabilnosti se obično uočava kod prirodnih populacija koje se razmnožavaju seksualno, rasprostiru se u različitim ekološkim nišama i/ili imaju široku geografsku distribuciju (James i sar., 1999). Protok gena je jedan od najvažnijih izvora genetičke varijabilnosti i njegovo kvantifikovanje nam može pomoći u donošenju zaključaka o migraciji, disperziji, rekombinaciji i evolutivnim mehanizmima, i ukazati na strukturu populacija i način reprodukcije. Protok gena je od praktičnog značaja u patologiji biljaka i životinja jer migracija može izazvati brze promene u rezistenciji kod populacija domaćina i promene u virulenciji u populaciji patogena (McDermott i McDonald, 1993). Zbog toga su do sada su najbolje proučene ektomikorizne [*Leccinum duriusculum* (Selosse, 2003), *Rhizopogon*

*vesiculosus* (Kretzer i sar., 2005), *Cantharellus formosus* (Dunham i sar., 2003), *Tricholoma populinum* i *T. sculpturatum* (Gryta i sar., 2006)] i parazitske vrste [*Fomitopsis pinicola* (Hogberg i sar., 1999), *Armillaria cepistipes* (Heinzelmann i sar., 2012), *Armillaria luteo-virens* (Xing i sar., 2014)], odnosno vrste koje su od najvećeg ekonomskog značaja za čoveka. Međutim, zbog pada diverziteta makromiceta u Evropi koje je uzrokovano povećanom urbanizacijom i intenziviranjem korišćenja zemljišta, pre svega u šumarstvu i poljoprivredi od 1950-ih godina (Dahlberg, 2010), povećava se potreba za proučavanjem prirodnih populacija makromiceta. Saprotrofne vrste su izuzetno važne za funkcionisanje šumskih ekosistema, međutim molekularni diverzitet njihovih prirodnih populacija je još uvek nedovoljno istražen.

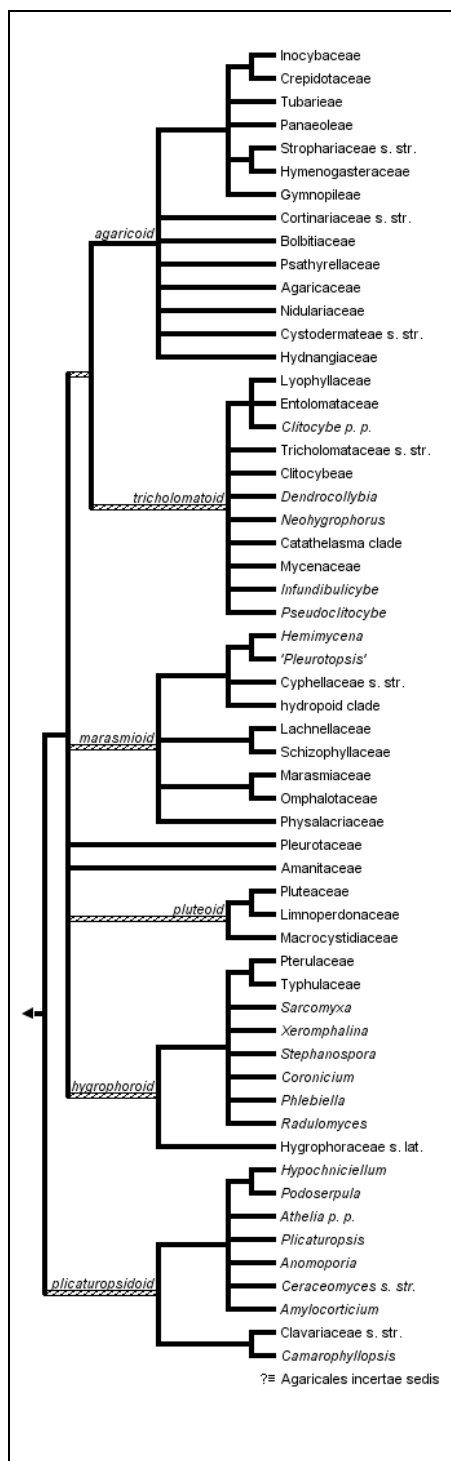
Za utvrđivanje genetičkog diverziteta i strukture populacija saprotrofnih vrsta koristi se ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) metoda koja predstavlja dominantan marker koji u poređenju sa kodominantnim markerima obično podcenjuje varijacije unutar populacija dok se kod parametara diferencijacije populacija dobiju slični ili nešto veći parametri (Lynch i Milligan, 1994; Nybom, 2004; Soldati i sar., 2013). Ove razlike su očekivane s obzirom da dominantni markeri mogu da daju samo dva alela po lokusu i ne omogućavaju razlikovanje homozigota od heterozigota (Xu, 2006). Uprkos ovim nedostacima, dominantni markeri omogućavaju objektivnu procenu genetičke varijacije bez potrebe za informacijama o sekvencama genoma, što ih čini pogodnim za analizu vrsta sa malo poznatim ili nepoznatim genomom (Nybom, 2004; Stewart i Excoffier, 1996). Do sada je na ovaj način ispitana genetička struktura i varijabilnost u populacijama više vrsta makromiceta kao što su *Trichaptum abietinum* (Kauserud i Schumacher, 2003) *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis* (Zhao i sar., 2013), *Auricularia auricula-judae* (Du i sar., 2013), više vrsta roda *Ganoderma* (Mei i sar., 2014).

### 2.1.6. Filogenija agarikoidnih gljiva i filogenetski odnosi unutar roda *Marasmius*

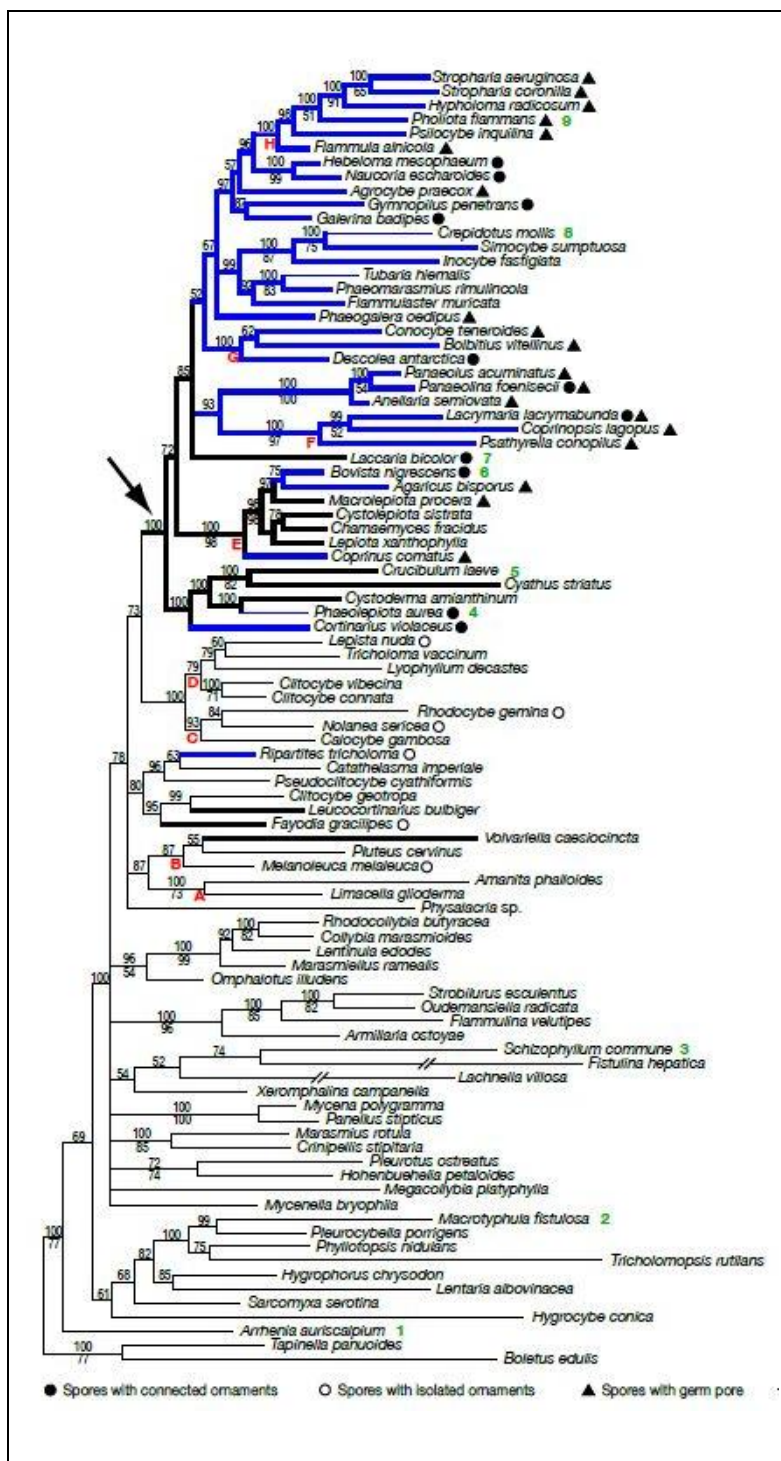
Agarikoidnu grupu gljiva čine pre svega vrste koje imaju lamelarni himenijum. U najvećem delu ova grupa odgovara vrstama koje je Singer (1986) grupisao u podred Agaricinae ali takođe podrazumeva i taksone koji se tradicionalno klasifikuju u okviru reda Aphylophorales (*Clavaria*, *Typhula*, *Fistulina*, *Schizophyllum*) kao i nekoliko redova porodice Gasteromycetes (Moncalvo i sar., 2002). Agarikoidne vrste su prošle kroz ogromnu adaptivnu radijaciju (sa 8400 postojećih opisanih vrsta) tokom koje su zauzele širok spektar ekoloških niša, uključujući formiranje ektomikorize, mutualističkih odnosa sa mravima i termitima, razlaganje drvene mase i drugih organskih supstrata, a mogu biti i patogeni biljaka. Jasno je da je u tako velikoj i raznovrsnoj grupi teško pronaći univerzalno primenljive karaktere koji bi omogućili realnu klasifikaciju vrsta gde bi svaka grupa predstavljala monofiletsku kladu.

Osnove klasifikacije agarikoidnih vrsta dao je Fries (1874) deleći ovu grupu gljiva na samo 12 rodova, pre svega na osnovu makroskopskih osobina himenofora (listast, cevast, venolik itd.). Uvodeći mikroskopske karaktere kao osnovu za klasifikaciju, Fayod (1889) izdvaja 108 rodova u ovoj grupi gljiva. Singer (1986) i Kühner (1980), jedni od najuticajnijih mikologa dvadesetog veka takođe su najveći značaj pridavali mikroskopskim karakteristikama, s tim da je Kühner-ov fokus pre svega bio na osobinama ćelija, dok je Singer više proučavao mikromorfologiju spora. Singer (1986) čiji rad na klasifikaciji reda Agaricales je jedan od najobuhvatnijih i najdetaljnijih klasifikacija agarikoidnih vrsta, primenjivao je širi koncept u definisanju ovog reda, ali uži koncept pri definisanju rodova (samo podred Agaricinae sadržao je 192 roda). Red Agaricales sadržao je ne samo vrste sa listastim himenoforom već i pojedine pripadnike reda Boletales i određene taksone iz redova Russulales i Polyporales. Za razliku od Singer-a, Kühner je podelio red Agaricales na pet redova: Tricholomatales (uključujući neke od vrsta iz Polyporales sa listastim himenoforom), Agaricales *sensu stricto*, Pluteales, Russulales i Boletales. Tri od ovih pet redova (Tricholomatales, Agaricales i Pluteales) u najvećoj meri odgovaraju Singerovom podredu Agaricineae, međutim Kühner u ovoj grupi prepoznaje samo 75 rodova (Matheny i sar., 2006). Radovi Singer-a i Kühner-a zbog njihovog značaja, ali i zbog njihovih suprotstavljenih pogleda, predstavljaju dobar osnov za molekularnu filogenetsku evaluaciju odnosa između agarikoidnih vrsta.

Do sada je urađeno nekoliko sveobuhvatnih filogenetskih istraživanja agarikoidnih vrsta (Moncalvo i sar., 2000, 2002; Matheny i sar., 2006, 2007) međutim još uvek ne postoji jasan konsenzus o klasifikaciji unutar ove velike grupe gljiva.



**Slika 10.** Filogenija agarikoidnih vrsta. Išrafirane klade najverovatnije nisu monofiletskog porekla (<http://tolweb.org/Agaricales/20551>)



**Slika 11.** Filogenija agarikoidnih vrsta. Plave linije predstavljaju vrste sa pigmentisanim sporama. Vrste sa debolizidnim sporama predstavljene zadebljalim linijama. (Garnica i sar. 2007)

U istraživanju Moncalvo i sar., (2002) gde su analizirane LSU sekvence čak 877 taksona homobazidiomikota (od toga oko 700 vrsta sa listastim himenoforom), utvrđeno je da se ova grupa gljiva može podeliti na 8 glavnih klada (Slika 10). Klada agarikoidnih vrsta u najvećoj meri predstavljaju vrste sa listastim himenoforom, međutim ukoliko bi se ova grupa

posmatrala kao monofiletska, bilo bi neophodno iz nje izbaciti nekoliko grupa gljiva sa lamelama koje se tradicionalno svrstavaju u red Agaricales i ubaciti nekoliko klavaroidnih, poroidnih, sekotoidnih i gasteroidnih vrsta koje su tradicionalno svstavane u druge redove bazidiomikota. U ovom radu ukupno 117 monofiletskih klada agarikoidnih vrsta gljiva se izdvojilo od kojih mnoge odgovaraju tradicionalnim taksonomskim grupama, ali mnoge ne.

Na osnovu analize sekvenci šest molekularnih markera koje pripadaju vrstama iz 146 rodova, Matheny i sar. (2006) su podelili agarikoidne vrste na 6 velikih klada neformalno nazvanih Agarikoidna, Triholomatoidna, Marasmioidna, Pluteoidna, Higorforoidna i Plikaturopsioidna. Na nižim taksonomskim nivoima, na osnovu dobijenih podataka ova grupa gljiva se može podeliti na 30 familija i četiri grupe nedefinisane pozicije u filogenetskom stablu. Takođe, utvrđeno je da se ektomikoriza pojavila bar 11 puta nezavisno u ovoj grupi gljiva, od toga bar 9 puta u okviru Agarikoidne i Triholomatoidne klade.

Za razliku od prethodnih istraživanja, Garnica i sar. (2007) su kombinujući molekularnu filogenetsku analizu (LSU i RPB1 markeri) sa morfološkim podacima (debljina i pigmentisanost zida bazidiospora) dobijenih od 88 reprezentativnih rodova agarikoidnih vrsta odredili odnose između grupa na višim taksonomskim nivoima. Utvrđeno je da vrste sa debelim i pigmentisanim bazidiosporama čine izvedenu grupu (Slika 11) i može se pretpostaviti da ova kombinacija karaktera daje evolutivnu prednost s obzirom da se povećanjem tolerancije bazidiospore na gubitak vlage i sunčevo zračenje otvaraju nove ekološke niše vrstama koje ih poseduju.

Rod *Marasmius* (Marasmiaceae, Agaricales, Agaricomycetidae Agaricomycetes, Agaricomycotina, Basidiomycota) je veliki rod koji trenutno obuhvata 949 recentnih kosmopolitskih vrsta (Kirk 2018) uglavnom prisutnih u tropskim područjima. U Evropi je zabeleženo samo 34 vrste (Antonín i Noordeloos, 2010). uključujući 6 vrsta sekcije *Epiphylli* Kuhner trenutno nesigurnog taksonomskog položaja (Antonín i sar., 2010).

Vrste roda *Marasmius* su saprotrofne, retko parazitske, plodna tela se javljaju na živim ili mrtvim delovima zeljastih i drvenastih biljaka. Njihovi bazidiokarpi su marasmioidni ili kolibioidni, mali do srednji i imaju sposobnost "oživljavanja" nakon hidriranja osušenih plodnih tela. Šešir je tanko-membranozni do umereno mesnat, beo ili pigmentisan, vunast, gladak ili rebrast sa dubokim radijalnim kanalima. Lamele su dobro razvijene ili neznatno redukovane, retko nedostaju, ponekad vezane za kragu koja može biti slobodna ili usko vezana za dršku (adnate), bele, krem ili žute boje. Drška je centralna, ekscentrična ili bočna, direktno uronjena u supstrat ili sa bazalnom micelijom, ponekad ukorenjenom. Drška je dugačka u odnosu na prečnik šešira, vlaknasta do mesnata, često hrskavičava, glatke ili fino



rebraste površine ponekad sa finim gustim dlačicama; rizomorfi ponekad prisutni. Otisak spora je bele do bledo-krem boje. Spore su obično elipsoidne, cilindrične ili bademaste (amigdaliformne), glatke i tankozidne. Bazidije cilindrične do batinaste sa 2 ili 4 spore, bezbojne, providne (hijaline). Heilocistidije ponekad prisutne, ukoliko su prisutne često su u formi metlastih ćelija. Pleurocistidije prisutne ili odsutne, batinaste, cilindrične, vretenaste, flašolike, hijaline ili sa bledo žutim zidovima, ponekad sa granuliranim sadržajem. Pileipelis je himeniforman i sastavljen je od glatkih elemenata ili metlastih ćelija tipa *Siccus* ili *Rotalis*. Pileocistidije ili setae su ponekad prisutne. Stipitipelis se odlikuje suvom pokožicom od nezatno do izrazito debelozidnih cilindričnih hifa. Kaulocistidije ili setae su često prisutne. Hife u Melzer-ovom reagensu dekstrinoidne ili bez reakcije, nikada amiloidne (Antonín i Noordeloos, 2010).

Rod *Marasmius* prvi je opisao Fries (1838), gde je grupisao vrste sa čvrstim, suvim i trajnim basidiokarpima koji rehidriraju u prisustvu vlage, sa rožnatim hrskavičavim drškama i žilavim, relativno udaljenim lamelama. Novoopisani rod uključivao je mnoge vrste koje su prvobitno svrstavane u rodove *Clitocybe*, *Mycena* i *Collybia* (posebno one iz sekcije *Omphaliariae*), a koje je Fries svrstao u dve sekcije *Collybia* i *Mycena*. Kasnije je Quelet (1888) dao novu klasifikaciju i podelio vrste roda *Marasmius* u dve sekcije (*Insititii* i *Radicosi*) koristeći karakteristike supstrata i tip drške kao glavne razdvajajuće karakteristike.

U radovima Patouillard (1887, 1900) po prvi put su korišćene mikroskopske karakteristike (struktura pileipelisa) za razdvajanje rodova u ovoj grupi gljiva. Ovaj pristup je imao snažan uticaj na kasniji rad Kuhner-a i Singer-a čije su klasifikacije korišćene, sa malim prilagođavanjima sve do danas (Antonín i Noordeloos, 2010). Najznačajniji radovi koja se tiču evropskih vrsta roda *Marasmius* su publikacije Kuhner (1933, 1936), Kuhner i Romagnesi (1957) i Antonín i Noordeloos (1993, 2010) kao najnoviji i sveobuhvatni taksonomski radovi o ovoj grupi gljiva.

U ovom radu korišćena je klasifikacija, unutar roda *Marasmius sensu stricto*, bazirana na morfološkim i molekularnim podacima prema Antonín i Noordeloos (2010):

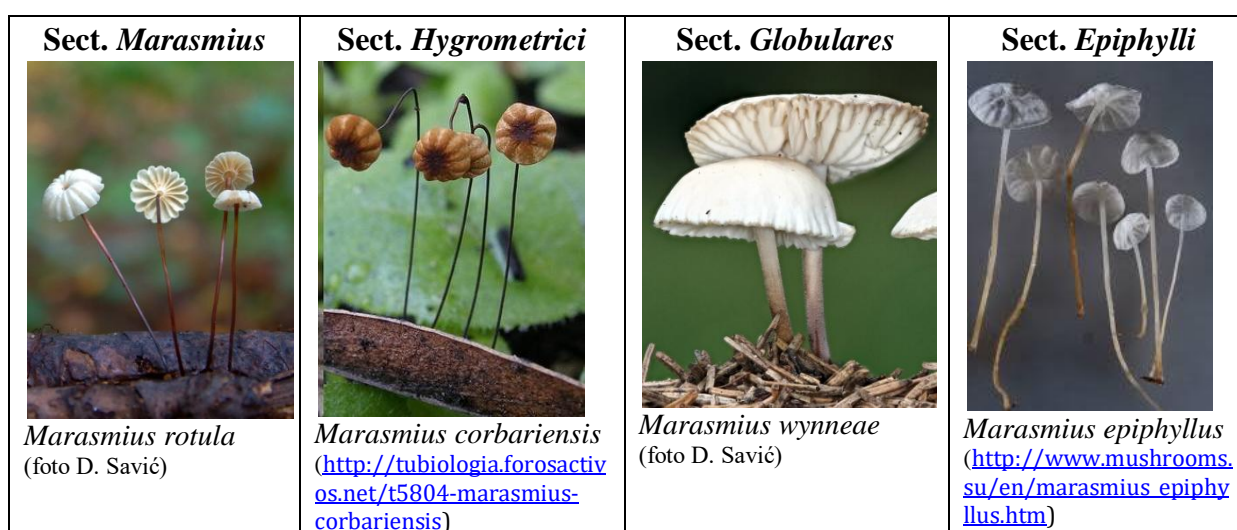
- 1) **Sekcija *Marasmius*** Fr. (mali marazmioidni basidiokarpi, dobro razvijena slobodna kragna (*colarium*), drška direktno uronjena u supstrat, hife trame dekstrinoidne) sa podsekcijama *Marasmius* i *Sicciformes*;
- 2) **sekcija *Hygrometrici*** Kühner (šešir obično manji od 5 mm u prečniku, tamno obojen, hife trame ne pokazuju dekstrinoidnu reakciju);
- 3) **sekcija *Globulares*** Kühner (basidiokarp umereno velik, marazmioidan ili kolibioidan, drška obično sa bazalnom micelijom, hife trame uvek



dekstrinoidne reakcije) sa podsekcijama *Globularini* Antonin i Noordel., *Pileocystitidati* Antonin i Noordel., *Sicci* Singer (serije *Haematocephalii* Singer i *Spinulosi* (Clémenton) Desjardin);

- 4) **Sekcija *Epiphylli*** Kuhner (basidiokarp mali, marasmioidan, drška direktno uronjena u suptrat, dlakolika, hife trame ne-dekstrinoidne ili dekstrinoidne) sa podsekcijama: *Epiphyllini*, *Eufoliatini*, *Epiphyllloidei*. (Slika 12)

Vrste sekcije *Epiphylli* se trenutno tretiraju kao vrste nesigurne taksonomske pozicije, s obzirom da je u nekim od prethodnih filogenetskih istraživanja ova grupa bila pozicionirana izvan *Marasmius* klade (Owings i Desjardin, 1997; Wilson i Desjardin, 2005).



**Slika 12.** Tipični predstavnici sekcija roda *Marasmius* prema Antonín i Noordeloos (2010).

Do sada je objavljeno nekoliko radova o filogenetskim odnosima u okviru roda *Marasmius* i srodnih rodova zasnovanih na sekvencama različitih regiona nuklearne DNK (Owings i Desjardin, 1997, 2005; Douanla-Meli i Langer, 2008; Wannathes i sar., 2009; Jenkinson i sar., 2014; Shay i sar., 2017). S obzirom da su navedenim studijama korišćene različite vrste ovog roda, kao i drugačije kombinacije molekularnih markera (ITS, LSU, EF-1 $\alpha$ ), klasifikacija unutar roda *Marasmius* još uvek nije kompletna.

## 2.2. Molekularne metode korišćene u ovom istraživanju

Upotreba molekularnih markera dovela je do prave revolucije u mikološkim istraživanjima, pre svega u taksonomiji i ekologiji gljiva (Schoch i sar., 2012). Molekularna revolucija u taksonomiji gljiva započela je devedesetih godina prošlog veka sa analizom gena za rRNK (White i sar., 1990), dok danas molekularna sistematika gljiva predstavlja izdvojenu naučnu disciplinu u kojoj upotreba multi-lokusnih podataka, velikog broja taksona i rigoroznih metoda analize predstavlja standard (Hibbett i sar., 2007).

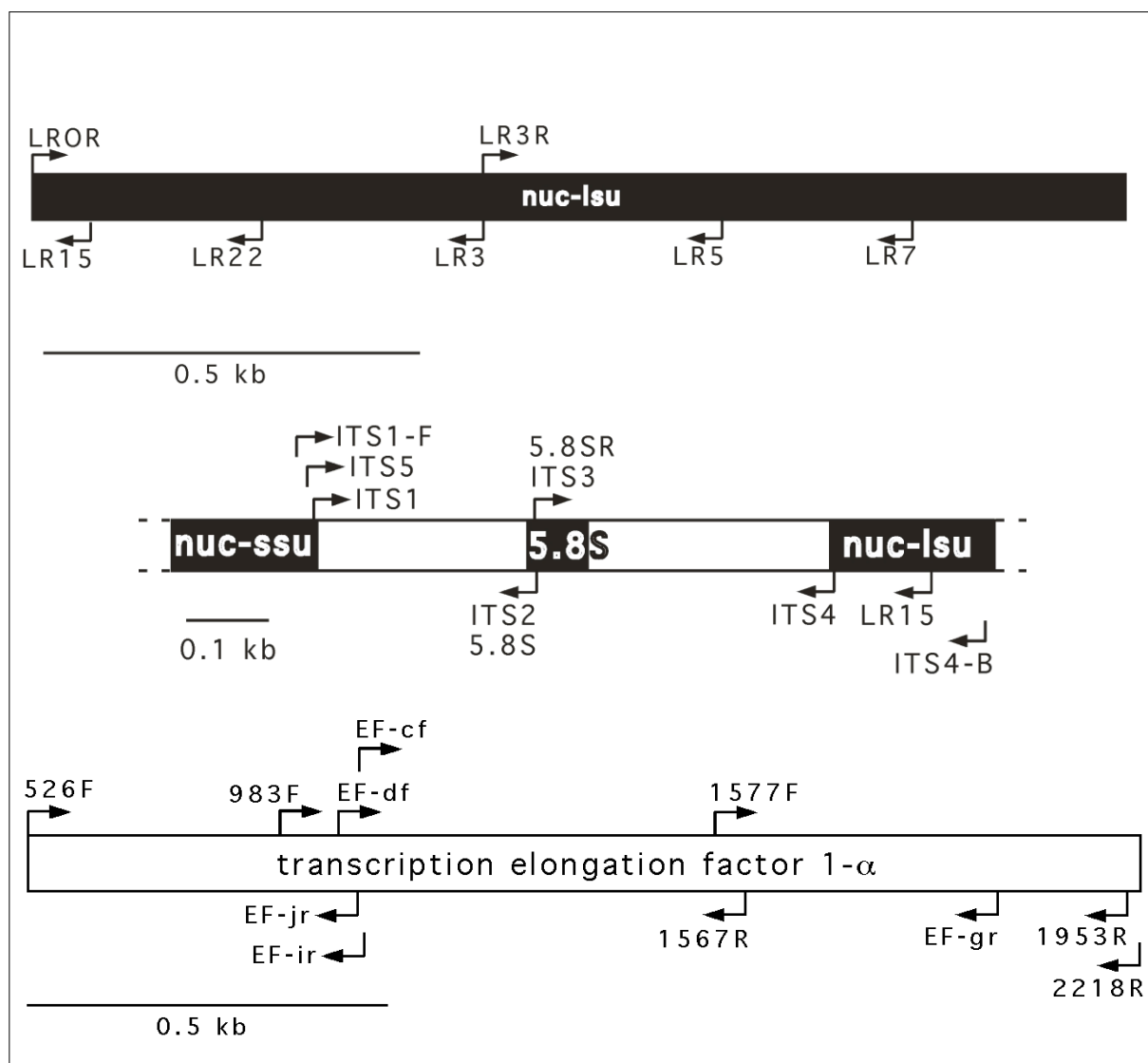
Molekularni marker koji se često koriste u mikološkim istraživanjima, a korišćeni su i u ovom istraživanju su:

ITS (*eng.* Internal Transcribed Spacer) eukariotskim genomima, geni za rRNK nalaze se u velikom broju kopija, organizovani u vidu jedinica koje se tandemski ponavljaju. Jedna jedinica sastoji se od tri gena za rRNK (18S, 5.8S i 28S) međusobno razdvojenih sa dve relativno kratke i visoko varijabilne sekvence (ITS) koje se nakon transkribovanja jedinice isecaju (Schoch i sar., 2012). Ovaj region pokazuje visoku interspecijsku i nisku intraspecijsku varijabilnost što ga čini pogodnim markerom za identifikaciju vrsta gljiva (Gomes i sar., 2002), ali i za filogenetske analize gde se obično koristi zajedno sa drugim, više konzerviranim, molekularnim markerima. Takođe, utvrđeno je da prajmeri ITS1 i ITS4, koji se najčešće koriste za umnožavanje ITS sekvenci kod Basidiomycota, omogućavaju relativno laku amplifikaciju ovog regiona iz veoma različitih uzoraka (iz male količine uzorka, iz herbarskog materijala, itd) (Nilsson i sar., 2008).

LSU (*eng.* Large subunit of the nuclear ribosomal RNA) - gen za 28S veliku subjedinicu nuklearne ribozomalne RNK se pokazao kao jedan od najkorisnijih molekularnih markera za istraživanja filogenetskih odnosa na nivou roda i familije u okviru razdela Basidiomycota (Moncalvo i sar., 2000 2002; Weiss i Oberwinkler, 2001). Iako su sekvence D1/D2 regiona LSU korišćene za identifikaciju vrsta kvasaca, u poređenju sa ITS regionom LSU pokazuje manju varijabilnost pa se ITS sve više koristi u identifikaciji vrsta dok LSU ostaje kao važan marker za filogenetska istraživanja (Schoch i sar., 2012).

Elongacioni factor 1 $\alpha$  (*eng.* alpha elongation factor, EF-1 $\alpha$ ) gen - pored ribozomalnih markera (ITS, LSU, SSU) i protein kodirajući geni se koriste u filogenetskoj analizi ili identifikaciji vrsta. Jedan od najčešće korišćenih protein kodirajućih markera je gen za EF-1 $\alpha$  koji je esencijalan za sintezu ribozomalnih proteina kod eukariota. EF-1 $\alpha$  katališe GTP-zavisno vezivanje aminoacil-tRNK za ribosome tokom sinteze proteina i jedan je od najbrojnijih proteina čineći do 2% od ukupnih proteina u rastućim eukariotskim ćelijama

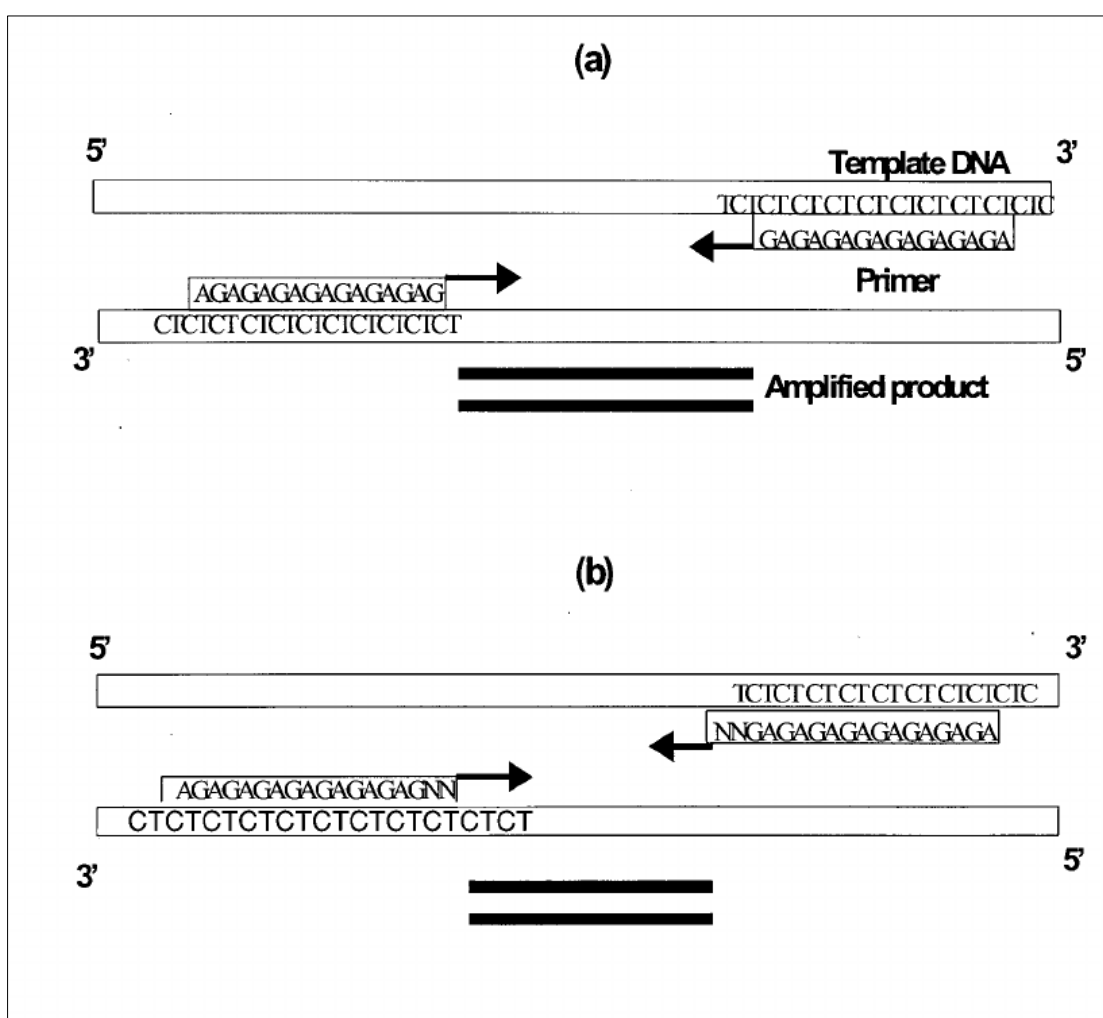
(Wendland i Kothe, 1997). Veoma je konzerviran u okviru carstva gljiva (aminokiselinska sekvenca približno 95% identična sa EF-1 $\alpha$  sekvencama drugih vrsta gljiva) pa je ovaj marker pogodniji za rekonstrukciju dubljih filogenetskih grana (Matheny i sar., 2007).



**Slika 13.** Mesta vezivanja prajmera u regionima LSU, ITS i EF-1 $\alpha$  ([https://www2.clarku.edu/faculty/dhibbett/Protocols\\_Folder/Primers/Primers.pdf](https://www2.clarku.edu/faculty/dhibbett/Protocols_Folder/Primers/Primers.pdf))

**ISSR markeri** - prvi ISSR markeri su korišćeni 1994, godine za analizu genoma gajenih biljaka (Gupta i sar., 1994; Zietkiewicz i sar., 1994). Od tada su primenjivani u različitim istraživanjima – studijama hibridizacije, populacionoj i konzervacionoj genetici i analizi prirodnih populacija (Wolfe, 2005). Ova metoda podrazumeva amplifikaciju DNK matrice koristeći samo jedan prajmer po PCR reakciji, a koji je sačinjen od jednostavnih di- ili trinukleotidnih ponavljajućih motiva (mikrosatelita). Broj mikrosatelitskih ponovaka u okviru

prajmera varira, a minimalana dužina prajmera je 14 nukleotida. Tokom PCR reakcije prajmeri, koji mogu biti usidreni ili neusidreni se vezuju za komplementarne mikrosatelitske regione koji se najčešće nalaze na više pozicija u genomu (Slika 14). Na ovaj način se dobija relativno veliki broj produkata različite dužine koji se vizualizuju na gelu u vidu većeg broja fragmenata (“bendova”). U zavisnosti od potrebe istraživanja analiza dobijenih “bendova” može biti kvalitativna ili kvantitativna (Wolfe, 2005). Šest mikrosatelitskih prajmera: (GTG)<sub>5</sub>, (GACA)<sub>4</sub>, (GCC)<sub>5</sub>, (AG)<sub>8</sub>T, (GCCAAC)<sub>2</sub>G (Mj4), (AAG)<sub>6</sub> su se pokazali uspešnim u dosadašnjim istraživanjima (Carlier i sar., 2011; Nghia i sar., 2008; Wang i sar., 2005; Zhou i sar., 1999)



**Slika 14.** Šematski prikaz ISSR metode. a) neusidren prajmer, b) usidren prajmer (Reddy i sar., 2002)

## 2.3. Pregled ispitivanih rodova i vrsta

### 2.3.1. Rod *Marasmius*

*Marasmius rotula* (Scop.) Fr

Marasmiaceae, Agaricales, Agaricomycetidae, Agaricomycetes, Agaricomycotina, Basidiomycota, Fungi



Slika 15. *Marasmius rotula* (Scop.) Fr

(foto D. Savić)

**Opis.** Šešir (*Pileus*) 4-14 (18) mm u prečniku, hemisferičan-konveksan, na početku sa zaravnjenim centrom koji kasnije postaje konveksan sa papilom u centru, duboko rebrast, beo ili beličast pa postaje svetlobraon kod starijih primeraka. Lamelle ( $L = (15) 17-21 (25), l=0$ ) su široke, često nejednake, spojene proksimalnim krajem sa prstenom (kolarijumom), bele do krem boje. Drška (*Stipes*) 20-60 x 0.25-0.75 mm, direktno usađen u podlogu, filiformna, često zakrivljen, beo ili svetlobraon pri vrhu dok je pri dru crveno-smeđe do gotovo crne boje pri bazi, gladak, sjajan. Meso membranozno, bez mirisa i blagog ukusa. Obrazuje rizomorfe. Spore (7.5) 8 -10 (12.5) x (3.2) 4 – 5 (5.5)  $\mu\text{m}$ , ovalne do elipsoidne. Heilocistidije prisutne, u formi četkastih ćelija tipa Rotalis 12 – 30 (31) x 4 -18  $\mu\text{m}$  batinastog oblika sa nekoliko do puno kratkih koničnih 1 (1.5 – 2.2)  $\mu\text{m}$  dugih produžetaka. Pleurocistidije odsutne. Pileipelis himeniforman, sačinjen od četkastih ćelija tipa Rotalis. Pileocistidije odtusne. Stipitipelis sačinjen od cilindričnih ćelija širokih 2 – 14  $\mu\text{m}$ . Kaulocistidije odsute ili retke, 22 – 60 x 2 - 4 (6.5)  $\mu\text{m}$ , cilindrične, pripijene jedna uz drugu, pojavljuju se samo u bazalnom delu drške.

**Ekologija.** Plodna tela se pojavljuju u grupama na ostacima drveća (grančice, panjevi, kora, kupulama bukve) listopadnih vrsta u šumama, parkovima i baštama. Do sada je pronađena na sledećim vrstama: *Acer campestre*, *A. platanoides*, *A. pseudoplatanus*, *Acer sp.*, *Alnus glutinosa*, *A. incana*, *Alnus sp.*, *Carpinus hetulus*, *Corylus avellana*, *Evonymus verrucosa*, *Fagus sylvatica*, *Fraxinus angustifolia*, *F. excelsior*, *F. ornus*, *Malus sp.*, *Pinus nigra*, *Prunus avium*, *Prunus sp.* *Quercus cerris*, *Q. petraea*, *Q. robur*, *Quercus sp.*, *Rhus sp.*, *Salix fragilis* i *Syringa vulgaris*. Široko rasprostranjena u severnim i umerenim zonama severne hemisfere. Javlja se od juna do oktobra (Antonín i Noordeloos, 2010).

***Marasmius bulliardii* Quél**

Marasmiaceae, Agaricales, Agaricomycetidae, Agaricomycetes, Agaricomycotina,  
Basidiomycota, Fungi



**Slika 16.** *Marasmius bulliardii* Quél

(foto D. Savić)

**Opis.** Šešir 1 – 5 (9) mm u prečniku konusan do konveksan kod mladnih primeraka, ponekad sa izraženom papilom u centru, kasnije raširen, sa udubljenjem u centru, veoma svetlo braon boje, kasnije postaje oker-braon, svetliji u centru, sivo-crne boje u udubljenju. Površina je glatka, sa dubokim radijalnim udubljenjima. Lamelle udaljene  $L = 12 - 15$  (19),  $l = 0$  (1), vezane za slobodnu kolarijum, široke, veoma retko račvaste, bele do krem boje kod starijih primeraka, sa blago pubescentnim ivicama posmatranim pod lupom. Drška 13 – 53 x 0,1 – 0,6 mm, direktno izlazi iz podloge, filiformna, beo pri vrhu sa crveno–crnim donjim delom (1/4



do 1/2) kod mladih primeraka, kasnije beo samo u zoni kragne, sjajan, gladak. Rizomorfi odsutni. Spore: (7) 8 – 11,5 (14) decimale u srpskom se pišu sa “,” a u engleskom sa “.”, ispraviti u celom tekstu x (3.5) 3.7 – 5 (6)  $\mu\text{m}$ , elipsoidne, izduženo-elipsoidne do cilindrične, delimično bademaste. Heilocistidije u formi četkatih ćelija tipa Rotalis, 12 – 24 x 7 – 26  $\mu\text{m}$ , cilindrične, batinaste do kruškaste (piriformne), tankih zidova sa tupim 1 – 2.4 (4)  $\mu\text{m}$  dugim izraštajima. Pileipellis himeniforman, sačinjen od četkastih ćelija tipa Rotalis, 12 – 24 x 6 – 21 (24)  $\mu\text{m}$ , piriformne, batinaste do široko batinaste, sa tankim do delimično zadebljalim žućkastim zidovima i mnogobrojnim cilindričnim ili granatim, žuto-braon 1 – 3 (5)  $\mu\text{m}$  dugim izraštajima. Pileocistidije odsutne. Stipitipelis sačinjen od 2 – 8  $\mu\text{m}$  širokih hifa, sa blago zadebljalim smeđim zidovima. Kaulocistidije odsutne. Hife, subhimenijum i trama pokazuju blagu do izraženu dekstrinoidnu reakciju sa Melzer-ovim reagensom.

**Ekologija.** Plodna tela se javljaju na opalom lišću listopadnog drveća, posebno na vrstama roda *Quercus* i *Fagus*, na umereno do veoma vlažnim mestima u listopadnim šumama. Do sada pronađena na sledećim vrstama: *Acer platanoides*, *Acer* sp., *Aesculus hyppocastanus*, *Alnus glutinosa*, *Alnus* sp., *Carpinus betulus*, *Castanea saliva*, *Fagus sylvatica*, *Fraxinus* sp., *Quercus petraea*, *Quercus* sp., *Rubus* sp. i *Salix* sp (Antonín i Noordeloos, 2010).

***Marasmius torquescens* Quél.**

Marasmiaceae, Agaricales, Agaricomycetidae, Agaricomycetes, Agaricomycotina, Basidiomycota, Fungi



Slika 17. *Marasmius torquescens* Quél.

(foto E. Bošković)

**Opis.** Šešir 5 – 30 mm, zvonast, koničan ili hemisferičan kod mladih primeraka, kasnije se širi i postaje konveksan ili zaravnjen, sa ili bez male papile u centru, sa pravim ili blago podvijenim ivicama, često sa valovitom marginalnom zonom, delimično provodnjen, sa izraženim strijama, oker-braon boje sa braon centrom kada je vlažan, dok je pri suvim uslovima palescentan, prljavobele do krem boje sa tamnijim centrom, glatke to blago naborane površine sa setama (dlakama) vidljivim kao sitne tačke pod lupom. Lamelle srednje udaljene  $L = (11) 15 - 19 (22)$ ,  $l = 1 - 3$ , srasle za drušku ili silazne, gotovo bele boje kod mladih primeraka, kasnije krem do krem-braon boje sa ravnim ili neravnim ivicama. Drška (27) 45 – 63 (97) x (0,6) 1 – 2,5 (3) mm, cilindričan do blago spljošten, malo proširen u gornjem delu, beo do beličaš u gornjem delu, zlatno-braon u donjem delu (kod mladih primeraka) do tamno braon (kod starijih primeraka), ceo prekriven finim braon dlačicama sa obilnom belom, ili crveno-braon bazalnom micelijom. Mirisa nema, ili je blago neprijatan. Ukus blag. Spore: 7 – 10 x (3) 4 – 5.5  $\mu\text{m}$  elipsoidne do cilindrično-elipsoidne. Heilocistidije 14 – 40 x 6 – 15  $\mu\text{m}$ , batinaste, vretenaste, ponekad glavičaste. Pleurocistidije 32 - 66 x 5 – 7 (9)  $\mu\text{m}$ , cilindrične do batinaste, prave ili zakrivljene, ne izdižu se iznad himenijuma. Pileipelis himeniforman, sačinjen od glatkih, batinastih, piriformnih, cilindrično-glavičastih ćelija tankih zidova, žuto braon do braon boje, dimenzija 12 – 32 x 6 – 18  $\mu\text{m}$ . Između njih nalaze se vretenaste, flašolike, debelozidne braon sete (dlake), 28 – 74 x 5 – 13 x 2 – 4  $\mu\text{m}$  koje se ponekad granaju na vrhu. Stipitipelis sačinjen od žuto – braon, delimično debelozidnih (do 1.5  $\mu\text{m}$ ) cilindričnih hifa. Kaulocistidije prisutne u formi seta, 12 – 87 (108) x 6 – 14 x 2 – 8  $\mu\text{m}$ , flašolike, sa debelim žuto – braon zidovima. Hife trame i sete pokazuju dekstrinoidnu reakciju sa Melzer-ovim reagensom.

**Ekologija.** Plodna tela se javljaju na opalom lišću ili grančicama listopadnog drveća, retko se mogu naći u stelji četinarskih vrsta. Do sada je pronađena na vrstama: *Acer campestre*, *Betula pubescens*, *Carpinus betulus*, *Fagus sylvatica*, *Quercus* sp., *Robinia pseudoacacia*, *Sambucus nigra* i *Tilia* sp (Antonín i Noordeloos, 2010).



***Marasmius oreades*** (Bolton) Fr.

Marasmiaceae, Agaricales, Agaricomycetidae, Agaricomycetes, Agaricomycotina,  
Basidiomycota, Fungi



**Slika 18.** *Marasmius oreades* (Bolton) Fr.

(foto D. Savić)

**Opis.** Šešir 13 – 47 mm širok, hemisferičan, tupo koničnog oblika kod mladih primeraka, kasnije se širi i postaje konveksan do zaravnjen, sa niskim, širokim ispupčenjem u sredini, sa podvijenom, a kasnije pravom marginom, higrofan, delimično providan sa vidljivim strijama kada je vlažan, narandžasto-crvene do oker –braon boje kod mladih primeraka, kasnije manje-više oker do beličaste boje, često sa tamnijim centrom, uglavnom gladak, ponekad malo naboran. Lamelle udaljene  $L = 27 - 31$ ,  $l = 2 - 3$ , relativno debele, malom površinom vezane za dršku, skoro slobodne, često ventrikozne (proširene u središnjem delu), 4 -6 mm visoke, bele do krem boje, starenjem postaju oker. Drška 45 – 78 x 2.5 – 6 mm, cilindričan, često delimično proširen pri vrhu i pri bazi, elastičan, čvrst, prljavo-bele do krem boje u gornjem delu, bledo-oker do braon u donjem delu, ceo prekriven finim somotastim dlačicama sa smeđom micelijom pri bazi. Miris jak, na gorke bademe. Ukus prijatan, na jezgrasto voće. Spore: (7) 8 – 10.5 (11.5) x 4 – 6  $\mu\text{m}$ , elipsoidne do blago bademaste. Heilocistidije i pleurocistidije odsutne. Pileipelis himeniforman, sačinjen od batinastih, cilindričnih i širokih vrećastih ćelija, 11 – 42 x 4 – 15  $\mu\text{m}$ , tankih ili delimično zadebljalih zidova u gornjem delu bleožute boje. Pileocistidije odsutne. Stipitipelis od kompaktnih ćelija, srednje debelih zidova, žute do žuto-braon boje. Hife trame i subhimenijuma pokazuju dekstrinoidnu reakciju sa Melzer-ovim reagensom.

**Ekologija.** Plodna tela se javljaju sama ili u grupama, često formiraju „vilina kola“, na travnjacima, pored puteva, kao i na otvorenim prostririma u listopadnim šumama, parkovima i sl. i veoma retko u šumama smrče. Plodna tela se formiraju od proleća do kasne jeseni, ali u regionima gde su odgovarajući uslovi mogu se naći tokom cele godine (Antonín i Noordeloos, 2010).

***Marasmius anomalus*** Lash

Marasmiaceae, Agaricales, Agaricomycetidae, Agaricomycetes, Agaricomycotina,  
Basidiomycota, Fungi



Slika 19. *Marasmius anomalus* Lash

(<https://www.biodiversidadvirtual.org/hongos/Marasmius-anomalus-Lasch-1854-img80742.html> )

**Opis.** Šešir 1,5 – 10 (15) mm širok, zvonolik do koničan, hemisferičan do konveksan, kod starijih primeraka se širi i postaje gotovo zaravnjen sa malom papilom u sredini, retko delimično udubljen u središnjem delu sa podvijenom pa kasnije pravom marginom; radijalno rebrast, mladi primerci oker do toplosmeđe boje, kasnije blede žuto-brain boje, oker , krem do gotovo bele boje, uniformne boje ili sa tamnijim centrom i svetlijim ivicama. Lamelle udaljene  $L = 8 - 13$  (20),  $l = 0$  (1) slobodne do delimično vezane za dršku, retko vezane za lažnu kragnu, ponekad izraženo intervenozne kod starijih primeraka sa proširenim, naduvenim središnjim delom (*eng.* *ventricose*), bele do krem boje. Drška 15 – 40 x 0.2 – 1 mm cilindrična, manje ili više končasta (*eng.* *filiform*) u bazalnom delu delimično proširena i prekrivena finim dlačicama, pri vrhu bele boje koja prelazi u žutu do žuto-braon zonu koja se nastavlja u tamnocrveno-braon boju, glatka, sjajna ili mat. Mirisa nema, ukus je blag. Spore:

(12) 16 – 22 (24) x (3) 4 – 5 (6)  $\mu\text{m}$  subcilindrične do batinaste. Heilocistidije u formi četkastih ćelija tipa Siccus, 9 – 30 x 5 – 10  $\mu\text{m}$ , cilindrične, batinaste ponekad sa lobusima, sa nejednakim tupim izraštajima na gornjem delu ćelije 2 – 10 x 0.5 – 1.5  $\mu\text{m}$ . Pleurocistidije 36 – 60 x 6 – 14  $\mu\text{m}$ , izduženo batinaste, često sa izduženim, kljunastim gornjim delom, tankih zidova, ponekad sa bezbojnim granulisanim sadržajem. Pileipelis himeniforman, sačinjen od četkastih ćelija tipa Siccus, 9 – 18 x 4.5 -8 (10.5)  $\mu\text{m}$ , koje su batinaste do cilindrične, ponekad granate, žute do žuto- braon boje, delimično zadebljelih zidova u gornjem delu sa tupim izraštajima 2 -6 x 1 – 1.5  $\mu\text{m}$ . Stipitipelis sačinjen od kompaktnih 3- 15  $\mu\text{m}$  širokih, cilindričnih, smeđih hifa delimično zadebljanih zidova. Kaulocistidije retke, samo u donjem delu stipesa, subcilindrične, do 60 x 1 – 2.5  $\mu\text{m}$ .

Hife trame i subhimenijuma dekstrinoidne u reakciji sa Melzer-ovim reagensom.

**Ekologija.** Plodna tela se javljaju u grupama, ponekad polazeći iz iste osnove, retko se javljaju pojedinačno na travnjacima i ostacima trava, ponekad i na druhim zeljastim biljkama, veoma retko na grančicama drvenastih biljaka; na livadama, otvorenim prostorima, pored puteva i sl. Do sada su nađeni na vrstama: *Achillea millefolium*, *Agropyrum repens*, *Festuca* sp., *Fraxinus* sp., *Plantago lanceolata*, *Solanum tuberosum* and *Stipa* sp. Javlja se od juna do decembra (Antonín i Noordeloos, 2010).

***Marasmius epiphylloides*** (Rea) Sacc. & Trotter (Pers.) Fr.

Marasmiaceae, Agaricales, Agaricomycetidae, Agaricomycetes, Agaricomycotina,  
Basidiomycota, Fungi



**Slika 20.** *Marasmius epiphylloides* (Rea) Sacc. & Trotter (Pers.) Fr.  
(foto D. Savić)

**Opis.** Šešir 0,5 – 6 (18) mm, na početku hemisferičan, kasnije konveksan do konkavan sa tupim srednjim delom i podvijenim ivicama, često sa valovitom marginalnom zonom kod starijih primeraka, bele ili bledo-žute boje, gladak ili sa finim dlačicama koje se uočavaju pod lupom, ponekad sa slabo izraženim radijalnim udubljenjima. Lamelle udaljene,  $L = 4 - 8$  (11, bez lamelula, plitke, u vidu nabora ili vena, često se granaju i/ili anastomoziraju i završavaju pre ivice šešira, bele boje. Drška (2.5) 4 – 10 (17) x 0.1 – 0.3 (0.4) mm, direktno izlazi iz supstata, često se širi u gornjem delu, bela pri vrhu, pa žuto-braon do sivo-braon, retko crveno-braon boje pri bazi, cela površina drške je obrasla sitnim dlačicama (pruinozna), ponekad pri bazalnom delu prekrivena sitnim ljuspicama. Bez mirisa, blagog ukusa. Spore: (7.5) 11 – 17 (18) x 2 – 4  $\mu\text{m}$ , cilindrične do usko elipsoidne. Heilocistidije (35) 44 – 70 (72) x (4) 5.5 – 11.5  $\mu\text{m}$ , vretenaste do flašolike, često sa sluzavom kapom na gornjem delu, obično tankozidne, ponekad sa delimično zadebljalim zidovima. Pleurocistidije slične heilocistidijama. Pileipelis himeniforman, sačinjen od batinastih do široko-batinastih ćelija, flašolikih ili piriformnih elemenata, tankih ili delimično zadebljalih zidova 15 – 35 (50) x 6.5 – 23  $\mu\text{m}$ , najčešće sa jednim ili više prstolikih produžetaka 2.5 – 8  $\mu\text{m}$  dugih. Pileocistidije 15 – 65 (70) x 6 – 12 x 3 – 4  $\mu\text{m}$ , flašolike, debelozidne, retke do mnogobrojne. Stiptipelis sačinjen od cilindričnih, braon ćelija delimično zadebljalih zidova, 4 – 15  $\mu\text{m}$  širokih hifa. Formira dva tipa kaulocistidija: 1) vretenaste do flašolike, ponekad subglavičaste, tankih ili delimično zadebljalih zidova, 8 – 50 (70) x 5 – 11 (19)  $\mu\text{m}$  i 2) debelozidne ćelije koje lateralno prerastaju površinske hife. Elementi himenijuma pokazuju metahromatsku reakciju sa krezil-plavim.

**Ekologija.** Na mrtvom lišću, retko kada na grančicama vrste *Hedera helix*. Javlja se u toku jeseni i zime, od septembra do marta (Antonín i Noordeloos, 2010).



### 2.3.2. Rod *Mycetinis*

Rod *Mycetinis* je možda bolje poznat pod imenom *Marasmius* sect. *Alliacei* Kühner, a jedan od starijih sinonima za ovu sekciju je naziv *Chordales* Fr (Antonin i Nordeloos, 2010). Ipak, rezultati filogenetske studije ukazali su da ova grupa gljiva predstavlja sestrinsku grupu rodovima *Gymnopus* i *Lentinula* u okviru *Omphalotus* klade i prema tome vrste sekcije *Alliacei* ne mogu više pripadati *Marasmius sensu stricto* (Wilson i Desjardin, 2005). Mata i sar. (2006) koristeći drugi set gena i veći broj uzoraka u filogenetskoj analizi, potvrđuju da vrste iz sekcije *Alliacei* formiraju dobro podržanu kladu u okviru *Gymnopus* klade što je za posledicu imalo prebacivanje svih vrsta iz ove sekcije u rod *Mycetinis*.

Vrste iz roda *Mycetinis* imaju himeniformni pileipelis sa glatkim elementima, a hife ne pokazuju dekstrinoidnu reakciju. Tipična osobina većine vrsta ovog roda je snažan miris na luk ili beli luk, što se takođe javlja i kod vrsta roda *Gymnopus* iz sekcije *Impudicae*. U Evropi je do sada zabeleženo samo pet vrsta ovog roda: *Mycetinis alliaceus* (Jacq.: Fr.) Earle, *Mycetinis scorodonius* (Fr.: Fr.), *Mycetinis querceus* (Britzelm.) Antonin & Noordel., *Mycetinis epidryas* (Kühner ex A. Ronikier) Antonin & Noordel., *Mycetinis kallioneus* (Huhtinen) Antonin & Noordel.

***Mycetinis alliaceus*** (Jacq.) Earle ex A.W. Wilson & Desjardin

Omphalotaceae, Agaricales, Agaricomycetidae, Agaricomycetes, Agaricomycotina,  
Basidiomycota, Fungi



**Slika 21** *Mycetinis alliaceus* (Jacq.) Earle ex A.W. Wilson & Desjardin  
(foto D. Savić)

**Opis.** Šešir (4) 10 – 33 (65) mm širok, koničan do hemisferičan kod mlađih primeraka, kasnije široko koničan do konveksan, na kraju gotovo zaravnjen, margina je na početku podvijena kasnije prava pa talasasta, provodnjena, delimično providna i sa izraženim strijama kada je vlažna, sive boje kod mlađih primeraka, kasnije sivo-braon ili braon boje. *Pileus* mlađih primeraka je delimično prekriven finim dlačicama, kasnije delimično naboran. Lamele udaljene,  $L = 14 - 21$  (27),  $l = 1 - 3$ , slobodne ili usko vezane za dršku, delimično silazne, ponekad vezane za lažni kolarijum, široke, beličaste do sive, često sa crveno-braon flekama kod starijih primeraka, ponekad nazubljene i delimično tamnije ivice. Drška (14) 30 – 55 (200) x 0.5 – 2 mm duga, tanaka, cilindričana ili spljoštena, često delimično proširena ka osnovi, prljavo bele boje pri vrhu, u donjem delu crno-braon, do crna pri bazi, mat, delimično prekrivena dlačicama sa izraženim beličastim dlakama pri bazi. Veoma snažnog i postojanog mirisa i ukusa na beli luk. Spore: (8) 9 – 12 (14.5) x 5 – 7.5 (9)  $\mu\text{m}$ , široko elipsoidne do bademaste, tankih zidova, često sa jednom centralnom kapljicom. Heilocistidije (22) 32 – 78 x 6 – 14 (24)  $\mu\text{m}$ , vretenaste, cilindrične do delimično flašolike, tankozidne sa delimično zadebljalim zidovima. Pleurocistidije odsutne. Pileipelis himeniforman, sačinjen od batinastih do cilindrično- batinastih ćelija (14) 21 – 41 x (6) 8 – 21  $\mu\text{m}$ , često sa zaobljenim, subglavičastim gornjim delom, tankozidne, delimično braon pigmentisane. Pileocistidije odsutne. Stipitipelis sačinjen od 3 – 14  $\mu\text{m}$  širokih, debelozidnih (do 1.5 – 2  $\mu\text{m}$ ), žuto-braon hifa. Ni jedan deo plodnog tela ne pokazuje dekstrinoidnu reakciju sa Melzer-ovim reagensom.

**Ekologija.** Plodna tela se formiraju u grupi na panjevima i grančicama vrste *Fagus sylvatica*, retko i na opalom lišću. Takođe, zabeležena su i na ostacima vrsta roda *Carpinus* i na iglicama četinara. Smatra se tipičnom vrstom koja se može naći na šumskoj stelji u šumama bukve. Javlja se od maja do novembra (Antonín i Noordeloos, 2010).

### 2.3.3. Rod *Gymnopus*

Prema filogenetskim istraživanjima rod *Gymnopus* je polifiletskog porekla i pripada familiji Omphalotaceae zajedno sa rodovima *Omphalotus*, *Anthracophyllum*, *Lentinula*, *Marasmiellus*, *Mycetinis* i *Rhodocollybia* (Moncalvo i sar., 2002, Matheny i sar., 2006, Wilson i Desjardin, 2005). Ovom rodu pripadaju saprotrofne, retko parazitske vrste čija se plodna tela javljaju na opalom lišću, iglicama četinara, grančicama, panjevima, retko na korenju mrtvog drveća, ponekad na živim zeljastim ili drvenastim biljkama.

Važna karakteristika roda *Gymnopus* je da ni jedan deo plodnog tela ne pokazuje dekstrinoidnu ni amiloidnu reakciju sa Melzer-ovim reagensom, osim vrsta iz sekcije *Setulipes* kod kojih hife trame u gornjem delu drške pokazuju dekstrinoidnu reakciju. Struktura stipitipelisa je najvažniji karakter na osnovu kojeg je izvršena podela na sekcije: *Striipedes*, *Vestipedes*, *Levipedes*, *Subfumosae* (Antonín i Nordeloos, 2010). Vrste roda *Gymnopus* su kosmpolitske, a u Evropi je do sada zabeležena 41 vrsta

#### *Gymnopus androsaceus* (L.) Della Maggiora & Trassinelli

Omphalotaceae, Agaricales, Agaricomycetidae, Agaricomycetes, Agaricomycotina,  
Basidiomycota, Fungi



Slika 22 *Gymnopus androsaceus* (L.) Della Maggiora & Trassinelli  
(foto M. Blagojević)

**Opis.** Šešir 1.5 – 15 mm širok, hemisferičan do konveksan sa delimično udubljenim centralnom delom kod mladih primeraka, kasnije konveksan do zaravnjen, ponekad sa delimično udubljenim centrom, ivica je prvo blago podvijena ravna, marginalna zona je delimično talasasta kod mlađih primeraka, kod starijih izraženije talasasta, ponekad malo

naborana, delimično provodnjena, tamno ružičasto-braon boje ili crveno-braon, mat, gladak. Lamelle udaljene  $L = 8 - 17$ ,  $l = (0) 1 - 7$ , vezane za dršku, ponekad vezane za lažni prsten, ponekad račvaste ili anastomoziraju, široke, beličaste kod mladih primeraka, ubrzo postaju ružičaste, često sa žučkastim ili braon nijansama, manje-više iste boje kao margina pileusa, sa istobojnom ili svetlijom, ponekad braon (kod starijih primeraka) ivicom. Drška  $24 - 60 \times 0.2 - 1$  mm, direktno izlazi iz supstrata, filiformna, ponekad delimično proširena pri osnovi, ali nikada sa bulbom, bele boje pri vrhu, tamnocrveno-braon boje, do crno-braon u donjem delu, glatka, sjajana, delimično naborana i uvijena kada je suvo. Rizomorfi obično prisutni i mnogobrojni. Spore:  $(6) 7 - 9 (10) \times (2.5) 3.5 - 4.5 (5) \mu\text{m}$ , elipsoidne ili duguljaste do lakrimoidne ili amigdaliformne. Heilocistidije prisutne u formi četkastih ćelija tipa Siccus,  $12 - 50 (65) \times 4 - 30 \mu\text{m}$ , nepravilno batinaste, sa  $2 - 7 (14) \mu\text{m}$  dugim izraštajima na vršnom delu. Pleurocistidije odsutne. Pileipelis kod veoma maladih primeraka himeniforman ubrzo postaje nepravilan i sastoji se od cilindričnih,  $3 - 25 \mu\text{m}$  širokih hifa, često spiralno izuvijane, ponekad sa divertikulumima, između kojih se nalaze batinaste do cilindrične, granate četkaste ćelije dimenzija  $18 - 24 \times 4 - 6 \mu\text{m}$  sa žuto-braon izraštajima dugim do  $6 \mu\text{m}$ , ponekad pomešane sa koraloidnim ili nepravilnim elementima  $28 - 36 \times 3 - 10 \mu\text{m}$ . Stipitipelis se sastoji od  $2 - 12 \mu\text{m}$  širokih hifa sa do  $2 \mu\text{m}$  širokim žuto-zlatnim do braon zidovima, ponekad sa kratkim lateralnim priobjekcijama, retko sa jednostavnim cilindričnim dlačicama dimenzija  $24 - 42 \times 4 - 6 \mu\text{m}$ . Hife stipitipelisa i inkrustacije pigmenta u pileipelisu pokazuju dekstrinoidnu reakciju sa Melzer-ovim reagensom.

**Ekologija.** Plodna tela se javljaju u grupama na ostacima četinarskih, ređe listopadnih drveća, na žbunovima (*Calluna*, *Empetrum*) i zeljastim biljkama (*Eriophorum*, *Linnaea borealis*), ponekad raste kao endofit u živim biljkama, često formira mnogobrojne crne rizomorfe u supstratu. Česta vrsta, može se naći od ravničarskih do visokoplaninskih staništa u mediteranskoj, umerenoj i arktičkoj zoni u Evropi i Severnoj Americi (Antonín i Noordeloos 2010).



### 3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Opšti cilj ovog istraživanja je sakupljanje i određivanje molekularnog i morfološkog diverziteta populacija ispitivanih vrsta gljiva pripadnika roda *Marasmius*, *Mycetinis* i *Gymnopus* sa teritorija Nacionalnih parkova Srbije i Crne Gore:

- *Marasmius rotula* (Scop.) Fr.,
- *Marasmius bulliardii* Quél,
- *Marasmius oreades* (Bolton) Fr.,
- *Marasmius anomalus* Lash ,
- *Marasmius epiphylloides* (Rea) Sacc. & Trotter (Pers.) Fr.,
- *Marasmius torquescens* Quél,
- *Mycetinis alliaceus* (Jacq.) Earle ex A.W. Wilson & Desjardin
- *Gymnopus androsaceus* (L.) Della Maggiora & Trassinelli.

Specifični ciljevi istraživanja su sledeći:

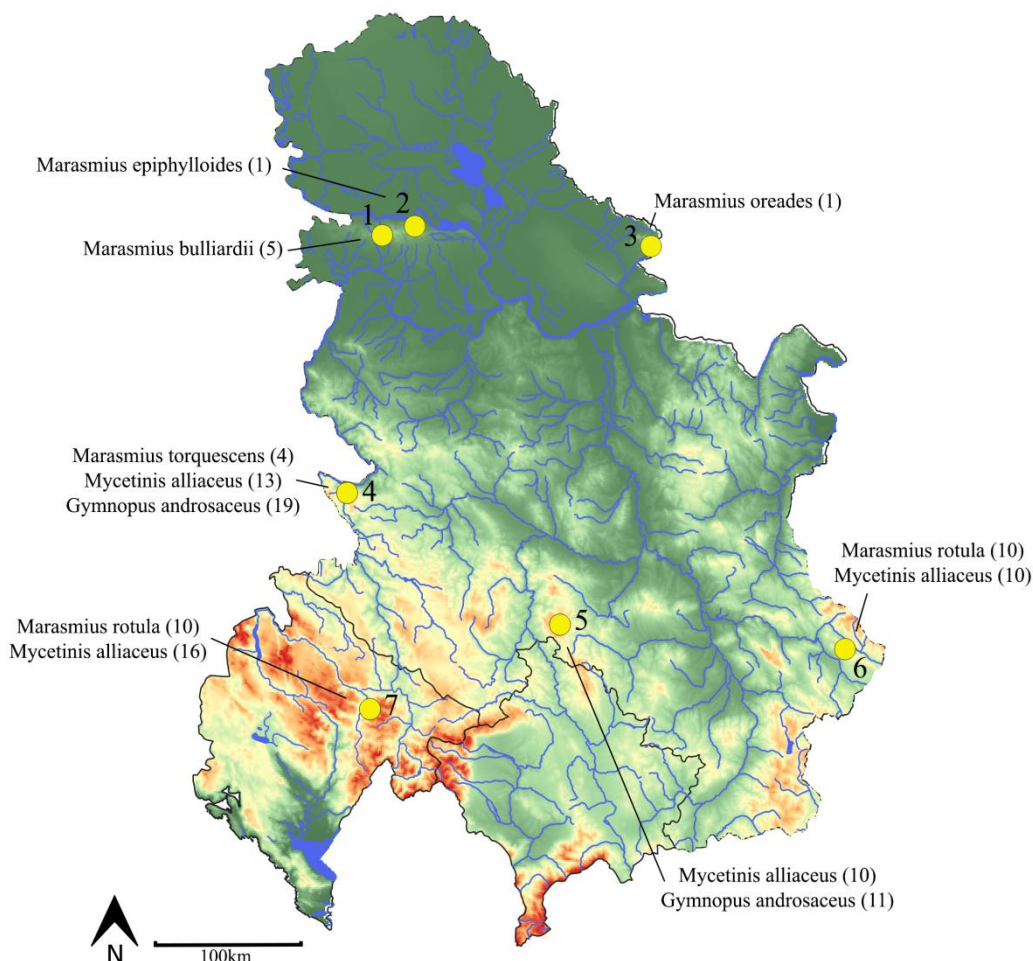
- određivanje makroskopskih i mikroskopskih karakteristika plodnih tela analiziranih vrsta i njihove varijabilnosti između populacija;
- analiza uticaja klimatskih faktora na varijabilnost morfoloških karaktera u ispitivanim populacijama;
- identifikacija jedinki, primenom molekularne metode (ISSR);
- određivanje brojnosti i rasprostranjenja jedinki na proučavanim lokalitetima u okviru Nacionalnih parkova Srbije (NP Kopaonik, NP Tara, Stara planina) i Crne Gore (NP Biogradska gora)
- određivanje osnovnih populaciono-genetičkih parametara (Fst indeks, AMOVA, UPGMA);
- analiza filogenetskih odnosa u okviru analiziranih vrsta roda *Marasmius*;
- procena stanja populacija i predlog daljih smernica za istraživanje biodiverziteta analiziranih i drugih vrsta makrogljiva.

## 4. MATERIJAL I METODE

### 4.1. Materijal

#### 4.1.1. Sakupljanje materijala

Plodna tela gljiva sakupljena su sa nekoliko lokaliteta na teritoriji Republike Srbije i jednog lokaliteta iz republike Crne Gore (Slika 23). Uzorkovanje je vršeno u periodu od 2014 do 2017. godine. Sakupljeno je ukupno 174 plodna tela sledećih vrsta: *Marasmius rotula*, *Marasmius bulliardii*, *Marasmius torquescens*, *Marasmius oreades*, *Marasmius anomalus*, *Marasmius epiphylloides*, *Mycetinis alliaceus* i *Gymnopus androsaceus* (Prilog 1).



**Slika 23.** Mapa ispitivanih lokaliteta Srbije i Crne Gore sa prikazom vrsta koje su uzorkovane sa svakog lokaliteta. Brojevi u zagradama označavaju broj sakupljenih plodonosnih tela. 1) NP Fruška gora, Papratski do; 2) NP Fruška gora, Glavica; 3) Vršacke planine; 4) planina Tara; 5) NP Kopaonik; 6) Vidlič (Park prirode Stara planina); 7) NP Biogradska gora

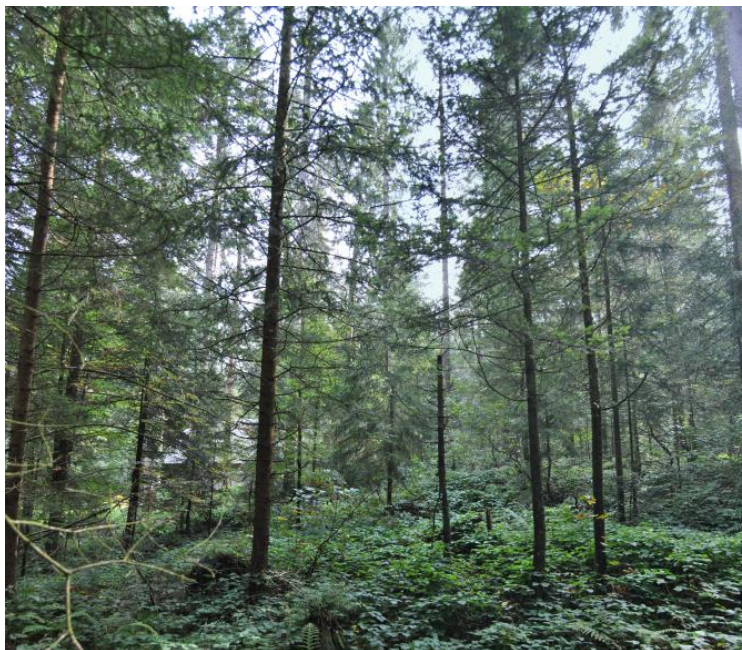
U istraživanja je uključen i po jedan uzorak vrsta *M. anomalus* i *M. oreades* koji su dobijeni iz Herbarske zbirke univerziteta u Palermu, Italija zahvaljujući podršci prof. Giuseppe Venturella sa Departmana za Poljoprivredu, hranu i šumarske nauke, koordinatora Komisije za gljive OPTIMA (Organizacija za fitotaksonomska istraživanja gljiva Mediterana). Vrste koje su korišćene u analizi brojnosti i veličine geneta (*M. rotula*, *M. alliaceus* i *G. androsaceus*) su mapirane na terenu uz pomoć GPS uređaja (Garmin, Kansas, SAD) merenjem razdaljine (m) između pojedinačnih plodnih tela trakastim metrom.

Determinacija sakupljenih vrsta vršena je na osnovu makroskopskih i mikroskopskih osobina plodnih tela uz pomoć literature (Beitenbach i Kranzlin 1991; Antonín i Noordeloos 1993; Uzelac 2009) na Departmanu za biologiju i ekologiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu. Deo uzoraka plodnih tela gljiva čuvani su u 96% etanolu, na temp. +4°C u staklenim epruvetama, a drugi deo je sušen na +50°C i čuvan u plastičnim kesicama sa silikagelom na sobnoj temperaturi. Vaučer primerci svih analiziranih vrsta pohranjeni su u herbarijumu Prirodno matematičkog fakulteta (BUNS) i u okviru mikološke zbirke Laboratorije za mikologiju ProFungi PMF-a.

#### 4.1.2. Opis lokaliteta istraživanog područja

##### Planina Tara

Planina Tara proglašena je za Nacionalni park 1981. godine čija teritorija obuhvata 24 992 hektara. Planina Tara pripada delu starovlaških planina (Starovlaška–Raška visija), nalazi se na krajnjem zapadu Srbije, duga je 50 km, a najviši vrh je 1591 mnv (Kozji rid) (<https://www.nptara.rs/>). Šumski ekosistemi čine najveći deo Nacionalnog parka među kojima su najčešće prisutne mešovite sastojine bukve, jele i smrče, a prisutne su i druge vrste kao što je bor (*Pinus sp.*), tisa (*Taxus sp.*), brest (*Ulmus sp.*) jasen (*Fraxinus sp.*) i javor (*Acer sp.*) (Gajić, 1988). Plot površine oko 2500 m<sup>2</sup> sa kojeg su sakupljena plodonosna tela analizirana u ovom radu nalazio se na lokalitetu Mitrovac (43°55'5.98"N, 19°25'33.56"E) u mešovitoj šumi smrče, jele i bukve na nadmorskoj visini od 1086 mnv (Slika 23).



Slika 24. Ispitivani plot na lokalitetu Tara (foto E.Bošković)

##### Planina Kopaonik

Nacionalni park Kopaonik, osnovan je 1989. godine sa osnovnim ciljem zaštite i unapređenja prirode i životne sredine planine Kopaonik ([www.npkopaonik.com](http://www.npkopaonik.com)). Planina Kopaonik nalazi se u centralnom delu Balkanskog poluostrva i pripada Rodopsko-Balkanskom sistemu planina. Geološki je veoma bogata i sastoji se od tri osnovna tipa stena: sedimentnih, magmatskih i metamorfnih. Takođe, u višim delovima prisutni su mnogobrojni

izvori od kojih nastaju potoci i rečice koji čine veoma gustu hidrološku mrežu (Papp i sar., 2004). Flora je raznovrsna sa 825 detektovanih biljnih vrsta, od čega 91 vrsta predstavlja endemite ovog područja. Na visini od 1100 mnv do 1600 mnv prostiru se šume bukve i jele, dok su na nešto većim visinama (1550 – 1750 mnv) dominantne šume smrče. Iznad ovog regiona nalazi se žbunasta vegetacija kleke i borovnice (Lakušić, 1993). Plot površine oko 2500 m<sup>2</sup> (N 43°18'18.1", E 20°50'38.4") sa kojeg su uzorkovana plodna tela za ova istraživanja nalazi se u zaštićenom planinskom području (lokalitet Metode) u šumi smrče (Slika 25).



**Slika 25.** Ispitivani plot na lokalitetu Kopaonik.

(Foto M. Rakić)

### **Vidlič (Park prirode Stara planina)**

U okviru Parka Prirode Stara planina, u drugom stepenu zaštite nalazi se lokalitet Vidlič. Ovaj lokalitet određeni autori predstavljaju kao deo Stare planine, dok po drugim predstavlja posebnu planinu (Vidanović, 1960). Ono što Vidlič izdvaja od Stare planine jeste različita geološka struktura, Stara planina je silikat a Vidlič je krečnjak. Takođe, u odnosu na Staru planinu, Vidlič je niža planina, sa najvišim vrhom od 1377 mnv (Stankov-Jovanović i sar., 2011). Na Vidliču su prisutne bukove šume, a mogu se naći i šume smrče i jele. Plodna tela gljiva analiziranih u ovom radu sakupljena su sa plota (43°10'36.65"N 22°43'02.41"E) površine oko 2500 m<sup>2</sup> koji se nalazio u okviru autohtonih bukovih šuma (Slika 26).





**Slika 26.** Ispitivani plot na lokalitetu Vidlič (Stara planina) (Foto E. Bošković)

### **Biogradska Gora**

Jedna od najvećih i najduže zaštićenih šuma u južnom delu Evrope nalazi se u okviru Nacionalnog Parka „Biogradska gora“ na planini Bjelasici u Republici Crnoj Gori. Zaštita ovog područja je uvedena još 1885. godine, kada je većina šuma na planini Bjelasici bila netaknuta ili skoro netaknuta, a za Nacionalni park je proglašeno tek 1952 godine. Centralni deo parka predstavljaju doline Biogradske reke i reke Jezerštice koje okružuju Biogradsko jezero. Postoji nekoliko različitih tipova šuma, ali najvažnija je mešovita bukova šuma (*Fagus sylvatica*) i šuma jele (*Abies alba*) sa retkom smrekom (*Picea abies*) (Motta i sar., 2015). Ove šume predstavljaju jednu od tri preostale prašume u Evropi i ovo područje predloženo je za uključivanje u Important Plant Area (IPA) mrežu prema kriterijumu 1. U parku su uspostavljene dve glavne zone sa različitim režimima zaštite: zona stoge zaštite (1600 ha), rezervat prašume gde su sve aktivnosti koje mogu ugroziti spontani razvoj i autohtonu prirodu ovog područja zabranjene, i zona liberalnijeg režima zaštite (3850 ha), sa posebnim izborom i kontrolom aktivnosti (Čurović i sar., 2011). Plot (oko 2500 m<sup>2</sup>) sa kojeg su sakupljena plodna tela gljiva korišćenih u ovom istraživanju nalazio se u zoni stroge zaštite (42°53'49.27"N 19°36'6.90"E) u dominantno bukovoj šumi na obali Biogradskog jezera (Slika 26).



Slika 27. Ispitivani plot na lokalitetu Biogradska gora (Foto E. Bošković)

#### 4.2. Određivanje mikroklimatskih faktora

Tokom istraživanja mereni su sledeći parametri spoljašnje sredine: temperatura vazduha ( $T$  °C), relativna vlažnost vazduha (RVV %), momentalna vlažnost zemljišta (MVZ u masenim procentima %) i količina atmosferskih padavina (KP mm).

Podaci o  $T$  (merni opseg: 40 – 85 °C, osetljivost 0,1°C) i RVV (merni opseg 0 – 100 %, osetljivost 1 %) na ispitivanim lokalitetima (osim lokaliteta Biogradska gora) prikupljani su kontinuirano na svakih sat vremena upotrebom “mikroklimatskih stanica”, odnosno posebnim senzorima koji su postavljeni na 2 m visine iznad tla. MVZ određena je direktnim gravimetrijskim metodom. Uzorci zemljišta su uzimani jednom mesečno, sa dubine od 10 cm, uvek sa približno istog mesta na svakom istraživanom plotu. Podaci o KP (mesečni proseki) za istraživani period, dobijeni su od Republičkog Hidrometeorološkog Zavoda Srbije, iz stanica koje su se nalazile najbliže ispitivanim lokalitetima: meteorološka stanica „Dimitrovgrad“ (450 mnv) za ispitivani lokalitet Vazganica, na Vidliču; meteorološka stanica „Kopaonik“ (1711 mnv) za ispitivani lokalitet Metode, na Kopaoniku i merna stanica „Zlatibor“ (1028 mnv) za lokalitet Mitrovac, na Tari.

Podaci o navedenim mikroklimatskim parametrima su dobijeni od dr Zorana Galića, naučnog savetnika Instituta za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Univerziteta u Novom Sadu.

### 4.3. Morfološka analiza

Morfološki karakteri plodonosnih tela proučavanih vrsta gljiva posmatrani su na svežim uzorcima ubrzo nakon branja zbog visokog procenta vode koje sadrže i koja utiče na njihovu brzu degradaciju. Od makromorfoloških karaktera određivane su dimenzije i boja šešira (*lat. pileus*) i drške (*lat. stipes*). Na uzorcima koji su bili dostupni samo u osušenom stanju posmatrani su samo mikromorfološki karakteri: struktura pokožice šešira (*lat. pileipelis*), cistidije na obodu i stranama listića (heilocistidije i pleurocistidije) i oblik i veličina spora. Mikroskopski karakteri kod svih uzoraka posmatrani su u 10% KOH ili u laktofuksinu koristeći svetlosni mikroskop (Zeiss Axio Imager A2, Germany). Određene su dimenzije spora (gde god je bilo moguće mereno je minimum 20 spora), koeficijent Q (odnos dužine i širine spora, izračunato iz srednjih vrednosti dužine i širine spora) i prisutvo cistidija na površini listića i pokožici šešira i drške.

Makromorfološki karakteri ispitivanih vrsta kod kojih je sakupljeno više od 10 uzoraka plodnih tela sa dva ili više lokaliteta (vrste *M. alliaceus* i *G. androsaceus*) analizirani su statistički korišćenjem STATISTICA for Windows v.13.5. Opšta strukturalna varijabilnost uzorka i doprinos pojedinačnih karaktera u formiranju te strukture vršeno je analizom osnovnih komponenti (PCA – Principal Component Analysis). Takođe, urađena je i diskriminantna analiza osnovnih komponenti (DCA – Discriminant Component Analysis) radi provere hipoteze da je ispitivani uzorak sastavljen od morfološki odvojenih grupa. U diskriminantnu analizu uključeni su svi karakteri koji su u analizi varijanse pokazali statistički značaj u formiranju razlika između populacija koje su se poredile. Ukupne razlike između populacija (kod vrste *M. alliaceus*) predstavljene su i Euklidijevim distancama. Urađena je i korelacija između merenih morfoloških karaktera i faktora sredine (srednja temperatura vazduha, relativna vlažnost vazduha, količina padavina, vlažnost zemljišta i pH zemljišta).



#### 4.4. Molekularna analiza

##### 4.4.1 Izolacija DNK

Za izolaciju DNK korišćeno je približno 20 mg suvog ili oko 40 mg svežeg uzorka bazidiokarpa čuvanog u 96% etanolu koji je prethodno tretiran tečnim azotom i usitnjen uz pomoć avana i tučka. Izolacija genomske DNK ispitivanih vrsta rađena je uz pomoć kita GeneJET Plant Genomic DNA purification Mini Kit (Thermo Scientific <http://www.thermofisher.com/rs/en/home.html>) po protokolu proizvođača, kao i korišćenjem CTAB protokola (Doyle i Doyle, 1987). Provera kvaliteta gDNK je izvršena i elektroforetski (100 V, 45 min) na 1% agaroznom gelu.

##### 4.4.2. Umnožavanje DNK lančanom reakcijom polimerizacije

###### 4.4.2.1. ISSR metoda

Za identifikaciju jedinki i izračunavanje parametara populacione genetike ispitivanih vrsta korišćena je ISSR metoda upotrebom šest mikrosatelitskih prajmera: (GTG)<sub>5</sub>, (GACA)<sub>4</sub>, (GCC)<sub>5</sub>, (AG)<sub>8</sub>T, (GCCAAC)<sub>2</sub>G (Mj4), (AAG)<sub>6</sub>. Svaki od korišćenih prajmera (Tabela 2) upotrebljen je za umnožavanje DNK u posebnoj polimeraznoj lančanoj reakciji (PCR) koje su se odvijale u Thermocycler-u (Biometra, <http://www.biometra.de/>) u zapremini od 25µl. Komponente PCR za amplifikaciju sa svim korišćenim prajmerima date su u tabeli 2. Parametri PCR dati su u tabelama 3-8. Svi prajmeri su testirani i optimizovani koristeći pet uzoraka DNK od svake ispitivane vrste i reakcije su rađene u dva ponavljanja.

**Tabela 2.** Koncentracije i zapremine korišćenih reagenasa u PCR reakcijama sa ISSR prajmerima

	(GTG) <sub>5</sub>	(GACA) <sub>4</sub>	(GCC) <sub>5</sub>	(AG) <sub>8</sub> T	Mj4	(AAG) <sub>6</sub>
10X Taq buffer with KCL	2,5 µl	2,5	2,5 µl	-	2,5 µl	
10X Taq buffer with (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	-		2,5 µl		2,5 µl
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2 mM	2 mM	2 mM	2,5 mM	2 mM	2,5 mM
dNTP Mix (10mM)	0,2 mM	0,2 mM	0,2 mM	0,2 mM	0,2 mM	0,2 mM
Prajmer (100µM)	0,5 mM	0,5 mM	0,5 mM	0,5 mM	0,5 mM	0,5 mM
Taq DNA polymerase (5U/µl)	0,625 U	0,625 U	0,625 U	0,625 U	0,625 U	0,625 U
DNK (100ng/µl)	100 ng	100 ng	100 ng	100 ng	100 ng	100 ng
H <sub>2</sub> O	18,85 µl	18,85 µl	18,85 µl	17,85 µl	18,85 µl	17,85 µl

**Tabela 3.** Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata sa (GTG)<sub>5</sub> prajmerom (Zhou i sar., 1999)

Broj koraka	Korak	Temperatura °C	Vreme min:s	Broj ponavljanja
1.	Inicijalna denaturacija	95	02:00	
2.	Denaturacija ciklusa	95	00:30	
3.	Vezivanje prajmera	50	00:30	<b>30x</b>
4.	Elongacija	72	01:00	
5.	Finalna elongacija	72	10:00	
6.	Pauza	4	Pause	

**Tabela 4.** Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata prajmerom (GACA)<sub>4</sub> (Zhou i sar., 1999)

Broj koraka	Korak	Temperatura °C	Vreme min:s	Broj ponavljanja
1.	Inicijalna denaturacija	94	09:00	
2.	Vezivanje prajmera	48	01:00	
3.	Elongacija	72	01:00	
4.	Denaturacija ciklusa	94	01:00	
5.	Vezivanje prajmera	48	01:00	<b>38x</b>
6.	Elongacija	72	01:00	
7.	Denaturacija	94	01:00	
8.	Vezivanje prajmera	48	01:00	
9.	Finalna elongacija	72	10:00	
10.	Pauza	4	Pause	

**Tabela 5.** Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata prajmerom (GCC)<sub>5</sub> (Zhou i sar., 1999)

Broj koraka	Korak	Temperatura °C	Vreme min:s	Broj ponavljanja
1.	Inicijalna denaturacija	94	09:00	
2.	Vezivanje prajmera	65	01:00	
3.	Elongacija	72	01:00	
4.	Denaturacija ciklusa	94	01:00	
5.	Vezivanje prajmera	65	01:00	<b>38x</b>
6.	Elongacija	72	01:00	
7.	Denaturacija	94	01:00	
8.	Vezivanje prajmera	65	01:00	
9.	Finalna elongacija	72	10:00	
10.	Pauza	4	Pause	

**Tabela 6.** Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata prajmerom AG<sub>8</sub>T (Carrier i sar., 2011)

Broj koraka	Korak	Temperatura °C	Vreme min:s	Broj ponavljanja
1.	Inicijalna denaturacija	95	04:00	
2.	Denaturacija ciklusa	94	00:30	
3.	Vezivanje prajmera	52	00:45	<b>40x</b>
4.	Elongacija	72	02:00	
5.	Finalna elongacija	72	07:00	
6.	Pauza	4	Pause	

**Tabela 7.** Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata prajmerom Mj4 (Nghia i sar. 2008)

Broj koraka	Korak	Temperatura °C	Vreme min:s	Broj ponavljanja
1.	Inicijalna denaturacija	94	05:00	
2.	Denaturacija ciklusa	94	00:30	
3.	Vezivanje prajmera	51	01:00	<b>35x</b>
4.	Elongacija	72	02:00	
5.	Finalna elongacija	72	10:00	
6.	Pauza	4	Pause	

**Tabela 8** Parametri PCR reakcije za umnožavanje produkata prajmerom (AAG)<sub>6</sub> (optimizovano).

Broj koraka	Korak	Temperatura °C	Vreme min:s	Broj ponavljanja
1.	Inicijalna denaturacija	94	02:00	
2.	Denaturacija ciklusa	94	00:45	
3.	Vezivanje prajmera	45	00:45	<b>35x</b>
4.	Elongacija	72	01:30	
5.	Finalna elongacija	72	07:00	
6.	Pauza	4	Pause	

#### 4.4.2.2. Umnožavanje poznatih regiona (gena)

Za filogenetsku analizu ispitivanih vrsta korišćene su sekvence dobijene amplifikacijom tri regiona u genomu: ITS, EF-1 $\alpha$  i LSU (Tabela 9).

**Tabela 9.** Prajmeri korišćeni za amplifikaciju i sekvencioniranje ispitivanih regiona

Marker	Prajmeri	Sekvence 5'-3'	Referenca
ITS (eng. Internal Transcribed Spacer)	ITS1F	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	White i sar., 1990
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	
EF-1 $\alpha$ , (eng. alpha elongation factor)	983F	GCYCCYGGHCAYCGTGAYTTYAT	Rehner i Buckley, 2005
	2218R	ATGACACCRACRGCACRGTGTG	
LSU (eng. Large subunit of the nuclear ribosomal RNA)	LR0R	GTACCCGCTGAACTTAAGC	Vilgalys i Hester, 1990
	LR7	TACTACCACCAAGATCT	

Sve reakcije amplifikacije su se odvijale u Thermocycler-u (Eppendorf, <http://www.eppendorf.com>) u zapremini od 50  $\mu$ l. Koncentracije i zapremine korišćenih komponenti za sve PCR reakcije za ITS, EF-1 $\alpha$  i LSU regione date su u tabeli 10. Parametri PCR reakcija za amplifikaciju navedenih regiona dati su u tabelama 11-13.

**Tabela 10.** Koncentracije i zapremine korišćenih reagenasa u PCR reakcijama za ITS, EF-1 $\alpha$  i LSU regione u ukupnoj zapremini od 50  $\mu$ l

	ITS	EF-1 $\alpha$	LSU
10x Taq Buffer	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l
dNTP Mix (2mM)	0,2 mM	0,2 mM	0,2 mM
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	2 mM	2 mM	2 mM
Taq DNA polymerase (2,5 U)	1,25 U	1,25 U	1,25 U
primer F (50 $\mu$ M)	0,5 mM	0,5 mM	0,5 mM
primer R (50 $\mu$ M)	0,5 mM	0,5 mM	0,5 mM
DNK	100 ng	100 ng	100 ng
H <sub>2</sub> O	33,3 $\mu$ l	33,3 $\mu$ l	33,3 $\mu$ l

**Tabela 11** Parametri PCR reakcije za umnožavanje ITS regiona (po protokolu datom uz polimerazu) (<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/EP0701>)

Broj koraka	Korak	Temperatura <sup>0</sup> C	Vreme min:s	Broj ponavljanja
1.	Inicijalna denaturacija	95	02:00	
2.	Denaturacija	95	00:30	
3.	Vezivanje prajmera	55	00:30	<b>40x</b>
4.	Elongacija	72	01:00	
5.	Finalna elongacija	72	10:00	
6.	Pauza	4	Pause	

**Tabela 12.** Parametri PCR reakcije za umnožavanje LSU regiona (Wilson i Desjardin, 2005)

Broj koraka	Korak	Temperatura <sup>0</sup> C	Vreme min:s	Broj ponavljanja
1.	Denaturacija	94	01:00	
2.	Vezivanje prajmera	50	00:45	
3.		50 - 72 ramp	01:00	<b>30x</b>
4.	Elongacija	72	01:00	
5.	Finalna elongacija	72	07:00	
6.	Pauza	4	Pause	

**Tabela 13.** Parametri PCR reakcije za umnožavanje EF-1 $\alpha$  regiona (Antonin i sar. 2013)

Broj koraka	Korak	Temperatura <sup>0</sup> C	Vreme min:s	Broj ponavljanja
1.	Denaturacija	94	02:00	
2.	Vezivanje prajmera	66-57 touchdown	00:30	<b>9x</b>
3.	Elongacija	72	01:00	
4.	Denaturacija	94	00:30	
5.	Vezivanje prajmera	56	00:30	<b>30x</b>
6.	Elongacija	72	01:00	
5.	Finalna elongacija	72	10:00	
6.	Pauza	4	Pause	

#### 4.4.3. Elektroforetsko razdvajanje PCR produkata

Elektroforetsko razdvajanje PCR produkata vršeno je na 2% agaroznom gelu za ITS region, 1,5% gelu za ISSR fragmente i 1% gelu za EF-1 $\alpha$  i LSU regione. Za vizualizaciju DNK na gelu korišćen je rastvor etidijum bromida (EtBr), a za određivanje veličine PCR produkata korišćeni su markeri od 50bp (O'GeneRuler 50 bp DNA Ladder, ready-to-use, Thermo Scientific, <https://www.thermofisher.com>) za ITS fragmente, dok je za određivanje veličine ISSR, EF-1 $\alpha$  i LSU fragmenata korišćen je marker od 1 kb (GeneRuler 1 kb DNA Ladder, Thermo Scientific, <https://www.thermofisher.com>).

#### 4.4.4. Priprema PCR produkata za sekvencioniranje i obrada sekvenci

Produkti PCR reakcija su prečišćeni uz pomoć QIAquick PCR Purification Kit-a (Qiagen, <https://www.qiagen.com>) ili QIAquick Gel Extraction Kit-a (Qiagen, <https://www.qiagen.com>) po uputstvu proizvođača. Ekstrakcija PCR produkata iz gela je rađena kod uzoraka kod kojih je došlo do amplifikacije i nespecifičnih produkata pa je bilo potrebno izolovati samo produkt željene veličine. Koncentracija i čistoća PCR produkata je određena spektrofotometrijski (BioSpec-nano, Shimadzu, <http://www.ssi.shimadzu.com/>) merenjem apsorbanci rastvora DNK na 260 i 280 nm. Prečišćeni uzorci odgovarajuće koncentracije i isti set prajmera koji je korišćen za PCR reakcije su poslani na uslužno sekvencioniranje koristeći „EZ-Seq“ program (Macrogen Europe, Amsterdam, Holandija, <https://dna.macrogen.com/eng/index.jsp>). Hromatogrami dobijenih sekvenci su pregledani i obrađeni pomoću FinchTV 1.5.0 (Geospiza, Inc.; Seattle, WA, USA; <http://www.geospiza.com>) programa. Spajanje F i R sekvenci urađeno je u SeaView 4.4.2 programu (Gouy i sar., 2010). ITS sekvence su dodatno obrađene koristeći ITSx program (Bengtsson-Palme i sar. 2013), a obrada je podrazumevala isecanje 5,8 S sekvenci i eventualne ostatke SSU i LSU sekvenci koje mogu biti delimično amplifikovane korišćenjem ITS1-F i ITS4 prajmera.

## 4.5. Obrada rezultata

### 4.5.1. Izračunavanje parametara molekularnog diverziteta

Izračunavanje parametara genetičkog diverziteta rađeno je za tri populacije (Kopaonik, Stara planina i Biogradska gora) vrste *Mycetinis alliaceus* i dve populacije (Tara i Kopaonik) vrste *Gymnopus androsaceus* (Tabela 14). Za tu svrhu korišćeni su ISSR profili dobijeni amplifikacijom DNK upotrebom šest prajmera (GTG)<sub>5</sub>, (GACA)<sub>4</sub>, (GCC)<sub>5</sub>, (AAG)<sub>6</sub>, (AG)<sub>8</sub>T i Mj<sub>4</sub>) kod vrste *M. alliaceus* i pet prajmera (GTG)<sub>5</sub>, (GACA)<sub>4</sub>, (GCC)<sub>5</sub>, (AAG)<sub>6</sub> i (AG)<sub>8</sub>T kod vrste *G. androsaceus*. Svi amplifikovani fragmenti (trake) su očitani i ocenjeni kao prisutni (1) ili odsutni (0) na osnovu čega je formirana binarna matrica za upotrebu u daljoj analizi. Radi određivanja genetičke sličnosti između populacija konstruisana su filogenetska stabala na osnovu binarnih podataka i urađena bootstrap analiza u programu FreeTree (Pavlicek i sar., 1999). Konstruisana su Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean (UPGMA) stabla na osnovu Nei i Li (1979) koeficijenta genetičke distance. Bootstrap analiza rađena je u 1000 ponavljanja. Analiza molekularne varijanse (AMOVA) urađena je u programu Arlequin 3.5.1.3 sa brojem permutacija 1000. Genetička diferencijacija između parova populacija je definisana kao niska ukoliko su Fst vrednosti bile manje od 0,05; Fst vrednosti u opsegu od 0,05 do 0,15 su ukazivale na srednji nivo diferencijacije između populacija; visok nivo diferencijacije populacija je bio određen Fst vrednostima u opsegu od 0,15 do 0,25; dok su na veoma visoku diferencijaciju ukazivale Fst vrednosti veće od 0,25 (Wright, 1978).

**Tabela 14.** Uzorci korišćeni za izračunavanje parametara molekularnog diverziteta

br.uzoraka	vrsta	datum uzorkovanja	Lokalitet	oznaka
1	<i>Mycetinis alliaceus</i>	30.07.2014.	Kopaonik, Metode	161
2	<i>Mycetinis alliaceus</i>	30.07.2014.	Kopaonik, Metode	162
3	<i>Mycetinis alliaceus</i>	30.07.2014.	Kopaonik, Metode	163
4	<i>Mycetinis alliaceus</i>	12.06.2015.	Kopaonik, Metode	66
5	<i>Mycetinis alliaceus</i>	12.06.2015.	Kopaonik, Metode	67
6	<i>Mycetinis alliaceus</i>	12.06.2015.	Kopaonik, Metode	9
7	<i>Mycetinis alliaceus</i>	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	90
8	<i>Mycetinis alliaceus</i>	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	91
9	<i>Mycetinis alliaceus</i>	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	96
10	<i>Mycetinis alliaceus</i>	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	97
11	<i>Mycetinis alliaceus</i>	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	98
12	<i>Mycetinis alliaceus</i>	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	99
13	<i>Mycetinis alliaceus</i>	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	70

## Materijal i metode

1	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	106
2	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	107
3	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	108
4	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	109
5	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	110
6	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	68
7	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	138
8	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	69
9	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	149
10	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	207
11	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	208
12	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	210
13	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	211
14	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	213
15	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	214
1	<i>Mycetinis alliaceus</i>	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	127
2	<i>Mycetinis alliaceus</i>	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	126
3	<i>Mycetinis alliaceus</i>	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	155
4	<i>Mycetinis alliaceus</i>	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	92
5	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	177
6	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	178
7	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	179
8	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	180
9	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	182
10	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	183
11	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	184
12	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	185
13	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	186
14	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	187
15	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	188
16	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	189
17	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	190
18	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	191
19	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	192
20	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	193
1	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	167
2	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	130
3	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	118
4	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	117
5	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	170
6	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	94
7	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	131
8	<i>Gymnopus androsaceus</i>	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	268
9	<i>Gymnopus androsaceus</i>	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	269
10	<i>Gymnopus androsaceus</i>	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	270
11	<i>Gymnopus androsaceus</i>	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	272

## Materijal i metode

---

12	<i>Gymnopus androsaceus</i>	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	274
13	<i>Gymnopus androsaceus</i>	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	275
14	<i>Gymnopus androsaceus</i>	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	276
15	<i>Gymnopus androsaceus</i>	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	277
16	<i>Gymnopus androsaceus</i>	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	278
17	<i>Gymnopus androsaceus</i>	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	279
18	<i>Gymnopus androsaceus</i>	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	280
1	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	283
2	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	284
3	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	271
4	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	285
5	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	286
6	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	287
7	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	288
8	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	289
9	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	290
10	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	291
11	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	292
12	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	293
13	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	294
14	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	295
15	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	296
16	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	297
17	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	298
18	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	299

---



#### 4.5.2. Filogenetska analiza

Za filogenetsku analizu u ovom radu korišćeno je 78 sekvenci (ITS – 35, LSU – 32, EF-1 $\alpha$  – 11) dobijenih iz 15 vrsta gljiva roda *Marasmius*.

Četrdeset sekvenci je generisano u ovom istraživanju (ITS – 16, LSU – 13, EF-1 $\alpha$  – 11) i 38 je preuzeto iz GenBank baze podataka (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Tabela 15). Sekvence dobijene u ovom istraživanju su pohranjene u GenBank bazu i dodeljeni su im sledeći pristupni brojevi: MK226496 – MK226511 za ITS sekvence, MK238544 – MK238556 za LSU sekvence, MK327525 – MK327535 za EF-1 $\alpha$  sekvence (Tabela 15).

**Tabela 15.** Šifre vaučer vrsta, zemlja porekla i GenBank pristupni brojevi vrsta roda *Marasmius* korišćene za filogenetsku analizu

Vrsta	Izolat/ vaučer šifra	Zemlja porekla	GenBank pristupni brojevi		
			ITS	LSU	EF-1 $\alpha$
<i>Marasmius rotula</i> (Scop.) Fr.	BUNS12-00732	Serbia	MK226496*	-	-
	BUNS12-00733	Serbia	MK226497*	-	-
	BUNS12-00734	Serbia	MK226498*	-	-
	NN005958	Denmark	JN943598	JN941146	-
<i>Marasmius bulliardii</i> Quél.	BUNS12-00727	Serbia	MK226499*	MK238544*	MK327525*
	BUNS12-00728	Serbia	MK226500*	MK238545*	MK327526*
	BUNS12-00729	Serbia	MK226501*	MK238546*	MK327527*
	BUNS12-00730	Serbia	MK226502*	MK238547*	MK327528*
	BUNS12-00731	Serbia	MK226503*	MK238548*	MK327529*
	NN048356	Denmark	JN943600	JN941148	-
<i>Marasmius graminum</i> (Lib.) Berk.	NN005953	Denmark	JN943595	JN941141	-
	<i>Marasmius curreyi</i> Berk. & Broome	BRMN 714676	-	FJ936152	FJ917614
<i>Marasmius oreades</i> (Bolton) Fr.	BUNS12-00735	Serbia	MK226504*	MK238549*	MK327530*
	SAF2837	Italy	MK226505*	MK238550*	MK327531*
	NN055694	Denmark	JN943604	JN941144	-
<i>Marasmius wynneae</i> Berk. & Broome	HCCN G86	Korea	FJ904979	FJ904961	-
	<i>Marasmius siccus</i> (Schwein.) Fr.	KG 099	Korea	FJ904987	FJ904982
KG 119		Korea	FJ904988	FJ904983	-
VA 08.69		-	FJ904992	FJ904984	-
<i>Marasmius anomalus</i> Lash	SAF440	Italy	MK226506*	MK238551*	-
<i>Marasmius cohaerens</i> (Pers.) Cooke & Quél.	BRNM652833	-	GU266261	GU266268	-
	BRNM695761	-	GU266260	GU266267	-

## Materijal i metode

<i>Marasmius</i>	BUNS12-00736	Serbia	MK226507*	MK238552*	MK327532*
<i>torquescens</i> Quél.	BUNS12-00737	Serbia	MK226508*	MK238553*	MK327533*
	BUNS12-00738	Serbia	MK226509*	MK238554*	-
	BUNS12-00739	Serbia	MK226510*	MK238555*	MK327534*
	BRNM 691427	-	GU266258	GU266265	-
	BRNM714918	-	GU266259	GU266266	-
<i>Marasmius</i>	BRNM658229	Czech	JN601435	JN585130	-
<i>hudsonii</i>		Republic			
(Pers.) Fr.					
<i>Marasmius</i>	Ngyuen111209	USA	JN601433	JN585128	-
<i>corbariensis</i>					
(Roum.) Singer					
<i>Marasmius</i>	NN048205	Greenland	JN943599	JN941147	-
<i>epiphyllus</i>	NN050222	Russia	JN943602	JN941150	-
(Pers.) Fr.					
<i>Marasmius</i>	BUNS12-00740	Serbia	MK226511*	MK238556*	MK327535*
<i>epiphylloides</i>	CBS336.50	France	MH856651	MH868162	-
(Rea) Sacc. &					
Trotter					
<i>Lactarius lignyotus</i>	AFTOL-ID 681	USA	DQ221107	AY631898	DQ435787
Fr.					

\* Sekvence dobijene u ovom radu

U cilju postizanja pouzdanije infrageneričke klasifikacije evropskih vrsta roda *Marasmius*, u ovom istraživanju korišćeni su molekularni podaci dobijeni iz vrsta koje predstavljaju sve sekcije prisutne u Evropi (*Marasmius*, *Hygrometrici*, *Globulares*, *Epiphylli*) i izvršene su dve filogenetske analize korišćenjem dve kombinacije molekularnih markera: ITS/LSU i ITS/LSU/EF-1a. Spajanje sekvenci različitih lokusa poreklom iz istog uzorka (eng. concatenation) je urađeno u programu SeaView 4.4.2 (Gouy i sar., 2010). Iz uzoraka vrste *M. rotula* (BUNS 12-00732, BUNS 12-00733, BUNS 12-00734, Tabela 15) amlifikacija LSU i EF-1a sekvenci nije bila uspešna, pa su korišćeni samo u filogenetskoj analizi ITS/LSU seta podataka gde su u poravnanjima umesto nedostajućih LSU sekvenci stavljeni simboli “-“.

Poravnanje (eng. *alignment*) sekvenci za obe analize izvršeno je u programu MUSCLE 3.7. (Edgar, 2004). Prvo je izvršeno poravnanje sekvenci poreklom iz iste vrste i isečeni su krajevi (eng. *trimmed*) da bi se uklonili krajevi sekvenci koji su lošeg kvaliteta. Nakon toga su, sekvence poreklom iz svih analiziranih vrsta poravnate i dobijen je finalni set podataka koji je sadržao ukupno 2444 nukleotidnih pozicija, uključujući gap-ove (ITS/LSU set sekvenci) i 3448 pozicija, uključujući gap-ove (ITS/LSU/EF-1a set podataka). Supstiticioni model je određen uz pomoć jModelTest2 (Darriba i sar., 2012) programa i GTR + I + G (General time reversible model + Proportion of invariant + Gamma) supstiticioni model je odabran kao odgovarajući za obe grupe sekvenci.

Maximum Likelihood (ML) analiza je urađena u RAxML-HPC BlackBox 8.2.10 (Stamatakis 2014) programu koristeći automatski ponuđene parametre osim “bootstrap” vrednosti koja je podešena na 1000. Kao autgrupa korišćena je vrsta *Lactarius lignyotus* AFTOL-ID 681 čije su sekvence preuzete iz GenBank baze podataka.

Druga filogenetska analiza urađena u programu Mr. Bayes 3.2.6 na serveru [www.phylogeny.fr](http://www.phylogeny.fr). S obzirom da je na navedenom serveru broj uzoraka koje se mogu analizirati u program Mr. Bayes 3.2.6. ograničen na 30 iz ITS/LSU seta podataka uklonjeno je tri uzorka vrste *M. bulliardii* (BUNS 12-00728, BUNS 12-00729 i BUNS 12-00731) i dva uzorka vrste *M. torquescens* (BUNS 12-00738, BUNS 12-00739). Filogenetska analiza je urađena na osnovu sledećih parametara: GTR + I + G je odabran kao model, Markov Chain Monte Carlo parametri su podešeni na 100 000 generacija, stabla su uzorkovana na svakih 100 generacija dok je prvih 1000 stabala odbačeno. Kao autgrupa korišćena je vrsta *Lactarius lignyotus* AFTOL-ID 681 čije su sekvence preuzete iz GenBank baze podataka.

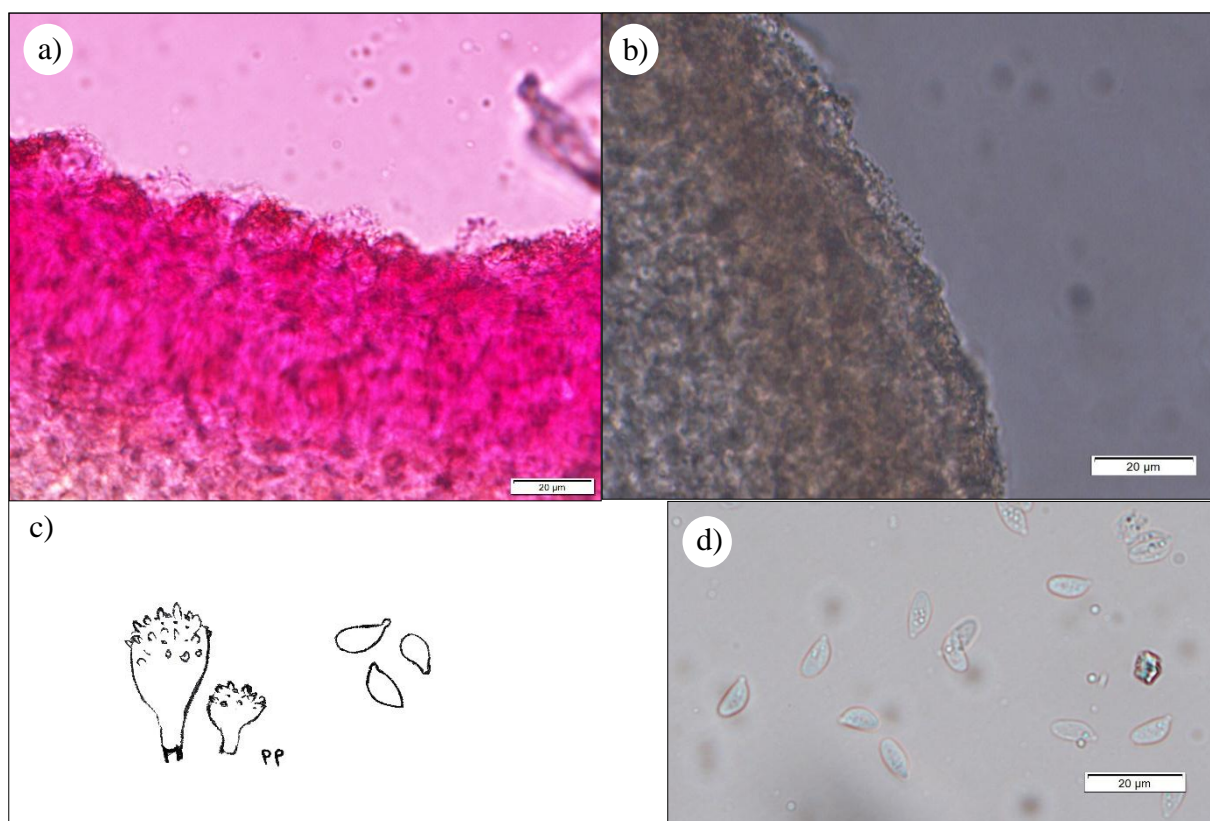
Poravnanje sekvenci i filogenetska stabla su deponovani u javno dostupnoj bazi Treebase (<http://purl.org/phylo/treebase/phyloids/study/TB2:S23770?x-access-code=57ec75227a76acae5ad70c704d2b5d22&format=html>). Programi MUSCLE 3.7, jModelTest2 i RAxML-HPC BlackBox 8.2.10 su korišćeni preko portala CIPRES Science Gateway (Miller i sar., 2010).

## 5. REZULTATI I DISKUSIJA

### 5.1. Morfološka analiza

#### 5.1.1. *Marasmius rotula* (Scop.) Fr

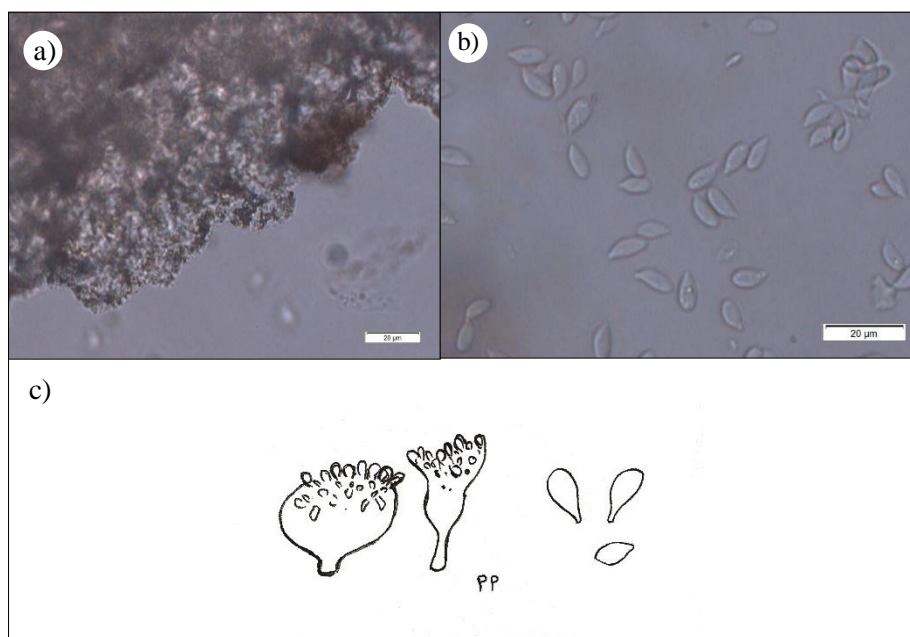
Uzorci vrste *M. rotula* sakupljeni su sa dva lokaliteta – NP Biogradska gora i Vidlič (Stara planina). Kod svih sakupljenih uzoraka makromorfološki podaci odgovarali su podacima iz literature. Uzorak koji je korišćen za analizu mikroskopskih karaktera sakupljen je na lokalitetu Vidlič (Stara planina) i pohranjen je u herbarijumu laboratorije za mikologiju ProFungi PMF-a pod šifrom BUNS12-00733. Mikroskopske karakteristike analiziranog uzorka (struktura pileipelisa, prisustvo i oblik cistidija, oblik spora) bile su u saglasnosti sa podacima iz literature (Slika 28). Dimenzije spora su bile  $7 - 9 \times 4,1 - 4,8 \mu\text{m}$ ,  $Q = 1.82$ .



**Slika 28.** Mikroskopske karakteristike *Marasmius rotula*: a) pileipelis u laktofuksinu; b) pileipelis u KOH; c) PP-pileipelis, CH- heilocistidije; d) spore

### 5.1.2. *Marasmius bulliardii* Quél

Uzorci vrste *M. bulliardii* sakupljeni su sa lokaliteta NP Fruška gora. Kod svih sakupljenih uzoraka makromorfološki podaci odgovarali su podacima iz literature. Uzorak koji je korišćen za analizu mikroskopskih karaktera pohranjen je u herbarijumu laboratorije za mikologiju ProFungi PMF-a pod šifrom BUNS12-00727. Analizirane mikroskopske karakteristike uzorka (struktura pileipelisa, prisustvo i oblik cistidija) su u saglasnosti sa podacima iz literature. Dimenzije spora su bile  $9.8 - 12 \times 5.1 - 7.7 \mu\text{m}$ ,  $Q = 1.83$  (Slika 29).



**Slika 29.** Mikroskopske karakteristike *Marasmius bulliardii*: a) pileipelis; b) spore; c) PP-pileipelis

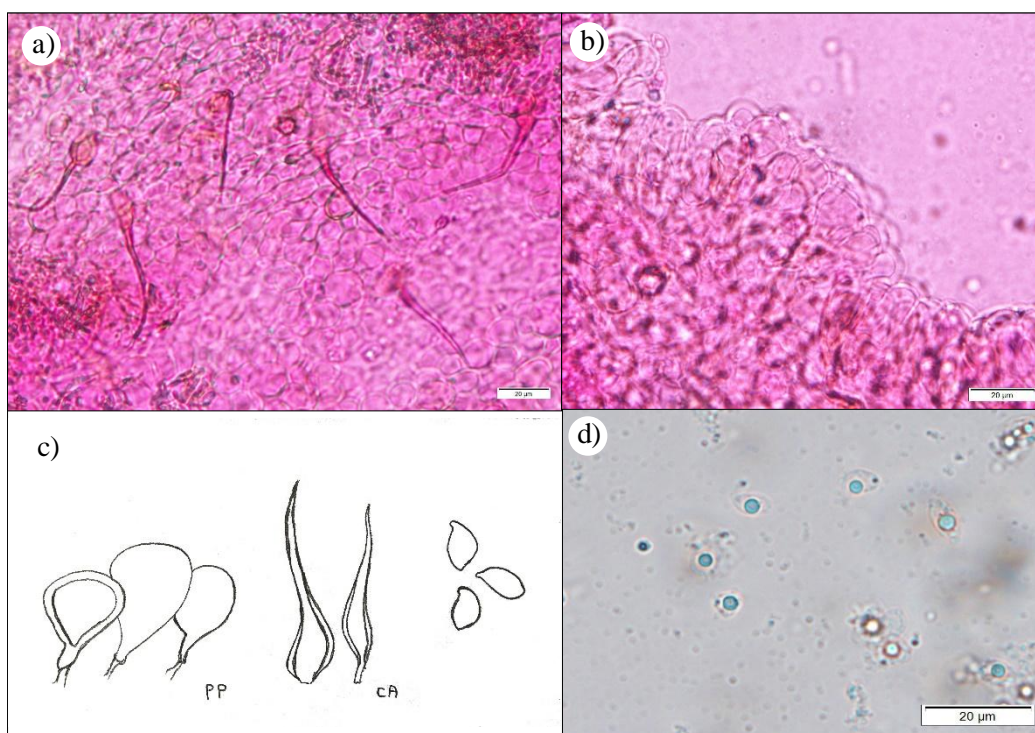
### 5.1.3. *Marasmius torquescens* Quél.

Uzorci vrste *Marasmius torquescens* sakupljeni su sa lokaliteta NP Tara (Mitrovac). Kod svih sakupljenih uzoraka makromorfološki podaci (Tabela 16) odgovarali su podacima iz literature. Uzorak na kojem je vršena analiza mikroskopskih karaktera pohranjen je u herbarijumu laboratorije za mikologiju ProFungi PMF-a pod šifrom BUNS12-00727. Mikroskopske karakteristike (Slika 30) analiziranog uzorka (struktura pileipelisa, prisustvo i oblik cistidija, oblik spora, prisustvo i oblik seta) bile su u skladu sa podacima iz literature. Dimenzije spora su bile  $7.2 - 10 \times 4.1 - 6.5 \mu\text{m}$ ,  $Q = 1.76$ .



**Tabela 16.** Dimenzije plodnih tela *Marasmius toquescens* sakupljenih sa lokaliteta Tara

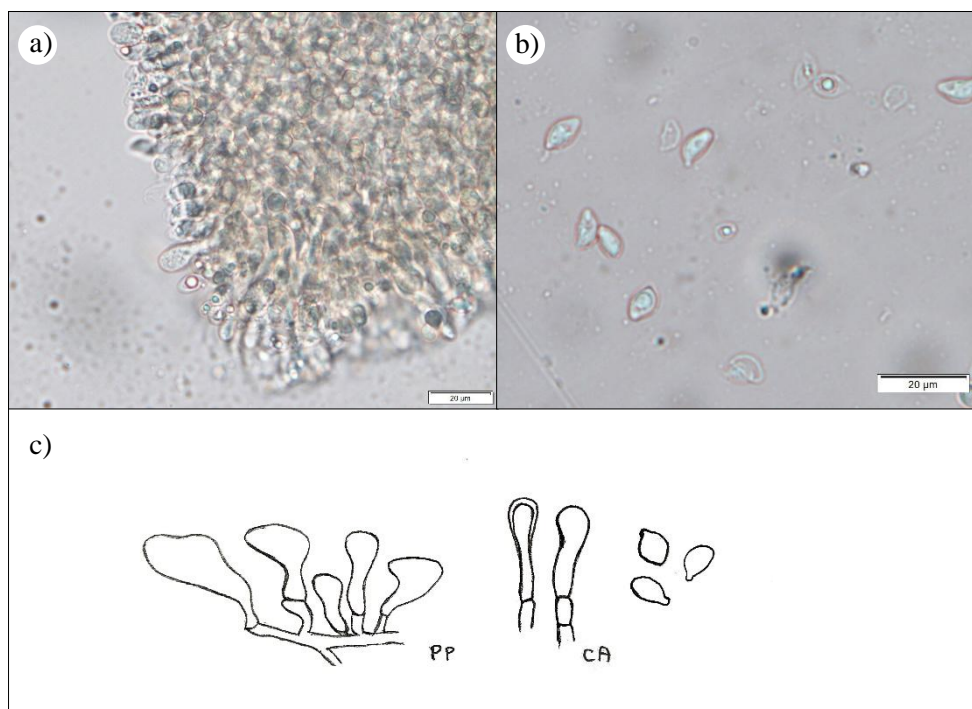
TARA	prečnik šesira (mm)	dužina drške (mm)
<b>197</b>	10	31
<b>198</b>	13	36
<b>199</b>	8	40
<b>200</b>	14	47
<b>201</b>	8	30
<b>202</b>	10	20
$\sigma$	10.5±2.5	34±9.3
min	8	20
max	14	47



**Slika 30.** Mikroskopske karakteristike *Marasmius torquescens*: a) kaulocistidije; b) pileipelis; c) PP-pileipelis, CA-kaulocistidije; d) spore

#### 5.1.4. *Marasmius oreades* (Bolton) Fr.

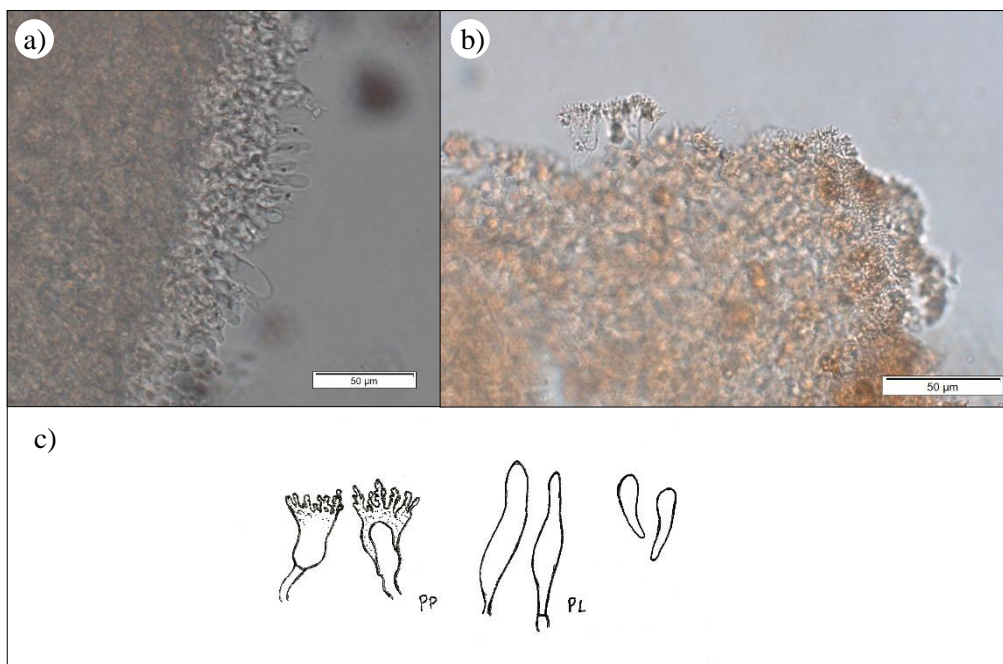
Uzorak vrste *Marasmius oreades* sakupljen je sa lokaliteta Vršački breg. Makromorfološki podaci odgovarali su podacima iz literature. Uzorak je pohranjen u herbarijumu laboratorije za mikologiju ProFungi PMF-a pod šifrom BUNS12-00735. Mikroskopske karakteristike (Slika 31) analiziranog uzorka (struktura pileipelisa, prisustvo i oblik cistidija, oblik spora) bile su u skladu sa podacima iz literature. Dimenzije spora su bile  $8.5 - 11.3 \times 5.2 - 7.3 \mu\text{m}$ ,  $Q = 1.65$ .



**Slika 31** Mikroskopske karakteristike vrste *Marasmius oreades*: a) pileipelis; b) spore; c) PP-pileipelis, CA-kaulocistidije

### 5.1.5. *Marasmius anomalus* Lash

Uzorak vrste *M. anomalus* dobijen je iz Herbarske zbirke univerziteta u Palermu, Italija (vaučer broj SAF440). S obzirom da je u pitanju eksikat, nije bilo moguće odrediti makroskopske osobine. Mikroskopske karakteristike (Slika 32) analiziranog uzorka (struktura pileipelisa, prisustvo i oblik cistidija, oblik spora) bile su u skladu sa podacima iz literature. Dimenzije spora su bile  $14.6 - 20 \times 3.2 - 5 \mu\text{m}$ ,  $Q = 3.2$ .

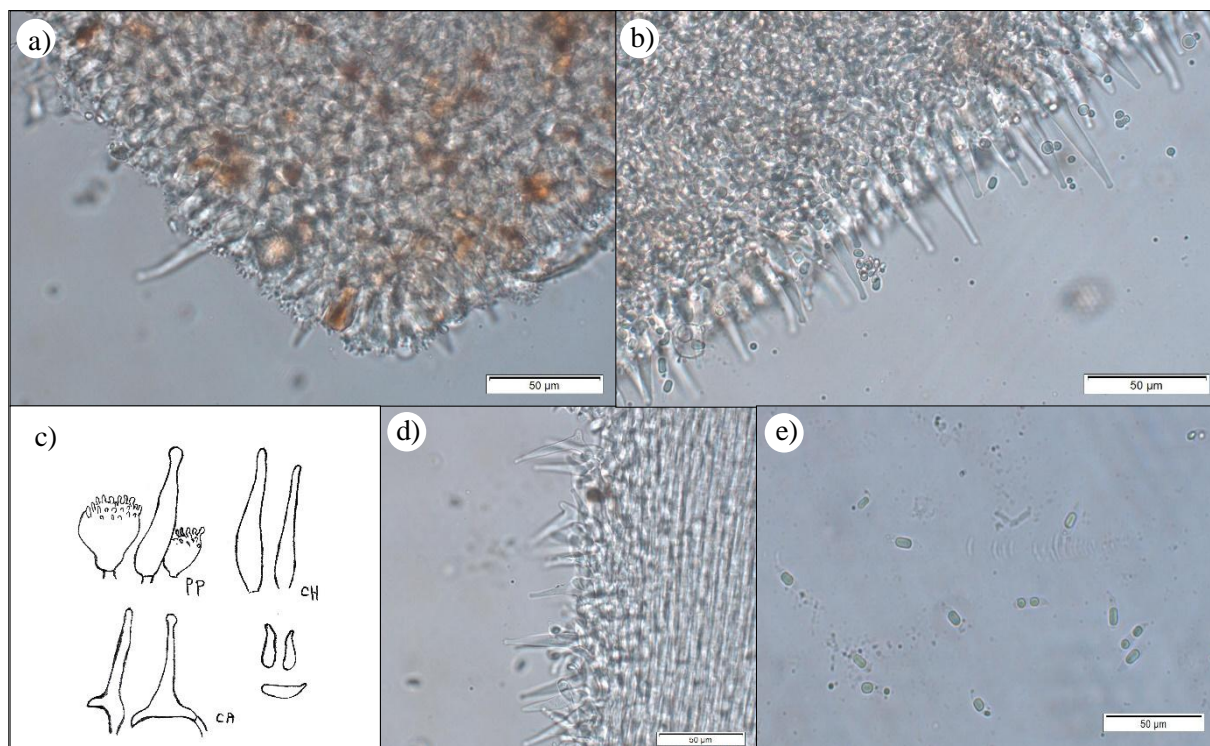


**Slika 32.** Mikroskopske karakteristike *Marasmius anomalus*: a) pleurocistidije; b) pileipelis; c) PP-pileipelis, PL-pleurocistidije

#### **5.1.6. *Marasmius epiphylloides* (Rea) Sacc. & Trotter (Pers.) Fr.**

Uzorak vrste *M. epiphylloides* sakupljen je sa lokaliteta Glavica, na Fruškoj gori. Makromorfološki podaci odgovarali su podacima iz literature. Uzorak je pohranjen u herbarijumu laboratorije za mikologiju ProFungi PMF-a pod šifrom BUNS12-00740. Mikroskopske karakteristike (Slika 33) analiziranog uzorka (struktura pileipelisa, prisustvo i oblik cistidija, oblik spora) bile su u skladu sa podacima iz literature. Dimenzije spora su bile 11.9 – 12.4 x 3.4 – 4.4 µm, Q = 3.13.





**Slika 33.** Mikroskopske karakteristike *Marasmius epiphylloides*: a) pileipelis; b) heilocistidije; c) PP-pileipelis, CH-heilocistidije, CA-kaulocistidije; d) kaulocistidije; e) spore

### 5.1.7. *Mycetinis alliaceus* (Jacq.) Earle ex A.W. Wilson & Desjardin

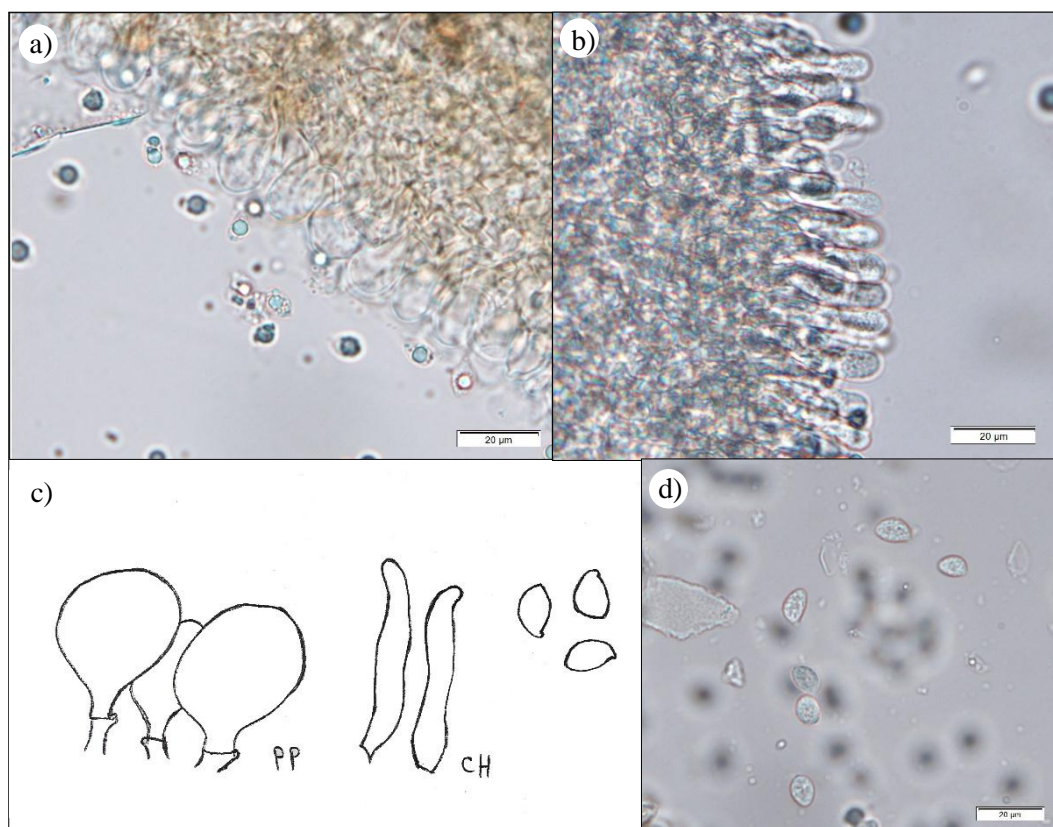
Uzorci vrste *Mycetinis alliaceus* sakupljeni su sa tri lokaliteta – NP Biogradska gora i Vidlič (Stara planina) i NP Kopaonik. S obzirom da je sakupljen relativno veliki broj uzoraka sa svakog lokaliteta podaci o dimenzijama plodonosnih dela su statistički obrađeni (Tabela 17). Kod svih sakupljenih uzoraka makromorfološki podaci odgovarali su podacima iz literature. Uzorak koji je korišćen za analizu mikroskopskih karaktera sakupljen je na lokalitetu Vidlič (Stara planina) i pohranjen je u herbarijumu laboratorije za mikologiju ProFungi PMF-a pod šifrom BUNS12-00742. Mikroskopske karakteristike (Slika 34) analiziranog uzorka (struktura pileipelisa, prisustvo i oblik cistidija, oblik spora) bile su u skladu sa podacima iz literature. Dimenzije spora su bile 8.7 – 11.2 x 5.5 – 8  $\mu\text{m}$ ,  $Q = 1.46$ .

**Tabela 17.** Dimenzije plodonosnih tela vrste *Mycetinis alliaceus* sakupljenih sa lokaliteta Stara planina (ST), NP Biogradska gora (NPBG), i NP Kopaonik (KOP)

ST	prečnik šešira (mm)	dužina drške (mm)	NPBG	prečnik šešira (mm)	dužina drške (mm)	KOP	prečnik šešira (mm)	dužina drške (mm)
<b>207</b>	20	73	<b>177</b>	18	116	<b>249</b>	40	67
<b>208</b>	12	114	<b>178</b>	8	82	<b>250</b>	15	70
<b>209</b>	24	62	<b>179</b>	8	35	<b>256</b>	16	75

## Rezultati i diskusija

<b>210</b>	11	45	<b>180</b>	12	100	<b>257</b>	27	130
<b>211</b>	7	24	<b>181</b>	14	123	<b>258</b>	17	145
<b>212</b>	6	63	<b>182</b>	15	100	<b>259</b>	58	105
<b>213</b>	9	50	<b>183</b>	6	74	<b>260</b>	35	140
<b>214</b>	5	57	<b>184</b>	7	79	<b>261</b>	40	125
<b>215</b>	4	45	<b>185</b>	14	53	<b>262</b>	23	123
<b>216</b>	4	42	<b>186</b>	16	110	<b>263</b>	16	108
<b>223</b>	10	53	<b>187</b>	15	176	<b>264</b>	28	124
<b>224</b>	17	82	<b>188</b>	22	173	<b>265</b>	27	105
<b>225</b>	10	52	<b>189</b>	9	45	<b>266</b>	32	93
<b>226</b>	15	34	<b>190</b>	20	90	<b>267</b>	39	112
<b>227</b>	16	60	<b>191</b>	13	100			
<b>228</b>	14	55	<b>192</b>	30	100			
			<b>193</b>	23	100			
$\sigma$	11.5±5.9	56.9±20.7		14.7±6.4	97.4±37.8		29.5±12.2	108.7±25
min	4	24		6	35		15	67
max	24	114		30	176		58	145



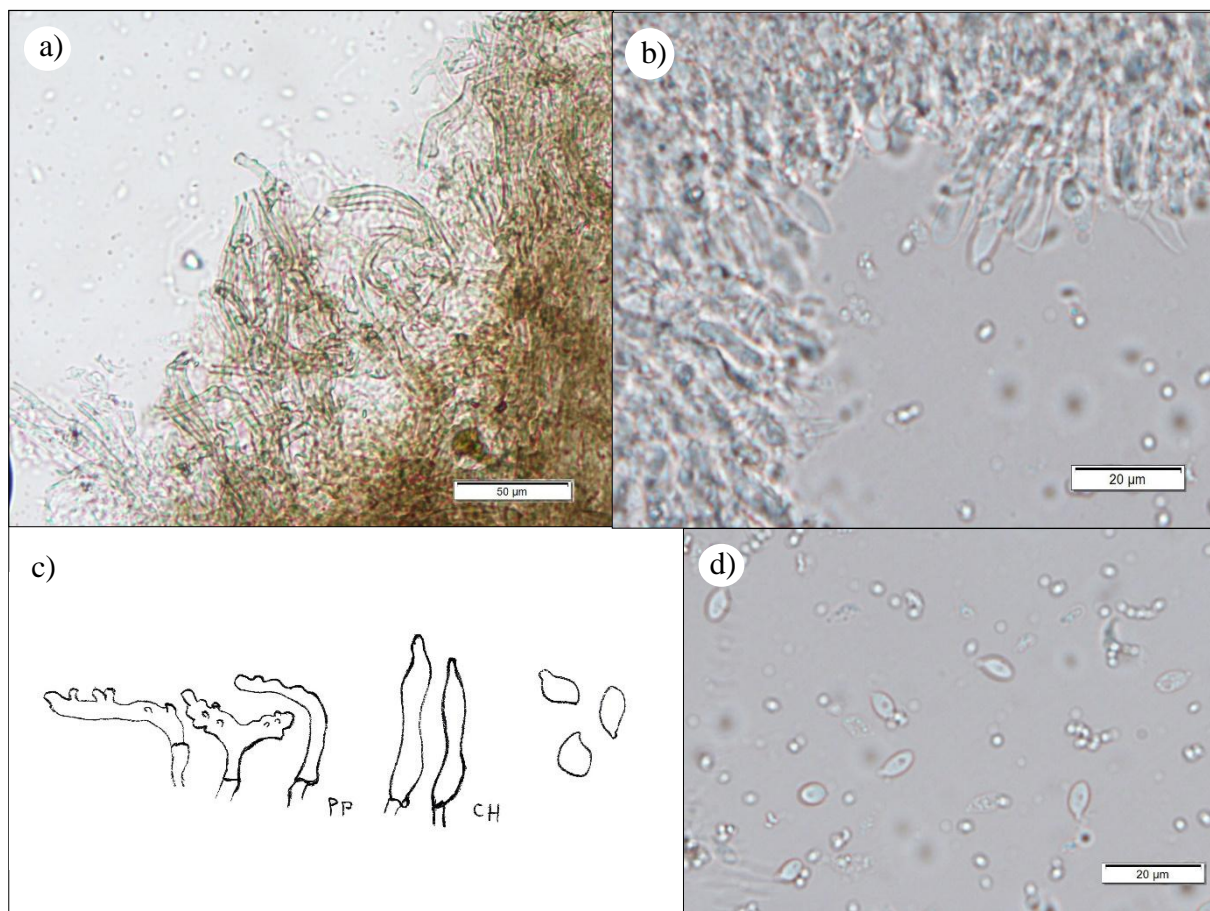
**Slika 34** Mikroskopske karakteristike vrste *Mycetinis alliaceus*; a) pileipelis; b) heilocistidije; c) PP-pileipelis, CH-heilocistidije; d) spore

### 5.1.8. *Gymnopus androsaceus* (L.) Della Maggiora & Trassinelli

Uzorci vrste *G. androsaceus* sakupljeni su sa dva lokaliteta – NP Kopaonik i NP Tara. S obzirom da je sakupljen relativno veliki broj uzoraka sa oba lokaliteta podaci o dimenzijama plodnih dela su statistički obrađeni (Tabela 18). Kod svih sakupljenih uzoraka makromorfološki podaci odgovarali su podacima iz literature. Uzorak koji je korišćen za analizu mikroskopskih karaktera sakupljen je na lokalitetu NP Tara i pohranjen je u herbarijumu laboratorije za mikologiju ProFungi PMF-a pod šifrom BUNS12-00743. Mikroskopske karakteristike (Slika 34) analiziranog uzorka (struktura pileipelisa, prisustvo i oblik cistidija, oblik spora) bile su u skladu sa podacima iz literature. Dimenzije spora su bile  $7.2 - 8.2 \times 3.7 - 5 \mu\text{m}$ ,  $Q = 1.68$ .

**Tabela 18.** Dimenzije plodnosnih tela vrste *G. androsaceus* sakupljenih sa lokaliteta Tara (TARA) i NP Kopaonik (KOP).

TARA	prečnik šešira (mm)	dužina drške (mm)	KOP	prečnik šešira (mm)	dužina drške (mm)
<b>268</b>	4	24	<b>282</b>	4	44
<b>269</b>	2	20	<b>283</b>	5	26
<b>270</b>	5	28	<b>284</b>	4	25
<b>272</b>	3	17	<b>271</b>	3	16
<b>273</b>	2	13	<b>285</b>	5	15
<b>274</b>	3	16	<b>286</b>	4	25
<b>275</b>	3	20	<b>287</b>	4	14
<b>276</b>	2	27	<b>288</b>	9	30
<b>277</b>	3	24	<b>289</b>	8	25
<b>278</b>	2	24	<b>290</b>	5	14
<b>279</b>	3	21	<b>291</b>	8	28
<b>280</b>	3	27	<b>292</b>	4	20
<b>281</b>	5	15	<b>293</b>	4	30
			<b>294</b>	4	32
			<b>295</b>	7	26
			<b>296</b>	4	31
			<b>297</b>	7	25
			<b>298</b>	9	31
			<b>299</b>	6	24
			<b>300</b>	5	27
			<b>301</b>	4	25
$\sigma$	3.1±1	21.2±4.9		5.4±1.9	25.4±7
min	2	13		3	14
max	5	28		9	44



**Slika 34.** Mikroskopske karakteristike *Gymnopus androsaceus* a) pileipelis ; b) heilocistidije; c) PP-pileipelis, CH- heilocistidije; d) spore

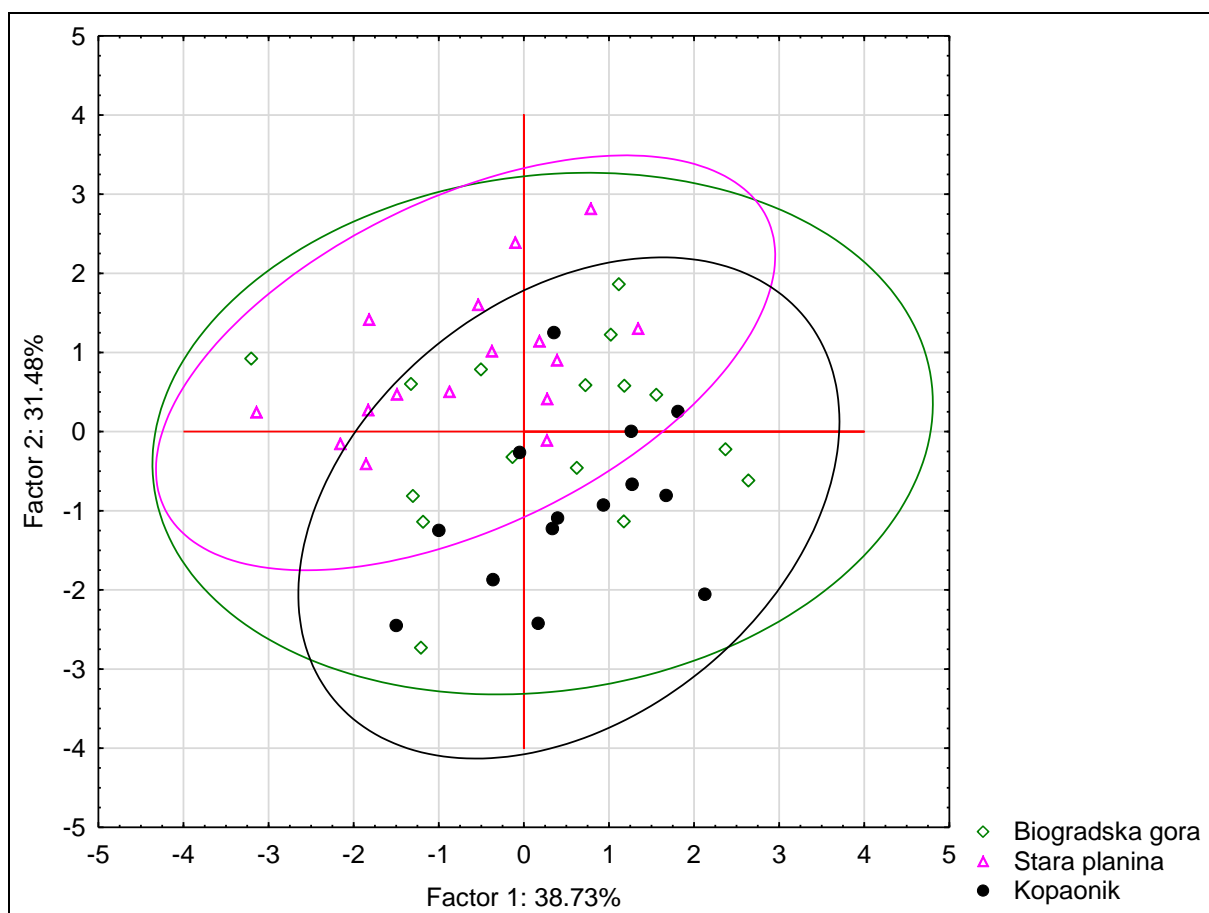


## 5.2. Statistička obrada

Analiza osnovnih komponenti (PCA) kod vrste *M. alliaceus* pokazuje da se ispitivani morfološki karakteri očitavaju na dve ose koje obuhvataju 70.21 % ukupne varijabilnosti. Karakteri koji imaju statistički značajnu varijabilnost na prvoj osi su srednja vrednost širina spora i Q vrednost, dok na drugoj osi statistički značajnu varijabilnost pokazuju karakteri prečnik šešira i dužina drške (Tabela 19).

**Tabela 19.** PCA analiza za pojedinačne karaktere analiziranih populacija vrste *Marasmius alliaceus*

Morfološki karakteri	Factor 1	Factor 2
prečnik šešira (mm)	0.26	<b>-0.74</b>
dužina drške (mm)	0.29	<b>-0.75</b>
srednja vrednost dužina spora ( $\mu\text{m}$ )	-0.16	0.54
srednja vrednost širina spora ( $\mu\text{m}$ )	<b>0.91</b>	0.39
Q vrednost	<b>-0.97</b>	-0.15
Ukupna varijabilnost %	38.73	31.48



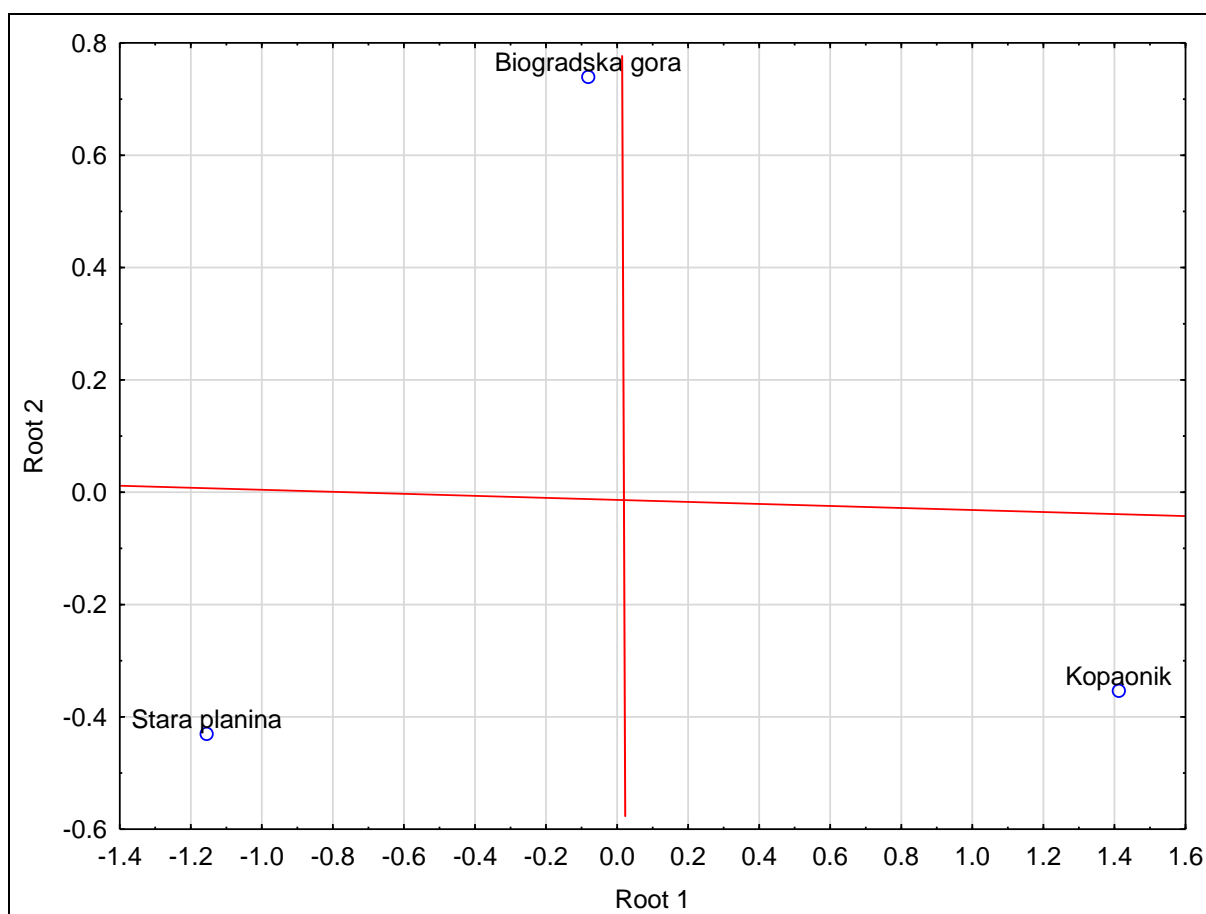
**Slika 35.** Analiza osnovnih komponenti (PCA) analiziranih populacija vrste *Marasmius alliaceus*

PCA analizom je pokazano da dolazi do delimičnog izdvajanja populacije Stara planina u odnosu na ispitivane morfološke karaktere, a kod populacije sa lokaliteta Biogradska gora uočena je najveća heterogenost u ispitivanim karakterima (Slika 35).

Diskriminantnom analizom (Tabela 20) je pokazano da se populacija sa Kopaonika jasno odvajaju od preostale dve populacije na osnovu prečnika šešira (prva osa diskriminacije), dok se populacija sa Biogradske gore odvajaju na osnovu srednje vrednosti dužine spora (druga osa diskriminacije) (Slika 35).

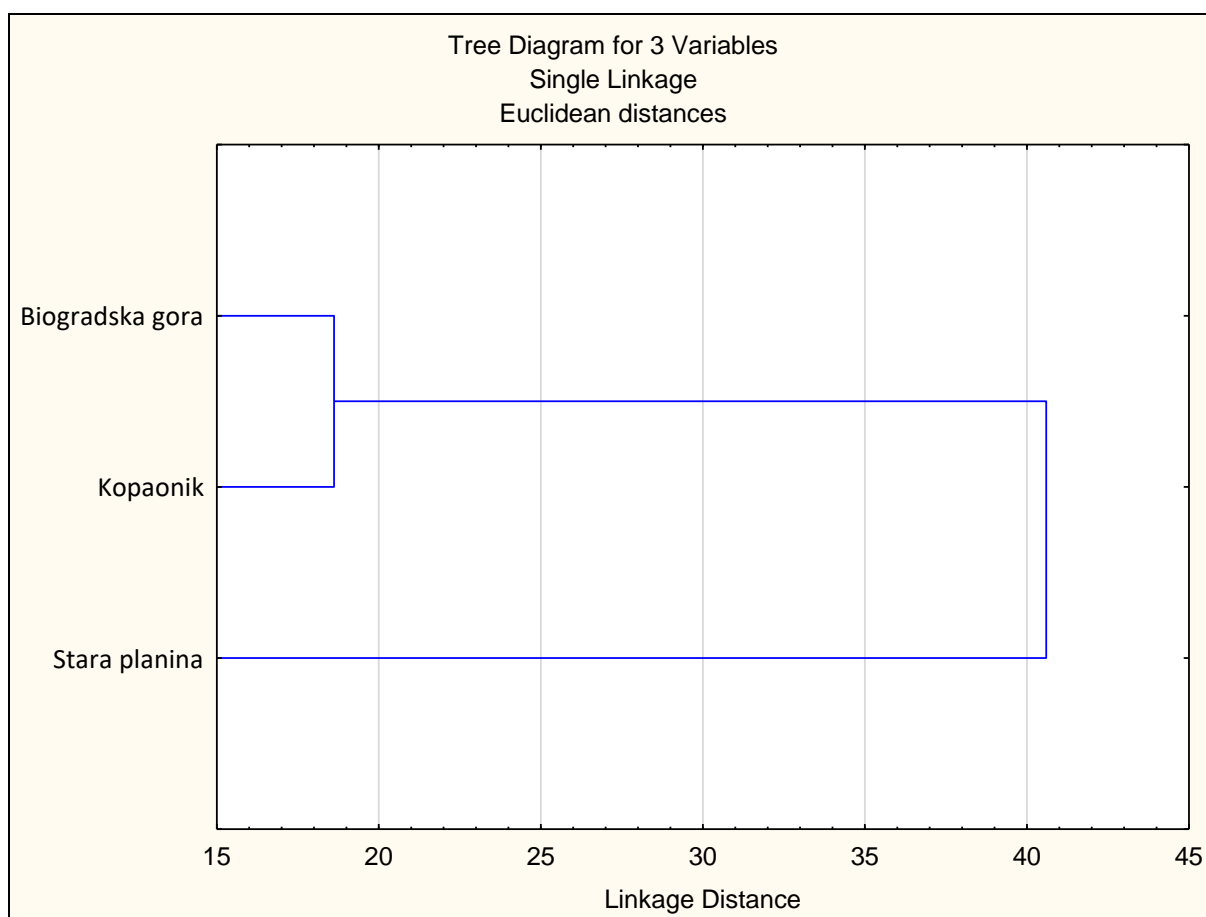
**Tabela 20.** Nivoi opterećenja dve diskriminantne ose

Morfološki karakteri	DA1	DA2
prečnik šešira (mm)	<b>0.72</b>	-0.64
dužina drške (mm)	0.51	0.70
srednja vrednost dužina spora ( $\mu\text{m}$ )	0.02	-1.76
srednja vrednost širina spora ( $\mu\text{m}$ )	-0.11	<b>3.47</b>
Q vrednost	-0.36	3.18
Eigenval	1.15	0.31
Cum.Prop	0.79	1.00



**Slika 36.** Diskriminantna analiza osnovnih komponenti (DCA) populacija *Marasmius alliaceus*

Jasno razdvajanje populacija *M. alliaceus* vidi se na osnovu ukupnih euklidijskih distanci između analiziranih populacija (Slika 37). Po ovoj analizi populacije Kopaonik i Biogradska gora su se grupisale u jedan klaster, dok je populacija Stara planina prikazana kao udaljenija na osnovu ispitivanih makromorfoloških karaktera. Ovi rezultati su delimično u saglasnosti sa rezultatima PCA analize gde je dobijeno da se populacija Stara planina delimično izdvojila u odnosu na populacije Kopaonik i Biogradska gora kod kojih je uočena veća varijabilnost karaktera.



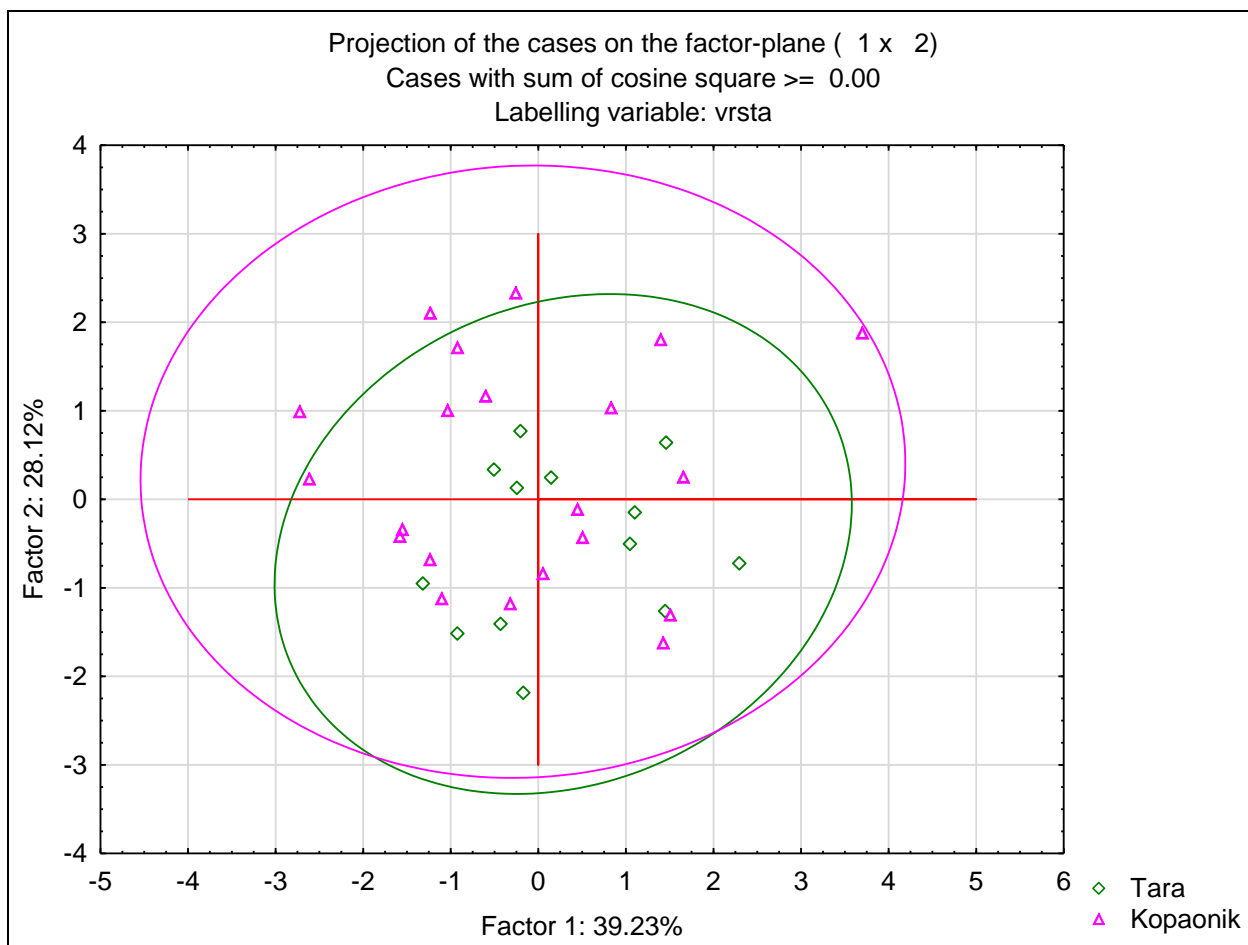
Slika 37. Euklidijske distance između analiziranih populacija *Mycetinis alliaceus*

Analiza osnovnih komponenti (PCA) kod *G. androsaceus* pokazuje da se ispitivani morfološki karakteri očitavaju na tri ose koje obuhvataju 91.2% ukupne varijabilnosti. Karakteri koji imaju statistički značajnu varijabilnost na prvoj osi su srednja vrednost širina spora i Q vrednost, na drugoj osi je to srednja vrednost dužina spora, dok na trećoj osi statistički značajnu varijabilnost pokazuje karakter dužina drške (Tabela 21).

PCA analizom populacija *G. androsaceus* sa dva različita lokaliteta (Tara i Kopaonik) uočeno je da nema jasnog izdvajanja populacija (Slika 39), odnosno ispitivane populacije su pokazale heterogenost u ispitivanim karakterima.

**Tabela 21.** PCA analiza za pojedinačne karaktere analiziranih populacija *Gymnopus androsaceus*

Morfološki karakteri	factor 1	factor 2	factor 3
prečnik šešira (mm)	-0.52	0.63	-0.36
dužina drške (mm)	-0.14	0.09	<b>-0.93</b>
srednja vrednost dužina spora ( $\mu\text{m}$ )	-0.16	<b>0.86</b>	0.39
srednja vrednost širina spora ( $\mu\text{m}$ )	<b>0.86</b>	0.51	-0.02
Q vrednost	<b>-0.96</b>	-0.04	0.24
Ukupna varijabilnost %	39.2	28.1	23.9

**Slika 38.** Analiza osnovnih komponenti (PCA) analiziranih populacija vrste *Gymnopus androsaceus*



## Rezultati i diskusija

**Tabela 22.** Korelacije između merenih morfoloških karaktera i faktora sredine za *Mycetinis alliaceus* i *Gymnopus androsaceus*

	means	Std.Dev.	prečnik šešira (mm)	dužina držke (mm)	dužina spora ( $\mu\text{m}$ )**	širina spora ( $\mu\text{m}$ )**	Q vrednost	STV	RVV	KP	VZ	pH	
<i>M. alliaceus</i>	prečnik šešira (mm)	19.90	12.97	1.00	<b>0.60</b>	0.05	0.09	-0.10	<b>-0.70</b>	<b>0.70</b>	<b>0.70</b>	<b>-0.70</b>	<b>-0.70</b>
	dužina držke(mm)	81.10	34.52	<b>0.60</b>	1.00	-0.03	0.12	-0.14	<b>-0.76</b>	<b>0.76</b>	<b>0.76</b>	<b>-0.76</b>	<b>-0.76</b>
	dužina spora( $\mu\text{m}$ )	10.35	0.66	0.05	-0.03	1.00	0.28	0.22	0.08	-0.08	-0.08	0.08	0.08
	širina spora ( $\mu\text{m}$ )	6.55	0.79	0.09	0.12	0.28	1.00	<b>-0.87</b>	-0.21	0.21	0.21	-0.21	-0.21
	Q vrednost	1.60	0.20	-0.10	-0.14	0.22	<b>-0.87</b>	1.00	0.26	-0.26	-0.26	0.26	0.26
	STV	11.95	2.33	<b>-0.70</b>	<b>-0.76</b>	0.08	-0.21	0.26	1.00	<b>-1.00</b>	<b>-1.00</b>	<b>1.00</b>	<b>1.00</b>
	RVV	85.37	8.02	<b>0.70</b>	<b>0.76</b>	-0.08	0.21	-0.26	<b>-1.00</b>	1.00	<b>1.00</b>	<b>-1.00</b>	<b>-1.00</b>
	KP	62.47	29.33	<b>0.70</b>	<b>0.76</b>	-0.08	0.21	-0.26	<b>-1.00</b>	<b>1.00</b>	1.00	<b>-1.00</b>	<b>-1.00</b>
	VZ	25.48	6.29	<b>-0.70</b>	<b>-0.76</b>	0.08	-0.21	0.26	<b>1.00</b>	<b>-1.00</b>	<b>-1.00</b>	1.00	<b>1.00</b>
pH	5.56	0.92	<b>-0.70</b>	<b>-0.76</b>	0.08	-0.21	0.26	<b>1.00</b>	<b>-1.00</b>	<b>-1.00</b>	<b>1.00</b>	1.00	
<i>G. androsaceus</i>	prečnik šešira (mm)	4.50	1.94	1.00	0.31	<b>0.35</b>	-0.11	0.32	<b>-0.59</b>	<b>-0.59</b>	<b>0.59</b>	<b>-0.59</b>	<b>-0.59</b>
	dužina držke(mm)	23.79	6.56	0.31	1.00	-0.16	-0.05	-0.04	-0.31	-0.31	0.31	-0.31	-0.31
	dužina spora( $\mu\text{m}$ )	7.47	0.34	<b>0.35</b>	-0.16	1.00	0.30	0.26	-0.06	-0.06	0.06	-0.06	-0.06
	širina spora ( $\mu\text{m}$ )	4.55	0.40	-0.11	-0.05	0.30	1.00	<b>-0.84</b>	-0.05	-0.05	0.05	-0.05	-0.05
	Q vrednost	1.65	0.14	0.32	-0.04	0.26	<b>-0.84</b>	1.00	-0.01	-0.01	0.01	-0.01	-0.01
	STV	9.88	0.49	<b>-0.59</b>	-0.31	-0.06	-0.05	-0.01	1.00	<b>1.00</b>	<b>-1.00</b>	<b>1.00</b>	<b>1.00</b>
	RVV	94.56	0.99	<b>-0.59</b>	-0.31	-0.06	-0.05	-0.01	<b>1.00</b>	1.00	<b>-1.00</b>	<b>1.00</b>	<b>1.00</b>
	KP	78.35	19.29	<b>0.59</b>	0.31	0.06	0.05	0.01	<b>-1.00</b>	<b>-1.00</b>	1.00	<b>-1.00</b>	<b>-1.00</b>
	VZ	19.30	0.55	<b>-0.59</b>	-0.31	-0.06	-0.05	-0.01	<b>1.00</b>	<b>1.00</b>	<b>-1.00</b>	1.00	<b>1.00</b>
pH	4.66	0.08	<b>-0.59</b>	-0.31	-0.06	-0.05	-0.01	<b>1.00</b>	<b>1.00</b>	<b>-1.00</b>	<b>1.00</b>	1.00	

STV-srednja temperatura vazduha; RVV – relativna vlažnost vazduha; KP –količina padavina; VZ-vlažnost zemljišta

\*  $p < 0.05$

\*\* u anlizi su korišćene srednje vrednosti dobijene za svaki uzorak

Analiza korelacija između merenih morfoloških karaktera i faktora sredine (STV, RVV, KP, VZ i pH zemljišta) (Tabela 22) pokazala je da kod vrste *M. alliaceus* postoji statistički značajna ( $p < 0.05$ ) pozitivna korelacija između RVV i KP i prečnika i dužine šesira, dok je statistički značajna negativna korelacija uočena između STV, VZ i pH vrednosti. Kod *G. androsaceus* uočena je statistički značajna pozitivna korelacija kod KP i prečnika šesira, dok je kod ostalih faktora (STV, RVV, VZ i pH) uočena statistički značajna negativna korelacija sa prečnikom šesira.

### 5.3. Identifikacija jedinki ISSR metodom

Identifikacija jedinki ISSR metodom urađena je za populacije vrsta čija su plodonosna tela bila prisutna u većem broju (više od 10) na ispitivanim plotovima. Analizirane su populacije tri vrste (*M. alliaceus*, *M. rotula* i *G. androsaceus*) upotrebom različitog broja markera (2 - 6) u zavisnosti od uspešnosti PCR reakcija (Tabela 23). Kod vrste *M. alliaceus* PCR reakcije su bile uspešne kod svih šest prajmera, dok kod vrste *G. androsaceus* amplifikacija DNK nije bila moguća sa prajmerom Mj4. Kod vrste *M. rotula* testirana su samo dva prajmera (GTG)<sub>5</sub> i (GACA)<sub>4</sub> i oba su omogućila umnožavanje DNK kod svih testiranih uzoraka.

**Tabela 23.** Populacije *Mycetinis alliaceus*, *Marasmius rotula* i *Gymnopus androsaceus* za koje je urađena identifikacija jedinki ISSR metodom

Vrste	Populacije	ISSR prajmeri	Šematska mapa
<i>M. alliaceus</i>	Tara	(GTG) <sub>5</sub> , (GACA) <sub>4</sub>	Slika 39, a
	Kopaonik	(GTG) <sub>5</sub> , (GACA) <sub>4</sub> , (GCC) <sub>5</sub> , (AG) <sub>8</sub> T, (Mj4), (AAG) <sub>6</sub>	Slika 39, d
	Stara planina	(GTG) <sub>5</sub> , (GACA) <sub>4</sub> , (GCC) <sub>5</sub> , (AG) <sub>8</sub> T, (Mj4), (AAG) <sub>6</sub>	Slika 39, b
	Biogradska gora	(GTG) <sub>5</sub> , (GACA) <sub>4</sub> , (GCC) <sub>5</sub> , (AG) <sub>8</sub> T, (Mj4), (AAG) <sub>6</sub>	Slika 39, c
<i>M. rotula</i>	Stara planina	(GTG) <sub>5</sub> , (GACA) <sub>4</sub>	Slika 40, a
	Biogradska gora	(GTG) <sub>5</sub> , (GACA) <sub>4</sub>	Slika 40, b
<i>G. androsaceus</i>	Kopaonik	(GTG) <sub>5</sub> , (GACA) <sub>4</sub> , (GCC) <sub>5</sub> , (AG) <sub>8</sub> T, (AAG) <sub>6</sub>	Slika 42
	Tara (2015)	(GTG) <sub>5</sub> , (GACA) <sub>4</sub> , (GCC) <sub>5</sub> , (AG) <sub>8</sub> T, (AAG) <sub>6</sub>	Slika 41, a
	Tara (2016)	(GTG) <sub>5</sub> , (GACA) <sub>4</sub> , (GCC) <sub>5</sub> , (AG) <sub>8</sub> T, (AAG) <sub>6</sub>	Slika 41, b

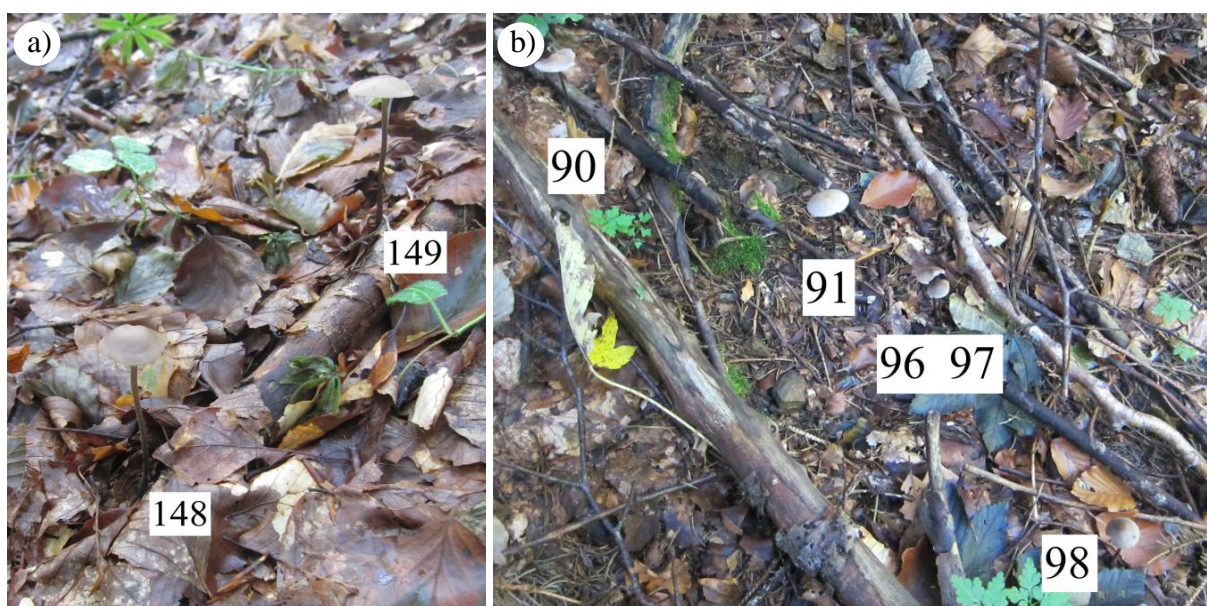
#### 5.3.1. Populacije vrste *Mycetinis alliaceus*

Određivanje broja i veličine geneta ISSR metodom rađeno je u četiri populacije vrste *M. alliaceus* čija su plodonosna tela sakupljena sa različitih lokaliteta: Tara, Kopaonik, Stara planina, Biogradska gora. Za tu svrhu analizirani su ISSR profili (Prilog 2-6) dobijeni amplifikacijom sa šest prajmera ((GTG)<sub>5</sub>, (GACA)<sub>4</sub>, (GCC)<sub>5</sub>, (AG)<sub>8</sub>T, (Mj4), (AAG)<sub>6</sub>), osim u populaciji Tara gde su korišćena samo dva prajmera ((GTG)<sub>5</sub> i (GACA)<sub>4</sub>).

U populaciji Tara, analizirano je 13 plodonosnih tela sakupljenih sa površine oko 2500 m<sup>2</sup> (Slika 41a) i kod svakog od sakupljenih sporokarpa uočen je jedinstven ISSR profil za oba prajmera korišćena u analizi (Prilog 2h, i).

U populaciji Stara planina analizirano je ukupno 10 plodonosnih tela sakupljenih sa površine oko 2500 m<sup>2</sup> (Slika 40b). Upotrebom šest različitih ISSR prajmera svako plodno telo je pokazalo jedinstven profil (Prilog 5 i 6).

Na lokalitetu Biogradska gora sakupljeno je 16 plodonosnih tela sa površine oko 100 m<sup>2</sup>. Svako od sakupljenih plodonosnih tela je pokazalo jedinstven ISSR profil nakon amplifikacije DNK sa šest prajmera (Prilog 3 i 4).

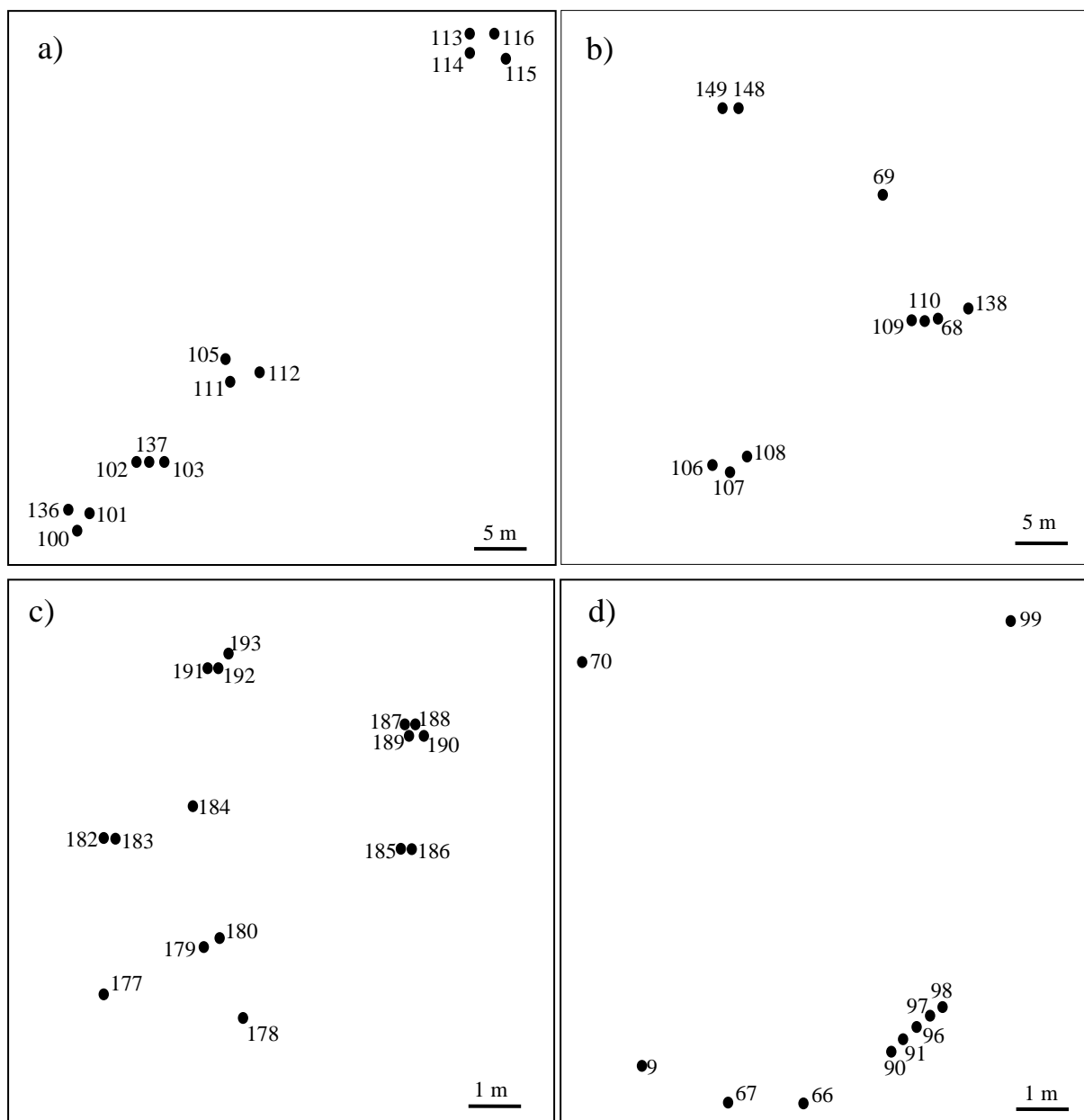


**Slika 39.** Plodonosna tela *Marasmius alliaceus* na ispitivanim plotovima. a) uzorci 148 i 149 sakupljeni sa istog supstrata (mrtva grana) na lokalitetu Stara planina; b) deo uzoraka *Mycetinis alliaceus* sa lokaliteta Kopaonik

Na lokalitetu Kopaonik sakupljeno je 10 plodonosnih tela koja su analizirana ISSR metodom upotrebom 6 različitih prajmera i svako od sakupljenih plodonosnih tela je pokazalo jedinstven ISSR profil.

Svi ispitivani uzorci sa svih lokaliteta pokazali su jedinstvene ISSR profile, odnosno svako plodonosno telo pripada posebnom genetu. Iako nije moguće proceniti veličinu geneta s obzirom da su svi predstavljeni sa samo jednim plodnim telom, može se pretpostaviti da su detektovani geneti relativno mali jer su se svi nalazili na relativno maloj površini (oko 100 m<sup>2</sup>), međusobno veoma blizu (5-30 cm Slika 40b), a neki i na istim pojedinačnim supstratima (na istim gnačicama, Slika 39a). Prema našem saznanju, do sada nisu objavljeni podaci o prostornoj distribuciji i veličini geneta vrste *M. alliaceus*.

Međutim, za ektomikorizne vrste *Suillus bovinus* i *S. variegatus*, utvrđeno je da su na mestima koja su izložena velikim promenama (npr. seča šuma) njihovi geneti mali i veoma gusti (Dahlberg i Stenlid, 1990, 1994; Dahlberg, 1997).



**Slika 40.** Šematske mape plodonosnih tela vrste *Mycetinis alliaceus* sakupljenih sa sledećih lokaliteta: a) Tara; b) Stara planina; c) Biogradska gora; d) Kopaonik

Lokaliteti sa kojih su uzorkovana analizirana plodonosna tela *M. alliaceus* pripadaju zoni Nacionalnih Parkova i Parkova prirode, u kojima se takve aktivnosti koje bi mogle uticati na miceliju ne sprovode. Moguće je da su sve analizirane populacije bile mlade, sa genetima koji su se nedavno razvili iz bazidiospora. Takođe, *M. alliaceus* pripada vrstama

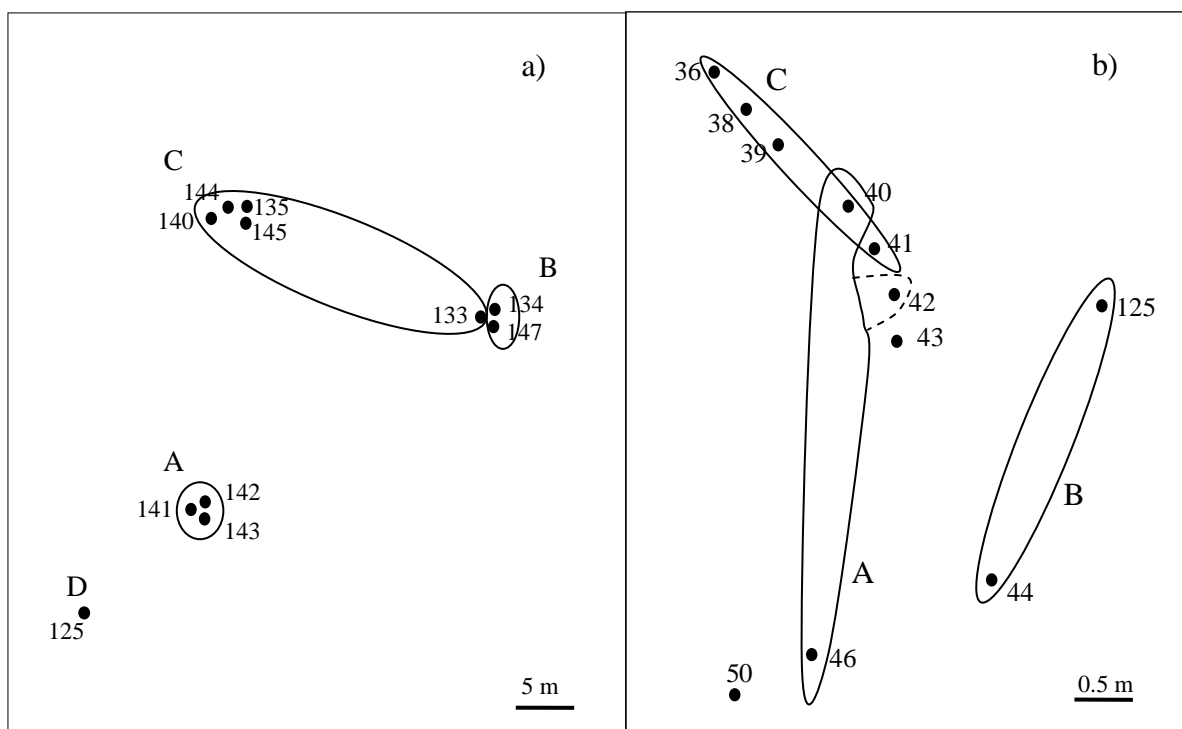
koje ne produkuju rizomorfe niti druge diferencijacije hifa koje bi im omogućile rasprostranjenje na veće udaljenosti (Antonín i Noordeloos, 2010).

### 5.3.2. Populacije vrste *Marasmius rotula*

Kod *M. rotula* određivanje broja i veličine geneta ISSR metodom rađeno je u dve populacije (Stara planina, Biogradska gora) analizirajući ISSR profile (Prilog 10) dobijene amplifikacijom sa dva prajmera - (GTG)<sub>5</sub> i (GACA)<sub>4</sub>.

Sa lokaliteta Stara planina sakupljeno je 11 plodonosnih tela sa površine oko 2500 m<sup>2</sup> i analizirano ISSR metodom, upotrebom dva prajmera (GTG)<sub>5</sub> i (GACA)<sub>4</sub>. Određen broj analiziranih plodonosnih tela je pokazao identične ISSR profile pa se može pretpostaviti da pripadaju istom genet. Na osnovu identičnih ISSR profila jedanaest analiziranih plodonosnih tela grupisano je u 4 geneta (Tabela 25) – genet A (3 sporokarpa), genet B (2 sporokarpa), genet C (5 sporokarpa) i genet D (1 sporokarp). Grupisanje je bilo identično kod oba prajmera korišćenih u analizi.

Određeni su približni prečnici geneta (Slika 41a) na osnovu međusobnih udaljenosti analiziranih plodonosnih tela. Genet A je predstavljen sa 3 sporokarpa koji se nalaze u relativnoj blizini sa najdužim rastojanjem između njih 2 m, tako da je prečnik ovog geneta najmanje 2 m. Genet B je predstavljen sa 2 sporokarpa pronađena 2 m jedan od drugog tako da je prečnik ovog geneta najmanje 2 m. Genet C je imao prečnik od 15 m i bio je predstavljen sa 5 sporokarpa s tim da je jedno plodno telo koje pripada ovom genet. bilo veoma blizu (oko 20 cm) grupi plodonosnih tela koja pripadaju genet. B, međutim pokazalo je iste ISSR profile kao i ostala plodonosna tela koja pripadaju genet. C. Prečnik geneta D nije bilo moguće proceniti jer je predstavljen samo jednim sporokarpom.



**Slika 41.** Šematske mape plodonosnih tela *Marasmius rotula* sakupljenih sa sledećih lokaliteta: a) Stara planina - Tačke u skupovima predstavljaju plodonosna tela koja pripadaju istim genetima (oznake genetima A-D); b) Biogradska gora - Tačke u skupovima predstavljaju plodonosna tela koja pripadaju istim genetima (A, B i C)

**Tabela 24.** Grupisanje uzoraka plodonosnih tela *Marasmius rotula* sa lokaliteta Biogradska gora

(GTG) <sub>5</sub>	(GACA) <sub>4</sub>	genet
50	50	50
46	46	A
40	40	
	42	
44	44	B
125	125	
41	41	C
39	39	
38	38	
36	36	
43	43	43
42	42	42

**Tabela 25.** Grupisanje uzoraka plodonosnih tela *Marasmius rotula* sa lokaliteta Stara planina

(GTG) <sub>5</sub>	(GACA) <sub>4</sub>	genet
125	125	D
141	141	A
142	142	
143	143	
133	133	C
135	135	
140	140	
144	144	B
145	145	
134	134	
147	147	

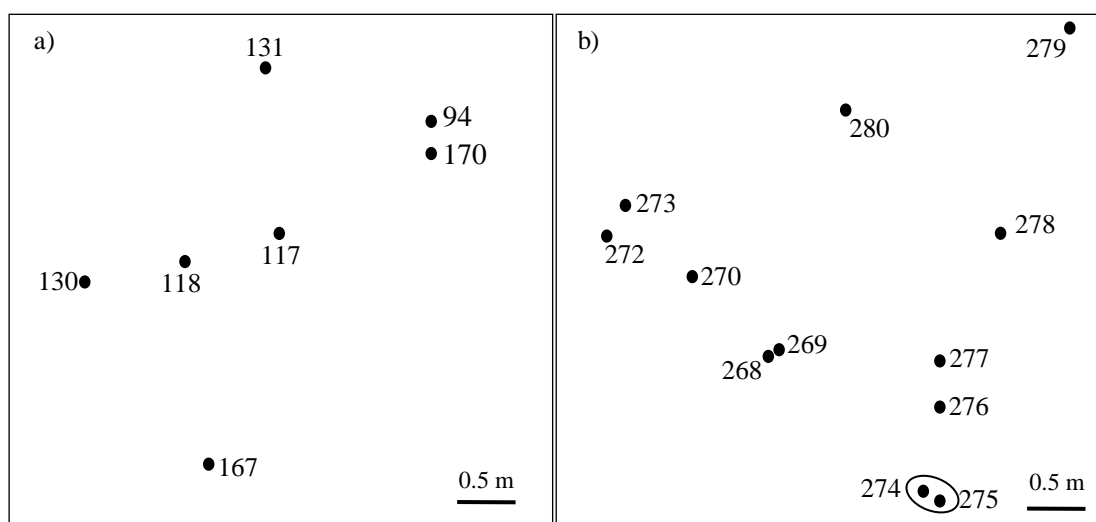
Na lokalitetu Biogradska gora prikupljeno je 12 sporokarpa *M. rotula* sa površine oko 25 m<sup>2</sup> (Slika 41b) koji su na osnovu ISSR profila (Prilog 10) dobijenih amlifikacijom prajmerima (GTG)<sub>5</sub> i (GACA)<sub>4</sub> grupisani u 6 geneta (Tabela 24). Grupisanje je bilo identično kod oba prajmera korišćenih u analizi, osim za uzorak 42 koji se na osnovu prajmera (GTG)<sub>5</sub> izdvaja kao poseban genet, dok se na osnovu prajmera (GACA)<sub>4</sub> grupiše sa uzorcima 40 i 46 i čini genet A. Na osnovu međusobnih udaljenosti plodonosnih tela na ispitivanom lokalitetu, utvrđeno je da je genet A (koji se sastojao od 2 ili 3 sporokarpa) prečnika najmanje 4 m. Genet B se sastojao od 2 sporokarpa koji su bili 3 m udaljeni jedan od drugog. Genet C je bio predstavljen sa 4 sporokarpa, koji su svi pronađeni na površini prečnika 2 m. Ovaj genet se delimično preklapao sa genetom A (Slika 41b). Preostala 4 geneta detektovana na ovom lokalitetu su predstavljena jednim sporokarpom pa nije bilo moguće proceniti njihove veličine. Kod ove populacije primećeno je da rast određenog geneta nije nužno sprečen drugim genetom, s obzirom da je kod geneta A i C uočeno delimično preklapanje. Holmer i Stenlid (1991) primetili su sličan fenomen sa genetima vrste *Gymnopus androsaceus* (sinonim *Marasmius androsaceus*). Iako se pri gajenju u laboratorijskim uslovima na čvrstoj hranjivoj podlozi različiti geneti iste vrste ne preklapaju, na prirodnom staništu geneti mogu rasti u različitim slojevima šumske stelje (Osono, 2007). Prema tome, njihove micelije ne dolaze u kontakt i omogućeno im je koegzistiranje na istom prostoru i formiranje plodonosnih tela u relativnoj blizini, na razdaljini od nekoliko do nekoliko desetina centimetara (Osono, 2007).

Kod obe populacije *M. rotula* plodonosna tela za koje je utvrđeno da pripadaju istim genetima su plodonosila na različitim jedinicama supstrata (na posebnim grančicama drveća). Drugačije rečeno, geneti *M. rotula* nisu ograničeni na pojedinačne supstrate već se mogu širiti i na druge slične supstrate koji se nalaze u relativnoj blizini. Iako neke studije podržavaju hipotezu “jedno deblo-jedan genet” (“one-log-one-genet”) (Huss, 1993; Keirle i sar., 2014), rezultati dobijeni u ovom radu pokazuju da se isti princip ne može primeniti na supstrate drveta manjih dimenzija (grančice, kora) ili makar za genete *M. rotula*. S obzirom da ova vrsta poseduje rizomorfe, njena mogućnost rasprostranjenja na različite supstrate nije neočekivana.

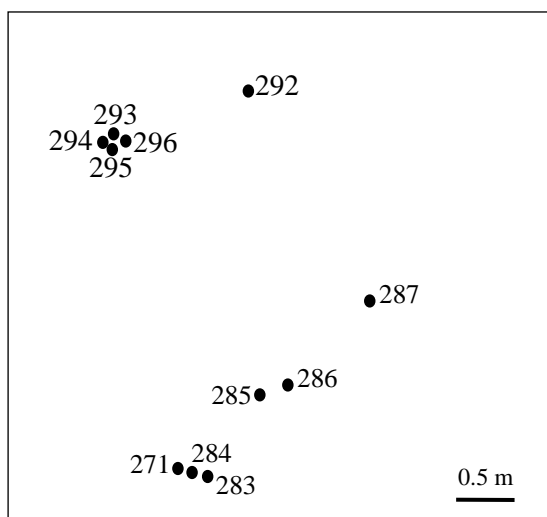


### 5.3.3. Populacije vrste *Gymnopus androsaceus*

Određivanje brojnosti i veličine geneta kod *G. androsaceus* rađeno je kod uzoraka sakupljenih sa dva lokaliteta – Kopaonik i Tara, s tim da je na lokalitetu Tara uzorkovanje izvršeno 2015. i 2016. godine i ove grupe uzoraka su analizirane posebno. Sva plodonosna tela su plodonosila pojedinačno na supstratu (iglice četinara). Kod obe populacije (Kopaonik i Tara) analiza je urađena ISSR metodom upotrebom 5 prajmera: (GTG)<sub>5</sub>, (GACA)<sub>4</sub>, (GCC)<sub>5</sub>, (AG)<sub>8</sub>T i (AAG)<sub>6</sub>



**Slika 42.** Šematski prikaz analiziranih plodonosnih tela *Gymnopus androsaceus* sa lokaliteta Tara: a) uzorci sakupljeni 2015 godine; b) uzorci sakupljeni 2016 godine



**Slika 43.** Šematski prikaz analiziranih plodonosnih tela *Gymnopus androsaceus* sa lokaliteta Kopaonik

Od uzoraka sakupljenih 2015 godine sa lokaliteta Tara analizirano je 7 sporokarpa koji su sakupljeni sa površine oko 25 m<sup>2</sup> (Slika 42a). Svako od analiziranih plodonosnih tela je pokazalo jedinstven ISSR profil (Prilog 8 i 9) pa se može pretpostaviti da svaki uzorak predstavlja poseban genotip i prema tome nije moguće proceniti veličinu detektovanih geneta. Sa istog lokaliteta 2016. godine uzorkovano je 11 plodonosnih tela kod kojih je takođe uočeno da formiraju jedinstvene ISSR profile osim kod uzoraka 274 i 275 kod kojih su nakon amplifikacije sa svih 5 korišćenih prajmera

dobijeni identični DNK fragmenti (Prilog 8 i 9). Ovi sporokapi su pronađeni na razraljini od 5 cm tako da se može pretpostaviti da je prečnik ovog geneta bar 5 cm.

Sa lokaliteta Kopaonik analizirano je 11 plodonosnih tela sakupljenih sa površine oko 25 m<sup>2</sup> (Slika 43). Nakon analize ISSR metodom sva plodonosna tela su pokazala jedinstvene DNK trake kod svih korišćenih prajmera (Prilog 8), pa se može pretpostaviti da svako plodonosno telo predstavlja poseban genet i prema tome nije moguće proceniti njihovu veličinu.

Pošto su sva plodonosna tela pronađena u neposrednoj blizini i na relativno maloj površini (25 m<sup>2</sup>) može se zaključiti da svi detektovani geneti imaju relativno male prečnike, do nekoliko desetina centimetara. Ovi rezultati su u suprotnosti sa nalazima Holmera i Stenlida (1991) koji su proučavajući populacije *G. androsaceus* detektovali nekoliko velikih geneta, sa brojnim sporokarpima (10-30) i nekoliko manjih koji su bili predstavljeni sa jednim ili nekoliko plodonosnih tela (2-4) na svakom od četiri istraživanih lokaliteta. Ovi lokaliteti su bili slični po veličini sa lokalitetima ispitivanim u ovom radu. Postoji mogućnost da je populacija ispitana u ovom radu mlada i nedavno nastala, pa su detektovani geneti relativno mali. Druga mogućnost je da je neslaganje rezultata posledica upotrebe različitih metoda detekcije geneta. Ukoliko su Holmer i Stenlid (1991) istraživali inbred populacije moguće je da nisu dobili precizne rezultate s obzirom da su za detektovanje geneta koristili SI testiranje za koje je utvrđeno da nije adekvatno za razdvajanje srodnih geneta (Jacobson i sar., 1993, Guillaumin i sar., 1996).

## 5.4. Parametri genetičke varijabilnosti

U ovom istraživanju izvršeno je izračunavanje parametara molekularnog diverziteta za tri populacije (Kopaonik, Stara planina i Biogradska gora) *Mycetinis alliaceus* i dve populacije (Tara i Kopaonik) *Gymnopus androsaceus* upotrebom šest, odnosno pet ISSR markera.

### 5.4.1. *Mycetinis alliaceus*

Tri populacije vrste *M. alliaceus* (ukupno 48 uzoraka) analizirano je ISSR metodom koristeći 6 prajmera i dobijen je ukupno 161 lokus od čega je 112 bio polimorfan u populaciji Stara planina, 101 u populaciji Biogradska gora i 58 u populaciji Kopaonik. Ukupan broj fragmenata po prajmeru je varirao od 17 do 32 a njihova veličina kretala se od 310 do 6000 bp (Tabela 26).

**Tabela 26.** ISSR fragmenti dobijeni analizom populacija *Mycetinis alliaceus*

prajmer	Broj fragmenata	Veličina fragmenata (bp)
GTG5	30	720-3000
GACA4	25	390-5000
AG8T	32	310-2250
GCC5	30	500-5000
AAG6	17	720-2250
Mj4	27	630-6000

AMOVA analizom je utvrđena visoka varijabilnost unutar populacija (68,09%) dok je varijabilnost između populacija bila 31,91% (Tabela 27). Dobijeni podaci su statistički značajni ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 27.** Analiza molekularne varijanse (AMOVA) za populacije vrste *Mycetinis alliaceus*

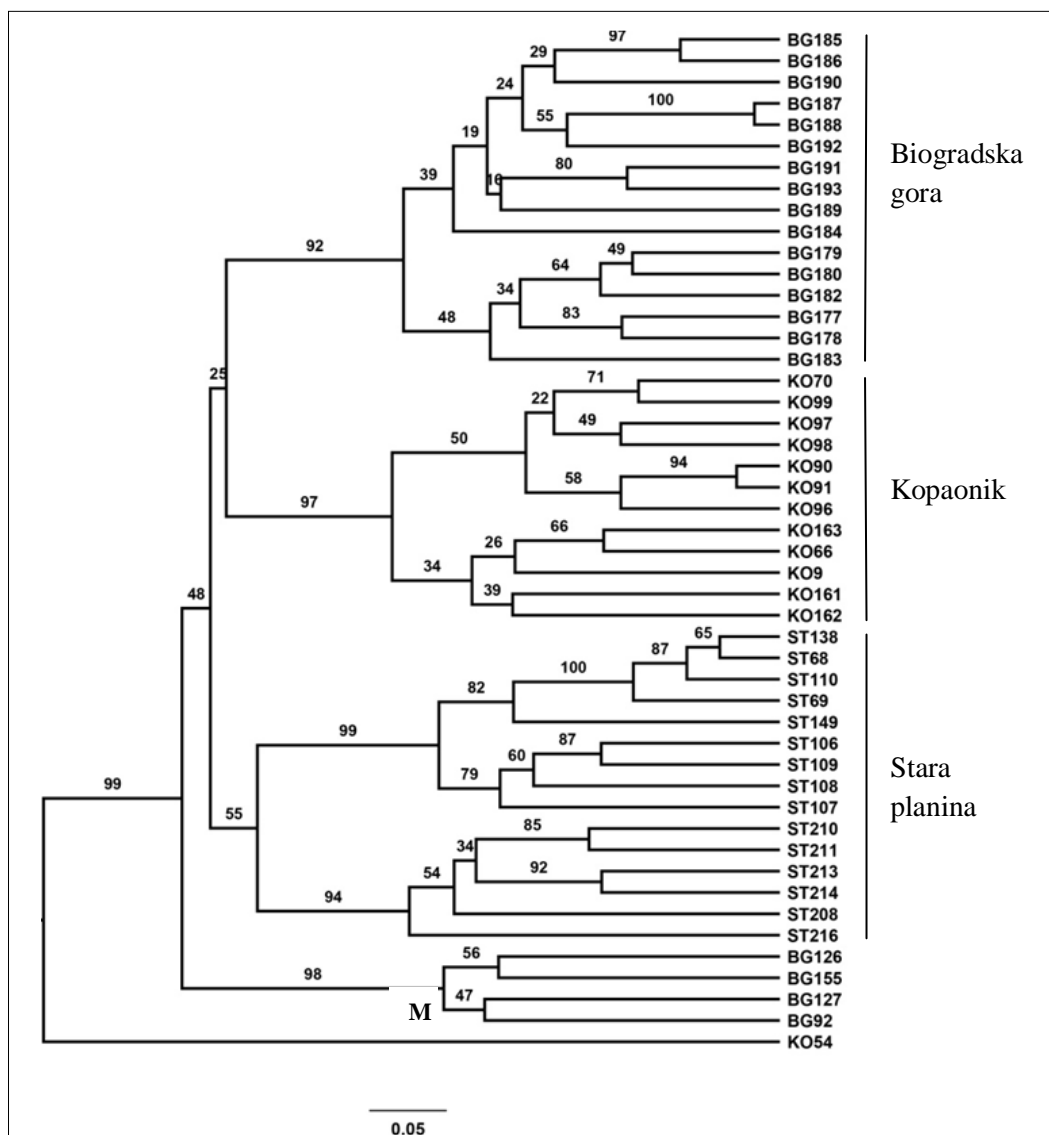
Izvor varijacije	Stepen slobode	Suma kvadrata	Komponente varijanse	Procenat varijacije (%)
Između populacija	2	267,82	7,50	31,91*
Unutar populacija	45	719,80	15,99	68,09*

\* $p < 0,05$

Vrednosti indeksa fiksacije ( $F_{st}$ ) između populacija *M. alliaceus* bile su od 0,31 do 0,32 što ukazuje da su ispitivane populacije značajno diferencirane. Sve vrednosti su bile statistički značajne ( $p < 0.05$ ) (Tabela 28).

**Tabela 28.** Vrednosti indeksa fiksacije (Fst) između populacija vrste *Mycetinis alliaceus*

	Biogradska gora	Stara planina	Kopaonik
Biogradska gora		+	+
Stara planina	0,31		+
Kopaonik	0,32	0,32	

+ nivo značajnosti  $p < 0,05$ **Slika 44.** UPGMA dendrogram populacija sa Biogradske gore (BG), Kopaonika (KO) i Stare planine (ST) vrste *Mycetinis alliaceus* konstruisan na osnovu Nei i Li koeficijenta genetičke distance. Brojevi predstavljaju bootstrap vrednosti (%) izračunate nakon 1000 ponavljanja.

UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) klaster analizom na osnovu Nei i Li koeficijenta genetičke distance dobijeno je stablo sa tri velike grane koje predstavljaju tri analizirane populacije, ukazujući da su analizirane populacije genetički diferencirane (Slika 44). Četiri uzorka (BG126, BG155, BG127 i BG92) iz populacije

Biogradska gora su se izdvojila i čine poseban klaster (M) dok se jedan uzorak (KO54) iz populacije Kopaonik izdvojio u posebnu granu. Uzorci koji su se grupisali u klaster M su uzorkovani u avgustu 2015. godine dok su preostali uzorci sa ovog lokaliteta (grupisani u klaster Biogradska gora) sakupljeni u septembru 2016. godine.

#### 5.4.2. *Gymnopus androsaceus*

ISSR analizom dve populacije (ukupno 28 jedinki) *G. androsaceus* upotrebom 5 različitih prajmera dobijeno je ukupno 123 lokusa od čega je broj polimorfnihi lokusa u populaciji Tara bio 103, a u populaciji Kopaonik 50. Ukupan broj fragmenata po prajmeru je varirao od 19 do 27, a njihova veličina kretala se od 300 do 8000 bp. (Tabela 29).

**Tabela 29.** ISSR fragmenti dobijeni analizom populacija *Gymnopus androsaceus*

prajmer	Broj fragmenata	Veličina fragmenata (bp)
GTG5	25	375-8000
GACA4	25	300-2500
AG8T	27	355-2500
GCC5	27	400-2500
AAG6	19	535-2500

AMOVA analizom je utvrđena visoka varijabilnost unutar populacija (71,99%) dok je varijabilnost između populacija bila 28,01% (Tabela 30). Dobijeni podaci su statistički značajni ( $p < 0.05$ ).

**Tabela 30.** Analiza molekularne varijanse (AMOVA) za populacije *Gymnopus androsaceus*

Izvor varijacije	Stepen slobode	Suma kvadrata	Komponente varijanse	Procenat varijacije (%)
Između populacija	1	86,80	5,45	28,01*
Unutar populacija	26	364,20	14,01	71,99*

\* $p < 0.05$

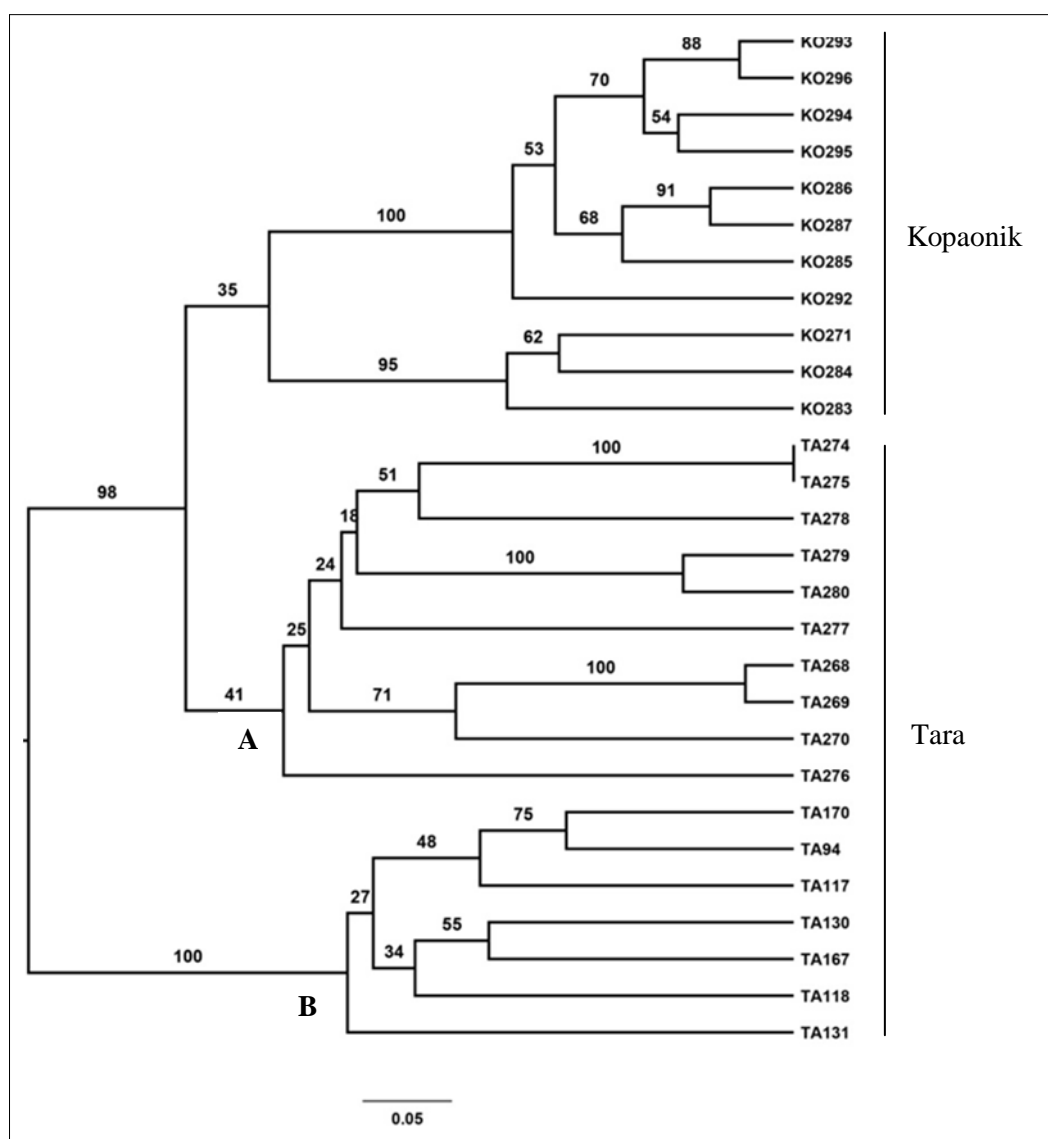
Vrednost indeksa fiksacije ( $F_{st}$ ) između populacija vrste *G. androsaceus* bila je 0,28 što ukazuje da su ispitivane populacije značajno diferencirane (Tabela 31). Dobijena vrednost je statistički značajna ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 31.** Vrednosti indeksa fiksacije ( $F_{st}$ ) između populacija vrste *G. androsaceus*

	Tara	Kopaonik
Tara		+
Kopaonik	0,28	

+ nivo značajnosti  $p < 0,05$

UPGMA klaster analizom na osnovu Nei i Li koeficijenta genetičke distance dobijeno je stablo u kojem su se svi uzorci grupisali u tri velike klade (Slika 45). Prva jasno izdvojena grana predstavlja uzorke sakupljene sa lokaliteta Kopaonik (svi sakupljeni u septembru 2016) dok su se u druga dva klastera (A i B) grupisali uzorci sakupljeni sa lokaliteta Tara. U klasteru A, koji je genetički bliži populaciji Kopaonik, grupisani su uzorci sa lokaliteta Tara koji su sakupljeni u septembru 2016. godine, dok klaster B predstavljaju uzorci sakupljeni u septembru 2015. godine.



**Slika 45.** UPGMA dendrogram populacija sa Kopaonika (KO) i Tare (TA) *Gymnopus androsaceus* konstruisan na osnovu Nei i Li koeficijenta genetičke distance. Brojevi predstavljaju bootstrap vrednosti (%) izračunate nakon 1000 ponavljanja.

Kod obe ispitivane vrste, AMOVA analizom binarnih matrica pokazano je da je najveći deo varijabilnosti predstavlja varijabilnost unutar populacija koje je kod *M. alliaceus* iznosila 68,09%, a kod *G. androsaceus* 77,99%. Varijabilnost između populacija iznosila je 31,91% i 28,01% kod *M. alliaceus* i *G. androsaceus* respektivno. Slični podaci su dobijeni i kod vrsta *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis* (Zhao i sar. 2013) i *Armillaria luteo-virens* (Xing i sar. 2014) kod kojih je varijabilnost unutar populacija iznosila 78,2% i 77,23%, a varijabilnost između populacija 21,8% i 22,77% respektivno. U oba istraživanja analizirano je po nekoliko populacija koje su geografski bile relativno udaljene (oko 50 – 500 km), kao i populacije koje su ispitivane u ovom radu.

Vrednosti indeksa fiksacije ( $F_{st}$ ) za populacije vrsta ispitivane u ovom radu bile su 0,31 do 0,32 za vrstu *M. alliaceus* i 0,28 kod vrste *G. androsaceus* ukazujući na značajnu genetičku diferenciranost ispitivanih populacija. Diferenciranost ispitivanih populacija se može uočiti i sa UPGMA dendrograma na kojima su se populacije jasno grupisale na osnovu njihovog geografskog porekla. Takođe, kod vrste *M. alliaceus* uočeno je da je grupisanje populacija na UPGMA dendrogramu u saglasnosti sa grupisanjem koje je dobijeno po Euklidijskim distancama, odnosno na osnovu merenih morfoloških karakteristika (Slika 37). Kod obe analize uočeno je da su populacije sa Kopaonika i Biogradske gore bliže u odnosu na populaciju sa Stare planine koja se jasno izdvaja u poseban klaster. S obzirom da u analizi korelacija između merenih morfoloških karaktera i klimatskih faktora na ispitivanim lokalitetima nisu utvrđene statistički značajne ( $p < 0,05$ ) korelacije za većinu morfoloških karaktera, osim kod prečnika i dužine šešira (*M. alliaceus*) i prečnika šešira (*G. androsaceus*), a grupisanje populacija na UPGMA i Euklidijsvom dendrogramu su u saglasnosti (Slike 37 i 44), može se pretpostaviti da je varijabilnost morfoloških karaktera kod ispitivanih populacija vrste *M. alliaceus* pre svega genetički determinisana.

Međutim, na UPGMA dendrogramima kod obe ispitivane vrste uočeno je grupisanje uzoraka koji su sakupljeni iste sezone (klasteri A i B kod *M. alliaceus* i klaster M kod *G. androsaceus*, slike 44 i 45). Navedeni podaci ukazuju da su proučavane vrste kratkoživeće vrste koje kolonizuju relativno malu količinu supstrata i sporulišu godišnje, obično formirajući efemerna plodonosna tela (Worrall, 1999). Ovo je u saglasnosti i sa podacima dobijenim u analizi distribucije i veličine geneta dobijenih u ovom radu gde *M. alliaceus* i *G. androsaceus* formiraju male genete, prečnika do nekoliko desetina centimetara. Generalno je prihvaćeno da kod većine bazidiomikota samo mala količina bazidiospora raseje uz pomoć vetra ili životinja na velike udaljenosti, većina padne na podlogu u neposrednoj blizini plodonosnog tela (Stenlid, 2008). Drugim rečima, protok gena između udaljenih populacija je

relativno mali, što je potvrđeno i rezultatima dobijenim u ovom radu (Tabele 28 i 31). Međutim, kod nekih vrsta kao što su *Trichaptum abietinum* ( $F_{st}=0,03$ ) i *Armillaria cepistipes* ( $F_{st}=0,02 - 0,04$ ) utvrđeno je da ne dolazi do diferencijacija populacija uprkos velikim geografskim udaljenostima između njih (Kauserud i Shumacher, 2003; Heinzelmann i sar., 2012) pa se može pretpostaviti da neke vrste makrogljiva ipak imaju mogućnost rasprostiranja spora na velike udaljnosti ili je uniformnost njihovih populacija uzrokovana nekim drugim faktorima koje tek treba istražiti.

### 5.5. Filogenetski odnosi između ispitivanih vrsta

U ovom istraživanju generisano je 40 novih sekvenci od toga 16 sekvenci ITS regiona, 13 sekvenci LSU regiona i 11 EF-1 $\alpha$  sekvenci koje su dobijene iz 6 vrsta makromiceta. Dužina ITS sekvenci je bila od 643 bp (*M. torquescens*) do 718 bp (*M. epiphyllodes*). LSU sekvence su bile od 1043 pb (*M. epiphyllodes*) do 1342 bp (*M. torquescens*), dok su sekvence EF-1 $\alpha$  regiona varirale od 734 (*M. torquescens*) do 933 (*M. oreades*) baznih parova..

ML filogenetskom analizom ITS i LSU sekvenci poreklom iz 14 vrsta (ukupno 34 uzorka) dobijene su 2 glavne, dobro podržane (bootstrap vrednosti 60 i 100) klade (A i B), a u okviru klade A analizirani uzorci se grupišu u dve klade C i D (bootstrap vrednosti 96 i 100) (Slika 46). Koristeći isti set podataka (ITS i LSU sekvence) urađena je i Bajesova analiza i dobijeno je stablo kod kojeg je uočeno isto grupisanje kao na stablu dobijenom u ML analizi (klade A-D) sa manjim razlikama u grupisanju koje je uočeno u okviru klade D (Slika 47).

Takođe, u ovom istraživanju urađena je ML i Bajesova analiza ITS, LSU i EF-1 $\alpha$  sekvenci. S obzirom da amplifikacija LSU i EF-1 $\alpha$  sekvenci iz svih uzoraka plodonosnih tela analiziranih u ovom istraživanju nije bila uspešna i u bazi podataka nije bilo dovoljno odgovarajućih EF-1 $\alpha$  sekvenci (poreklom iz istih vrsta i izolata koji su korišćeni u prethodnoj analizi) filogenetska stabla su konstruisana od manjeg broja vrsta i uzoraka (5 vrsta i 11 uzoraka) nego što je korišćeno u ITS/LSU analizi. (Slike 48 i 49). Na dobijenom ML stablu uočavaju se dve glavne grane dok je na stablu konstruisanom na osnovu Bajesove analize ITS, LSU i EF-1 $\alpha$  sekvenci dobijeno tri glavne grane koje su bolje podržane (bootstrap vrednosti 100) u odnosu na glavne grane ML stabla (bootstrap vrednosti 38 - 100). Iako između sva četiri dobijena stabla postoje razlike u topologiji, na svim stablima je uočeno jasno grupisanje vrsta koje pripadaju sekcijama *Marasmius* i *Globulares* u iste klade, kao i jasno odvajanje vrsta koje pripadaju sekciji *Epiphylly* (*M. epiphylus* i *M. epiphyllodes*) u



posebnu granu (osim na stablu dobijenom ML analizom ITS/LSU/EF-1 $\alpha$  seta podataka, gde je *M. epiphylloides* grupisan zajedno sa vrstama iz sekcije *Globulares*, ali ta grana je slabije statistički podržana - bootstrap vrednost 38).

**Klada A** - U ovoj kladi koja sadrži pripadnike fam. Marasmiaceae, analizirani taksoni su grupisani u grane koje odgovaraju *Marasmius sensu stricto* sa sekcijama *Marasmius* (klada C) i *Globulares* (klada D) kako su ih ranije definisali Antonín i Noordeloos (2010).

**Klada C** - Ova grupa jasno predstavlja sekciju *Marasmius*, podsekciju *Marasmius* sa dva reprezentativna taksona, *M. rotula* i *M. bulliardi*. Pored njihove morfološke sličnosti, ove dve vrste su slične i na molekularnom nivou. Grupisanje ove dve vrste u istu kladu je takođe primećeno i u istraživanjima Shay i sar. (2017) i Wannathes i sar. (2009) u kojima je sekcija *Marasmius*, podsekcija *Marasmius* monofiletska.

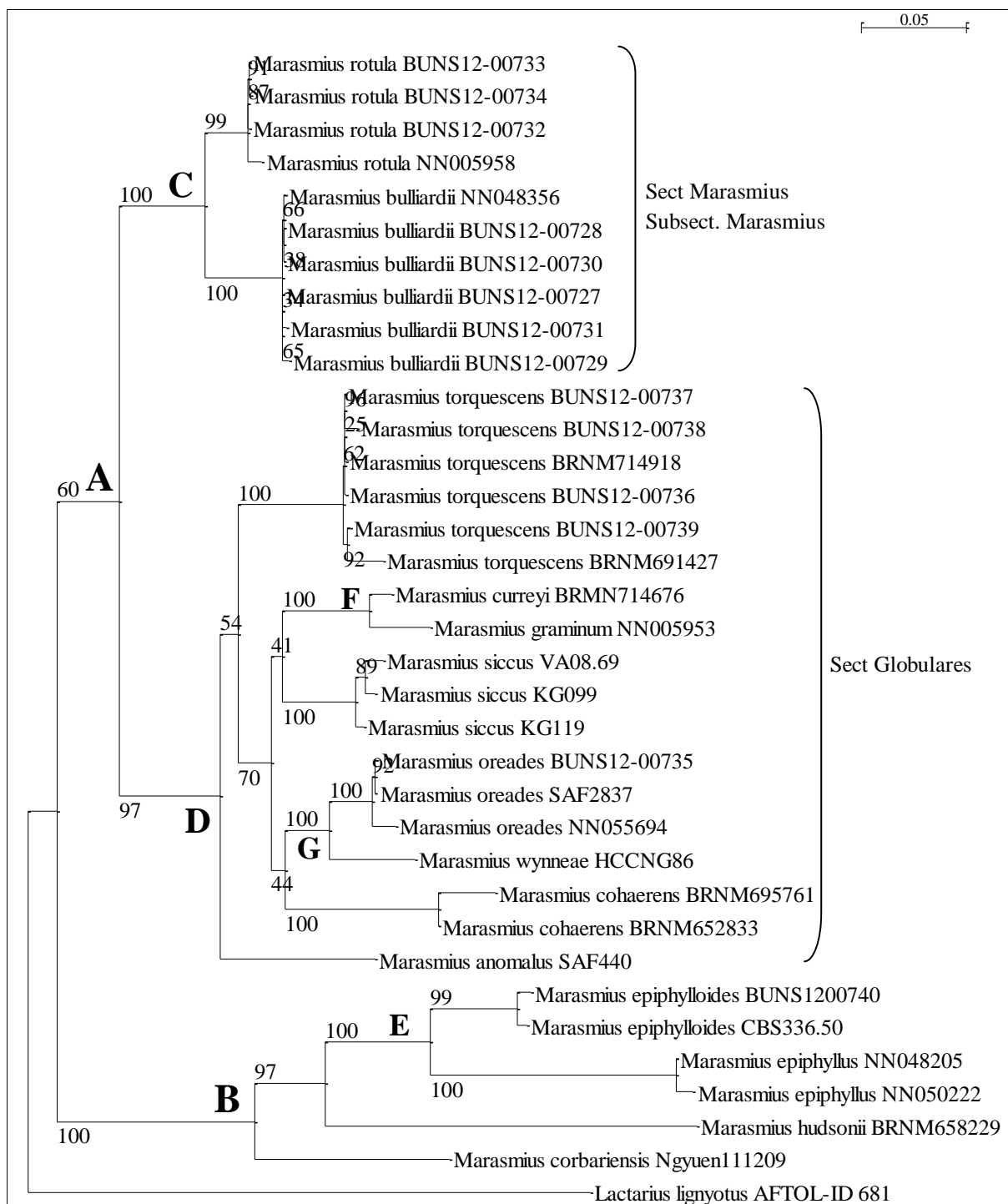
**Klada D** – Ova klada približno odgovara sekciji *Globulares*, podsekcija *Sicci* sa izuzetkom klada F i G.

**Klada F** - U ovoj kladi grupisane su dve vrste iz sekcije *Marasmius* – *M. graminum* (subsec. *Marasmius*) i *M. currei* (subsec. *Sicciformes*). Ove dve vrste su morfološki veoma slične, a razlikuju se po tome što *M. graminum* ima manji, tamnije obojeni pileus, udaljenije lamele, elemente pileipelisa tipa *Rotallis* i veće spore (Antonin i Norderloos, 2010). Isti autori (2010) karakterišu vrstu *M. currei* kao prelaznu vrstu ka podsekciji *Sicci* zbog prisustva elemenata tipa *Siccus* u pileipelisu. Prema tome, pripadnost ove dve vrste sekciji *Sicci* nije neočekivana.

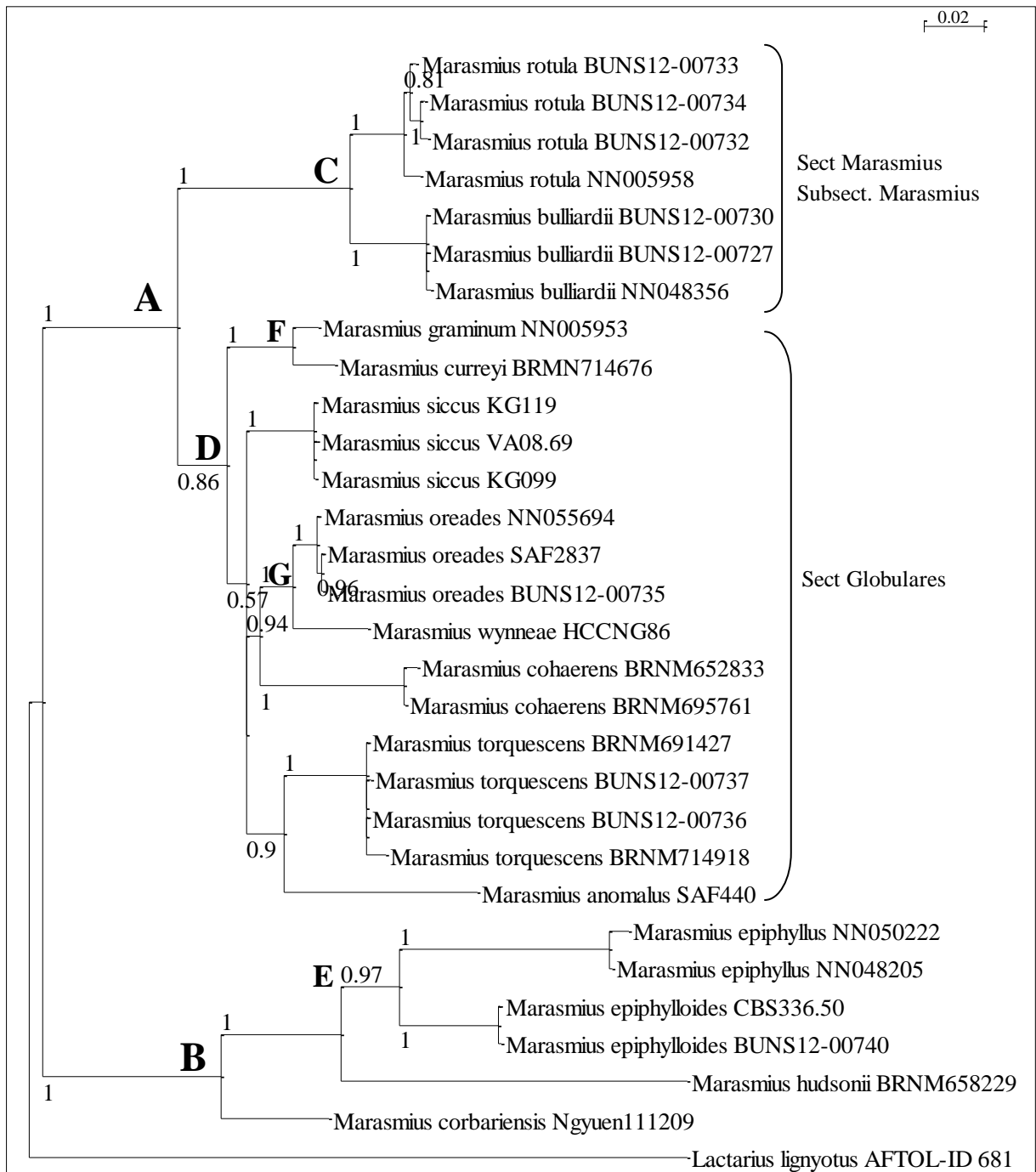
**Klada G** - predstavlja podsekciju *Globulares* sa dve vrste *M. oreades* i *M. winneae*. Iako bi se, prema morfološkim podacima, očekivalo da se ova grupa prikaže kao sestrinska klada kladi D (podsekcija *Sicci*), ona se nalazi u okviru klade D. Prema morfološkim podacima *M. torquescens* i *M. cohaerens* pripadaju podsekciji *Sicci*, serija *Spinulosi* (kaulocistidije u formi seta), međutim na filogenetskom stablu dobijenom u ovom istraživanju ove vrste nisu prikazane kao monofiletske. Ovo je uočeno i u istraživanju Shay i sar. (2017) u kojem su, na osnovu filogenetske analize ITS sekvenci, uočili polifiletsko poreklo članova serije *Spinulosi*.

**Klada B** – Sestrinska klada kladi A, odnosno grani koja sadrži predstavnike fam. *Marasmiaceae*. Ova klada obuhvata članove sekcije *Epiphylli* (klada E) i *M. hudsonii* kao sestrinsku kladu kladi E. Slično grupisanje je uočeno i u stablu dobijenog analizom LSU sekvenci u studiji Jenkinson (2014) gde je *M. hudsonii* grupisan u istoj kladi sa *M. epiphillus*. Pored sličnosti na molekularnom nivou, *M. hudsonii* pokazuje i morfološke sličnosti sa *M. epiphilloides* iz sekcije *Epiphilli* (bledi pileus sa slabo razvijenim, anastamozirajućim lamelama, pileipelis formiran od ćelija *Rotalis* tipa sa velikim apikalnim projekcijama). Iako

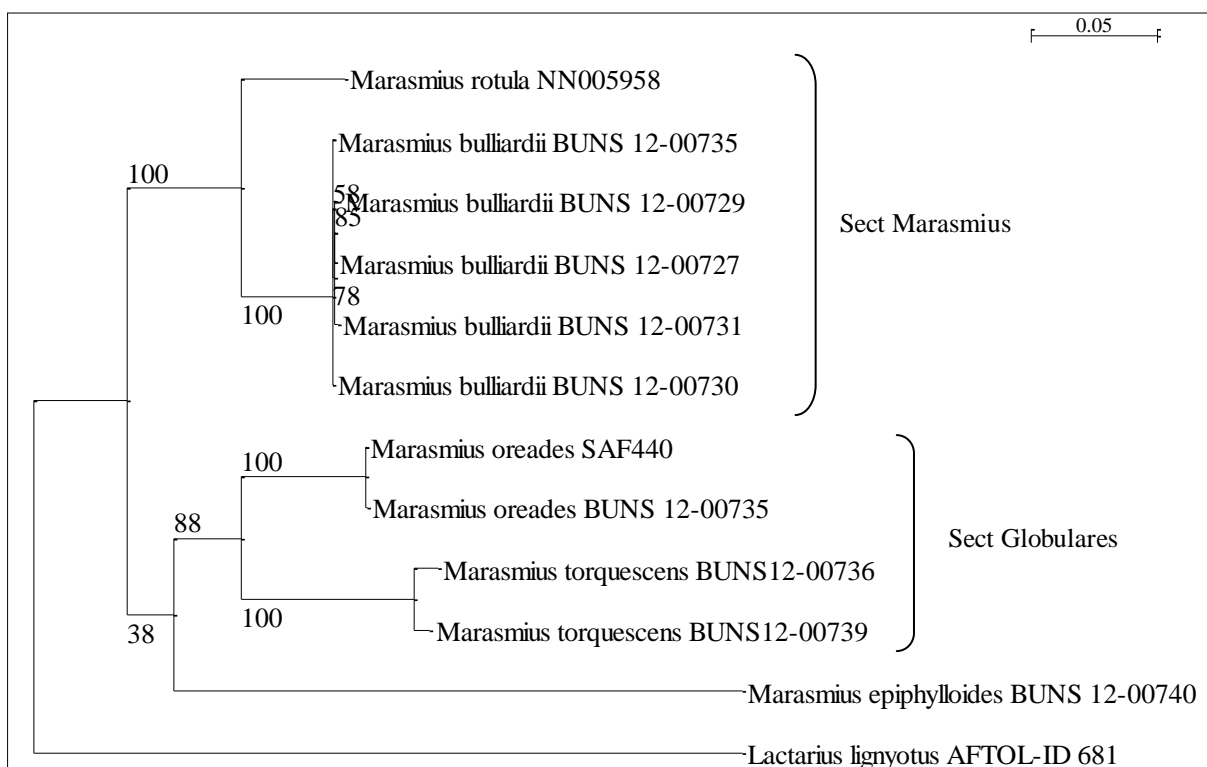
je trenutno klasifikovan kao član sekcije *Hygrometrici* (Antonín i Noordeloos, 2010), prikladnija pozicija za *M. hudsonii* bi bila kao deo sekcije *Epiphylli*.



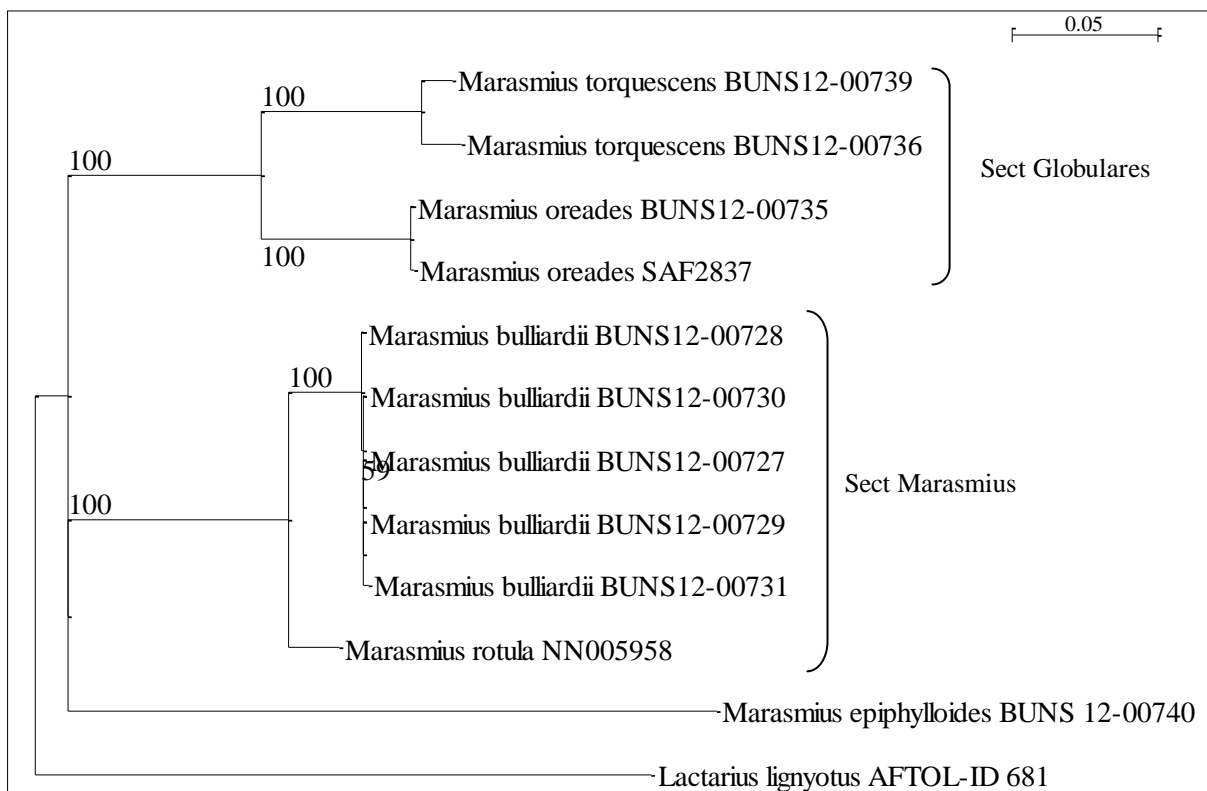
Slika 46. ML filogenetsko stablo konstruisano na osnovu ITS i LSU sekvenci ispitivanih vrsta



Slika 47. Filogram konstruisan na osnovu Bajesove analize ITS i LSU sekvenci ispitivanih vrsta



**Slika 48.** ML stablo konstruisano na osnovu ITS, LSU i EF-1α sekvenci ispitivanih vrsta



**Slika 49.** Filogram konstruisan na osnovu Bajesove analize ITS, LSU i EF-1α sekvenci ispitivanih vrsta

U monografiji, Antonin i Noordeloos (2010) svrstavaju vrste iz sekcije *Epiphylli* kao vrste neizvesne taksonomske pozicije, potencijalne pripadnosti familiji *Physalacriaceae*. U ovom istraživanju, "bivši" član sekcije *Hygrometrici*, vrsta *M. corbariensis* (*Cryptomarasmius corbariensis* (Roum.) T.S. Jenkinson and Desjardin, comb. nov., 2014) grupisana je u kladu B kao sestrinska klada grani kojoj pripadaju sekcija *Epiphylli* i *M. hudsonii*. U radu Jenkinson i sar. (2014) potvrđena je pripadnost roda *Cryptomarasmius* familiji *Physalacriaceae*. Pošto je u ovom istraživanju grupisanje *C. corbariensis* u kladu B dobro podržano, to može ukazivati na to da i drugi članovi ove klade pripadaju porodici *Physalacriaceae*. Međutim, potrebna je dodatna analiza koja bi uključivala više taksona (npr. predstavnici rodova *Flamulina*, *Strobilurus*, *Hymenopellis*) iz familije *Physalacriaceae* i srodnih familija (npr. *Omphalotaceae*) kako bi se definitivno potkrepila ova tvrdnja.

Filogenetska analiza ITS + LSU i ITS + LSU + tefa sekvenci u ovom radu, podržava trenutno prihvaćeno grupisanje vrsta u sekcije na osnovu makro- i mikromorfoloških karaktera. Međutim, dobijeni rezultati ne podržavaju u potpunosti grupisanje nižih infrageneričkih kategorija (podsekcija i serija). Takođe, podsekcijaska klasifikacija evropskih *Marasmius* vrsta analiziranih u ovom radu ne predstavlja monofiletske linije. Ovo je takođe primećeno u istraživanjima vrsta roda *Marasmius* iz tropskih regiona (Tan i sar., 2009; Wannathes i sar., 2009; Shay i sar., 2017).

Vrste roda *Marasmius*, posebno one iz sekcije *Marasmius*, se često morfološki gotovo ne mogu razlikovati dok na molekularnom nivou pokazuju veliku različitost (Shay i sar., 2017). Nasuprot tome, varijabilnost nekih osobina je uticala na taksonome da opišu nove vrste, kao u slučaju *M. epiphillus* grupe gde je Singer (1969) opisao novu vrstu *M. tenuiparietalis* Singer, ali je kasnija molekularna analiza pokazala da nema razlike između ove dve vrste (Antonín i sar., 2010). Dodatne molekularne analize, posebno one koje bi obuhvatile sekvence konzerviranih, protein-kodirajućih regiona su neophodne da bi se bolje razumeli odnosi između vrsta u ovom raznolikom i široko rasprostranjenom rodu.

## 6. ZAKLJUČCI

Molekularni i morfoški diverzitet proučavan je kod vrsta iz rodova *Marasmius*, *Mycetinis* i *Gymnopus* sakupljenih sa različitih lokaliteta u šumskim ekosistemima Nacionalnih parkova Srbije i Crne Gore i izvedeni su sledeći zaključci:

- analizom morfoloških podataka ispitivanih vrsta utvrđeno je da su dobijeni podaci u skladu sa literaturnim podacima;
- vrsta koja je najčešće nalažena na ispitivanim lokalitetima tokom 3 godine istraživanja je *Mycetinis alliaceus*;
- PCA analizom populacija *M. alliaceus* (Kopaonik, Biogradska gora i Stara planina) je pokazano da dolazi do delimičnog izdvajanja populacije Stara planina u odnosu na ispitivane morfološke karaktere, a kod populacije sa lokaliteta Biogradska gora uočena je najveća heterogenost u ispitivanim karakterima;
- PCA analizom populacija *G. androsaceus* sa dva različita lokaliteta (Tara i Kopaonik), uočeno je da nema jasnog izdvajanja populacija, odnosno ispitivane populacije su pokazale heterogenost u ispitivanim morfološkim karakterima;
- analizom korelacija između merenih morfoloških karaktera i faktora sredine uočeno je da kod *M. alliaceus* postoji statistički značajna ( $p < 0,05$ ) pozitivna korelacija između vlažnosti vazduha i količine padavina i prečnika i dužine šešira, dok je statistički značajna negativna korelacija uočena između srednje temperature vazduha, vlažnosti zemljišta i pH vrednosti. Kod vrste *G. androsaceus* uočena je statistički značajna pozitivna korelacija kod količine padavina i prečnika šešira, dok je kod ostalih faktora (srednja temperatura vazduha, relativna vlažnost vazduha, vlažnost zemljišta i pH) uočena statistički značajna negativna korelacija sa prečnikom šešira;
- određivanjem broja i veličine geneta ISSR metodom u populacijama vrsta *M. alliaceus*, *M. rotula* i *G. androsaceus* utvrđeno je da ove vrste formiraju relativno male genete (od nekoliko desetina centimetara do 15m) koji se nalaze u relativnoj blizini jedni od drugih (nekoliko metara)
- određivanjem parametara molekularnog diverziteta (AMOVA, Fst) kod populacija *M. alliaceus* i *G. androsaceus* utvrđeno je da su populacije obe

ispitivane vrste značajno genetički diferencirane ( $F_{st}$  vrednosti veće od 0.25) odnosno da postoji mali protok gena između njih;

- kod vrste *M. alliaceus* uočeno je da je grupisanje populacija na UPGMA dendrogramu u saglasnosti sa grupisanjem koje je dobijeno po Euklidijevim distancama. Kod obe analize uočeno je da su populacije sa Kopaonika i Biogradske gore bliže u odnosu na populaciju sa Stare planine koja se jasno izdvaja u poseban klaster pa se može pretpostaviti da je varijabilnost morfoloških karaktera kod ispitivanih populacija *M. alliaceus* pretežno genetički determinisana;
- U ovom istraživanju generisano je 40 DNK sekvenci od toga 16 sekvenci ITS regiona, 13 sekvenci LSU regiona i 11 EF-1a sekvenci koje su dobijene iz 6 vrsta gljiva (*Marasmius rotula*, *Marasmius bulliardii*, *Marasmius oreades*, *Marasmius anomalus*, *Marasmius torquescens*, *Marasmius epiphylloides*). Dobijene sekvence su pohranjene u GenBank bazu i dodeljeni su im sledeći pristupni brojevi: MK226496 – MK226511 za ITS sekvence, MK238544 – MK238556 za LSU sekvence MK327525 – MK327535 za EF-1a sekvence.
- Filogenetska analiza ITS + LSU i ITS + LSU + EF-1a sekvenci u ovom istraživanju, podržava trenutno prihvaćeno grupisanje Evropskih vrsta roda *Marasmius* u sekcije na osnovu makro- i mikromorfoloških karaktera. Međutim, dobijeni rezultati ne podržavaju u potpunosti grupisanje nižih infrageneričkih kategorija (podsekcija i serija). Takođe, podsekcijaska klasifikacija evropskih *Marasmius* vrsta analiziranih u ovom radu ne predstavlja monofiletske linije

---

## 7. LITERATURA

- Ainsworth GC, Sparrow FK, Sussman AS. 1973. The Fungi: an advanced treatise, Academic Press, Njork, SAD, p. 621
- Anderson IC, Chambers SM, Cairney JWG. 1998. Use of molecular methods to estimate the size and distribution of mycelial individuals of the ectomycorrhizal basidiomycete *Pisolithus tinctorius*. Mycological Research 102:295-300.
- Antonín V, Noordeloos ME. 1993. A Monograph of *Marasmius*, *Collybia*, and Related Genera in Europe Part 1: *Marasmius*, *Setulipes*, and *Marasmiellus*. IHW-Verlag. p. 229.
- Antonín V, Noordeloos ME. 2010. A monograph of marasmioid and collybioid fungi in Europe, IHW-Verlag. p. 480
- Antonín V, Vašutova M, Urban A. 2010. A molecularly supported concept of *Marasmius epiphyllus* (Basidiomycetes, Physalacriaceae). Cryptogamie Mycologie. 31: 355–362.
- Beitenbach J, Kranzlin F. 1991. Fungi of Switzerland Volume 3, Mad River Press, Eureka, USA, p. 360
- Bengtsson-Palme J, Ryberg M, Hartmann M, Branco S, Wang Z, Godhe A, De Wit P, Sánchez-García M, Ebersberger I, de Sousa F, Amend A, Jumpponen A, Unterseher M, Kristiansson E, Abarenkov K, Bertrand YJK, Sanli K, Eriksson KM, Vik U, Veldre V, Nilsson RH. 2013. Improved software detection and extraction of ITS1 and ITS2 from ribosomal ITS sequences of fungi and other eukaryotes for analysis of environmental sequencing data. Methods in Ecology and Evolution 4: 914–919.
- Bonello P, Bruns TD, Gardes M. 1998. Genetic structure of a natural population of the ectomycorrhizal fungus *Suillus pungens*. New Phytologist 138:533-542.
- Bošković E, Karaman M, Galović V. 2017. Spatial distribution of genets in population of saprotrophic fungi *Marasmius rotula* on Mt. Stara planina. Matica Srpska Journal of Natural Sciences 133:143-150
- Boyce JS, Wagg, WB. 1953. Conk rot of old-growth Douglas-fir in western Oregon, Bulletin 4, Oregon Forest Products Laboratory.
- Burchhardt KM, Rivera Y, Baldwin T, Vanearden D, Kretzer AM. 2011. Analysis of genet size and local gene flow in the ectomycorrhizal basidiomycete *Suillus spraguei* (synonym *S. pictus*). Mycologia. 103:722–730.
- Carlier J, Cabrita L, Leitã, J, Sousa RM, Sousa AT. 2011 ISSR and AFLP characterization of *Phomopsis amygdali* ((Del.) Tuset & Portilla accessions. Acta Horticulturae 912:645–650.
- Carriconde F, Gryta H, Jargeat P, Mouhamadou B, Gardes M. 2008. High sexual reproduction and limited contemporary dispersal in the ectomycorrhizal fungus *Tricholoma scalpturatum*: New insights from population genetics and spatial autocorrelation analysis. Molecular Ecology. 17:4433-4445.
- Casselton L, Olesnicky N. 1998. Molecular Genetics of Mating Recognition in Basidiomycete Fungi, Microbiology and Molecular Biology Reviews 62(1):55.
- Chang ST, Miles G. 2004. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact, 2nd Ed., CRC Press, USA, p. 480.
- Čurović M, Stešević D, Medarević M, Cvjetičanin R, Pantić D, Spalević V. 2011. Ecological and structural characteristics of monodominant montane beech forests in the national park Biogradska Gora, Montenegro. Archives of Biological Sciences. 63:429–440.



- Dahlberg A, Genney DR, Heilmann-Clausen J. 2010. Developing a comprehensive strategy for fungal conservation in Europe: current status and future needs. *Fungal Ecology* 3: 50–64.
- Dahlberg A, Stenlid J. 1990. Population structure and dynamics in *Suillus bovinus* as indicated by spatial distribution of fungal clones. *New Phytologist* 115: 487-93.
- Dahlberg A, Stenlid J. 1994. Size, distribution and biomass of genets in populations of *Suillus bovinus* (L.:Fr.) Roussel revealed by somatic incompatibility. *New Phytologist*. 128:225-234.
- Dahlberg A, Stenlid J. 1995. Spatiotemporal patterns in ectomycorrhizal populations. *Canadian Journal of Botany*. 73:1222–1230.
- Dahlberg A. 1997. Population ecology of *Suillus variegatus* in old Swedish Scots pine forests. *Mycological Research* 101:47-54.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772.
- Deacon J. 2006. *Fungal Biology*. Malden, USA: Blackwell Publishing Ltd. p. 371.
- Douanla-Meli C, Langer E. 2008. Phylogenetic relationship of *Marasmius mbalmayoensis* sp. nov. to the tropical African *Marasmius bekolacongoli* complex based on nuc-LSU rDNA sequences. *Mycologia*. 100: 445–454.
- Douhan GW, Vincenot L, Gryta H, Selosse MA. 2011. Population genetics of ectomycorrhizal fungi: From current knowledge to emerging directions. *Fungal Biology* 115:569–597.
- Dowson CG, Rayner ADM, Boddy L. 1989. Spatial dynamics and interactions of the woodland fairy ring fungus, *Clitocybe nebularis*. *New Phytologist* 111: 699-705.
- Doyle JJ and Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin* 19:11-15
- Du P, Cui BK, Zhang CF, Dai YC. 2013. Genetic diversity of wild *Auricularia auricula-judae* revealed by ISSR analysis. *Biochem Systematics and Ecology* 48: 199–205.
- Dunham SM, O'Dell TE, Molina R. 2003. Analysis of nrDNA sequences and microsatellite allele frequencies reveals a cryptic chanterelle species *Cantharellus cascadiensis* sp. nov. from the American Pacific Northwest. *Mycological Research* 107:1163–1177
- Edgar R. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32(5): 1792–1797.
- Excoffier L, Lischer H.E.L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.
- Fayod V. 1889. Prodrôme d'une histoire naturelle des Agaricines. *Annales des Sciences Naturelles* 7,9:181–411
- Frankland IC., Poskitt IM, Howard DM. 1995. Spatial development of populations of a decomposer fungus, *Mycena galopus*. *Canadian Journal of Botany* 73: 1399-1406.
- Fries EM. 1821. *Systema Mycologicum*. Lund, p. 520
- Fries EM. 1874. *Hymenomycetes europaei*. Berling, Uppsala, p. 755
- Fries EM. 1838. *Epicrisis Systematis Mycologici seu Synopsis Hymenomycetum*. Elias Fries. Upsaliae, 44-45
- Gajić M. 1988. Flora nacionalnog parka Tara. Šumarski fakultet Beograd.
- Garnica S, Weiss M, Walther G, Oberwinkler F. 2007. Reconstructing the evolution of agarics from nuclear gene sequences and basidiospore ultrastructure. *Mycological Research* 111:1019–1029.

- Gherbi H, Delaruelle C, Selosse MA, Martin F. 1999. High genetic diversity in a population of the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria amethystina* in a 150-year-old beech forest. *Molecular Ecology*. 8:2003-2013.
- Gomes AE, Kasuya MM, de Barros GE, Borges CA, Araújo FE. 2002. Polymorphism in the internal transcribed spacer (ITS) of the ribosomal DNA of 26 isolates of ectomycorrhizal fungi. *Genetics and Molecular Biology* 25(4): 477- 483.
- Gouy M, Guindon S, Gascuel O. 2010. SeaView Version 4: A Multiplatform Graphical User Interface for Sequence Alignment and Phylogenetic Tree Building. *Molecular Biology and Evolution* 27(2): 221–224.
- Gryta H, Carriconde F, Charcosset JY, Jargeat P, Gardes M. 2006. Population dynamics of the ectomycorrhizal fungal species *Tricholoma populinum* and *Tricholoma scalpturatum* associated with black poplar under differing environmental conditions. *Environmental Microbiology* 8: 773-786.
- Gryta H, Debaud JC, Effosse A, Gay G, Marmeisse R. 1997. Fine-scale structure of populations of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* in coastal sand dune forest ecosystems. *Molecular Ecology*.6:353-364.
- Guillaumin JJ, Anderson JB, Legrand P, Ghahari S, Berthelay S. 1996. A comparison of different methods for the identification of genetics of *Armillaria spp.* *New Phytologist* 133: 333-343.
- Gupta M., Chyi Y.-S., Romero-Severson J., and Owen J. L. 1994. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoret. Applied Genet.* 89: 998–1006.
- Hansen E, Hamelin R. 1999. Population Structure of Basidiomycetes, u Worrall JJ., ed. *Structure and dynamics of fungal populations*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. p.348.
- Heinzelmann R, Rigling D, Prospero S. 2012. Population genetics of the wood-rotting basidiomycete *Armillaria cepistipes* in a fragmented forest landscape. *Fungal Biology* 116:985–994.
- Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, Blackwell M, Cannon PF, Eriksson OE, Huhndorf S, James T, Kirk PM, Lücking R, Thorsten Lumbsch H, Lutzoni F, Matheny PB, McLaughlin DJ, Powell MJ, Redhead S, Schoch CL, Spatafora JW, Stalpers JA, Vilgalys R, Aime MC, Aptroot A, Bauer R, Begerow D, Benny GL, Castlebury LA, Crous PW, Dai YC, Gams W, i sar.. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research* 111:509–547.
- Hibbett DS, Thorn RG. 2001. Homobasidiomycetes. u McLaughlin DJ, McLaughlin EJ, Lemke P (eds), *The Mycota. Vol. VII. Part B., Systematics and Evolution*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 121–168.
- Hiscox J, Hibbert C, Rogers HJ, Boddy L. 2010. Monokaryons and dikaryons of *Trametes versicolor* have similar combative, enzyme and decay ability, *Fungal ecology* 3: 347–356
- Hogberg N, Holdenrieder O, Stenlid J. 1999. Population structure of the wood decay fungus *Fomitopsis pinicola*. *Heredity* 83:354–360.
- Holmer L, Stenlid J. 1991. Population structure and mating system in *Marasmius androsaceus* Fr. *New Phytol.* 119:307–314.
- Huss MJ. 1993. Spatial distribution among mycelial individuals of *Lycoperdiferon pyrme* occurring on decaying logs. *Mycological Research* 97:1119–1125.
- Jacobson KM, Miller OK, Turner BJ. 1993. Randomly amplified polymorphic DNA markers are superior to somatic incompatibility tests for discriminating genotypes in natural populations of the ectomycorrhizal

- fungus *Suillus granulatus*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 90: 9159-9163.
- James TY, Kauff F, Schoch CL, Matheny PB, Hofstetter V, Cox CJ, Celio G, Gueidan C, Fraker E, Miadlikowska J, Lumbsch HT, Rauhut A, Reeb V, Arnold AE, Amtoft A, Stajich JE, Hosaka K, Sung GH, Johnson D, O'Rourke B, Crockett M, Binder M, Curtis JM, Slot JC, Wang Z, Wilson AW, Schüßler A, Longcore JE, O'Donnell K, et al. 2006. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*. 443: 818 – 822.
- James TY, Porter D, Hamrick JL, Vilgalys R. 1999. Evidence for limited intercontinental gene flow in the cosmopolitan mushroom, *Schizophyllum commune*. *Evolution* 53: 1665-1677.
- Jenkinson TS, Perry BA, Schaefer RE, Desjardin DE. 2014. *Cryptomarasmius* gen. nov. established in the Physalacriaceae to accommodate members of Marasmius section Hygrometrici. *Mycologia* 106: 86–94.
- Kauserud H, Schumacher T. 2003. Regional and local population structure of the pioneer wood- decay fungus *Trichaptum abietinum*. *Mycologia*. 95: 416–425
- Kay E; Vilgalys R. 1992 Spatial distribution and genetic relationships among individuals in a natural population of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Mycologia* 84:173-82.
- Keirle MR, Avis PG, Hemmes DE, Mueller GM. 2014. Testing the “one-log-one-genet” hypothesis: methodological challenges of population sampling for the Hawaiian wood-decay fungus *Rhodocollybia laulaha*. *Mycologia* 106:896-903.
- Kirby JJH, Stenlid J, Holdenrieder O. 1990. Population structure and responses to disturbance of the basidiomycete *Resinicium bicolor*. *Oecologia* 85: 178-184.
- Kirk PM. 2018. Species Fungorum (version Oct 2017) – In: Roskov Y., Ower G., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P.M., Bourgoin T., DeWalt R.E., Decock W., Nieukerken E. van, Zarucchi J., Penev L., eds. (2018). Species 2000 and ITIS Catalogue of Life, 30th October 2018. Digital resource at [www.catalogueoflife.org/col](http://www.catalogueoflife.org/col). Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands
- Kretzer AM, Dunham S, Molina R, Spatafora JW. 2005. Patterns of vegetative growth and gene flow in *Rhizopogon vinicolor* and *R. vesiculosus* (Boletales, Basidiomycota). *Molecular Ecology* 14: 2259-2268.
- Kües U. 2000. Life History and Developmental Processes in the Basidiomycete *Coprinus cinereus*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64 (2): 316-353.
- Kühner R, Romagnesi H. 1957. Espèces nouvelles, critiques ou rares de Pleurotacées, Marasmiacées et Tricholomacées, *Bulletin de la Société des naturalistes d'Oyonnax* 8: 73–131
- Kühner R. 1933. Études sur le genre *Marasmius*. *Le Botaniste* 25: 57–116
- Kühner R. 1936. Nouvelles recherches sur le genre *Marasmius*, *Annales de la Société linnéenne de Lyon* 79: 99–120
- Kühner R. 1980. Les Hyménomycètes agaricoides. *Bulletin Mensuel de la Société Linnéenne de Lyon* 49: Numéro spécial. 1027 p.
- Lakušić D. 1993. Visoko-planinska flora Kopaonika, ekološko-fitogeografska studija. Magistarski rad, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, p. 197.
- Lynch M, Milligan BG. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology* 3: 91-99.

- Maheshwari, R. 2005. *Fungi: Experimental Methods in Biology*, CRC press Taylor & Francis Group, USA, p. 358.
- Mata J L, Hughes KW, Petersen RH. 2006: An investigation of /omphalotaceae (Fungi: Euagarics) with emphasis of the genus *Gymnopus*. *Sydowia* 58: 191 - 289.
- Matheny B, Wang Z, Binder M, Curtis JM, Lim YW, Nilsson HR, Hughes KW, Hofstetter V, Ammirati JF, Schoch CL, Langer E, Langer G, McLaughlin DJ, Wilson AW, Frøslev T, Ge ZW, Kerrigan RW, Slot JC, Yang ZL, Baroni TJ, Fischer M, Hosaka K, Matsuura K, Seidl MT, Vauras J, Hibbett DS. 2007. Contributions of *rpb2* and *tefl* to the phylogeny of mushrooms and allies (Basidiomycota, Fungi). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43:430–451.
- Matheny PB, Curtis JM, Hofstetter V, Aime M C, Moncalvo J-M, Ge Z-W, Yang Z-L, Slot JC, Ammirati JF, Baroni TJ, Bougher NL, Hughes KW, Lodge DJ, Kerrigan RW, Seidl MT, Aanen DK, DeNitis M, Daniele GM, Desjardin DE, Kropp BR, Norvell L L, Parker A, Vellinga EC, Vilgalys R, Hibbett DS. 2006. Major clades of Agaricales: a multilocus phylogenetic overview. *Mycologia* 98: 982–995.
- McDermott JM, McDonald BA. 1993. Gene flow in plant pathosystems. *Annual Review of Phytopathology* 31: 353-373.
- Mei Z, Yang L, Khan MA, Yang M, Wei C, Yang W, Peng X, Tania M, Zhang H, Li X, Fu J. 2014. Genotyping of *Ganoderma* species by improved random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter-simple sequence repeat (ISSR) analysis. *Biochem Systematics and Ecology* 56:40–48
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 Nov. 2010, New Orleans, LA pp 1 – 8.
- Moncalvo JM, Lutzoni FM, Rehner SA, Johnson J, Vilgalys R. 2000. Phylogenetic relationships of agaric fungi based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Systematic Biology* 49:278–305.
- Moncalvo JM, Vilgalys R, Redhead S A, Johnson JE, James, TY, Catherine Aime M, Hofstetter V, Verduin SJW, Larsson E, Baroni TJ, Greg Thorn R, Jacobsson S, Clémenceçon H, Miller OK. 2002. One hundred and seventeen clades of euagarics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23; 357–400.
- Motta R, Garbarino M, Berretti R, Bjelanovic I, Borgogno Mondino E, Čurović M, Keren S, Meloni F, Nosenzo A. 2015. Structure, spatio-temporal dynamics and disturbance regime of the mixed beech–silver fir–Norway spruce old-growth forest of Biogradska Gora (Montenegro). *Plant Biosystems* 149: 966–975.
- Murphy JF, Miller OK. 1993. The population biology of two litter decomposing agarics on a southern Appalachian mountain. *Mycologia* 85: 769-776.
- Nei M, Li WH. 1979. Mathematical Model for Studying Genetic Variations in Terms of Restriction Endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76: 5269-5273.
- Nghia NA, Kadir J, Sunderasan E, Puad Abdullah M, Malik A, Napis S. 2008. Morphological and Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers analyses of *Corynespora cassiicola* isolates from rubber plantations in Malaysia. *Mycopathologia* 166: 189–201
- Nilsson HR, Kristiansson E, Ryberg M, Hallenberg N, Larsson HK. 2008. Intraspecific ITS variability in the kingdom Fungi as expressed in the international sequence databases and Its implications for molecular species identification. *Evolutionary Bioinformatics* 4: 193–201.

- Nybohm H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology* 13: 1143-1155.
- Osono T. 2007. Ecology of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition. *Ecological Research* 22:955-974
- Owings P, Desjardin DE. 1997. A molecular phylogeny of *Marasmius* and selected segregate genera. *Inoculum* 48(3): 29.
- Papp B, Erzerberger P, Sabovljević M. 2004. Contributions to the bryophyte flora of Kopaonik mts (Serbia, Serbia-Montenegro). *Studia Botanica Hungarica*. 35:67-79.
- Patouillard N. 188. *Les Hyménomycètes d'Europe*, Paris: Paul Klincksieck, p.166
- Patouillard N. 1900. *Essai taxonomique sur les familles et les genres des Hyménomycètes*, Lons-Le-Saunier: Lucien Declume, p. 184
- Pavlicek A, Hrdá S, Flegr J. 1999. Short Communication FreeTree-Freeware Program for Construction of Phylogenetic Trees on the Basis of Distance Data and Bootstrap/Jackknife Analysis of the Tree Robustness. Application in the RAPD Analysis of Genus *Frenkelia*. *Folia Biologica (Praba)* 45: 97-99.
- Quélet L. 1888. *Flore mycologique de la France et des pays limitrophes*, Paris: Octave Doin, p. 492.
- Rayner ADM i Boddy L. 1988. *Fungal Decomposition of Wood: its biology and ecology*. Chichester, New York: Wiley p. 587.
- Rayner ADM i Todd NK. 1979. Population and community structure and dynamics of fungi in decaying wood. *Advances in Botanical Research* 7: 333-420.
- Reddy MP, Sarla N, Siddiq E. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*. 128:9-17.
- Rehner SA, Buckley EP. 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-alpha sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia* 97: 84-98.
- Sawyer N, Chambers SM, Cairney JWG. 2003. Distribution of *Amanita* spp. genotypes under eastern Australian sclerophyll vegetation. *Mycological Research*. 107:1157-1162.
- Sawyer NA, Chambers SM, Cairney JWG. 1999. Molecular investigation of genet distribution and genetic variation of *Corrinarius rotundisporus* in eastern Australian sclerophyll forests. *New Phytologist*. 142:561-68.
- Schoch LC, Seifert AK, Huhndorf S, Robert V, Spouge LJ, Levesque CA, Chen W, Fungal Barcoding Consortium. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *PNAS* 109 (16): 6241-6246.
- Selosse MA. 2003. Founder effect in a young *Leccinum duriusculum* (Schultzer) Singer population. *Mycorrhiza* 13: 143-149.
- Shay JE, Desjardin DE, Perry BA, Grace CL, Newman DS. 2017. Biodiversity and phylogeny of *Marasmius* (Agaricales, basidiomycota) from Madagascar. *Phytotaxa* 292: 101-149.
- Singer R. 1986. *The Agaricales in Modern Taxonomy*, fourth ed. Koeltz Scientific Books, Koenigstein
- Soldati MC, Fornes L, van Zonneveld M, Thomas E, Zelener N (2013) An assessment of the genetic diversity of *Cedrela balansae* C. dC. (Meliaceae) in Northwestern Argentina by means of combined use of SSR and AFLP molecular markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 47: 45-55.

- Stankov-Jovanović V, Ilić M, Marković M, Mitić V, Nikolić-Mandić S, Stojanović G. 2011. Wild fire impact on copper, zinc, lead and cadmium distribution in soil and relation with abundance in selected plants of Lamiaceae family from Vidlič Mountain (Serbia). *Chemosphere* 84 (11): 1584–1591.
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30(9):1312-1313.
- Stenlid J. 2008. Chapter 6 Population biology of forest decomposer basidiomycetes. In: L. Boddy, J. Frankland, and P. van West, eds. *British Mycological Society Symposia Series*. Academic Press. pp. 105–122.
- Stewart CN, Excoffier L. 1996. Assessing population genetic structure and variability with RAPD data: Application to *Vaccinium macrocarpon* (American Cranberry). *Journal of Evolutionary Biology* 9(2): 153-171.
- Tan YS, Desjardin DE, Perry BA, Vikineswary S, Noorlidah A. 2009. *Marasmius sensu stricto* in Peninsular Malaysia. *Fungal Diversity* 37: 9 – 100.
- Thompson W, Rayner ADM. 1982. Spatial structure of a population of *Tricholomopsis platyphylla* in a woodland site Fungi. *The New Phytologist* 92: 103-114.
- Uzelac, B., 2009. Gljive Srbije i zapadnog Balkana, BGV Logik, Beograd, p. 462
- Todd NK i Rayner ADM. 1980. Fungal individualism. *Science Progress Oxford* 66: 331-354.
- Vidanović G. 1960: Vidlič – Zabrdje, contribute of recognition economic type of develop and disposition of production and trade of farms stagnant boundary limestone area (P. Vujević ed.), Serbian Academy of Sciences, Special editions of the Geographical Institute, Beograd, 15: 5.
- Vilgalys R, Hester M. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology* 172(8): 4238– 4246.
- Wang S, Miao X, Zhao W, Huang B, Fan M, Li Z, Huang Y. 2005. Genetic diversity and population structure among strains of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, as revealed by inter-simple sequence repeats (ISSR). *Mycological Research* 109: 1364–1372.
- Wannathes N, Desjardin DE, Hyde KD, Perry BA, Lumyong S. 2009. A monograph of *Marasmius* (Basidiomycota ) from Northern Thailand based on morphological and molecular ( ITS sequences ) data. *Fungal Diversity* 37: 209–306.
- Webster J, Weber RWS. 2007. *Introduction to Fungi*, 3rd Ed., Cambridge University Press, UK, ISBN-13 978-0-511-27783-2
- Weiss M, Oberwinkler F. 2001. Phylogenetic relationships in Auriculariales and related groups—hypotheses derived from nuclear ribosomal DNA sequences. *Mycological Research* 105: 403–415.
- Wendland J, Kothe E. 1997. Isolation of tef1 encoding translation elongation factor EF1 $\alpha$  from the homobasidiomycete *Schizophyllum commune*. *Mycological Research* 101:798–802.
- Wendland J. 2016. Growth, Differentiation and Sexuality. In: K. Esser, ed. *The Mycota*. Cham Heidelberg New York Dordrecht London: Springer International Publishing. p. 478.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, PCR protocols: A guide to methods and application, Academic Press Inc
- Wilson AW, Desjardin DE. 2005. Phylogenetic relationships in the gymnopoid and marasmioid fungi (Basidiomycetes, euagarics clade). *Mycologia*. 97: 667–679.
- Wolfe AD. 2005. ISSR techniques for evolutionary biology. *Methods in Enzymology* 395: 134-144.

- Worrall JJ., ed. 1999. Structure and dynamics of fungal populations. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 348 p.
- Wright, S. 1978. Evolution and the Genetics of Populations. Vol. 4. Variability within and among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago, p.580.
- Xing R, Gao Q, Zhang F, Li Y, Fu P, Zhang J, Wang J, Khan G, Chen S. 2014. Genetic diversity and population structure of *Armillaria luteo-virens* (Physalacriaceae) in Qinghai-Tibet Plateau revealed by SSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 56: 1–7.
- Xu J. 2006. Fundamentals of Fungal Molecular Population Genetic Analyses. *Current Issues in Molecular Biology* 8:75–90.
- Zhao M, Huang C, Chen Q, Wu X, Qu J, Zhang J. 2013. Genetic variability and population structure of the mushroom *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*. *PLoS One*. 8: 1–8.
- Zhou Z, Miwa M, Hogetsu T. 1999. Analysis of genetic structure of a *Suillus grevillei* population in a *Larix kaempferi* stand by polymorphism of inter-simple sequence repeat (ISSR). *New Phytologist*, 144 (1): 55-63.
- Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)–anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20: 176–183.

## 8. PRILOG

Prilog 1. Spisak sakupljenih i proučavanih uzoraka u ovom istraživanju

br.	vrsta	datum		Lokalitet	oznaka	vaučer broj
		uzorkovanja				
1	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	86	
2	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	153	
3	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	50	BUNS12-00732
4	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	46	
5	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	44	
6	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	43	
7	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	42	
8	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	41	
9	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	40	
10	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	39	
11	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	38	
12	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	37	
13	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	36	
14	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	35	
15	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	124	
16	Marasmius rotula	02.08.2015.		NP Biogradska gora, CG	125	
17	Marasmius rotula	22.09.2015.		Stara planina, Vidlič	139	
18	Marasmius rotula	22.09.2015.		Stara planina, Vidlič	132	
19	Marasmius rotula	22.09.2015.		Stara planina, Vidlič	133	
20	Marasmius rotula	22.09.2015.		Stara planina, Vidlič	134	BUNS12-00733
21	Marasmius rotula	22.09.2015.		Stara planina, Vidlič	147	BUNS12-00734
22	Marasmius rotula	22.09.2015.		Stara planina, Vidlič	135	
23	Marasmius rotula	22.09.2015.		Stara planina, Vidlič	144	
24	Marasmius rotula	22.09.2015.		Stara planina, Vidlič	140	
25	Marasmius rotula	22.09.2015.		Stara planina, Vidlič	145	
26	Marasmius rotula	22.09.2015.		Stara planina, Vidlič	146	
27	Marasmius bulliardii	05.10.2016.		Fruška gora, Papratski do	231	BUNS12-00727
28	Marasmius bulliardii	05.10.2016.		Fruška gora, Papratski do	232	BUNS12-00728
29	Marasmius bulliardii	05.10.2016.		Fruška gora, Papratski do	233	BUNS12-00729
30	Marasmius bulliardii	05.10.2016.		Fruška gora, Papratski do	234	BUNS12-00730
31	Marasmius bulliardii	05.10.2016.		Fruška gora, Papratski do	235	BUNS12-00731
32	Marasmius torquescens	25.09.2016.		Tara, Mitrovac	197	BUNS12-00736
33	Marasmius torquescens	25.09.2016.		Tara, Mitrovac	198	BUNS12-00737
34	Marasmius torquescens	25.09.2016.		Tara, Mitrovac	199	BUNS12-00738
35	Marasmius torquescens	25.09.2016.		Tara, Mitrovac	202	BUNS12-00739
36	Marasmius oreades	03.05.2015.		Vršaćki breg	165	BUNS12-00735
37	Marasmius oreades			Italija	171	SAF2837
38	Marasmius anomalus			Italija	176	SAF440
39	Marasmius epiphyloides	18.09.2017.		Fruška gora, Glavica	252	BUNS12-00740
40	Mycetinis alliaceus	30.07.2014.		Kopaonik, Metode	85	
41	Mycetinis alliaceus	30.07.2014.		Kopaonik, Metode	161	



---

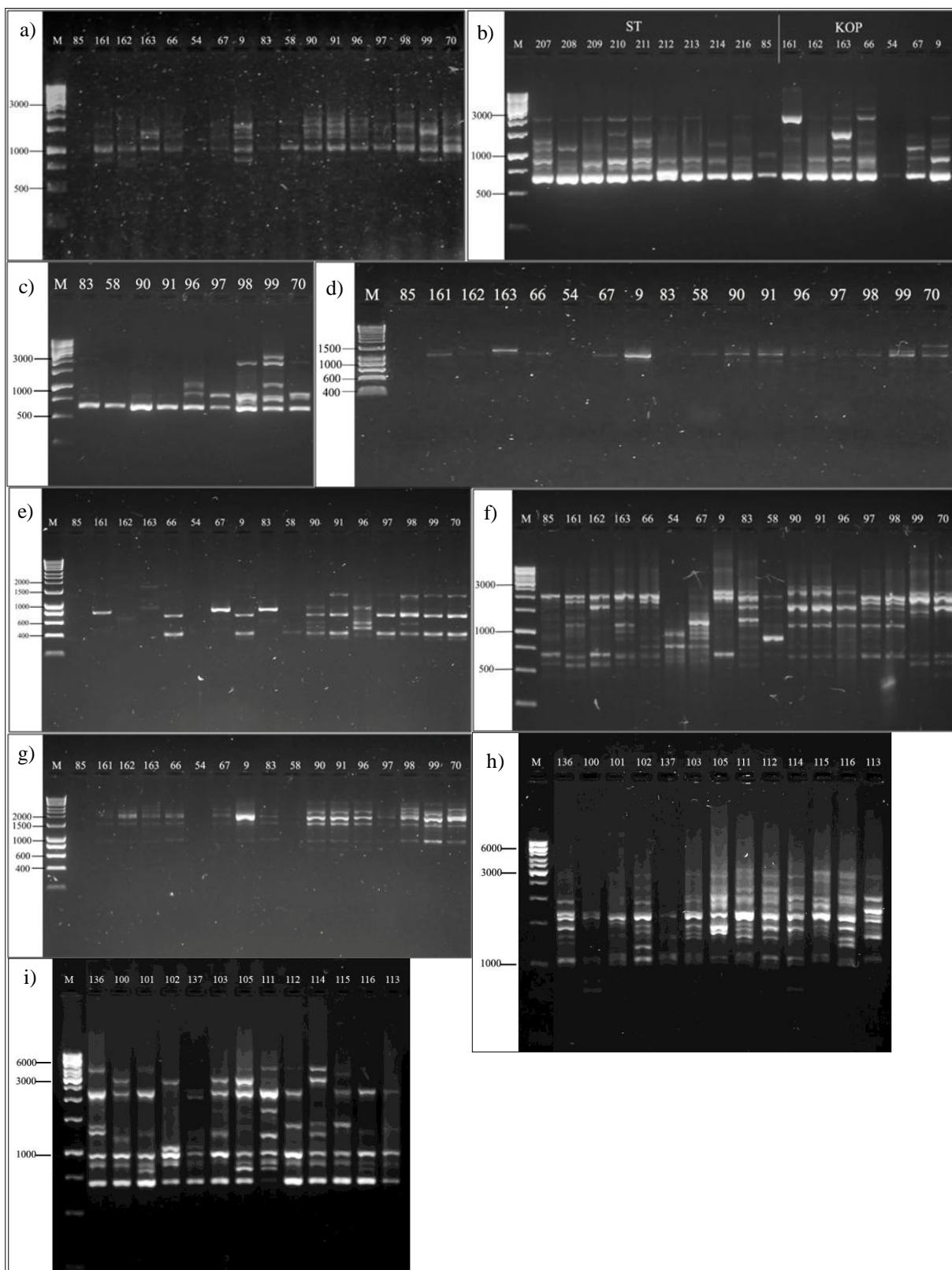
42	Mycetinis alliaceus	30.07.2014.	Kopaonik, Metode	162
43	Mycetinis alliaceus	30.07.2014.	Kopaonik, Metode	163
44	Mycetinis alliaceus	12.06.2015.	Kopaonik, Metode	66
45	Mycetinis alliaceus	12.06.2015.	Kopaonik, Metode	54
46	Mycetinis alliaceus	12.06.2015.	Kopaonik, Metode	67
47	Mycetinis alliaceus	12.06.2015.	Kopaonik, Metode	9
48	Mycetinis alliaceus	12.06.2015.	Kopaonik, Metode	83
49	Mycetinis alliaceus	23.07.2015	Kopaonik, Metode	58
50	Mycetinis alliaceus	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	90
51	Mycetinis alliaceus	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	91
52	Mycetinis alliaceus	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	96
53	Mycetinis alliaceus	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	97
54	Mycetinis alliaceus	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	98
55	Mycetinis alliaceus	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	99
56	Mycetinis alliaceus	23.09.2015.	Kopaonik, Metode	70
57	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	249
58	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	250
59	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	256
60	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	257
61	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	258
62	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	259
63	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	260
64	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	261
65	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	262
66	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	263
67	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	264
68	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	265
69	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	266
70	Mycetinis alliaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	267
71	Mycetinis alliaceus	01.06.2013.	NP Biogradska gora, CG	95
72	Mycetinis alliaceus	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	47
73	Mycetinis alliaceus	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	45
74	Mycetinis alliaceus	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	127
75	Mycetinis alliaceus	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	34
76	Mycetinis alliaceus	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	126
77	Mycetinis alliaceus	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	155
78	Mycetinis alliaceus	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	31
79	Mycetinis alliaceus	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	29
80	Mycetinis alliaceus	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	28
81	Mycetinis alliaceus	02.08.2015.	NP Biogradska gora, CG	92
82	Mycetinis alliaceus	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	177
83	Mycetinis alliaceus	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	178
84	Mycetinis alliaceus	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	179
85	Mycetinis alliaceus	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	180
86	Mycetinis alliaceus	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	181
87	Mycetinis alliaceus	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	182

88	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	183	
89	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	184	
90	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	185	
91	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	186	
92	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	187	
93	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	188	
94	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	189	
95	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	190	
96	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	191	
97	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	192	
98	<i>Mycetinis alliaceus</i>	03.09.2016.	NP Biogradska gora, CG	193	
99	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	106	
100	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	107	
101	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	108	BUNS12-00742
102	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	109	
103	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	110	
104	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	68	
105	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	138	
106	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	69	
107	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	148	
108	<i>Mycetinis alliaceus</i>	22.09.2015.	Stara planina, Vidlič	149	
109	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	207	
110	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	208	
111	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	209	
112	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	210	
113	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	211	
114	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	212	
115	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	213	
116	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	214	
117	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	215	
118	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	216	
119	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	223	
120	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	224	
121	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	225	
122	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	226	
123	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	227	
124	<i>Mycetinis alliaceus</i>	24.09.2016.	Stara planina, Vidlič	228	
125	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	128	
126	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	129	
127	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	167	
128	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	119	
129	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	57	
130	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	168	
131	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	56	
132	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	169	
133	<i>Gymnopus androsaceus</i>	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	130	

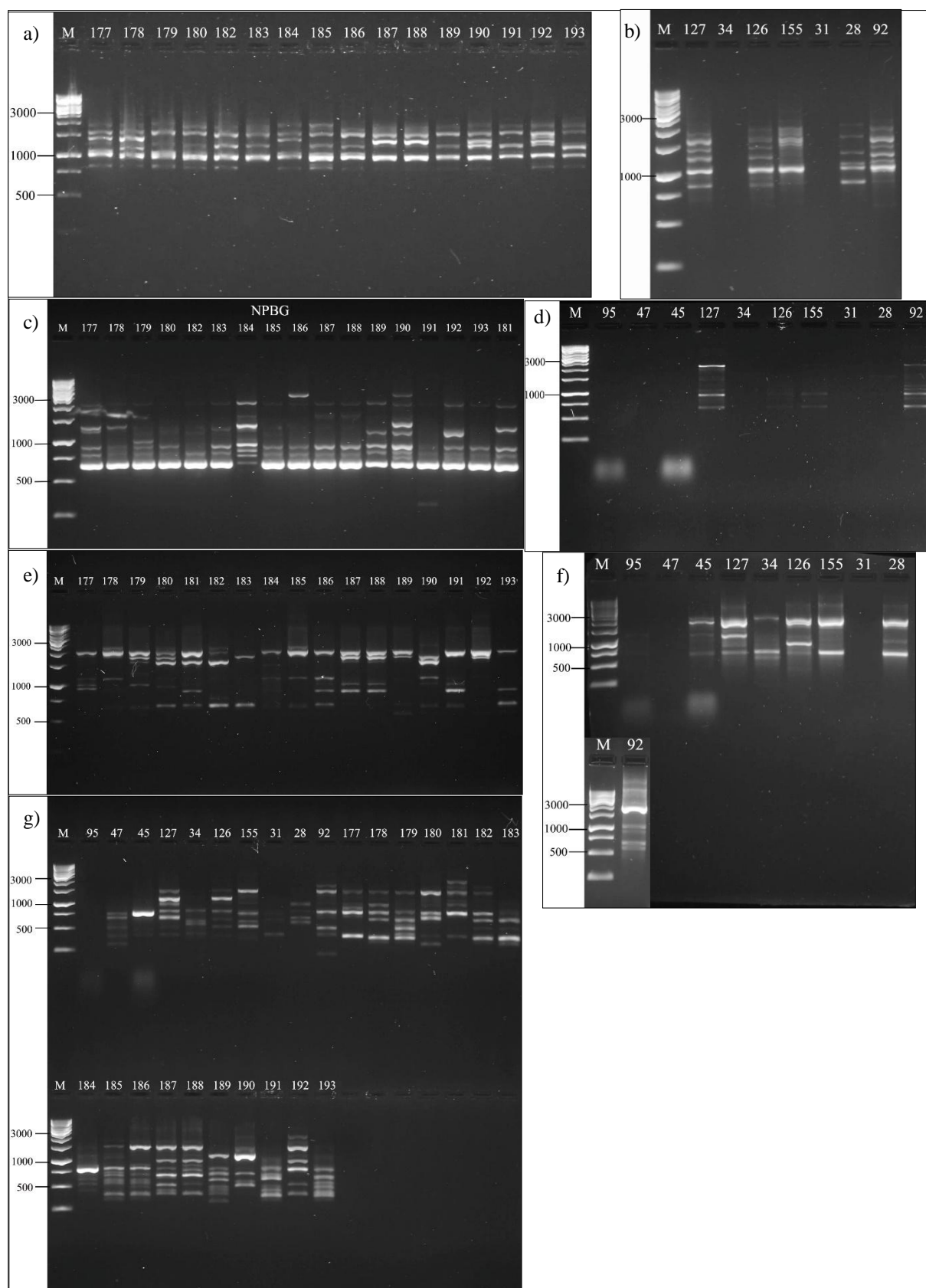
---

134	Gymnopus androsaceus	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	118	
135	Gymnopus androsaceus	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	117	
136	Gymnopus androsaceus	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	170	
137	Gymnopus androsaceus	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	94	
138	Gymnopus androsaceus	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	122	
139	Gymnopus androsaceus	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	121	
140	Gymnopus androsaceus	24.09.2015.	Tara, Mitrovac	131	
141	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	268	
142	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	269	
143	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	270	BUNS12-00743
144	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	272	
145	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	273	
146	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	274	
147	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	275	
148	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	276	
149	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	277	
150	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	278	
151	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	279	
152	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	280	
153	Gymnopus androsaceus	25.09.2016.	Tara, Mitrovac	281	
154	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	282	
155	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	283	
156	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	284	
157	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	271	
158	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	285	
159	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	286	
160	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	287	
161	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	288	
162	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	289	
163	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	290	
164	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	291	
165	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	292	
166	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	293	
167	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	294	
168	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	295	
169	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	296	
170	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	297	
171	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	298	
172	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	299	
173	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	300	
174	Gymnopus androsaceus	24.09.2016.	Kopaonik, Metode	301	

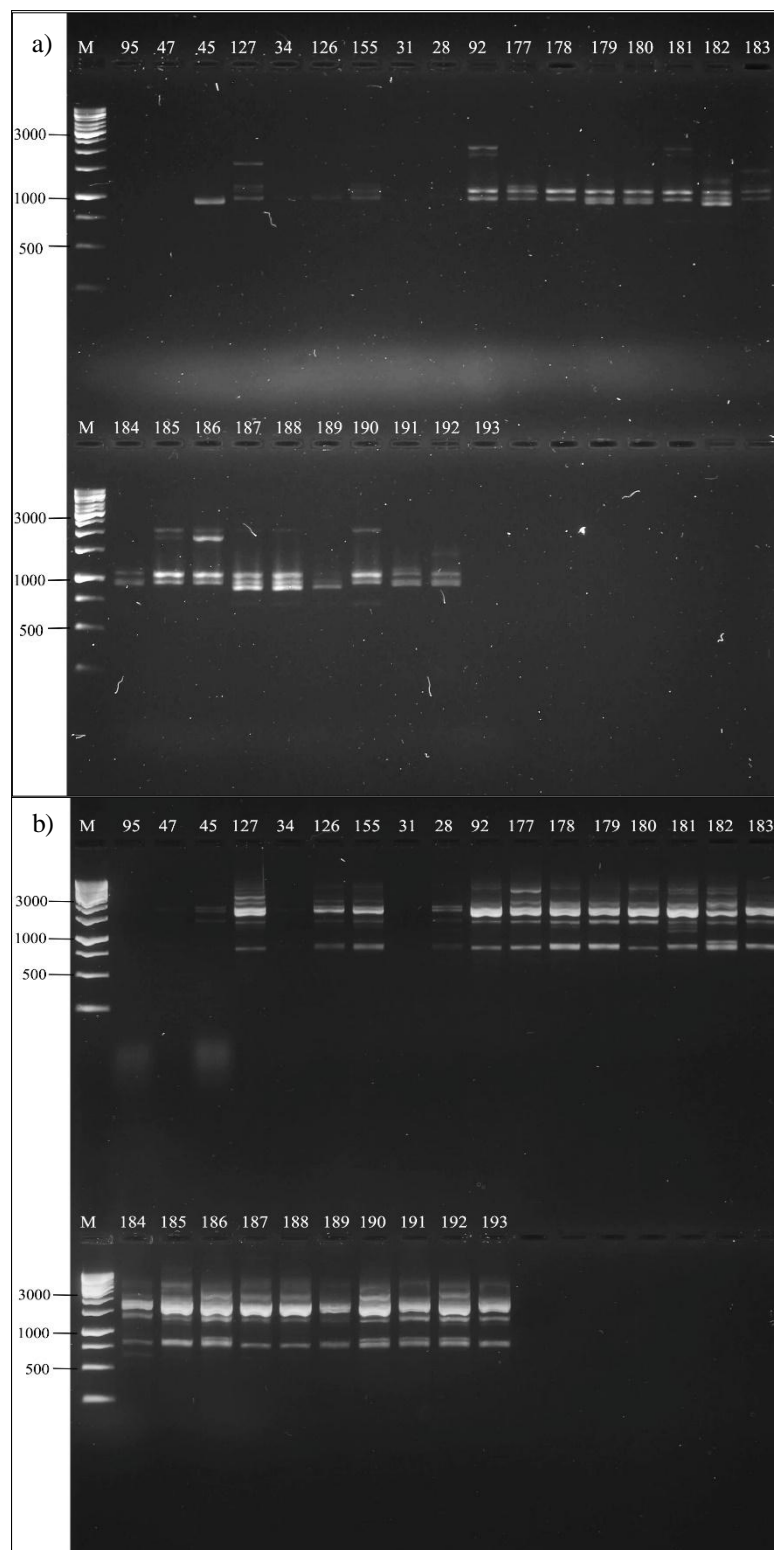
---



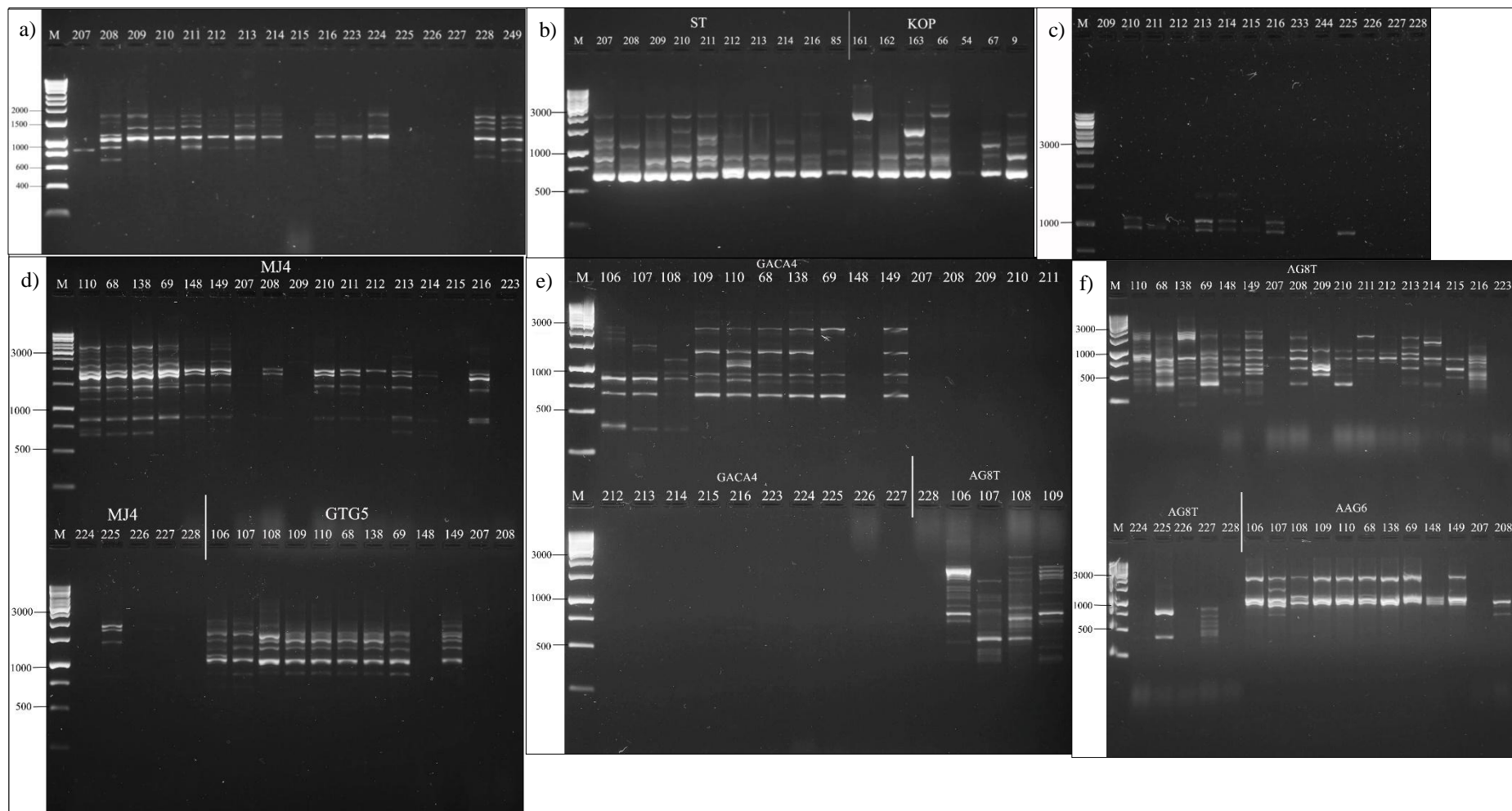
**Prilog 2.** ISSR profili prikazani na 1,5% agaroznom gelu za *Marasmius alliaceus* sa lokaliteta Kopaonik, Stara planina i Tara dobijeni umozavanjem sa sledecim prajmerima: a) GTG<sub>5</sub>; b) GACA<sub>4</sub>, ST- Stara planina, KOP- Kopaonik; c) GACA<sub>4</sub> d) Mj<sub>4</sub>; e) AG<sub>8</sub>T; f) GC



**Prilog 3.** ISSR profili prikazani na 1,5% agaroznom gelu za *Marasmius alliaceus* sa lokaliteta NP Biogradska gora dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: a) GTG<sub>5</sub>; b) GTG<sub>5</sub>; c) GACA<sub>4</sub>; d) GACA<sub>4</sub> e) GCC<sub>5</sub>; f)GCC<sub>5</sub>; g)AG<sub>8</sub>T

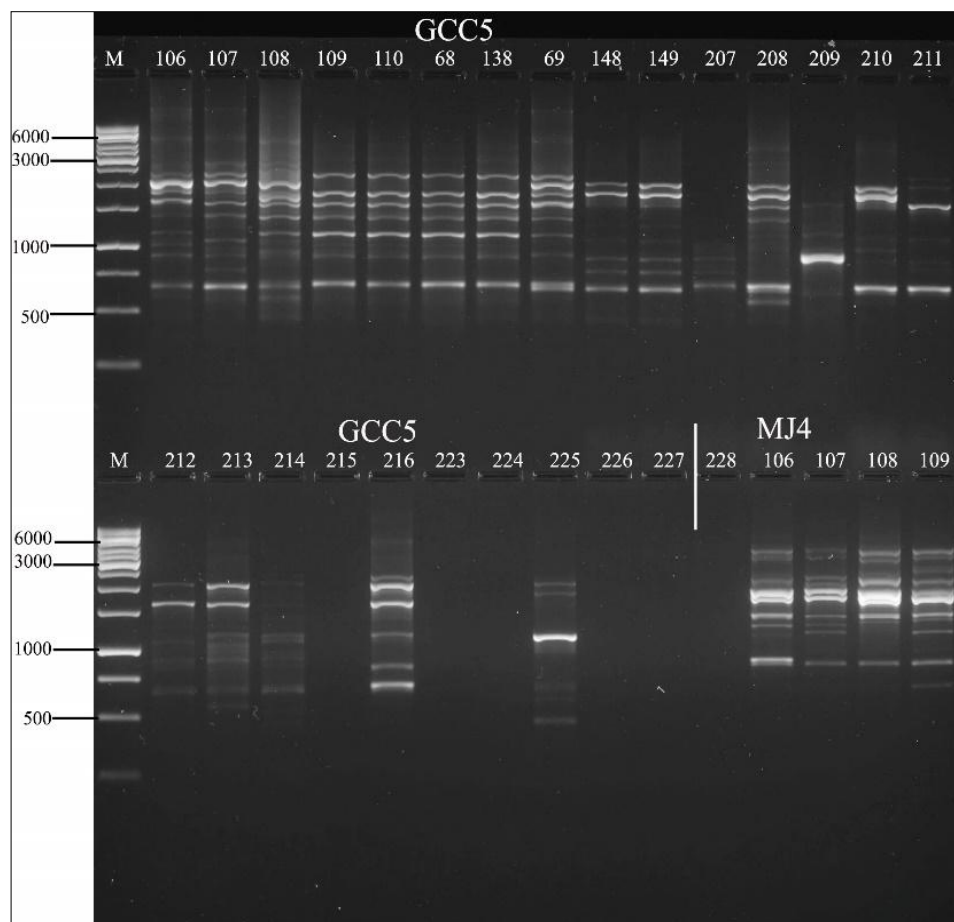


**Prilog 4.** ISSR profili prikazani na 1.5% agaroznom gelu za vrstu *Marasmius alliaceus* sa lokaliteta NP Biogradska gora dobijeni umeravanjem sa sledećim prajmerima: a) AAG<sub>6</sub> ; b) Mj4



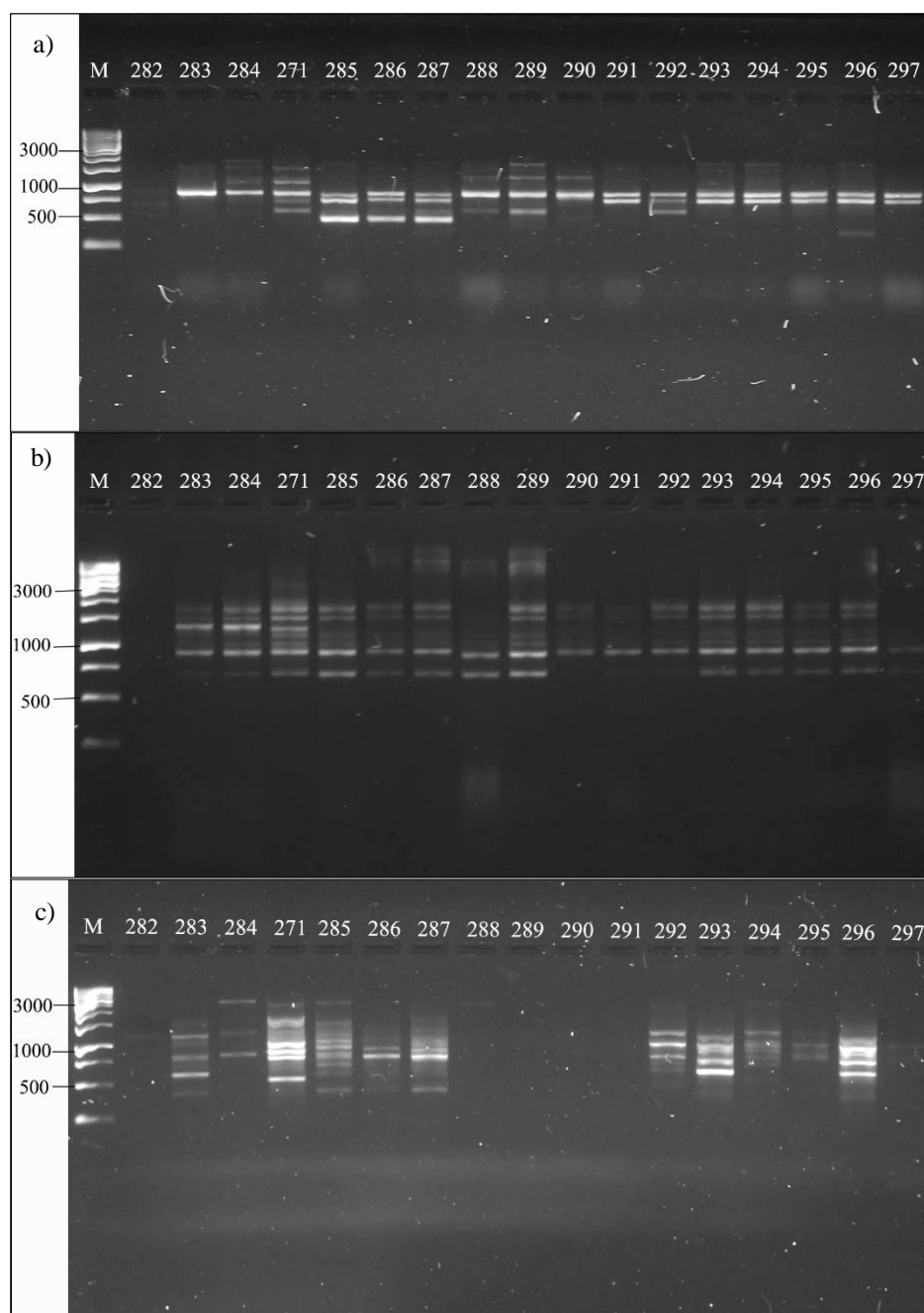
**Prilog 5.** ISSR profili prikazani na 1.5% agaroznom gelu za vrstu *Marasmius alliaceus* sa lokaliteta Stara planina dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: a) GTG<sub>5</sub>; b) GACA<sub>4</sub>, ST-Stara planina, KOP-Kopaonik c) AAG<sub>6</sub>; d) MJ<sub>4</sub>, GTG<sub>5</sub>; e) GACA<sub>4</sub>, AG<sub>8</sub>T; f) AG<sub>8</sub>T; AAG<sub>6</sub>



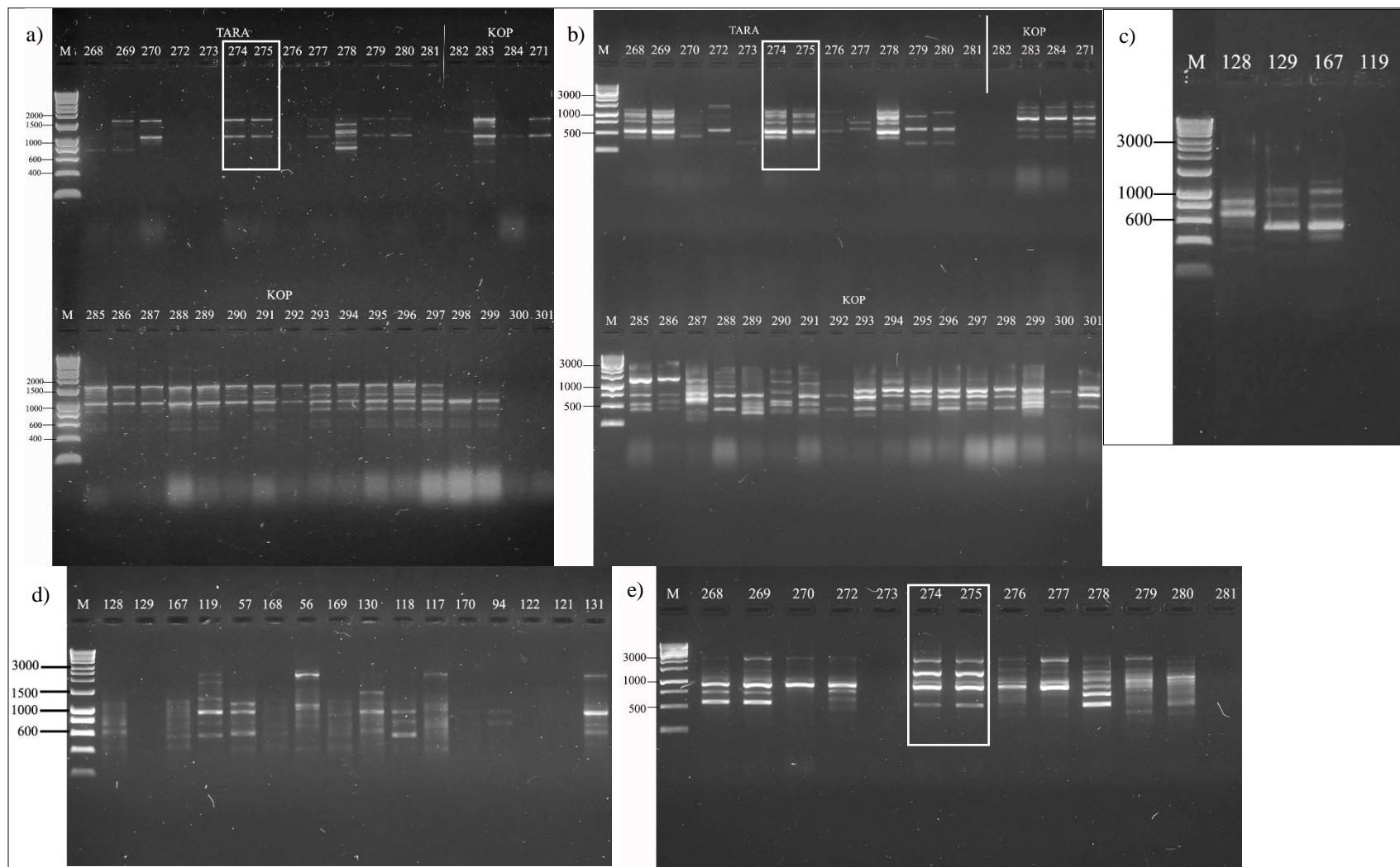


**Prilog 6.** ISSR profili prikazani na 1,5% agaroznom gelu za vrstu *Marasmius alliaceus* sa lokaliteta Stara planina dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: GCC<sub>5</sub> i Mj4.

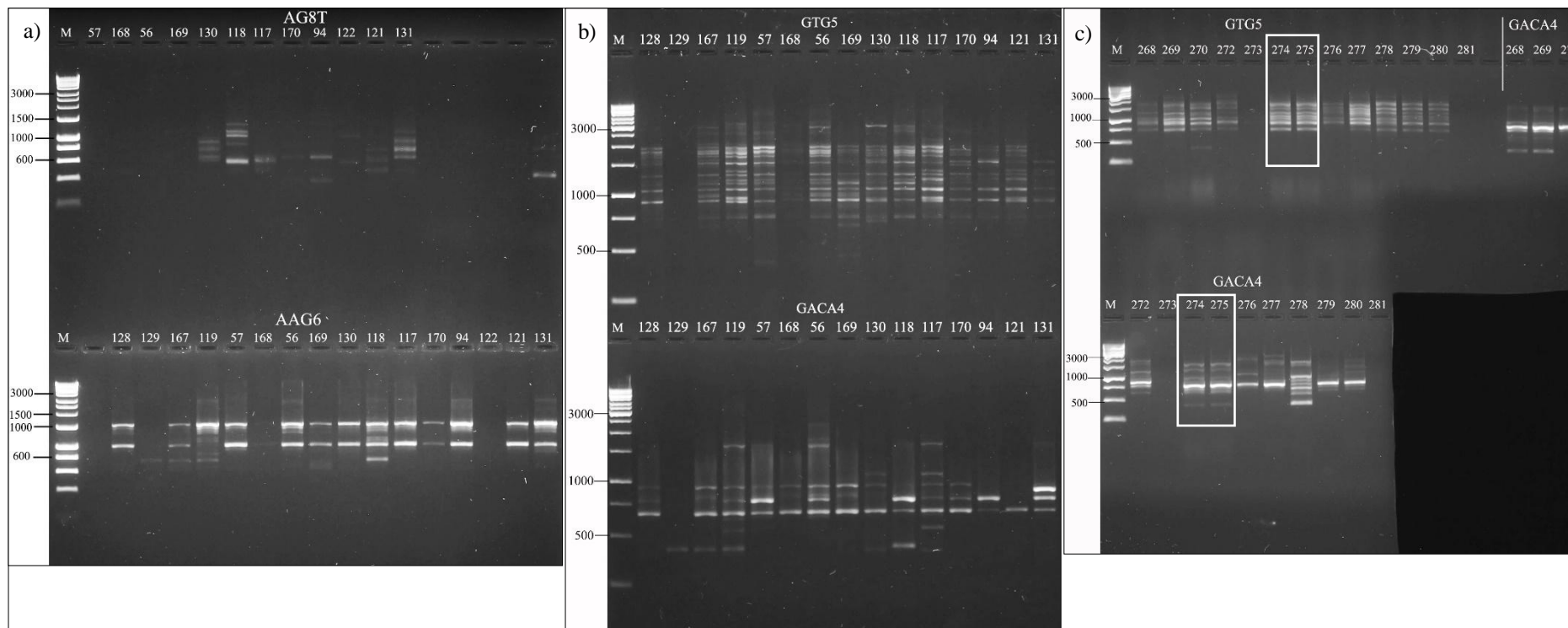




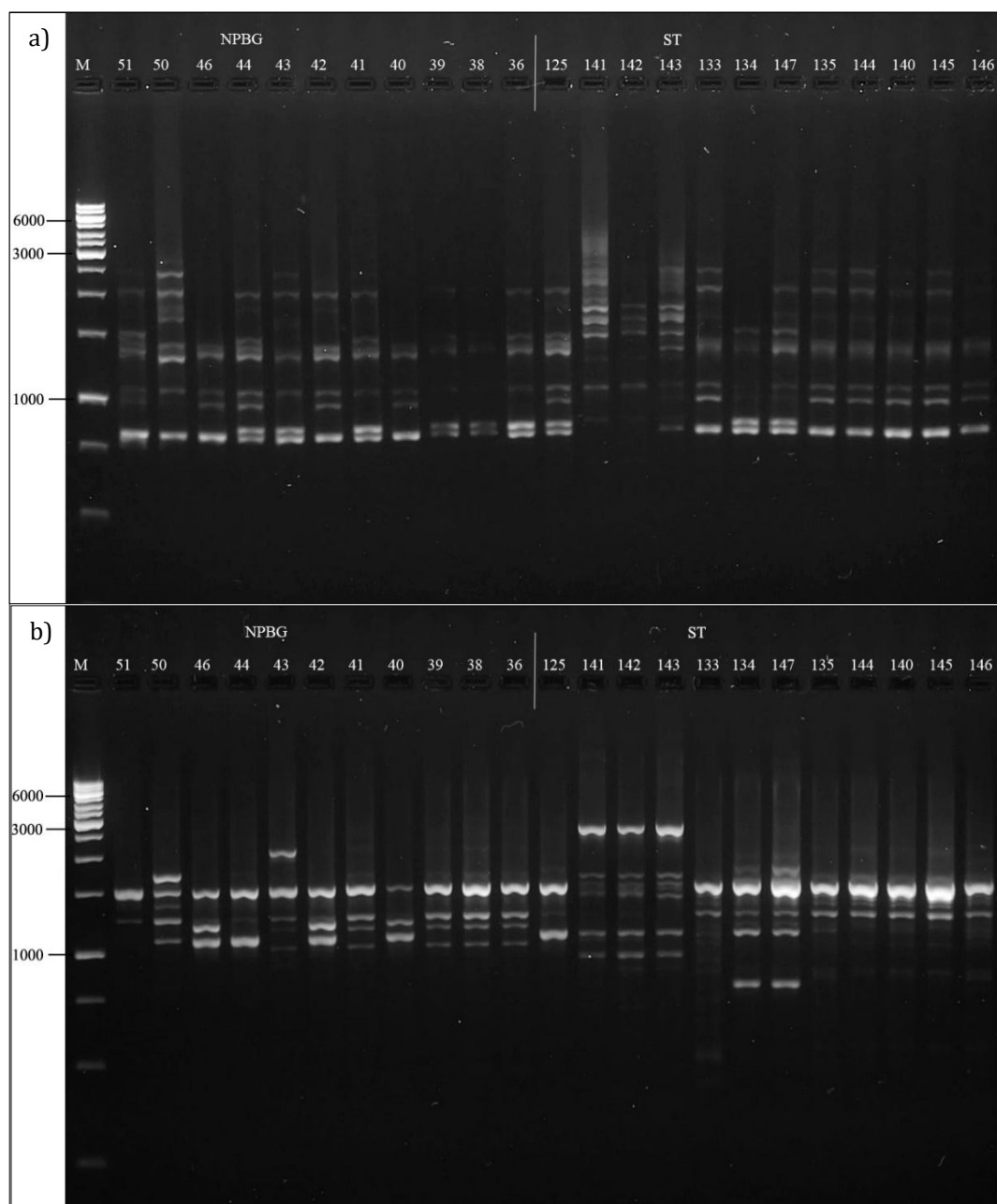
**Prilog 7.** ISSR profili prikazani na 1,5% agaroznom gelu za vrstu *Gymnopus androsaceus* sa lokaliteta Kopaonik dobijeni umozavanjem sa sledecim prajmerima: a) GACA<sub>4</sub>; b) GTG<sub>5</sub> c) GCC<sub>5</sub>



**Prilog 8.** ISSR profili prikazani na 1.5% agaroznom gelu za *Gymnopus androsaceus* sa lokaliteta Kopaonik i Tara (a, b, d i e) dobijeni umozavanjem sa sledecim prajmerima: a) AAG<sub>6</sub>; b) AG<sub>8</sub>T; c) AG<sub>8</sub>T d) GCC<sub>5</sub>, Tara; e) GCC<sub>5</sub>, Tara



**Prilog 9.** ISSR profili prikazani na 1.5% agaroznom gelu za *Gymnopus androsaceus* sa lokaliteta Tara dobijeni umožavanjem sa sledećim prajmerima: a) AG<sub>8</sub>T i AAG<sub>6</sub>; b) GTG<sub>5</sub> i GACA<sub>4</sub>; c) GTG<sub>5</sub> i GACA<sub>4</sub>



**Prilog 10.** ISSR profili prikazani na 1.5% agaroznom gelu za *Marasmius rotula* sa lokaliteta Biogradska gora (NPBG) i Stara planina (ST) a) GTG<sub>5</sub>; b) GACA<sub>4</sub>

**UNIVERZITET U NOVOM SADU**  
**PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET**  
**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj:  
RBR

Identifikacioni broj:  
IBR

Tip dokumentacije: Monografska dokumentacija  
TD

Tip zapisa: Tekstualni štampani materijal  
TZ

Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): Doktorska disertacija  
VR

Ime i prezime autora: MSc Eleonora Bošković  
AU

Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): dr Maja Karaman, vanredni profesor  
dr Vladislava Galović, viši naučni saradnik  
MN

Naslov rada: Molekularni i morfološki diverzitet populacija gljiva rodova  
NR Marasmius Fr. 1836, Mycetinis Earle 1909 i Gymnopus (Pers.)  
Gray 1821 u šumskim ekosistemima Nacionalnih parkova Srbije i  
Crne Gore

Jezik publikacije: srpski  
JP

Jezik izvoda: srp. / eng.  
JI

Zemlja publikovanja: Srbija  
ZP

Uže geografsko područje: AP Vojvodina  
UGP

Godina: 2019.  
GO

Izdavač: autorski reprint  
IZ

Mesto i adresa: Novi Sad, Departman za biologiju i ekologiju, Trg Dositeja  
MA Obradovića 2

Fizički opis rada: (8 poglavlja / 128 stranica / 48 slika / 31 tabela/ 123 referenci / 10  
FO priloga)

Naučna oblast: biologija  
NO

Naučna disciplina: mikologija  
ND

Predmetna odrednica, ključne reči: makrogljive, *Marasmius*, geneti, populaciona genetika, filogenija,  
PO morfološka varijabilnost

UDK

Čuva se:

ČU

Važna napomena:

VN

Izvod:

IZ

U biblioteci Departmana za biologiju i ekologiju, Trg Dositeja  
Obradovića 2, Novi Sad

nema

Ciljevi istraživanje ove doktorske disertacije bili su određivanje makroskopskih i mikroskopskih karakteristika plodonosnih tela analiziranih vrsta roda *Marasmius*, *Gymnopus* i *Mycetinis* i njihove varijabilnosti između populacija, određivanje uticaja klimatskih faktora na varijabilnost morfoloških karaktera, određivanje brojnosti i rasprostranjenja jedinki na odabranim lokalitetima u okviru Nacionalnih parkova Srbije i Crne Gore (Kopaonik, Stara planina, Biogradska gora) koristeći ISSR metodu, kao i određivanje osnovnih populaciono-genetičkih parametara i analiza filogenetskih odnosa u okviru roda *Marasmius*.

Kod vrste *M. alliaceus* utvrđeno je da se na osnovu morfoloških karaktera populacija sa Stare planine delimično izdvaja, dok je kod populacije Biogradska gora uočena najveća heterogenost u ispitivanim karakterima. Kod vrste *G. androsaceus* uočeno je da nema jasnog izdvajanja populacija, odnosno ispitivane populacije su pokazale heterogenost u ispitivanim morfološkim karakterima. Uočena je statistički značajna ( $p < 0.05$ ) korelacija između morfoloških karaktera i faktora sredine kod obe analizirane vrste *M. alliaceus* i *G. androsaceus*.

Određivanjem broja i veličine geneta ISSR metodom u populacijama vrsta *M. alliaceus*, *M. rotula* i *G. androsaceus* utvrđeno je da ove vrste formiraju relativno male gene (od nekoliko desetina centimetara do 15m) koji se nalaze u relativnoj blizini jedni od drugih (nekoliko metara).

Određivanjem parametara molekularnog diverziteta (AMOVA, Fst) kod populacija vrsta *M. alliaceus* i *G. androsaceus* utvrđeno je da su populacije obe ispitivane vrste značajno genetički diferencirane (Fst vrednosti veće od 0.25) odnosno da postoji mali protok gena između njih.

Filogenetska analiza ITS + LSU i ITS + LSU + EF-1 $\alpha$  sekvenci u ovom radu, podržava trenutno prihvaćeno grupisanje Evropskih vrsta roda *Marasmius* u sekcije na osnovu makro- i mikromorfoloških karaktera. Međutim, dobijeni rezultati ne podržavaju u potpunosti grupisanje nižih infrageneričkih kategorija (podsekcija i serija). Takođe, podsekcijska klasifikacija evropskih *Marasmius* vrsta analiziranih u ovom radu ne predstavlja monofiletske linije.

Datum prihvatanja teme od strane Senata:

DP

Datum odbrane:

DO

Članovi komisije:

(ime i prezime / titula / zvanje / naziv  
organizacije / status)

KO

23.03.2017.

predsednik: dr Jelena Vukojević, redovni profesor,  
Univerzitet u Beogradu,  
Biološki fakultet

član (mentor): dr Maja Karaman, vanredni profesor  
Univerzitet U Novom Sadu,  
Prirodno-matematički fakultet

član (mentor): dr Vladislava Galović, viši naučni saradnik,

- Univerzitet u Novom Sadu,  
Institut za nizijsko šumarstvo i zaštitu  
životne sredine
- član: dr Ivica Tamaš, naučni saradnik,  
Univerzitet u Novom Sadu,  
Prirodno-matematički fakultet
- član: dr Nataša Kočiš Tubić, naučni saradnik,  
Univerzitet u Novom Sadu,  
Prirodno-matematički fakultet
- član Zoran Galić, naučni savetnik  
University of Novi Sad,  
Institute of Lowland Forestry and Environment

**UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OF SCIENCES  
KEY WORD DOCUMENTATION**

Accession number:  
ANO

Identification number:  
INO

Document type: Monograph documentation  
DT

Type of record: Textual printed material  
TR

Contents code: PhD Thesis  
CC

Author: Msc Eleonora Bošković  
AU

Mentor: PhD Maja Karaman, associate professor  
PhD Vladislava Galović, research associate  
MN

Title: Molecular and morphological diversity of fungal populations of  
genera *Marasmius* Fr. 1836, *Micetinis* Earle 1909 and *Gymnopus*  
(Pers.) Grey 1821 in forest ecosystems of National parks of Serbia  
and Montenegro  
TI

Language of text: Serbian  
LT

Language of abstract: eng. / srp.  
LA

Country of publication: Republic of Serbia  
CP

Locality of publication: AP Vojvodina  
LP

Publication year: 2019.  
PY

Publisher: Author's reprint  
PU

Publication place: Novi Sad, Department of Biology and Ecology,  
Faculty of Sciences, Trg Dositeja Obradovica 2  
PP

Physical description: Chapters: 8; Pages: 128, References:123; Figures: 48 Tables: 31;  
Attachments: 10  
PD

Scientific field: Biology  
SF

Scientific discipline: Mycology  
SD

Subject, Key words: macrofungi, *Marasmius*, genets, population genetics, phylogeny,  
morphological variability  
SKW

UC



Holding data:

HD

Note:

N

Abstract:

AB

Faculty of Science Library, 21000 Novi Sad, Trg Dositeja  
Obradovica 3, Serbia

none

The goals of this doctoral thesis were to determine the macroscopic and microscopic characteristics of the fruit bodies of the genus *Marasmius*, *Gymnopus* and *Mycetinis* and their variability among populations, determining the influence of climatic factors on the morphological variability of fruit bodies, determining the number and distribution of individuals at selected sites within the National Parks of Serbia and Montenegro (Kopaonik, Stara Planina, Biogradska Gora) using the ISSR method, as well as determining basic population-genetic parameters and analysis of phylogenetic relations within the genus *Marasmius*.

For the species *M. alliaceus*, it has been determined that the population of Stara planina is partially isolated, while the population of Biogradska gora has the highest heterogeneity in the investigated morphological characters. For the species *G. androsaceus* it was noticed that there was no clear segregation of populations, thus the investigated populations showed heterogeneity in the examined morphological characters.

A statistically significant ( $p < 0.05$ ) correlation between morphological and environmental factors in both analyzed species *M. alliaceus* and *G. androsaceus* was observed.

Determination of the number and size of the genets by ISSR method in populations of species *M. alliaceus*, *M. rotula* and *G. androsaceus*, showed that these species form relatively small genes (from few centimeters to 15 meters) located in relative proximity to each other (several meters).

By determining molecular diversity parameters (AMOVA, Fst) in populations of species *M. alliaceus* and *G. androsaceus* it has been found that the populations of both investigated species are significantly genetically differentiated (Fst values greater than 0.25), ie there is a small flow of gene between them.

The phylogenetic analysis of ITS + LSU and ITS + LSU + EF-1 $\alpha$  sequence datasets supports the currently accepted, morphologically based groupings of sections of European species of genus *Marasmius*. However, the results obtained in this study do not fully support the grouping of lower infra-generic categories (subsections and series). Also, the subsection classification of the European *Marasmius* species analyzed in this paper does not represent monophyletic lineages.

Accepted on Senate on:

AS

Defended:

DE

23.03.2017.

Thesis Defend Board:  
DB

- president: PhD Jelena Vukojević, professor,  
University of Belgrade,  
Faculty of Biology
- member PhD Maja Karaman, associate professor  
University of Novi Sad,  
Faculty of Sciences
- member PhD Vladislava Galović, senior research associate  
University of Novi Sad,  
Institute of Lowland Forestry and Environment
- member: PhD Ivica Tamaš, research associate,  
University of Novi Sad,  
Faculty of Sciences
- member: PhD Nataša Kočiš Tubić, research associate,  
University of Novi Sad,  
Faculty of Sciences
- member: PhD Zoran Galić, principal research fellow  
University of Novi Sad,  
Institute of Lowland Forestry and Environment

## Biografija



Eleonora Bošković (rođ. Čapelja) rođena je 03.05.1987. u Novom Sadu. Godine 2006. upisuje Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Novom Sadu, Departman za biologiju i ekologiju, smer *molekularni biolog*. Osnovne studije završava 2010. godine. Iste godine upisuje master studije na Univerzitetu u Novom Sadu, Departman za biologiju i ekologiju, smer: diplomirani biolog – master, molekularni biolog. Master rad „*Molekularna determinacija autohtonih gljiva analizom rDNK sekvenci ITS1 regiona*“ pod mentorstvom dr Maje Karaman i dr Vladislave Galović brani 27.09.2012.

Doktorske studije (smer: doktor nauka-biološke nauke) na Katedri za mikrobiologiju, Departmana za biologiju i ekologiju upisuje 2012. godine, kada je i promovisana u zvanje *istraživač pripravnik* za užu naučnu oblast *Mikrobiologija*. Od iste godine angažovana je u izvođenju vežbi iz nekoliko predmeta na Katedri za mikrobiologiju. Tema doktorske disertacije pod naslovom: „*Molekularni i morfološki diverzitet populacija gljiva rodova Marasmius Fr. 1836, Mycetinis Earle 1909 i Gymnopus (Pers.) Gray 1821 u šumskim ekosistemima Nacionalnih parkova Srbije i Crne Gore*“ prihvaćena je od strane Senata Univerziteta u martu 2017. godine.

Od 2013. do 2014. godine učestvovala je na kratoročnom projektu pod nazivom „*Formiranje baze podataka gljiva kao osnove za očuvanje njihovog biodiverziteta*“ Pokrajinskog sekretarijata za nauku i tehnološki razvoj. U periodu od 2014. do 2016. godine angažovana je na SCOPES 2013-2015: Joint Research projektu pod nazivom „*The role of metal homeostasis, reduction and sporulation in the metal resistance of Gram-positive bacteria*“. Zaposlena je od 2017. godine kao *istraživač saradnik* na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, III 43002, „*Biosensing tehnologije i globalni sistem za kontinuirana istraživanja i integrisano upravljanje ekosistemima*“.

Aktivan je član Gljivarskog društva Novi Sad.