



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



Andrijana Andrić

**ANALIZA VARIJABILNOSTI TAKSONA *Ornithogalum umbellatum* L. 1753  
(Hyacinthaceae) PRIMENOM MOLEKULARNIH MARKERA I  
ANATOMSKO-MORFOLOŠKIH KARAKTERA**

- doktorska disertacija -

Novi Sad, 2015.

## *PREDGOVOR*

*Analize u okviru ove doktorske disertacije su deo projekata Laboratorije za istraživanje i zaštitu biodiverziteta, Departmana za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu. Terenska istraživanja su započeta kao deo međunarodnog projekta “Assessing LARge-scale Risks for biodiversity with tested Methods, FP6-2006-TTC No: 046002 (ALARM)”. Aktuelni projekat u okviru koga su rađene eksperimentalne analize je “Konzervaciona strategija za očuvanje zaštićenih i strogo zaštićenih vrsta u Srbiji – osolike muve (Diptera: Syrphidae) kao model organizmi” (173002), podržan od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.*

*Zahvaljujem se mentorki i članovima komisije na konstruktivnim sugestijama i korisnim savetima koji su doprineli poboljšanju kvaliteta ovog rada.*

*Takođe se zahvaljujem kolegama iz različitih laboratorija u kojima su rađeni pojedini delovi ovog istraživanja i svima koji su učestvovali u uzorkovanju biljnog materijala.*

*Posebnu zahvalnost dugujem: profesoru Vujiću, Milici, Nataši, Tijani, Dušanki, Sonji, Ani, Mariu, Milanu, Nenadu i svima koji su mi na bilo koji način pomogli tokom različitih faza realizacije ove doktorske disertacije.*

*Ovaj rad posvećujem svojoj porodici, Gobi, Džigiju i Zdravku.*

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. PREGLED LITERATURE .....	4
2.1 Značaj roda <i>Ornithogalum</i> u hortikulturi i kao prirodnog resursa u farmaciji .....	4
2.2 Sistematska pripadnost taksona roda <i>Ornithogalum</i> .....	6
2.2.1 Citotaksonomija .....	10
2.3 Distribucija, ekologija i biologija vrsta roda <i>Ornithogalum</i> .....	14
2.4. Morfologija i anatomija vegetativnih i reproduktivnih organa vrsta roda <i>Ornithogalum</i> .....	20
2.4.1 Morfološke karakteristike vrsta roda <i>Ornithogalum</i> .....	20
2.4.1.1 Razlike morfoloških karaktera <i>Ornithogalum divergens</i> i <i>O. umbellatum</i> .....	22
2.4.2 Anatomske karakteristike vrsta roda <i>Ornithogalum</i> .....	25
2.5 Molekularni markeri u istraživanju roda <i>Ornithogalum</i> .....	29
2.5.1 RAPD metoda u detekciji polimorfnosti genoma .....	32
3. CILJ ISTRAŽIVANJA .....	37
4. MATERIJAL I METODE .....	38
4.1. Materijal .....	38
4.2. Metode .....	40
4.2.1. Molekularne analize .....	40
4.2.1.1. Izolacija genomske DNK.....	41
4.2.1.2. RAPD-PCR analiza .....	42
4.2.1.3. Statistička obrada podataka .....	43
4.2.2. Analize anatomskih karakteristika .....	44
4.2.3. Analize morfoloških karakteristika .....	46
5. REZULTATI.....	49
5.1. RAPD-PCR analiza.....	49
5.2. Analiza anatomskih karakteristika.....	61
5.2.1. Anatomske karakteristike lista .....	62
5.2.2. Anatomske karakteristike skapusa .....	64
5.2.3. Anatomske karakteristike plodnika.....	66
5.2.4. Interpopulaciona varijabilnost anatomskih karaktera .....	67
5.3. Analiza morfoloških karakteristika.....	76
5.3.1. Varijabilnost morfoloških karaktera analiziranih <i>O. umbellatum</i> i <i>O. divergens</i> .....	89
6. DISKUSIJA .....	92
6.1. Genetička varijabilnost i struktura populacija .....	92
6.2. Anatomske karakteristike.....	99

6.2.1. Varijabilnost anatomskih karaktera lista .....	99
6.2.2. Varijabilnost anatomskih karaktera skapusa .....	102
6.2.3. Varijabilnost anatomskih karaktera plodnika.....	103
6.2.4. Potencijalni taksonomski značaj anatomskih karaktera lista, skapusa i plodnika.....	104
6.2.5. Tipovi kristala i potencijalni značaj i poreklo sluzi .....	106
6.3. Morfološki karakteri .....	108
7. ZAKLJUČAK .....	118
8. LITERATURA .....	123
PRILOG .....	140

Lista skraćenica korišćenih u tekstu:

CTAB – hexadecyltrimethylammonium bromide (cetrimonijum bromid)

dNTPs – deoxynucleotide triphosphates (deoksinukleotid trifosfati)

EDTA – ethylenediaminetetraacetic acid (etilen diamin tetra sirćetna kiselina)

HCl – hlorovodonična kiselina

MgCl<sub>2</sub> – magnezijum hlorid

NaCl – natrijum hlorid

PVP – polyvinylpyrrolidone (polivinil pirolidon)

Taq – DNK polimeraza *T. aquaticus*

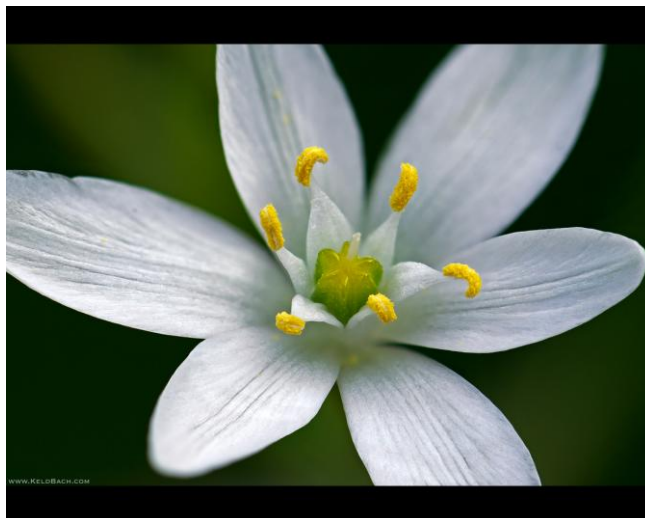
TE – Tris EDTA

Tris – Tris(hidroximetil)aminomethane (Tris(hidroksimetil)aminometan)

## 1. UVOD

Predmet ovog istraživanja je takson *Ornithogalum umbellatum* L. 1753. na teritoriji Srbije i okoline. Ovaj najpoznatiji i najrasprostranjeniji predstavnik roda *Ornithogalum* L. još uvek je nedovoljno istražen u ovom području. Kako je u Flori Srbije (Diklić, 1975) kao podvrsta opisan *O. umbellatum* subsp. *divergens* (Boreau), analizama su obuhvaćene i populacije ovog taksona. Mnogi autori (Zahariadi, 1980; Speta, 2000; Garbari i sar., 2003; 2007; Martínez-Azorín i sar., 2009; 2010) prihvataju stanovište da je *O. divergens* Boreau 1847. vrsta.

Latinski naziv roda *Ornithogalum* poreklom je iz grčkog jezika i znači “ptičje mleko” (*ornis* – ptica, *gala* – mleko). Postoje različita tumačenja ovog neobičnog imena; možda potiče iz činjenice da je ova biljka smatrana retkom i izuzetnom (Obermeyer, 1978), a moguće da je ime dobila jednostavno zbog beline svojih cvetova (Littlejohn, 2007). Ovaj naziv beleži još Dioskorides, u prvom veku nove ere, u *De Materia Medica* (knjiga druga, 174), jer “boja otvorenih cvetova sličići mleku”, a na osnovu opisa biljke smatra se da govori upravo o *O. umbellatum* (Osbaldeston, 2000). Ova se vrsta pominje još u Bibliji kao biljka koja se koristila u ishrani ljudi za vreme velike nestašice hrane tokom opsade drevne Palestine (Druga knjiga o Kraljevima 6:25), kada su se lukovice *O. umbellatum* skupo prodavale (Moldenke, 1954). Možda je upravo to razlog za nastanak imena “zvezda Vitlejema”, koje je i danas u širokoj upotrebi za ovu vrstu čiji se zvezdasti cvetovi (Slika 1) javljaju u proleće, iako se ime često koristi i kao naziv za neke druge vrste (Littlejohn, 2007), pa i za čitav rod *Ornithogalum*.



**Slika 1.** Cvet *Ornithogalum umbellatum* (www.keldbach.com)

U Flori srednje Evrope (Ascherson i Graebner, 1905) *O. umbellatum* se osim kao vitlejemska zvezda navodi i kao *Judenstern* (“jevrejska zvezda”, nemački), *dame d’onze heures* (“dama jedanaest sati”, francuski; verovatno jer su cvetovi otvoreni na direktnom suncu – otvaraju se kasno i zatvaraju rano u toku dana), “*ptičje mlijeko*” (hrvatski). U Flori Italije (Pignatti, 1982) pominje se narodni naziv “mleko od kokoške” (*latte di gallina*) za rod *Ornithogalum*, a “divlji luk” (*cipolline selvatiche*) za *O. umbellatum*, a poznato je i špansko ime “vučji beli luk” (*ajo de lobo*) (Speta, 1982). U Srbiji je za ovu vrstu i čitav rod prihvaćen naziv “ptičje mleko”, kao i u Mađarskoj (Soó, 1973), a kod nas je za *O. umbellatum* u upotrebi i ime “vranin luk” (Tatić i Petković, 1991).

Dugi niz godina *O. umbellatum* sensu lato se izučava sa različitih aspekata. Takson je nativan za južnu i južni deo centralne Evrope, proširio se i na sever gde je naturalizovan (Zahariadi, 1980); Mediteran se smatra centrom diverziteta, a rasprostranjen je i u Jugozapadnoj Aziji i Severnoj Africi, i introdukovan u Severnu Ameriku i Australiju (Martínez-Azorín, 2008; Martínez-Azorín i sar., 2010; EuroPlusMed, 2006; eFloras, 2008). Prirodna staništa ovih geofita veoma su raznovrsna. Zbog svojih atraktivnih cvetova i jednostavnog održavanja gaje se kao baštenske biljke (Littlejohn, 2007). U određenim područjima, gde su introdukovane, tretiraju se kao invazivni korov (Brosnan i sar., 2010). Pojedini delovi ovih biljaka su zabeleženi kao otrovni (Burrows i Tyrl, 2001) i potencijalno lekoviti (Mulholland i sar., 2013), a neki su se koristili u ishrani ljudi (Osbaldeston, 2000) i životinja (Ertuğ, 2000). Ove lukovičaste monokotile su sa

ekološkog aspekta značajne kao biljke-domaćini insektima oprašivačima, posebno nekim grupama osolikih muva, čiji adulti se hrane na cvetu, a larve se razvijaju u lukovicama (Popov, 2001; Speight, 2012); složeni odnosi sa ovim polinatorima još uvek su nedovoljno poznati.

Od svih rodova podfamilije Ornithogaloideae, *Ornithogalum* je poznat kao morfološki najslabije definisan i veoma heterogen, a u okviru roda naročito se izdvaja podrod *Ornithogalum* po izuzetnoj morfološkoj plastičnosti sa mnogim osobinama nejasno razdvojenim, čime se između ostalog i objašnjava taksonomska konfuzija (Martínez-Azorín, 2008). Veliki areal, te adaptacije na različita staništa uzrokuju značajnu varijabilnost, koja se ispoljava kroz razlike u karakterima ne samo na morfološkom, već i na anatomskom, citološkom i molekularnom nivou. Potrebu za revizijom ove grupe biljaka uočili su mnogi autori koji su koristili različite pristupe u cilju razjašnjenja taksonomije (van Raamsdonk, 1984; 1986; Moret i Galland, 1992; Herrmann, 2002; Garbari i sar., 2003; 2007; Martínez-Azorín i sar., 2009; 2010). Ipak, tačan broj pripadajućih vrsta, te konačan opis taksona, pitanja su bez jedinstvenog odgovora, a jedan od razloga za to je nedovoljna istraženost ove grupe biljaka u pojedinim delovima njihovog autohtonog areala.

Rodom *Ornithogalum* na području Srbije bavio se Anačkov (1997) izučavajući rasprostranjenje taksona, kao i ekološke karakteristike (Anačkov i sar., 1999). Što se tiče *O. umbellatum*, sprovedene su hemijske analize (Gašić i sar., 1989), a predstavljeni su i rezultati inicijalnih ispitivanja biomedicinskog potencijala (Rat i sar., 2011) i potencijalno značajnih morfoloških karaktera na infraspecijskom nivou (Rat i sar., 2010). Za analizu genetičke varijabilnosti pojedinih taksona *Ornithogalum* sprovedena su preliminarna istraživanja primenom RAPD molekularnih markera (Andrić, 2007; Andrić i sar., 2009; 2014a), a Rat i sar. (2014) prezentuju modifikovanu metodu izolacije genomske DNK kod predstavnika ovog roda.

Ovo istraživanje bavi se analizom genetičkog diverziteta i strukture populacija *O. umbellatum* i *O. divergens*, kao i utvrđivanjem nivoa fenotipske varijabilnosti praćenjem anatomskih i morfoloških karaktera. Obzirom da su neke vrste insekata polinatora višestruko i u različitim fazama razvića vezane za svoje biljke domaćine, poznavanje polimorfности i populacione strukture, kao i jedinstvenih oblika varijabilnosti u morfo-anatomskim karakteristikama ovih biljaka, može unaprediti znanja o kompleksnim ekološkim i biogeografskim odnosima ovih grupa organizama.



## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1 Značaj roda *Ornithogalum* u hortikulturi i kao prirodnog resursa u farmaciji

U okviru roda *Ornithogalum* neke vrste imaju veliki potencijal za baštensku ili komercijalnu produkciju (Joung i Roh, 2004) i od važnosti su za hortikulturu (Obermeyer, 1978; Littlejohn i Blomerus, 1997). Gaje se pre svega zbog svojih atraktivnih belih, žutih i narandžastih cvetova, ali i zbog činjenice da su jednostavne za održavanje. Otporne su i zahvalne za uzgajanje u različitim uslovima, mada im pogoduje više sunca i suvlje zemljište. Uglavnom su listopadne i bezmirisnih cvetova, ali neke južnoafričke vrste su zimzelene i cvetovi su im mirisni (Littlejohn, 2007). Vrsta *O. umbellatum* (kao i *O. nutans* L. i *O. pyramidale* L.) se koristi kao ukrasna biljka koja se gaji u baštama, sadi se u kasnu jesen i cveta u kasno proleće. Neki drugi predstavnici roda prodaju se kao rezano ili saksijsko cveće, među najpoznatijim su *O. arabicum* L., *O. saundersiae* Baker i *O. dubium* Houtt. (Littlejohn i Blomerus, 1997), sve popularniji i u našim cvećarama. *O. thyrsoides* Jacq. je prva biljka koja se kao sveže rezano cveće počela izvoziti iz južne Afrike širom sveta (Littlejohn, 2007). Njegove karakteristike (pre svega visina skapusa) čine ga idealnim za ovu namenu, a niže forme pogodne su za saksije (Joung i Roh, 2004).

Poput mnogih biljaka koje se gaje kao ukrasne, te distribuiraju širom sveta u komercijalne svrhe, *Ornithogalum* je introdukovan u područja gde u prirodi nije postojao. Vrsta *O. umbellatum* je u Severnoj Americi korišćena kao dekorativna biljka, ali je “pobegla” iz bašta i subspontano se nekontrolisano proširila i na prirodna staništa. Relativno je otporna i kada uslovi pogoduju brzo i lako osvaja, najčešće otvorene travnate površine, pašnjake i livade, parkove, napuštena zemljišta, nastanjuje se i pored puteva i pruga. Danas se nalazi na listama invazivnih vrsta ([www.invasive.org](http://www.invasive.org); [www.invasiveplantatlas.org](http://www.invasiveplantatlas.org)), prvenstveno za istočne države SAD. Stoga se publikacije vezane za ovo područje bave iznalaženjem odgovarajućih herbicida i drugih načina za suzbijanje *O. umbellatum* kao invazivne korovske biljke (Main i sar., 2004; Brosnan i sar., 2010) koja najviše predstavlja problem na terenima za golf i druge sportove, kao i na dvorišnim travnjacima. Ova je vrsta registrovana i u Australiji, gde je takođe unešena kao ornamentalna baštenska biljka (Martínez-Azorín, 2008), a sada se u pojedinim regionima

pominje kao korov ([keyserver.lucidcentral.org/weeds](http://keyserver.lucidcentral.org/weeds)) naročito problematičan u poljoprivredi ([riverina.lls.nsw.gov.au](http://riverina.lls.nsw.gov.au)).

Za predstavnike roda *Ornithogalum* karakteristično je prisustvo pojedinih otrovnih materija, najčešće u lukovicama, ali i u ostalim biljnim organima. Nekoliko *Ornithogalum* vrsta može se naći na listama otrovnih biljaka južne Afrike (Bullock, 1952; Obermeyer, 1978). Kao introdukovane biljke, nalaze se i na spisku toksičnih vrsta Severne Amerike, usled prisustva alkaloida i kardenolida (Burrows i Tyrl, 2001). Upravo su sa severnoameričkim *O. umbellatum* i započeta klinička ispitivanja uticaja bioaktivnih komponenata ove biljke na čoveka (Vogelsang, 1955). Kardenolidi su veoma štetni za mnoge životinje, jer inhibitorno deluju na sisteme koji održavaju elektro-potencijal u ćelijama (Agrawal i Konno, 2009). Glikozidi generalno učestvuju u procesima oksidacije i izgradnje taninskih materija; to su u osnovi jedinjenja šećera – najčešće glukoze sa različitim organskim materijama (alkoholima, aldehidima i fenolima). Većinom su otrovni, ali su sa druge strane vrlo cenjeni jer su našli primenu u medicini, te se neke biljke smatraju lekovitim upravo zbog prisustva glikozida u svojim organima (Tatić i Petković, 1991). Slična priča je i sa alkaloidima, koji se u biljnim ćelijama nalaze kao krajnji produkti u procesu razmene materija. Njihova fiziološka funkcija je diskutabilna i uglavnom se smatra da nemaju primarnu ulogu u metabolizmu. Ekološki značaj je zaštita od herbivora, naime biljke su usled prisustva alkaloida gorkog ukusa i često otrovne (Tatić i Petković, 1991).

Gašić i sar. (1989) su radili hemijska istraživanja *O. umbellatum* sa ovog podneblja i ustanovili da ni lukovica ni nadzemni deo biljke ne sadrže alkaloide. Pokazali su prisustvo dva flavonoida – flavon apigenin i flavonol kvercetin kao glikozid. Pored potencijalnog značaja izolovanih jedinjenja za hemotaksonomiju, naglašavaju da bi *O. umbellatum* mogao da se koristi kao medicinska sirovina – za izolovanje kvercetina, fiziološki aktivnog jedinjenja koje poboljšava otpornost kapilara. Ferth i sar. (2001) su radili hemijsku analizu *O. umbellatum* s.l. izdvojivši određene glikozide kao tipične za ovu grupu. Zaključili su da je sastav kardenolida među uzorkovanim populacijama varirao u zavisnosti od porekla i distribucije, ali ne i vezano za različit broj hromozoma pojedinih taksona. Stoga se može reći da je toksičnost, tj. prisustvo kako alkaloida (Gašić i sar., 1989) tako i glikozida (Ferth i sar., 2001) geografski uslovljena, u smislu da nisu uvek iste materije pronađene u uzorcima različitog geografskog porekla pripadnika istog taksona. Evropske *Ornithogalum* vrste karakteriše prisustvo kardenolida i nekih flavonoida, a

kao glavna aktivna komponenta *O. umbellatum* zabeležen je citotoksični konvalotoksin (Mulholland i sar., 2013). Efekti nalik digitalisu (poznatom srčanom glikozidu izdvojenom iz istoimene biljke) poznati su za *O. umbellatum* još od polovine prošlog veka (Vogelsang, 1955). Iako je prisustvo kardenolida, koje objašnjava ovo farmakološko dejstvo, potvrđeno u biljkama ove vrste, ispitivanja u tom smeru nisu nastavljena, te mogućnosti primene u medicini nisu u potpunosti istražene (Plančić i sar., 2014).

U farmaceutskom smislu više su izučavani predstavnici roda *Ornithogalum* iz Afrike i Azije, poznati još u tradicionalnoj medicini po svom anti-inflamatornom, anti-mikrobnom i anti-kancerogenom dejstvu (Chen i sar., 2010; Plančić i sar., 2014). Terapeutski potencijal bioaktivnih jedinjenja izolovanih iz ovih biljaka potvrđen je i u savremenim studijama i još uvek je predmet istraživanja (Kuroda i sar., 2001; Gryszkiewicz-Wojtkielewicz i sar., 2003; Mulholland i sar., 2004; Suhr i Thiem, 2004; Zhou i sar., 2005; Chen i sar., 2012; Wan i sar., 2012).

## 2.2 Sistematska pripadnost taksona roda *Ornithogalum*

Rod *Ornithogalum* je jedan od najbogatijih vrstama i taksonomski najznačajnijih iz familije Hyacinthaceae; pripada podfamiliji Ornithogaloideae rasprostranjenoj širom Afrike i Evroazije (Manning i sar., 2009; Martínez-Azorín i sar., 2011). Postoji više različitih sistema klasifikacije koji ovaj rod svrstavaju u različite familije. U ovom radu je prihvaćena sledeća klasifikacija: rod: *Ornithogalum* L. 1754.; tribus: Hyacintheae; podfamilija Ornithogaloideae; familija: Hyacinthaceae Batsch ex Borckhausen 1797.; red: Asparagales Bromhead 1838.; nadred: Liliales Takhtajan 1967.; potklasa: Liliidae Takhtajan 1967.; klasa: Liliopsida Scopolii 1960. (Dahlgren i sar., 1985; Takhtajan, 1997; APG II, 2002).

Definicija taksona u okviru ove grupe problematična je za taksonome već duže vreme (Martínez-Azorín i sar., 2011); tačan broj pripadajućih vrsta još uvek je kontroverzno pitanje. U Flori Evrope (Zahariadi, 1980) opisano je jedanaest podrodova i 34 vrste roda *Ornithogalum*, a u okviru podroda *Ornithogalum* (= *Ornithogalum* L. subgen. *Heliochamos* sensu Baker 1873.) kao posebne vrste predstavljeni su *O. umbellatum* L. 1753. i *O. divergens* Bureau 1887. (*Not. Pl. Fr.* 15 (1887)). Trinaest vrsta (18 taksona - sa podvrstama i varijetetima) zabeleženo je u Flori Srbije (Diklić, 1975) za rod *Ornithogalum*. Za *O. umbellatum* L. 1753. (*Spec. Plant. ed.* 1:307;

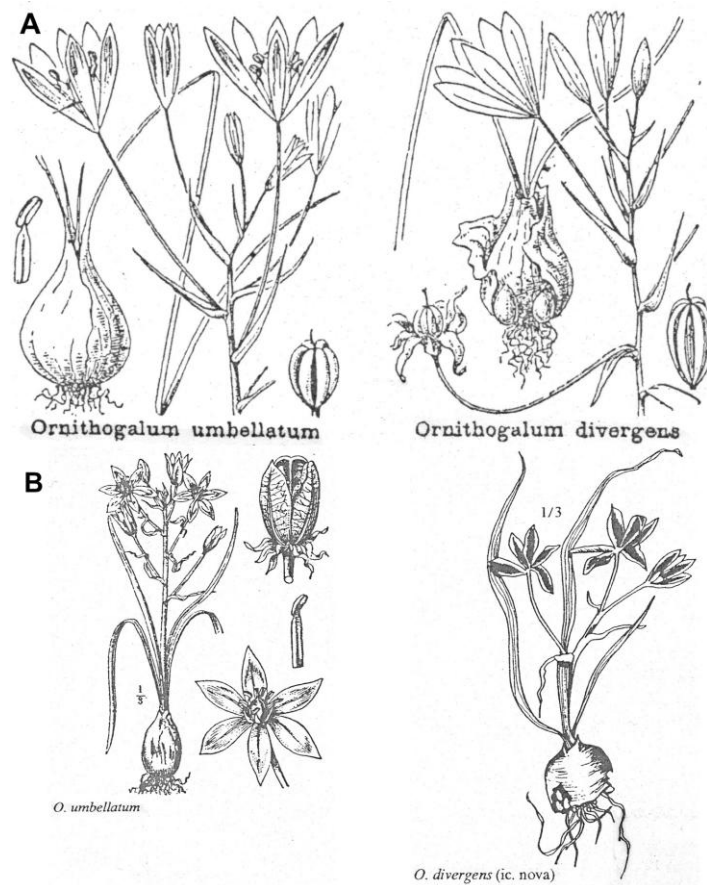
Pančić 1874. Fl. Knež. Srbije: 684; Hayek 1932. Prodr. Fl. Pen. Balc. 3:79.) opisane su dve podvrste: *O. umbellatum* subsp. *umbellatum* i *O. umbellatum* subsp. *divergens* (Boreau) (Asch. et Graeb. 1905. Syn. 3: 246; *O. divergens* Bor. 1849. Fl. Centr. Fr. 2(2): 507; Pančić 1884. Dodatak Fl. Knež. Srbije: 227; *O. umbellatum* L. subvar. *divergens* (Bor.) Beck 1904. Glasn. 15:210; Hayek l. c.). *O. divergens* kod nas prvi put pominje Petrović (1882) svrstavajući ga u spisak novih vrsta srpske flore koji objavljuje u Flori okoline Niša. Osam vrsta (ukupno 13 taksona) roda *Ornithogalum* opisano je u Flori Mađarske (Soó, 1973), a *O. divergens* je i ovde predstavljen kao podvrsta *O. umbellatum*.

Opisi rodova u "Genera plantarum" (Linnaeus, 1754) su u većini slučajeva zasnovani samo na jednoj vrsti; kako se za *Ornithogalum* navodi da latice nisu jednobojne, već da se boja preliiva, što je slučaj sa *O. umbellatum* (belo-zelena), a i ovaj je takson nativan za geografsku oblast gde je Linnaeus radio, smatra se da je upravo ova vrsta korišćena kao lektotip pri opisu (van Raamsdonk, 1984). Stoga se uprkos brojnim neslaganjima botaničara u prošlosti vrsta *O. umbellatum* smatra za *type species* (van Raamsdonk, 1984; Martínez-Azorín i sar., 2011), odnosno *typus generis* (Garbari i sar., 2003) roda *Ornithogalum*. Rang vrste ovog taksona uglavnom se ne dovodi u pitanje, ali se infraspecijska taksonomija često različito predstavlja.

Taksonomski položaj *O. divergens* imao je mnogo različitih interpretacija (Martínez-Azorín i sar., 2009); smatran je podvrstom (Ascherson i Graebner, 1905; Rouy, 1927; Zahariadi, 1966; Meikle, 1985), varijetetom (Fiori, 1923), heksaploidnom formom poliploidnog kompleksa *O. umbellatum* (Moret i sar., 1991; Moret, 1992), a takođe je često identifikovan kao *O. umbellatum* i smatran sinonimom (Cullen i Ratter, 1967; Tornadore i Garbari, 1979; Landström, 1989). Zabeležena su mišljenja da je diskutabilan čak i status podvrste i da je sasvim moguće da *O. divergens* nije ništa više do ekološka forma *O. umbellatum* (Meikle, 1985), kao i da ekstremne morfološke i kariološke infraspecijske varijacije nisu dovoljne za dodeljivanje taksonomskog ranga podvrste ili varijeteta (Tornadore i Garbari, 1979). Prilikom opisa *O. divergens* u dolini Loare od strane Boreau (1857) ove su biljke prepoznate kao odvojena vrsta od *O. umbellatum*, prvenstveno na osnovu morfologije bulbila. Moret (1992) ih u ovom području prepoznaje kao dve morfe (poliploidnog kompleksa vrste *O. umbellatum*): triploid ( $2n=3x=27$ , koji odgovara *O. umbellatum* sensu Boreau) i penta/heksaploid ( $2n=5x=45$  i  $2n=6x=54$ , koji odgovara *O. divergens* sensu Boreau). Gadella (1972a; b) beleži da se u okviru holandskog *O.*

*umbellatum* mogu uočiti dva citotipa, koja se razlikuju i morfološki, ali i po određenim karakteristikama razvojnog ciklusa, te pretpostavlja da postoje i barijere ukrštanju i da heksaploide treba izdvojiti od triploida i pripisati ih *O. divergens*.

Martínez-Azorín i sar. (2009; 2010) prezentuju nomenklaturu i taksonomiju, kao i ekologiju i distribuciju i opisuju *O. divergens* kao vrstu, jasno odvojenu od *O. umbellatum* sensu stricto, kako po nivoima ploidije, tako i po određenim morfološkim karakterima, kao što su osobine bulbila i struktura cvasti. Isti autori detaljno istražuju taksone podroda *Ornithogalum*, te opisuju populacije *O. divergens* sa njegovog tipskog lokaliteta (*O. divergens* Boreau in Bull. Soc. Industr. Angers 18:419. 1847 [Notes Pl. Franç. 3:15. 1847]. *O. umbellatum* var. *divergens* (Boreau) Beck in Glasn. Zem. Mus. Bosn. i Hercegov. 15:210. 1903. *O. umbellatum* subsp. *divergens* (Boreau) Asch. & Graebn., Syn. Mitteleur. Fl. 3:246. 1905.) (Martínez-Azorín i sar., 2009). Među mnogim autorima u prošlosti, a i danas, prihvaćeno je stanovište da je *O. divergens* vrsta (Slika 2) (Parlatore, 1852; Jordan i Fourreau, 1867; Boissier, 1882; Coste, 1906; Gadella, 1972a; Pignatti, 1982; Feinbrun-Dothan, 1986; Speta, 2000; Garbari i sar., 2003; 2007; Kamari i sar., 2006; Martínez-Azorín i sar., 2009; 2010).



**Slika 2.** Uporedni prikaz *Ornithogalum umbellatum* (levo) i *O. divergens* (desno) u florama: A – Francuske (Coste, 1906) i B – Italije (Pignatti, 1982)

Biometričku studiju *O. umbellatum* s.l. rade Moret i sar. (1991) u Francuskoj, a Moret (1992) istražuje nivoe ploidijske u okviru roda koristeći numeričku taksonomiju i zaključuju da taksoni *O. umbellatum* s.l. u Francuskoj pokazuju značajnu varijabilnost. Biosistematske studije rađene su i ranije na ovom kompleksu, uključujući citogenetičke (van Raamsdonk, 1986) i morfološke analize (van Raamsdonk i Heringa, 1987) i izdvajajući *O. umbellatum* kao najrasprostranjeniju vrstu ove grupe u evropskom delu areala, ali i kao takson u okviru koga populacije pokazuju različite kombinacije morfoloških karaktera. Ovoj varijabilnosti često nije pridavan veliki taksonomski značaj; ipak neki autori su upravo na osnovu nje opisivali različite vrste, podvrste i varijetete u okviru ovog taksona (Gadella i van Raamsdonk, 1981). Relativno veliki areal *O. umbellatum* i prilagođenost na različita staništa uslovali su veliku, jasno uočljivu varijabilnost.

Taksonomska revizija podroda *Ornithogalum* je rađena za španske vrste, uključujući *O. divergens*, ispitivana je kako biologija, ekologija i distribucija, tako i nomenklatura i taksonomija ove grupe; opsežnim morfološkim studijama i statističkim analizama definisani su biološki entiteti i dat je novi ključ za taksone ovog podroda na datom području (Martínez-Azorín i sar., 2010). Reviziju južnoafričkih vrsta roda *Ornithogalum* radio je Obermeyer (1978), u Turskoj Cullen i Ratter (1967), Landström (1989) u Grčkoj, Garbari sa saradnicima u Italiji (2003; 2007), dok Speta (2000) i Herrmann (2002) izučavaju *O. umbellatum* s.l. u Centralnoj Evropi.

Većina ovih autora uvidela je potrebu za redefinicijom infrageneričkih taksona roda *Ornithogalum* jer su u prošlosti usled velike varijabilnosti u okviru nekoliko vrsta sa jedne strane i svega nekoliko pouzdanih morfoloških karaktera za determinaciju sa druge, mnoge udaljene vrste pogrešno opisivane pod istim imenom, a neke neopravdano podeljene u različite taksone (Landström, 1989). Opisane su brojne infraspecijske kategorije sa nedovoljno biološke opravdanosti (Moret i Galland, 1992). Brojni su razlozi za ovakve pogrešne interpretacije. Jedan od njih je potencijalno donošenje zaključaka na osnovu nedovoljno velikih uzoraka ili neadekvatno očuvanih herbarskih primeraka. Takođe, u različitim literaturnim izvorima navode se različite grupe karaktera kao značajne za razjašnjenje infraspecijskih kategorija (Gadella i van Raamsdonk, 1981). Sa druge strane, nivo pouzdanosti pojedinih morfoloških karaktera je diskutabilan jer osobine staništa u velikoj meri utiču na fenotip ovih biljaka, pa je i prenebregavanje ove činjenice kao rezultat moglo imati pogrešne determinacije (Herrmann, 2002). Sve ovo je dovelo do konfuzne nomenklature i taksonomije roda (Cullen i Ratter, 1967; Moret i Galland, 1992). Mnogi botaničari i danas smatraju rod *Ornithogalum* nezahvalnim sa stanovišta taksonomije, između ostalog zbog morfologije nedovoljno jasno povezane sa varijacijama u broju hromozoma i kariotipu (Meriç i sar., 2011). Usled svega navedenog, brojni taksonomi se slažu sa epitetom koji je za *Ornithogalum* upotrebio Greuter (1988), nazivajući ga “odvratnim” rodom (“*execrable genus*”) (Garbari i sar., 2003; Martínez-Azorín i sar., 2011).

### 2.2.1 Citotaksonomija

Pojedine *Ornithogalum* vrste bile su interesantne još citolozima prošlog veka, usled prisustva “malog broja velikih hromozoma” (Obermeyer, 1978). Cullen i Ratter (1967) smatrali su ovaj takson idealnim za analizu sa citogenetičkog aspekta i interesantnim usled složene

situacije koja uključuje poliploidiju i pojavu B hromozoma. Još 1915. godine *O. umbellatum* privlači pažnju citologa tzv. S hromozomima, sa satelitima do tada nezabeležene dužine, za koju se ispostavlja da varira među vrstama ovog roda (Delaunay, 1925). Takson *O. umbellatum* s.l. pokazuje visok stepen citološke diferencijacije, što se dovodi u vezu sa kapacitetom za vegetativnu propagaciju koja omogućava održavanje poliploida (Cullen i Ratter, 1967), ali uključuje i čitav spektar euploidnih i aneuploidnih citotipova (Czapik, 1968). Izučavajući kariologiju podroda *Ornithogalum* Özhatay i Johnson (1996) zapažaju veliku varijabilnost, kako u veličini tako i u strukturi hromozoma. Pronalaze meta-, submeta-, akro- i telocentrične hromozome; beleže poliploide, aneuploide, velike B hromozome koje je teško razlikovati od A hromozoma. Za razliku od drugih biljnih taksona kojima se bave (*Muscari* Miller, *Allium* L.), ovi autori kod *Ornithogalum* ne pronalaze konstantnost ni u bazalnom broju hromozoma. Landström (1989) beleži stav da je nemoguće sa sigurnošću definisati predački bazalni broj hromozoma na nivou roda *Ornithogalum*, uzimajući u obzir veoma širok spektar ( $2n=4$  do  $2n=108$ ).

U okviru roda, najveću konfuziju unosi podrod *Ornithogalum*, sa najkompleksnijom kariologijom. Različite promene u citološkom smislu imale su uticaja kako na morfologiju tako na reproduktivne osobine ovih biljaka (Martínez-Azorín i sar., 2010), ali često razlike u nivou ploidije nisu u skladu sa morfologijom (Czapik, 1993). Stoga neki autori prihvataju samo jednu varijabilnu vrstu *O. umbellatum* sa različitim morfama drugačijih nivoa ploidije (Moret i Galland, 1992), dok drugi prihvataju postojanje nekoliko vrsta u okviru poliploidnog kompleksa *O. umbellatum* s.l. ( $x=9$ ) (Gadella i van Raamsdonk, 1981) koje se razlikuju morfološki i ekološki (Martínez-Azorín i sar., 2010). Druge vrste u okviru podroda ne pripadaju ovom kompleksu jer imaju drugačiji osnovni broj hromozoma, npr. španski *O. bourgaeum* Jord. & Fourr. je diploid ( $2n=18$ ) *O. umbellatum* kompleksa, a recimo "istočniji" diploid *O. gussonei* Ten. ima  $x=7$ , tj.  $2n=14$  (Martínez-Azorín i sar., 2010).

Tornadore i Garbari (1979) predstavili su *O. umbellatum* kao vrstu sa morfološkim i kariološkim varijacijama, različitim nivoima ploidije, pojavom aneuploidije i prisustvom B hromozoma, a takson *O. divergens* identifikovali kao sinonim ove, veoma polimorfne vrste. Nastavljajući rad na ovom taksonu u Italiji, navode različite poliploidne citotipove:  $2n=27$ ,  $36$ ,  $45$ ,  $54$ ,  $90$  i  $108$  (sa ili bez B hromozoma) i iznose mišljenje da bi heksaploid (sa ili bez dodatnih hromozoma) *O. divergens* ( $2n=54+B$ ) ipak trebalo smatrati posebnom vrstom. Italijanske



citotipove nižih nivoa ploidije od ovog svrstavaju u *O. umbellatum* (Garbari i sar., 2003), a za one viših nivoa navode da su posebna vrsta (najverovatnije *O. etruscum* Parl. ili *O. refractum* Kit. ex Schldl.) (Garbari i sar., 2007). Ovakvom tretmanu *O. umbellatum* pridružuju se Kamari i sar. (2006), napominjući da ukoliko se u budućnosti ovo ime odbaci kao *nomen confusum* ima smisla triploidima dodeliti naziv *O. angustifolium* Boreau 1857, a tetra/pentaploidima *O. vulgare* Sailer 1841. I Peruzzi i sar. (2007) prepoznaju *O. divergens* kao posebnu vrstu, a *O. umbellatum* dele na 3x (= *O. angustifolium*) i 4x (= *O. vulgare*) razlikujući ove citotipove i na osnovu anatomskih karaktera lista i nalazeći da je tetraploid zapravo bliskiji *O. divergens*.

Speta (2000) se slaže da je heksaploid ( $2n=54$ ) *O. divergens*, međutim jedino triploid ( $2n=27$ ) smatra za *O. umbellatum* s.str., dok citotipove  $2n=36/45$  svrstava u *O. vulgare*. Herrmann (2002) beleži da je u centralnoj Evropi, graničnoj zoni rasprostranjenja predstavnika roda *Ornithogalum*, prisutna *O. umbellatum* grupa, sa različitim nivoima ploidije, naime triploid *O. umbellatum* s.str., tetraploid/pentaploid *O. vulgare* i heksaploid *O. divergens*. Primetio je da je zajednički morfološki karakter ovih poliploida produkcija bulbila, dok ih diploidni taksoni nemaju, ili se jako retko javljaju. Diploide ovog podneblja naziva "*O. angustifolium*", napominjući da je ovo ime sinonim za *O. umbellatum* i samo privremeno rešenje jer je konačan status ovog taksona još uvek upitan (Herrmann, 2002).

Gadella i van Raamsdonk (1981) radili su biosistematske studije, citogenetičke i morfološke, *O. umbellatum* s.l. – kompleksa vrsta u okviru sekcije *Heliocharmos*. Ustanovili su pet citotipova: diploidi ( $2n=18$ ), triploidi ( $2n=27$ ), tetraploidi ( $2n=36$ ), pentaploidi ( $2n=45$ ) i heksaploidi ( $2n=54$ ). Numeričke analize morfoloških karaktera pokazale su da se triploidi (*O. umbellatum* s.str.) razdvajaju od penta/heksaploida (*O. divergens*), kome je, smatraju ovi autori, logičnije dati rang vrste nego podvrste. Tetraploidi pripadaju delom prvoj, a delom drugoj grupi i veoma su retki, a diploidi su bliskiji triploidima (Gadella i van Raamsdonk, 1981). Gadella (1972a; b) je još ranije izneo pretpostavku da je holandski heksaploidni citotip odvojena vrsta od triploidnog *O. umbellatum*, utvrdivši pored citoloških i morfoloških i razlike u razvojnem ciklusu ovih biljaka. Predložio je da se pripiše *O. divergens*, iako je ovaj takson bio poznat po svojoj pretežno mediteranskoj distribuciji i nije autohton za Holandiju, verujući da je u prirodu introdukovan od strane čoveka (Gadella, 1972a; b).

Van Raamsdonk (1985; 1986) zapaža da u okviru tzv. “*umbellatum-angustifolium*” kompleksa roda *Ornithogalum*, agregat vrste *O. umbellatum* (u okviru podroda *Ornithogalum*), čini poliploidne serije od  $2n=18$  do  $2n=108$ , sa osnovnim brojem hromozoma  $x=9$ . Jedna od brojnih različitih i često oprečnih interpretacija citotaksonomije ove grupe je upravo ona koju daje ovaj autor, definišući triploide  $2n=27$  kao *O. angustifolium*, a za *O. umbellatum* smatra citotipove  $2n=(36?)/45/54$  (van Raamsdonk i Heringa, 1987). Analizirajući makromorfološku varijabilnost u okviru kompleksa *O. umbellatum* u Francuskoj, Moret i sar. (1991) identifikuju tri morfe koje odgovaraju različitim nivoima ploidije, ipak predlažu taksonomski model prema kome se prihvata postojanje samo jedne vrste, *O. umbellatum*, koja odgovara mladom poliploidnom kompleksu koji se još uvek razvija prolazeći kroz svoju evoluciju. Kao potvrdu da je takson u procesu specijacije navode posledice vegetativnog razmnožavanja (delom prisutnog kod  $3/4/5/6x$ ), kao i činjenicu da su diploidi morfološki jasnije definisani od onih sa višim nivoima ploidije (Moret i sar., 1991). Tom prilikom definisane su tri grupe morfi: prva morfa ( $2x$ ): *O. monticolum* Jord. & Fourr. (van Raamsdonk, 1984), *O. collinum* Guss. (Zahariadi, 1980); druga morfa ( $3x$ ): *O. angustifolium* (van Raamsdonk, 1984), *O. umbellatum* (Zahariadi, 1980); treća morfa ( $4/5/6x$ ): *O. umbellatum* (van Raamsdonk, 1984), *O. divergens* (Zahariadi, 1980); ipak prva je morfa udaljenija od druge dve, te Moret i sar. (1991) uzimaju za validnu podelu na dve grupe – diploidi i poliploidi. Ovi autori smatraju da je do konfuzije u prošlosti dolazilo zbog primene morfološkog koncepta vrste (jedna morfa = jedna vrsta), a da se u ovom slučaju ne može govoriti ni o podvrstama, jer populacije koje ih čine nisu uvek geografski udaljene/izolovane, štaviše postojanje različitih nivoa ploidije na istom mestu potencijalno ukazuje na razmenu gena među morfama, što sve potvrđuje da se radi o mladom kompleksu u razvoju (Moret i sar., 1991). Nastavljajući istraživanja u Francuskoj, Moret (1992) otkriva i različite morfe u okviru populacija istog citotipa, naročito kod triploida sa različitim lokaliteta.

Poliploidni kompleks *O. umbellatum* pokazuje elemente evolucije i diferencijacije tipične za apomiktične komplekse, ipak - diploidi se razmnožavaju pretežno generativno, triploide karakteriše i vegetativna reprodukcija, kao i heksaploide, no svi podležu genetičkim rekombinacijama. Sve navedeno bio je razlog nepostojanja validne infraspezijske taksonomije, te definisanja poliploidnog kompleksa kao jedne vrste (*O. umbellatum*) koja obuhvata morfe povezane vegetativnom ili reproduktivnom evolucijom (Moret, 1992). Dalje analize su proširene

na Severnu Afriku i Španiju, te se za region zapadnog Mediterana prepoznaju dve vrste kompleksa, pored *O. umbellatum* još i *O. algeriense* Jord. & Fourr. (Moret i Galland, 1992). Ovaj se drugi takson smatra amfiploidom čiji je jedan predak diploidni citotip *O. umbellatum*, a poreklo drugog genoma je nepoznato; reprodukuje se generativno i odlikuje obilnom produkcijom semena. Za drugi smer evolucije ovi autori pretpostavljaju autoploidiju diploidnog citotipa (multiplikacijom pojedinačnog genoma) koja je vodila nastanku poliploidne linije potomaka – kompleksa *O. umbellatum* (Moret i Galland, 1992). Različite populacije zapadnog Mediterana izolovane su, stoga u fazi nepotpune specijacije; isti evolutivni put prešli su (i još uvek prelaze) i taksoni istočnog Mediterana i centralne Evrope (Moret i Galland, 1992). I Cullen i Ratter (1967) primetili su da citološki rezultati ukazuju na to da je ovaj rod u procesu aktivne evolucije u regionu istočnog Mediterana. Opšte je uvreženo mišljenje, podržano brojnim citogenetičkim analizama, da su vrste čitavog roda *Ornithogalum* u stanju dinamičnih promena i diferencijacije (Popova i Anastasov, 1997).

Prema novijim mišljenjima (Martínez-Azorín i sar., 2009) prepoznavanje tzv. “mikrotaksona” zasnovanih na razlikama citotipova i/ili na neznatnim morfološkim razlikama, mada ponekad opravdano, nije poželjno. Triploidni i heksaploidni citotipovi javljaju se odvojeno i reproduktivno su izolovani, dok se pentaploidi morfološki skoro ne razlikuju od heksaploida, javljaju se veoma retko i to u okviru istih populacija; slična je situacija sa tetraploidima koji su slični i tri- i heksaploidima. Stoga ovi autori favorizuju tzv. sintetički aranžman, te u okviru kompleksa, a iznad nivoa diploida, prihvataju samo dve vrste: *O. umbellatum* (triploidi) i *O. divergens* (penta- i heksaploidi), a za tetraploide smatraju da ih treba svrstati u neku od ove dve grupe na osnovu morfoloških karakteristika. Ipak napominju da dosadašnja taksonomska i nomenklaturna konfuzija ovim predlozima nije u potpunosti otklonjena i da potpuno zadovoljavajuće taksonomsko rešenje celog agregata još nije postignuto (Martínez-Azorín i sar., 2009).

### **2.3 Distribucija, ekologija i biologija vrsta roda *Ornithogalum***

Zaključak o poreklu ovih vrsta i njihovih predaka mogao bi se izvesti i na osnovu činjenice da se radi o lukovičastim geofitama (Herrmann, 2002). Poznato je da je životna forma geofita, u okviru koje dominiraju lukovičasti oblici, prilagođena sušnim i polu-sušnim staništima,

a privremeno korišćenje ekoloških niša specifična je strategija izbegavanja nepovoljnih uslova kao što su suša i kompeticija. Geofite Evrope i zapadne Azije prilagođene su životu u pustinjama, stepama, mediteranskim travnatim zajednicama i stenovitoj podlozi, planinskim regijama submeridionalnih i meridionalnih zona, a njihova brojnost opada idući od mediteranskog basena ka severu (Tan i sar., 2007).

Rod *Ornithogalum* je nativan u Evropi, Aziji (do Avganistana na istoku) i Africi, gde je široko rasprostranjen, a Mediteran i Južna Afrika se smatraju centrima porekla i distribucije (Zahariadi, 1980; Martínez-Azorín i sar., 2010). Mediteran se smatra centrom diverziteta evropskih taksona *Ornithogalum*, odakle se ova grupa širila, sve do centralne Evrope, gde trenutno zauzima prevashodno antropogena staništa (Diklić, 1975; Ellenberg, 1988; Herrmann, 2002; Martínez-Azorín i sar., 2010).

Vrstu *O. umbellatum* karakteriše široko rasprostranjenje u Evropi i Jugozapadnoj Aziji, a introdukovana je i u Severnu Ameriku i Australiju (EuroPlusMed, 2006; eFloras, 2008; Martínez-Azorín, 2008). Na području Evrope glavni deo areala jeste područje južnih delova centralne i južna Evropa (Zahariadi, 1980) i definiše je mediteransko-submediteransko-panonsko-subatlantsko-centralnoevropski element flore (Meusel i sar., 1965). Pored toga, vrsta se tendenciono širi na severu Evrope, gde se smatra već i naturalizovanom (Zahariadi, 1980).

Gadella i van Raamsdonk (1981) beleže da triploidi imaju severniju distribuciju od viših nivoa ploidijske. Garbari i sar. (2007) govoreći o horološkim karakteristikama za *O. umbellatum* navode – Evropa-Mediterran, a za *O. divergens* – južna Evropa. U Flori Evrope stoji da *O. divergens* zauzima područja južne Evrope, “na severu do jugoistočne Čehoslovačke i do 49 stepeni severne geografske širine u Francuskoj” (Zahariadi, 1980). Van Raamsdonk (1986) beleži da je *O. divergens* rasprostranjen u južnoj Evropi i zapadnim delovima Bliskog istoka, pronađen je na ruderalnim staništima centralne i zapadne Evrope (na severu do Holandije i Nemačke), sa disjunktним populacijama u Francuskoj i Portugalu. Martínez-Azorín i sar. (2010) ovom spisku dodaju i eksklave izolovanih populacija u Španiji, a postoje i podaci za severnu Afriku (EuroPlusMed, 2006).

Prirodna staništa biljaka iz roda *Ornithogalum* su veoma heterogena, od suvih polupustinjskih predela, preko vlažnijih rečnih obala do planinskih vrhova (Littlejohn i Blomerus, 1997). Kao karakteristična staništa za *O. umbellatum* u Flori Srbije navode se zatravljene

površine, polja, vlažne livade, šipražje, vinogradi i pored puteva (Diklić, 1975). Takođe je zabeleženo da raste i na slatinama, peskovitim staništima, krečnjačkim kamenjarima i u listopadnim šumama (Anačkov, 1997). Za ovu subsrednjeevropsku vrstu zapaženo je da je u Srbiji rasprostranjena i vrlo česta; pre svega se misli na tipičnu subsp. *umbellatum* (Diklić, 1975), dok se subsp. *divergens* (Diklić, 1975) navodi kao retka, te da njeno prisustvo na ovom području treba pratiti (Anačkov, 1997).

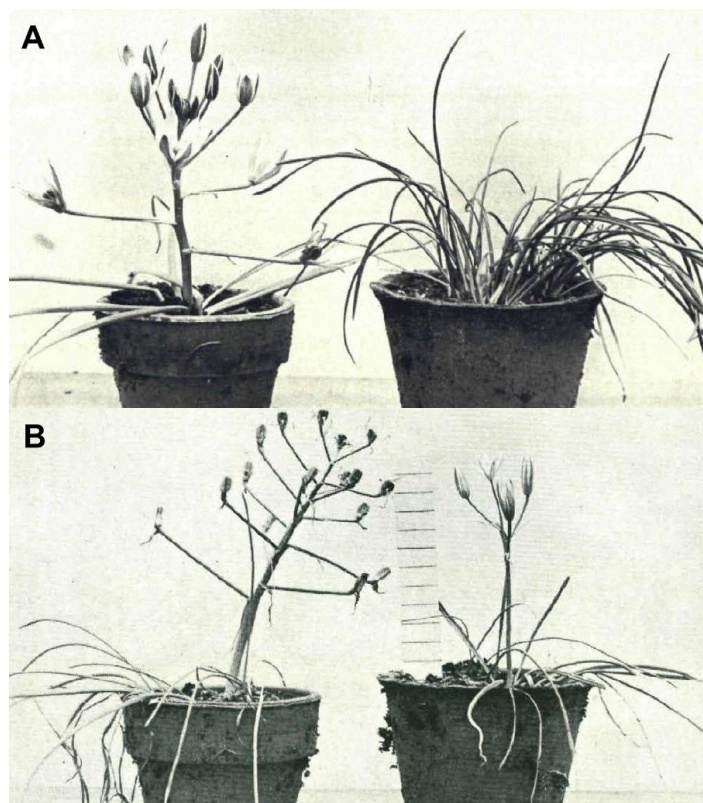
Garbari i sar. (2007) beleže livade kao staništa *O. umbellatum* u Italiji. Pašnjaci i obradive površine, kao i špalirne drvenaste ili žbunaste kulture, takođe se pominju kao staništa ovih biljaka (Speta, 1982). Kao staništa *O. divergens* navode se kultivisano zemljište i degradirane površine, ravnice i doline reka, peskovito tlo (Martínez-Azorín i sar., 2009; 2010), kao i napušteni pašnjaci i neobrađivano, zapušteno zemljište (Zahariadi, 1980; Garbari i sar., 2007). Gadella i van Raamsdonk (1981) beleže da biljke *O. umbellatum* s.l. u Holandiji naseljavaju najrazličitije tipove staništa, s tim što heksaploidi preferiraju ona pod uticajem čoveka, često oko poljoprivrednih površina ili na napuštenim kultivisanim zemljištima, koja su plodnija, dok se triploidi javljaju i na ovakvim staništima, ali i na obalama reka i šumskom zemljištu. U Nemačkoj su triploidi pronađeni u parkovima i baštama, a viši nivoi ploidije u vinogradima (Herman, 2002). Moret i Galland (1992) smatraju da su diploidi poliploidnog kompleksa *O. umbellatum* relikti, dok su poliploidni citotipovi (tri/tetra/penta/heksaploidi) zauzeli tzv. sekundarna staništa odnosno kolonizovali područja pod uticajem čoveka (njive, vinogradi, pored puteva i kultivisanih šuma), na nižim nadmorskim visinama. Što se nadmorske visine tiče, *O. divergens* se u Italiji sreće do 1000 m (od 0 m) (Garbari i sar., 2007), u Španiji od nivoa mora do 900 mnv (Martínez-Azorín i sar., 2010). *O. umbellatum* u Italiji nalazi se i nešto više, 0-1200 mnv (Garbari i sar., 2007).

Kako poliploidni predstavnici *O. umbellatum* grupe često naseljavaju staništa pod uticajem čoveka, posebno područja vezana za poljoprivredu, zbog potencijalnog negativnog uticaja agrikulturnih mera, postoji mogućnost da stariji podaci o rasprostranjenju vezani za ovakva staništa više nisu aktuelni. Stoga je teško proceniti realnu distribuciju pojedinačnih vrsta i njihovo stanje u smislu potencijalne ugroženosti, uz činjenicu da se postojeći podaci neretko zasnivaju na pogrešnim determinacijama (Herman, 2002). Destrukcija habitata najveća je pretnja i potencijalno vodi smanjenju ili nestanku često ionako malobrojnih i izolovanih populacija ovih

biljaka, iako se *O. umbellatum* smatra otpornim na mnoge antropogene pritiske usled razvijenih i sveprisutnih oblika alternativne vegetativne reprodukcije (Mezev-Krichfalushiy i sar., 1989). Martínez-Azorín i sar. (2010) zapažaju da su retke populacije *O. divergens* u Španiji uglavnom vezane za poljoprivredu i čovekovu aktivnost, te da je vrsta potencijalno osetljiva na promene u korišćenju zemljišta, kao što su napuštanje obradivih površina i pritisci urbanizacije, stoga bi poznate populacije trebalo pratiti i evaluirati rizik. Sa druge strane, kako se lako širi brojnim bulbilima te kolonizuje poljoprivredne površine, sa aspekta zemljoradnje može se smatrati nepoželjnim korovom (Martínez-Azorín i sar., 2010).

Osobine staništa mogu uticati na izgled biljaka i voditi varijabilnosti pojedinih morfoloških karaktera, što je nekada verovatno kao rezultat imalo pogrešnu determinaciju (Herrmann, 2002). Biljke koje rastu na mestima sa stalnim rezervama vode i debljim slojem zemljišta obično su snažnije, krupnijih cvetova i listova. Osobine zemljišta mogu usloviti dubinu lukovica, u peskovitom one se nalaze dublje nego u glinastom (Herrmann, 2002). Uslovi spoljašnje sredine utiču na životni ciklus – umerene temperature u proleće mogu ubrzati ekstenziju skapusa i otvaranje cvetova, a povećan hlad usled invazije žbunastih formi može voditi zaustavljanju biljaka u vegetativnom stadijumu. U staništima sa plitkim zemljištem, južnije orijentisanim, cvetanje i diseminacija odvijaju se ranije nego u onim sa dubokim zemljištem severne orijentacije (Herrmann, 2002). Trajanje vegetativnog perioda generalno zavisi od spoljašnjih faktora i još jedna je od karakteristika koje ima smisla porediti među taksonima samo ako se ispitivanja vrše u istim uslovima, kao što su botaničke bašte (van Raamsdonk i Heringa, 1987).

Biljke *O. umbellatum* cvetaju u proleće, u aprilu i maju (Parlatore, 1852; Zahariadi, 1980; Pignatti, 1982; Garbari i sar., 2007), a *O. divergens* u zavisnosti od podneblja – u isto vreme (Parlatore, 1852; Pignatti, 1982) ili nešto ranije (Coste, 1906) – negde od marta do aprila (Zahariadi, 1980), a u Španiji recimo cvetaju od marta do maja, a plodonose od aprila do jula (Martínez-Azorín i sar., 2010). Gadella i van Raamsdonk (1981) takođe navode da, kada rastu u istim uslovima, penta/heksaploidi ranije cvetaju od triploida (Slika 3), i na jesen im se listovi ranije javljaju.



**Slika 3.** Razlike u razvoju *Ornithogalum divergens* (levo) i *O. umbellatum* (desno): A – kada se kod *O. divergens* cvast potpuno razvije, kod *O. umbellatum* se tek pojavljuje, ali je uočljivo mnoštvo listova poreklom od bočnih lukovica; B – nakon 13 dana cvast *O. umbellatum* se razvila, a *O. divergens* je potpuno zrela, sa isušenim praznim čaurama; preuzeto iz Gadella (1972b)

Za *O. umbellatum* tipično je formiranje mnoštva listova, koji nastaju iz bulbila koje okružuju glavnu lukovicu. U okviru *O. umbellatum* s.l. van Raamsdonk (1984) prepoznaje veću ili manju sklonost ka vegetativnoj reprodukciji u zavisnosti od broja hromozoma, te za diploide beleži pretežno reproduktivno razmnožavanje, za triploide reprodukciju olistalim bulbilima, a za više nivoe ploidije – brojnim neolistalim adventivnim bulbilima. Na nivou podroda *Ornithogalum* za sve diploide (različitog osnovnog broja hromozoma) zabeležena je reprodukcija semenom, a za poliploide bulbilima. Produkcija semena redukuje se povećanim udelom vegetativnog razmnožavanja, ali je uslovljena i drugim faktorima kao što su vremenski uslovi – nivo padavina i sl. (van Raamsdonk, 1985).

Martínez-Azorín i sar. (2010) beleže razmnožavanje mnoštvom bulbila heksaploida *O. divergens* u Španiji. Vegetativna propagacija veoma je važna za disperziju viših nivoa ploidije *O. umbellatum* grupe, zabeleženo je raznošenje bulbila plitkim oranjem i đubrenjem (Herrmann,

2002). Razmnožavanje semenom ipak je prisutno, a disperzija se odigrava vetrom ili uz pomoć životinja. Ove biljke karakteriše nadzemno klijanje (Garbari i sar., 2007), koje nije tipično za sve predstavnike roda, ali je karakteristika cele *O. umbellatum* grupe (Herrmann, 2002).

Kod *O. umbellatum* prisutno je kako samooprašivanje, tako i unakrsno oprašivanje, stoga i odgovarajuće adaptacije. Dvopolni cvet *O. umbellatum* ima tri duža prašnika u unutrašnjem krugu i tri nešto kraća u spoljašnjem. Prašnice dužih prašnika pucaju dan pre kraćih. Svi su uspravno postavljeni i blago nagnuti iznad listića perigona, čime je omogućeno unakrsno oprašivanje. Pri kraju cvetanja svi se prašnici povijaju ka centru cveta, ali se samo tri kraća priljubljuju uz žig izručujući na njega polen (Tatić i Petković, 1991). Soó (1973) navodi protandriju kao moguću strategiju za izbegavanje samooprašivanja kod ovih biljaka, a Herrmann (2002) protoginiju. Isti autor ističe da bi mehanizam zatvaranja pokretnih listića perigona (u sumrak i u vlažnim vremenskim uslovima) mogao voditi samooplodnji.

Kod *O. umbellatum* razvijena je entomofilija. Tri septalne nektarije u gineceumu ovih biljaka privlačne su polinatorima. Oprašivači iz rodova *Meligethes* (Coleoptera) i *Apis* (Hymenoptera) zapaženi su na cvetovima ove vrste (Herrmann, 2002). Uočeno je da ove biljke oprašuje širok spektar polinatora, ali najviše pčele i osolike muve (Petanidou, 1991), među kojima su one iz roda *Merodon* (Diptera: Syrphidae) najbrojnije (Vujić i sar., 2012).

Tokom dugogodišnjeg terenskog rada vezanog za ovu grupu insekata primećeno je upadljivo prisustvo mnogih *Merodon* vrsta na lokalitetima sa razvijenim sastojinama bogatim *Ornithogalum* vrstama (Vujić, pers. kom.). Adulti su zapaženi kako posećuju cvetove, a zabeleženo je i ponašanje ženki slično onom prilikom polaganja jaja i to upravo u blizini lukovica ovih biljaka. Brojna istraživanja potvrđuju povezanost ove dve grupe (Hurkmans, 1988; Hurkmans i Hayat, 1997; Popov, 2001; Suturović, 2008; Speight, 2012). Takođe poznati su specifični bio-ekološki odnosi *Merodon* vrsta i brojnih geofita, kako divljih tako i gajenih (Petanidou, 1991; Hurkmans, 1993; Marcos-García i sar., 2007; Ståhls i sar., 2009). Pored oprašivanja, pokazana je i usklađenost između perioda aktivnosti adulta ovih insekata i perioda cvetanja ovih biljaka, kao i konstantna prostorna koincidencija ovih grupa organizama (Ricarte i sar., 2008). Na primeru lukovičaste vrste iz familije Hyacinthaceae (*Urginea maritima* (L.) Baker) pokazano je da se *Merodon* u različitim fazama razvika hrani na različitim delovima iste biljke, te se ovde može govoriti istovremeno o parazitizmu i mutualizmu (Ricarte i sar., 2008).



Retko dostupni podaci o larvalnim stadijumima biljojedih sirfida ukazuju na vezu insekta i biljke domaćina, u smislu prilagođavanja u ponašanju, ekologiji i funkcionalnoj morfologiji (Rotheray i Gilbert, 2011), a sve larve *Merodon* vrsta su pronađene u podzemnim organima geofita iz familija Hyacinthaceae, Amaryllidaceae, Iridaceae i Liliaceae s.str. (Hodson, 1932; Stuckenberg, 1956; Wallace i Wallace, 1990; Pehlivan i Akbulut, 1991; Rotheray, 1994; Stepanenko i Popov, 1997; Rotheray i Gilbert, 1999; Ricarte i sar., 2008). U lukovicama *O. umbellatum* i zemljištu koje ih okružuje pronađene su larve *Merodon avidus* Rossi, 1790 (Andrić i sar., 2014b). Ovim je potvrđeno da je *O. umbellatum* značajna biljka domaćin ne samo za adulte *M. avidus* koji se hrane na cvetu, polenom i nektarom, nego i za larve koje se hrane lukovicama.

## **2.4. Morfologija i anatomija vegetativnih i reproduktivnih organa vrsta roda *Ornithogalum***

### **2.4.1 Morfološke karakteristike vrsta roda *Ornithogalum***

Rod *Ornithogalum* predstavljaju višegodišnje zeljaste biljke sa lukovicom i žiličastim korenom, što su karakteristike većine predstavnika familije Hyacinthaceae. Uloga lukovice kao podzemnog izdanka je vegetativno razmnožavanje i rezervisanje hranljivih materija u metamorfoziranom listovima (Tatić i Petković, 1991). Kod predstavnika ovog roda najčešće je jajasta i obnavlja se svake godine ili postepeno u toku dve do četiri godine (Zahariadi, 1980). Skapus je obao, zeljast. Listovi su bazalni, prizemni, polaze iz lukovice i donjim delom obavijaju skapus. Uski su, linearni, celog ruba, nemaju izdiferenciranu lisnu dršku. Nervatura lista je paralelna, nervni završeci nisu slobodni. Odnos dužine listova i skapusa kod različitih vrsta različit je. Cvast je modifikovana gronja ili izdužen grozd. Cvetne drške su dobro razvijene, kao i opnaste brakteje (Diklić, 1975). Cvetovi su aktinomorfni, sa prostim cvetnim omotačem nediferenciranim na čašicu i kunicu; listići perigona su kunicoliki, slobodni ili blago srasli u bazi. Šest prašnika raspoređeni su u dva kruga. Prašnikovi konci su prošireni, pljosnati, nalik kruničnim listićima, prema vrhu suženi (Diklić, 1975), prašnice pričvršćene sa leđne strane, okrenute su ka unutra (Zahariadi, 1980). Plodnik je nadcvetan, sedeći, trook (Diklić, 1975), polikarpan, sinkarpan, a plod višeok (polimeran). Tip ploda je lokulicidna čaura, a semena su loptasta do izduženo-prizmatična ili spljoštena (Zahariadi, 1980).

Istraživanja roda *Ornithogalum* u ovoj oblasti vezana za hortikulturu zasnivaju se na evaluaciji morfoloških osobina biljaka u cilju odabira roditelja iz prirodnih populacija za ciljane hibridizacije na osnovu varijacija u njihovom fenotipu (Littlejohn i Blomerus, 1997). Usled postojanja velike varijabilnosti u morfologiji na intraspecijskom nivou, a kako su varijacije potencijalno sredinski uslovljene, uzgajanje se vrši u identičnim uslovima da bi poređenja bila validna, a selekcija genotipova najpogodnijih za ukrštanje pri uzgajanju rezanog ili saksijskog cveća pomognuta je saznanjima o varijacijama prisutnim u prirodnim populacijama.

Od strane različitih autora opisivane su različite sekcije i podrodovi roda *Ornithogalum*, najviše na osnovu cvetnih odnosno reproduktivnih karaktera (Martínez-Azorín i sar., 2010). Podrod *Ornithogalum* karakterišu lukovice koje se kompletno obnavljaju svake godine serijom sraslih, svežih listova. Cvetne drške su povijene na gore u cvetu. Listići perigona ovalno-lanceolatni slobodni, ravni, priljubljeni uz čauru nakon precvetavanja. Prašnikovi konci obično celi, slobodni i ravni, lanceolatni do zašiljeni. Plodnik jajolik do obrnuto jajolik, zatupljen na vrhu, sa šest vidljivih rebara, kao i plod. Stubić je dug i končast a žig mali i trouglast. Semena karakteriše talasasta i istaknuto mrežasta semenjača (Zahariadi, 1980; Martínez-Azorín i sar., 2010; 2011).

Uprkos latinskom nazivu taksona, *Ornithogalum umbellatum*, ovim biljkama nije svojstvena cvast tipa *umbella* (prost štit). Naime karakteriše ih prelazni oblik cvasti od grozda (*racemus*) ka gronji (*corymbus*) ili pseudogronji. Kod svih racemoznih cvasti formiranje cvetova prati dug rast osovine koji se završava obrazovanjem cveta. Kod cvasti sa ovakvim grananjem, centripetalnih, u projekciji na ravan najstariji cvet je najudaljeniji od centra, dok je najmlađi cvet u samom centru (Tatić i Petković, 1991). Dok glavna osovina cvasti tipa grozd raste, veliki broj bočnih cvetova se obrazuje na drškama približno iste dužine, a tek na kraju osovine formira cvet i time završi rastenje. Gronja je zapravo modifikovan grozd; odlikuje je skraćivanje glavne osovine, dok su osovine koje sa nje polaze sve duže idući naniže, pa se sve nalaze na istom nivou (Tatić i Petković, 1991). Kod cvasti *O. umbellatum* niže cvetne drške jesu duže (kao kod gronje), ali ne dovoljno da bi se svi cvetovi nalazili na istom nivou, te ipak ima i grozdastu formu, odnosno predstavlja prelazni oblik.

Bela boja perigona cvetova *O. umbellatum* rezultat je odsustva pigmenata, kao i velikog broja intercelulara ispod epidermisa ispunjenih vazduhom, te nastaje usled totalne refleksije

(Tatić i Petković, 1991). Sinkarpan – cenokarpan gineceum, kod koga su oplodni listići međusobno srasli, prisutan je kod svih predstavnika roda *Ornithogalum*. Najčešći slučaj kod ovog tipa tučka je da se oplodni listići zatvaraju svaki za sebe pri čemu njihovi trbušni šavovi dospevaju do centra gineceuma, delom srastajući, pa postoji onoliko okaca koliko je oplodnih listića uzelo učešća u njegovom formiranju, u ovom slučaju tri. Kod sinkarpanih plodnika podeljenih na okca, raspored semenih zametaka je na ivicama oplodnih listića, ali povučeni semeni zameci u sredini plodnika u slučaju ovog taksona smešteni su u uglovima pojedinih listića, pa se ovakva placentacija označava kao centralno ugaona (Tatić i Petković, 1991). Plod *O. umbellatum* je trooka čaura. Oblik ploda važan je taksonomski karakter (Herrmann, 2002). Forma semena zavisi od položaja koji su semena imala u plodniku, kada ih je manje i skoro se ne dodiruju onda su više ovalna, a kada su gusto zbijena na dodirnim površinama su spljoštena. Na površini semenjače, spoljašnje opne koja ima zaštitnu ulogu, često se obrazuju različite skulpture koje neretko imaju sistematski karakter. Na biljkama iz roda *Ornithogalum* ustanovljena je određena interspecijska varijabilnost mikromorfoloških osobina semena i izdvojeni su potencijalni dijagnostički karakteri kao mogući dopunski taksonomski kriterijum (Coskuncelebi i sar., 2000; Bednorz i Czarna, 2008).

#### **2.4.1.1 Razlike morfoloških karaktera *Ornithogalum divergens* i *O. umbellatum***

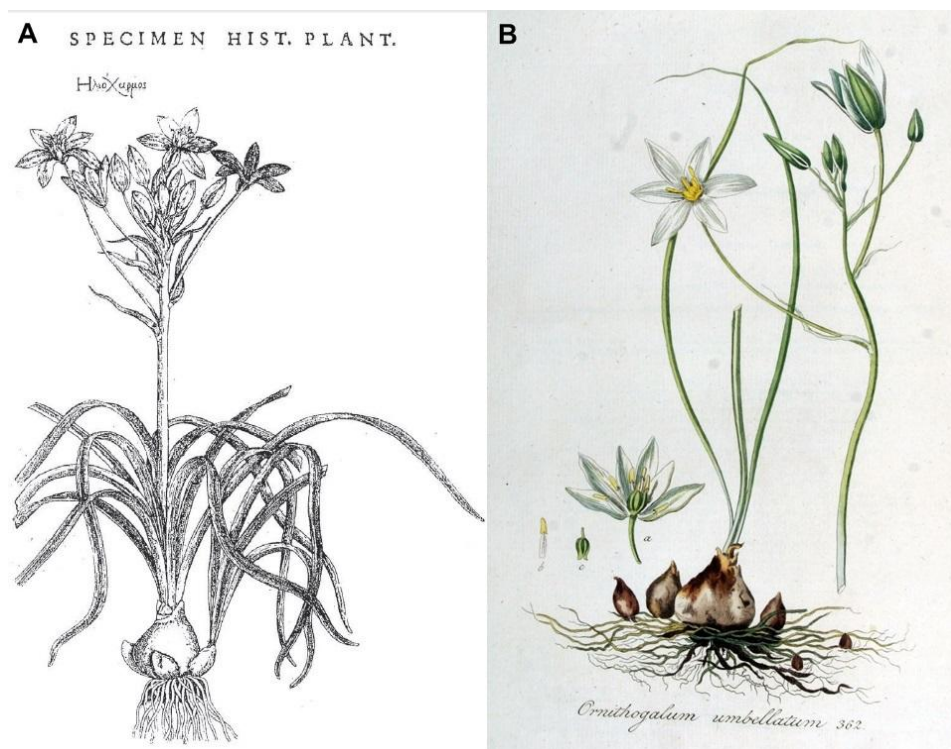
U nekim regionalnim i nacionalnim florama sve biljke *Ornithogalum* koje imaju lukovice sa bulbilima uključivane su u vrste *O. umbellatum* i/ili *O. divergens*, što jeste zajednička karakteristika ova dva taksona, ali i još nekih, kao što je *O. refractum* (Zahariadi, 1980; van Raamsdonk i Heringa, 1987). Martínez-Azorín i sar. (2009) beleže da *O. umbellatum* (Slika 4) i *O. divergens* (Slika 5) imaju bočne lukovice koje su uvek sa spoljašnje strane tunike glavne lukovice i ne dele bazu sa njom (što je slučaj kod pojedinih diploidnih taksona u grupi). Zajednički karakteri za *O. umbellatum* i *O. divergens* su i listovi sa belom uzdužnom središnjom prugom na gornjoj površini, glatki, bez trihoma. Skapus je takođe gladak. Segmenti perigona su beli sa širokom zelenom uzdužnom središnjom prugom sa leđne strane. Plodnik je jajast do cilindričan (Zahariadi, 1980). Donje cvetne drške su izdužene. Plod je čaura sa šest rebara manje–više podjednako udaljenih (Garbari i sar., 2007).

U prošlosti *O. divergens* često nije odvajan od *O. umbellatum*, ipak mnogi autori, bez obzira na taksonomski status koji mu pripisuju, smatraju da se pored nivoa ploidije razlikuje i po određenim morfološkim karakteristikama (Parlatore, 1852; Boissier, 1882; Coste, 1906; Fiori, 1923; Zahariadi, 1966; Gadella, 1972a; Pignatti, 1982; van Raamsdonk i Heringa, 1987; Moret i sar., 1991; Moret, 1992; Garbari i sar., 2007; Martínez-Azorín i sar., 2009). Gadella i van Raamsdonk (1981) definišu *O. divergens* kao biljku koja proizvodi bezlisne bulbile ispod spoljašnje tunike lukovice. Međutim ukazuju na nedovoljnu jasnost vrednosti karaktera korišćenih za razdvajanje ovih taksona, jer su u nekim slučajevima taksonomske odluke zasnovane na analizi lukovica i bulbila, a u drugim na listovima i cvetovima. Nivo pouzdanosti pojedinih karaktera diskutabilan je, jer na fenotip ne utiče samo genotip već i uslovi spoljašnje sredine, pa se recimo broj cvetova po cvasti može razlikovati iz godine u godinu (Gadella i van Raamsdonk, 1981). Kao osnovnu morfološku razliku između ova dva taksona, koja smatraju odvojenim vrstama, Garbari i sar. (2007) navode cvetne drške koje nose plod, a za koje kažu da su kod *O. divergens* blago povijene nadole i čine ugao od 90-120° sa skapusom, dajući biljci izgled “svećnjaka”, dok su kod *O. umbellatum* prave i pod ostrim uglom. Takođe navode da su listovi *O. divergens* približne dužine kao i skapus, dok su kod *O. umbellatum* listovi uglavnom duži.

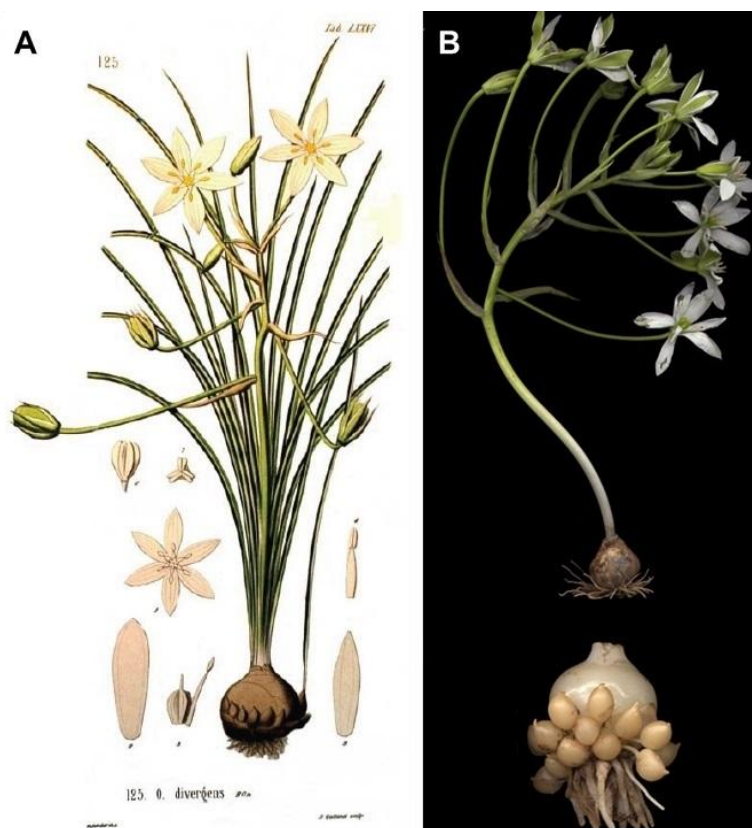
Martínez-Azorín i sar. (2009) smatraju da su osnovni karakteri za razdvajanje ove dve vrste struktura cvasti i osobine bočnih lukovica. Naime, *O. umbellatum* karakterišu korimbozne cvasti čije su i najniže cvetne drške uspravne i nekoliko bulbila srednje veličine bez drški od kojih većina prve godine proizvede listove koji okružuju majku biljku. Sa druge strane, biljke *O. divergens* imaju širu pseudokorimboznu cvast sa dužim pravim ili blago povijenim donjim cvetnim drškama i kraćim braktejama (polovina dužine odgovarajuće cvetne drške). Lukovica produkuje mnoštvo malih neolistalih sferičnih bulbila sa drškama, pričvršćenih za osnovu. U Flori Evrope (Zahariadi, 1980) *O. umbellatum* i *O. divergens* opisani su kao dve vrste koje se morfološki razlikuju po svega nekoliko karaktera, od kojih je najznačajniji tip bulbila. Naime, za *O. umbellatum* kaže se da ima olistale bočne lukovice, te je glavna lukovica okružena mnoštvom listova, dok *O. divergens* ima brojne nerazvijene bulbile koji ostaju dormantni najmanje godinu dana. Drugi karakter za razdvajanje bile bi cvetne drške koje nose plod, koje su kod *O. umbellatum* ravne, a kod *O. divergens* mogu biti i manje-više povijene nadole i bez zadebljanja u bazi. Takođe i brakteje, koje su kod *O. divergens* kraće od cvetnih drški, a kod *O. umbellatum*

kraće ili jednake. Moret (1992) za najčešće korišćeni karakter za razlikovanje ova dva taksona navodi upravo odnos dužine brakteje i cvetne drške, naime da su kod *O. umbellatum* skoro iste, a da je kod *O. divergens* brakteja znatno kraća od odgovarajuće cvetne drške.

U Flori Srbije (Diklić, 1975) *O. umbellatum* subsp. *umbellatum* predstavljen je kao “nežnija” biljka, a *O. umbellatum* subsp. *divergens* kao “snažnija”. U opisu stoji da podvrstu *umbellatum* karakterišu sedeće bočne lukovice ili na kratkim drškama, najčešće sa razvijenim listovima, a podvrstu *divergens* male neolistale bočne lukovice. Za *O. umbellatum* subsp. *divergens* takođe se kaže da su donje cvetne drške jako izdužene, sa donjim pripercima za trećinu kraćim, a drške plodova malo naniže savijene. Donje cvetne drške *O. umbellatum* subsp. *umbellatum* nešto su kraće, skoro horizontalne. Listići perigona *O. umbellatum* subsp. *divergens* su veći, a plod naviše upravljen (Diklić, 1975).



**Slika 4.** *Ornithogalum umbellatum*: A – lektotip (Reneaulme, 1611), preuzeto iz Martínez-Azorín i sar. (2009); B – ilustracija preuzeta iz Kops i van Hall (1828)



**Slika 5.** *Ornithogalum divergens*: A – ilustracija preuzeta iz Jordan i Fourreau (1867); B – deo fotografije preuzete iz Martínez-Azorín i sar. (2010)

#### 2.4.2 Anatomske karakteristike vrsta roda *Ornithogalum*

Velika morfološka plastičnost predstavnika roda *Ornithogalum* komplikuje taksonomska razgraničavanja, te su anatomske podaci analizirani kao potencijalno značajan doprinos rešavanju taksonomskih problema (Meriç i sar., 2011) i ovi karakteri se navode kao značajni za sistematiku *Ornithogalum* (Öztürk i sar., 2014). Podrobnju analizu anatomije lista u kontekstu sistematike familije Hyacinthaceae uradili su Lynch i sar. (2006), zaključivši da generalno nema mnogo varijabilnosti u anatomiji lista među rodovima, kao što je uostalom slučaj i sa većinom makromorfoloških karaktera, što je u prošlosti upravo i rezultovalo konfuzijom u taksonomiji ove grupe. Zabeležili su određene karakteristike tipične za familiju, ali i pojedine osobine po kojima se rodovi međusobno razlikuju. Neka od zajedničkih obeležja anatomije lista za sve istraživane predstavnike Hyacinthaceae su i da poprečni presek liske ima oblik velikog latiničnog slova U/V; ćelije su sve manje idući od centra lista ka ivicama, ćelije lica kraće i šire od ćelija

naličja; anomocitne stome prisutne i na licu i na naličju (Lynch i sar., 2006). Kod provodnih snopića lista ksilem je adaksijalno postavljen, floem abaksijalno, a okruženi su sa par slojeva parenhimskih ćelija. Kod podfamilije Ornithogaloideae karakteristično je da su provodni snopići raspoređeni u dva reda, veći se smenjuju manjim, u centru veći a manji ka ivicama, dok su kod većine ostalih predstavnika Hyacinthaceae u istom redu podjednako udaljeni od površine (Lynch i sar., 2006). Zadebljali periklinalni zidovi epidermalnih ćelija kod Hyacintheae omogućavaju uskim listovima da stoje skoro uspravno. U poređenju sa većinom drugih geofita, listovi većine pripadnika čitave familije poseduju relativno malo sklerenhima, posebno kada se uzme u obzir njihova preferencija sušnih staništa. Nedostatak ovih kseromorfnih karakteristika objašnjava se efemernom prirodom listova. Sa druge strane, pojava prostranih lakuna potencijalno se pripisuje omogućavanju bržeg razvoja listova listopadnih vrsta sušnih staništa (Lynch i sar., 2006). Lakune su uočene kod većine predstavnika Hyacintheae, te kod skoro svih pripadnika Ornithogaloideae, a nastaju razgradnjom većih ćelija centralnog mezofila između provodnih snopića lista. Značajne su kao potencijalni rezervoari sluzi, koja se u većoj količini može naći kod mnogih biljaka ove grupe.

Postojanje sluzi primećeno je u listovima skoro svih biljaka pripadnika tribusa Hyacintheae, a smatra se potencijalnom sinapomorfijom podfamilije Ornithogaloideae (Lynch i sar., 2006). Iako obilno prisustvo sluzi karakteriše celu grupu, nepoznato je njeno tačno poreklo. Za sluzi se inače zna da ih mogu proizvoditi najrazličitije sekretorne strukture, od pojedinačnih ćelija, do ćelija koje oblažu sekretorne šupljine ili specijalizovane kanale (Fahn, 1988). Poreklo sluzi moglo bi biti iz tipičnih sluzno-kristalnih idioblasta, sa rafidima. U nekim rodovima, poput *Ornithogalum*, kristali koji predstavljaju prelazne oblike između rafida i stiloida prisutni su u sluzi velikih ćelija u okviru mezofila lista, ali i u korteksu skapusa (Merić i sar., 2011; Yilmaz Çitak i sar., 2015). Kako se kristali razvijaju, ivični zidovi idioblasta mogu se postepeno gubiti, rezultujući izduživanjem i fuzijom ćelija koje tada sadrže manje grupe kristala, od po par do nekoliko, koji nisu zbijeni i zaronjeni su u sluz. Ovakvi idioblasti sličniji su tada sekretornim cevima, prisutnim recimo u listovima lukovica kod vrsta roda *Allium* (Lynch i sar., 2006). Intracelularno poreklo sluzi zabeleženo je i u lukovicama geofita srodnih *Ornithogalum*, *Urginea maritima* (Hyacinthaceae) (Malviya i sar., 2011). Jedna od funkcija sluzi u ovim podzemnim organima je skladištenje vode, vezivanjem za ugljene hidrate. Konzervacija vode u tkivima

podzemnih organa upravo je strategija geofita za opstanak u sušnim predelima koje naseljavaju (Larcher, 2003).

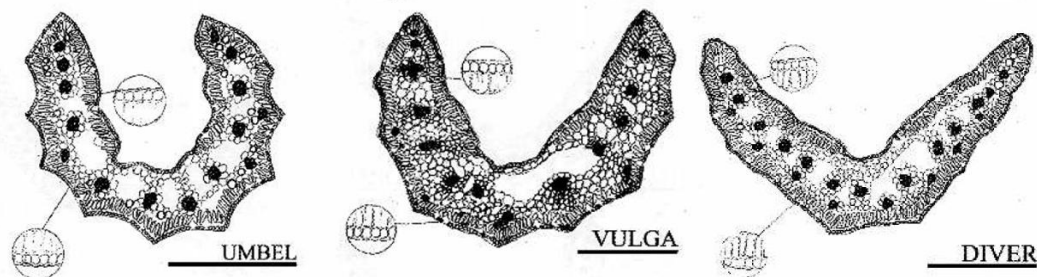
Kristali su tvorevine koje se često obrazuju u biljnim ćelijama, kao krajnji produkti metabolizma (Tatić i Petković, 1991). Mogu biti različitog hemijskog sastava i porekla, organske ili neorganske prirode, drugačijeg su oblika, javljaju se pojedinačno ili u grupama. Najčešće predstavljaju kalcijumove soli oksalne kiseline. Kalcijum oksalat obrazuje se sjedinjavanjem nitrata kalcijuma – koji se korenom usvaja iz zemljišta i oksalne kiseline – koja je produkt disanja. Oslobađa se nitro-grupa iz koje biljke usvajaju potreban azot koji ulazi u sastav belančevina, dok nastali kalcijum-oksalat ne ulazi u procese razmene materija već se nagomilava u ćelijama (Tatić i Petković, 1991). Prisustvo odnosno odsustvo kristala u pojedinim biljnim ćelijama može biti koristan karakter prilikom determinacije. Različiti oblici kristala kalcijum oksalata konstantni su i ponavljaju se iz generacije u generaciju, usled konzistentnosti fizioloških i genetičkih parametara zaslužnih za njihovu kontrolu, te prisustvo/odsustvo pojedinih tipova kristala može biti taksonomski karakter (Prychid i Rudall, 1999). Ipak, tačan značaj ovih tvorevina za biljke nije sasvim poznat. Mogu jednostavno predstavljati oblike skladištenja kalcijuma i oksalne kiseline ili služiti kao depozitori metaboličkog otpada koji bi inače bio toksičan po ćelije i tkiva; ili mogu imati više specijalizovane uloge, kao što je zaštita od biljojeda (Prychid i Rudall, 1999).

Najprisutniji kristali kalcijum-oksalata kod monokotila igličastog su oblika i najčešće obrazuju grupe u obliku snopića koje se nazivaju rafidi. Oni su smešteni u plazmi krupnih izduženih ćelija koje odstupaju od okolnih parenhimskih ćelija po svojim morfološkim i fiziološkim osobinama i nazivaju se idioblasti (Tatić i Petković, 1991). Pojedinačni izduženi kristali u veoma dugim uskim ćelijama nazivaju se stiloidi ili pseudorafidi, deblji su od rafida a u listovima monokotila najčešće se nalaze u parenhimskim ćelijama koje okružuju provodne snopiće, ili u idioblastima mezofila. Postoje prelazni oblici između rafida i stiloida (Prychid i Rudall, 1999) i upravo ovakve male grupe igličastih kristala u idioblastima izduženim po osi zabeležene su kod *Ornithogalum*, a kod nekih vrsta i stiloidi, sferični kristali kao i oni nalik družama (Lynch i sar., 2006). Ipak najčešći tip kristala kod familije Hyacinthaceae su rafidi, koji se mogu naći u skoro svakom delu biljke, kako vegetativnim tako i generativnim organima, obično u idioblastima parenhima. Većina rafida su četvorougaoi, ali kod nekih taksona, kao što



je *Ornithogalum*, su najmanje šestougaoni, skoro eliptični na poprečnom preseku (Prychid i Rudall, 1999).

Opsežnija istraživanja anatomskih karakteristika u okviru *Ornithogalum* generalno su malobrojna. Među prvima su razlike u anatomiji lista, između *O. nutans* i *O. narbonense* L. iz Bugarske, prezentovali Popova i Anastasov (1997). Kao diferencijalni karakteri izdvojili su se: dimenzije i broj epidermalnih ćelija i stoma, osobine kutikule, oblik i raspored ćelija mezofila i struktura ivice liske. Morfo-anatomska varijabilnost lista među 14 različitih taksona roda *Ornithogalum* na području centralnog Mediterana izučavana je od strane Peruzzi i sar. (2007) (uključujući i *O. umbellatum* s.l.) (Slika 6). U poređnom analizom izdvojeno je 13 karaktera korisnih za grupisanje srodnih vrsta ali uglavnom nedovoljno pouzdanih za karakterizaciju svakog taksona pojedinačno.



**Slika 6.** Poprečni preseki listova: *Ornithogalum umbellatum* L. 3x (= *O. angustifolium* Boreau); *O. umbellatum* L. 4x (= *O. vulgare* Sailer); *O. divergens* Boreau. Preuzeto iz Peruzzi i sar. (2007) (deo crteža)

Morfološka i atomska ispitivanja lista i skapusa rađena su za *O. nutans* i *O. boucheanum* (Kunth) Aschers u Turskoj (Meriç i sar., 2011). Pokazane su razlike u strukturi mezofila lista i prisustvu lakuna, dok za karaktere skapusa nisu uočena značajna razdvajanja. Komparativne atomske analize između 12 vrsta *Ornithogalum*, iz podrodova *Ornithogalum* (uključujući i *O. umbellatum*) i *Beryllis* (Salisb.) Baker, nedavno su sprovedene u centralnoj Anadoliji (Öztürk i sar., 2014). Indeks stoma naličja lista, kao i broj provodnih snopića i prečnik skapusa, izdvojili su se kao značajni karakteri za razdvajanje na nivou podroda. Najnovije istraživanje morfo-anatomskih karakteristika lista, skapusa i korena, kao i semena i polenovih

zrna, rađeno je na dva turska endema: *O. chetikianum* Uysal, Ertuğrul & Dural i *O. demirizianum* Malyer & Koyuncu (Yilmaz Çitak i sar., 2015). Broj slojeva kore i sklerenhima kao i broj centralnih provodnih snopića u skapusu zabeleženi su kao mogući dijagnostički karakteri za razlikovanje ovih vrsta. Tip ćelija mezofila lista takođe je prepoznat kao potencijalno taksonomski značajan karakter.

## 2.5 Molekularni markeri u istraživanju roda *Ornithogalum*

Molekularne tehnike primenjivane su najviše za razjašnjenje filogenetskih odnosa na nivou familije Hyacinthaceae i preciziranje intergeneričkih granica unutar nje, usled potrebe za revizijom ranijih saznanja nastalih na osnovu tradicionalnog, morfološkog, pristupa. Ipak, zbog neslaganja u interpretaciji, ni rezultati analize molekularnih podataka nisu dali definitivna i jednoznačna rešenja, te postoje različita tumačenja, naročito za podfamiliju Ornithogaloideae (Manning i sar., 2009; Martínez-Azorín i sar., 2011). Filogeniju familije Hyacinthaceae zasnovanu na plastidnim DNK sekvencama prvi su radili Pfosser i Speta (1999). Da bi istražili odnose u okviru familije, sekvencirali su *trnL* intron (*TRNL*-intron) i *trnL-trnF* intergenski spejser (*TRNF* IGS), regione hloroplastnih DNK. Ovim istraživanjima obuhvaćeno je i nekoliko taksona *O. umbellatum* grupe. Manning i sar. (2004) revidirali su familiju na području podsaharske Afrike koristeći takođe regione plastidne DNK i prepoznajući samo jedan, veoma varijabilan rod u okviru podfamilije Ornithogaloideae. Istraživanja se nastavljaju na ovom nivou, molekularnom filogenijom i revizijom klasifikacije zasnovanoj na analizi četiri plastidna DNK regiona (*trnL* intron, *trnL-F* spejser, *rbcL* i *matK*) (Manning i sar., 2009). Identifikovane su tri primarne klade, odnosno četiri roda (među kojima i *Ornithogalum*) u okviru Ornithogaloideae. Pokušaj razjašnjenja taksonomije u okviru ove podfamilije, koja je bila kontroverzna tema prethodnih decenija, dali su sa svoje strane i Martínez-Azorín i sar. (2011), koji su mišljenja da je dotadašnja klasifikacija bila u velikoj meri kontradiktorna. Ovi autori su filogenetske analize zasnovali na sekvencama plastidnih regiona koji su ranije korišćeni (Manning i sar., 2009), ali i nuklearnom regionu ITS (*Internal Transcribed Spacer*). Na ovaj način pronađene su tri glavne klade (među kojima i Ornithogaleae), koje su u skladu sa prethodno utvrđenim, i 19 filogenetski monofiletskih grupa odnosno rodova (među kojima i *Ornithogalum*). Interesantno je napomenuti ranije zapažanje Herrmann (2002) da DNK sekvencioniranje ITS regiona nrDNK (nuklearne

ribozomalne DNK) nije koristan molekularni marker u istraživanju *O. umbellatum* grupe, jer se ovaj, inače važan izvor dokaza filogenije angiospermi, ovde nije pokazao kao pogodan metod. Naime, uočene su poteškoće za stabilnu PCR amplifikaciju i dobijanje sekvenci odgovarajućeg kvaliteta i dužine. Kao potencijalni razlog ovaj autor navodi neuobičajeno visok sadržaj guanin-citozin parova (GC oko 72%) u okviru ITS2 regiona. Pretpostavlja da bi sa evolutivne tačke gledišta mogla postojati veza između visokog GC sadržaja i karakteristika staništa. Ova pojava je već pokazana kod drugih taksona koji naseljavaju sušna staništa izložena visokom stepenu insolacije, na koji je DNK sa više GC otpornija jer GC parovi formiraju tri vodonične veze u DNK heliksu (Herrmann, 2002).

Generalna prednost molekularnih markera u odnosu na morfološke i biohemijske markere je što se mogu koristiti u bilo kojoj fazi ontogenetskog razvoja biljke i na njih ne utiču faktori sredine (Bardakci, 2001; Baránek i sar., 2006; Lisek i sar., 2006; Skorić i sar., 2012; Morden i Harbin, 2013). Zbog ovih osobina oni su u širokoj upotrebi u hortikulturi, naročito kada treba identifikovati nepoznate hibride. DNK fingerprinting tehnike su korišćene za analizu očinstva u studijama evolucije i ekologije prirodnih populacija biljaka. Rod *Ornithogalum* je slabo genetički istražen, ipak korišćene su RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) i AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) metode (Joung i Roh, 2004). Ove tehnike su zasnovane na PCR (*Polymerase Chain Reaction*) i prajmerima za čiju sintezu nije neophodno poznavati sekvencu genoma (ili dela genoma) vrste koja je objekat istraživanja.

U okviru *Ornithogalum* neke vrste imaju veliki potencijal za baštensku ili komercijalnu produkciju, kao što je južnoafrički *O. thyrsoides* (Joung i Roh, 2004). Da bi se sačuvale željene hortikulturene karakteristike ove biljke izlažu se vegetativnoj propagaciji, a kada dođe do ukrštanja pri oprašivanju potomstvo se može koristiti za selekciju novih kultivara, ili kao roditelji za dalje cikluse ukrštanja. Mlade biljke nikle iz semena hibrida ovih biljaka izdvojene su i njihov rast i cvetanje evaluirani; varirale su u visini skapusa, obliku i boji cveta i prisustvu/odsustvu polena. Identifikacija porekla (roditeljstva tj. očinstva) hibrida rađena je DNK fingerprinting tehnikama. Cilj je bio da se uz pomoć ovih markera utvrdi da li su ispitivane mlade biljke izrasle iz semena rezultat samooprašivanja ili ukrštanja, a ideja da se rezultati koriste da se zaštite poželjni hibridi. Određeni su izvori polena i zaključeno je da biljke nisu rezultat samooprašivanja, kao i ko bi mogao biti roditelj i koga bi trebalo koristiti u budućim

hibridizacijama da bi se uzgajale biljke sa čisto belim cvetovima (Joung i Roh, 2004). Pogrešno obeležene biljke identifikovane su RAPD, a AFLP je poslužila za razdvajanje bliskih genotipova koji nisu razdvojeni RAPD. Ipak, poređenjem je zaključeno da su obe vrste markera slične u predviđanju odnosa među populacijama (Joung i Roh, 2004).

Kada su u pitanju divlje biljke *Ornithogalum*, iz prirodnih populacija, postoje opsežna istraživanja od strane Martínez-Azorín i sar. (2011) koji se intenzivno bave ovim i srodnim rodovima. Koriste različite pristupe u naporima da razjasne sistematiku ove grupe. Što se tiče upotrebe molekularnih markera, Martínez-Azorín (2008) primenjuje AFLP u kombinaciji sa analizom morfoloških karaktera, a u cilju razjašnjenja taksonomije roda *Ornithogalum* u Španiji.

Polimorfizmi, odnosno promene u genomu, koje se ovakvim tehnikama mogu uočiti, rezultat su promena u sekvenci na mestu vezivanja prajmera (što onemogućava stabilnu asocijaciju sa prajmerom (RAPD)), zatim promenu u sekvenci koja će stvoriti novo mesto za vezivanje prajmera, ili drugih promena koje onemogućavaju amplifikaciju ciljne DNK (Demeke i sar., 1997), odnosno zasnivaju se na izmenama unutar ili između restrikcionih mesta (AFLP). Kvalitet podataka koji se dobijaju ovim analizama je ograničen zbog činjenice da daju dominantne markere, pa heterozigotnost nije primetna. Ipak, zbog svoje univerzalne primenljivosti u širokoj su upotrebi upravo za proučavanje diverziteta genetički nedovoljno istraženih vrsta. AFLP je visoko reproducibilna i visoko diskriminatorna, pouzdanija tehnika u poređenju sa RAPD, ali tehnički zahtevnija i podrazumeva visokokvalitetnu DNK. RAPD je jednostavnija, ekonomičnija, brža i zahteva manje količine DNK od AFLP (Demeke i sar., 1997; Bardakci, 2001).

U cilju utvrđivanja genetičke varijabilnosti u okviru roda *Ornithogalum* u Srbiji i okolini rađene su preliminarne analize (Andrić i sar., 2009) u kojima je RAPD-PCR metoda primenjena na populacijama taksona *O. refractum* i *O. orthophyllum* subsp. *kochii* (Parl.) Maire & Weiller. Zaključeno je da je RAPD pouzdana i brza tehnika pogodna za ispitivanje genetičke varijabilnosti *Ornithogalum*, te se ova istraživanja nastavljaju na *O. umbellatum* i *O. divergens* (Andrić i sar., 2014a). Ovo su ujedno i prve primene molekularnih markera na biljkama iz ove grupe u okviru datog područja.

### 2.5.1 RAPD metoda u detekciji polimorfnosti genoma

RAPD analiza u osnovi je PCR reakcija u kojoj se koriste nespecifični, dekamerni prajmeri – kratki pojedinačni oligonukleotidi, a rezultat reakcije su umnoženi fragmenti DNK nepoznate sekvence (Lynch i Milligan, 1994; Demeke i sar., 1997). Prajmeri se vezuju za komplementarne sekvence u genomu i amplifikuje se fragment između njih i na ovaj način na nivou celokupnog genoma dobija se do nekoliko umnoženih fragmenata DNK. Produkti amplifikacije razdvajaju se standardnom tehnikom elektroforeze – na agaroznim gelovima u prisustvu etidijum bromida i vizualizuju pod ultraljubičastim svetlom. Polimorfizmi se detektuju kao prisustvo ili odsustvo traka (binarno stanje markera) (Bardakci, 2001). Različiti su uzroci nastanka DNK polimorfizma između individua: nukleotidna supstitucija vezivnog mesta prajmera, pojava novog mesta vezivanja prajmera, nedostatak mesta vezivanja prajmera uzrokovan delecijom, promena dužine amplifikovanog regiona između mesta vezivanja prajmera, ili insercija koja čini fragment prevelikim za polimerizaciju (Shasany i sar., 2005).

RAPD metoda je prvi put opisana 1990., iste godine nezavisno od strane dve grupe autora (Welsh i McClelland, 1990; Williams i sar., 1990). Nasuprot morfologiji i kariotipu, kriterijumima koji ili pokazuju ograničenu varijabilnost, ili su pod uticajem faktora spoljašnje sredine i stupnja razvoja biljke (Baránek i sar., 2006; Skorić i sar., 2012), RAPD tehnika omogućila je objektivniji pristup, na molekularno-genetičkom nivou, kako korišćenju tako i konzervaciji genetičkih resursa biljaka. Stoga je već u poslednjoj deceniji dvadesetog veka počela uspešna upotreba ove tehnike na mnogim biljnim rodovima, među prvima *Triticum* (Brown i sar., 1993), *Picea* (Isabel i sar., 1993), *Vicia* (Link i sar., 1995), *Oryza* (Virk i sar., 1995), *Beta* (Munthali i sar., 1996) i *Prunus* (Bartolozzi i sar., 1998). Od samog početka korišćenja metoda je našla primenu u genetičkim studijama mnogih vrsta – za konstrukciju genetičkih mapa (Yang i Quiros, 1995), za analizu genetičke varijabilnosti na intraspecijskom nivou (Ayres i Ryan, 1999), za detekciju i procenu stope somaklonalne varijabilnosti (Al-Zahim i sar., 1999). Usled svoje univerzalnosti i nespecifičnosti ova se tehnika urbzo po opisivanju počela koristiti za ispitivanje genetičke varijabilnosti nativnih populacija endemskih, usko rasprostranjenih i ugroženih vrsta biljaka (Wang i sar., 1996). Sa druge strane brzina i efikasnost RAPD metodologije učinile su je pogodnom za usavršavanje komercijalno značajnih biljaka, recimo definisanje strategije za uspešan menadžment velikih kolekcija germplazme useva koje

predstavljaju skladišta biodiverziteta i vredan izvor korisnih gena. Stoga je ova tehnologija omogućila razvijanje standardizovanih procedura za identifikaciju varijabilnosti, procenu diverziteta i bolje korišćenje ovih kolekcija (Virk i sar., 1995). Informacije o genetičkom diverzitetu i identifikacija grupa germplazme su neophodne pri optimizaciji metoda ukrštanja biljaka i procedura selekcije, a RAPD se pokazala pogodnom tehnikom za ovakve analize dajući rezultate u skladu sa postojećim botaničkim nalazima u pogledu inter- i intrapopulacione genetičke varijabilnosti (Link i sar., 1995).

RAPD metoda postaje naročito interesantna zbog mogućnosti identifikacije markera vezanih za osobine od interesa (kao što je otpornost na pojedine bolesti) bez neophodnosti mapiranja čitavog genoma (Bardakci, 2001). Stoga se nastavlja koristiti prilikom istraživanja mnogih komercijalno značajnih biljaka, za determinaciju interspecijskih hibrida u programima selekcije te za izdvajanje poželjnih genotipova u cilju poboljšanja kvaliteta i prinosa (Shasany i sar., 2005). Ova tehnika se pokazala kao pouzdana u razlikovanju sorti gajenih biljaka čije su morfološke osobine veoma slične i zavise od uslova spoljašnje sredine (Lisek i sar., 2006), odnosno za komparativne analize genetičkog diverziteta između genotipova gajenih vrsta (Mukherjee i sar., 2013; Perić i sar., 2014), koji se mogu porediti sa teoretskim očekivanjima zasnovanim na njihovim botaničkim pedigreeima (Baránek i sar., 2006). RAPD analizama utvrđuje se i da li su gajene biljke zadržale izvornu organizaciju genoma, mogu se razjasniti odnosi sa predačkim vrstama i istražiti srodnost među ispitivanim (Grilli i sar., 2004). Može se utvrditi da li unutar neke populacije postoji očuvan važan genetički diverzitet koji može biti od koristi za proširivanje genetičkih baza gajenih biljaka (Kleynhans i Spies, 2000; Martins i sar., 2006; Moulin i sar., 2012), odnosno može se pokazati nedostatak polimorfizma koji govori o istom poreklu individua (Treul i sar., 2001; Singh i sar., 2014).

Pored analize biljaka komercijalno značajnih, pre svega u poljoprivredi (Miladinović i sar., 2014; Perić i sar., 2014) i medicini (Skorić i sar., 2012), kod nas se RAPD tehnika poslednjih godina najviše primenjuje u šumarstvu. Poznavanje genetičke varijabilnosti populacija drveća osnova je za menadžment u zaštiti šuma i njihov održivi razvoj, te su na ovaj način ispitivani interpopulacioni i interspecijski odnosi različitih drvenastih vrsta koje su od značaja za šumarstvo (Bojović i sar., 2013; Kovačević i sar., 2013; Lučić i sar., 2013).

U cilju kreiranja odgovarajućih planova upravljanja i konzervacionih programa potrebno je dobro poznavati trenutni status genetičkog diverziteta te adaptivni potencijal populacija kao preduslov za uspeh u konzervaciji; RAPD može poslužiti kvantifikovanju ove varijabilnosti, a ovakve informacije koriste očuvanju genetičkih resursa ekološki značajnih ili ugroženih vrsta (Ma i sar., 2012; Pinheiro i sar., 2012; González-Pérez i sar., 2013; Morden i Harbin, 2013; Mendonça i sar., 2014; Mucciarelli i sar., 2014). Pravilna taksonomska razgraničavanja od ključnog su značaja za razumevanje biogeografskih modela među populacijama i vrstama, te efektivnu konzervaciju retkih biljaka. Klasifikacija zasnovana isključivo na morfološkim karakterima može biti problematična, naročito kod vrsta kod kojih su izražene posledice evolucije kroz adaptivnu radijaciju, te udaljene taksone često odlikuje slična morfologija i ekologija (Morden i Harbin, 2013).

Usled svoje jednostavnosti i brzine u otkrivanju genetičke varijabilnosti na nivou DNK (Bardakci, 2001) RAPD metoda nalazi široku primenu u molekularnoj biologiji biljaka, kako u oblasti taksonomije, tako za analize genetičke strukture populacija. Studije diverziteta na svim taksonomskim nivoima, uključujući populacione i filogenetske studije, kao i analize egzotičnih taksona, omogućene su primenom ove tehnike pre svega zbog jedne njene važne osobine, a to je univerzalna primenljivost.

Osnovna prednost ove metode je upravo činjenica da za dizajniranje PCR prajmera nisu potrebne prethodne informacije o DNK sekvenci, što je slučaj sa drugim marker sistemima zasnovanim na PCR (Kovačević i sar., 2013). Nema potrebe za DNK probama niti poznavanjem analiziranog genoma, prajmeri su komercijalni i relativno lako se dobijaju, te je RAPD tehnika posebno pogodna za analizu genetički nedovoljno istraženih taksona. Zahteva male količine DNK i nespecifična je – moguće su različite vrste studija na različitim taksonomskim nivoima. RAPD svoju popularnost duguje pre svega osobini produkcije brojnih polimorfnih markera u uslovima ograničenog vremena i budžeta (Skorić i sar., 2012). Ova metoda je dobar izbor kada su odgovarajuće probe/setovi prajmera dostupni, jer nema troškova razvoja, te kada su ograničeni finansijski resursi. Takođe se bira i u slučaju vremenskih ograničenja – jer je odmah primenljiva. Procedura ne obuhvata blotting ni hibridizaciju, automatizovana je, dostupna i relativno jednostavna. Omogućava dobijanje velikog broja fragmenata i multilokusnu analizu (Lynch i Milligan, 1994; Baránek i sar., 2006). Veliki broj uzoraka može se ekonomično

analizirati uz korišćenje potencijalno neograničenog broja markera, a dobijeni podaci nezavisni su od ontogenetske ekspresije (Bardakci, 2001).

Sa druge strane, kvalitet podataka koji se dobijaju RAPD-PCR analizama je ograničen pre svega zbog toga što ova tehnika daje dominantne markere, pa heterozigotnost nije primetna. Zbog osobine dominantnosti tačnost procene frekvencija gena za ovakve lokuse obično je manja u odnosu na kodominantne markere (Lynch i Milligan, 1994). Stoga mnogi smatraju da je opravdanost primene standardnih genetičkih formula za određivanje diverziteta unutar i između populacija diskutabilna (Nybom, 2004). Takođe, identitet traka teško je utvrditi, mogu se sastojati od komigrirajućih produkata amplifikacije. Kako je separacija kvantitativna (prema veličini), fragmenti iste dužine ne mogu se razdvojiti kvalitativno (prema redosledu nukleotida); traka iste molekulske mase nije dokaz istih homologih fragmenata kod različitih individua (Nybom i Bartish, 2000). Ipak, pokazano je da je većina komigrirajućih fragmenata identična po poreklu, bar na nivou vrste ili grupe blisko srodnih vrsta (Link i sar., 1995; Nybom, 2004). Nedostatak trake zbog nepostojanja ciljane sekvence ne može se razlikovati od onog nastalog zbog nedostatka amplifikacije iz bilo kog drugog razloga, kao što je npr. loš kvalitet DNK. Jedna od najozbiljnijih grešaka vezanih za RAPD analize nastaje usled kompeticije za amplifikaciju između različitih DNK fragmenata (Williams i sar., 1993; Halldén i sar., 1996), u kom slučaju RAPD traka koja je uspešno amplifikovana u jednom genotipu, često se ne može detektovati u drugom, što rezultuje pogrešnim interpretacijama genotipa. Za polimorfne lokuse, frekvencija grešaka usled ovakve kompeticije je u proseku 15% u genomima različite kompleksnosti, međutim usled pozitivne korelacije između prajmera i broja polimorfizama, visoko polimorfni prajmeri mogu se efektivno koristiti u datim protokolima (Halldén i sar., 1996).

Pored ovih činjenica, koje uz osobinu dominantne ekspresije RAPD tehniku čine donekle nepouzdanom, kao najvažnija mana ove metode od njenog nastanka navodi se nizak nivo reproducibilnosti dobijenih podataka (Penner i sar., 1993; Skroch i Nienhuis, 1995; Nybom, 2004; Skorić i sar., 2012), što se tumačilo kao posledica niske temperature (30-36°C) na kojoj se vezuju prajmeri (Lefebvre i Chèvre, 1995). Osetljivost i na najmanje promene uslova PCR reakcije vezuje se za malu dužinu prajmera i ogleda se u "bleđim" trakama na gelu odnosno njihovom izostajanju, koje je često posledica neadekvatno pripremljene genomske DNK pri izolaciji ili primene njenih neodgovarajućih koncentracija (Bardakci, 2001). Ovi problemi



vremenom su donekle prevaziđeni usavršavanjem laboratorijske tehnike i načina analize podataka (Nybom, 2004). Od značaja je pronaći adekvatne koncentracije komponenata PCR reakcije, kao i najpogodnije temperature i sl. (Skorić i sar., 2012). Pored pažljive optimizacije uslova PCR reakcije, važan je i odabir podesnih statističkih metoda (Bojović i sar., 2013).

Zbog osobine dominantnosti, kao i drugih navedenih problema, za mnoge analize RAPD markeri se smatraju manje pouzdanim i preciznim od kodominantnih markera, kao što su RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) ili SSR (*simple sequence repeats*) (Williams i sar., 1993; Säll i Nilsson, 1994; Demeke i sar., 1997). Sa druge strane, nedostaci ovih metoda su vreme i troškovi vezani za razvoj specijes-specifičnih proba i prajmera iz genomskih biblioteka ili kroz skrining baza podataka sekvenci (Nybom, 2004). Tako da se, ipak, često smatra da prednosti RAPD kao što su brzina, niska cena, direktna korelacija sa strukturom genomske DNK (Bojović i sar., 2013) i jednostavnost primene i male količine DNK koje zahteva (Demeke i sar., 1997; Bardakci, 2001), prevladavaju nad manama u komparaciji sa drugim molekularnim markerima (RFLP, AFLP, mikrosateliti i td.). U poređenju sa kodirajućim DNK sekvencama, RAPD su brojniji i brže su se menjali tokom evolucije, stoga je moguće pronaći one specifične za vrstu ili grupu vrsta (Kovačević i sar., 2013). Pored toga, rezultati brojnih istraživanja vezanih za rekonstrukciju filogenetskih odnosa dobijeni RAPD markerima u saglasnosti su sa zaključcima izvedenim uz pomoć drugih tehnika (Kovačević i sar., 2013). Naročito je pokazano da su RAPD dali veoma slične, uporedive rezultate kao i ostali markeri sa dominantnim nasleđivanjem (ISSR - *inter simple sequence repeats* i AFLP) koji su tehnički zahtevniji (Nybom, 2004; Shasany i sar., 2005; Moulin i sar., 2012). Upravo istraživanja koja porede rezultate RAPD sa recimo ISSR i dobijaju jako visoke korelacije dobijenih podataka, odnosno veliki nivo podudarnosti, govore o pouzdanosti ove tehnike (Ma i sar., 2012; Pinheiro i sar., 2012; Mukherjee i sar., 2013). Istraživanja koja porede podatke RAPD sa onim proizvedenim kodominantnim markerima idu u prilog tome da su dobijeni rezultati veoma slični, štaviše RAPD se često pokazuje informativnijom metodom jer otkriva više nivoa polimorfizma od recimo RFLP (Link i sar., 1995) i SSR (Baránek i sar., 2006; Mukherjee i sar., 2013; Singh i sar., 2014).

### 3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Jedan od razloga za istorijski prepoznatljive taksonomski i filogenetski nerazjašnjene relacije vezane za biljke roda *Ornithogalum*, i pored činjenice da izazivaju interesovanje naučne javnosti na različitim poljima dugi niz godina, je i taj što postoje područja sa prirodnim staništima njihovih populacija čijem izučavanju nije posvećeno dovoljno pažnje. U Srbiji i okolini *Ornithogalum* je široko rasprostranjen i mada su populacije uglavnom relativno malobrojne diverzitet je veliki.

Cilj ovog istraživanja je ispitivanje varijabilnosti *O. umbellatum* i *O. divergens* na teritoriji Srbije i Mađarske. U tu svrhu koriste se različiti markeri radi što sveobuhvatnije procene stanja. Ispituje se diverzitet datih biljnih taksona kroz:

- Analizu intra- i interpopulacione genetičke varijabilnosti korišćenjem molekularnih markera; utvrđivanje genetičke bliskosti odnosno udaljenosti između biljaka sa različitim lokaliteta; procenu struktuiranosti populacija;
- Analizu intra- i interpopulacione varijabilnosti anatomskih karaktera lista, skapusa i plodnika i
- Analizu intra- i interpopulacione varijabilnosti morfoloških karaktera vegetativnih i generativnih organa.

Dobijeni rezultati omogućiće uvid u nivo varijabilnosti i diferencijacije populacija, što je neophodan uslov za sagledavanje biološkog potencijala vrste, a sve sa ciljem što boljeg upoznavanja ovih taksona na istraživanom području. Sa jedne strane to je potrebno zbog razjašnjenja komplikovane taksonomije, u smislu izdvajanja potencijalno taksonomski značajnih anatomskih i morfoloških karaktera, kao i evaluacije primene određenih molekularnih markera u izučavanju genetičke diferencijacije ispitivanih taksona. Sa druge strane ovo je važno zbog značaja datih biljaka sa brojnih aspekata – potencijalne koristi odnosno štete za čoveka, ali pre svega iz ugla zaštite biodiverziteta. Uvid u nivo genetičke divergentnosti populacija doprineće adekvatnim konzervacionim strategijama i upravljanju kako biljnim, tako i sa njima povezanim insekatskim vrstama.

## 4. MATERIJAL I METODE

### 4.1. Materijal

Biljni materijal uzorkovan je u sezoni cvetanja, u aprilu i maju. Cele jedinke *O. umbellatum* i *O. divergens* sakupljane su tokom šest sezona (2008-2013.) iz populacija na području Srbije i Mađarske, čime je pokriven veliki deo različitih prirodnih staništa ovih taksona. Za većinu specifičnih istraživanja uzorak broji 10 primeraka po lokalitetu (6–20 jedinki uzorkovano, u zavisnosti od veličine pojedinih populacija). Ispitivanjima je obuhvaćeno ukupno 29 populacija (Tabela 1), od čega je 19 korišćeno za molekularne analize, 25 za morfometrijske i 10 za analize anatomije lista, skapusa i plodnika.

Tačke na mapi distribucije (Slika 7) odgovaraju lokalitetima populacija iz kojih je vršeno uzorkovanje. Biljni materijal je *a priori* identifikovan na osnovu morfoloških karaktera i biljke su determinisane kao *O. umbellatum* odnosno *O. divergens* u Laboratoriji za sistematiku viših biljaka i fitogeografiju, Departmana za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu. Vaučer primerci su pohranjeni u Herbarijumu Departmana za biologiju i ekologiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu (BUNS). Deo materijala je presovan za čuvanje u herbarijumu, deo konzerviran u 50% etanolu, a takođe su uzorkovani i listovi koji su skladišteni na 4°C.

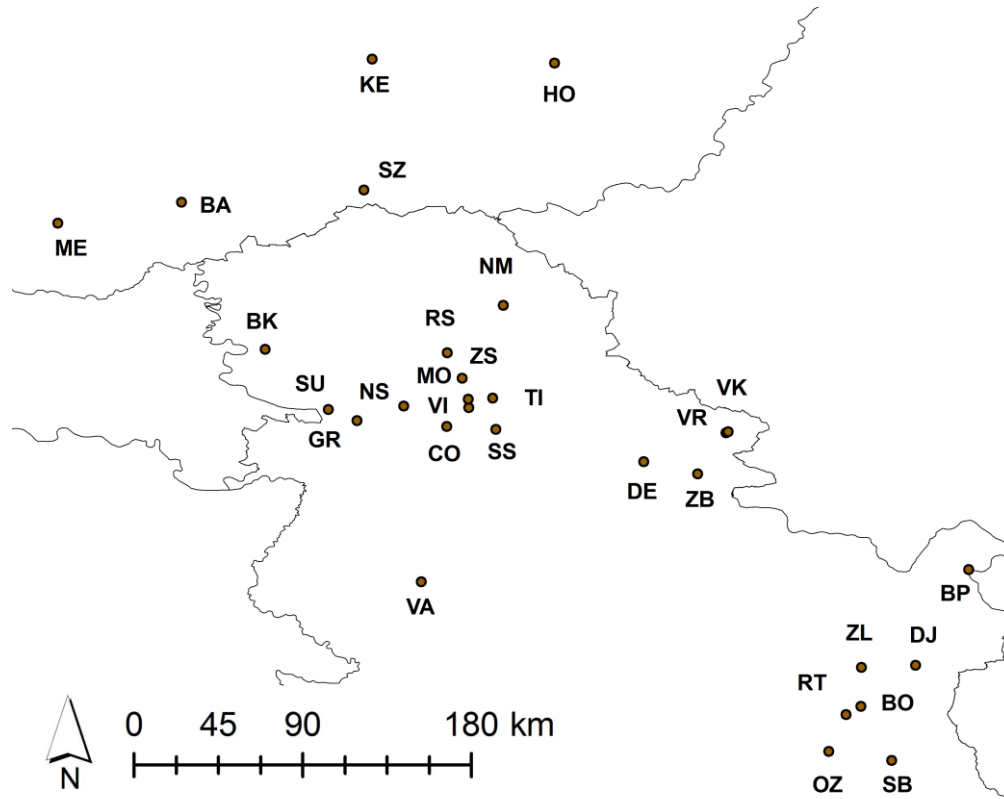
**Tabela 1.** Analizirane populacije *Ornithogalum umbellatum* sa lokalitetima, datumima uzorkovanja i oznakama vaučer primeraka

Lokalitet	Skr.	Stanište	Koordinate	Datum	Vaučer	Analiza***
Deliblatska Peščara	DE	Rub šume, stepa na pesku	N44°59'16"/E20°56'42"	18.04.2008.	2-1632	a, g, m
Vršačke Planine	VR	Rub šume	N45°07'22"/E21°19'38"	26.04.2009.	2-1633	a, g, m
Zlotska Klisura	ZL	Krečnjačke stene u termofilnoj šumi	N44°01'45"/E21°57'28"	10.05.2009.	2-1634	a, g
Valjevo	VA	Pored puta	N44°25'43"/E19°54'35"	29.04.2012.	2-1635	a, g, m
Mecsek, HU**	ME	Rub šume	N46°05'56"/E18°13'07"	21.04.2013.	2-1636	a, g
Szeged, HU	SZ	Slatina pored puta	N46°15'10"/E19°38'36"	22.04.2013.	2-1637	a, g, m
Baja, HU	BA	Stepa pored puta	N46°11'47"/E18°47'39"	22.04.2013.	2-1601	g
Novo Miloševo	NM	Na rubu njive	N45°42'60"/E20°17'29"	02.05.2008.	2-1602	g, m
Žabaljske slatine	ZS	Slatina pored puta	N45°22'36"/E20°05'58"	21.04.2010.	2-1603	g, m
Put Bogojevo - Karavukovo	BK	Slatina pored puta	N45°30'40"/E19°10'60"	07.05.2010.	2-1604	g, m
Rimski šanac	RS	Pored puta, stepa na lesu	N45°29'41"/E20°01'52"	23.04.2010.	2-1605	g, m
Brza Palanka, Kladovo	BP	Pored puta, pesak	N44°29'04"/E22°27'24"	28.04.2010.	2-1606	g, m
Soko Banja, Knjaževac	SB	Krečnjačke stene, odron	N43°35'43"/E22°05'52"	13.05.2010.	2-1651	g, m
Deli Jovan, Slatina	DJ	Kserofilna livada	N44°02'22"/E22°12'32"	10.05.2009.	2-1652	g, m
Rtanj, Lukovo	RT	Pored puta u šumi u podnožju planine	N43°48'35"/E21°53'07"	08.05.2010.	2-1653	g, m
Ozren, Resnik	OZ	Mezofilna livada	N43°38'17"/E21°48'18"	13.05.2010.	2-1654	m
Vršačka kula	VK	Pored puta u šumi	N45°07'37"/E21°20'12"	26.04.2009.	2-1655	m
Boljevac	BO	Livada pored puta	N43°50'52"/E21°57'17"	08.05.2010.	2-1659	m
Čortanovci	CO	Livada - stepa	N45°09'06"/E20°01'42"	25.04.2008.	2-1661	m
Kecskemét, HU	KE			05.2008.	2-1854	m
Zagaička brda*	ZB	Livada - stepa	N44°55'53"/E21°11'45"	18.04.2008.	2-1656	m
Grabovo*	GR	Stepa	N45°10'46"/E19°36'41"		2-1660	m
Stari Slankamen*	SS	Stepa na lesnom profilu	N45°08'17"/E20°15'25"	25.04.2008.	2-1855	m
Vilovo*	VI	Pored puta	N45°14'22"/E20°07'49"	17.04.2008.	2-1657	m
Mošorin*	MO	Pored puta	N45°16'44"/E20°07'41"	17.04.2008.	2-1658	m
Titelski Breg, Dukatar*	TI	Između njive i lesnog odseka	N45°17'01"/E20°14'29"	20.04.2012.	2-1638	a, g, m
Put Susek – Neštin*	SU	Pored puta	N45°13'51"/E19°28'38"	19.04.2012.	2-1639	a, g, m
Novi Sad*	NS	Gradsko groblje	N45°14'51"/E19°49'43"	26.04.2013.	2-1640	a, g, m
Hódmezővásárhely, HU*	HO	Pored puta	N46°50'42"/E20°31'47"	22.04.2013.	2-1641	a, g

\* *O. divergens*

\*\*HU – populacije iz Mađarske

\*\*\*a – anatomske analize; g – molekularne analize; m – morfometrijske analize



**Slika 7.** Mapa sa označenim lokalitetima sa kojih je vršeno uzorkovanje *Ornithogalum umbellatum* i *O. divergens*

## 4.2. Metode

### 4.2.1. Molekularne analize

Uzorkovanje biljnog materijala za molekularne analize vršeno je sa 19 različitih lokaliteta (Tabela 1), svaka istraživana populacija sastojala se od po 10 jedinki, te je ispitano ukupno 190 biljaka. Eksperimentalni deo ovog istraživanja urađen je u Laboratoriji za genetiku, Departmana za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu.

#### 4.2.1.1. Izolacija genomske DNK

Za analizu genetičke varijabilnosti primenom molekularnih markera kao početni materijal koristio se list, iz koga se modifikovanom metodom sa CTAB (Padmalatha i Prasad, 2006) vršila izolacija ukupne genomske DNK.

Oko 2 cm lista (50–100 mg) po uzorku najpre je macerirano u avanu uz dodavanje po 10 mg PVP-40. Sledeći korak podrazumevao je dodavanje 700  $\mu$ l prethodno ugrejanog (65°C) 2XCTAB pufera (sadrži 1M Tris-HCl pH8,0; 1,5M NaCl; 0,5M EDTA; 0,05M CTAB i 2%  $\beta$ -mercaptoethanol). Nakon mešanja i preliivanja u kivete, vršena je inkubacija na 65°C u trajanju 60–90 min (uz inverziju na svakih 30 min). Usledilo je dodavanje po 750  $\mu$ l hloroform-izoamilalkohola (24:1) i polučasovna inverzija. U narednom koraku uzorci su centrifugirani na 22°C, 12000rpm, 15 min. Supernatant je potom pažljivo odlivan u nove kivete (uz pomoć zasečenih nastavaka za pipete) i dodavan je isti volumen hladnog izopropanola. Nakon blage inverzije, u cilju mešanja faza, vršena je precipitacija DNK na -20°C najmanje 30 min. Uzorci su zatim centrifugirani na 22°C, 12000rpm, 15 min. Odliven je supernatant i pelet ispran sa 500  $\mu$ l 70% etanola, odstojavaši u njemu 20 min. Etanol je pažljivo odliven i uzorci su stavljeni u termoblok, na 37°C, u cilju isparavanja preostalog etanola. Pelet je rastvoren u 200  $\mu$ l 0,1 $\times$ TE pufera. Nakon što su tokom noći ostavljeni na 4°C, uzorci su zagrejani na 65°C (5–10 min u inkubatoru). Dodata je ista količina (200  $\mu$ l) fenol-hloroform-izoamilalkohola (25:24:1). Naredni koraci bili su centrifugiranje na 22°C, 8000rpm, 15 min i odlivanje supernatanta u nove kivete. Nakon dodavanja iste količine hloroform-izoamilalkohola (24:1), usledilo je centrifugiranje na 22°C, 12000rpm, 15 min. Supernatant je ponovo odlivan u nove kivete, te je dodata ista količina čistog etanola i desetina te količine 3M natrijum acetata. Posle inkubacije na -20°C najmanje 30 min, uzorci su ponovo centrifugirani na 22°C, 12000rpm, 15 min. Odliven je supernatant i pelet osušen u termobloku te rastvoren u 100  $\mu$ l 0,1 $\times$ TE pufera.

Bio-Spec spektrofotometar (Shimadzu) korišćen je za određivanje koncentracije i čistoće izolovane genomske DNK uzoraka. Za većinu je izmerena koncentracija manja od 100 ng/ $\mu$ l, a za uzorke sa višim vrednostima napravljena su radna razblaženja (dodavanjem PCR H<sub>2</sub>O) koncentracije 100 ng/ $\mu$ l. Uz pomoć istog softvera (Bio-Spec Nano) očitane su apsorbance na određenim talasnim dužinama, tj. njihov odnos, u cilju procene čistoće DNK uzorka i nivoa kontaminacije. Vrednost A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> kretala se u intervalu 1,5–2 što je ukazalo na to da su izolati

zadovoljavajućeg nivoa čistoće (Varma i sar., 2007), te da se kao takvi mogu koristiti za dalje analize.

#### 4.2.1.2. RAPD-PCR analiza

Za detekciju polimorfnosti genoma primenjen je RAPD–PCR marker sistem. Za RAPD analizu korišćeno je 10 prajmera (Tabela 2), sintetisanih od strane kompanije Operon Technologies Inc., USA. Prajmeri, koji su isporučeni u liofiliziranom stanju su, prema uputstvu proizvođača, rastvoreni do koncentracije 100 pmol/μl. Za PCR smešu su napravljeni rastvori prajmera koncentracija 10 pmol/μl.

**Tabela 2.** Sekvence RAPD prajmera

<b>Prajmer</b>	<b>Sekvenca (5'-3')</b>
OPA01	5' > CAGGCCCTTC < 3'
OPA02	5' > TGCCGAGCTG < 3'
OPA08	5' > GTGACGTAGG < 3'
OPB06	5' > TGCTCTGCCC < 3'
OPB11	5' > GTAGACCCGT < 3'
OPB12	5' > CCTTGACGCA < 3'
OPC10	5' > TGTCTGGGTG < 3'
K01	5' > CATTCGAGCC < 3'
K15	5' > CTCCTGCCAA < 3'
M02	5' > ACAACGCCTC < 3'

Koncentracija DNK u PCR reakciji kod većine uzoraka iznosila je od 50 do 100 ng/μl. Rađeni su preliminarni eksperimenti u cilju optimizacije uslova PCR za dobijanje jasnih produkata amplifikacije. Sve PCR reakcije rađene su u Mastercycler personal (Eppendorf) u finalnom volumenu 25 μl. Svaka reakciona smeša sadržala je: 1U Dream Taq DNK polimeraze (5U/μl) (Thermo Scientific); 1× Dream Taq pufera (koji sadrži 20 mM MgCl<sub>2</sub>); 0,2 mM dNTP; 10 pmola prajmera; oko 100 ng/μl genomske DNK i PCR H<sub>2</sub>O. Kao negativne kontrole korišćene su reakcije bez DNK (blank), u cilju razlikovanja amplifikovanih fragmenata ispitivanih uzoraka od kontaminanata. Sve PCR reakcije rađene su po istom PCR programu u 35 ciklusa. Što se tiče temperaturnih uslova programa za RAPD analizu, oni su bili sledeći: početno

zagrevanje na 94°C u trajanju od 5 min, denaturacija na 94°C 1 min, vezivanja prajmera na 36°C 1 min, polimerizacije na 72°C 90 sec i završne polimerizacije na 72°C u trajanju od 10 min.

DNK profili dobijeni amplifikacijom identifikovani su razdvajanjem produkata horizontalnom elektroforezom na 1,5% agaroznim gelovima. Odgovarajuća količina agaroze rastvarana je u 1×TAE puferu (2M trizma baza; 1M glacijalna sirćetna kiselina; 0,5M EDTA pH8,0) i dodavano je 0,02% etidijum-bromida (EtBr) što je omogućilo vizualizaciju fragmenata DNK pod UV svetlom nakon realizovane elektroforeze. Korišćeno je po 10 µl PCR produkta. Pored uzoraka, u gel su lodirani i markeri: 100bp (Thermo Scientific) i 1Kbp (SERVA), u cilju određivanja veličine fragmenata. Bendovi iste molekularne mase odnosno mobilnosti smatrani su identičnim. Napon pri elektroforezi bio je 100V. Gelovi su fotografisani na transiluminatoru BioDocAnalyze (Biometra).

#### 4.2.1.3. Statistička obrada podataka

Reproducibilni bendovi, jasno vidljivi na gelovima, poslužili su kao osnova za dalju obradu tako što je determinisano prisustvo (1) odnosno odsustvo (0) određenih fragmenata, te je sačinjena binarna matrica, na osnovu koje je rađena statistička analiza populaciono-genetičkih podataka. Lokus se smatrao monomorfim ako je u svim ispitivanim individuama detektovano prisustvo benda, a polimorfim ako je uočeno i prisustvo i odsustvo, odnosno u slučaju da nisu svi genotipovi posedovali odgovarajući fragment.

Softver Free Tree (Pavlicek i sar., 1999) korišćen je za pravljenje matrica genetičke sličnosti/udaljenosti i konstrukciju dendrograma (*bootstrap* analiza sa 5000 ponavljanja), a program Tree View (Page, 1996) za grafičko predstavljanje dobijenih rezultata. Koeficijenti genetičke sličnosti na intra- i interpopulacionom nivou računati su prema Jaccard (1908) i korišćeni za pravljenje UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean*) dendrograma. Izračunati su i koeficijenti genetičke udaljenosti prema Nei i Li (1979), za procenu odnosa među populacijama, na osnovu kojih je konstruisan N-J (*neighbor-joining*) dendrogram, a urađena je i PCoA (*Principal Coordinate Analysis*) u programu XLSTAT ver. 2014.5.02 (MS Excel. Addinsoft). Takođe u cilju grafičkog predstavljanja odnosa među populacijama sprovedena je i analiza MDS (*multidimensional scaling*) uz pomoć softverskog paketa STATISTICA version 12 (Dell Inc., 2015).



Program POPGENE ver. 1.32 (Yeh i sar., 1999) je korišćen za izračunavanje parametara genetičkog diverziteta:  $h$  – Nei genetički diverzitet (Nei, 1973);  $I$  – Shannon indeks (Shannon i Weaver, 1949) i  $p$  – procenat polimorfnih lokusa. Analiza molekularne varijanse AMOVA (*Analysis of MOlecular VAriance*), za procenu raspodele genetičke varijabilnosti na intra- i interpopulacionom nivou, kao i između i unutar grupa populacija, rađena je u programu Arlequin ver. 3.5.1.2 (Excoffier i sar., 2005) sa 10000 permutacija. U istom softverskom paketu testirana je i korelacija matrica genetičkih distanci populacija ( $F_{ST}$ ) i geografskih udaljenosti između lokaliteta – Mantel test, sa 1000 permutacija.

Genetička struktura populacija, zasnovana na Bajesovoj klaster metodi, analizirana je uz pomoć softvera Structure ver. 2.3.4. (Pritchard i sar., 2000; Falush i sar., 2007). Klase genotipova su tretirane kao da se sastoje od haploidnih alela, kao što je preporučeno u uputstvu za upotrebu programa i publikovanim istraživanjima koja su se bavila odgovarajućim tipom podataka (Oliveira i sar., 2010; Pinheiro i sar., 2012). Korišćeni su modeli: *ancestry model of admixture* i *correlated allele frequencies model*. Za svaku vrednost  $K$ , koja predstavlja broj klastera i podešena je na opseg od jedan do 10, MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*) simulacija rađena je pet puta sa 20000 iteracija nakon 20000 *burn-in* perioda. Informacija o pripadnosti pojedinačnih individua određenim populacijama uključena je u analizu. Za selekciju najverovatnijeg broja klastera ( $K$ ) korišćen je  $\Delta K$  metod (Evanno i sar., 2005). Program CLUMPP 1.1.2 (Jakobsson i Rosenberg, 2007) izračunao je srednje vrednosti pet nezavisnih ponavljanja za dobijeni najverovatniji broj klastera u setu podataka koji je analiziran. Za grafičko predstavljanje dobijene genetičke strukture poslužio je softver Distruct 1.1 (Rosenberg, 2004).

#### 4.2.2. Analize anatomskih karakteristika

Anatomske analize rađene su u Laboratoriji za anatomiju i morfologiju biljaka, Departmana za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu. Analizirani su uzorci sa 10 različitih lokaliteta (Tabela 1), svaka ispitivana populacija sastojala se od 10 celih jedinki, te su anatomske karakteristike analizirane na ukupno 100 biljaka. Biljni materijal determinisan je i vaučer primerci pohranjeni u herbarijumu BUNS (2-1632 – 2-1641). Uzorci za analizu fiksirani su u 50% etanolu do pravljenja poprečnih preseka u proseku 60  $\mu\text{m}$  debljine uz pomoć Leica CM 1850 kriostata na  $-20^{\circ}\text{C}$ . Preseci su pravljeni od središnjih

delova lista i skapusa, kao i plodnika. Po 10 poprečnih preseka analizirano je za svaku populaciju. Uz pomoć svetlosnog mikroskopa i Motic 2000 Image Analysis System analizirana su ukupno 32 kvantitativna karaktera (Tabela 3). Napravljene su odgovarajuće fotografije preparata poprečnih preseka na uveličanjima 40×, 100× i 400×. Merene su ukupne površine poprečnih preseka lista i skapusa, koje su uzimane za 100% pri izračunavanju procentualnih udela pojedinih tkiva. Indeksi palisadnih ćelija računati su kao odnos njihove visine i širine.

Za statističku obradu rezultata anatomskih analiza korišćene su različite metode u okviru softverskog paketa STATISTICA version 12 (Dell Inc., 2015). Izračunate su aritmetičke sredine, standardne greške i koeficijenti varijacije za ispitivane karaktere. Signifikantnost razlika analiziranih parametara između populacija određena je uz pomoć Duncan's testa ( $p \leq 0,05$ ), a između dva ispitivana taksona koristeći T-test ( $p \leq 0,05$ ). Opšta struktura varijabilnosti uzorka utvrđena je metodom analize glavnih komponentata, *Principal Component Analysis* (PCA), zasnovane na korelacionoj matrici. Multivarijantna diskriminantna analiza, *Multivariate Discriminant Analysis* (MDA), rađena je u cilju provere hipoteze da se analizirani uzorak sastojao od grupa koje se međusobno razlikuju. Karakteri koji se nisu značajno razlikovali između grupa, prema rezultatima T-testa, nisu uključeni u MDA.

**Tabela 3.** Analizirani kvantitativni anatomske karakteri lista, skapusa i plodnika

<b>Karakter</b>	
1	Ukupna površina poprečnog preseka liske (mm <sup>2</sup> )
2	Udeo epidermisa lista (%)
3	Udeo palisadnog tkiva lista (%)
4	Udeo sunderastog tkiva lista (%)
5	Udeo provodnog tkiva lista (%)
6	Površina ćelija epidermisa lica lista (μm <sup>2</sup> )
7	Površina ćelija epidermisa naličja lista (μm <sup>2</sup> )
8	Površina ćelija palisadnog tkiva lica lista (μm <sup>2</sup> )
9	Površina ćelija palisadnog tkiva naličja lista (μm <sup>2</sup> )
10	Debljina liske (mm)
11	Indeks palisadnih ćelija lica lista
12	Indeks palisadnih ćelija naličja lista
13	Broj rebara na naličju lista
14	Broj provodnih snopića uz palisadno tkivo naličja lista
15	Broj centralnih provodnih snopića lista
16	Broj stoma epidermisa lica na poprečnom preseku lista
17	Broj stoma epidermisa naličja na poprečnom preseku lista
18	Ukupna površina poprečnog preseka skapusa (mm <sup>2</sup> )
19	Udeo epidermisa skapusa (%)
20	Udeo kore skapusa (%)
21	Udeo centralnog cilindra skapusa (%)
22	Udeo sklerenhima skapusa (%)
23	Udeo malih (uz sklerenhim) provodnih snopića skapusa (%)
24	Udeo velikih (u središtu parenhima centralnog cilindra) provodnih snopića skapusa (%)
25	Udeo parenhima centralnog cilindra (bez provodnih snopića) skapusa (%)
26	Površina poprečnog preseka ćelija epidermisa skapusa (μm <sup>2</sup> )
27	Površina poprečnog preseka ćelija drugog sloja parenhima kore skapusa (μm <sup>2</sup> )
28	Površina poprečnog preseka ćelija parenhima centralnog cilindra skapusa (μm <sup>2</sup> )
29	Broj slojeva ćelija kore skapusa
30	Broj malih (uz sklerenhim) provodnih snopića skapusa
31	Broj velikih (u središtu parenhima centralnog cilindra) provodnih snopića skapusa
32	Udubljenje oplodnog listića plodnika - procenat dubine u odnosu na ceo poluprečnik (%)

#### 4.2.3. Analize morfoloških karakteristika

Analizirane su biljke sa 25 različitih lokaliteta (Tabela 1); morfološke karakteristike ispitivane su za ukupno 238 jedinki (iz većine populacija uzorkovano je po 10, ali u slučaju nekoliko malobrojnijih – manji broj jedinki, ne manje od šest). Biljni materijal determinisan je u Laboratoriji za sistematiku viših biljaka i fitogeografiju i vaučer primerci pohranjeni su u herbarijumu BUNS. Za biometričke analize morfoloških karaktera korišćen je softver Digimizer

version 4.3.4 (www.digimizer.com), pri čemu su za merenja poslužile biljke iz herbarijuma, prethodno skenirane uz pomoć Epson XP-205. Selekcija karaktera je bazirana na različitim florama (Diklić, 1975; Zahariadi, 1980) i drugim literaturnim podacima (Moret i sar., 1991; Martínez-Azorín i sar., 2010), kao i na ličnim zapažanjima. Pojedine morfološke karakteristike (broj listova, broj i dimenzije bulbila) nisu uzete u obzir prilikom daljih analiza jer nisu mogle biti izmerene kod svih primeraka, usled nekompletnog herbarskog materijala. Trideset dva analizirana karaktera sa opisom/definicijom navedena su u Tabeli 4.

Za statističku obradu rezultata biometričkih analiza korišćene su različite metode u okviru softverskog paketa STATISTICA version 12 (Dell Inc., 2015). Izračunati su parametri deskriptivne statistike: aritmetičke sredine, minimalne i maksimalne vrednosti, kao i koeficijenti varijacije za ispitivane morfološke karaktere. Urađena je jednofaktorska analiza varijanse ANOVA (*ANalysis Of VAriance*) u cilju utvrđivanja nivoa statističke značajnosti razlika u varijabilnosti ispitivanih populacija po svakom kvantitativnom karakteru. Izračunate su F-vrednosti u odnosu na date karaktere posmatrane na nivou populacija, za nivo signifikantnosti  $p < 0,05$ . Opšta struktura varijabilnosti uzorka utvrđena je metodom analize glavnih komponenta (PCA), zasnovane na korelacionoj matrici. Multivarijantna diskriminantna analiza (MDA), rađena je u cilju testiranja *a priori* definisanih grupa u smislu opravdanosti njihovog izdvajanja na osnovu ispitivanih biometrijskih karakteristika. Konstruisan je fenogram uz pomoć UPGA (*Unweighted Pair-Group Average*) klaster analize na osnovu Euklidovih distanci. Test *a priori* klasifikacije urađen je na osnovu Mahalanobisovih distanci. Signifikantnost razlika analiziranih parametara između dva ispitivana taksona određena je uz pomoć T-testa ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 4.** Analizirani kvantitativni morfološki karakteri

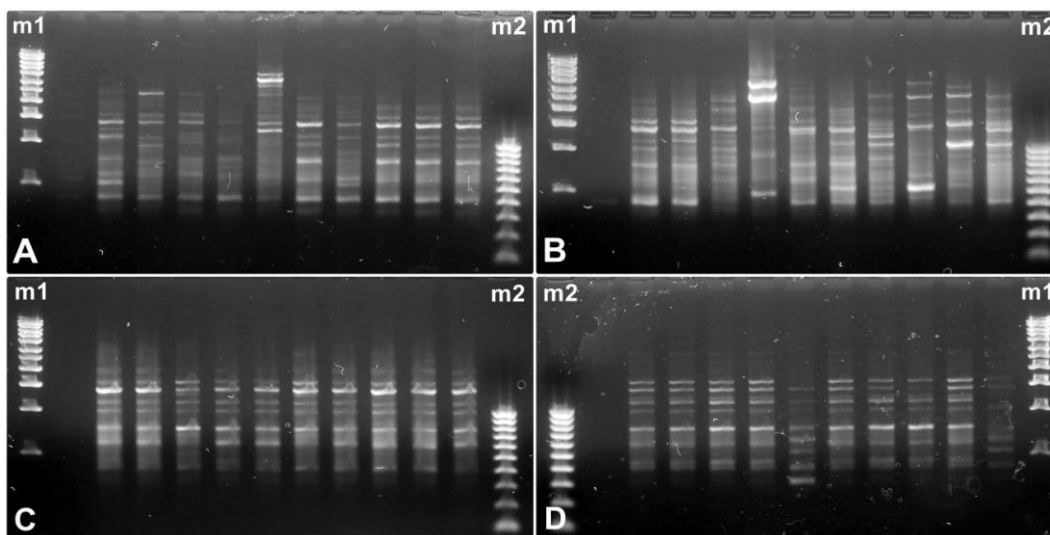
<b>Karakter</b>	<b>Objašnjenje</b>
1 Dužina lukovice	Vertikalna udaljenost od baze do vrha
2 Širina lukovice	Maksimalna širina
3 Odnos dužine i širine lukovice	Ukazuje na oblik lukovice (> 1 izdužena, ~ 1 loptasta, < 1 spljoštena)
4 Visina skapusa	Dužina od vrha lukovice do osnove cvasti – baze najniže cvetne drške
5 Dužina lista	Maksimalna vrednost – dužina najdužeg lista za svaki primerak
6 Širina lista	Maksimalna vrednost – širina najšireg lista u najširem delu
7 Širina bele pruge	Maksimalna širina centralne bele pruge najšireg lista
8 Broj cvetova	Brojani su svi cvetovi, uključujući i one na vrhu nezrele cvasti ili pre cvetanja.
9 Dužina cvasti	Udaljenost od osnove najniže do osnove najviše cvetne drške
10 Prečnik cvasti	Maksimalna horizontalna udaljenost između vrhova cvetnih drški (bez samih cvetova)
11 Odnos dužine i prečnika cvasti	Ovaj broj ukazuje na oblik cvasti (široka ili izdužena)
12 Dužina brakteje	Maksimalna dužina najveće brakteje u cvasti, najniže
13 Širina brakteje	Maksimalna širina najveće brakteje u cvasti, najniže
14 Dužina najniže cvetne drške	One koja nosi najniži/prvi, najčešće precvetao cvet, odnosno plod
15 Odnos dužina brakteje i cvetne drške	Prva/najniža cvetna drška i brakteja
16 Dužina središnje cvetne drške	One koja nosi najbolje razvijen cvet, čija je osnova cvetne drške pri sredini cvasti
17 Ugao između najniže cvetne drške i skapusa	Prosečni uglovi insercije cvetnih drški na osu cvasti, izraženi u stepenima
18 Dužina spoljašnjih listića perigona	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
19 Dužina unutrašnjih listića perigona	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
20 Širina spoljašnjih listića perigona	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
21 Širina unutrašnjih listića perigona	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
22 Širina zelene pruge spoljašnjih listića perigona	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
23 Širina zelene pruge unutrašnjih listića perigona	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
24 Dužina spoljašnjeg prašnikovog konca	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
25 Dužina unutrašnjeg prašnikovog konca	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
26 Dužina prašnice	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
27 Širina prašnice	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
28 Dužina plodnika	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
29 Prečnik plodnika	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
30 Dužina stubića	Maksimalna vrednost na najvećem cvetu
31 Dužina ploda	Maksimalna dužina najvećeg ploda
32 Širina ploda	Maksimalna širina najvećeg ploda

## 5. REZULTATI

### 5.1. RAPD-PCR analiza

Analizirana je genetička varijabilnost *O. umbellatum* i *O. divergens* na inter- i intrapopulacionom nivou, uz pomoć RAPD markera. Četiri populacije – TI, SU, HO i NS (Tabela 1) su *a priori* identifikovane kao *O. divergens*, na osnovu određenih morfoloških karaktera koji su ih razdvojili od ostalih ispitivanih populacija, determinisanih kao *O. umbellatum* s.str. Prilikom tabelarnog predstavljanja rezultata ove su populacije, zarad preglednosti, razdvojene horizontalnom linijom (Tabele 6, 7, 8, 10, 11).

Produkti reakcije amplifikacije su razdvojeni elektroforezom na agaroznim gelovima i bojeni EtBr, gelovi su vizualizovani i fotografisani pod UV svetlom (Slika 8).



**Slika 8.** Primeri fotografija agaroznih gelova koji pokazuju produkte amplifikacije – RAPD profile generisane prajmerom OPC 10. Populacije: A – SB, B – RT, C – TI, D – SU; markeri: m1 – 1Kbp, m2 – 100bp

Dobijeni produkti RAPD-PCR reakcija sa datim prajmerima varirali su po veličini u opsegu od 300bp do 3Kbp. Analiza je rađena na 190 biljaka iz 19 populacija sa 10 različitih prajmera koji su zajedno dali 101 amplifikovan fragment na gelu, od kojih je 91% bilo

polimorfno. Devet lokusa pokazali su se kao monomorfni – odgovarajući bendovi bili su prisutni u svim ispitivanim populacijama. Međutim, kako ne postoje podaci o drugim populacijama (ni vrstama) *Ornithogalum* za ovde korišćene RAPD prajmere, ne može se reći da li su ovi fragmenti karakteristični samo za analizirane populacije ili možda baš za ove vrste, čitavu grupu srodnih vrsta i sl.; takođe ovi prajmeri nisu izdvojili jedinstvene markere kojima bi se razdvojile pojedine populacije. Stoga su analize rađene, rezultati dobijani i zaključci izvedeni na osnovu kombinacije prisutnih traka, odnosno specifičnosti DNK profila.

Prajmer OPC10 imao je najveći ukupan broj polimorfnih lokusa – 13, dok je najmanji broj bio sedam (za prajmere OPB06, K15, M02) (Tabela 5). Ukupan broj amplifikovanih fragmenata po prajmeru varirao je od osam (OPB06 i M02) do 14 (OPC10), u proseku je iznosio 10. Gledano po populacijama, po prajmeru, najveći broj polimorfnih lokusa (devet) imala je populacija ZS za prajmer OPC10. Najmanji broj, svega jedan: za prajmer K01, populacije BK, RS, VR, DE, SB i SU; za OPA02 populacija VA; za OPB06 populacije BK i VR; za OPB12, populacije VA i HO (Tabela 6).

**Tabela 5.** Karakteristike RAPD prajmera sa brojem fragmenata i nivoima polimorfizma. N – broj amplifikovanih fragmenata; P – broj polimorfnih fragmenata

Prajmer	Opseg veličine fragmenata (Kbp)	N	P	% polimorfizma
OPA01	0,3 – 2,5	10	10	100,0
OPA02	0,3 – 2,0	11	11	100,0
OPA08	0,6 – 3,0	11	9	81,82
OPB06	0,5 – 2,5	8	7	87,5
OPB11	0,4 – 2,0	11	11	100,0
OPB12	0,3 – 2,0	10	9	90,0
OPC10	0,3 – 3,0	14	13	92,9
K01	0,6 – 2,5	9	8	88,9
K15	0,4 – 2,0	9	7	77,8
M02	0,4 – 1,75	8	7	87,5
Ukupno	0,3 – 3,0	101	92	91,1

**Tabela 6.** Broj amplifikovanih fragmenata po prajmeru u svakoj od analiziranih populacija. N – ukupni, P – polimorfni

Pop.	OPA01		OPA02		OPA08		OPB06		OPB11		OPB12		OPC10		K01		K15		M02	
	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P
ME	7	5	5	4	5	4	6	4	6	6	6	4	6	5	5	4	6	5	6	4
BA	8	6	7	6	4	3	5	3	5	5	4	2	5	4	5	4	6	5	5	3
SZ	5	3	7	6	4	3	6	4	5	5	5	3	7	6	4	3	4	3	6	4
BK	5	3	4	3	5	4	3	1	6	6	6	4	5	4	2	1	5	4	6	4
RS	5	3	6	5	5	4	4	2	2	2	4	2	8	7	2	1	5	4	6	4
ZS	6	4	9	8	6	5	5	3	5	5	6	4	10	9	4	3	6	5	6	4
NM	4	2	3	2	4	3	4	2	5	5	5	3	7	6	4	3	7	6	5	3
VR	7	5	4	3	4	3	3	1	6	6	5	3	6	5	2	1	5	4	6	4
DE	7	5	5	4	5	4	4	2	6	6	6	4	7	6	2	1	6	5	4	2
BP	6	4	9	8	5	4	6	4	8	8	7	5	6	5	2	2	5	4	7	5
RT	7	5	8	7	7	6	6	4	7	7	6	4	9	8	5	4	5	4	6	4
DJ	5	3	3	2	4	3	5	3	6	6	7	5	5	4	4	3	6	5	5	3
SB	7	5	4	3	5	4	5	3	4	4	6	4	7	6	2	1	4	3	7	5
VA	7	5	2	1	5	4	4	2	5	5	3	1	5	4	4	3	4	3	6	4
ZL	4	2	3	2	8	7	6	4	5	5	4	2	4	3	3	2	4	3	4	3
SU	5	3	4	3	4	3	6	4	5	5	4	2	6	5	2	1	5	4	4	2
NS	6	4	5	4	4	3	6	4	6	6	4	2	6	5	3	2	6	5	5	3
TI	6	4	3	2	3	2	5	3	6	6	4	2	6	5	4	3	5	4	4	2
HO	6	4	4	3	5	4	4	2	5	5	3	1	5	4	3	2	4	3	3	1

Ukupan broj amplifikovanih fragmenata po populaciji kretao se od 42 (ZL, HO) do 63 (RT), a u proseku je iznosio 51 (Tabela 7). Po deset jedinki analizirano je sa svakog lokaliteta i izračunati su koeficijenti sličnosti (Jaccard, 1908) među jedinkama unutar odgovarajućih populacija (Tabela 7). Najviša vrednost koeficijenta je iznosila jedan, kod nekoliko populacija koje za određene prajmere nisu pokazale polimorfnost, a najveći prosečan koeficijent sličnosti izračunat je u okviru populacije HO (0,997). Najmanji Jaccard-ov koeficijent sličnosti po populaciji po prajmeru (0,610), kao i najmanji prosečan (0,745), pronađen je kod populacije RT. Gledajući sve lokalitete, prosečan Jaccard koeficijent sličnosti među jedinkama unutar populacija bio je 0,891.

Parametri genetičkog diverziteta izračunati su za svaku populaciju ponaosob, kao i ukupno za sve populacije (Tabela 8). Ukupan procenat polimorfnih lokusa iznosio je 96%, a 12% u proseku u svakoj populaciji. Genetički diverzitet za sve populacije iznosio je 0,29, a Shannon indeks 0,45, dok su srednje vrednosti ovih parametara izračunate za svaku populaciju bile 0,04 odnosno 0,06.



**Tabela 7.** Unutarpopulaciona varijabilnost. N – ukupan broj amplifikovanih fragmenata po populaciji (za sve prajmere); Jaccard-ov koeficijent sličnosti (minimalan, maksimalan i prosečan) među jedinkama u okviru populacija

<b>Populacija</b>	<b>N</b>	<b>MIN</b>	<b>MAX</b>	<b>AVG</b>
ME	57	0,839	1,000	0,908
BA	54	0,804	0,979	0,860
SZ	54	0,849	0,980	0,922
BK	47	0,913	1,000	0,955
RS	47	0,851	1,000	0,927
ZS	61	0,621	0,870	0,779
NM	48	0,830	0,957	0,907
VR	48	0,826	0,976	0,882
DE	49	0,830	0,977	0,900
BP	61	0,661	0,857	0,779
RT	63	0,610	0,830	0,745
DJ	50	0,878	0,958	0,925
SB	51	0,750	0,951	0,858
VA	45	0,889	1,000	0,947
ZL	42	0,659	0,931	0,802
SU	45	0,933	1,000	0,975
NS	51	0,804	0,979	0,883
TI	46	0,978	1,000	0,987
HO	42	0,976	1,000	0,997
Prosek	51	0,816	0,960	0,891

**Tabela 8.** Parametri genetičkog diverziteta: h – Nei genetički diverzitet; I – Shannon indeks; p – procenat polimorfnih lokusa

Populacija	h	I	p (%)
BA	0,0527	0,0782	13,86
BK	0,0225	0,0319	4,95
BP	0,1024	0,1509	26,73
DE	0,0310	0,0482	9,90
DJ	0,0323	0,0470	7,92
ME	0,0411	0,0613	10,89
NM	0,0450	0,0639	9,90
RS	0,0312	0,0459	7,92
RT	0,1124	0,1677	30,69
SB	0,0489	0,0764	15,84
SZ	0,0317	0,0478	8,91
VA	0,0201	0,0293	4,95
VR	0,0332	0,0517	10,89
ZL	0,0432	0,0689	14,85
ZS	0,1044	0,1564	28,71
SU	0,0119	0,0174	2,97
NS	0,0436	0,0640	10,89
TI	0,0035	0,0053	0,99
HO	0,0043	0,0062	0,99
Prosek	0,0429	0,0641	11,72
Ukupno	0,2910	0,4462	95,50

U cilju utvrđivanja distribucije genetičke varijabilnosti između i unutar populacija, kao i *a priori* identifikovanih taksona, urađena je analiza molekularne varijanse, tako da su rezultati AMOVA bili proporcije odnosno procentualni udeli varijabilnosti prisutne na različitim nivoima. Dobijena P vrednost, koja je u svim slučajevima bila  $P < 0,0001$ , ukazala je na signifikantnost varijabilnosti. Kada su posmatrani svi analizirani genotipovi *Ornithogalum*, 65% varijabilnosti je pronađeno između populacija, 20% između *O. umbellatum* i *O. divergens* grupa, a 15% u okviru populacija (Tabela 9). Posmatrajući dva ispitivana taksona odvojeno, kod *O. umbellatum* je zabeleženo 77% interpopulacione (23% intrapopulacione) varijabilnosti, a kod *O. divergens* je procenat genetičke diferencijacije iznosio 91% (9% u okviru populacija) (Tabela 9). Mantel test je pokazao da ne postoji značajna korelacija između matrice geografske udaljenosti populacija i matrice genetičkih distanci. Izračunata P vrednost iznosila je 0,840 ( $> 0,05$ ) (koeficijent korelacije  $r = -0,1385$ ).

**Tabela 9.** Analiza molekularne varijanse (AMOVA) 190 genotipova *Ornithogalum* na osnovu podataka varijabilnosti RAPD markera

Izvor varijabilnosti	Stepeni slobode (d.f.)	Suma kvadrata	Komponente varijanse	Procenat varijabilnosti (%)
Između populacija	17	2030,01	11,67	64,62
Između <i>a priori</i> identifikovanih taksona	1	350,36	3,66	20,25
U okviru populacija	171	467,20	2,73	15,13
Između <i>O.umbellatum</i> pop.	14	1713,21	11,89	77,24
U okviru <i>O.umbellatum</i> pop.	135	472,80	3,50	22,76
Između <i>O.divergens</i> pop.	3	287,25	9,48	91,33
U okviru <i>O.divergens</i> pop.	36	32,40	0,90	8,67

Nivo značajnosti  $P < 0,0001$

Vrednosti Jaccard koeficijenta sličnosti između populacija, uzimajući u obzir kombinovane podatke za 101 amplifikovan fragment, kretale su se između 0,742 (SZ-BA) i 0,357 (NS-ZS), a prosečna je iznosila 0,532. Najviše vrednosti zabeležene su između SZ, BA i ME, kao i za TI, NS, HO i SU (Tabela 10). Vrednosti Nei i Li koeficijenta genetičke udaljenosti između populacija, izračunate za ukupne podatke dobijene od svih prajmera, ukazale su na slične rezultate i kretale su se između 0,148 (SZ-BA) i 0,474 (NS-ZS), a prosečna je iznosila 0,309. Očekivano, najniže vrednosti uočavaju se između SZ, BA i ME, kao i TI, NS, HO i SU (Tabela 11). Najveći koeficijenti udaljenosti zabeleženi su između TI, NS, HO i SU populacija i populacije ZS.

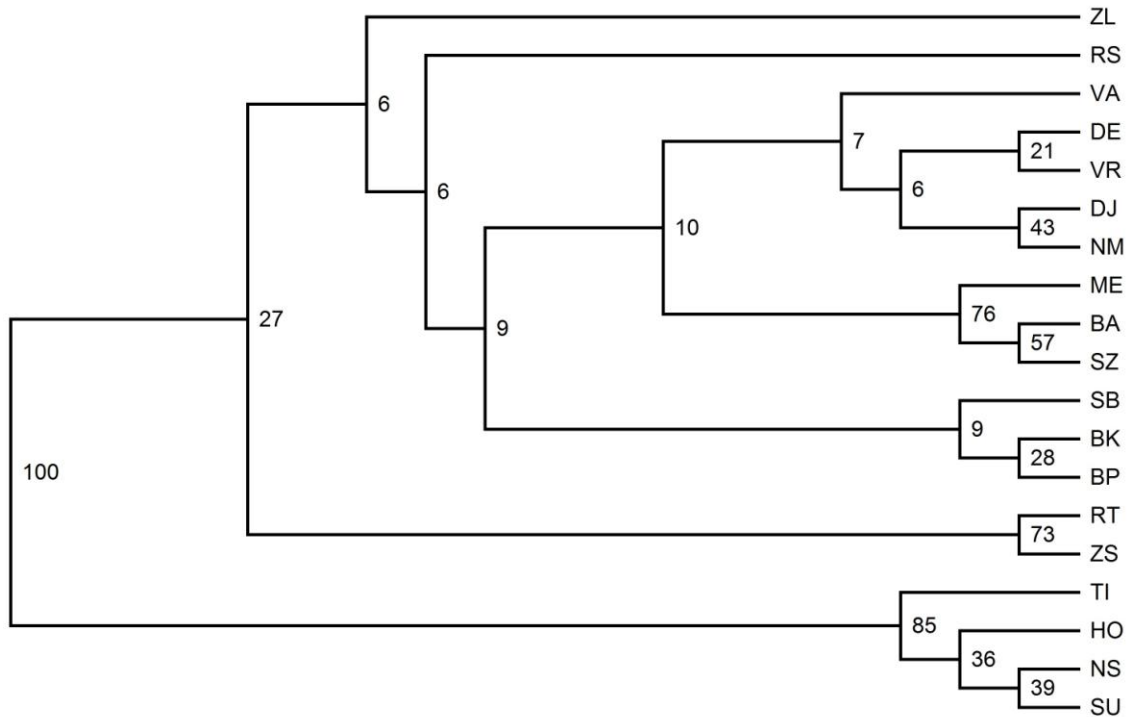
**Tabela 10.** Genetička sličnost među ispitivanim populacijama *Ornithogalum* zasnovana na RAPD analizi (Jaccard, 1908)

	ME	BA	SZ	BK	RS	ZS	NM	VR	DE	BP	RT	DJ	SB	VA	ZL	SU	NS	TI	HO
ME	-																		
BA	0,72	-																	
SZ	0,67	0,74	-																
BK	0,52	0,58	0,55	-															
RS	0,52	0,55	0,55	0,52	-														
ZS	0,46	0,44	0,48	0,45	0,51	-													
NM	0,56	0,59	0,57	0,51	0,48	0,41	-												
VR	0,54	0,62	0,52	0,58	0,58	0,46	0,60	-											
DE	0,62	0,61	0,63	0,52	0,55	0,46	0,64	0,64	-										
BP	0,52	0,55	0,57	0,60	0,47	0,56	0,47	0,55	0,48	-									
RT	0,57	0,54	0,48	0,47	0,51	0,65	0,46	0,52	0,55	0,60	-								
DJ	0,61	0,60	0,60	0,59	0,54	0,45	0,66	0,61	0,57	0,56	0,53	-							
SB	0,51	0,52	0,57	0,58	0,51	0,56	0,50	0,60	0,61	0,57	0,58	0,53	-						
VA	0,56	0,57	0,52	0,59	0,53	0,40	0,60	0,63	0,56	0,53	0,48	0,58	0,55	-					
ZL	0,49	0,55	0,52	0,53	0,51	0,40	0,55	0,48	0,49	0,45	0,46	0,53	0,48	0,53	-				
SU	0,49	0,52	0,52	0,48	0,51	0,37	0,55	0,48	0,49	0,47	0,41	0,53	0,48	0,50	0,50	-			
NS	0,54	0,54	0,50	0,48	0,51	0,36	0,57	0,50	0,51	0,51	0,46	0,53	0,46	0,48	0,50	0,68	-		
TI	0,44	0,47	0,43	0,41	0,50	0,36	0,49	0,49	0,44	0,46	0,45	0,50	0,43	0,52	0,52	0,60	0,67	-	
HO	0,49	0,50	0,45	0,41	0,46	0,36	0,55	0,50	0,49	0,46	0,42	0,51	0,43	0,50	0,50	0,64	0,66	0,60	-

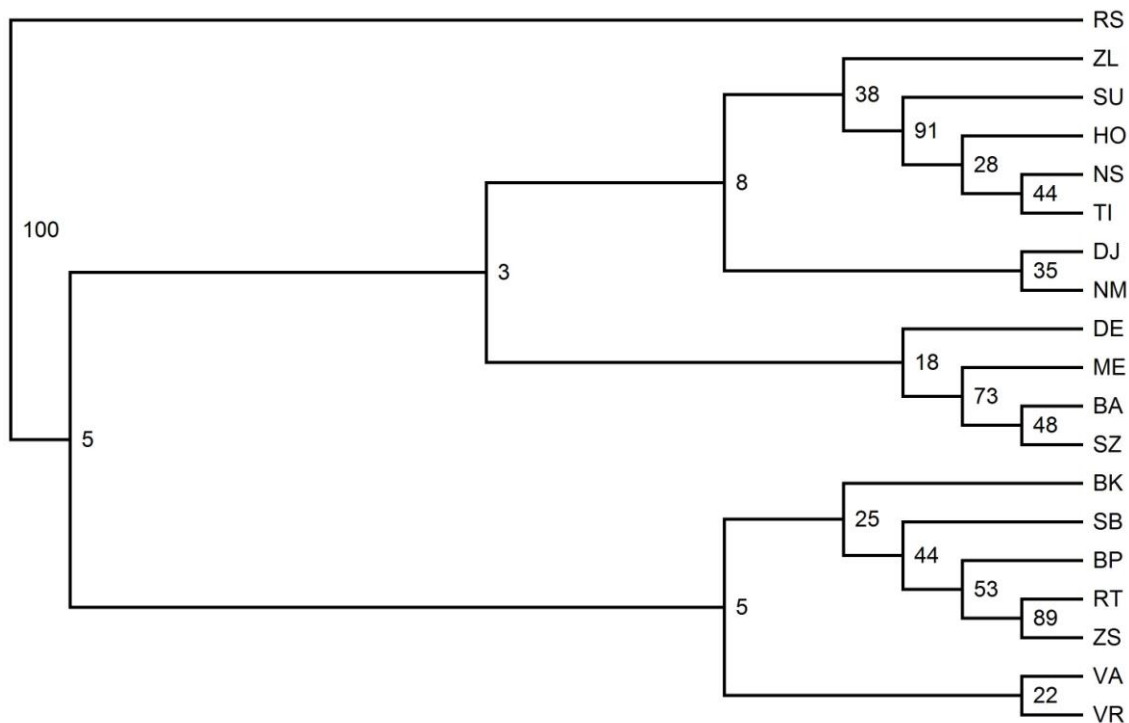
**Tabela 11.** Genetička udaljenost među ispitivanim populacijama *Ornithogalum* zasnovana na RAPD analizi (Nei i Li, 1979)

	ME	BA	SZ	BK	RS	ZS	NM	VR	DE	BP	RT	DJ	SB	VA	ZL	SU	NS	TI	HO
ME	-																		
BA	0,16	-																	
SZ	0,20	0,15	-																
BK	0,31	0,27	0,29	-															
RS	0,31	0,29	0,29	0,32	-														
ZS	0,37	0,38	0,35	0,38	0,33	-													
NM	0,28	0,25	0,27	0,33	0,35	0,42	-												
VR	0,30	0,24	0,31	0,26	0,26	0,37	0,25	-											
DE	0,24	0,25	0,23	0,31	0,29	0,37	0,22	0,22	-										
BP	0,32	0,29	0,28	0,25	0,36	0,28	0,36	0,29	0,35	-									
RT	0,27	0,30	0,35	0,36	0,33	0,21	0,37	0,32	0,29	0,25	-								
DJ	0,24	0,25	0,25	0,26	0,30	0,38	0,20	0,24	0,27	0,29	0,31	-							
SB	0,32	0,31	0,28	0,27	0,33	0,28	0,33	0,25	0,24	0,27	0,26	0,31	-						
VA	0,28	0,27	0,31	0,26	0,30	0,43	0,25	0,23	0,28	0,31	0,35	0,26	0,29	-					
ZL	0,34	0,29	0,31	0,30	0,33	0,43	0,29	0,35	0,34	0,38	0,37	0,31	0,35	0,31	-				
SU	0,34	0,31	0,31	0,35	0,33	0,46	0,29	0,35	0,34	0,36	0,42	0,31	0,35	0,33	0,33	-			
NS	0,30	0,30	0,33	0,35	0,33	0,47	0,27	0,33	0,32	0,33	0,37	0,31	0,37	0,35	0,33	0,19	-		
TI	0,38	0,36	0,40	0,42	0,33	0,47	0,34	0,34	0,39	0,37	0,38	0,33	0,40	0,32	0,32	0,25	0,20	-	
HO	0,34	0,33	0,38	0,42	0,37	0,47	0,29	0,33	0,34	0,37	0,41	0,33	0,40	0,33	0,33	0,22	0,20	0,25	-

Odnosi između izučavanih populacija ispitani su klaster analizom, na osnovu koeficijenata sličnosti odnosno udaljenosti, zasnovanih na RAPD markerima. Interpopulaciona varijabilnost predstavljena je UPGMA (Slika 9) i N-J (Slika 10) dendrogramima. Na UPGMA se može videti da se subklaster koji grupiše populacije TI, NS, HO i SU razdvaja od ostalih sa *bootstrap* vrednošću 100. N-J dendrogram takođe ih grupiše pokazujući ove populacije kao bliske. Ovde se uočava i populacija RS koja se izdvaja od ostalih ispitivanih populacija sa *bootstrap* vrednošću 100.

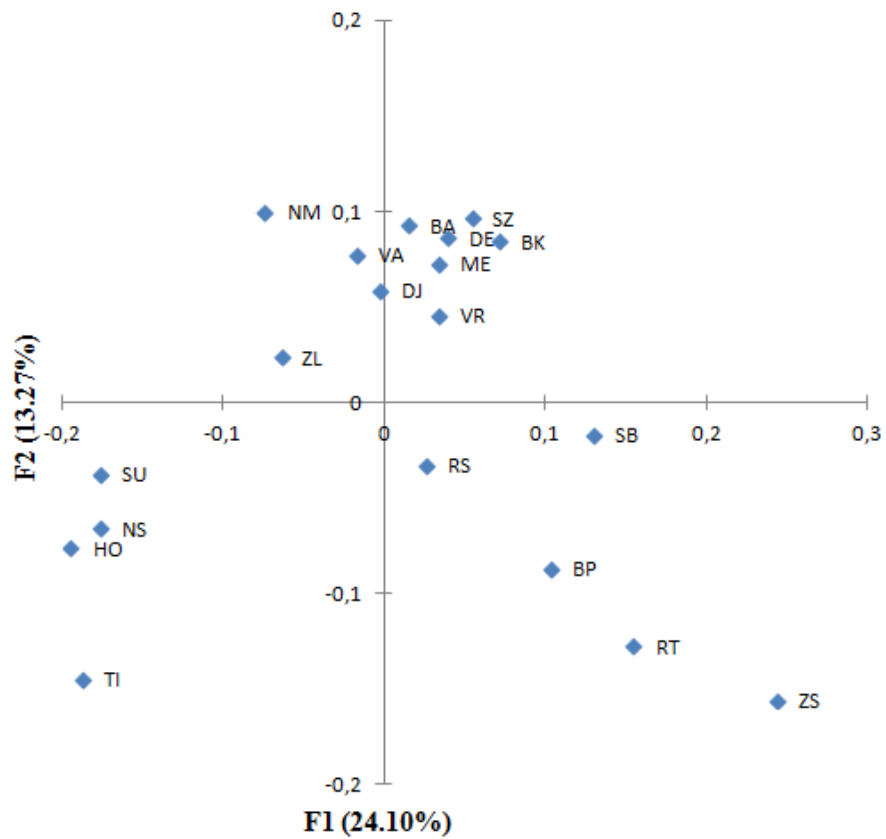


**Slika 9.** UPGMA dendrogram, na osnovu koeficijenata sličnosti (Jaccard, 1908), zasnovanih na RAPD markerima. Brojevi ukazuju na *bootstrap* vrednosti (izračunate sa 5000 ponavljanja)



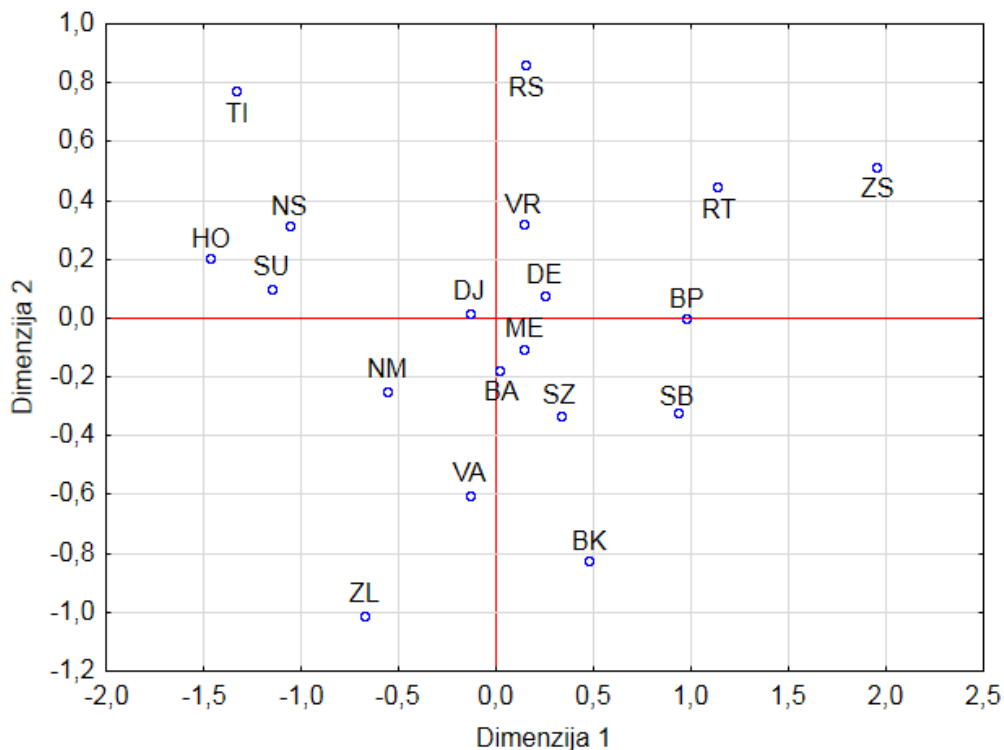
**Slika 10.** N-J dendrogram, na osnovu koeficijena udaljenosti (Nei i Li, 1979), zasnovanih na RAPD markerima. Brojevi ukazuju na *bootstrap* vrednosti (izračunate sa 5000 ponavljanja)

PCoA takođe je rađena u cilju vizuelnog predstavljanja genetičkih udaljenosti analiziranih populacija i to posmatrajući model i obim varijabilnosti uzorka. Prve dve koordinate objasnile su 37,37% (24,10% i 13,27%) ukupne varijabilnosti (Slika 11). Analizom pozicije uzoraka u koordinatnom prostoru ne mogu se uočiti osobenosti populacija sa različitih lokaliteta na osnovu oblika varijabilnosti; pojedine populacije pokazuju više sličnosti, dok se druge razlikuju od većine, ali bez određene pravilnosti. Slična je situacija i sa grafičkim prikazom odnosa među populacijama uz pomoć MDS analize zasnovane na proceni genetičke sličnosti (Slika 12). Ipak, na oba grafika se može uočiti da se populacije TI, NS, HO i SU izdvajaju po obema osama, odnosno u obe dimenzije (Slike 11, 12).



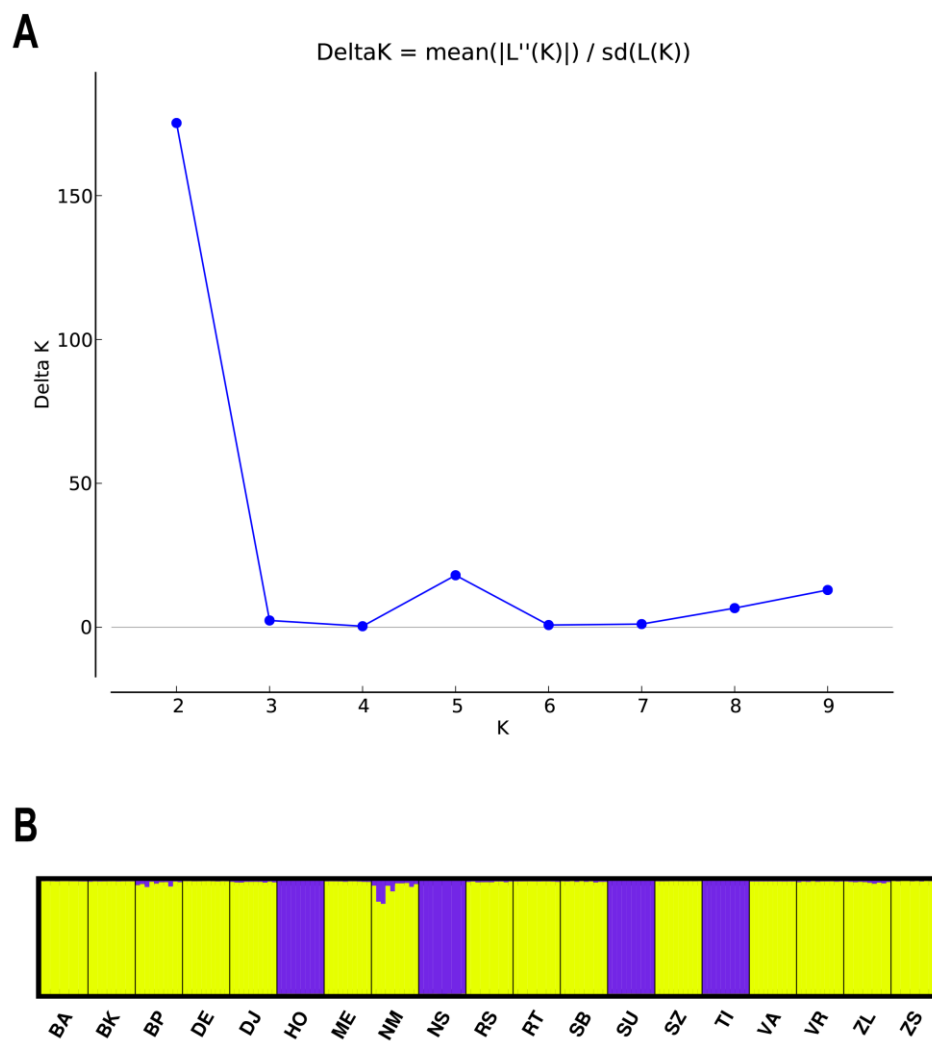
**Slika 11.** PCoA grafikon genetičke udaljenosti populacija *Ornithogalum* zasnovan na RAPD markerima





**Slika 12.** MDS grafikon genetičke bliskosti populacija *Ornithogalum* zasnovan na RAPD markerima

Bajesova klaster analiza urađena je u cilju određivanja genetičke strukture među genotipovima u okviru 19 proučavanih populacija *Ornithogalum*.  $\Delta K$  je ukazala da je najverovatniji broj klastera koji objašnjavaju struktuiranost analiziranih populacija – dva (Slika 13A). Ovaj pristup je rasporedio sve ispitivane individue u dve grupe i populacije su jasno razdvojene. Jedna grupa se sastojala od HO, NS, SU i TI, a sve preostale populacije formirale su drugu grupu, grafički predstavljenu drugom bojom (Slika 13B).



**Slika 13.** Genetička struktura 19 populacija *Ornithogalum* zasnovana na RAPD podacima. A –  $\Delta K$ : funkcija broja klastera (K); B – Grafičko predstavljanje genetičke strukture za K=2

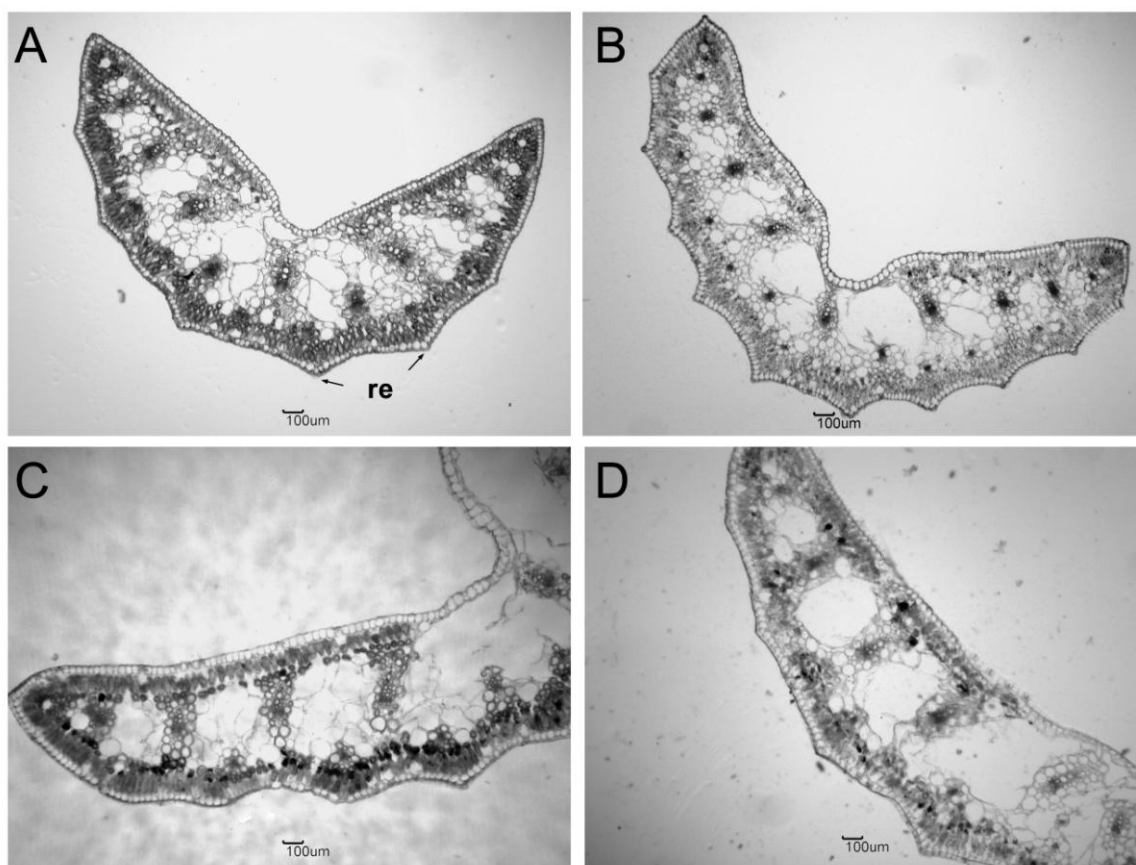
## 5.2. Analiza anatomskih karakteristika

Izučavani su uzorci sa 10 različitih lokaliteta (Tabela 1), iz svake populacije ispitivano je po 10 jedinki, ukupno 100 biljaka. Rađene su analize 32 kvantitativna karktera lista, skapusa i plodnika (Tabela 3).

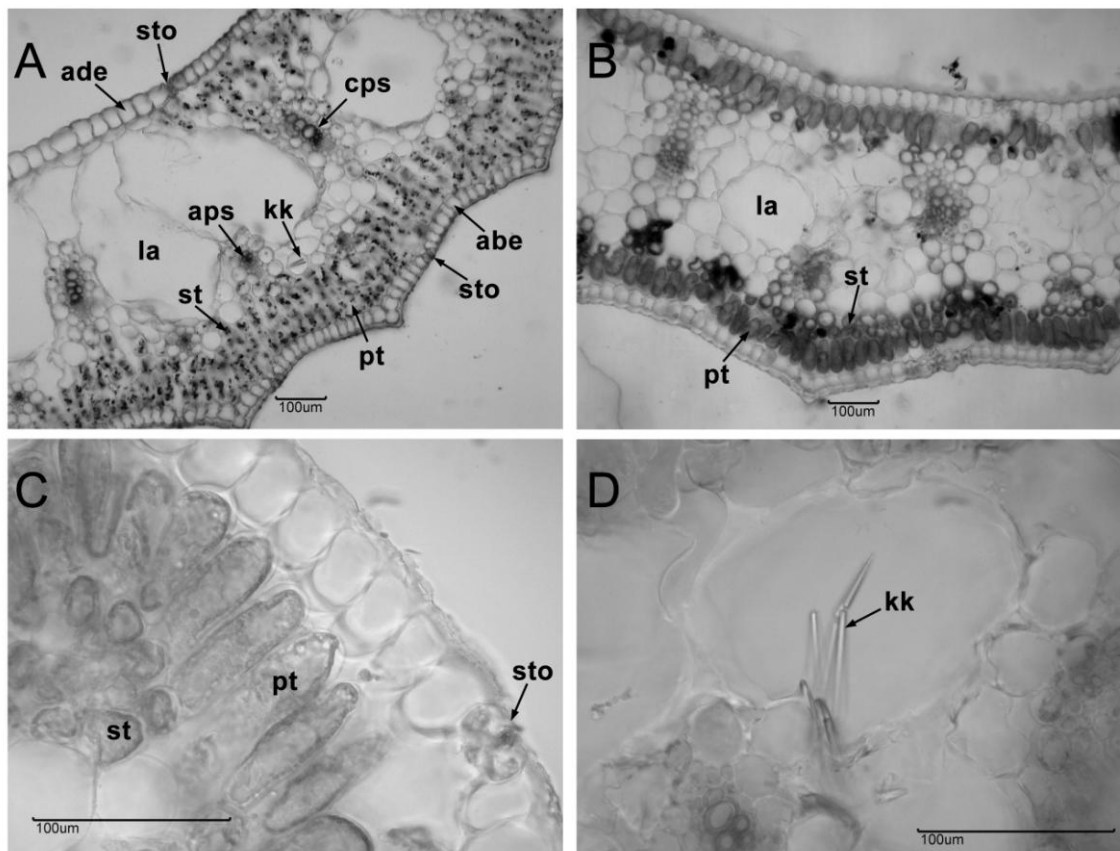
### 5.2.1. Anatomske karakteristike lista

List je na poprečnom preseku oblika polumeseca ili potkovice, odnosno latiničnog slova “V”, manje ili više razmaknutih krakova, povijenih ka licu (Slika 14). Ukupna površina poprečnog preseka liske značajno je manja kod *O. umbellatum*, u proseku  $1,2 - 2,2 \text{ mm}^2$ , u poređenju sa  $2,8 - 3,7 \text{ mm}^2$  kod *O. divergens* (Tabela 13). Konkavan je sa adaksijalne strane, čija je ivica glatka, a konveksan sa abaksijalne, koja je rebraste konture – naborana, manje ili više izraženih rebara, kojih ima 6 – 8 kod *O. umbellatum* odnosno 8 – 10 kod *O. divergens*. Epidermis je jednoslojan, prisutan i na licu i na naličju, kao i tanka kutikula. Kutikula je nešto deblja na naličju, a posebno zadebljala na istaknutim epidermalnim ćelijama rebara. Epidermalne ćelije su na poprečnom preseku ovalnog, relativno pravilnog oblika – okrugle ili blago izdužene, približno jednake veličine. Na naličju su ove ćelije najčešće sitnije i izduženije nego na licu, a ukupna debljina epidermisa na licu veća je, posebno u centru u predelu prekida palisada. List je amfistomatičan, s tim što su stome nešto brojnije na naličju. Takođe se uočava da ih na licu ima više ka marginama, dok u centralnom delu – udubljenju – gotovo da ih nema. Locirane su u istom nivou kao i epidermalne ćelije. Epidermis nema trihoma. Mezofil je ekvifacijalan i izgrađen je od asimilacionog parenhima diferenciranog na palisadno i sunderasto tkivo. Palisad je jednoslojan i nalazi se ispod epidermisa kako adaksijalne tako i abaksijalne strane. Ipak na licu nije kontinuiran, naime dolazi do prekida u središtu, u regionu glavnog lisnog nerva, gde su hlorenhimske ćelije odsutne. Umesto njih se neposredno ispod epidermisa nalaze prostrane lakune i parenhimske ćelije nepravilnog oblika. Ćelije palisadnog tkiva su upravno postavljene na površinu liske. Oblik im varira od relativno izduženog elipsastog do oblika čunjeva – ćelije su šire pri osnovi a ka vrhu se sužavaju (Slike 14, 15). Na naličju su kompaktne, a na licu rastresitije, sa intercelularima. Hloroplasti u citoplazmi brojniji su uz ćelijske zidove koji ograničavaju intercelulare. Ćelije sunderastog tkiva su ovalnog oblika, do nepravilnog bliže središtu lista, sa manje hloroplasta i krupnijim intercelularima nego u palisadu (Slike 14, 15). Ćelije centralnog dela mezofila su veće i bez hloroplasta, neretko pokidane. Neke od ćelija mezofila, nešto krupnije i pravilnijeg oblika, sadrže igličaste kristale  $\text{CaOx}$  (Slika 15), u grupama, najčešće samo po par ili su čak pojedinačni, a nekada su u pitanju tipični rafidi. U mezofilu se nalaze i osnovni elementi lisnih nerava, provodni snopići. Oni su po tipu kolateralni zatvoreni, raspoređeni su u dva reda, veći u središtu i manji ka naličju. *O. umbellatum* ima po 7 –

10 provodnih snopića oba tipa, dok su oni brojniji kod *O. divergens* (10 – 11 abaksijalnih i 10 – 12 centralnih) (Tabele 12, 13). Od centralnih, tri u sredini su uvek najveća, a od sitnijih, ka naličju, dva su krupnija i malo bliže centru a ostali uz sam palisad abaksijalne strane, ka ivicama simetrično sve manji (Slika 15). Ksilem je orijentisan ka licu, a floem ka naličju. U provodnom tkivu nema sklerenhimskih vlakana, a provodni snopići su okruženi jednim do dva sloja parenhimskih ćelija. Između provodnih snopića prisutne su velike lakune, koje se posebno mogu uočiti u centralnom delu preseka.



**Slika 14.** Poprečni presek lista: A – *Ornithogalum umbellatum* (VR); B – *O. umbellatum* (ZL); C – *O. divergens* (SU); D – *O. divergens* (NS). Skraćenice: re – rebra

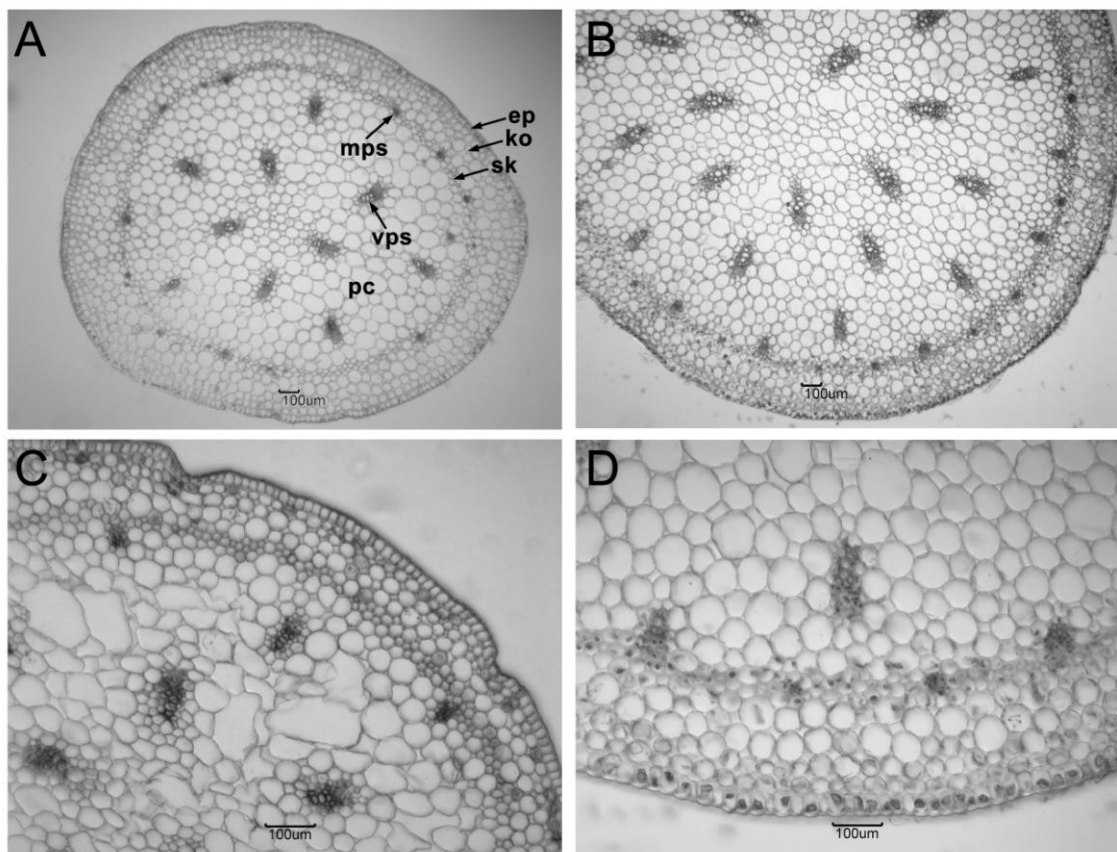


**Slika 15.** Poprečni presek lista: A – *Ornithogalum umbellatum* (DE); B – *O. divergens* (TI); C – *O. umbellatum* (SZ); D – *O. divergens* (NS). Skraćenice: abe – abaksijalni epidermis, ade – adaksijalni epidermis, aps – abaksijalni provodni snopić, cps – centralni provodni snopić, kk – kristali kalcijum oksalata, la – lakuna, pt – palisadno tkivo, st – sunderasto tkivo, sto – stoma

### 5.2.2. Anatomske karakteristike skapusa

Na poprečnom preseku skapus je oble forme, od skoro pravilne kružnice do ovalno-elipsoidnog oblika blago zatalasanih ivica (Slika 16). Ukupna površina preseka veća je kod *O. divergens* (8,7 – 10,4 mm<sup>2</sup>) u poređenju sa *O. umbellatum* (3,0 – 7,7 mm<sup>2</sup>) (Tabele 12, 13). Skapus karakterišu epidermis sa kutikulom, kora i cilindar sa provodnim snopićima i centralnim parenhimom. Kutikula je tanka, jednoslojna. Epidermis se sastoji od jednog sloja ćelija koje su ovalnog oblika na poprečnom preseku. U nivou ćelija epidermisa nalaze se i stome anomocitnog tipa. Epidermis nema trihoma. Kora se sastoji iz 4 – 5 slojeva sferičnih parenhimskih ćelija, od kojih neke sadrže hloroplaste. U kori, ispod epidermisa, locirani su ponegde i idioblasti sa CaO<sub>x</sub> rafidnim kristalima. U sloju kore nema provodnih snopića. Središte skapusa ispunjava centralni

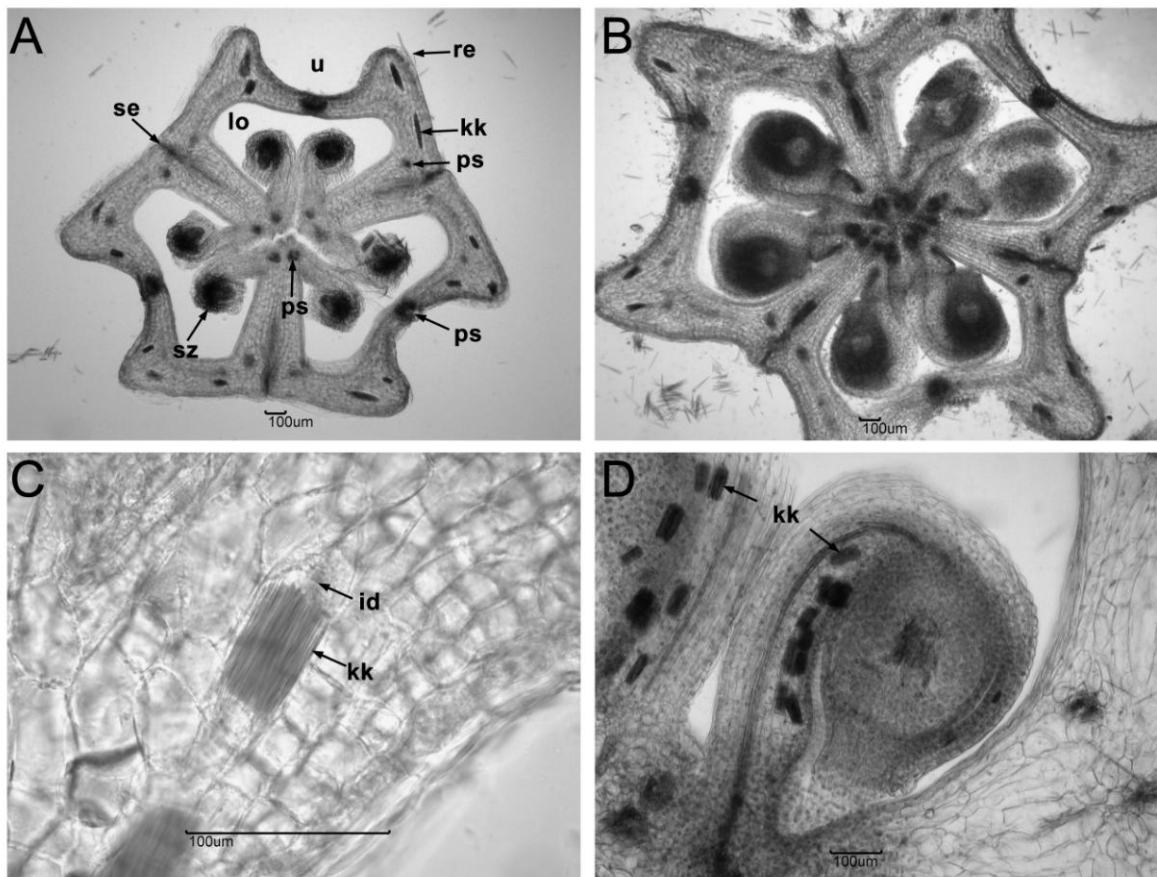
cilindar koji čini pretežno parenhimsko tkivo. U perifernom delu nalaze se 1 do 3 sloja mehaničkog tkiva – sklerenhima, u okviru kog se, kao i neposredno ispod, nalaze sitni provodni snopići. Njihov broj varira (12 – 27 kod *O. umbellatum* i 17 – 27 kod *O. divergens*) (Tabela 13), u zavisnosti od ukupne površine poprečnog preseka i površine sklerenhima. Veći kolateralni provodni snopići okruženi parenhimskom sarom, njih 10 do 20 kod *O. umbellatum* i 17 – 24 kod *O. divergens*, nepravilno su raspoređeni po centralnom cilindru. Oni se sastoje od floema, orijentisanog ka spoljašnjem delu preseka i ksilema, orijentisanog ka unutrašnjem, središnjem delu. Snopići su veći ka centralnom delu skapusa. Između su parenhimske ćelije, najčešće kružnog oblika do manje pravilnog ovalnog.



**Slika 16.** Poprečni presek skapusa: A – *Ornithogalum umbellatum* (VA); B – *O. divergens* (TI); C – *O. umbellatum* (ZL); D – *O. divergens* (TI). Skraćenice: ep – epidermis, ko – kora, mps – mali provodni snopići, pc – parenhim cilindra, sk – sklerenhim, vps – veliki provodni snopići

### 5.2.3. Anatomske karakteristike plodnika

Na poprečnom preseku plodnika uočava se da je on polikarpan sinkarpan i polimeran trook (Slika 17). Svaki oplodni listić karakterišu dva ispupčena rebra odnosno udubljenje na površini u centralnom delu. Dubina ovih ulegnuća varira, ali kod većine je oko četvrtine ukupnog poluprečnika plodnika (u proseku 23%). Pojedine osobine plodnika neznatno se razlikuju od jedinke do jedinke, ali generalno ne postoji značajna varijabilnost ovih karaktera između biljaka sa različitih lokaliteta, niti među populacijama dva analizirana taksona. Placentacija je centralno ugaona. Šest semenih zametaka (po dva u svakom od tri okca) pričvršćeni su za zid plodnika u centralnom delu spoja septi. Zid plodnika sastoji se iz epidermisa lica i naličja između kojih se nalazi mezofil. Mezofil se sastoji iz parenhimskog tkiva u okviru koga su prisutni provodni snopići. Po jedan veći provodni snopić je prisutan u centralnom delu svakog oplodniog listića. Manji snopići javljaju se u spoljašnjem i unutrašnjem delu svake septe. Ukupno po pet snopića se može naći u svakom oplodniom listiću, a ponekad je prisutno i još nekoliko sitnih snopića u mezofilu. Brojni idioblasti, elipsoidne ćelije krupnije od okolnih koje sadrže tipične rafide – snopiće igličastih kristala  $\text{CaO}_x$ , nalaze se u mezofilu u perifernom delu oplodnih listića. Rafidi se nalaze i u drškama semenih zametaka.



**Slika 17.** Poprečni presek plodnika: A – *Ornithogalum umbellatum* (VR); B – *O. divergens* (SU); C – *O. divergens* (TI); D – *O. umbellatum* (VR). Skraćenice: id – idioblast, kk – kristali kalcijum oksalata, lo – lokul, ps – provodni snopić, re – rebro, se – septa, sz – semeni zametak, u – udubljenje

#### 5.2.4. Interpopulaciona varijabilnost anatomskih karaktera

T–test i Duncan’s test pokazali su da se biljke prethodno determinisane kao *O. divergens* (populacije lokaliteta HO, NS, TI i SU) značajno razlikuju od onih determinisanih kao *O. umbellatum* (DE, VR, ZL, VA, ME i SZ) za većinu analiziranih kvantitativnih anatomskih karaktera (Tabele 12, 13). Posmatrajući karakteristike lista, dva taksona imala su veoma sličan samo broj stoma, udeo provodnog tkiva i veličinu epidermalnih ćelija lica (Tabela 12). Biljke *O. umbellatum* imaju značajno manju površinu poprečnog preseka lista, sa bolje razvijenim palisadnim tkivom, koje se sastoji iz većih izduženijih ćelija, u poređenju sa *O. divergens*. Mada *O. umbellatum* ima znatno manji broj provodnih snopića, ukupan procenat provodnog tkiva nije statistički značajno različit između dva taksona. Uporedne analize karaktera skapusa otkrivaju da



*O. umbellatum* ima znatno manju površinu poprečnog preseka, sa bolje razvijenim sklerenhimom i provodnim tkivom, u poređenju sa *O. divergens* (Tabela 12). Sa druge strane, procenat parenhima centralnog cilindra manji je kod *O. umbellatum* i tkivo parenhima sastoji se od znatno manjih ćelija. Značajne razlike između dva taksona nisu zabeležene u udelu površina kore skapusa i centralnog cilindra u ukupnoj površini poprečnog preseka. Takođe se veličina epidermalnih ćelija i broj malih provodnih snopića ne razlikuju značajno.

Duncan's test je urađen za anatomske karakteristike lista, skapusa i plodnika, poredeći međusobno populacije za svaki karakter posebno. Za svaku analiziranu vrednost ustanovljene su statistički značajne ( $p \leq 0,05$ ) razlike među populacijama, na koje ukazuju različiti superskriptovi (Tabela 13). Na ovaj način predstavljena je interpopulaciona varijabilnost analiziranih anatomskih karaktera biljaka sa različitih lokaliteta. Populacije *O. umbellatum* pokazuju viši stepen varijabilnosti, dok su populacije *O. divergens* međusobno uniformnije za većinu analiziranih karaktera. Koeficijenti varijacije za ispitivane karaktere, kao i aritmetičke sredine, predstavljene su po populacijama u Tabeli 13, u kojoj se može uočiti i izdvajanje pojedinih populacija po vrednostima određenih karaktera. Recimo, prosečna ukupna površina poprečnog preseka liske najveća je kod populacije NS, a najmanja kod ME. Broj rebara na naličju lista najveći je kod populacija NS, TI i SU, a najmanji kod ME i SZ. Populacija HO izdvaja se po najvišoj vrednosti udela sunderastog (i ujedno najnižoj vrednosti udela palisadnog) tkiva lista. Najmanji prosečni udeo sunderastog tkiva ima ZL, a najveći palisadnog – ME. Populacija VR ima najveću površinu ćelija palisadnog tkiva lista, a TI najmanju. Broj provodnih snopića u listu u proseku je najveći kod TI, a najmanji kod SZ. Populacija SZ ima najmanju površinu ćelija epidermisa lista, a SU najveću. ZL ima najveću prosečnu vrednost udela epidermisa lista, a HO najmanju. Za populaciju ZL zabeležena je najmanja ukupna površina poprečnog preseka skapusa i najmanji broj provodnih snopića u njemu, a kod TI su ove vrednosti najveće. Za karakter udeo epidermisa skapusa situacija kod ove dve populacije je obrnuta. ZL ima najveći udeo kore skapusa, a najmanji udeo centralnog cilindra skapusa, dok je kod populacije ME obrnuto. Udeo sklerenhima skapusa najveći je kod ME, a najmanji kod NS. ZL ima najmanji udeo parenhima centralnog cilindra skapusa, a HO najveći. Populacija HO ima najmanji udeo malih provodnih snopića skapusa, a NS velikih, dok VR ima najveći udeo i jednih i drugih. VR ima najmanju površinu poprečnog preseka ćelija epidermisa skapusa, a SZ najmanju površinu poprečnog

preseka ćelija drugog sloja parenhima kore skapusa, dok populacija SU ima najveće vrednosti za ove karaktere. Površina poprečnog preseka ćelija parenhima centralnog cilindra skapusa najveća je kod NS, a najmanja kod ZL. Kada je u pitanju ispitivani karakter plodnika, udubljenje oplodnog listića, najveća vrednost zabeležena je kod populacije SZ, a najmanja kod VR.

**Tabela 12.** Anatomske karakteristike: aritmetička sredina, standardna greška i koeficijent varijacije. “\*” ukazuje na značajne razlike (“ns” – nisu značajne) između taksona, prema T-testu ( $p \leq 0,05$ ). Brojevi iz prve kolone odgovaraju karakterima iz Tabele 3.

k	<i>O. umbellatum</i>		<i>O. divergens</i>		T-test
	aritmetička sredina ± standardna greška	koeficijent varijacije (%)	aritmetička sredina ± standardna greška	koeficijent varijacije (%)	
1	1,7 ± 0,1	34	3,2 ± 0,1	27	*
2	11,9 ± 0,3	20	8,7 ± 0,3	19	*
3	20,7 ± 0,5	20	13,0 ± 0,7	36	*
4	64,3 ± 0,8	9	75,8 ± 0,8	7	*
5	2,7 ± 0,2	44	2,5 ± 0,1	18	ns
6	704 ± 34,5	38	784 ± 38,7	31	ns
7	504 ± 21,4	33	600 ± 25,2	27	*
8	1499 ± 49,2	25	1179 ± 95,4	51	*
9	1578 ± 40,4	20	1243 ± 100	51	*
10	0,6 ± 13,2	16	0,7 ± 16,6	14	*
11	2,5 ± 0,1	26	1,5 ± 0,1	40	*
12	3,1 ± 0,1	25	1,9 ± 0,1	40	*
13	7 ± 0,2	18	9 ± 0,3	23	*
14	9 ± 0,2	14	10 ± 0,3	18	*
15	9 ± 0,2	15	11 ± 0,3	18	*
16	7 ± 0,4	45	7 ± 0,4	38	ns
17	12 ± 0,5	34	13 ± 0,7	38	ns
18	5,7 ± 0,3	45	9,6 ± 0,5	32	*
19	4,8 ± 0,2	31	3,1 ± 0,2	32	*
20	20,3 ± 0,9	33	20,5 ± 0,6	19	ns
21	74,8 ± 1,0	10	76,4 ± 0,7	6	ns
22	6,3 ± 0,2	26	4,4 ± 0,2	22	*
23	0,6 ± 0,03	33	0,3 ± 0,02	29	*
24	2,6 ± 0,1	26	2,2 ± 0,1	24	*
25	65,3 ± 1,1	13	69,5 ± 0,7	7	*
26	725 ± 26,7	29	738 ± 38,2	33	ns
27	1176 ± 39,2	26	1493 ± 55,1	23	*
28	5001 ± 196	30	6652 ± 269	26	*
29	4 ± 0,1	17	5 ± 0,1	12	*
30	20 ± 1,0	37	22 ± 1,0	26	ns
31	16 ± 0,7	35	20 ± 0,9	30	*
32	23,4 ± 0,8	26	23,5 ± 0,5	13	ns

**Tabela 13.** Anatomske karakteristike lista (aritmetička sredina i koeficijent varijacije %). Različiti superskriptovi ukazuju da su razlike među lokalitetima značajne prema Duncan's testu ( $p \leq 0,05$ ); upoređivane su populacije, svaka sa svakom, za svaki karakter posebno, a zajednički superskriptovi govore o statistički značajnoj sličnosti populacija za određeni karakter. Brojevi iz prve kolone odgovaraju karakterima iz Tabele 3.

k	<i>O. umbellatum</i>						<i>O. divergens</i>			
	VR	ZL	DE	VA	ME	SZ	SU	NS	TI	HO
1	2,2 <sup>c</sup> (29)	1,6 <sup>cd</sup> (29)	1,9 <sup>c</sup> (24)	1,9 <sup>c</sup> (33)	1,2 <sup>d</sup> (15)	1,3 <sup>d</sup> (15)	3,4 <sup>ab</sup> (19)	3,7 <sup>a</sup> (35)	3,0 <sup>b</sup> (16)	2,8 <sup>b</sup> (21)
2	12,1 <sup>bc</sup> (17)	15,0 <sup>a</sup> (11)	11,4 <sup>bcd</sup> (16)	12,5 <sup>b</sup> (17)	10,8 <sup>cde</sup> (10)	9,5 <sup>efg</sup> (16)	8,8 <sup>fgh</sup> (12)	8,2 <sup>gh</sup> (15)	10,3 <sup>def</sup> (20)	7,7 <sup>h</sup> (14)
3	17,3 <sup>c</sup> (17)	19,6 <sup>bc</sup> (20)	20,7 <sup>b</sup> (17)	20,7 <sup>b</sup> (14)	25,1 <sup>a</sup> (19)	20,7 <sup>b</sup> (13)	18,2 <sup>bc</sup> (18)	13,3 <sup>d</sup> (17)	12,3 <sup>d</sup> (33)	8,3 <sup>c</sup> (31)
4	66,6 <sup>defg</sup> (6)	59,9 <sup>h</sup> (18)	64,6 <sup>efg</sup> (6)	64,8 <sup>fg</sup> (6)	62,3 <sup>gh</sup> (9)	67,7 <sup>def</sup> (4)	70,7 <sup>cd</sup> (6)	76,4 <sup>b</sup> (3)	74,8 <sup>bc</sup> (5)	81,2 <sup>a</sup> (4)
5	4,0 <sup>a</sup> (34)	3,5 <sup>ab</sup> (31)	3,3 <sup>bc</sup> (23)	2,0 <sup>f</sup> (35)	1,8 <sup>f</sup> (25)	1,9 <sup>f</sup> (23)	2,3 <sup>def</sup> (15)	2,1 <sup>ef</sup> (18)	2,7 <sup>cde</sup> (15)	2,8 <sup>bcd</sup> (10)
6	814 <sup>abc</sup> (37)	884 <sup>ab</sup> (28)	824 <sup>abc</sup> (31)	746 <sup>bc</sup> (24)	496 <sup>de</sup> (23)	459 <sup>e</sup> (33)	1008 <sup>a</sup> (30)	668 <sup>bcd</sup> (21)	662 <sup>cd</sup> (26)	798 <sup>abc</sup> (21)
7	606 <sup>ab</sup> (22)	486 <sup>bc</sup> (24)	628 <sup>ab</sup> (30)	536 <sup>ab</sup> (26)	394 <sup>c</sup> (42)	378 <sup>c</sup> (19)	665 <sup>a</sup> (17)	658 <sup>a</sup> (26)	498 <sup>bc</sup> (20)	581 <sup>ab</sup> (33)
8	1883 <sup>a</sup> (18)	1496 <sup>b</sup> (24)	1715 <sup>ab</sup> (7)	1592 <sup>ab</sup> (16)	972 <sup>c</sup> (24)	1337 <sup>b</sup> (9)	1757 <sup>ab</sup> (27)	1495 <sup>b</sup> (32)	613 <sup>d</sup> (57)	852 <sup>cd</sup> (24)
9	1880 <sup>a</sup> (17)	1430 <sup>b</sup> (17)	1626 <sup>ab</sup> (18)	1716 <sup>ab</sup> (17)	1358 <sup>bc</sup> (17)	1457 <sup>b</sup> (13)	1856 <sup>a</sup> (16)	1641 <sup>ab</sup> (35)	658 <sup>c</sup> (51)	818 <sup>c</sup> (24)
10	0,7 <sup>b</sup> (18)	0,6 <sup>c</sup> (20)	0,7 <sup>b</sup> (14)	0,7 <sup>b</sup> (14)	0,6 <sup>c</sup> (8)	0,6 <sup>c</sup> (9)	0,8 <sup>a</sup> (9)	0,8 <sup>a</sup> (11)	0,6 <sup>c</sup> (10)	0,7 <sup>b</sup> (10)
11	2,2 <sup>b</sup> (21)	2,4 <sup>ab</sup> (32)	2,8 <sup>a</sup> (16)	2,6 <sup>ab</sup> (19)	2,2 <sup>b</sup> (25)	2,6 <sup>ab</sup> (35)	2,1 <sup>b</sup> (13)	1,7 <sup>bc</sup> (39)	1,2 <sup>c</sup> (30)	1,0 <sup>c</sup> (28)
12	2,5 <sup>c</sup> (15)	2,5 <sup>c</sup> (23)	3,0 <sup>bc</sup> (11)	3,8 <sup>a</sup> (16)	3,2 <sup>b</sup> (21)	3,6 <sup>ab</sup> (26)	2,8 <sup>bc</sup> (10)	2,1 <sup>c</sup> (31)	1,5 <sup>d</sup> (37)	1,3 <sup>d</sup> (46)
13	7 <sup>b</sup> (18)	8 <sup>b</sup> (19)	7 <sup>b</sup> (22)	8 <sup>b</sup> (9)	6 <sup>b</sup> (10)	6 <sup>b</sup> (13)	10 <sup>a</sup> (12)	10 <sup>a</sup> (28)	10 <sup>a</sup> (24)	8 <sup>b</sup> (17)
14	9 <sup>bc</sup> (10)	10 <sup>b</sup> (9)	10 <sup>b</sup> (9)	9 <sup>bc</sup> (12)	8 <sup>c</sup> (8)	7 <sup>d</sup> (15)	10 <sup>b</sup> (15)	11 <sup>a</sup> (15)	11 <sup>a</sup> (19)	10 <sup>b</sup> (16)
15	10 <sup>bc</sup> (10)	10 <sup>bc</sup> (10)	9 <sup>c</sup> (8)	8 <sup>cd</sup> (11)	8 <sup>cd</sup> (13)	7 <sup>d</sup> (13)	10 <sup>bc</sup> (17)	11 <sup>b</sup> (16)	12 <sup>a</sup> (14)	10 <sup>bc</sup> (20)
16	8 <sup>ab</sup> (60)	8 <sup>a</sup> (36)	8 <sup>abc</sup> (33)	8 <sup>a</sup> (31)	5 <sup>c</sup> (25)	5 <sup>bc</sup> (41)	7 <sup>abc</sup> (41)	8 <sup>ab</sup> (33)	6 <sup>abc</sup> (44)	6 <sup>abc</sup> (34)
17	13 <sup>ab</sup> (32)	12 <sup>ab</sup> (28)	13 <sup>ab</sup> (35)	15 <sup>a</sup> (26)	8 <sup>c</sup> (24)	10 <sup>bc</sup> (32)	14 <sup>ab</sup> (39)	14 <sup>ab</sup> (32)	12 <sup>ab</sup> (39)	10 <sup>bc</sup> (40)

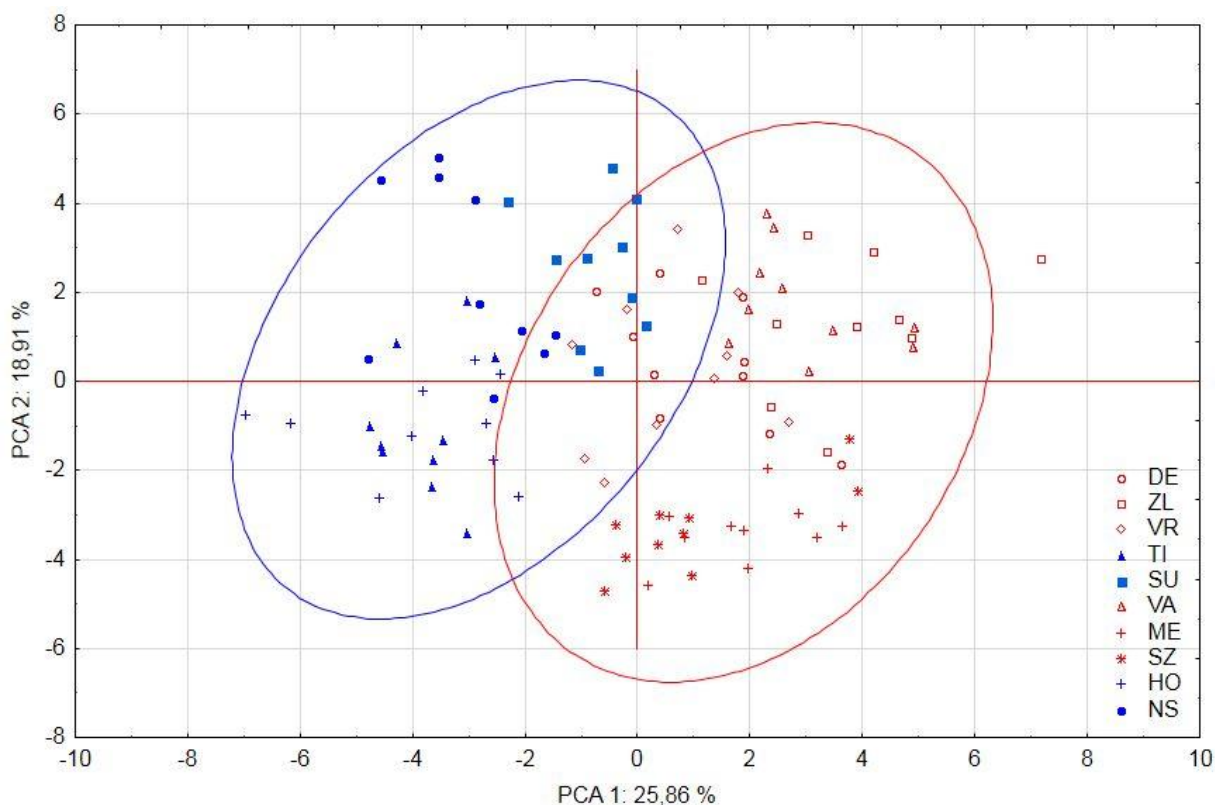
**Tabela 13. nastavak.** Anatomske karakteristike skapusa i plodnika (aritmetička sredina i koeficijent varijacije %). Različiti superskriptovi ukazuju da su razlike među lokalitetima značajne prema Duncan's testu ( $p \leq 0,05$ ); upoređivane su populacije, svaka sa svakom, za svaki karakter posebno, a zajednički superskriptovi govore o statistički značajnoj sličnosti populacija za određeni karakter. Brojevi iz prve kolone odgovaraju karakterima iz Tabele 3.

k	<i>O. umbellatum</i>						<i>O. divergens</i>			
	VR	ZL	DE	VA	ME	SZ	SU	NS	TI	HO
18	7,2 <sup>cd</sup> (30)	3,0 <sup>g</sup> (48)	6,6 <sup>de</sup> (29)	4,1 <sup>fg</sup> (25)	5,7 <sup>ef</sup> (30)	7,7 <sup>bcde</sup> (42)	8,7 <sup>abcd</sup> (43)	10,1 <sup>ab</sup> (12)	10,4 <sup>a</sup> (22)	9,2 <sup>abc</sup> (48)
19	3,7 <sup>cd</sup> (20)	6,3 <sup>a</sup> (27)	4,4 <sup>bc</sup> (17)	6,3 <sup>a</sup> (14)	4,6 <sup>b</sup> (26)	3,7 <sup>cd</sup> (23)	4,4 <sup>bc</sup> (16)	3,0 <sup>de</sup> (12)	2,2 <sup>e</sup> (28)	2,8 <sup>de</sup> (22)
20	18,9 <sup>bc</sup> (14)	27,7 <sup>a</sup> (18)	19,9 <sup>bc</sup> (15)	27,4 <sup>a</sup> (16)	12,8 <sup>e</sup> (23)	15,4 <sup>de</sup> (31)	21,7 <sup>b</sup> (11)	25,0 <sup>a</sup> (11)	18,3 <sup>cd</sup> (13)	17,2 <sup>cd</sup> (15)
21	77,5 <sup>b</sup> (4)	66,0 <sup>e</sup> (9)	75,7 <sup>bc</sup> (4)	66,3 <sup>e</sup> (7)	82,6 <sup>a</sup> (4)	80,9 <sup>ab</sup> (7)	73,9 <sup>cd</sup> (3)	72,0 <sup>d</sup> (4)	79,5 <sup>ab</sup> (4)	80,0 <sup>ab</sup> (4)
22	6,2 <sup>ab</sup> (15)	6,9 <sup>a</sup> (23)	6,5 <sup>ab</sup> (19)	5,6 <sup>b</sup> (34)	7,3 <sup>a</sup> (24)	5,2 <sup>bc</sup> (27)	5,5 <sup>b</sup> (20)	3,8 <sup>d</sup> (16)	4,1 <sup>cd</sup> (14)	4,2 <sup>cd</sup> (18)
23	0,8 <sup>a</sup> (15)	0,6 <sup>ab</sup> (53)	0,6 <sup>ab</sup> (33)	0,5 <sup>bc</sup> (27)	0,7 <sup>ab</sup> (30)	0,6 <sup>ab</sup> (21)	0,4 <sup>cd</sup> (24)	0,4 <sup>cd</sup> (18)	0,4 <sup>c</sup> (28)	0,3 <sup>d</sup> (23)
24	3,4 <sup>a</sup> (18)	2,8 <sup>b</sup> (24)	2,8 <sup>bc</sup> (22)	2,1 <sup>d</sup> (19)	2,1 <sup>d</sup> (19)	2,5 <sup>bcd</sup> (13)	2,3 <sup>cd</sup> (36)	2,0 <sup>d</sup> (21)	2,3 <sup>bcd</sup> (19)	2,1 <sup>d</sup> (15)
25	67,1 <sup>b</sup> (4)	55,6 <sup>c</sup> (13)	65,8 <sup>b</sup> (5)	58,1 <sup>c</sup> (10)	72,5 <sup>a</sup> (6)	72,6 <sup>a</sup> (9)	65,9 <sup>b</sup> (5)	65,9 <sup>b</sup> (4)	72,7 <sup>a</sup> (5)	73,5 <sup>a</sup> (4)
26	570 <sup>c</sup> (22)	711 <sup>bc</sup> (29)	778 <sup>b</sup> (22)	964 <sup>a</sup> (25)	734 <sup>bc</sup> (13)	594 <sup>c</sup> (18)	974 <sup>a</sup> (32)	773 <sup>b</sup> (20)	613 <sup>bc</sup> (18)	593 <sup>c</sup> (19)
27	1222 <sup>bc</sup> (21)	1207 <sup>bc</sup> (29)	1405 <sup>b</sup> (24)	1349 <sup>bc</sup> (14)	948 <sup>d</sup> (20)	926 <sup>d</sup> (13)	1751 <sup>a</sup> (14)	1744 <sup>a</sup> (14)	1327 <sup>bc</sup> (18)	1150 <sup>cd</sup> (18)
28	4035 <sup>ef</sup> (21)	3609 <sup>f</sup> (26)	4788 <sup>de</sup> (20)	5638 <sup>cd</sup> (21)	5458 <sup>cd</sup> (23)	6481 <sup>bc</sup> (28)	5334 <sup>cd</sup> (18)	8386 <sup>a</sup> (20)	5489 <sup>cd</sup> (13)	7403 <sup>ab</sup> (12)
29	5 <sup>a</sup> (18)	4 <sup>bcd</sup> (14)	4 <sup>abc</sup> (19)	4 <sup>cd</sup> (0)	4 <sup>d</sup> (13)	4 <sup>d</sup> (17)	4 <sup>abc</sup> (12)	5 <sup>a</sup> (9)	4 <sup>abc</sup> (12)	5 <sup>ab</sup> (15)
30	27 <sup>a</sup> (32)	12 <sup>e</sup> (33)	25 <sup>ab</sup> (24)	15 <sup>cde</sup> (12)	19 <sup>cd</sup> (18)	24 <sup>abc</sup> (28)	17 <sup>cde</sup> (22)	21 <sup>bc</sup> (22)	27 <sup>a</sup> (12)	22 <sup>bc</sup> (26)
31	20 <sup>b</sup> (26)	10 <sup>d</sup> (26)	19 <sup>bc</sup> (27)	12 <sup>d</sup> (15)	14 <sup>cd</sup> (24)	18 <sup>bc</sup> (28)	17 <sup>bc</sup> (37)	18 <sup>bc</sup> (14)	24 <sup>a</sup> (10)	20 <sup>b</sup> (41)
32	20,9 <sup>b</sup> (42)	23,1 <sup>ab</sup> (24)	25,6 <sup>ab</sup> (27)	22,1 <sup>ab</sup> (14)	22,2 <sup>ab</sup> (30)	26,7 <sup>a</sup> (10)	22,6 <sup>ab</sup> (7)	24,7 <sup>ab</sup> (10)	25,0 <sup>ab</sup> (11)	21,8 <sup>ab</sup> (18)

Varijabilnost anatomskih parametara ispitana je uz pomoć PCA (Tabela 14). Prva glavna komponenta doprinosi sa 25,86% ukupnoj varijabilnosti. Udeo palisadnog i sunderastog tkiva lista, površina poprečnog preseka skapusa i udeo epidermisa skapusa, parametri su koji najviše doprinose ukupnoj varijabilnosti. Druga komponenta predstavlja 18,91% varijabilnosti i definisana je udelom kore skapusa. Procenat kumulativnog doprinosa prve tri PC je 53,74%. Posmatrajući pozicije jedinki u prostoru prve dve ose analize glavnih komponenata uočavaju se odgovarajuće sličnosti na osnovu modela varijabilnosti anatomskih karaktera (Slika 18). Iako su grupe koje predstavljaju različite lokalitete heterogene, populacije *O. divergens* i *O. umbellatum* pokazuju određene osobenosti prema obliku i veličini varijabilnosti.

**Tabela 14.** Opterećenja karaktera na prve tri ose analize glavnih komponenata. Predstavljani su samo karakteri koji značajno doprinose ukupnoj varijabilnosti, sa apsolutnim vrednostima PCA > 0,7

<b>Karakter</b>	<b>PCA 1</b>	<b>PCA 2</b>	<b>PCA 3</b>
Udeo palisadnog tkiva lista	<b>0,724</b>	-0,213	0,363
Udeo sunderastog tkiva lista	<b>-0,779</b>	0,113	-0,082
Ukupna površina poprečnog preseka skapusa	<b>-0,775</b>	-0,109	0,359
Udeo epidermisa skapusa	<b>0,829</b>	0,260	-0,173
Udeo kore skapusa	0,307	<b>0,718</b>	-0,365
Udeo u ukupnoj varijabilnosti [%]	<b>25,86</b>	<b>18,91</b>	<b>8,97</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>25,86</b>	<b>44,77</b>	<b>53,74</b>



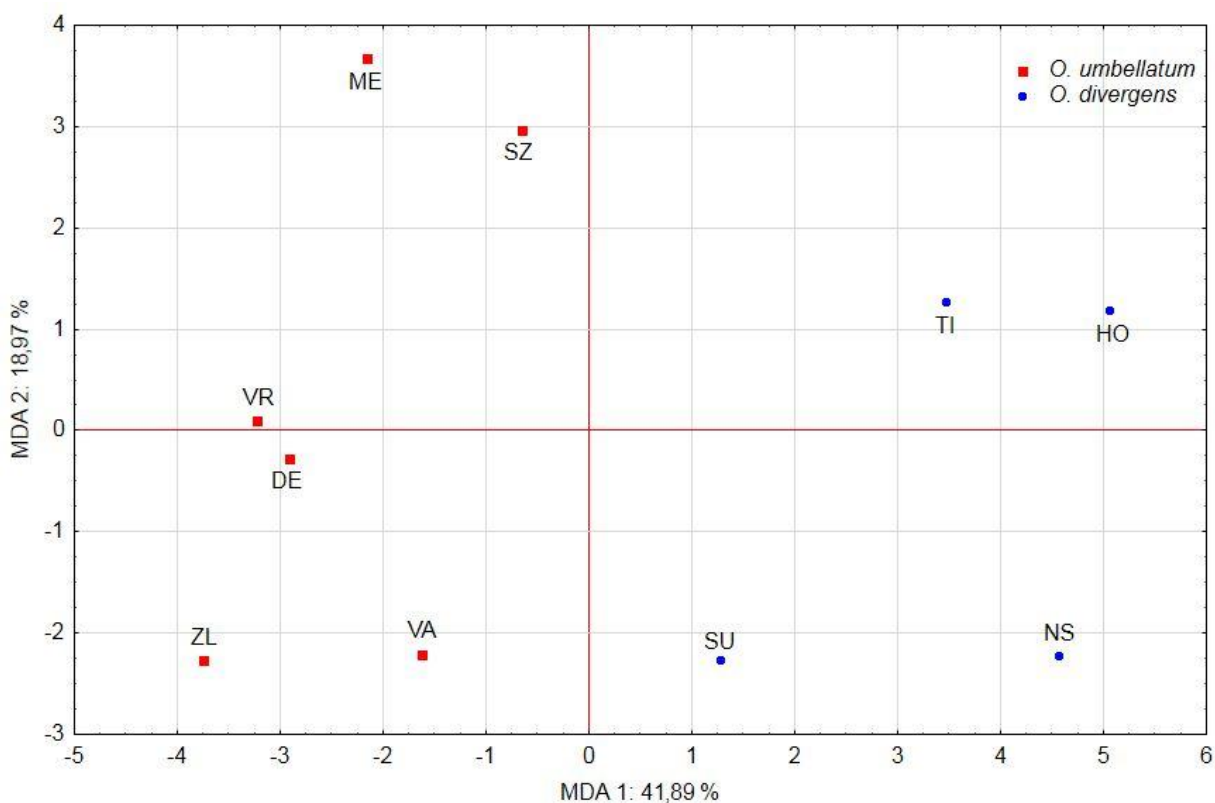
**Slika 18.** Pozicije analiziranih jedinki *Ornithogalum* u prostoru prve i druge ose analize glavnih komponenata zasnovane na anatomskim karakteristikama. Različite boje ukazuju na populacije različitih taksona (crvena – *O. umbellatum*, plava – *O. divergens*); elipse predstavljaju 95% uzorka

Karakteristi koji se nisu pokazali značajno različitim između dva taksona nisu uključeni u MDA. Rezultati MDA (Tabela 15) ukazuju na sličnosti anatomskih parametara između populacija istih grupa. Mali broj anatomskih karakteristika pokazao se značajnim za razdvajanje prilikom ove analize. Posmatrajući pozicije ispitivanih populacija u prostoru prve i druge diskriminantne ose (Slika 19), može se uočiti da se populacije *O. divergens* i *O. umbellatum* razdvajaju jedne od drugih duž prve ose. Karakter koji nosi najveći efekat diskriminacije u odnosu na prvu osu je površina poprečnog preseka lista, znatno veća kod *O. divergens*; to je parametar koji najviše doprinosi razlikovanju dva ispitivana taksona. Na drugoj diskriminantnoj osi se separacija vrši preko karaktera udeo centralnog cilindra skapusa, a treća osa determiniše značaj karaktera udeo palisadnog i sunđerastog tkiva lista, kao i udeo epidermisa skapusa; stoga ovi parametri takođe doprinose razdvajanju populacija i taksona. Na osnovu značajno više

vrednosti udela centralnog cilindra skapusa, ME i SZ – populacije *O. umbellatum* poreklom iz Mađarske, izdvojile su se duž druge ose od ostalih analiziranih populacija (Tabela 15, Slika 19).

**Tabela 15.** Opterećenja karaktera na prve tri diskriminantne ose. Predstavljeni su samo karakteri koji značajno doprinose diskriminaciji, sa apsolutnim vrednostima MDA > 0,7

Karakter	MDA 1	MDA 2	MDA 3
Ukupna površina poprečnog preseka liske	<b>1,346</b>	0,456	-0,416
Udeo palisadnog tkiva lista	0,071	0,132	<b>-1,336</b>
Udeo sunderastog tkiva lista	0,264	0,088	<b>-1,105</b>
Udeo epidermisa skapusa	-0,400	-0,190	<b>-0,815</b>
Udeo centralnog cilindra skapusa	-0,477	<b>0,999</b>	-0,058
Procenti vektora [%]	<b>41,89</b>	<b>18,97</b>	<b>16,48</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>41,89</b>	<b>60,86</b>	<b>77,34</b>



**Slika 19.** Pozicije analiziranih populacija *Ornithogalum umbellatum* i *O. divergens* u prostoru prve i druge diskriminantne ose MDA zasnovane na anatomskim karakteristikama



### 5.3. Analiza morfoloških karakteristika

Izučavani su uzorci sa 25 različitih lokaliteta (Tabela 1), iz svake populacije ispitivano je po 6 – 10 jedinki, ukupno 238 biljaka. Kod jedinki svih analiziranih populacija oko glavne lukovice pronađeni su adventivni bulbili. Listovi su kod svih ispitivanih biljaka linearni do ušiljeni, duguljasti, uspravni do blago povijeni, u bazalnoj rozeti. Glatki su, zeleni, sa belom linijom na gornjoj površini u centralnom delu. Skapus je uspravan, gladak i zelen. Membranozne brakteje su ovalno-lanceolatne, a brakteole odsutne. Od svega par pa do dvadesetak dvopolnih cvetova (u proseku osam) grade rastresite cvasti. Cvetni omotač je prost (perigon), krunicolik, čine ga 6 slobodnih listića, u 2 kruga po 3. Segmenti perigona su lanceolatni do ovalno-lanceolatni, beli sa uzdužnim zelenom prugom sa spoljašnje strane, koja je vidljiva sa naličja. Spoljašnji listići perigona imaju šire zelene pruge od unutrašnjih. Prašnika ima 6, raspoređeni su u 2 kruga po 3. Prašnikovi konci su beli, slobodni i ravni, lanceolatno ušiljeni, celi, unutrašnji malo duži i širi od spoljašnjih. Prašnice pričvršćene za prašnikove konce sa dorzalne strane, žute ili beličaste. Gineceum je nadcvetan, sinkarpan, iz tri oplodna listića. Plodnik je zelen, obrnuto jajolik do cilindričan, zatupljen na vrhu. Troreznjevit je ali su reznjevi urezani te je svaki podeljen na dva, pa se ukupno uočava šest manje-više podjednako udaljenih rebara. Stubić je beličast, končast, žig tačkast do blago trouglast i žlezdan. Cvetna formula:  $*\underset{\text{♀}}{\text{P}}\underset{\text{♂}}{\text{P}}_{3+3}\text{A}_{3+3}\text{G}_{\underline{\text{6}}}$ . Plod je čaura, izduženo-jajolika, zaravnjena/zatupljena na vrhu. Ima 6 uočljivih, manje-više podjednako udaljenih rebara. Semena su raspoređena u dva reda po lokulu, braon do crne boje, loptasta do spljoštena sa blago izraženim vršnim krajem.

Biljke cvetaju u aprilu i maju; cvetovi su otvoreni danju. Što se staništa tiče, rastu uglavnom pored puta, na obodu njive, na rubu šume. Nastanjuju i livade, stepe, slatine i lesne odseke. Ipak može se zapaziti uočljivije prisustvo *O. divergens* u relativno degradiranim predelima, više pod uticajem čoveka, dok *O. umbellatum* naseljava kako ruderalna tako i više prirodna staništa.

Analizirana su 32 kvantitativna morfološka karaktera (Tabela 4). Za dobijene podatke je najpre urađena deskriptivna statistika, odnosno određene su minimalne, prosečne i maksimalne vrednosti, koje su predstavljene u tabelama u Prilogu. Populacije označene kao ZB, GR, SS, VI, MO, SU, NS i TI (Tabela 1), koje su *a priori* identifikovane kao *O. divergens*, u tabelama

(Prilog) su, radi preglednosti, horizontalnom linijom odvojene od ostalih ispitivanih populacija determinisanih kao *O. umbellatum* s.str. Posmatrajući uzorak u celini, uočavaju se pojedine populacije koje se izdvajaju vrednostima analiziranih karaktera za određene biljne organe odnosno grupe organa. Recimo, populacija SZ ističe se najnižim vrednostima za nekoliko morfoloških karaktera vegetativnih organa: dimenzije lista, visina skapusa i širina lukovice (Prilog: Tabela I). Sa druge strane, populacija TI se izdvaja najvišim prosečnim vrednostima za: širinu lista, visinu skapusa i dimenzije lukovice. Biljke ove populacije karakterišu najveće lukovice, i po dužini i po širini, a istovremeno je odnos ovih dimenzija najmanji tj. ove su lukovice “najspljoštenije”, dok su “najizduženije” zabeležene u populaciji BO (Prilog: Tabela I). Kada su karakteristike cvasti u pitanju, populacija DE ističe se najvećim dužinama cvetnih drški i najmanjim odnosom dužine brakteje i cvetne drške (Prilog: Tabela II). Najkraće cvetne drške zabeležene su u populaciji SS, a najveća vrednost odnosa dužine brakteje i cvetne drške u populaciji RS. Populacija BK ima najveće obe dimenzije cvasti i ugao između cvetne drške i skapusa, a kod populacije RS vrednosti ovih karaktera su najniže. Odnos dužine i prečnika cvasti najmanji je u populaciji VA, a najveći u OZ. Brakteje su u proseku najduže u populaciji BO, najšire u TI; najkraće u SZ, a najuže u ZS i KE. Najviše cvetova izbrojano je kod biljaka iz populacija KE i VK, a najmanje kod: DJ, VA, GR i SS (Prilog: Tabela II). Posmatrajući morfološke parametre cveta, populacija TI se izdvaja po najvišim vrednostima za većinu ispitivanih karaktera, kao što su dimenzije prašnice i plodnika, ali i širine listića perigona i zelene pruge na njima – za koje su slične vrednosti zabeležene i u okviru populacije RS (Prilog: Tabela III). Najveće dimenzije ploda izmerene su u populaciji SU, dužina stubića u MO, a dužine prašnikovih konaca u populaciji VI. Vrednosti dužina listića perigona u proseku su najviše za populaciju OZ (Prilog: Tabela III).

Izračunati su i koeficijenti varijacije, kao mere varijabilnosti ispitivanih morfometrijskih i merističkih karaktera (Prilog). Kao najkonzervativniji pokazali su se karakteri cveta i ploda, koji su se našli u zoni niske varijabilnosti ( $C_v < 30\%$ ). Većina karaktera vegetativnog regiona takođe se odlikuje nižom do umerenom, pri čemu se nešto povišenom varijabilnošću izdvaja karakter širina lista. Karakteri regiona cvasti odlikuju se najvišim koeficijentima varijacije, naročito dimenzije cvasti kod kojih je ova vrednost i preko 50%. Urađena je i analiza varijanse (ANOVA) koja je ukazala na statistički značajne razlike u varijabilnosti ispitivanih populacija za sve

kvantitativne karaktere, za nivo signifikantnosti  $p < 0,05$ , ali se većina analiziranih karakterata ne odlikuje izraženom F–vrednošću (Prilog).

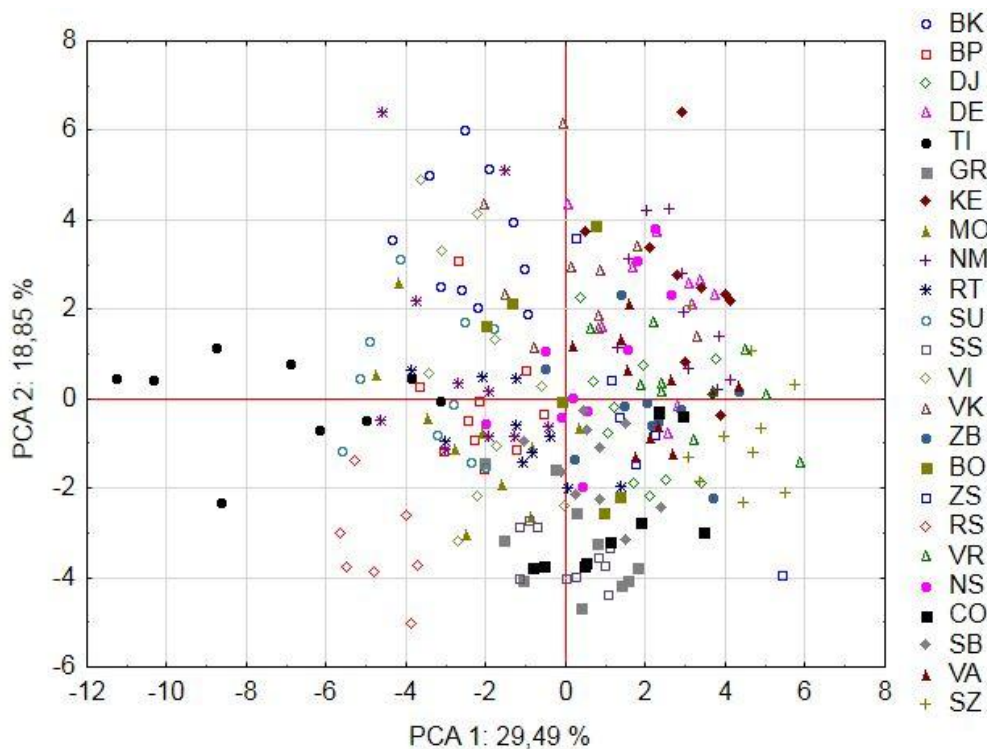
Varijabilnost analiziranih morfoloških karakterata ispitana je uz pomoć analize glavnih komponenata (PCA), koja posmatra model i obim varijabilnosti uzorka. Analiza je sprovedena u cilju definisanja onih osobina koje najviše doprinose ukupnoj morfološkoj varijabilnosti na jedinkama grupisanim prema populacijama, kao i na nivou taksona *O. umbellatum* i *O. divergens*. Posebno su obrađeni i karakteri vegetativnog regiona, regiona cvasti i parametri cveta i ploda. Rezultati PCA su prikazani tabelarno pri čemu su u obzir uzete prve tri ose čija kumulativna vrednost varijabilnosti uzorka iznosi više od 50%, kao i grafički – u prostoru prve dve glavne ose.

Karakteristi koji su značajno doprineli ukupnoj varijabilnosti (sa apsolutnim vrednostima opterećenja na jednoj od prve tri PCA ose  $> 0,7$ ) predstavljeni su parametrima cveta i cvasti. Prva glavna komponenta učestvuje sa 29,49% u ukupnoj varijabilnosti, a set karakterata cveta determiniše varijabilnost po prvoj osi – dimenzije listića perigona i širina zelene pruge na njima, kao i dužina prašnice (Tabela 16). Druga komponenta predstavlja 18,85% varijabilnosti i definisana je određenim parametrima cvasti kao što su dimenzije cvasti i dužine cvetnih drški (Tabela 16). Procenat kumulativnog doprinosa prve tri PC je 55,36%.

**Tabela 16.** Opterećenja karaktera na prve tri ose analize glavnih komponenata. Predstavljani su samo karakteri koji značajno doprinose ukupnoj varijabilnosti, sa apsolutnim vrednostima PCA > 0,7

<b>Karakter</b>	<b>PCA 1</b>	<b>PCA 2</b>	<b>PCA 3</b>
Dužina cvasti	0,075	<b>0,857</b>	-0,180
Prečnik cvasti	0,148	<b>0,807</b>	0,285
Dužina najniže cvetne drške	0,015	<b>0,889</b>	0,039
Dužina središnje cvetne drške	0,061	<b>0,883</b>	0,098
Dužina spoljašnjih listića perigona	<b>-0,724</b>	-0,035	0,283
Dužina unutrašnjih listića perigona	<b>-0,747</b>	-0,038	0,260
Širina spoljašnjih listića perigona	<b>-0,820</b>	-0,199	-0,039
Širina unutrašnjih listića perigona	<b>-0,779</b>	-0,254	-0,024
Širina zelene pruge spoljašnjih listića perigona	<b>-0,829</b>	-0,208	-0,093
Širina zelene pruge unutrašnjih listića perigona	<b>-0,726</b>	-0,124	-0,090
Dužina prašnice	<b>-0,737</b>	-0,256	-0,026
Udeo u ukupnoj varijabilnosti [%]	<b>29,49</b>	<b>18,85</b>	<b>7,02</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>29,49</b>	<b>48,34</b>	<b>55,36</b>

Posmatrajući pozicije analiziranih jedinki populacija *O. umbellatum* i *O. divergens* u prostoru glavnih osa uočava se da nije moguće jasno definisati odgovarajuće sličnosti na osnovu varijabilnosti ispitivanih morfoloških karaktera (Slika 20). Grupe koje predstavljaju različite lokalitete veoma su heterogene, a ne mogu se uočiti ni osobenosti populacija *O. divergens* i *O. umbellatum* prema obliku varijabilnosti.



**Slika 20.** Pozicije analiziranih jedinki populacija *Ornithogalum umbellatum* i *O. divergens* u prostoru prve i druge ose analize glavnih komponentata

Analizom glavnih komponentata su dalje obrađeni karakteri unutar svake od tri grupe (Tabela 17) posebno; predstavljeni su parametri koji najviše doprinose ukupnoj varijabilnosti. Procenat kumulativnog doprinosa prve tri PC iznosio je: 87,59% za vegetativne, 77,26% za karaktere regiona cvasti i 70,48% za karaktere cveta i ploda. Ustanovljeno je da su od vegetativnih karaktera najvarijabilnije dimenzije lukovice i lista, od karaktera regiona cvasti – dimenzije cvasti i dužine cvetnih drški. Set karaktera koji determiniše varijabilnost po prvoj osi među karakterima cveta obuhvatao je dimenzije listića perigona i širine zelene pruge na njima, kao i dužine delova prašnika (Tabela 17). Karakteri koji su najmanje doprineli ukupnoj varijabilnosti su: visina skapusa, širina bele pruge na listu, broj cvetova, dužina brakteje i odnos sa dužinom cvetne drške, ugao između cvetne drške i skapusa, dužine spoljašnjeg prašnikovog konca i stubića, širina prašnice i dimenzije plodnika.

**Tabela 17.** Opterećenja karaktera na prve tri ose analize glavnih komponenata. Predstavljene su samo karakteri koji značajno doprinose ukupnoj varijabilnosti (sa apsolutnim vrednostima PCA > 0,7) odvojeno za tri grupe: vegetativni region, region cvasti, cvet i plod

<b>Karakter</b>	<b>PCA 1</b>	<b>PCA 2</b>	<b>PCA 3</b>
<i>Vegetativni region</i>			
dužina lukovice	<b>-0,723</b>	-0,191	0,660
širina lukovice	<b>-0,855</b>	0,344	0,365
odnos dužina / širina	0,426	<b>-0,845</b>	0,280
dužina lista	<b>-0,825</b>	-0,267	-0,301
širina lista	<b>-0,785</b>	0,005	-0,213
Udeo u ukupnoj varijabilnosti [%]	<b>53,56</b>	<b>18,75</b>	<b>15,28</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>53,56</b>	<b>72,31</b>	<b>87,59</b>
<i>Region cvasti</i>			
dužina cvasti	<b>-0,846</b>	0,376	-0,086
prečnik cvasti	<b>-0,861</b>	-0,351	0,093
odnos dužina / prečnik	0,029	<b>0,883</b>	-0,258
širina brakteje	-0,156	0,044	<b>0,826</b>
dužina najniže cvetne drške	<b>-0,904</b>	0,122	-0,042
dužina središnje cvetne drške	<b>-0,923</b>	0,030	-0,018
Udeo u ukupnoj varijabilnosti [%]	<b>45,87</b>	<b>17,32</b>	<b>14,07</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>45,87</b>	<b>63,19</b>	<b>77,26</b>
<i>Cvet i plod</i>			
dužina spoljašnjih listića perigona	<b>-0,772</b>	0,105	-0,290
dužina unutrašnjih listića perigona	<b>-0,794</b>	0,097	-0,273
širina spoljašnjih listića perigona	<b>-0,844</b>	-0,283	0,288
širina unutrašnjih listića perigona	<b>-0,817</b>	-0,305	0,223
širina zelene pruge spoljašnjih listića perigona	<b>-0,854</b>	-0,320	0,247
širina zelene pruge unutrašnjih listića perigona	<b>-0,746</b>	-0,316	0,197
dužina unutrašnjeg prašnikovog konca	<b>-0,709</b>	0,137	-0,534
dužina prašnice	<b>-0,731</b>	-0,208	-0,086
dužina ploda	-0,358	<b>0,827</b>	0,204
širina ploda	-0,365	<b>0,776</b>	0,230
Udeo u ukupnoj varijabilnosti [%]	<b>48,15</b>	<b>13,33</b>	<b>9,01</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>48,15</b>	<b>61,47</b>	<b>70,48</b>

Analiza glavnih komponenata urađena je i posebno za populacije *O. umbellatum* (Tabela 18), a odvojeno za *O. divergens* (Tabela 19); predstavljeni su parametri koji najviše doprinose ukupnoj varijabilnosti. Procenat kumulativnog doprinosa prve tri PC iznosio je: 54,60% za *O. umbellatum* odnosno 57,21% za *O. divergens*. Najveći deo varijabilnosti kod *O. umbellatum* nose karakteri cveta, a kod *O. divergens* i pojedini karakteri vegetativnih organa – širine lukovice i lista (Tabele 18, 19).

**Tabela 18.** Opterećenja karaktera na prve tri ose analize glavnih komponenata, za populacije *O. umbellatum*. Predstavljene su samo karakteri koji značajno doprinose ukupnoj varijabilnosti (sa apsolutnim vrednostima PCA > 0,7)

<b>Karakter</b>	<b>PCA 1</b>	<b>PCA 2</b>	<b>PCA 3</b>
dužina cvasti	-0,065	<b>0,847</b>	-0,232
prečnik cvasti	0,138	<b>0,786</b>	0,292
dužina najniže cvetne drške	0,006	<b>0,862</b>	0,093
dužina središnje cvetne drške	-0,015	<b>0,868</b>	0,104
dužina spoljašnjih listića perigona	<b>-0,753</b>	-0,149	0,272
dužina unutrašnjih listića perigona	<b>-0,781</b>	-0,110	0,251
širina spoljašnjih listića perigona	<b>-0,822</b>	-0,191	0,055
širina unutrašnjih listića perigona	<b>-0,799</b>	-0,258	0,030
širina zelene pruge spoljašnjih listića perigona	<b>-0,829</b>	-0,225	-0,055
dužina unutrašnjeg prašnikovog konca	<b>-0,725</b>	-0,069	0,146
dužina prašnice	<b>-0,817</b>	-0,276	0,028
Udeo u ukupnoj varijabilnosti [%]	<b>27,57</b>	<b>19,16</b>	<b>7,87</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>27,57</b>	<b>46,73</b>	<b>54,60</b>

**Tabela 19.** Opterećenja karaktera na prve tri ose analize glavnih komponenata, za populacije *O. divergens*. Predstavljene su samo karakteri koji značajno doprinose ukupnoj varijabilnosti (sa apsolutnim vrednostima PCA > 0,7)

<b>Karakter</b>	<b>PCA 1</b>	<b>PCA 2</b>	<b>PCA 3</b>
širina lukovice	<b>-0,742</b>	-0,034	0,480
širina lista	<b>-0,808</b>	-0,031	0,266
dužina cvasti	-0,145	<b>0,881</b>	0,062
prečnik cvasti	-0,182	<b>0,872</b>	-0,154
širina brakteje	<b>-0,734</b>	-0,078	-0,016
dužina najniže cvetne drške	-0,434	<b>0,807</b>	0,026
dužina središnje cvetne drške	-0,258	<b>0,878</b>	-0,032
dužina spoljašnjih listića perigona	<b>-0,709</b>	-0,013	-0,450
širina zelene pruge spoljašnjih listića perigona	<b>-0,725</b>	-0,428	-0,023
širina zelene pruge unutrašnjih listića perigona	<b>-0,727</b>	-0,160	-0,149
dužina plodnika	<b>-0,705</b>	-0,036	-0,249
Udeo u ukupnoj varijabilnosti [%]	<b>30,89</b>	<b>18,53</b>	<b>7,79</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>30,89</b>	<b>49,42</b>	<b>57,21</b>

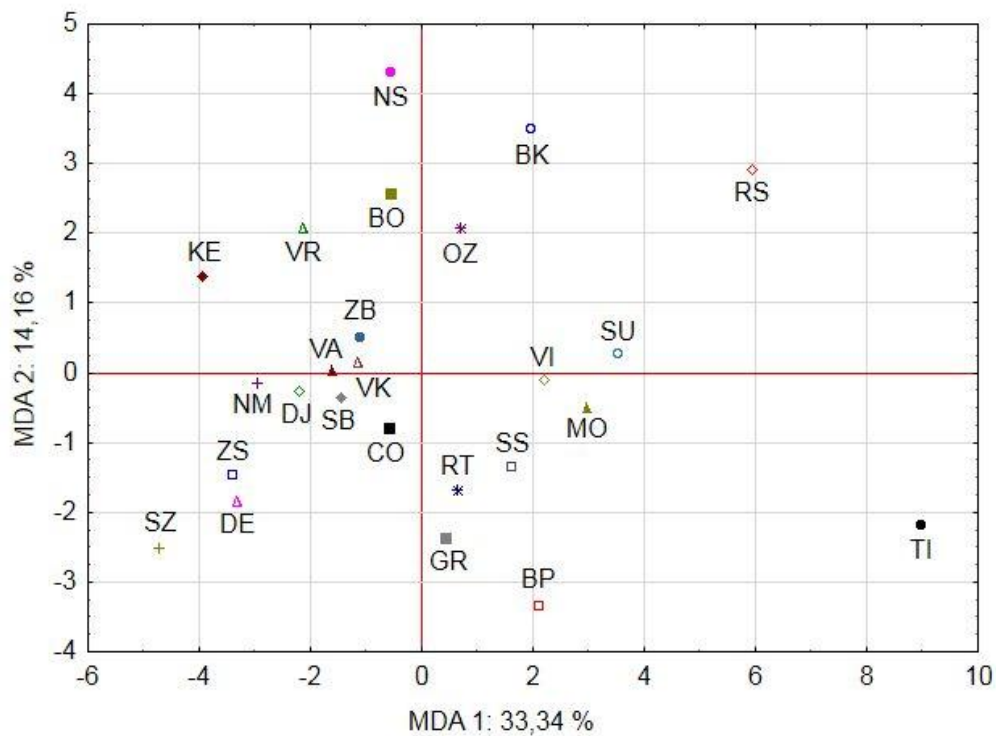
Za sve ispitivane karaktere urađena je multivarijantna diskriminantna analiza, orijentisana na razdvajanje prema *a priori* definisanim grupama. Rezultati MDA (Tabela 20) ukazuju da su parametri koji najviše doprinose razlikovanju analiziranih populacija – karakteristike lukovice. Mali broj, od ukupnog broja ispitivanih karaktera, pokazao se kao značajan za diskriminaciju grupa, svega pet na prve tri ose. Grafikon pozicije analiziranih populacija u prostoru prve i druge diskriminantne ose (Slika 21) ne ukazuje na jasno grupisanje pojedinih populacija. Neke su

udaljenije, neke bliže jedne drugima; za populacije TI i RS moglo bi se reći da se značajnije odvajaju duž prve ose od ostalih, na osnovu dimenzija lukovica. Ipak, pravilno razdvajanje duž diskriminantnih osa ne može se uočiti za većinu populacija. Uz pomoć MDA su dalje obrađeni karakteri unutar svake od tri grupe (Tabela 21) posebno i predstavljeni su oni koji su najviše doprineli razdvajanju.

**Tabela 20.** Opterećenja karaktera na prve tri diskriminantne ose. Predstavljeni su samo karakteri koji značajno doprinose diskriminaciji, sa apsolutnim vrednostima  $MDA > 0,7$

<b>Karakter</b>	<b>MDA 1</b>	<b>MDA 2</b>	<b>MDA 3</b>
Dužina lukovice	<b>-0,954</b>	<b>0,938</b>	<b>1,841</b>
Širina lukovice	<b>1,164</b>	<b>-1,189</b>	<b>-2,515</b>
Odnos dužine i širine lukovice	0,370	-0,557	<b>-1,351</b>
Dužina brakteje	-0,104	<b>0,883</b>	0,059
Dužina najniže cvetne drške	-0,177	<b>-1,222</b>	0,184
Procenti vektora [%]	<b>34,34</b>	<b>14,16</b>	<b>10,35</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>34,34</b>	<b>48,5</b>	<b>58,85</b>



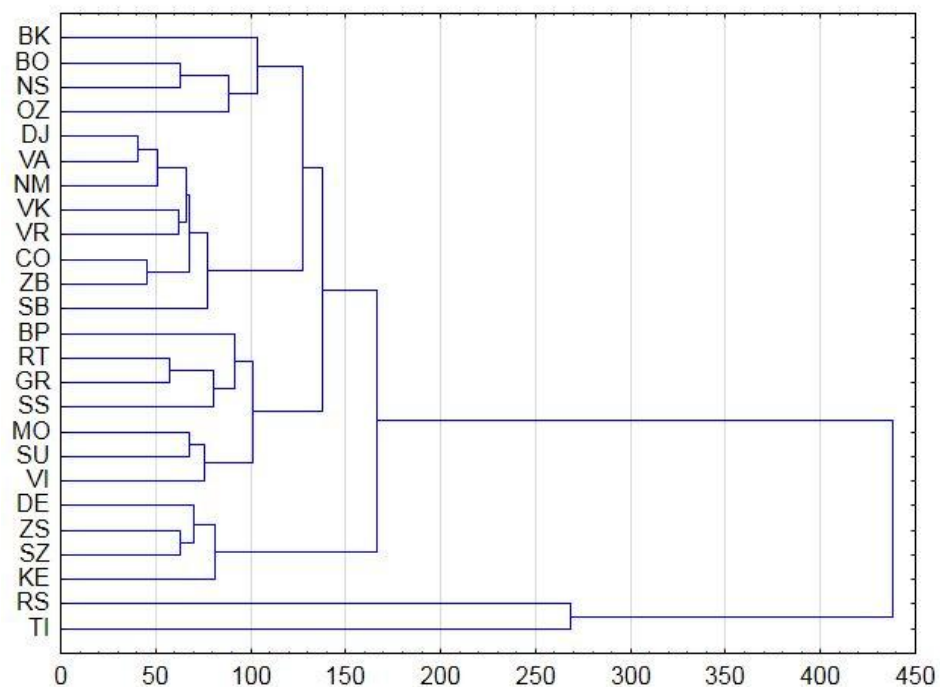


**Slika 21.** Pozicije analiziranih populacija *Ornithogalum umbellatum* i *O. divergens* u prostoru prve i druge diskriminantne ose

**Tabela 21.** Opterećenja karaktera na prve tri diskriminantne ose. Predstavljene su samo karakteri koji značajno doprinose diskriminaciji, sa apsolutnim vrednostima MDA > 0,7, odvojeno za tri grupe: vegetativni region, region cvasti, cvet i plod

<b>Karakter</b>	<b>MDA 1</b>	<b>MDA 2</b>	<b>MDA 3</b>
<i>Vegetativni region</i>			
dužina lukovice	<b>-2,417</b>	<b>-1,850</b>	<b>2,349</b>
širina lukovice	<b>2,904</b>	<b>2,313</b>	<b>-2,521</b>
odnos dužina / širina	<b>1,314</b>	<b>1,404</b>	<b>-1,865</b>
visina skapusa	-0,085	-0,552	<b>-0,810</b>
Procenti vektora [%]	<b>50,65</b>	<b>21,82</b>	<b>10,08</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>50,65</b>	<b>72,47</b>	<b>82,55</b>
<i>Region cvasti</i>			
dužina brakteje	-0,402	<b>1,020</b>	<b>-0,834</b>
širina brakteje	<b>0,886</b>	0,251	0,560
dužina najniže cvetne drške	<b>0,763</b>	<b>-1,119</b>	<b>0,820</b>
Procenti vektora [%]	<b>39,98</b>	<b>23,96</b>	<b>13,78</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>39,98</b>	<b>63,94</b>	<b>77,72</b>
<i>Cvet i plod</i>			
širina unutrašnjih listića perigona	0,017	<b>0,907</b>	-0,218
širina zelene pruge unutrašnjih listića perigona	-0,415	<b>-1,098</b>	-0,063
dužina unutrašnjeg prašnikovog konca	-0,495	<b>0,736</b>	0,190
prečnik plodnika	0,131	0,068	<b>-0,739</b>
Procenti vektora [%]	<b>42,50</b>	<b>16,07</b>	<b>10,50</b>
Kumulativni efekat [%]	<b>42,50</b>	<b>58,57</b>	<b>69,07</b>

U cilju dobijanja što jasnije slike diskriminacije ispitivanih populacija na osnovu biometrijskih karakteristika konstruisan je fenogram (Slika 22), uz pomoć UPGA klaster analize. Najpre se odvajaju populacije TI i RS, za koje je i prethodnim analizama pokazano da se prema određenim morfološkim karakterima značajnije razlikuju od ostalih ispitivanih populacija. Ipak i ovde se uočava nemogućnost definisanja jedinstvenog obrasca varijabilnosti morfoloških karaktera na interpopulacionom nivou, kao ni između dva analizirana taksona.



**Slika 22.** Fenogram analiziranih populacija *Ornithogalum umbellatum* i *O. divergens* na osnovu diskriminantne analize

Uspešnost *a priori* klasifikacije jedinki po grupama testirana je kroz predviđenu (*a posteriori*) grupnu pripadnost, na osnovu Mahalanobisovih distanci (Prilog: Tabela IV). Tačnost raspodele izražena u procentima iznosila je 94,54% na interpopulacionom nivou, odnosno 86,97% na nivou pripadnosti jednom od dva analizirana taksona, a na osnovu diskriminantne analize ispitivanog seta morfoloških karaktera.

Biljke korišćene u ovom istraživanju *a priori* su identifikovane tj. determinisane kao *O. divergens* odnosno *O. umbellatum* s.str. (Tabela 1), pri čemu je kao najznačajniji parametar za razlikovanje ovih taksona korišćen tip bulbila, karakteristika ustanovljena prilikom uzorkovanja. Kako ovaj karakter nije ušao u statističke analize, opšta morfološka građa pokazala se veoma sličnom za ove dve grupe. Ipak, ispitivanja vegetativnih i generativnih morfoloških karaktera pokazuju da između ovih taksona, kao i na interpopulacionom nivou, postoje određene kvantitativne razlike na osnovu kojih se mogu razdvojiti. Na osnovu T-testa ( $p \leq 0,05$ ) statistički značajne razlike između dva ispitivana taksona nisu ustanovljene samo za karaktere: dužine lukovice i brakteje, ugao između najniže cvetne drške i skapusa, dimenzije ploda (Tabela 22). Za

većinu analiziranih karaktera pokazano je da se značajno razlikuju. Takođe treba naglasiti da su dobijene vrednosti koeficijenata varijacije neuobičajeno visoke za mnoge ispitivane kvantitativne karaktere. Dimenzije cvasti, recimo, pokazuju veoma visoku varijabilnost, dok su pojedini karakteri (širina lista, broj cvetova, dužine cvetnih drški, ugao između najniže cvetne drške i skapusa, širine listića perigona i zelene pruge na njima) u zoni povišene varijabilnosti (Tabela 22).

**Tabela 22.** Kvantitativni morfološki karakteri: minimum, aritmetička sredina, maksimum i koeficijent varijacije (Cv). “\*” ukazuje na značajne razlike (“ns” – nisu značajne) između taksona, prema T-testu ( $p \leq 0,05$ )

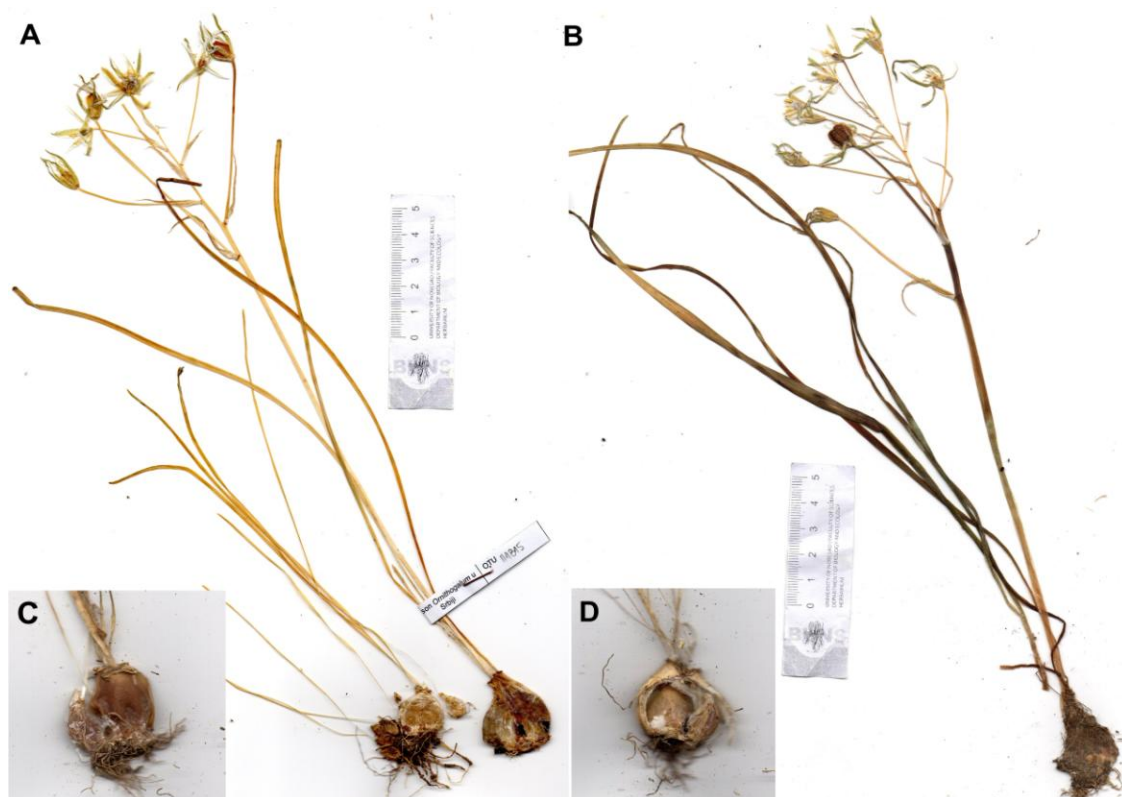
Karakter	<i>O. umbellatum</i>		<i>O. divergens</i>		T-test
	(minimum) aritmetička sredina (maksimum)	Cv (%)	(minimum) aritmetička sredina (maksimum)	Cv (%)	
dužina lukovice	(1,02) 1,97 (3,83)	20	(1,23) 1,90 (3,43)	23	ns
širina lukovice	(0,95) 1,85 (3,54)	24	(1,18) 2,01 (4,15)	32	*
odnos dužine i širine lukovice	(0,64) 1,09 (1,67)	15	(0,64) 0,97 (1,48)	13	*
visina skapusa	(6,09) 15,71 (30,56)	32	(6,69) 17,12 (28,48)	29	*
dužina lista	(9,18) 24,83 (54,15)	35	(9,86) 29,50 (49,07)	29	*
širina lista	(0,11) 0,30 (0,79)	48	(0,11) 0,35 (0,73)	44	*
broj cvetova	(3) 9 (21)	43	(2) 7 (15)	41	*
dužina cvasti	(1,25) 5,25 (18,08)	56	(0,73) 3,71 (12,20)	58	*
prečnik cvasti	(0,58) 5,53 (15,46)	49	(0,82) 4,48 (11,80)	57	*
odnos dužine i prečnika cvasti	(0,20) 1,06 (3,51)	52	(0,41) 0,90 (2,02)	39	*
dužina brakteje	(1,22) 3,14 (5,85)	23	(1,91) 3,29 (5,29)	21	ns
širina brakteje	(0,19) 0,43 (0,74)	29	(0,23) 0,53 (1,01)	32	*
dužina najniže cvetne drške	(1,76) 6,04 (11,27)	31	(2,42) 5,15 (9,77)	32	*
odnos brakteje i cvetne drške	(0,28) 0,56 (0,99)	29	(0,38) 0,67 (0,98)	21	*
dužina središnje cvetne drške	(0,89) 3,59 (7,01)	34	(0,88) 2,96 (6,17)	42	*
ugao između najniže cvetne drške i skapusa	(16) 52 (102)	34	(13) 48 (95)	38	ns
dužina spoljašnjih listića perigona	(0,92) 1,56 (2,21)	16	(1,05) 1,63 (2,20)	15	*
dužina unutrašnjih listića perigona	(0,89) 1,38 (1,98)	17	(0,87) 1,46 (2,05)	16	*
širina spoljašnjih listića perigona	(0,19) 0,40 (0,71)	28	(0,21) 0,46 (0,77)	27	*
širina unutrašnjih listića perigona	(0,14) 0,32 (0,65)	31	(0,17) 0,38 (0,70)	30	*
širina zelene pruge spoljašnjih listića perigona	(0,12) 0,27 (0,60)	33	(0,16) 0,32 (0,68)	30	*
širina zelene pruge unutrašnjih listića perigona	(0,04) 0,13 (0,41)	40	(0,08) 0,16 (0,43)	44	*
dužina spoljašnjeg prašnikovog konca	(0,41) 0,56 (0,77)	12	(0,41) 0,62 (0,92)	14	*
dužina unutrašnjeg prašnikovog konca	(0,36) 0,63 (0,87)	13	(0,50) 0,71 (1,05)	15	*
dužina prašnice	(0,17) 0,25 (0,38)	20	(0,20) 0,29 (0,41)	14	*
širina prašnice	(0,05) 0,09 (0,15)	18	(0,06) 0,09 (0,17)	19	*
dužina plodnika	(0,24) 0,44 (0,63)	17	(0,26) 0,47 (0,74)	19	*
prečnik plodnika	(0,13) 0,29 (0,48)	23	(0,17) 0,32 (0,57)	27	*
dužina ploda	(0,36) 0,72 (1,18)	21	(0,45) 0,72 (1,36)	24	ns
širina ploda	(0,26) 0,57 (1,17)	27	(0,31) 0,53 (1,01)	28	ns

### 5.3.1. Varijabilnost morfoloških karaktera analiziranih *O. umbellatum* i *O. divergens*

Lukovica *O. umbellatum* je ovalna, često jajasta – blago izdužena, odnos dužine i širine u proseku 0,87 – 1,26 (Prilog: Tabela I). Mlađe biljke su okružene mnoštvom listova koji delom potiču od bočnih lukovica, koje su malobrojne i olistale (Slika 23). Listovi koji polaze iz glavne lukovice ponekad uvenu u vreme cvetanja. Cvast *O. umbellatum* je korimbozna do racemozno korimbozna, češće duža nego šira (odnos u proseku 0,62 – 1,80) (Prilog: Tabela II). Brakteje su uglavnom kraće, ponekad skoro jednake sa cvetnim drškama (odnos u proseku 0,36 – 0,81) (Prilog: Tabela II).

Lukovica *O. divergens* je loptasta, nešto krupnija i češće blago spljoštena (odnos dužine i širine u proseku 0,78 – 1,07) (Prilog: Tabela I), okružena je mnoštvom malih neolistalih sekundarnih bulbila sa drščicama (Slika 24). Listovi se javljaju istovremeno kada i cvetovi. Cvast *O. divergens* je široko korimbozna, češće šira nego duža (odnos u proseku 0,65 – 1,11) (Prilog: Tabela II). Brakteje su kraće od cvetnih drški, kod najniže su oko polovine do oko dve trećine njene dužine (odnos u proseku 0,56 – 0,76) (Prilog: Tabela II).

Izdvojili su se karakteri koji su se u proseku pokazali nešto krupnijim kod *O. divergens* u odnosu na *O. umbellatum*: dimenzije lukovice, visina skapusa, dimenzije lista, dimenzije brakteje, dimenzije listića perigona i zelene pruge na njima, dužine prašnikovog konca i prašnice, kao i dimenzije plodnika. Ovi i ostali analizirani karakteri predstavljeni su tabelarno pojedinačno po populacijama (Prilog) i za sve ispitivane *O. umbellatum* i *O. divergens* (Tabela 22).



**Slika 23.** Primerci *Ornithogalum umbellatum* iz herbarijuma BUNS: A – biljka sa lokaliteta Valjevo; B – biljka sa lokaliteta Vršačke Planine; detalji: adventivne lukovice: C – lokalitet Vršačka kula; D – lokalitet Deliblatska Peščara



**Slika 24.** Primerci *Ornithogalum divergens* iz herbarijuma BUNS: A – biljka sa lokaliteta Novi Sad; B – biljke sa lokaliteta Susek; C – detalj: deo lukovice sa bulbilima, lokalitet Vilovo



## 6. DISKUSIJA

### 6.1. Genetička varijabilnost i struktura populacija

Diverzitet i genetička struktura populacija dva taksona *Ornithogalum* ispitivani su kroz analizu intra- i interpopulacione varijabilnosti i utvrđivanje genetičke bliskosti odnosno udaljenosti između biljaka sa različitih lokaliteta, korišćenjem molekularnih markera. Populacije TI, SU, HO i NS (Tabela 1) su *a priori* identifikovane kao *O. divergens*, na osnovu određenih morfoloških karaktera koji su ih razdvojili od ostalih ispitivanih populacija, determinisanih kao *O. umbellatum* s.str.

Analiza je rađena sa 10 različitih prajmera (Tabela 2) koji su zajedno dali 101 amplifikovan fragment na gelu, od kojih je 91% bilo polimorfno, gledajući prosek po prajmerima. Broj RAPD markera koji se koristi za evaluaciju genetičke varijabilnosti biljaka veoma varira i ne zavisi od uobičajenih faktora, kao što je recimo nivo domestifikacije vrste (Mendonça i sar., 2014). Stoga je neosnovano vršiti poređenja, posebno kada ne postoje druga istraživanja ovog tipa markera korišćenih za analizu konkretno ovih taksona. Nisu pronađene publikacije koje primenjuju RAPD metodu u izučavanju *O. umbellatum*, niti podaci o ranijim radovima koji su koristili bilo koje molekularne metode za analizu *Ornithogalum* u okviru ovde ispitivanog područja. Jedina poznata studija koja je koristila RAPD na vrsti ovog roda (*O. thyrsoides*) pokazala je da su osam različitih prajmera dali ukupno 169 traka od kojih su 53% bile polimorfne (Joung i Roh, 2004). Koristeći RAPD za analizu još jednog predstavnika familije Hyacinthaceae (*Lachenalia bulbifera* (Cyrillo) Engl.), Kleynhans i Spies (2000) uz primenu pet prajmera dobijaju 104 fragmenta, 88% polimorfni. Ovi autori zapažaju da ovaj postotak, iako može ukazivati na nivo varijabilnosti u ispitivanom uzorku, takođe može biti u vezi i sa izborom prajmera, jer se uglavnom nakon inicijalnih testova za dalje analize biraju upravo oni prajmeri koji su dali visoke vrednosti genetičkog diverziteta (Kleynhans i Spies, 2000).

Stoga vrednosti kao što su broj fragmenata i udeo polimorfni po prajmeru (Tabela 5) često više govore o adekvatnosti samih prajmera za primenu prilikom analize određenog taksona, te o opravdanosti njihovog izbora. Ipak, kada se gledaju ukupni, odnosno polimorfni fragmenti,

po populacijama (Tabela 6) poređenje je opravdano ukoliko se posmatraju isti prajmeri. U tom smislu se recimo populacija ZS izdvaja najvećim brojem polimorfnih traka i to za prajmer OPC10. Ipak, kada je u pitanju udeo polimorfizma, najadekvatnije poređenje populacija u cilju dobijanja najrealnije slike o razlikama u smislu genetičkog diverziteta, je preko procenata polimorfnih lokusa (Tabela 8). Ovaj parametar računa se za svaku populaciju ponaosob, uzimajući u obzir podatke pojedinačnih individua, a korišćenjem istog seta prajmera. Tako se najvišim postotkom polimorfnih lokusa izdvajaju populacije RT i ZS, a najmanjim HO i TI. Rezultate u saglasnosti sa ovim daju i indeksi genetičkog diverziteta ( $h$  - Nei,  $I$  - Shannon) (Tabela 8). Očekivano, računanjem koeficijenata sličnosti (Jaccard) (Tabela 7) u okviru populacija, dobijaju se analogni rezultati – iako se ovi koeficijenti nisu mnogo razlikovali između lokaliteta, najniže vrednosti pokazane su za RT i ZS, a najviše za HO i TI. Trend je ispraćen i kod ostalih populacija, čije su vrednosti između ovih ekstrema.

Kada se posmatraju prosečne vrednosti parametara genetičkog diverziteta ( $h$  i  $I$ ) po populacijama, one su relativno male ( $< 0,1$ ) u poređenju sa analizama podataka dobijenih uz pomoć RAPD na primeru nekih drugih taksona, kao što su Poaceae (Ma i sar., 2012), Orchidaceae (Pinheiro i sar., 2012), Oleaceae (Bojović i sar., 2013), Clusiaceae (Mendonça i sar., 2014). Sa druge strane, vrednosti ovih parametara očekivano su u saglasnosti sa rezultatima prethodnih istraživanja podroda *Ornithogalum* korišćenjem dominantnih molekularnih markera (AFLP) (Martínez-Azorín, 2008). Postoje indikacije da niski indeksi genetičkog diverziteta mogu biti posledica metoda zasnovanih na dominantnim markerima za procenu frekvencije alela (Pinheiro i sar., 2012), ali i mnogih drugih faktora, kao što je fragmentacija staništa ili nedovoljan nivo razmene genetičkog materijala iz drugih razloga, kao što je preferencija ka vegetativnom razmnožavanju (Oliveira i sar., 2010; Pinheiro i sar., 2012). Sa druge strane, manje varijacije koje ipak postoje u okviru ovakvih populacija potencijalno su posledica RAPD polimorfizma usled akumulacija somatskih mutacija kod višegodišnjih biljaka (Oliveira i sar., 2010) kao što su ove. Poznato je da se visoke vrednosti parametara genetičkog diverziteta mogu objasniti faktorima kao što je entomofilija odnosno stranooplodnja (Mendonça i sar., 2014), te bi smanjen udeo alogamije mogao voditi manjem diverzitetu u okviru populacija.

AMOVA analiza dala je proračune proporcija odnosno udela genetičke varijabilnosti (Tabela 9). Kada su dva analizirana taksona posmatrana kao dve odvojene grupe, viši procenti

ukupne varijanse pronađeni su između nego u okviru populacija *O. umbellatum*, ali ova je razlika bila još veća u korist varijabilnosti na interpopulacionom nivou *O. divergens* u odnosu na intrapopulacioni. Ovi su rezultati u saglasnosti sa onim dobijenim računanjem Jaccard koeficijenta genetičke sličnosti unutar populacija, gde su veće vrednosti dobijene kod *O. divergens* u poređenju sa *O. umbellatum* populacijama, koje su takođe pokazale veća međusobna variranja. Generalno gledano, AMOVA ukazuje da je značajan nivo genetičke varijabilnosti prisutan između ispitivanih populacija *Ornithogalum*, niži između dve grupe – dva taksona, a najniži u okviru pojedinačnih populacija određenih lokaliteta.

Pojedine studije govore o tome da široko rasprostranjeni taksoni, poput ovih, pokazuju znatno veći interpopulacioni diverzitet nego oni sa uskim geografskim rasprostranjenjem ili endemični (Nybom i Bartish, 2000). Visok nivo divergencije (genetičke varijabilnosti između populacija) može biti u vezi sa prostornim rasporedom – grupisanjem i geografskim udaljenostima među populacijama, te ograničenom disperzijom polena i semena (Wróblewska i Brzosko, 2006). Predeo koji limitira populacije na određene prostore može voditi ograničenom protoku gena; takođe kada su populacije redukovane ili narušene ljudskim faktorom, distribucija genetičke varijabilnosti je koncentrisana u malim grupama individua (Mendonça i sar., 2014).

Veliki areal distribucije ispitivanih taksona potencijalno objašnjava i nepostojanje značajne korelacije između geografskih udaljenosti i genetičkih distanci, odnosno nedostatak jasnog geografskog trenda dispozicije genetičke varijabilnosti (Ma i sar., 2012), pokazan Mantel testom. Sa druge strane, zabeleženo je da korelacija geografske bliskosti sa genetičkom sličnošću među populacijama zavisi i od načina razmnožavanja. Naime, kod samooplodnih vrsta kod kojih je genetički diverzitet manji u okviru nego između populacija, i ova korelacija je najčešće manje izražena, odnosno ne postoji (Nosrati i sar., 2012). Niži nivoi genetičkog diverziteta na intrapopulacionom nivou objašnjavaju se i udaljenošću populacija od centra geografskog rasprostranjenja vrste (Wróblewska i Brzosko, 2006). U slučajevima kao što je ovde posmatran, kada se ispituje biljni takson koji karakteriše veliki taksonomski diverzitet, širok spektar reproduktivnih strategija i veliki areal distribucije – svi ovi faktori zajedno rezultuju velikom raznovrsnošću šablona interpopulacione genetičke diferencijacije (Pinheiro i sar., 2012).

Distribucija genetičke varijabilnosti može biti pod uticajem različitih karakteristika; reproduktivna biologija ima posebno značajan efekat (Pinheiro i sar., 2012). Poliploidne vrste

neretko karakteriše produkcija delimično sterilnih gameta, što može voditi nižoj genetičkoj varijabilnosti na unutarpopulacionom nivou (Wróblewska i Brzosko, 2006). Mada u okviru ovog istraživanja nisu rađene kariološke analize, opšte je prihvaćeno stanovište da su taksoni *O. umbellatum* i *O. divergens* poliploidni (3/4/5/6x) predstavnici grupe *O. umbellatum* s.l., za koje su specifične određene morfološke karakteristike kao što je prisustvo adventivnih bulbila (van Raamsdonk, 1984; Moret i sar., 1991; Herrmann, 2002; Martínez-Azorín i sar., 2009). Znatno veći procenat molekularne varijanse između nego u okviru populacija, ustanovljen AMOVA analizom, potencijalno ukazuje na određeni stepen prisustva samooplodnje odnosno vegetativnog načina razmnožavanja (Oliveira i sar., 2010). Postoje jasne indikacije da vegetativna propagacija igra značajnu ulogu kod pojedinih *Ornithogalum* vrsta. Sa jedne strane u prirodnim uslovima retko se javljaju kao pojedinačne biljke već u grupama sa relativno jasnim granicama. Izomorfija, koja takođe može ukazivati na prisustvo vegetativnog načina razmnožavanja, različito je izražena u zavisnosti od populacije, negde su biljke više a negde manje uniformne. U ovom istraživanju, morfološki sličnije su bile jedinke *O. divergens*, nasuprot heterogenijim *O. umbellatum* populacijama. Takođe je poznato da samooplodne vrste imaju više nivoe genetičke diferencijacije između, odnosno niže nivoe diverziteta u okviru populacija, nego genetički varijabilnije stranooplodne biljke (Schoen i Brown, 1991; Nybom i Bartish, 2000; Ma i sar., 2012; Pinheiro i sar., 2012). Sa druge strane, bez obzira na poznato učešće polinatora u oprašivanju cvetova datih vrsta, ako je klonalnost prisutna u određenom stepenu onda će polinacija između klonova dati identične rezultate kao autogamija (Oliveira i sar., 2010). Oliveira i sar. (2010) su, korišćenjem ISSR za utvrđivanje genetičke varijabilnosti i strukture populacija, pokazali da se dominantni DNK markeri mogu koristiti za ispitivanje nivoa klonalnosti u divljim vrstama biljaka. Za biljke za koje su na osnovu pojedinih morfoloških karakteristika zaključili da ih karakteriše visok stepen vegetativne propagacije (i pored prisustva polinacije), pokazali su da se njihove populacije uvek grupišu u zasebne, jasno odvojene klastere.

Pripadnici podroda *Ornithogalum*, naročito pojedini predstavnici *O. umbellatum* kompleksa poseduju adventivne lukovice – bulbile. Poznato je da se biljke *O. divergens* uglavnom karakterišu propagacijom bulbilima, dok se za *O. umbellatum* s.str. smatra da oprašivanje insektima takođe igra značajnu ulogu u njihovom razmnožavanju. Stoga razlike u odnosu udela genetičke varijabilnosti na intra- odnosno interpopulacionom nivou mogu biti u

vezi sa karakteristikama reproduktivnih strategija, uzimajući u obzir varijacije u preferencijama načina razmnožavanja kod različitih infrageneričkih taksona pripadnika *O. umbellatum* kompleksa. Sa druge strane, kod pretežno samooplodnih vrsta nivo genetičke varijabilnosti u okviru populacija može biti u vezi i sa staništem koje naseljavaju. Ukoliko, recimo, populacija zauzima stanište pored puta, ovo je potencijalno znak koji ukazuje na skorašnju kolonizaciju, pojavu korelisanu sa manjim intrapopulacionim diverzitetom (Schoen i Brown, 1991). Upravo su populacije *O. divergens* korišćene u okviru molekularnih analiza u ovom istraživanju uzorkovane samo sa takvih lokaliteta (pored puta, pored njive i sl.), dok je *O. umbellatum* nalažen i u ovakvim, tzv. sekundarnim staništima, ali i u primarnim staništima (šuma, livada). Stoga se populacije sa ovih “prirodnijih” područja mogu smatrati potencijalno “starijim”, pa je njihova veća genetička varijabilnost i očekivana.

Najveće vrednosti Jaccard koeficijenta genetičke sličnosti između populacija zabeleženi su za pojedine populacije *O. umbellatum* sa geografski bliskih lokaliteta u Mađarskoj, ali i za sve populacije *O. divergens* (sa relativno udaljenih lokaliteta). UPGMA i N-J dendrogrami pokazuju podelu na klastere, gde se populacije *O. divergens* izdvajaju od ostalih čineći poseban klaster (Slike 9, 10). PCoA i MDS grafikoni takođe pokazuju određene osobenosti ovih populacija te izdvajanje na osnovu modela varijabilnosti; na njima se može uočiti razdvajanje populacija *O. divergens* obema osama odnosno u obe dimenzije (Slike 11, 12). Bajesova klaster analiza, urađena u cilju determinacije genetičke struktuiranosti među ispitivanim genotipovima *Ornithogalum*, daje rezultate u saglasnosti sa ovima, nedvosmisleno deleći populacije dva ispitivana taksona u dva klastera. Ne samo da su se jedinke u startu jasno grupisale u zasebne klastere shodno pripadajućim populacijama, nego je dalja analiza ukazala da je najverovatniji broj genetičkih klastera koji najbolje objašnjava ispitivanu strukturu upravo dva, te je ovaj pristup omogućio pripajanje svake analizirane jedinke jednoj od dve jasno razdvojene grupe (Slika 13).

Sve klaster analize su pokazale manje ili više izraženo izdvajanje populacija na osnovu taksonomske pripadnosti, ali uglavnom nije došlo do grupisanja odnosno razdvajanja biljaka sa različitih lokaliteta na osnovu geografskog porekla populacija iz kojih su uzorkovane. Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa onima dobijenim Mantel testom i idu u prilog vladajućem stavu da kod vrsta velikog areala distribucije i kompleksne reproduktivne biologije korelacija genetičkog

diverziteta i geografske bliskosti nije jasno definisana (Ma i sar., 2012; Nosrati i sar., 2012; Pinheiro i sar., 2012).

Sagledavši rezultate svih analiza, može se zaključiti da se primena RAPD molekularnih markera pokazala kao pogodna tehnika za utvrđivanje genetičke varijabilnosti i strukture *Ornithogalum*. Na osnovu relativno malog broja prajmera i relativno malih uzoraka korišćenih u ovom radu, dobijen je veliki procenat polimorfizma odnosno utvrđena velika genetička varijabilnost, što ukazuje na visoku rezoluciju korišćene metode (Nosrati i sar., 2012). Molekularni markeri generalno su pogodniji u odnosu na druge tipove markera, jer na njih ne utiču faktori sredine i oni ne zavise od faze razvoja biljke. A u odnosu na druge molekularne tehnike ovde korišćena RAPD zahteva manje količine DNK, jednostavnija je, brža i ekonomičnija (Bardakci, 2001), te se nameće kao idealna metoda, posebno za inicijalnu evaluaciju u uslovima ograničenih resursa. Činjenica je da je ovaj tip analiza sam po sebi nedovoljno pouzdan za jasno razgraničavanje filogenetski blisko srodnih taksona, kao što su *O. divergens* i *O. umbellatum*. Ipak, dobijeni rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima koja su pokazala razdvajanje ovih vrsta na osnovu značajnih morfoloških razlika i različitih nivoa ploidije (Gadella, 1972a; b; Garbari i sar., 2003; 2007; Martínez-Azorín i sar., 2009; 2010). Stoga je pokazano da se RAPD-PCR može koristiti kao pouzdana i brza tehnika pogodna za detekciju genetičke diferencijacije u okviru roda *Ornithogalum*, te kao dopunski metod u rešavanju brojnih problema vezanih za sistematiku i taksonomiju ovih biljaka. Kako se morfologija pripadnika roda *Ornithogalum* smatra neadekvatno povezanom sa varijacijama u kariotipu i ovaj je takson prepoznat kao veoma komplikovan i nezahvalan sa stanovišta sistematike (Merić i sar., 2011), svaki novi podatak od značaja i novi pristupi su dobrodošli. Ovo istraživanje pokazuje da se RAPD može primenjivati kao dodatni diferencijalni karakter u cilju rešavanja postojećih taksonomskih nejasnoća.

Nove informacije vezane za taksonomiju *Ornithogalum* naročito su značajne kada se rade analize ovih biljaka iz nedovoljno istraženih područja, jer je upravo jedan od osnovnih razloga za postojanje nerazjašnjenih problema vezanih za ovaj rod činjenica da izučavanju pojedinih delova autohtonog areala *Ornithogalum* nije posvećeno dovoljno pažnje. Područje na kojem je rađeno ovo istraživanje je od posebne važnosti sa aspekta distribucije ovih taksona. Balkansko poluostrvo i Panonska nizija predstavljaju geografsku vezu između mediteranskih populacija sa

jedne strane i centralno evropskih i zapadno evropskih sa druge. Mediteran se smatra centrom diverziteta, odakle se ova grupa taksona širila, sve do centralne Evrope, gde trenutno zauzima prevashodno antropogena staništa (Ellenberg, 1988; Herrmann, 2002; Martínez-Azorín i sar., 2010). Ispitivani region stoga, na neki način, predstavlja granično područje, u kome je *Ornithogalum* još uvek široko rasprostranjen i mada su populacije relativno malobrojne diverzitet je veliki. Stoga detaljnije analize ove grupe biljaka u regionu, naročito genetičkog diverziteta i strukture njihovih populacija, upotpunjuju dosadašnja saznanja i doprinose razjašnjenju postojeće problematike.

Različiti faktori utiču na genetičku strukturu, od dinamike veličine populacija preko odnosa vegetativne i generativne reprodukcije, do evolucione istorije u smislu hibridizacija i poliploidizacija, a populacije na marginama prirodnog rasprostranjenja naročito su osetljive na ove parametre (Wróblewska i Brzosko, 2006). Jedna od najvažnijih pretnji opstanku mnogih biljnih vrsta u prirodi je “genetička erozija”, koja je posledica mnogih faktora – fragmentacije staništa, izmene uslova sredine, introdukcije alohtonih vrsta (Mucciarelli i sar., 2014). Populacija predstavlja osnovnu jedinicu prilikom očuvanja vrsta i kada se pristupa programima konzervacije ona je najoptimalniji nivo na kome treba utvrditi vrednosti i distribuciju genetičke varijabilnosti, što omogućavaju molekularni markeri poput RAPD (González-Pérez i sar., 2013). Sagledavanje ovih parametara osnova je za razvoj odgovarajućih upravljačkih strategija koje za cilj imaju opstanak vrsta, posebno u slučajevima izolacije populacija i smanjenja njihove veličine, pojava koje potencijalno rezultuju inbridingom i genetičkim driftom (Mendonça i sar., 2014). Mala veličina populacija svakako je faktor koji može voditi manjoj unutarpopulacionoj varijabilnosti (Schoen i Brown, 1991). Oliveira i sar. (2010) naglašavaju da je takođe veoma značajno utvrditi stepen klonalnosti kod određenih biljaka u cilju njihove adekvatne zaštite. Naime, genetički diverzitet zavisi od efektivne veličine populacije, koja je manja od realne veličine jer predstavlja broj reproduktivno aktivnih individua. Stoga iako je broj jedinki velik, one mogu biti genetički uniformne. Na udeo autogamije u reproduktivnoj biologiji vrste treba naročito obratiti pažnju u svetlu evolutivnog potencijala i konzervacije genetičkih resursa, jer samooplodne biljke pokazuju razlike u pogledu genetičke struktuiranosti, kako u pogledu ukupnog diverziteta, tako u stepenu varijabilnosti između populacija (Schoen i Brown, 1991).

Sa druge strane, i reproduktivno razmnožavanje zavisi od različitih spoljašnjih, ekoloških faktora, recimo degradacija staništa može negativno da utiče na dostupnost polinatora (Oliveira i sar., 2010). Kod vrsta koje imaju visok nivo genetičke diferencijacije između populacija, gubitak populacije može prouzrokovati nepovratan gubitak genetičke varijabilnosti; ukoliko su niski indeksi intrapopulacionog genetičkog diverziteta posledica fragmentacije staništa te ograničenog protoka gena između populacija, zaštita staništa predstavlja najbolji put ka konzervaciji (Pinheiro i sar., 2012). Iako se *O. umbellatum* usled razvijenih oblika alternativne vegetativne reprodukcije svrstava u samoodržive biljke relativno otporne na antropogene pritiske, destrukcija habitata predstavlja problem (Mezev-Krichfalushiy i sar., 1989). Ovo naročito važi za *O. divergens* koji pretežno naseljava staništa pod uticajem čoveka (Martínez-Azorín i sar., 2010). Stoga bi i pored činjenice da ove vrste kod nas nisu ugrožene, bilo potrebno pratiti postojeće populacije te evaluirati rizik, posebno sa aspekta njihovog značaja za insekte polinatore i važnosti ovog bio-ekološkog odnosa u svetlu zaštite biodiverziteta. Uopšte uzev, dugoročni opstanak taksona u smislu adaptacija na promene u životnoj sredini, zavisi od genetičke varijabilnosti prirodnih populacija, koja se može proceniti različitim parametrima genetičkog diverziteta i podacima o strukturi (Ma i sar., 2012; Mendonça i sar., 2014; Mucciarelli i sar., 2014).

## 6.2. Anatomski karakteri

### 6.2.1. Varijabilnost anatomskih karaktera lista

Peruzzi i sar. (2007) po prvi put rade komparativnu analizu anatomije lista većeg broja *Ornithogalum* vrsta, da bi se utvrdio potencijalni taksonomski značaj ovih karaktera. Upoređujući anatomiju poprečnih preseka listova 14 taksona ovog roda, iz centralnog Mediterana, pronalaze 13 karaktera koji se značajno razlikuju. Listovi konkretno *O. umbellatum* i *O. divergens* razlikovali su se samo u dva karaktera: ispupčenja na naličju (označena kao “normalna” kod *O. divergens* odnosno “izražena” kod *O. umbellatum*) i osobine definisane kao “strukture nalik kanalićima” (“nekoliko” kod *O. divergens*, “mnoštvo” kod *O. umbellatum*) (Peruzzi i sar., 2007). Iako u okviru ovog istraživanja dati karakteri nisu kao takvi definisani niti



analizirani, moguće je izneti zapažanje da kod listova ispitivanih primeraka *Ornithogalum* navedene razlike nisu ustanovljene.

Kao najznačajniji diskriminativni karakter između dva taksona u ovom radu izdvojila se ukupna površina poprečnog preseka liske, značajno veća kod *O. divergens*. Karakteri lista koji su takođe doprineli razdvajanju su procentualni udeo palisadnog tkiva koji je veći kod *O. umbellatum*, a sunderastog tkiva kod *O. divergens* (Tabela 12). Rezultati statističkih analiza pokazuju da udeli palisadnog i sunderastog tkiva (u odnosu na ukupnu površinu poprečnog preseka liske) najviše doprinose ukupnoj interpopulacionoj varijabilnosti, odnosno da ovi karakteri najviše variraju između populacija različitih lokaliteta, posmatrajući obe grupe (Tabele 14, 15). Ovakav rezultat je očekivan ako se ima u vidu da su ovi anatomske karakteri lista najpodložniji promenama uslova sredine (Tatić i Petković, 1991).

Iako između dva ovde izučavana taksona nisu uočene kvalitativne razlike na nivou anatomije lista, poredeći ovde dobijene zaključke sa zapažanjima drugih istraživanja, može se primetiti da su za listove različitih vrsta roda *Ornithogalum* navedene anatomske karakteristike razlikuju, pre svega kvantitativno, ali i kvalitativno. Konkretno, za listove *O. nutans* i *O. narbonense* svojevremeno je zabeleženo da su epistomatični (stome su samo na licu) (Popova i Anastasov, 1997), dok je za svih 12 vrsta (podrodova *Ornithogalum* i *Beryllis*) izučavanih od strane Öztürk i sar. (2014), uključujući i *O. umbellatum*, pokazano da imaju amfistomatične listove. Prisustvo stoma u nivou epidermisa na gornjoj i donjoj površini liske navodi se i kod različitih vrsta podroda *Myogalum* (Link) Baker (Meriç i sar., 2011; Yilmaz Çitak i sar., 2015). Isto je utvrđeno i kod ovde analiziranih listova *O. umbellatum* i *O. divergens*. U okviru anatomske analize na nivou familije, Lynch i sar. (2006) su zapazili da su kod listova predstavnika roda *Ornithogalum* stome prisutne i na licu i na naličju i da su učestalije adaksijalno, dok u ovom istraživanju nije pokazana ovakva pravilnost; broj stoma je uglavnom sličan, ili su neznatno brojnije na naličju.

Kada je u pitanju hlorenhim, u listovima monokotila često ne postoji diferencijacija (bar ne jasna) na palisadno i sunderasto tkivo (Tatić i Petković, 1991). Popova i Anastasov (1997) uočili su da se mezofil *O. narbonense* sastoji od dva tipa ćelija koje formiraju tipično palisadno i sunderasto tkivo, dok *O. nutans* ima mezofil koga čine tri različita tipa ćelija: izdužene palisadne, ispod kojih su ovalne i ćelije nepravilnog oblika. Meriç i sar. (2011) predstavljaju

mezofil *O. nutans* kao tanak, unifacijalan i sačinjen od monotipskih ćelija hlorenhima bez lakuna između, a mezofil *O. boucheanum* kao deblji, ekvifacijalan, diferenciran na palisadno (prisutno na licu i naličju) i sunderasto tkivo, sa krupnim lakunama između provodnih snopića i ćelija sunderastog tkiva. Yilmaz Çitak i sar. (2015) pokazali su da se hlorenhim *O. chetikianum* sastoji od dva različita tipa parenhimskih ćelija – cilindrične i ovalne, a kod *O. demirizianum* prisutne su samo cilindrične, u jednom sloju, ispod epidermisa lica i naličja. Lakune su prisutne kod obe vrste, ali su veće kod *O. chetikianum*. Öztürk i sar. (2014) ukazuju na prisustvo lakuna kod svih ispitivanih vrsta podrodova *Ornithogalum* i *Beryllis*, ali one kod *O. umbellatum* svrstavaju u manje.

Listovi *O. umbellatum* i *O. divergens* izučavani u ovom radu, slično *O. narbonense* (Popova i Anastasov, 1997), *O. boucheanum* (Merić i sar., 2011) i brojnim vrstama podrodova *Ornithogalum* i *Beryllis* (Öztürk i sar., 2014), imaju hlorenhim diferenciran na palisadno i sunderasto tkivo. Ćelije palisadnog tkiva izdužene su i manje–više upravno postavljene na površinu lista, sa uskim intercelularima i velikim brojem hloroplasta duž bočnih zidova, dok su ćelije sunderastog tkiva ovalnog do nepravilnog oblika sa razvijenijim intercelularima i manjim brojem hloroplasta. Ovako tipična građa ćelija hlorenhima ukazuje na to da je palisadno tkivo više u funkciji fotosinteze dok je sunderasto tkivo više u vezi sa procesom razmene gasova (Tatić i Petković, 1991). U okviru sunderastog tkiva javljaju se jasno definisane velike lakune. Palisadno tkivo je jednoslojno i prisutno kako na licu tako i na naličju kod listova analiziranih u ovom istraživanju, što je i ranije pokazano za predstavnike podroda *Ornithogalum*, uključujući *O. umbellatum*, ali ne i za sve ostale vrste; dok su pripadnici *Beryllis* po pravilu imali samo abaksijalni sloj palisadnog tkiva (Öztürk i sar., 2014). Popova i Anastasov (1997) su utvrdili da se gornji i donji epidermis stapaju marginalno na ivici liske kod *O. narbonense*, što smatraju tipičnom karakteristikom za tu vrstu. Kod *O. umbellatum* i *O. divergens* ovde analiziranih, ćelije epidermisa lica i naličja ostaju jasno razdvojene palisadnim tkivom do same ivice, slično kao kod *O. nutans* (Popova i Anastasov, 1997). Što se tiče provodnih snopića, kod većine predstavnika podfamilije *Ornithogaloideae* raspoređeni su u dva reda pri čemu se veći smenjuju manjim (Lynch i sar., 2006), što je pokazano i ovde. Takođe veći provodni snopići su u centralnom delu, a manji čine abaksijalni red, što je pravilnost primećena i kod drugih vrsta (Merić i sar., 2011;

Öztürk i sar., 2014), sem kod *O. demirizianum* kod koga su sitniji provodni snopići raspoređeni i u gornjem redu, adaksijalno (Yilmaz Çitak i sar., 2015).

### 6.2.2. Varijabilnost anatomskih karaktera skapusa

Kod vrsta ovde analiziranih, kao i kod drugih pripadnika roda *Ornithogalum* čija je građa skapusa ispitivana (Meriç i sar., 2011; Öztürk i sar., 2014; Yilmaz Çitak i sar., 2015), zapaženi su jasno izraženi parenhim centralnog cilindra i korteks, razgraničeni sklerenhimom. Poređenjem poprečnih preseka skapusa vrsta istog podroda *Myogalum*, *O. boucheanum* i *O. nutans*, nisu zapažene značajne razlike, osim u ukupnoj površini preseka i broju provodnih snopića (Meriç i sar., 2011). Analizirajući pripadnike istog podroda Yilmaz Çitak i sar. (2015) beleže razliku u broju slojeva ćelija korteksa i sklerenhima, te ih navode kao potencijalne taksonomske karaktere za razlikovanje vrsta. Naime, *O. chetikianum* ima najviše, 4-5 slojeva korteksa, a *O. demirizianum* najmanje, 2-3 (kao i *O. boucheanum*). Ovu vrstu od ostalih razlikuju i lakune, uočljive među parenhimskim ćelijama korteksa. *O. nutans* ima 3-4 sloja ćelija primarne kore. U ovom radu razlika u pogledu datog karaktera ne postoji između *O. umbellatum* i *O. divergens* (iznosi 4-5 kod oba). Kada je u pitanju sklerenhim, *O. boucheanum*, *O. nutans* i *O. chetikianum* imaju 3-4 sloja ćelija u ovom regionu, dok *O. demirizianum* ima 2-3 reda ćelija tkiva sklerenhima (Meriç i sar., 2011; Yilmaz Çitak i sar., 2015). Biljke *O. umbellatum* i *O. divergens* se ni u ovom karakteru ne razlikuju međusobno, ali u proseku imaju manje ovih slojeva nego prethodno navedene vrste, 1-3. Öztürk i sar. (2014) zabeležili su da *O. umbellatum* ima 3-4 sloja sklerenhima, odnosno 5-6 slojeva korteksa, pri čemu ga oba karaktera svrstavaju u prosek kada su u pitanju ostali pripadnici podroda *Ornithogalum* koje su ispitivali.

Kao potencijalno značajan taksonomski karakter navodi se i razlika u broju provodnih snopića (Meriç i sar., 2011; Yilmaz Çitak i sar., 2015), koja je uočena u ovom radu za velike provodne snopiće u središtu parenhima centralnog cilindra. Naime njihov broj je veći kod *O. divergens* nego kod *O. umbellatum*, ali je takođe zapaženo da ovaj broj raste sa ukupnom površinom poprečnog preseka, koja je generalno veća kod *O. divergens*. Broj provodnih snopića i dijametar skapusa navode se kao najznačajniji karakteri korisni za razlikovanje na nivou podroda i u komparativnoj analizi predstavnika *Ornithogalum* i *Beryllis* (Öztürk i sar., 2014). Ustanovili su da vrste podroda *Beryllis* u proseku imaju veći skapus od vrsta podroda

*Ornithogalum*, ali je pojedinačno gledano upravo *O. umbellatum* imao najveći dijametar, od svih 12 posmatranih taksona. Ipak, ovi autori ne pronalaze značajnu varijabilnost na interspecijskom nivou. Ni u ovom istraživanju diskriminantna analiza nije izdvojila ove karaktere kao značajne za razdvajanje dva ispitivana taksona (Tabela 15).

Analizama u okviru ovog istraživanja nisu pronađene kvalitativne razlike između *O. umbellatum* i *O. divergens* kada su osobine skapusa u pitanju. Što se kvantitativnih karaktera tiče, *O. umbellatum* ima manju ukupnu površinu poprečnog preseka u odnosu na *O. divergens*. Kada su u pitanju procentualni udeli pojedinih regiona, *O. umbellatum* ima bolje razvijen sklerenhim i provodno tkivo, dok *O. divergens* karakteriše veći udeo parenhima u ukupnoj površini (Tabela 12). Statističke analize ukazuju da je ukupna površina poprečnog preseka bila karakter koji je najviše varirao između populacija različitih lokaliteta (kada se posmatraju obe grupe). Kao najvarijabilnije osobine na interpopulacionom nivou slede procentualni udeo epidermisa i udeo regiona primarne kore odnosno centralnog cilindra u ukupnoj površini (Tabele 13, 14). Varijabilnost među populacijama različitih lokaliteta najizraženija je za karaktere perifernih tkiva skapusa, što je i očekivano s obzirom da su ona najizloženi uticajima spoljašnje sredine.

### 6.2.3. Varijabilnost anatomskih karaktera plodnika

Ne postoje publikacije koje se bave analizom varijabilnosti karaktera plodnika *Ornithogalum* na anatomskom nivou. Zapravo, literaturni podaci na temu ovih osobina sa ovog aspekta uopšte nisu dostupni za ovaj takson. Stoga, sa jedne strane, ovde prikazane osobine mogu predstavljati značajan doprinos upoznavanju datih struktura u cvetovima *Ornithogalum*. Sa druge strane, a iz istog razloga, komparacija ovde uočenih karaktera sa onim kod drugih vrsta odnosno pripadnika drugih podrodova ovog roda, nije moguća.

Značajnije kvalitativne razlike između poprečnih preseka plodnika *O. umbellatum* i *O. divergens* nisu uočene u ovom istraživanju. Pojedine osobine neznatno se razlikuju, ali ne između grupa već od jedinke do jedinke, bez naročitih pravilnosti u smislu većih razlika kod biljaka sa različitih lokaliteta ili među dva analizirana taksona. Kvantitativni karakter ovde predstavljen, udubljenje oplodnog listića plodnika – procenat dubine u odnosu na ceo poluprečnik, nije pokazao statistički značajnu varijabilnost na interpopulacionom nivou, niti

razdvajanje *O. umbellatum* i *O. divergens* grupa. Svaki oplodni listić ima dva ispupčena rebra odnosno udubljenje na površini u centralnom delu čija dubina je četvrtina do petina ukupnog poluprečnika plodnika. Za analizu je odabran upravo ovaj karakter jer postoje naznake u literaturi (Cullen i Ratter, 1967; Martínez-Azorín i sar., 2010) da se neke vrste roda *Ornithogalum* razlikuju po osobinama ploda vezanim za oblik rebara, naime da li su više u parovima ili podjednako udaljena, odnosno kolika je dubina brazde/ulegnuća između njih. Iz tog razloga ovde se ispitivalo potencijalno prisustvo slične varijabilnosti plodnika, ipak ono nije utvrđeno, bar ne u slučaju ovde istraživanih taksona.

#### 6.2.4. Potencijalni taksonomski značaj anatomskih karaktera lista, skapusa i plodnika

S obzirom na činjenicu da se veoma mali broj publikacija bavi anatomijom vrsta roda *Ornithogalum* (Popova i Anastasov, 1997; Peruzzi i sar., 2007; Meriç i sar., 2011; Öztürk i sar., 2014; Yilmaz Çitak i sar., 2015), ovakav tip istraživanja značajan je kao nadogradnja na prethodne i osnova za buduće studije. Ovaj pristup od posebne je važnosti kada su u pitanju problematični taksoni; međutim, postoje različita mišljenja o njegovom potencijalnom taksonomskom značaju. Peruzzi i sar. (2007), baveći se anatomskim karakteristikama lista na nivou roda *Ornithogalum*, zaključili su da one mogu biti korisne za grupisanje sličnih vrsta, dok najčešće nisu dovoljne za karakterizaciju svakog taksona pojedinačno, te su najznačajnije kao dopuna drugim vrstama analiza. Izučavajući anatomiju lista i skapusa pripadnika dva različita podroda, *Ornithogalum* i *Beryllis*, Öztürk i sar. (2014) došli su do sličnog zaključka, u smislu činjenice da je većina potencijalno diferencijalnih karaktera ustanovljena za nivo podroda, dok je na interspecijskom nivou uočeno manje značajnih razlikovanja.

Na osnovu statističkih analiza u ovom radu može se zaključiti da većina ispitivanih anatomskih karaktera lista i skapusa pokazuje značajne razlike između analiziranih populacija, za razliku od osobina plodnika koje nisu doprinele razdvajanju. Neznatne varijacije postoje i u okviru populacija, ali uočljivo manje nego na interpopulacionom nivou. U svakom slučaju radi se o kvantitativnim, ne i o kvalitativnim osobinama. Na osnovu rezultata analiza PCA i MDA, a uzevši u obzir različite karakteristike lista i skapusa, deset populacija može se klasifikovati u dve grupe: jedna obuhvata biljke prethodno determinisane kao *O. divergens*, a drugu čine populacije *O. umbellatum* (Slike 18, 19). T-test je pokazao značajne razlike između dva taksona za većinu

analiziranih karaktera (Tabela 12). Svi rezultati koji ukazuju na razdvajanje ovih grupa u saglasnosti su sa istraživanjima morfoloških karaktera i nivoa ploidije (Garbari i sar., 2003; 2007; Martínez-Azorín i sar., 2009; 2010). Ipak, sama analiza anatomskih karaktera ne može se koristiti za razdvajanje ovih morfološki sličnih taksona, usled činjenice da su samo kvantitativne a ne i kvalitativne razlike zabeležene između njih. I pored toga što nisu dovoljni za karakterizaciju vrsta pojedinačno, ovi bi parametri mogli biti koristan dodatak drugim tipovima analiza prilikom rešavanja taksonomskih problema. Anatomske karaktere su u ovom istraživanju omogućili uspešno grupisanje sličnih populacija, ali ipak su ostali nedovoljno pouzdani za precizno razgraničavanje *O. divergens* od *O. umbellatum*.

Ovakav je zaključak i očekivan, s obzirom da se radi o filogenetski veoma bliskim taksonima, ali i usled činjenice da naseljavaju, odnosno vode poreklo iz staništa sličnih uslova, te su se mnoge od ispitivanih osobina, a koje se diferenciraju kao odgovor na određene ekološke faktore, razvijale u istom smeru. Taksoni o kojima je ovde reč spadaju u grupu tzv. prolećnih geofita. Ovom ekofiziološkom tipu pripadaju biljke koje završavaju svoj nadzemni razvoj u (često kratkotrajnom) periodu dovoljne vlažnosti (Larcher, 2003). Ove perene ostatak godine provode u vidu lukovica – podzemnih organa za skladištenje vode i ugljenih hidrata. Ovakva fenološka plastičnost predstavlja vid adaptacije ovih kserofita na uslove aridnih predela iz kojih vode poreklo. Spadaju u biljke neotporne (osetljive) na sušu, po tipu više hidrostabilne. Ovo znači da su fluktuacije u sadržaju vode (pre svega u listovima) neznatne; listovi su uski i uvijeni i biljke ih gube (oni se brzo suše i opadaju) pre nego što nastanu veći vodni deficiti. Upravo efemerna priroda listova objašnjava nepostojanje klasične sukulentnosti i drugih adaptacija kao što su recimo uvučene stome znano brojnije na naličju, što kod ovde analiziranih taksona nije pokazano kao izražena osobina.

Kako uglavnom zauzimaju osunčana staništa, karakterišu ih adaptacije na pojačanu insolaciju. Najčešće su modifikativne odnosno vezane za fenotipsku plastičnost, predstavljene ireverzibilnim strukturnim diferencijacijama u cilju prilagođavanja prosečnim uslovima sredine tokom morfogeneze (Larcher, 2003). Pre svega se ovo odnosi na karakteristike listova, kao što je deblji višeslojni mezofil, prvenstveno deblji palisad (prisutan ispod epidermisa i lica i naličja) sa izduženim zbijenim ćelijama bogatim hloroplastima raspoređenim uz ćelijske zidove. Takođe je razvijena kutikula i nešto su deblji spoljašnji zidovi epidermisa. Veća sposobnost prilagođavanja

na intenzivniju sunčevu radijaciju, odnosno sklonost ka razvijanju ovakvih karakteristika, reflektuje genotipsku plastičnost odnosno evolutivne adaptacije taksona generalno vezanih za staništa sa ovakvim uslovima sredine (Larcher, 2003).

### 6.2.5. Tipovi kristala i potencijalni značaj i poreklo sluzi

Postoji širok spektar varijacija tipova kristala u okviru predstavnika familije Hyacinthaceae. Smatra se da su prisustvo, morfologija i distribucija kristala kalcijum oksalata važne osobine biljaka (Franceschi i Nakata, 2005), te se specifičnost i konstantnost njihovih tipova može smatrati potencijalno značajnim taksonomskim karakterom, naročito kod različitih grupa monokotila (Prychid i Rudall, 1999). Varijabilnost oblika kristala čini se ponavlja se kroz generacije, ilustrujući postojanost genetičkih i fizioloških parametara koji ih kontrolišu, a u okviru familije Hyacinthaceae postoji konstantno prisustvo rafida (Prychid i Rudall, 1999). Još je Chiappini (1962) zabeležio rafide u parenhimu lista *O. caudatum*. Lynch i sar. (2006) su u listovima pored rafida pronašli i pojedinačne stiloide, za koje smatraju da su dijagnostički karakter pojedinih familija. Takođe su zabeležili i prelazne forme između stiloida i rafida, kao i kristalne druze. Kod *O. nutans* i *O. boucheanum* primećeni su samo rafidi, uronjeni u mukus parenhimskih ćelija lista (Meriç i sar., 2011). Yilmaz Çitak i sar. (2015) beleže ovalne ćelije sa rafidima u mezofilu lista *O. chetikianum*, ali ne i kod *O. demirizianum*. U ovom istraživanju uočeno je prisustvo igličastih kristala kod *O. umbellatum* i *O. divergens*, pojedinačnih kao i u grupama od po nekoliko. Nalaze se u pojedinim parenhimskim ćelijama lista i verovatno predstavljaju prelazne forme između stiloida i rafida, već pomenute kod srodnih taksona (Prychid i Rudall, 1999; Lynch i sar., 2006). Zabeleženo je da se rafidi i stiloidi često ne javljaju istovremeno, ali ako su oba ova tipa kristala prisutna onda su tu i intermedijarne forme, sa dva – tri kristala po ćeliji (Prychid i Rudall, 1999).

Kada su u pitanju kristali u skapusu, kod *O. nutans* i *O. boucheanum* primećeni su rafidi uronjeni u mukus parenhimskih ćelija (Meriç i sar., 2011). Yilmaz Çitak i sar. (2015) beleže malobrojne kristale u parenhimskim ćelijama korteksa vrsta *O. chetikianum* i *O. demirizianum*. U ovom istraživanju zapaženo je sporadično prisustvo igličastih kristala u pojedinim parenhimskim ćelijama kore skapusa *O. umbellatum* i *O. divergens*. Javljaju se pojedinačno ili u malim grupama.

Što se tiče plodnika, u njima je uočeno prisustvo mnogobrojnih sluzno-kristalnih idioblasta. Primećeni su tipični rafidi, snopići igličastih kristala uronjeni u elipsoidne ćelije veće od okolnih. Nađeni su u plodniku *O. umbellatum* i *O. divergens*, u velikom broju u okviru mezofila zida u perifernom delu oplodnih listića, kao i u dršci semenog zametka. U parenhimu cvetnog regiona *O. caudatum* zapažene su specijalizovane ćelije koje sadrže kristale kalcijum oksalata, konkretno rafidi u gineceumu (Chiappini, 1962; Tilton i Lersten, 1981).

Predstavnike roda *Ornithogalum* karakteriše prisustvo sluzi u svim biljnim organima, ali su njeno poreklo, način nastanka, tačan sastav i funkcija u biljci, nedovoljno istraženi. Sluzi mogu proizvoditi različite sekretorne strukture, od intercelularnih šupljina, preko specijalizovanih pojedinačnih ćelija, do ćelija koje oblažu kompleksne kanale (Fahn, 1988). Potencijalni izvori sluzi, pored lakuna (Lynch i sar., 2006), vrlo verovatno su pojedinačne ćelije tzv. sluzno-kristalni idioblasti (sluz akumulirana oko prethodno formiranih rafida) i/ili prelazni oblici između idioblasta i sekretornih cevi (razgradnjom ivičnih zidova idioblasta nastale izdužene povezane ćelije koje sadrže manje grupe kristala zaronjene u sluz). Intracelularno prisustvo sluzi zabeleženo je i kod srodnih lukovičastih vrsta (Malviya i sar., 2011), ipak ne postoje eksperimentalni dokazi koji objašnjavaju tačnu ulogu datih sekretornih struktura. Potencijalna funkcija sluzi zavisi od mesta pojavljivanja u biljci i hemijskog sastava i drugih osobina. Može služiti kao energetska rezervoar, a zbog visokog kapaciteta vezivanja vode doprinosi otpornosti biljke na sušu (Larcher, 2003). Kako predstavnici roda *Ornithogalum* vode poreklo iz sušnih predela, predstavljaju životnu formu geofita za koje je poznata strategija opstanka upravo skladištenje vode i ugljenih hidrata i to pre svega u podzemnim organima. Jedna od funkcija sekretornih struktura koje sadrže sluz u ma kom delu biljke svakako je i depozicija metaboličkog otpada potencijalno toksičnog za same biljke, ali i za životinje koje se njima hrane, te je osnovna uloga ekološka i to zaštita od herbivora. U ovakve sekundarne metabolite spadaju i glikozidi (naročito kardenolidi) i alkaloidi, čije je postojanje ustanovljeno kod nekih predstavnika. Prisustvo ovih jedinjenja, kao i drugih komponenti sa terapijskim potencijalom, čini ovaj takson značajnim sa aspekta primene u medicini (Mulholland i sar., 2004; 2013; Chen i sar., 2010; 2012), kao i činjenica da postoji potreba za iznalaženjem novih biljaka kao izvora sluzi koje se koriste za različite namene u farmaceutskoj industriji (Malviya i sar., 2011). Stoga



su poreklo, sastav i druge karakteristike sluzi taksona *Ornithogalum*, svakako značajni i usled potencijalne komercijalne vrednosti.

### 6.3. Morfološki karakteri

Na osnovu brojnih istraživanja može se zaključiti da se nijedna grupa morfoloških karaktera pojedinačno posmatrano nije pokazala dovoljno pouzdanom za taksonomska razgraničavanja u okviru Hyacinthaceae; ovo važi čak i za kariološke karaktere (Pfosser i Speta, 1999). Stoga je neophodno prikupiti sve postojeće podatke i uključiti različite pristupe kada je analiza ove familije u pitanju. Ovo naročito važi za Ornithogaloideae, a od svih rodova ove podfamilije *Ornithogalum* je poznat kao morfološki najslabije definisan i izrazito heterogen, dok u okviru roda podrod *Ornithogalum* tradicionalno prate najveći taksonomski problemi. Za taksone ovog podroda karakteristična je izuzetna morfološka plastičnost sa mnogim karakterima nejasno razdvojenim, čime se između ostalog i objašnjava konfuzija u taksonomiji (Martínez-Azorín, 2008).

Kada su uz pomoć PCA obrađeni svi analizirani morfološki karakteri, zaključeno je da su ukupnoj varijabilnosti između populacija najviše doprineli parametri cveta i cvasti (Tabela 16). Naime, set karaktera koji determiniše varijabilnost po prvoj osi analize glavnih komponenata čine karakteri cveta i to pre svega osobine listića perigona, a po drugoj osi dimenzije cvasti i dužine cvetnih drški. U slučaju odvojenih PCA za dva ispitivana taksona, kod oba su se najvećim učešćem u prvoj komponenti izdvojili dužina spoljašnjih listića perigona i širina zelene pruge na njima, a u drugoj – dimenzije cvasti i cvetnih drški (Tabele 18, 19). Iako su karakteri generativnog regiona manje podložni uticajima spoljašnje sredine, izdvojili su se kao najvarijabilniji među populacijama različitih lokaliteta. Slični rezultati dobijeni su u ranijim istraživanjima ove grupe taksona (van Raamsdonk i Heringa, 1987; Moret i sar., 1991; Martínez-Azorín i sar., 2010). Veća varijabilnost karaktera cveta i cvasti je ustanovljena na interpopulacionom, ali se može uočiti i na intrapopulacionom nivou. Razlog bi mogla biti činjenica da nisu sve biljke u trenutku uzorkovanja bile potpuno iste starosti, a ovi karakteri se značajnije menjaju i sa manjom razlikom stupnja u ciklusu razvića. Štaviše, zreliji cvetovi u donjem delu cvasti drugačiji su od mlađih u gornjem delu cvasti iste biljke, te ne čudi što oblik,

dimenzije i ostali parametri regiona cveta i cvasti variraju u okviru i između populacija analiziranih taksona. Stoga značaj ovih karaktera nije univerzalan, odnosno oni mogu biti korisni samo kao potencijalno diferencijalni za razdvajanje određenih taksona (Martínez-Azorín i sar., 2010).

Kod *O. umbellatum* varijabilnost po prvoj PCA osi determinišu i ostale dimenzije listića perigona i dužine unutrašnjeg prašnikovog konca i prašnice (Tabela 18). Sa druge strane, karakteri sa značajno velikim vrednostima PCA (učestvom u prvoj komponenti) kod *O. divergens* bili su širine lukovice i lista, kao i širina zelene pruge unutrašnjih listića perigona i dužina plodnika (Tabela 19). Kada su, uz pomoć PCA, tri grupe karaktera obrađene odvojeno, u okviru parametara cveta i cvasti dobijeni su slični rezultati, a kod vegetativnih karaktera izdvojile su se dimenzije lukovica i listova kao osobine koje najviše doprinose ukupnoj varijabilnosti (Tabela 17).

Analizirajući *O. umbellatum* kompleks u Francuskoj, uz pomoć PCA sličnog seta morfoloških karaktera (ne uzimajući u obzir osobine lukovice), Moret i sar. (1991) kao karaktere koji najviše doprinose varijabilnosti izdvajaju takođe pojedine parametre cveta za prvu osu, a za drugu osobine cvasti, ali i broj i širinu listova. Van Raamsdonk i Heringa (1987) analizom glavnih komponenata takođe pokazuju da su među karakterima koji u najvećoj meri determinišu varijabilnost na nivou populacija u okviru ove grupe biljaka – dužine listića perigona i cvetnih drški, kao i dimenzije lukovica i listova.

Grafikon pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve dve ose analize glavnih komponenata, za sve parametre za sve populacije (Slika 20), u ovom istraživanju nije se pokazao kao informativan, jer nije moguće definisati odgovarajuće sličnosti na osnovu varijabilnosti analiziranih parametara. Isto važi i za PCA kojima su obrađene odvojeno različite grupe karaktera, odnosno dva ispitivana taksona (grafikoni nisu prikazani). Jedinke istih populacija pokazuju određene sličnosti u varijabilnosti analiziranih morfoloških karaktera, ali su se populacije različitih lokaliteta pokazale kao veoma heterogene sa nedovoljno izraženim osobenostima prema obliku i obimu varijabilnosti.

Značaj pojedinih biometrijskih karakteristika u varijabilnosti i diskriminaciji uzorka po grupama, ispitan je uz pomoć MDA (Tabela 20). Ova analiza pokazuje da se veoma mali broj karaktera, svega pet, izdvaja kao značajan za diferencijaciju populacija odnosno grupa

populacija. Razlikovanju ispitivanih populacija najviše doprinose karakteristike lukovica, a zatim dužine najniže cvetne drške i odgovarajuće brakteje; slični rezultati se dobiju i kada se grupe karaktera analiziraju odvojeno (Tabela 21). Grafikon pozicije analiziranih populacija u prostoru diskriminantnih osa (Slika 21) nije pokazao uočljiva razdvajanja po osama, odnosno grupisanja. Neke populacije jesu nešto udaljenije od ostalih, na primer TI i RS (koje su se donekle izdvojile i kod PCA), ipak nema jasnih pravilnosti. Diskriminacija ispitivanih populacija predstavljena je i uz pomoć fenograma (Slika 22), na kome se takođe uočava nemogućnost definisanja jedinstvenog obrasca varijabilnosti morfoloških karaktera na interpopulacionom nivou, kao ni između dva analizirana taksona. I ovde se napre odvajaju populacije TI i RS za koje je i prethodnim analizama pokazano da se prema određenim morfološkim karakteristikama značajnije razlikuju od ostalih ispitivanih populacija. Velika plastičnost morfoloških karaktera među kojima su mnogi nejasno razdvojeni odlikuje ceo podrod *Ornithogalum*, a naročito je uočljiva kod filogenetski veoma bliskih taksona poput ovde ispitivanih, te potencijalno uslovljava ovakve rezultate koji ukazuju upravo na veoma slične obrasce varijabilnosti *O. umbellatum* i *O. divergens*.

Testom *a priori* klasifikacije kroz predviđenu (*a posteriori*) grupnu pripadnost, na osnovu Mahalanobisovih distanci, ustanovljena je relativno visoka tačnost raspodele jedinki po grupama (Prilog: Tabela IV). Uspešnost klasifikacije izražena u procentima iznosila je 94,54% na interpopulacionom nivou, odnosno 86,97% na nivou taksona, na osnovu diskriminantne analize ispitivanog seta morfoloških karaktera. Za većinu populacija utvrđena je apsolutna tačnost raspodele jedinki po grupama, a pokazane pojedinačne pogrešne klasifikacije potencijalno ukazuju na propuste prilikom uzorkovanja (nedovoljno veliki uzorak i sl.). Takođe, zajednički obrasci varijabilnosti *O. umbellatum* i *O. divergens* i ovde su mogli biti uzrok ustanovljenih pogreški u raspodeli po grupama, kada su dva taksona u pitanju.

Posmatrajući pozicije jedinki srodnih vrsta podroda *Ornithogalum* u Španiji (uključujući i *O. divergens*) u prostoru prve i druge ose analize glavnih komponenata, Martínez-Azorín i sar. (2010) takođe ne dobijaju jasnu sliku osobenosti grupa na osnovu varijabilnosti sličnog seta morfoloških karaktera. Kao varijable koje su najvišim vrednostima učestvovala u prvoj komponenti i u njihovom istraživanju, kao i u ovom, izdvojili su se karakteri cveta i to u najvećoj meri dimenzije listića perigona. Izdvajanjem najvarijabilnijih parametara te sprovođenjem

diskriminantne analize, ovi autori ipak dolaze do znatno uočljivije segregacije među grupama (Martínez-Azorín i sar., 2010). Razlog uspešnijem razdvajanju mogao bi biti i uključivanje u analizu pojedinih karaktera koji su nedvosmisleno izdvojili određene taksone; recimo “broj sekundarnih bulbila” računat je kao jedna od varijabli, a samo je *O. divergens* od svih ispitivanih taksona posedovao ovaj karakter (kod ostalih je vrednost uvek bila 0), te je izdvajanje ove grupe bilo očekivano. Slično je i sa istraživanjem Coskuncelebi i sar. (2002) koji ispitujući srodne vrste podroda *Ornithogalum* u Turskoj (uključujući i *O. umbellatum*) dobijaju sasvim uočljive obrasce varijabilnosti već na osnovu prve PCA. Međutim, karakteri korišćeni za analize u tom radu u startu su značajno diskriminativniji – beleženi su prisustvo ili odsustvo: bele linije na listu, trihoma na skapusu, listova za vreme cvetanja i td. Taksoni analizirani u ovom istraživanju generalno su znatno morfološki sličniji i filogenetski bliskiji nego što je to bio slučaj u gorenavedenim radovima (Coskuncelebi i sar., 2002; Martínez-Azorín i sar., 2010), pa je manje definisana segregacija bila i očekivana. Takođe, *O. umbellatum* usled velike varijabilnosti svojih morfoloških karaktera dodatno otežava dobijanje jasnije slike.

Van Raamsdonk i Heringa (1987) dobili su donekle pregledniju sliku razdvajanja vrsta prema modelu varijabilnosti morfoloških karaktera, radeći analizu glavnih komponenata u okviru *O. umbellatum* s.l., ali su pored upadljivo diskriminativnih osobina kao što su broj malih sferičnih odnosno izduženih ušiljenih bulbila, uključili i parametre životnog ciklusa biljaka kao što su početak i dužina vegetativnog perioda odnosno cvetanja. Ipak, i ovi autori zapažaju da se tri/tetra/penta/heksaploidi nisu najjasnije razdvojili, te potvrđuju veoma veliku morfološku varijabilnost u okviru taksona ovde definisanih kao *O. umbellatum* i *O. divergens*.

Prisustvo različitih morfi u okviru populacija istog citotipa (Moret, 1992), te izuzetna morfološka raznolikost *O. umbellatum* navodi se i u Flori Evrope, gde su oblik lukovice, dužina cvetnih drški i širina listova zabeleženi kao neki od osnovnih karaktera koji doprinose varijabilnosti (Zahariadi, 1980), što je pokazano i u okviru ovog istraživanja. Sa druge strane, pojedine morfološke osobine značajne za takson *O. umbellatum* često nisu korišćene u analizama iz razloga nemogućnosti njihovog očuvanja u herbarskom materijalu. Kao jedan od osnovnih karaktera za razlikovanje vrsta u okviru podroda *Ornithogalum* (*Heliochondra* Baker, Cullen i Ratter, 1967) navodi se morfologija ploda, naime ispupčenost rebara odnosno dubina ulegnuća, kao i da li su rebra čaure u parovima ili podjednako udaljena. Kao karakteristične za *O.*

*umbellatum*, pored ovih osobina, ističu se i položaj cvetnih drški koje nose plod, kao i osobine bulbila (Cullen i Ratter, 1967), takođe često nemerljivi parametri, usled nedostatka ili nedovoljne očuvanosti na primercima u herbarijumima.

Koeficijenti varijacije, kao mere varijabilnosti morfoloških karaktera, ukazuju na određene pravilnosti u njihovom variranju, i pored prisutne nesrazmernosti u stepenu variranja koja se uočava za pojedine karaktere (Prilog). Parametri cveta i ploda našli su se u zoni niske varijabilnosti, što je i očekivano za najčešće konzervativne karaktere generativnog regiona, naročito kada su u pitanju parametri organa za razmnožavanje. Niža do umerena varijabilnost uočena je za karaktere vegetativnog regiona analizirane u okviru ovog istraživanja. Najvišom varijabilnošću odlikuju se karakteri regiona cvasti i to pre svega dimenzije cvasti, što je u vezi sa diverzitetom oblika cvasti ovih taksona, ali je potencijalno i posledica činjenice da su uzorkovane biljke različitog stupnja razvića (Martínez-Azorín i sar., 2010).

Analiza varijanse (ANOVA) ukazuje na statistički značajne razlike ( $p < 0,05$ ) u varijabilnosti ispitivanih populacija za sve kvantitativne karaktere, ali se većina analiziranih karaktera ne odlikuje izraženom F-vrednošću (Prilog). Stoga ova analiza nije izdvojila karaktere značajne za diferencijaciju na interpopulacionom nivou.

Kada se odvojeno i uporedno posmatraju populacije koje pripadaju *O. divergens* u odnosu na *O. umbellatum*, iako je T-test pokazao značajne razlike između dva taksona za veliku većinu analiziranih karaktera (Tabela 22), posmatrajući pozicije jedinki u prostoru osa analize glavnih komponenata nije moguće jasno definisati odgovarajuće sličnosti prema obliku varijabilnosti datih karaktera, a ni MDA ne pokazuje jasnu diskriminaciju grupa. Ova neslaganja mogla bi se objasniti izuzetno velikom varijabilnošću, na koju ukazuju i neuobičajeno visoke vrednosti koeficijenata varijacije koje su dobijene za veliki broj karaktera u obe grupe (Tabela 22). Ne treba zaboraviti ni činjenicu da parametri koji se koriste kao osnovni prilikom razlikovanja ovih taksona, iz praktičnih razloga nisu bili deo ovih statističkih analiza. Naime, ove osobine su identifikovane prilikom uzorkovanja, ali kao adekvatno merljive nisu mogle biti sačuvane u okviru herbarskog materijala; ovde se pre svega misli na osobine bulbila.

Biljke uzorkovane za potrebe ovog istraživanja *a priori* su identifikovane, na osnovu morfoloških karaktera, te determinisane kao *O. divergens* odnosno *O. umbellatum* s.str. Kao najznačajniji parametar za razlikovanje ovih taksona korišćen je tip bulbila, karakteristika

ustanovljena na terenu, prilikom sakupljanja. Naime, biljke koje su bile okružene mnoštvom listova za koje se iskopavanjem ispostavilo da su poreklom od bočnih lukovica, smatrane su za *O. umbellatum* s.str. Ove su se bočne lukovice razlikovale po veličini i obliku, ali su češće bile malobrojnije, krupnije i izduženije (Slika 23). Sa druge strane, ukoliko su prilikom iskopavanja osnovne lukovice pronađeni veoma brojni bulbili koji je okružuju, sitniji, skoro loptasti i neolistali, ove biljke su identifikovane kao *O. divergens*. Ovi se mnogobrojni bulbili rasipaju pri vađenju biljke, jer su za lukovicu vezani veoma kratkim, tankim i nežnim drščicama, stoga ih je teško izbrojati i gotovo nemoguće zajedno sa biljkom uzorkovati, te pohraniti u herbaru za dalje analize (Slika 24). Dodatna otežavajuća okolnost je činjenica da su ovi karakteri bulbila značajni za razdvajanje taksona delom kvalitativni (kakvog su oblika, da li su olistali, da li poseduju drščice), te je i to jedan od razloga zašto nisu uvršteni u statističke analize ovde primenjene, koje su uzimale u obzir samo kvantitativne karaktere.

U Flori Evrope (Zahariadi, 1980) se ovi tipovi bulbila navode kao najznačajniji karakter, od svega nekoliko, na osnovu kojih se ove dve vrste mogu razlikovati. Prema dijagnozi iz Flore Srbije (Diklić, 1975) *O. umbellatum* subsp. *divergens* karakterišu male neolistale bočne lukovice, a *O. umbellatum* subsp. *umbellatum* sedeće bočne lukovice ili na kratkim drškama, najčešće sa razvijenim listovima. Bez obzira na različitu taksonomiju i nomenklaturu, kada govore o *O. divergens* i drugi autori navode morfologiju bulbila kao jedan od osnovnih diferencijalnih karaktera (Gadella i van Raamsdonk, 1981; van Raamsdonk i Heringa, 1987; Martínez-Azorín i sar., 2009; 2010). Stoga je, kao što je već napomenuto, ovaj karakter beležen prilikom uzorkovanja i uziman u obzir kao jedan od presudnih za determinaciju, ali na žalost nije uvršten u statističke analize. A kako su upravo broj, veličina i oblik bulbila najzačajniji za razlikovanje ovih taksona, verovatno je da je njihovo isključivanje iz ovih analiza jedan od razloga zbog koga nije uočeno jasno razdvajanje populacija koje pripadaju *O. divergens* u odnosu na *O. umbellatum*.

Kao sledeći, ipak manje pouzdan (Zahariadi, 1980) parametar za razdvajanje, u literaturi se navodi struktura cvasti. Ovaj karakter jeste uziman u obzir prilikom determinacije u okviru ovog istraživanja, ipak kako je opisni i donekle proizvoljan, nije tretiran kao odlučujući. Naime navodi se da *O. umbellatum* karakterišu korimbozne, a *O. divergens* šire pseudokorimbozne cvasti (Martínez-Azorín i sar., 2009). Cvast *O. umbellatum* jeste se u okviru analiza ovog

istraživanja pokazala kao češće duža nego šira (odnos u proseku 0,62-1,80) (Prilog: Tabela II), a *O. divergens* šira nego duža (0,65-1,11) (Prilog: Tabela II). Ipak, radi se o malim razlikama i prosečnim vrednostima, a zabeležene su brojne populacije odnosno jedinke *O. umbellatum* sa većim prečnikom cvasti. Velika varijabilnost ogleda se i u činjenici da su upravo za karaktere cvasti pokazane najviše vrednosti koeficijenta varijacije, kako na nivou populacija (Prilog: Tabela II) tako i u obe grupe biljaka (Tabela 22).

Nešto konkretnija smernica bile bi osobine cvetnih drški, naročito donjih i to onih koje nose plod. Za *O. umbellatum* se kaže da su ravne a kod *O. divergens* manje-više povijene nadole i duže (Diklić, 1975; Zahariadi, 1980; Garbari i sar., 2007; Martínez-Azorín i sar., 2009). Garbari i sar. (2007) naglašavaju razlikovanje *O. divergens* upravo na osnovu oblika “svećnjaka”, koji biljci daju cvetne drške koje idući ka donjem delu cvasti postaju sve povijenije čineći tup ugao sa skapusom, dok su kod *O. umbellatum* one ravnije i pod oštrijim uglom. Uglovi pod kojim su cvetne drške upravljene na skapus u okviru ovog istraživanja nisu pokazali statistički značajne razlike (na osnovu T–testa) između dva taksona, već veliku stopu varijabilnosti na interpopulacionom nivou generalno. Ipak, ovaj je karakter jasnije vidljiv pre svega na živim biljkama, dok herbarski materijal često nije dovoljno informativan u ovom pogledu. Pored načina skladištenja, razlog za nemogućnost jasnog razgraničavanja primeraka na osnovu ove osobine je i činjenica da nisu sve sakupljene biljke iste starosti, tj. nivoa zrelosti cveta i ploda, a ova je karakteristika uočljiva kasnije u ciklusu razvića. Stoga ne čudi što se ugao između najniže cvetne drške i skapusa, kao ni prečnik odnosno oblik cvasti, nisu pokazali kao informativni karakteri.

Sledeći parametar je odnos dužine brakteja i odgovarajućih (donjih) cvetnih drški koji je, za razliku od prethodnog, pouzdaniji utoliko što je merljiv, te je u ovom istraživanju uzet u razmatranje. Uvrežen je stav da je kod *O. divergens* ovaj odnos manji, odnosno da su brakteje kraće (Zahariadi, 1980; Moret, 1992), od polovine (Martínez-Azorín i sar., 2009) do dve trećine (Diklić, 1975) dužine odgovarajuće cvetne drške. Dužine brakteja su se i u ovom istraživanju pokazale kao značajan karakter. Apsolutne dužine nisu se signifikantno razlikovale (na osnovu T–testa), ali odnos brakteja i cvetnih drški jeste. Bio je u proseku manji kod *O. divergens*, što znači da su kod ovih biljaka brakteje bile kraće od odgovarajućih cvetnih drški. Kod populacija *O. divergens* prosečne vrednosti ovog parametra kretale su se upravo negde u opsegu od polovine do dve trećine, tačnije 0,56-0,76 (Prilog: Tabela II). Međutim, *O. umbellatum* pokazao

se kao znatno varijabilan i po pitanju ovog karaktera, pa su aritmetičke sredine ovog parametra različitih populacija varirale od 0,36 do 0,81 (Prilog: Tabela II). Stoga bi zaključak analiza u okviru ovog istraživanja bio da se ovaj karakter ipak ne može uzeti kao diferencijalni za konkretno ove taksone, prvenstveno iz razloga postojanja varijacija u okviru *O. umbellatum* i heterogenosti populacija po pitanju analiziranog parametra, kao uostalom i mnogih drugih.

Od ostalih karaktera koji se pominju kao potencijalno značajni, među vegetativnim, to je dužina listova u odnosu na dužinu skapusa i cvasti. Postoje navodi da su kod *O. umbellatum* listovi uglavnom duži u poređenju sa skapusom, a kod *O. divergens* otprilike iste dužine (Garbari i sar., 2007). Sa druge strane, mogu se naći zapažanja da listovi *O. umbellatum* generalno nadvisuju skapus i cvast, pri čemu je ova karakteristika nešto izraženija kod *O. umbellatum* subsp. *divergens* (Diklić, 1975). Ovaj karakter nije uziman u obzir prilikom determinacije, kao ni za statističke analize u okviru ovog istraživanja, iz razloga što je uočeno da nema jasnih pravilnosti u njegovoj varijabilnosti, a koja je prisutna i među jedinkama istih populacija. Sa druge strane, kod pojedinih biljaka *O. umbellatum* listovi su često nedostajali ili nisu bili celi, bilo na terenu prilikom uzorkovanja (zbog osobine opadanja nakon cvetanja i oštećenja od strane životinja), bilo usled nepotpunog herbarskog materijala. Ipak, na osnovu postojećih podataka i zapažanja na terenu, ovde bi se moglo zaključiti da su listovi ovih taksona uvek duži od skapusa, a što se tiče dužine u odnosu na cvast, ne može se izvesti jasan zaključak. Naime, nekada listovi nadvisuju cvast u većoj meri, nekada u manjoj, a ponekad ne; dakle i ovaj karakter veoma varira i zavisi od stepena razvoja biljke, te nisu uočene jasne pravilnosti u tom smislu kod ovih taksona.

U Flori Srbije podvrsta *divergens* je opisana kao “snažnija” (sa “vrlo velikim” listićima perigona i sl.), za razliku od subsp. *umbellatum* koja je “srazmerno nežna” (Diklić, 1975). Van Raamsdonk i Heringa (1987) ispitujući razlike u morfološkim karakteristikama iznose zapažanje da su kod *O. angustifolium* (ovde *O. umbellatum*) “nekoliko vegetativnih i generativnih organa manji” u odnosu na *O. umbellatum* (ovde *O. divergens*). Zaista, brojni karakteri su se u okviru analiza koje su rezultat ovog istraživanja pokazali nešto krupnijim kod *O. divergens* u odnosu na *O. umbellatum*: širina lukovice, visina skapusa, dužina lista, dimenzije brakteje, dimenzije listića perigona i zelene pruge na njima, dužine prašnikovog konca, prašnice i plodnika. Ipak, po sredi su prosečne vrednosti, a i činjenica je da su mnoge populacije *O. umbellatum* ovde posmatrane predstavljene “snažnijim” biljkama, kao i da ove kvantitativne osobine variraju i na



intrapopulacionom nivou, te se ne mogu prihvatiti kao realan diferencijalni karakter za razlikovanje ova dva taksona.

Na posletku, važno je još jednom napomenuti da su biljke uzorkovane za ovo istraživanje *a priori* identifikovane kao *O. divergens* odnosno *O. umbellatum* (Tabela 1), pre urađenih analiza, a na osnovu karakteristika uočenih i zabeleženih prilikom sakupljanja. Za determinaciju su korišćeni pre svega morfološki karakteri o kojima je ranije bilo reči, a koji su nedvosmisleno ukazivali na to da se radi o jednom od ova dva taksona. Ipak, prilikom svrstavanja u jednu od ove dve grupe postojali su problemi odnosno sumnje za pojedine populacije koje su pokazivale donekle intermedijarne osobine. Razlozi tome mogli bi ležati u činjenici da su se biljke prilikom uzorkovanja nekada razlikovale u stepenu razvijenosti pojedinih karaktera, usled različite faze životnog ciklusa u kojoj su bile u periodu sakupljanja. Takođe, staništa su se razlikovala od lokaliteta do lokaliteta, kako po spektru uslova sredine koji ih karakterišu, tako i po tipu – da li su prirodna (stepe, šume) ili izrazito antropogena (putevi, njive). Kako ekološke analize nisu bile predmet ovog istraživanja, uticaj datih faktora na morfologiju ovih biljaka nije procenjen.

Sa druge strane, u okviru ovog rada nisu sprovedene ni kariološke analize, a poznato je da citološki karakteri (različit broj hromozoma i sl.) utiču i na razlike u morfološkim osobinama. U tom smislu pojava morfološki “zbunjujućih” uzoraka ne čudi utoliko što je i ranije zabeleženo postojanje prelaznih formi, koje bi se mogle pripisati recimo tetraploidima, jer je ovakva intermedijarna ploidnost u korelaciji sa intermedijarnom morfologijom (van Raamsdonk, 1984). Speta (2000) tetraploide smatra posebnom vrstom, *O. vulgare*, a drugi autori se slažu da ovaj citotip poseduje određene morfološke razlike ali svrstavaju ga najčešće u *O. umbellatum* (Garbari i sar., 2003; 2007; Kamari i sar., 2006), dok neki zapažaju da je po određenim karakteristikama bliži *O. divergens* (Moret i sar., 1991; Peruzzi i sar., 2007). Mišljenje koje je usvojeno u okviru ovog istraživanja je da treba prihvatiti samo dve vrste (*O. umbellatum* i *O. divergens*), a da prelazne oblike ne treba izdvajati u poseban takson, već ih svrstati u neku od ove dve grupe. Ovaj stav posledica je činjenice da su ovi oblici nekada sličniji jednoj vrsti, nekada drugoj, generalno se retko javljaju, a često upravo u okviru populacija “pravih” *O. umbellatum* i *O. divergens* (Gadella i van Raamsdonk, 1981; Martínez-Azorín i sar., 2009). Stoga se na osnovu svega navedenog prihvata i zaključak da postojeća taksonomska i nomenklatura konfuzija ne može biti u potpunosti otklonjena jer su ovi taksoni u fazi dinamičnih promena, aktivne evolucije

i nepotpune specijacije, naročito u ovom podneblju (Cullen i Ratter, 1967; Moret i Galland, 1992; Popova i Anastasov, 1997; Martínez-Azorín i sar., 2009).

## 7. ZAKLJUČAK

Na osnovu molekularnih analiza primenom RAPD markera može se izvesti zaključak da je ova metoda pogodna za izučavanje genetičke varijabilnosti na inter- i intrapopulacionom nivou, kao i struktuiranosti ispitivanih populacija taksona roda *Ornithogalum*.

- Svi korišćeni prajmeri dali su dovoljan broj amplifikovanih fragmenata, sa visokim procentom polimorfizma, te su se pokazali odgovarajućim za analizu varijabilnosti datih taksona.
- Poređenje populacija vršeno je na osnovu procenta polimorfnihih lokusa za isti set prajmera, a rezultate u saglasnosti sa ovima dali su i indeksi genetičkog diverziteta (Nei i Shannon), kao i koeficijenti sličnosti (Jaccard) na intrapopulacionom nivou.
- AMOVA je ukazala na veći nivo genetičke varijabilnosti između populacija nego u okviru njih. Ovakav je rezultat očekivan za široko rasprostranjene taksone, kao i za relativno udaljene te izolovane populacije sa ograničenom disperzijom semena, a naročito za poliploidne taksone kod kojih vegetativno razmnožavanje ima velikog udela u reproduktivnoj strategiji biljke.
- Mantel testom nije ustanovljeno postojanje značajne korelacije između geografskih udaljenosti i genetičkih distanci, odnosno pokazan je nedostatak jasnog geografskog trenda dispozicije genetičke varijabilnosti, što se potencijalno objašnjava velikim arealom i reproduktivnom biologijom ispitivanih taksona.
- UPGMA dendrogram urađen na osnovu Jaccard koeficijenata sličnosti između populacija, kao i N-J dendrogram na osnovu Nei i Li koeficijenata udaljenosti, pokazuju podelu na klastere, no ni ovde se uglavnom ne uočava pravilnost u smislu grupisanja geografski bliskih lokaliteta. Sa druge strane, populacije *O. divergens* izdvajaju se čineći poseban klaster. Slični rezultati dobijeni su i PCoA i MDS analizama.
- Bajesova klaster analiza sprovedena u cilju determinacije genetičke struktuiranosti među ispitivanim genotipovima grupiše jedinice istih lokaliteta u zasebne klastere, ali i ukazuje da je najverovatniji broj genetičkih klastera koji najbolje objašnjava ispitivanu strukturu – dva, nedvosmisleno deleći populacije dva analizirana taksona u dve grupe.

Na osnovu posmatranja mikroskopskih preparata poprečnih preseka lista, skapusa i plodnika, kao i statističkih analiza anatomskih karaktera, mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Između ispitivanih populacija nema kvalitativnih razlika ni kod jednog od analiziranih biljnih organa. Kvalitativne osobine lista za koje je u ranijim istraživanjima roda *Ornithogalum* pokazano da mogu varirati na interspecijskom nivou, nisu se razlikovale između *O. umbellatum* i *O. divergens*.
- Većina kvantitativnih karaktera lista i skapusa pokazuje statistički značajne razlike na interpopulacionom nivou, dok osobine plodnika nisu doprinele razdvajanju.
- Udeli palisadnog i suđerastog tkiva u ukupnoj površini najvarijabilniji su anatomski karakteri lista na interpopulacionom nivou. Oni doprinose i razdvajanju dva taksona: procentualni udeo palisadnog tkiva veći je kod *O. umbellatum*, a suđerastog kod *O. divergens*. Najznačajniji diskriminativni karakter lista je ukupna površina poprečnog preseka, veća kod *O. divergens*.
- Ukupna površina poprečnog preseka najvarijabilniji je karakter skapusa na interpopulacionom nivou; slede udeo epidermisa i primarne kore u ukupnoj površini. *O. divergens* karakteriše veći udeo centralnog cilindra odnosno parenhima, dok *O. umbellatum* ima bolje razvijen epidermis, sklerenhim i provodno tkivo.
- Posmatrajući pozicije jedinki u prostoru prve dve ose analize glavnih komponenata ustanovljene su određene sličnosti između populacija na osnovu modela varijabilnosti datih karaktera. Populacije *O. divergens* u tom smislu pokazuju naročite osobenosti prema obliku varijabilnosti. Razdvajanje *a priori* definisanih grupa potvrdili su rezultati diskriminantne analize. T-testom su pokazane statistički značajne razlike između dva ispitivana taksona za većinu analiziranih karaktera lista i skapusa.
- Anatomski karakteri su omogućili uspešno grupisanje sličnih populacija, ipak se smatraju nedovoljno pouzdanim za precizno razgraničavanje filogenetski veoma bliskih taksona poput ovih, pre svega iz razloga što su karakteri koji su doprineli razdvajanju samo kvantitativni. Sa druge strane, mnoge od ispitivanih osobina diferenciraju se kao adaptacije na ekološke faktore specifične za stanište, te zavise od uslova spoljašnje sredine, kao što su intenzitet sunčeve radijacije i dostupnost vode.

Statističkim analizama kvantitativnih morfoloških karaktera, kao i pregledom postojeće literature, te utvrđivanjem stanja u prirodnim populacijama, došlo se do sledećih zaključaka:

- Ustanovljen set karaktera koji determiniše varijabilnost osa analize glavnih komponentata u skladu je sa rezultatima prethodnih istraživanja. Ukupnoj varijabilnosti najviše doprinose parametri cveta (pre svega listića perigona) i karakteri u okviru regiona cvasti (prvenstveno cvetnih drški). Rezultati multivarijantne diskriminantne analize ukazali su dodatno na značaj karaktera lukovica, kao i dužine najniže cvetne drške i odgovarajuće brakteje, u varijabilnosti i diferencijaciji grupa.
- ANOVA ukazuje na statistički značajne razlike između ispitivanih populacija za sve morfološke karaktere analizirane u okviru ovog istraživanja. Ipak, uz pomoć PCA ne mogu se jasno definisati osobenosti prema modelu varijabilnosti, a MDA ne pokazuje pravilnosti u grupisanju populacija različitih lokaliteta, što se objašnjava izuzetnom morfološkom raznolikošću i heterogenošću populacija po kojoj je *O. umbellatum* poznat u literaturi.
- T-test pokazuje statistički značajne razlike za većinu ispitivanih karaktera između *O. umbellatum* i *O. divergens*. Ipak, uz pomoć PCA nije moguće jasno odrediti sličnosti na osnovu oblika varijabilnosti, a MDA ne daje preglednu sliku razdvajanja *a priori* definisanih grupa. Ovi su rezultati očekivani usled činjenice da podrod *Ornithogalum* karakteriše velika plastičnost morfoloških karaktera i njihovo preklapanje, posebno kada se radi o filogenetski veoma bliskim taksonima. Takođe, determinacija je ovde vršena na osnovu kvalitativnih karaktera ustanovljenih na terenu prilikom uzorkovanja, pre svega osobina bulbila, a koji se u literaturi navode kao najznačajniji (i jedini pouzdani) za razlikovanje *O. umbellatum* i *O. divergens*. Međutim, ovi karakteri nisu ušli u statističke analize pa stoga ne čudi što one nisu rezultirale jasnijim segregacijama.
- Opravdanost korišćenja pojedinih morfoloških karaktera kao diferencijalnih diskutabilna je i usled zavisnosti habitusa od faktora sredine, odnosno – osobine staništa mogu uticati na fenotip rezultujući varijacijama određenih karaktera; recimo tip zemljišta uslovljava dubinu na kojoj se nalaze lukovice, dostupnost vode utiče na veličinu pojedinih organa, a stepen insolacije i temperatura utiču na dinamiku životnog ciklusa ovih biljaka. Takođe

stupnjevi životnog ciklusa odnosno zrelost i starost biljke utiču na stepen razvoja pojedinih morfoloških karaktera i njihove kvantitativne ali i kvalitativne osobine.

Na molekularne markere ne utiču uslovi sredine i oni ne zavise od faze razvoja biljke, u tom smislu su pouzdaniji za analize od drugih tipova markera. U odnosu na ostale molekularne markere, ovde korišćena RAPD zahteva manje količine DNK, jednostavnija je, brža i ekonomičnija, te predstavlja idealnu tehniku za inicijalnu evaluaciju u uslovima ograničenih resursa. Iako je ovaj tip analiza sam po sebi nedovoljno pouzdan za determinaciju filogenetski blisko srodnih taksona, kao što su *O. divergens* i *O. umbellatum*, te je u smislu rešavanja taksonomskih problema koristan prvenstveno kao dopunski metod, i kao takav je značajan za ispitivanje ovih morfološki veoma plastičnih biljaka u regionima poput ovde istraživanog koji je od posebne važnosti sa aspekta distribucije jer predstavlja granično odnosno prelazno područje rasprostranjenja.

RAPD-PCR pokazao se pogodnim za detekciju genetičke diferencijacije populacija datih taksona. Sagledavanje distribucije genetičke varijabilnosti predstavlja osnovu za razvoj odgovarajućih upravljačkih strategija koje za cilj imaju opstanak i očuvanje vrsta, posebno u slučajevima izolacije populacija i smanjenja njihove veličine. Ovo je naročito važno sa aspekta uloge različitih reproduktivnih strategija biljke. Sa jedne strane, genetički diverzitet zavisi od efektivne veličine populacije, stoga je nivo aseksualne propagacije važan prilikom dizajniranja strategija za konzervaciju *in situ*. Sa druge strane, reproduktivno razmnožavanje zavisi od različitih ekoloških faktora, recimo degradacija staništa može negativno da utiče na dostupnost polinatora. U slučaju visokog nivoa genetičke diferencijacije između populacija, gubitak populacije može prouzrokovati nepovratan gubitak genetičke varijabilnosti. Zaštita staništa predstavlja najbolji put ka konzervaciji u slučaju niskog unutarpopulacionog genetičkog diverziteta uslovljenog ograničenim protokom gena koji je posledica fragmentacije staništa. *O. umbellatum*, a naročito *O. divergens*, često naseljavaju staništa pod uticajem čoveka, te su potencijalno osetljivi na promene u korišćenju zemljišta, stoga je teško proceniti realnu distribuciju i poznate populacije bi trebalo pratiti i evaluirati rizike.

U cilju planiranja odgovarajućih programa upravljanja potrebno je dobro poznavati trenutni status genetičkog diverziteta te adaptivni potencijal populacija kao preduslov za uspeh u konzervaciji; RAPD može poslužiti kvantifikovanju genetičkog diverziteta, a ovakve informacije

koriste očuvanju genetičkih resursa ekološki značajnih vrsta. Na široj ekološkoj skali, podaci o genetičkoj strukturi populacija mogli bi doprineti rešavanju nejasnoća vezanih za specifične interakcije između biljaka i insekata, kao što su povezanost diverziteta vrsta sa polinacijom i fitofagijom, i kompleksni prostorni i biogeografski odnosi. Stoga je ovo istraživanje i doprinos dizajniranju odgovarajućih strategija konzervacije biodiverziteta, kao i ispravnom menadžmentu kako ovih biljnih vrsta, tako i insekatskih sa kojima su povezane.

## 8. LITERATURA

- Agrawal A. A., Konno K. (2009) Latex: A Model for Understanding Mechanisms, Ecology, and Evolution of Plant Defense Against Herbivory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40: 311-331.
- Al-Zahim M. A., Ford-Lloyd B. V., Newbury H. J. (1999) Detection of somaclonal variation in garlic (*Allium sativum* L.) using RAPD and cytological analysis. *Plant Cell Reports*, 18: 473-477.
- Anačkov G. (1997) Rasprostranjenje vrsta rodova *Gagea* L., *Ornithogalum* L. i *Hyacinthella* Schur u Srbiji. Diplomski rad. Univerzitet u Novom Sadu. Srbija.
- Anačkov G., Budak V., Boža P., Igić R., Vukov D., Kaščelan S. (1999) Ecological characteristics of genus *Ornithogalum* L. 1753 in Vojvodina (Yugoslavia). VIII European Ecological Congress, Halkidiki, Greece: European Ecological Federation, p.161.
- Andrić A. (2007) Optimizacija metoda DNK izolacije i RAPD-PCR amplifikacije kod vrsta roda *Ornithogalum*. Master rad. Univerzitet u Novom Sadu. Srbija.
- Andrić A., Obreht D., Rat M., Boža P., Vujić A. (2009) Analysis of genetic variability in *Ornithogalum* L. using RAPD markers. IV Congress of the Serbian Genetic Society, Tara. Book of abstracts, p. 264.
- Andrić A., Rat M., Obreht D. (2014a) Analysis of genetic variability in two *Ornithogalum* L. (Hyacinthaceae) taxa from Serbia and Hungary using RAPD markers. V Congress of the Serbian Genetic Society, Belgrade. Book of abstracts, p. 190.
- Andrić A., Šikoparija B., Obreht D., Đan M., Preradović J., Radenković S., Pérez-Bañón C., Vujić A. (2014b) DNA barcoding applied: identification of the larva of *Merodon avidus* (Diptera: Syrphidae). *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae*, 54(2): 741-757.
- APG II (2002) An update of the angiosperm phylogeny group classification of the orders and families of the flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141: 399-436.



- Ascherson P., Graebner P. (1905) Synopsis der Mitteleuropäischen flora III. Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Ayres D. R., Ryan F. J. (1999) Genetic diversity and structure of the narrow endemic *Wyethia reticulata* and its congener *W. bolanderi* (Asteraceae) using RAPD and allozyme techniques. *American Journal of Botany*, 86: 344-352.
- Baránek M., Raddová J., Pidra M. (2006) Comparative analysis of genetic diversity in *Prunus* L. as revealed by RAPD and SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 108: 253-259.
- Bardakci F. (2001) Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Turkish Journal of Biology*, 25: 185-196.
- Bartolozzi F., Warburton M. L., Arulsekhar S., Gradziel T. M. (1998) Genetic characterization and relatedness among Californian almond cultivars and breeding lines detected by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Journal of the American society for horticultural science*, 123: 381-387.
- Bednorz L., Czarna A. (2008) SEM and stereoscope microscope observations on the seeds of some *Ornithogalum* (Hyacinthaceae) species. *Biologia*, 63(5): 642-646.
- Boissier E. (1882) *Flora Orientalis*, V. Apud H. Georg, Bibliopolam, Genevae et Basiliae.
- Bojović S., Heizmann P., Dražić D., Kovačević D., Marin P., Popović Z., Matić R., Jurc M. (2013) Diversity of *Fraxinus ornus* from Serbia and Montenegro as revealed by RAPDs. *Genetika*, 45(1): 51-62.
- Boreau A. (1857) *Flore du Centre de la France et du bassin de la Loire ou description des plantes*, III. Librairie Encyclopedique de Roret, Paris.
- Brosnan J. T., Armel G. R., Klingeman W. E., Breeden G. K., Vargas J. J., Flanagan P. C. (2010) Selective Star-of-Bethlehem Control with Sulfentrazone and Mixtures of Mesotrione and Topramezone with Bromoxynil and Bentazon in Cool-season Turfgrass. *Hort Technology*, 20(2): 315-318.
- Brown P. T. H., Lange F. D., Krang E., Lorz H. (1993) Analysis of single protoplasts and regenerated plants by PCR and RAPD technology. *Molecular genetics and genomics*, 237: 311-317.
- Bullock A. A. (1952) South African Poisonous Plants. *Kew Bulletin*, 7(1): 117-129.

- Burrows G. E., Tyrl R. J. (2001) Toxic Plants of North America. Iowa State University Press, 1342 pp.
- Chen R., Meng F., Liu Z., Chen R., Zhang M. (2010) Antitumor activities of different fractions of polysaccharide purified from *Ornithogalum caudatum* Ait. Carbohydrate Polymers, 80: 845-851.
- Chen R., Li Z., Dong H., Liu Z., Li S., Yang S., Li H. (2012) Optimization of ultrasonic extraction process of polysaccharides from *Ornithogalum caudatum* Ait and evaluation of its biological activities. Ultrasonics Sonochemistry, 19: 1160-1168.
- Chiappini M. (1962) Osservazioni carioembriologiche in *Ornithogalum* di Sardegna: Nota I. - Sporogenesi e sviluppo dei gametofiti in *Ornithogalum caudatum* Ait. Giornale Botanico Italiano, 69: 91-102.
- Coskuncelebi K., Kandemir A., Beyazoğlu O. (2000) Scanning electron microscopic examination of the seeds of *Ornithogalum* (Liliaceae) species distributed in Black Sea Region of Turkey. Biologia, 55(4): 397-401.
- Coskuncelebi K., Kandemir A., Beyazoğlu O. (2002) Numerical taxonomic study on *Ornithogalum* subg. *Ornithogalum* (Liliaceae) in Black Sea Region of Turkey. Biologia, 57(4): 449-454.
- Coste L. H. (1906) Flore Descriptive et Illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes, III. Librairie scientifique et technique Albert Blanchard, Paris.
- Cullen J., Ratter J. A. (1967) Taxonomic and cytological notes on Turkish *Ornithogalum*. Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh, 27: 293-339.
- Czapik R. (1968) Chromosome numbers of *Ornithogalum umbellatum* L. from three localities in England. Watsonia, 6(6): 345-349.
- Czapik R. (1993) Chromosome numbers and lack of flowers in *Ornithogalum umbellatum* agg. Liliaceae. Polish Botanical Studies, 5: 71-77.
- Dahlgren R. M. T., Clifford H. F., Yeo P. F. (1985) The families of the monocotyledons. Springer-Verlag Berlin.
- Delaunay L. (1925) The S-Chromosomes in *Ornithogalum* L. Science, 62(1592): 15-16.
- Dell Inc. (2015) STATISTICA (data analysis software system), version 12. Dostupno na: [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)

- Demeke T., Sasikumar B., Hucl P., Chibbar R. N. (1997) Random amplified polymorphic DNA (RAPD) in cereal improvement. *Maydica*, 42: 133-142.
- Digimizer image analysis software, MedCalc Software bvba. Dostupno na: [www.digimizer.com](http://www.digimizer.com)
- Diklić N. (1975) Rod *Ornithogalum* (Liliales – Liliaceae). U: Josifović M. (editor), Flora SR Srbije. Srpska akademija nauka i umetnosti, Beograd, 7: 544-559.
- eFloras (2008) Flora of North America [Distribution map], Published on the Internet. Missouri Botanical Garden, St. Louis, MO & Harvard University Herbaria, Cambridge, MA. Dostupno na: [http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=11&taxon\\_id=242101813](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=11&taxon_id=242101813) (pristupljeno 21.01.2015.)
- Ellenberg H. (1988) Vegetation ecology of Central Europe. Cambridge university press.
- Ertuğ F. (2000) An Ethnobotanical Study in Central Anatolia (Turkey). *Economic Botany*, 54(2): 155-182.
- EuroPlusMed PlantBase (2006) [Distribution map]. Dostupno na: <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameId=3452&PTRefFk=800000> (pristupljeno 21.01.2015)
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611-2620.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, Online 1: 47-50.
- Fahn A. (1988) Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist*, 108: 229-257.
- Falush D., Stephens M., Pritchard J. K. (2007) Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*, 7: 574-578.
- Feinbrun-Dothan N. (1986) Flora Palaestina IV. The Israel Academy of Sciences and Humanities.
- Ferth R., Speta F., Kopp B. (2001) Beitrag der Cardenolide zur Taxonomie der *Ornithogalum umbellatum* – Verwandtschaft (Hyacinthaceae). *Stapfia*, 164: 121-138.
- Fiori A. (1923) Nuova Flora Analitica d' Italia, I. Tipografia di M. Ricci, Firenze.
- Franceschi V. R., Nakata P. A. (2005) Calcium oxalate in plants: formation and function. *Annual Review of Plant Biology*, 56: 41-71.

- Gadella TH. W. J. (1972a) Some notes on *Ornithogalum umbellatum* L. and *Ornithogalum divergens* Bor. Acta Botanica Neerlandica, 21(3): 257-260.
- Gadella TH. W. J. (1972b) *Ornithogalum divergens* in Nederland. De Levende Natuur, 75(4): 81-87.
- Gadella TH. W. J., Raamsdonk L. W. D. van (1981) Biosystematic studies on *Ornithogalum umbellatum* L. s.l. Boletim da Sociedade Broteriana Sér. 2, 53(2): 745-791.
- Garbari F., Giordani A., Marcucci R., Tornadore N. (2003) The genus *Ornithogalum* L. (Hyacinthaceae) in Italy, XIV: towards a redefinition of infrageneric taxa, with new proposals. Bocconea, 16(1): 269-281.
- Garbari F., Peruzzi L., Tornadore N. (2007) *Ornithogalum* L. (Hyacinthaceae Batsch) e generi correlati (subfam. Ornithogaloideae Speta) in Italia. Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, Memorie, serie B, 114: 35-44.
- Gašić O., Šimanek V., Lukić V., Valterova D., Kevrešan S., Hanuš V., Boža P. (1989) Hemijska istraživanja *Ornithogalum umbellatum* L. sa staništa Subotičko–Horgoške pešcare. Zbornik Matice Srpske za prirodne nauke, 76: 21-26.
- González-Pérez M. A., Batista F. J., Sosa P. A. (2013) Conservation genetics in two endangered endemics from the Canary Islands, *Helianthemum gonzalezferreri* Marrero (Cistaceae) and *Kunkeliella subsucculenta* Kämmer (Santalaceae): different life histories that involve different management strategies. Plant Systematics and Evolution, 299: 1981-1990.
- Grilli C. M., Caputo P., Zainer R. (2004) RAPD analysis in *Crocus sativus* L. accessions and related *Crocus* species. Biologia Plantarum, 48(3): 375-380.
- Gryszkiewicz-Wojtkielewicz A., Jastrzbska I., Morzycki J. W., Romanowska D. B. (2003) Approaches towards the Synthesis of Cephalostatins, Ritterazines and Saponins from *Ornithogalum saundersiae* – New Natural Products With Cytostatic Activity. Current organic chemistry, 7(12): 1257-1277.
- Halldén C., Hansen M., Nilsson O., Hjerdin A., Säll T. (1996) Competition as a source of errors in RAPD analysis. Theoretical and Applied Genetics, 93(8): 1185-1192.
- Herrmann N. (2002) Biological flora of Central Europe: “*Ornithogalum angustifolium*” nom. prov., Syn. p. p. *O. orthophyllum* ssp. *kochii* = *O. kochii* Parl., *O. gussonei* Ten. Flora, 197: 409-428.

- Hodson W. E. H. (1932) The large narcissus fly, *Merodon equestris*, Fab. (Syrphidae). Bulletin of Entomological Research, 17: 373-385.
- Hurkmans W. E. G. (1988) Ethology and ecology of *Merodon* in Turkey (Diptera: Syrphidae). Entomologische Berichten Amsterdam, 48(7): 107-114.
- Hurkmans W. (1993) A monograph of *Merodon* (Diptera: Syrphidae) Part 1. Tijdschrift voor Entomologie, 136: 147-234.
- Hurkmans W., Hayat R. (1997) Ethology and ecology of *Merodon* (Diptera, Syrphidae) in Turkey II: descriptions of new species and notes on other syrphid flies. Dipterists Digest, 3: 62-79.
- Isabel N., Tremblay L., Michand M., Tremblay F. M., Bousquet J. (1993) RAPD as aids to evaluate the genetic integrity of somatic embryogenesis - derived populations of *Picea mariana* (Mill.). Theoretical and Applied Genetics, 86: 81-87.
- Jaccard P. (1908) Nouvelles recherches sur la distribution florale. Bulletin de la Societe Vaudoise des Sciences Naturelles, 44: 223-270.
- Jakobsson M., Rosenberg N. A. (2007) *CLUMPP*: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. Bioinformatics, 23: 1801-1806.
- Jordan A., Fourreau J. (1867) Icones ad floram Europae, I. Apud F. Savy, Bibliopolam, Paris.
- Joung Y. H., Roh M. S. (2004) Paternity determination of *Ornithogalum* seedlings using DNA markers. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 79(2): 316-321.
- Kamari G., Blanche C., Garbari F. (2006) Mediterranean chromosome number reports. Flora Mediterranea, 16: 385-455.
- Kleynhans R., Spies J. J. (2000) Evaluation of genetic variation in *Lachenalia bulbifera* (Hyacinthaceae) using RAPDs. Euphytica, 115: 141-147.
- Kops J., Hall H. C. van (1828) Flora Batava Vol 5., J. C. Sepp en Zoon, Amsterdam.
- Kovačević D., Nikolić B., Mladenović Drinić S., Bojović S., Dodoš T., Rajčević N., Marin P. D. (2013) Genetic relationships among some *Pinus*, *Picea* and *Abies* species revealed by RAPD markers. Genetika, 45(2): 493-502.

- Kuroda M., Mimaki Y., Yokosuka A., Sashida Y., Beutler J. A. (2001) Cytotoxic Cholestane Glycosides from the Bulbs of *Ornithogalum saundersiae*. *Journal of Natural Products*, 64(1): 88-91.
- Landström T. (1989) The species of *Ornithogalum* L. subg. *Ornithogalum* (Hyacinthaceae) in Greece. PhD thesis. Lund University, Department of systematic botany. Sweden.
- Larcher W. (2003) *Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 513 pp.
- Lefebvre V., Chèvre A. M. (1995) Tools for marking plant disease and pest resistance genes: a review. *Agronomie*, 15: 3-9.
- Link W., Dixkens C., Singh M., Schwall M., Melchinger A. E. (1995) Genetic diversity in European and Mediterranean faba bean germ plasm revealed by RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 90: 27-32.
- Linnaeus C. (1754) *Genera plantarum*. Leiden.
- Lisek A., Korbin M., Rozpara E. (2006) Using simply generated RAPD markers to distinguish between sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 14(Supl.1): 53-59.
- Littlejohn G. M., Blomerus L. M. (1997) Evaluation of *Ornithogalum* genebank accessions for some characteristics of importance for breeding cut flowers or pot plants. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 44: 227-234.
- Littlejohn G. M. (2007) Star of Bethlehem *Ornithogalum*. U: Anderson N. O. (editor) *Flower breeding and genetics*. Springer, Netherlands, 741-754.
- Lučić A., Cvetičanin R., Novaković-Vuković M., Ristić D., Popović V., Rakonjac Lj., Mladenović Drinić S. (2013) Interpopulation variability of Austrian pine (*Pinus nigra* Arnold) in Serbia. *Genetika*, 45(3): 641-654.
- Lynch M., Milligan B. G. (1994) Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3: 91-99.
- Lynch A. H., Rudall P. J., Cutler D. F. (2006) *Leaf Anatomy and Systematics of Hyacinthaceae*. Royal Botanic Gardens, Kew Bulletin, 61(2): 145-159.
- Ma X., Chen S.-Y., Bai S.-Q., Zhang X.-Q., Li D.-X., Zhang C.-B., Yan J.-J. (2012) RAPD analysis of genetic diversity and population structure of *Elymus sibiricus* (Poaceae)

- native to the southeastern Qinghai-Tibet Plateau, China. *Genetics and Molecular Research*, 11(3): 2708-2718.
- Main C. L., Robinson D. K., Teuton T. C., Mueller T. C. (2004) Star-of-Bethlehem (*Ornithogalum umbellatum*) Control with Postemergence Herbicides in Dormant Bermudagrass (*Cynodon dactylon*) Turf. *Weed Technology*, 18(4): 1117-1119.
- Malviya R., Srivastava P., Kulkarni G. T. (2011) Applications of Mucilages in Drug Delivery - A Review. *Advances in Biological Research*, 5(1): 1-7.
- Manning J. C., Goldblatt P., Fay M. F. (2004) A revised generic synopsis of Hyacinthaceae in sub-saharan Africa, based on molecular evidence, including new combinations and the new tribe Pseudoprosperae. *Edinburgh Journal of Botany*, 60(3): 533-568.
- Manning J. C., Forest F., Devey D. S., Fay M. F., Goldblatt P. (2009) A molecular phylogeny and a revised classification of Ornithogaloideae (Hyacinthaceae) based on an analysis of four plastid DNA regions. *Taxon*, 58: 77-107.
- Marcos-García M. Á., Vujčić A., Mengual X. (2007) Revision of Iberian species of the genus *Merodon* (Diptera: Syrphidae). *European Journal of Entomology*, 104: 531-572.
- Martínez-Azorín M. (2008) Sistemática del género *Ornithogalum* L. (Hyacinthaceae) en el Mediterráneo occidental: implicaciones taxonómicas, filogenéticas y biogeográficas. Tesis doctoral. Universidad de Alicante, España.
- Martínez-Azorín M., Crespo M. B., Juan A. (2009) Nomenclature and taxonomy of *Ornithogalum divergens* Boreau (Hyacinthaceae) and related taxa of the polyploidy complex of *Ornithogalum umbellatum* L. *Candollea*, 64: 163-169.
- Martínez-Azorín M., Crespo M. B., Juan A. (2010) Taxonomic revision of *Ornithogalum* subg. *Ornithogalum* (Hyacinthaceae) in the Iberian Peninsula and the Balearic Islands. *Plant Systematics and Evolution*, 289: 181-211.
- Martínez-Azorín M., Crespo M. B., Juan A., Fay M. F. (2011) Molecular phylogenetics of subfamily Ornithogaloideae (Hyacinthaceae) based on nuclear and plastid DNA regions, including a new taxonomic arrangement. *Annals of Botany*, 107: 1-37.
- Martins S. R., Vences F. J., Saenz de Miera L. E., Barroso M. R., Carnide V. (2006) RAPD analysis of genetic diversity among and within Portuguese landraces of common white bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Portugal Scientia Horticulturae*, 108: 133-142.

- Meikle R. D. (1985) Flora of Cyprus, II. Kew Gardens, London.
- Mendonça E. G., Souza A. M., Viera F. A., Estopa R. A., Reis C. A. F., Carvalho D. (2014) Using Random Amplified Polymorphic DNA to Assess Genetic Diversity and Structure of Natural *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae) Populations in Riparian Forests. International Journal of Forestry Research, 2014: 1-8.
- Meriç Ç., Aksoy Ö., Dane F. (2011) Morphological and anatomical contributions to the taxonomical identification of two *Ornithogalum* taxa (*O. nutans* and *O. boucheanum*) from Flora of Turkey. Biologia, 66(1): 68-75.
- Meusel H., Jäger E., Weinert E. (1965) Vergleichende Chorologie der Zentraleuropäischen flora, I (text). Veb Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Mezev-Krichfalushiy G. N., Krichfalushiy V. V., Komendar V. I. (1989) Studies on the population biology of *Ornithogalum umbellatum* L. (Liliaceae) for elaboration strategy of the species survive in Transcarpathia. Tiscia, 24: 3-10.
- Miladinović D., Taški-Ajduković K., Nagl N., Kovačević B., Dimitrijević A., Imerovski I., Miladinović J., Dušanić N., Balalić I. (2014) Genetic diversity of wild sunflower (*Helianthus* sp.) accessions with different tolerance to mid-stalk white rot. Genetika, 46(2): 331-341.
- Moldenke H. (1954) The Economic Plants of the Bible. Economic Botany, 8(2): 152-163.
- Morden C. W., Harbin S. C. (2013) Evolution and Biogeographic Origins of the Endemic Hawaiian Genus *Hesperomannia* (Asteraceae). Pacific Science, 67(2): 219-235.
- Moret J., Favereau Y., Gorenflot R. (1991) A biometric study of the *Ornithogalum umbellatum* (Hyacinthaceae) complex in France. Plant Systematics and Evolution, 175: 73-86.
- Moret J. (1992) Numerical taxonomy applied to a study of some ploidy levels within the *Ornithogalum umbellatum* complex (Hyacinthaceae) in France. Nordic Journal of Botany, 12(2): 183-195.
- Moret J., Galland N. (1992) Phenetic, biogeographical, and evolutionary study of *Ornithogalum* subg. *Heliochamos* (Hyacinthaceae) in the western Mediterranean basin. Plant Systematics and Evolution, 181: 179-202.



- Moulin M. M., Rodrigues R., Gonçalves L. S. A., Sudré C. P., Pereira M. G. (2012) A comparison of RAPD and ISSR markers reveals genetic diversity among sweet potato landraces (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). *Acta Scientiarum*, 34(2): 139-147.
- Mucciarelli M., Ferrazzini D., Belletti P. (2014) Genetic Variability and Population Divergence in the Rare *Fritillaria tubiformis* subsp. *moggridgei* Rix (Liliaceae) as Revealed by RAPD Analysis. *PLoS ONE*, 9(7): e101967.
- Mukherjee A., Sikdar B., Ghosh B., Banerjee A., Ghosh E., Bhattacharya M., Roy S. C. (2013) RAPD and ISSR analysis of some economically important species, varieties, and cultivars of the genus *Allium* (Alliaceae). *Turkish Journal of Botany*, 37: 605-618.
- Mulholland D. A., Crouch N. R., Pohl T. L., Ndlovu E. (2004) A homoisoflavanone from *Ornithogalum longibracteatum* (Ornithogaloideae: Hyacinthaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 32: 499-502.
- Mulholland D. A., Schwikkard S. L., Crouch N. R. (2013) The chemistry and biological activity of the Hyacinthaceae. *Natural Product Reports*, 30: 1165-1210.
- Munthali M. T., Newbury H. J., Ford-Lloyd B. V. (1996) The detection of somaclonal variants of beet using RAPD. *Plant Cell Reports*, 15: 474-478.
- Nei M. (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 70: 3321-3323.
- Nei M., Li W.H. (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 76: 5269-5273.
- Nosrati H., Hosseinpour-Feizi M-A., Nikniazi M., Razban-Haghighi A. (2012) Genetic variation among different accessions of *Lathyrus sativus* (Fabaceae) revealed by RAPDs. *Botanica Serbica*, 36(1): 41-47.
- Nybom H., Bartish I. V. (2000) Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 3(2): 93-114.
- Nybom H. (2004) Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular ecology*, 13: 1143-1155.
- Obermeyer A. A. (1978) *Ornithogalum*: a revision of the southern African species. *Bothalia*, 12(3): 323-376.

- Oliveira L. O., Venturini B. A., Rossi A. A. B., Hastenreiter S. S. (2010) Clonal diversity and conservation genetics of the medicinal plant *Carapichea ipecacuanha* (Rubiaceae). *Genetics and Molecular Biology*, 33(1): 86-93.
- Osbaldeston T. A. (2000) *Dioscorides De Materia Medica: Being an Herbal with many other medicinal materials*. Ibis Press, Johannesburg.
- Özhatay N., Johnson M. A. T. (1996) Some karyological remarks on Turkish *Allium* sect. *Allium*, *Bellevalia*, *Muscari*, and *Ornithogalum* subg. *Ornithogalum*. *Bocconea*, 5: 239-249.
- Öztürk D., Koyuncu O., Yaylaci Ö. K., Özgişi K., Sezer O., Tokur S. (2014) Comparative anatomical studies on twelve *Ornithogalum* (Asparagaceae) species (eleven nonendemic, one endemic) belonging to subgen. *Ornithogalum* and subgen. *Beryllis*, growing naturally in Eskişehir (Central Anatolia-Turkey). *Journal of Scientific Research and Reviews*, 3(3): 40-49.
- Padmalatha K., Prasad M. N. V. (2006) Optimization of DNA isolation and PCR protocol for RAPD analysis of selected medicinal and aromatic plants of conservation concern from Peninsular India. *African Journal of Biotechnology*, 5(3): 230-234.
- Page R. D. M. (1996) TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in Biosciences*, 12: 357-358.
- Parlatore F. (1852) *Flora Italiana*, II. Tipografia le Monnier, Firenze.
- Pavlicek A., Hrda S., Flegr J. (1999) Free-Tree 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 the genus *Frankelia*. *Folia Biologica*, 45: 97-99.
- Pehlivan E., Akbulut N. (1991) Some investigations on the syrphid species attacking on Narcissus in Karaburun (Izmir) and the biology and control measures of *Merodon eques* (F.) (Diptera). *Doğa. Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 15: 47-81.
- Penner G. A., Bush A., Wise R., Kim W., Domie L., Kasha K., Laroche A., Scoles G., Molnar S. J., Fedak G. (1993) Reproducibility of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis among laboratories. *PCR Methods and Applications*, 2: 341-345.
- Perić V., Nikolić A., Babić V., Sudarić A., Srebrić M., Đorđević V., Mladenović Drinić S. (2014) Genetic relatedness of soybean genotypes based on agromorphological traits and RAPD markers. *Genetika*, 46(3): 839-854.

- Peruzzi L., Caparelli K. F., Cesca G. (2007) Contribution to the systematic knowledge of the genus *Ornithogalum* L. (Hyacinthaceae): morpho-anatomical variability of the leaves among different taxa. *Bocconea*, 21: 257-265.
- Petanidou T. (1991) Pollination ecology in a phryganic ecosystem. PhD thesis, Aristotelian University, Thessaloniki, Greece.
- Petrović S. (1882): Flora okoline Niša. Kraljevsko-srpska državna štamparija, Beograd.
- Pfossor M. F., Speta F. (1999) Phylogenetics of Hyacinthaceae Based on Plastid DNA Sequences. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 86(4): 852-875.
- Pignatti S. (1982) Flora D'Italia III. Edagricole, Bologna.
- Pinheiro L. R., Carregosa Rabbani A. R., Da Silva A. V. C., Da Silva Ledo A., Garcia Pereira K. L., Cardamone Diniz L. E. (2012) Genetic diversity and population structure in the Brazilian *Cattleya labiata* (Orchidaceae) using RAPD and ISSR markers. *Plant Systematics and Evolution*, 298: 1815-1825.
- Plančić M., Božin B., Kladar N., Rat M., Srđenović B. (2014) Phytochemical profile and biological activities of the genus *Ornithogalum* L. (Hyacinthaceae). *Biologia Serbica*, 36: 3-17.
- Popov G. V. (2001) What and where are *Merodon* feeding? First international workshop on the syrphidae. Staatliches Museum für Naturkunde. Stuttgart, Germany, p. 28-29.
- Popova M., Anastasov H. (1997) A morphological and anatomical study of two Bulgarian *Ornithogalum* species (Liliaceae). *Bocconea*, 5: 737-741.
- Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- Prychid C. J., Rudall P. J. (1999) Calcium Oxalate Crystals in Monocotyledons: A Review of their Structure and Systematics. *Annals of Botany*, 84: 725-739.
- Raamsdonk L. W. D. van (1984) Biosystematic studies on the *umbellatum-angustifolium* complex in the genus *Ornithogalum* L. Proefschrift, Utrecht.
- Raamsdonk L. W. D. van (1985) Pollen fertility and Seed Formation in the *Ornithogalum umbellatum/angustifolium* Complex (Liliaceae/Scilloideae). *Plant Systematics and Evolution*, 149: 287-297.

- Raamsdonk L. W. D. van (1986) Biosystematic studies on the *umbellatum-angustifolium* complex of the genus *Ornithogalum* (Liliaceae). II. Genome characterization and evolution. *Nordic Journal of Botany*, 6: 525-544.
- Raamsdonk L. W. D. van, Heringa J. (1987) Biosystematic studies on the *umbellatum-angustifolium* complex in the genus *Ornithogalum* (Liliaceae). III. Morphological analysis. *Nordic Journal of Botany*, 7: 631-637.
- Rat M., Andrić A., Živanović S. (2010) Significant characters for the infraspecies taxa of the species *Ornithogalum umbellatum* L. 1753 (Hyacinthaceae). 10<sup>th</sup> Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions. Vlasina Lake. Book of abstracts, p. 22.
- Rat M., Dobardžić N., Lakić N., Anačkov G., Božin B. (2011) Biomedical potential of *Ornithogalum umbellatum* L. 1753 (Asparagales, Hyacinthaceae). International Conference „Medicinal and aromatic plants in generating new values in 21st century“, Sarajevo, Bosnia and Hercegovina, p. 62.
- Rat M., Jovanović Ž., Stanisavljević N., Radak B., Bokić B., Radović S., Anačkov G. (2014) A simple and efficient DNA isolation method for *Ornithogalum* L. species (Hyacinthaceae, Asparagales). *Botanica Serbica*, 38(1): 185-189.
- Ricarte A., Marcos-García, M. Á., Rotheray, G. E. (2008) The early stages and life histories of three *Eumerus* and two *Merodon* species (Diptera: Syrphidae) from the Mediterranean region. *Entomologica Fennica*, 19: 129-141.
- Rosenberg N. A. (2004) Distruct: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4: 137-138.
- Rotheray G. E. (1994) Colour guide to hoverfly larvae (Diptera, Syrphidae) in Britain and Europe. *Dipterists Digest*, 9: 1-156.
- Rotheray G. E., Gilbert F. (1999) Phylogeny of Palearctic Syrphidae (Diptera): evidence from larval stages. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 127: 1-112.
- Rotheray G. E., Gilbert F. (2011) The natural history of hoverflies. Forrest text, UK, 334 pp.
- Rouy G. (1927) *Flore de France*. Paul Lechevalier, Paris.
- Säll T., Nilsson N. (1994) The robustness of recombination frequency estimates in intercrosses with dominant markers. *Genetics*, 137: 589-596.

- Schoen D. J., Brown A. H. D. (1991) Intraspecific variation in population gene diversity and effective population size correlates with the mating system in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88: 4494-4497.
- Shannon C. E., Weaver W. (1949) *The mathematical theory of communication*. Univ. of Illinois Press, Urbana.
- Shasany A. K., Darokar M. P., Dhawan S., Gupta A. K., Gupta S., Shukla A. K., Patra N. K., Khanuja S. P. S. (2005) Use of RAPD and AFLP Markers to Identify Inter- and Intraspecific Hybrids of *Mentha*. *Journal of Heredity*, 96(5): 542-549.
- Singh M. K., Singh N. B., Thakur S., Naik P. K. (2014) Molecular evaluations of thirty one clones of poplar based on RAPD and SSR molecular markers. *Genetika*, 46(3): 985-1001.
- Skorić M., Šiler B., Banjanac T., Živković J. N., Dmitrović S., Mišić D., Grubišić D. (2012) The reproducibility of RAPD profiles: Effect of PCR components on RAPD analysis of four *Centaureum* species. *Archives of biological sciences*, 64(1): 191-199.
- Skroch P., Nienhuis J. (1995) Impact of scoring error and reproducibility of RAPD data on RAPD based estimates of genetic distance. *Theoretical and Applied Genetics*, 91: 1086-1091.
- Soó R. (1973) *A Magyar flóra és vegetáció rendszertani-növényföldrajzi kézikönyve V.* Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Speight M. C. D. (2012) *Species accounts of European Syrphidae (Diptera)*. U: *Syrph the Net, the database of European Syrphidae*, Dublin: Syrph the Net publications.
- Speta F. (1982) Liliaceae. U: Häfliger E. (editor) *Monocot weeds 3: Monocot weeds excluding grasses*. Documenta Ciba-Geigy, Basel, Switzerland.
- Speta F. (2000) Beitrag zur Kenntnis von *Ornithogalum* s.l. (Hyacinthaceae) in Oberösterreich. *Beiträge zur Naturkunde Oberösterreichs*, 9: 743-792.
- Ståhls G., Vujić A., Pérez-Bañon C., Radenković S., Rojo S., Petanidou T. (2009) COI barcodes for identification of *Merodon* hoverflies (Diptera, Syrphidae) of Lesvos Island, Greece. *Molecular Ecology Resources*, 9: 1431-1438.
- Stepanenko O. V., Popov G. V. (1997) On the immature stages biology of *Merodon nigratarsis* Rondani, 1845 (Diptera: Syrphidae). *The Kharkov Entomological Society Gazette*, 5(2): 40-43.

- Stuckenberg B. R. (1956) The immature stages of *Merodon bombiformis* Hull, a potential pest of bulbs in South Africa. *Journal of the Entomological Society of South Africa*, 19(2): 219-224.
- Suhr R., Thiem J. (2004) Studies Towards the Synthesis of the b-D-Xyl-(1→3)-L-ara Disaccharide Moiety of OSW-1 from *Ornithogalum saundersiae*. *Journal of carbohydrate chemistry*, 23(5): 261-276.
- Suturović E. (2008) Povezanost taksona *Merodon loewi* van der Goot, 1964 (Diptera: Syrphidae) sa vrstama roda *Ornithogalum* L. 1753 (Amaryllidales, Hyacinthaceae). Master rad. Univerzitet u Novom Sadu. Srbija.
- Takhtajan A. (1997) Diversity and classification of flowering plants. New York: Columbia University Press.
- Tan K., Stevanović V., Strid A. (2007) Distribution and centres of diversity for endemic geophytic Monocots in the Balcans. *Bocconea*, 21: 139-146.
- Tatić B., Petković B. (1991) Morfologija biljaka. Naučna knjiga, Beograd.
- Tilton V. R., Lersten N. R. (1981) Ovule development in *Ornithogalum caudatum* (Liliaceae) with a review of selected papers on angiosperm reproduction III. Nucellus and megagametophyte. *New Phytologist*, 88: 477-504.
- Tornadore N., Garbari F. (1979) Il genere « *Ornithogalum* » L. (Liliaceae) in Italia. 3. Contributo alla revisione citotassonomica. *Webbia*, 33(2): 379-423.
- Treul R., Holmes D. S., Smith B. M., Astley M. A., Johnson T., Trueman L. J. (2001) *Allium ampeloprasum* var. *babingtonii* (Alliaceae): an isoclinal plant found across a range of habitats in S.W. England. *Plant Ecology*, 155: 229-235.
- Varma A., Padh H., Shrivastava N. (2007) Plant genomic DNA isolation: An art or a science. *Biotechnology Journal*, 2: 386-392.
- Virk P. S., Ford-Lloyd B. V., Jackson M. T., Newbury H. J. (1995) Use of RAPD for the study of diversity within plant germplasm collections. *Heredity*, 74: 170-179.
- Vogelsang A. (1955) Clinical Trial of *Ornithogalum umbellatum* on the Human Heart: (Preliminary Report). *Canadian Medical Association Journal*, 73(4): 295-296.

- Vujić A., Radenković S., Ståhls G., Ačanski J., Stefanović A., Veselić S., Andrić A., Hayat R. (2012) Systematics and taxonomy of the ruficornis group of genus *Merodon* Meigen (Diptera: Syrphidae). *Systematic Entomology*, 37: 578-602.
- Wallace B., Wallace I. D. (1990) An unexpected rearing record for *Merodon equestris*. *Hoverfly Newsletter*, 11: 8.
- Wan Y., Wu Y., Lian L., Nan J. (2012) Protective effect of *Ornithogalum saundersiae* Ait (Liliaceae) against acetaminophen-induced acute liver injury via CYP2E1 and HIF-1 $\alpha$ . *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10(3): 177-184.
- Wang C-T., Wang W-Y., Chiang C-H., Wang Y-N., Lin T-P. (1996) Low genetic variation in *Amentotaxus formosana* Li revealed by isozyme analysis and random amplified polymorphic DNA markers. *Heredity*, 77: 388-395.
- Welsh J., McClelland M. (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, 18(24): 7213-7218.
- Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18: 6531-6535.
- Williams J. G. K., Hanafey M. K., Rafalski J. A., Tingey S. V. (1993) Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Methods in Enzymology*, 218: 705-740.
- Wróblewska A., Brzosko E. (2006) The genetic structure of the steppe plant *Iris aphylla* L. at the northern limit of its geographical range. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 152: 245-255.
- Yang X., Quiros C. F. (1995) Construction of a genetic linkage map in celery using DNA based markers. *Genome*, 38: 36-44.
- Yeh F. C., Yang R. C., Boyle T. (1999) POPGENE Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. University of Alberta, Edmonton, Canada.
- Yilmaz Çitak B., Dural H., Büyükkartal H. N., Pinar N. M. (2015) Morphological, anatomical, palynological, and micromorphological characters of 2 endemic species of *Ornithogalum* (*O. chetikianum* and *O. demirizianum*) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 39: 48-59.
- Zahariadi C. (1966) *Ornithogalum* L. U: Nyárády E. I. (editor) *Flora Republicii Socialiste România*. Academiei Republicii Socialiste România, Bucureşti, 11: 317-349.

- Zahariadi C. (1980) *Ornithogalum* L. U: Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M., Webb D. A. (editori) *Flora Europaea*. Cambridge University Press, 5: 35-40.
- Zhou Y., Garcia-Prieto C., Carney D. A. , Xu R., Pelicano H., Kang Y., Yu W., Lou C., Kondo S., Liu J., Harris D. M., Estrov Z., Keating M. J. , Jin Z., Huang P. (2005) OSW-1: a Natural Compound With Potent Anticancer Activity and a Novel Mechanism of Action. *Journal of the National Cancer Institute*, 97(23): 1781-1785.
- [http://www.keldbach.com/Personal\\_Website/Flowers,\\_Plants\\_%26\\_Trees.html](http://www.keldbach.com/Personal_Website/Flowers,_Plants_%26_Trees.html) (pristupljeno 8.10.2014.)
- <http://www.invasive.org/browse/subinfo.cfm?sub=6109&fam=268&genus=Ornithogalum> (pristupljeno 8.10.2014.)
- <http://www.invasiveplantatlas.org/subject.html?sub=6109> (pristupljeno 8.10.2014.)
- [http://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/03030800-0b07-490a-8d04-0605030c0f01/media/Html/Ornithogalum\\_umbellatum.htm](http://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/03030800-0b07-490a-8d04-0605030c0f01/media/Html/Ornithogalum_umbellatum.htm) (pristupljeno 12.03.2015.)
- <http://riverina.ils.nsw.gov.au/home> Star of Bethlehem (*Ornithogalum umbellatum*). Best management practices for dryland cropping systems. Australian government. (pristupljeno 12.03.2015.)



**PRILOG**

**Prilog: Tabela I** Morfološke karakteristike vegetativnog regiona (merene izražene u cm)

Lokalitet	Dužina lukovice	Cv	Širina lukovice	Cv	Dužina / širina lukovice	Cv	Visina skapusa	Cv
SZ	(1,36) 1,73 (2,13)	11	(1,36) 1,53 (1,68)	6	(1,01) 1,13 (1,27)	6	(6,95) 8,62 (10,42)	14
BK	(1,58) 2,26 (2,78)	20	(1,59) 2,43 (3,19)	22	(0,81) 0,94 (0,99)	7	(19,26) 21,84 (24,91)	9
RS	(1,77) 2,32 (2,87)	19	(1,90) 2,30 (2,71)	15	(0,92) 1,01 (1,33)	14	(15,14) 20,19 (27,49)	23
ZS	(1,02) 1,69 (2,11)	25	(0,95) 1,69 (2,38)	29	(0,89) 1,03 (1,34)	17	(6,09) 11,14 (16,05)	30
NM	(1,55) 1,91 (2,34)	15	(1,42) 1,75 (2,31)	17	(1,01) 1,09 (1,21)	6	(9,66) 15,14 (20,86)	29
VR	(1,87) 2,15 (2,88)	13	(1,46) 1,89 (2,30)	14	(1,05) 1,15 (1,38)	10	(7,90) 14,15 (19,61)	21
DE	(1,45) 1,87 (2,14)	11	(1,25) 1,65 (1,90)	14	(1,03) 1,14 (1,28)	6	(12,10) 15,10 (18,55)	13
BP	(1,72) 2,18 (2,58)	12	(1,95) 2,55 (3,36)	16	(0,64) 0,87 (0,98)	12	(8,11) 13,97 (22,91)	28
RT	(1,21) 1,67 (2,40)	20	(1,38) 1,76 (2,19)	17	(0,79) 0,95 (1,11)	12	(8,15) 11,65 (16,88)	22
DJ	(1,46) 1,66 (1,89)	8	(1,26) 1,53 (1,74)	10	(1,03) 1,09 (1,18)	5	(12,52) 19,84 (28,69)	26
SB	(1,35) 1,77 (2,47)	20	(1,13) 1,48 (2,06)	17	(1,01) 1,19 (1,40)	11	(7,13) 10,37 (13,38)	21
VA	(1,64) 1,96 (2,65)	16	(1,41) 1,66 (2,31)	15	(1,00) 1,19 (1,36)	11	(14,08) 17,53 (21,94)	14
KE	(1,48) 2,30 (3,03)	18	(1,48) 2,02 (2,82)	19	(0,83) 1,16 (1,67)	22	(9,12) 15,59 (23,54)	33
VK	(1,59) 2,17 (3,83)	29	(1,26) 2,19 (3,54)	28	(0,82) 1,00 (1,29)	13	(12,74) 17,70 (20,36)	15
BO	(1,88) 2,14 (2,29)	7	(1,21) 1,76 (2,20)	8	(1,04) 1,26 (1,55)	13	(8,36) 14,67 (21,46)	32
OZ	(1,58) 2,05 (2,67)	15	(1,59) 1,78 (1,86)	4	(0,86) 1,15 (1,46)	14	(14,97) 21,14 (30,56)	22
CO	(1,52) 1,78 (1,93)	7	(1,27) 1,53 (2,04)	13	(0,91) 1,18 (1,40)	11	(13,44) 17,54 (22,32)	15
ZB	(1,30) 1,77 (2,22)	16	(1,29) 1,74 (2,21)	16	(0,85) 1,02 (1,16)	9	(7,21) 12,96 (16,61)	23
GR	(1,23) 1,59 (1,88)	12	(1,50) 1,71 (2,05)	10	(0,81) 0,93 (0,99)	6	(7,70) 11,86 (16,41)	22
SS	(1,31) 1,52 (1,83)	10	(1,27) 1,48 (1,81)	11	(0,91) 1,03 (1,23)	8	(17,98) 20,85 (24,89)	11
VI	(1,76) 1,91 (2,17)	7	(1,46) 1,81 (2,12)	11	(0,92) 1,07 (1,48)	15	(13,04) 18,97 (28,48)	24
MO	(1,54) 1,99 (2,69)	17	(1,60) 2,32 (3,22)	24	(0,66) 0,87 (1,02)	12	(6,69) 19,44 (24,43)	25
SU	(1,48) 1,83 (2,74)	20	(1,43) 1,89 (2,84)	20	(0,83) 0,98 (1,06)	7	(10,98) 17,92 (23,16)	21
NS	(1,46) 1,91 (2,78)	21	(1,18) 1,82 (2,50)	19	(0,89) 1,05 (1,24)	10	(10,23) 13,42 (18,18)	17
TI	(2,03) 2,72 (3,43)	15	(2,98) 3,48 (4,15)	9	(0,64) 0,78 (0,86)	8	(16,80) 22,04 (25,57)	15
Prosek	(1,02) 1,95 (3,83)	21	(0,95) 1,90 (4,15)	28	(0,64) 1,05 (1,67)	15	(6,09) 16,18 (30,56)	31
F*	6,73		16,71		8,83		11,65	

Podaci su predstavljeni u vidu aritmetičke sredine kao i minimalnih i maksimalnih vrednosti (u zagradama); Cv – koeficijent varijacije [%].

\*Sve F-vrednosti (ANOVA) su statistički značajne za nivo signifikantnosti  $p < 0,05$ .

**Prilog: Tabela I nastavak** Morfološke karakteristike vegetativnog regiona (merene izražene u cm)

Lokalitet	Dužina lista	Cv	Širina lista	Cv	Širina bele pruge	Cv
SZ	(10,95) 10,95 (10,95)		(0,11) 0,11 (0,11)	1		
BK	(34,37) 40,78 (49,56)	11	(0,26) 0,47 (0,75)	28	(0,09) 0,15 (0,25)	38
RS	(21,04) 36,09 (50,30)	28	(0,20) 0,37 (0,61)	42	(0,11) 0,16 (0,27)	41
ZS	(11,20) 18,26 (24,45)	25	(0,13) 0,22 (0,32)	34	(0,06) 0,09 (0,12)	24
NM	(23,04) 23,04 (23,04)		(0,17) 0,26 (0,34)	15	(0,15) 0,15 (0,15)	
VR	(19,19) 25,36 (30,50)	14	(0,14) 0,29 (0,53)	51	(0,09) 0,15 (0,23)	35
DE	(21,04) 27,12 (33,80)	16	(0,19) 0,26 (0,39)	28	(0,07) 0,10 (0,14)	33
BP	(13,24) 24,18 (39,78)	28	(0,24) 0,34 (0,44)	18	(0,09) 0,11 (0,13)	12
RT	(14,23) 19,70 (30,80)	26	(0,27) 0,41 (0,77)	38	(0,09) 0,12 (0,15)	20
DJ	(14,07) 21,29 (27,08)	22	(0,15) 0,22 (0,33)	25	(0,06) 0,08 (0,09)	22
SB	(9,18) 16,50 (21,38)	20	(0,22) 0,29 (0,40)	20	(0,11) 0,13 (0,16)	15
VA	(20,97) 24,35 (28,18)	10	(0,12) 0,19 (0,26)	21	(0,09) 0,11 (0,12)	16
KE	(17,82) 24,73 (34,15)	25	(0,13) 0,19 (0,28)	22		
VK	(17,96) 26,96 (41,43)	22	(0,24) 0,43 (0,66)	30	(0,11) 0,18 (0,24)	32
BO	(12,00) 26,66 (39,91)	36	(0,20) 0,43 (0,69)	40	(0,10) 0,16 (0,23)	32
OZ	(27,21) 35,97 (54,15)	24	(0,23) 0,40 (0,79)	45	(0,11) 0,17 (0,29)	36
CO	(18,00) 21,72 (24,11)	7	(0,18) 0,23 (0,29)	14	(0,05) 0,08 (0,10)	24
ZB	(20,12) 26,35 (33,74)	15	(0,16) 0,23 (0,34)	20	(0,10) 0,11 (0,14)	18
GR	(9,86) 19,80 (26,79)	25	(0,11) 0,20 (0,40)	44		
SS	(22,99) 25,36 (28,96)	7	(0,19) 0,28 (0,51)	35	(0,09) 0,13 (0,16)	28
VI	(21,51) 31,84 (41,82)	17	(0,22) 0,35 (0,42)	20	(0,10) 0,14 (0,19)	19
MO	(31,38) 36,80 (49,07)	17	(0,22) 0,42 (0,66)	36	(0,12) 0,16 (0,19)	16
SU	(21,43) 35,08 (49,05)	27	(0,37) 0,43 (0,51)	11	(0,11) 0,14 (0,19)	17
NS	(18,31) 23,91 (35,65)	24	(0,17) 0,25 (0,32)	20	(0,13) 0,18 (0,23)	36
TI	(19,71) 37,64 (47,79)	24	(0,53) 0,63 (0,73)	12	(0,14) 0,16 (0,19)	10
Prosek	(9,18) 26,38 (54,15)	34	(0,11) 0,31 (0,79)	47	(0,05) 0,14 (0,29)	32
F*	16,30		13,53			

Podaci su predstavljeni u vidu aritmetičke sredine kao i minimalnih i maksimalnih vrednosti (u zagradama); Cv – koeficijent varijacije [%].

\*Sve F-vrednosti (ANOVA) su statistički značajne za nivo signifikantnosti  $p < 0,05$ .

**Prilog: Tabela II** Morfološke karakteristike regiona cvasti (merene izražene u cm)

Lok.	Broj cvetova	Cv	Dužina cvasti	Cv	Prečnik cvasti	Cv	Dužina / prečnik cvasti	Cv	Dužina brakteje	Cv	Širina brakteje	Cv
SZ	(5) 9 (14)	30	(2,56) 4,86 (8,23)	36	(2,51) 4,47 (7,48)	36	(0,58) 1,13 (1,59)	28	(1,85) 2,36 (2,79)	14	(0,29) 0,33 (0,36)	7
BK	(6) 10 (17)	32	(6,12) 9,27 (13,77)	28	(6,78) 10,5 (13,04)	20	(0,59) 0,96 (1,60)	37	(3,25) 4,06 (4,74)	11	(0,42) 0,61 (0,67)	13
RS	(4) 6 (7)	22	(1,32) 1,67 (2,28)	20	(0,58) 1,25 (1,98)	39	(0,75) 1,52 (2,30)	38	(2,96) 3,67 (4,59)	29	(0,27) 0,36 (0,49)	19
ZS	(4) 10 (20)	55	(1,63) 3,25 (7,50)	66	(1,89) 4,14 (6,61)	42	(0,43) 0,79 (1,13)	35	(1,90) 2,76 (4,07)	27	(0,19) 0,31 (0,59)	47
NM	(5) 10 (21)	44	(3,74) 6,03 (8,44)	23	(4,69) 8,21 (12,26)	29	(0,42) 0,77 (1,09)	27	(2,52) 3,07 (3,87)	14	(0,36) 0,46 (0,61)	15
VR	(6) 9 (18)	37	(2,73) 5,22 (7,31)	30	(3,86) 5,91 (9,06)	28	(0,55) 0,95 (1,90)	46	(2,43) 3,02 (3,70)	15	(0,24) 0,34 (0,72)	43
DE	(6) 10 (16)	32	(4,41) 8,10 (11,83)	30	(3,47) 6,42 (9,62)	33	(0,53) 1,43 (2,62)	51	(2,32) 2,91 (3,52)	16	(0,45) 0,48 (0,52)	6
BP	(3) 7 (10)	32	(2,06) 3,33 (5,25)	25	(1,00) 4,11 (6,70)	45	(0,51) 1,05 (3,36)	79	(2,50) 3,24 (3,85)	13	(0,56) 0,61 (0,63)	4
RT	(5) 8 (12)	27	(1,84) 3,28 (4,70)	25	(2,40) 4,49 (8,99)	39	(0,46) 0,77 (1,18)	25	(2,54) 3,21 (3,94)	14	(0,40) 0,56 (0,66)	13
DJ	(3) 5 (8)	34	(1,25) 3,64 (5,81)	39	(1,66) 5,55 (8,04)	33	(0,20) 0,70 (1,13)	37	(1,99) 2,84 (3,63)	17	(0,29) 0,38 (0,44)	11
SB	(3) 7 (11)	37	(1,51) 3,45 (6,02)	40	(2,21) 4,19 (5,54)	28	(0,43) 0,83 (1,24)	29	(2,08) 2,92 (3,38)	15	(0,25) 0,39 (0,70)	35
VA	(4) 5 (6)	13	(2,05) 3,94 (5,39)	25	(3,83) 6,37 (10,18)	27	(0,53) 0,62 (0,87)	16	(2,62) 3,08 (3,66)	10	(0,42) 0,53 (0,74)	17
KE	(9) 14 (19)	19	(4,16) 6,60 (10,70)	37	(4,30) 7,48 (15,46)	45	(0,53) 0,98 (2,01)	47	(2,28) 3,20 (4,46)	22	(0,22) 0,31 (0,40)	18
VK	(10) 14 (18)	19	(5,89) 8,25 (13,49)	30	(4,63) 7,18 (10,28)	22	(0,77) 1,18 (1,85)	29	(2,57) 3,17 (4,07)	18	(0,35) 0,41 (0,47)	12
BO	(7) 10 (14)	25	(3,02) 6,57 (11,66)	46	(1,57) 4,94 (8,71)	51	(1,03) 1,47 (2,66)	41	(2,89) 4,07 (5,36)	23	(0,23) 0,34 (0,41)	22
OZ	(4) 7 (12)	37	(3,72) 7,48 (18,08)	61	(2,13) 4,23 (8,63)	45	(0,98) 1,80 (3,51)	41	(2,67) 4,05 (5,85)	27	(0,33) 0,42 (0,55)	13
CO	(4) 6 (9)	29	(1,80) 3,00 (4,98)	37	(1,11) 2,99 (6,40)	64	(0,40) 1,23 (1,90)	41	(1,94) 2,76 (3,23)	15	(0,25) 0,41 (0,60)	30
ZB	(4) 9 (15)	40	(2,92) 5,37 (7,19)	22	(2,92) 4,96 (6,66)	25	(0,74) 1,11 (1,46)	19	(1,95) 3,05 (3,74)	21	(0,35) 0,43 (0,57)	14
GR	(3) 5 (7)	22	(1,17) 2,02 (3,06)	36	(1,11) 2,45 (6,21)	58	(0,49) 0,93 (1,60)	41	(1,91) 2,76 (3,13)	14	(0,34) 0,42 (0,53)	17
SS	(3) 5 (10)	39	(0,73) 1,82 (2,64)	29	(0,82) 1,92 (3,13)	36	(0,63) 1,02 (1,99)	38	(2,17) 2,63 (2,97)	10	(0,38) 0,47 (0,63)	18
VI	(3) 7 (13)	52	(0,98) 4,98 (12,2)	76	(1,10) 5,69 (10,66)	60	(0,41) 0,90 (2,02)	50	(2,95) 3,86 (5,29)	19	(0,44) 0,59 (0,84)	22
MO	(6) 9 (13)	27	(1,65) 3,04 (6,74)	48	(2,22) 3,25 (6,01)	38	(0,52) 0,96 (1,44)	32	(2,60) 3,62 (4,32)	17	(0,37) 0,48 (0,56)	16
SU	(2) 6 (11)	44	(2,49) 4,29 (8,44)	46	(2,98) 5,44 (8,51)	34	(0,43) 0,85 (1,64)	50	(3,04) 3,85 (4,86)	18	(0,62) 0,75 (0,86)	10
NS	(6) 9 (14)	31	(3,23) 5,23 (6,73)	25	(5,82) 8,12 (11,80)	26	(0,47) 0,65 (0,87)	19	(2,91) 3,45 (3,85)	8	(0,23) 0,33 (0,43)	22
TI	(6) 7 (8)	10	(1,52) 2,85 (4,08)	27	(2,60) 3,95 (5,05)	23	(0,42) 0,75 (1,00)	30	(2,78) 3,31 (4,00)	14	(0,53) 0,76 (1,01)	20
Pr.	(2) 8 (21)	43	(0,73) 4,74 (18,08)	59	(0,58) 5,18 (15,46)	53	(0,20) 1,00 (3,51)	49	(1,22) 3,19 (5,85)	22	(0,19) 0,46 (1,01)	32
F*	7,70		10,75		11,28		4,28		6,85		19,66	

Podaci su predstavljeni u vidu aritmetičke sredine kao i minimalnih i maksimalnih vrednosti (u zagradama); Cv – koeficijent varijacije [%].

\*Sve F-vrednosti (ANOVA) su statistički značajne za nivo signifikantnosti  $p < 0,05$ .

**Prilog: Tabela II nastavak** Morfološke karakteristike regiona cvasti (merene izražene u cm)

Lok.	Dužina najniže cvetne drške	Cv	Dužina brakteje / dužina cvetne drške	Cv	Dužina središnje cvetne drške	Cv	Ugao između cvetne drške i skapusa [°]	Cv
SZ	(3,77) 5,67 (9,49)	32	(0,28) 0,44 (0,55)	22	(1,64) 2,99 (4,79)	35	(39) 46 (58)	15
BK	(6,01) 7,30 (9,17)	14	(0,48) 0,56 (0,71)	12	(3,49) 4,60 (5,43)	14	(76) 84 (102)	10
RS	(1,76) 3,68 (5,64)	36	(0,66) 0,81 (0,96)	17	(0,89) 1,74 (2,92)	39	(16) 24 (32)	25
ZS	(3,63) 5,73 (7,04)	21	(0,40) 0,48 (0,62)	17	(1,95) 3,12 (5,02)	37	(29) 45 (56)	24
NM	(4,69) 6,89 (9,77)	24	(0,34) 0,46 (0,65)	21	(3,17) 4,18 (5,47)	19	(44) 67 (87)	19
VR	(3,65) 5,26 (6,80)	15	(0,44) 0,59 (0,78)	21	(2,99) 3,81 (4,98)	16	(42) 57 (74)	18
DE	(5,30) 8,33 (11,27)	22	(0,28) 0,36 (0,46)	16	(2,86) 4,65 (6,39)	24	(37) 42 (51)	11
BP	(4,06) 6,05 (9,38)	25	(0,40) 0,55 (0,79)	19	(2,44) 3,18 (4,28)	23	(23) 39 (84)	47
RT	(3,13) 5,51 (7,05)	22	(0,41) 0,60 (0,81)	22	(2,06) 3,42 (4,79)	25	(32) 50 (65)	25
DJ	(3,72) 6,07 (10,43)	35	(0,35) 0,50 (0,63)	19	(2,18) 3,40 (5,48)	33	(18) 58 (83)	32
SB	(3,85) 4,94 (6,21)	14	(0,45) 0,60 (0,80)	16	(1,58) 2,93 (4,59)	32	(45) 57 (70)	11
VA	(4,23) 5,81 (7,00)	16	(0,45) 0,54 (0,66)	14	(2,38) 3,53 (4,55)	21	(46) 60 (70)	15
KE	(5,08) 7,46 (10,77)	24	(0,32) 0,44 (0,56)	16	(2,73) 4,19 (6,69)	27	(23) 56 (81)	39
VK	(5,48) 7,27 (10,68)	21	(0,33) 0,45 (0,65)	24	(3,47) 4,54 (6,43)	20	(40) 56 (70)	14
BO	(3,14) 6,18 (9,90)	41	(0,48) 0,72 (0,95)	27	(2,00) 3,77 (5,53)	39	(27) 45 (62)	29
OZ	(4,21) 6,02 (10,03)	31	(0,46) 0,69 (0,99)	24	(2,68) 4,22 (7,01)	33	(31) 46 (81)	30
CO	(2,29) 3,69 (5,24)	30	(0,53) 0,76 (0,96)	22	(1,08) 2,04 (3,60)	51	(18) 35 (61)	48
ZB	(4,42) 5,54 (8,33)	20	(0,43) 0,56 (0,73)	20	(2,39) 3,53 (5,57)	23	(39) 49 (67)	19
GR	(2,37) 3,51 (4,54)	21	(0,56) 0,76 (0,98)	17	(0,91) 1,87 (2,74)	28	(13) 35 (75)	49
SS	(2,50) 3,47 (4,46)	17	(0,66) 0,76 (0,93)	12	(0,88) 1,54 (2,17)	27	(22) 30 (34)	12
VI	(3,94) 6,44 (9,77)	33	(0,46) 0,63 (0,86)	20	(1,72) 3,61 (6,17)	44	(38) 51 (62)	14
MO	(3,34) 5,30 (7,23)	23	(0,54) 0,70 (0,89)	18	(1,50) 2,32 (3,52)	26	(28) 38 (62)	27
SU	(3,98) 5,47 (9,20)	28	(0,49) 0,72 (0,89)	16	(2,36) 3,28 (5,36)	26	(39) 62 (95)	29
NS	(3,83) 6,13 (8,19)	22	(0,44) 0,58 (0,76)	16	(3,17) 4,48 (5,70)	16	(72) 77 (82)	5
TI	(3,52) 5,30 (7,24)	26	(0,38) 0,66 (0,95)	27	(2,07) 3,07 (3,93)	22	(35) 41 (60)	21
Prosek	(1,76) 5,74 (11,27)	32	(0,28) 0,59 (0,99)	27	(0,88) 3,38 (7,01)	37	(13) 51 (102)	36
F*	6,90		10,23		9,10		12,67	

Podaci su predstavljeni u vidu aritmetičke sredine kao i minimalnih i maksimalnih vrednosti (u zagradama); Cv – koeficijent varijacije [%].

\*Sve F-vrednosti (ANOVA) su statistički značajne za nivo signifikantnosti  $p < 0,05$ .

**Prilog: Tabela III** Morfološke karakteristike cveta i ploda (izražene u mm)

Lok.	Dužina spoljašnjih listića perigona	Cv	Dužina unutrašnjih listića perigona	Cv	Širina spoljašnjih listića perigona	Cv	Širina unutrašnjih listića perigona	Cv	Širina zelene pruge spoljašnjih listića perigona	Cv	Širina zelene pruge unutrašnjih listića perigona	Cv
SZ	(10,3) 12,6 (13,5)	9	(8,9) 11,3 (13,3)	13	(2,3) 2,8 (3,6)	15	(1,7) 2,5 (3,1)	18	(1,2) 1,9 (2,4)	19	(0,4) 0,9 (1,2)	26
BK	(14,0) 16,5 (18,5)	10	(12,8) 14,9 (16,9)	9	(3,7) 4,8 (5,5)	12	(3,0) 3,5 (4,3)	11	(2,8) 3,5 (4,2)	16	(1,3) 1,7 (2,3)	18
RS	(16,5) 18,1 (21,2)	8	(15,2) 16,6 (18,4)	6	(4,7) 6,1 (7,0)	12	(4,0) 5,2 (6,5)	15	(3,0) 4,9 (6,0)	20	(2,1) 3,1 (4,1)	22
ZS	(13,5) 14,9 (16,6)	8	(11,4) 12,9 (15,2)	10	(2,6) 4,0 (4,9)	21	(2,2) 3,0 (4,1)	27	(1,9) 2,8 (3,4)	19	(1,0) 1,3 (1,5)	14
NM	(12,1) 14,0 (15,8)	8	(10,9) 12,8 (13,9)	8	(1,9) 2,8 (4,3)	23	(1,5) 2,3 (3,4)	26	(1,2) 1,8 (2,7)	28	(0,7) 0,9 (1,3)	24
VR	(9,2) 13,1 (16,0)	17	(8,9) 11,4 (13,8)	16	(2,2) 3,1 (5,2)	29	(1,4) 2,4 (3,1)	21	(1,4) 2,0 (3,1)	25	(0,9) 1,3 (1,7)	21
DE	(11,9) 13,7 (15,7)	11	(10,1) 12,0 (14,2)	11	(3,0) 3,7 (4,5)	13	(2,3) 3,2 (4,4)	19	(1,8) 2,3 (3,1)	18	(0,8) 1,0 (1,4)	17
BP	(16,2) 17,1 (18,6)	5	(14,4) 15,1 (15,7)	3	(2,9) 4,8 (5,8)	18	(3,7) 4,4 (5,6)	15	(2,0) 3,2 (4,0)	22	(1,1) 1,5 (1,8)	14
RT	(14,7) 17,5 (22,1)	15	(12,4) 15,2 (18,0)	12	(4,3) 5,2 (7,1)	15	(2,9) 4,0 (5,3)	17	(2,8) 3,4 (4,1)	11	(1,0) 1,4 (1,9)	21
DJ	(13,6) 15,6 (17,3)	8	(11,1) 13,2 (15,1)	11	(3,0) 3,7 (4,3)	13	(2,0) 2,7 (3,5)	20	(1,5) 2,4 (3,1)	21	(0,7) 1,0 (1,4)	25
SB	(15,9) 18,5 (20,6)	8	(14,4) 16,6 (19,0)	9	(2,6) 4,2 (5,0)	18	(1,9) 3,2 (4,0)	21	(1,6) 2,8 (3,7)	22	(0,7) 1,5 (2,4)	35
VA	(12,4) 14,9 (17,2)	9	(10,9) 12,8 (14,8)	10	(2,4) 3,4 (4,5)	18	(1,8) 2,4 (3,2)	17	(1,5) 2,1 (2,6)	18	(0,7) 1,0 (1,3)	21
KE	(11,4) 12,3 (13,4)	4	(10,2) 11,1 (12,1)	5	(2,4) 3,4 (5,5)	24	(1,5) 2,4 (3,7)	23	(1,5) 2,3 (3,3)	19	(1,0) 1,2 (1,3)	6
VK	(14,0) 16,6 (21,3)	14	(11,8) 14,4 (19,0)	18	(2,7) 3,6 (5,5)	24	(1,8) 2,7 (3,7)	23	(1,8) 2,5 (3,5)	24	(1,0) 1,2 (1,7)	17
BO	(14,2) 16,9 (20,4)	13	(12,4) 14,5 (18,1)	17	(3,6) 4,1 (5,2)	15	(2,5) 2,9 (3,4)	14	(2,2) 3,1 (3,9)	20	(1,4) 1,6 (2,2)	18
OZ	(16,2) 18,8 (21,6)	9	(14,8) 16,8 (19,8)	9	(2,9) 4,8 (6,2)	23	(2,7) 4,3 (5,4)	20	(1,9) 3,2 (4,0)	20	(0,8) 1,4 (1,7)	18
CO	(13,7) 15,4 (17,5)	10	(12,2) 13,6 (16,4)	11	(2,7) 4,0 (5,5)	20	(2,6) 3,2 (4,4)	16	(1,8) 2,7 (4,1)	26	(0,7) 1,3 (1,9)	29
ZB	(10,5) 15,2 (19,1)	17	(08,7) 13,7 (16,7)	17	(2,1) 3,2 (4,4)	22	(1,7) 2,5 (4,0)	27	(1,6) 2,1 (3,1)	26	(0,8) 1,0 (1,6)	25
GR	(13,1) 15,8 (1,95)	12	(11,3) 14,1 (17,1)	13	(3,6) 4,2 (5,0)	10	(3,1) 3,4 (4,1)	10	(2,2) 2,9 (3,7)	15	(0,8) 1,1 (1,3)	16
SS	(13,0) 14,3 (15,5)	6	(11,8) 12,9 (13,9)	5	(3,2) 4,8 (6,1)	20	(2,8) 4,1 (6,0)	29	(2,3) 3,3 (4,1)	18	(0,9) 1,3 (2,1)	27
VI	(13,5) 16,9 (21,5)	15	(12,4) 15,5 (20,5)	15	(3,0) 4,3 (6,2)	26	(1,8) 3,5 (5,5)	34	(2,1) 2,8 (3,7)	18	(1,1) 1,4 (1,8)	18
MO	(14,3) 15,9 (17,7)	8	(13,0) 14,4 (16,8)	9	(3,9) 5,1 (7,5)	21	(3,1) 4,3 (5,6)	17	(2,6) 3,5 (5,0)	21	(1,0) 1,4 (1,8)	19
SU	(14,0) 18,1 (21,4)	14	(13,1) 16,4 (19,9)	15	(4,5) 5,5 (6,5)	15	(3,5) 4,5 (6,0)	16	(3,1) 3,9 (4,8)	17	(1,3) 2,1 (2,9)	26
NS	(13,3) 15,9 (19,7)	14	(11,0) 13,5 (16,9)	14	(2,6) 4,2 (5,9)	27	(2,1) 3,5 (5,6)	32	(1,9) 3,0 (4,4)	32	(1,1) 2,0 (2,9)	34
TI	(15,5) 18,5 (22,0)	13	(10,6) 16,4 (20,2)	18	(4,6) 6,1 (7,7)	19	(3,4) 5,0 (7,0)	24	(3,4) 4,6 (6,8)	25	(1,9) 2,9 (4,3)	30
Prosek	(9,2) 15,8 (22,1)	16	(8,7) 14,1 (20,5)	17	(1,9) 4,2 (7,7)	28	(1,4) 3,4 (7,0)	32	(1,2) 2,9 (6,8)	33	(0,4) 1,4 (4,3)	43
F*	10,63		9,84		11,64		12,53		14,15		19,46	

Podaci su predstavljeni u vidu aritmetičke sredine kao i minimalnih i maksimalnih vrednosti (u zagradama); Cv – koeficijent varijacije [%].

\*Sve F-vrednosti (ANOVA) su statistički značajne za nivo signifikantnosti  $p < 0,05$ .

**Prilog: Tabela III nastavak** Morfološke karakteristike cveta i ploda (izražene u mm)

L.	Dužina spoljašnjeg prašnikovog konca	Cv	Dužina unutrašnjeg prašnikovog konca	Cv	Dužina prašnice	Cv	Širina prašnice	Cv
SZ	(4,7) 5,5 (6,4)	10	(5,2) 6,0 (6,6)	8	(1,7) 1,9 (2,3)	12	(0,6) 0,7 (0,9)	16
BK	(5,2) 6,0 (7,2)	10	(5,9) 6,8 (7,6)	7	(2,3) 2,8 (3,3)	9	(0,7) 0,9 (1,0)	11
RS	(5,9) 6,3 (6,6)	3	(6,9) 7,4 (8,0)	4	(3,4) 3,6 (3,8)	3	(0,8) 1,1 (1,5)	17
ZS	(4,5) 5,4 (6,3)	12	(4,9) 6,0 (7,2)	11	(1,7) 1,9 (2,1)	8	(0,5) 0,6 (0,8)	15
NM	(4,7) 5,4 (6,0)	7	(5,0) 5,8 (6,2)	6	(1,7) 2,0 (2,2)	8	(0,6) 0,8 (0,9)	12
VR	(4,1) 4,8 (5,5)	10	(3,6) 5,4 (6,6)	15	(1,7) 2,3 (2,8)	18	(0,7) 0,8 (1,2)	16
DE	(4,2) 5,3 (7,1)	15	(5,0) 5,8 (7,1)	10	(1,8) 2,0 (2,3)	8	(0,5) 0,8 (1,2)	23
BP	(5,4) 6,0 (6,5)	4	(5,9) 6,7 (8,0)	8	(2,8) 3,0 (3,2)	3	(0,8) 0,9 (1,1)	7
RT	(5,3) 5,7 (6,2)	5	(6,1) 6,5 (6,8)	3	(2,4) 3,0 (3,8)	12	(0,8) 1,0 (1,1)	8
DJ	(5,3) 5,8 (6,4)	5	(5,8) 6,4 (7,3)	7	(1,9) 2,2 (2,5)	8	(0,7) 0,9 (1,1)	13
SB	(4,6) 6,3 (7,7)	16	(5,6) 6,6 (7,9)	10	(2,2) 2,6 (3,0)	9	(0,7) 0,9 (1,1)	13
VA	(4,1) 5,3 (6,4)	13	(4,6) 6,0 (6,7)	11	(2,0) 2,3 (2,7)	9	(0,8) 0,9 (1,2)	14
KE	(4,4) 4,7 (5,4)	6	(4,8) 5,2 (5,6)	4	(1,8) 2,0 (2,3)	7	(0,5) 0,7 (0,9)	16
VK	(5,4) 6,0 (6,6)	7	(5,6) 6,9 (7,6)	9	(1,9) 2,3 (2,7)	10	(0,8) 1,0 (1,1)	10
BO	(5,5) 5,5 (5,5)	0	(6,8) 6,8 (6,8)	0	(2,2) 2,7 (3,2)	11	(0,7) 0,8 (0,9)	12
OZ	(5,1) 6,1 (7,1)	10	(6,7) 7,5 (8,7)	8	(2,5) 2,7 (3,1)	7	(0,6) 0,8 (1,1)	15
CO	(4,5) 5,3 (6,0)	11	(5,1) 6,1 (6,9)	9	(2,1) 2,5 (3,0)	11	(0,7) 0,8 (1,1)	16
ZB	(4,1) 5,7 (7,3)	15	(5,0) 6,1 (7,0)	11	(2,5) 2,7 (3,1)	7	(0,8) 0,9 (1,1)	9
GR	(5,4) 6,3 (8,0)	12	(6,1) 7,3 (9,0)	10	(2,4) 2,7 (3,1)	10	(0,8) 1,0 (1,2)	16
SS	(5,1) 5,8 (7,1)	10	(5,3) 6,6 (8,1)	10	(2,6) 3,0 (3,3)	7	(0,8) 1,0 (1,5)	19
VI	(5,2) 7,0 (9,2)	16	(7,7) 8,7 (10,5)	11	(2,7) 3,0 (3,5)	8	(0,8) 0,9 (1,1)	11
MO	(4,9) 6,0 (6,6)	8	(5,6) 6,7 (7,2)	7	(2,2) 3,0 (3,5)	13	(0,7) 0,9 (1,0)	11
SU	(5,3) 6,2 (7,2)	10	(5,9) 7,2 (7,9)	9	(2,0) 2,7 (3,7)	22	(0,8) 0,9 (1,0)	8
NS	(4,8) 5,7 (6,9)	10	(5,4) 6,3 (7,3)	12	(2,4) 2,9 (3,5)	10	(0,6) 0,7 (0,9)	14
TI	(5,9) 6,8 (8,0)	11	(6,5) 8,0 (9,0)	12	(2,8) 3,5 (4,1)	13	(0,9) 1,2 (1,7)	22
Pr.	(4,1) 5,8(9,2)	14	(3,6) 6,6 (10,5)	15	(1,7) 2,6 (4,1)	20	(0,5) 0,9 (1,7)	19
F*	7,45		17,37		24,78		7,65	

Podaci su predstavljeni u vidu aritmetičke sredine kao i minimalnih i maksimalnih vrednosti (u zagradama); Cv – koeficijent varijacije [%].

\*Sve F-vrednosti (ANOVA) su statistički značajne za nivo signifikantnosti  $p < 0,05$ .

**Prilog: Tabela III nastavak** Morfološke karakteristike cveta i ploda (izražene u mm)

L.	Dužina plodnika	Cv	Prečnik plodnika	Cv	Dužina stubića	Cv	Dužina ploda	Cv	Širina ploda	Cv
SZ	(2,8) 4,0 (5,0)	18	(1,8) 2,7 (3,6)	22	(3,1) 3,1 (3,1)		(4,9) 6,5 (8,4)	13	(2,7) 5,0 (7,0)	23
BK	(4,3) 4,8 (5,5)	8	(3,1) 3,6 (4,7)	13	(3,1) 3,1 (3,1)		(6,8) 7,6 (8,7)	8	(4,8) 5,9 (6,4)	7
RS	(3,4) 4,7 (5,5)	14	(0,3) 3,3 (3,6)	7	(3,1) 3,1 (3,1)		(6,1) 6,8 (8,4)	11	(4,1) 5,0 (5,6)	9
ZS	(3,3) 4,9 (6,0)	18	(2,2) 3,4 (4,0)	21	(2,0) 2,4 (2,5)	10	(4,5) 7,1 (10,4)	27	(3,3) 6,0 (8,8)	29
NM	(3,2) 4,1 (5,0)	15	(1,8) 2,5 (3,4)	19	(1,9) 2,3 (2,8)	13	(6,1) 7,7 (9,4)	14	(5,8) 6,3 (7,7)	9
VR	(2,4) 3,8 (4,9)	21	(1,3) 2,3 (2,9)	21	(1,8) 2,3 (3,3)	26	(3,6) 5,8 (8,7)	24	(2,6) 4,3 (7,4)	31
DE	(3,4) 4,1 (4,7)	12	(2,2) 2,6 (3,1)	9	(2,9) 2,9 (2,9)		(5,5) 7,6 (11,6)	27	(3,2) 6,0 (11,7)	43
BP	(3,8) 5,0 (6,3)	15	(2,9) 3,5 (4,2)	13	(3,4) 3,4 (3,4)		(5,6) 8,0 (9,6)	18	(4,4) 6,9 (10,6)	24
RT	(3,7) 4,7 (5,6)	14	(2,5) 3,2 (3,8)	13	(2,9) 3,0 (3,1)	4	(5,2) 7,5 (10,4)	21	(4,1) 6,4 (9,4)	25
DJ	(2,9) 4,1 (4,7)	14	(1,8) 2,7 (3,3)	16	(2,5) 2,9 (3,4)	13	(4,2) 6,1 (7,6)	16	(3,0) 5,1 (7,2)	28
SB	(3,3) 4,1 (5,3)	16	(1,6) 2,4 (3,5)	22	(2,4) 2,8 (3,3)	17	(4,1) 6,2 (7,8)	16	(3,0) 5,2 (7,7)	23
VA	(3,4) 4,1 (5,3)	14	(2,5) 2,9 (3,4)	12	(1,7) 2,1 (2,5)	18	(5,2) 7,2 (8,4)	15	(4,1) 5,2 (6,3)	12
KE	(4,0) 4,6 (5,4)	8	(1,9) 3,2 (4,4)	22	(2,1) 2,2 (2,3)	7	(6,3) 7,6 (10,5)	16	(4,2) 5,4 (7,4)	16
VK	(3,2) 4,0 (4,6)	11	(2,0) 2,5 (2,9)	13	(1,9) 2,2 (2,4)	12	(5,2) 8,5 (11,8)	26	(3,9) 6,9 (10,8)	33
BO	(3,6) 4,7 (5,2)	15	(2,5) 3,0 (3,7)	15	(2,4) 2,4 (2,5)	3	(4,7) 6,4 (7,6)	16	(3,4) 4,9 (6,8)	22
OZ	(4,1) 5,1 (6,3)	14	(2,8) 3,7 (4,8)	19	(3,0) 3,2 (3,7)	10	(5,7) 8,4 (10,5)	17	(5,0) 7,0 (9,4)	23
CO	(3,3) 4,2 (5,6)	19	(1,9) 2,6 (4,1)	29	(3,0) 3,0 (3,0)		(5,3) 6,3 (7,9)	10	(4,1) 5,0 (6,2)	12
ZB	(2,6) 3,6 (5,0)	22	(1,7) 2,4 (2,9)	17	(1,5) 2,4 (3,2)	52	(4,5) 6,1 (7,3)	20	(3,1) 4,7 (7,9)	30
GR	(3,7) 4,6 (5,6)	14	(2,4) 3,4 (4,2)	20	(2,1) 2,1 (2,1)		(5,0) 6,7 (10,6)	23	(4,1) 4,6 (6,3)	13
SS	(3,5) 3,9 (4,8)	10	(2,2) 2,6 (2,9)	10			(5,1) 5,7 (6,1)	5	(4,1) 4,5 (4,9)	4
VI	(4,0) 5,2 (6,6)	14	(1,9) 3,1 (4,0)	22	(2,1) 3,2 (4,1)	23	(6,3) 8,8 (13,6)	22	(4,1) 5,4 (7,5)	20
MO	(4,2) 5,1 (5,9)	11	(2,8) 3,5 (3,9)	10	(3,5) 3,8 (4,1)	8	(5,0) 6,9 (8,7)	15	(3,7) 4,9 (6,0)	15
SU	(3,5) 4,8 (6,3)	17	(2,4) 3,5 (4,9)	23	(2,8) 3,1 (3,5)	10	(6,2) 8,9 (11,7)	19	(4,7) 7,1 (9,9)	25
NS	(4,0) 4,8 (5,7)	9	(2,3) 2,6 (3,3)	14	(1,3) 2,5 (3,0)	33	(5,4) 6,7 (8,0)	13	(3,6) 4,3 (5,8)	15
TI	(4,4) 5,6 (7,4)	16	(2,9) 4,4 (5,7)	22	(3,3) 3,7 (3,9)	8	(5,1) 7,8 (11,5)	22	(4,2) 6,9 (10,1)	26
Pr.	(2,4) 4,5 (7,4)	18	(1,3) 3,0 (5,7)	24	(1,3) 2,7 (4,1)	23	(3,6) 7,2 (13,6)	22	(2,6) 5,6 (11,7)	28
F*	5,90		9,09				4,65		4,48	

Podaci su predstavljeni u vidu aritmetičke sredine kao i minimalnih i maksimalnih vrednosti (u zagradama); Cv – koeficijent varijacije [%].

\*Sve F-vrednosti (ANOVA) su statistički značajne za nivo signifikantnosti  $p < 0,05$ .



**Prilog: Tabela IV** Matrica klasifikacije zasnovana na diskriminantnoj analizi. Uspešnost *a priori* klasifikacije predstavljena je kroz predviđene (*a posteriori*) grupne pripadnosti, na osnovu Mahalanobisovih distanci

Lok.	Tačnost klasifikacije [%]	BK	BP	DJ	DE	KE	NM	RT	VK	BO	ZS	RS	VR	CO	SB	VA	SZ	OZ	TI	GR	MO	SU	SS	VI	NS	ZB
BK	100,00	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BP*	90,00	0	9	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DJ	100,00	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DE	100,00	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
KE*	80,00	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NM	100,00	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RT*	90,00	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VK*	90,00	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BO*	83,33	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ZS	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RS	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VR*	80,00	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
CO*	70,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SB	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VA	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SZ	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OZ	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0
TI	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0
GR	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
MO*	80,00	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	1	0	0	0
SU	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0
SS	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0
VI	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0
NS	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0
ZB	100,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Uku.	<b>94,54</b>	10	9	10	10	9	10	11	9	5	6	7	11	8	11	13	10	10	9	10	8	10	11	10	10	11

\*populacije kod kojih su testom *a priori* klasifikacije pokazana određena odstupanja

## BIOGRAFIJA



Andrijana Andrić rođena je 13.09.1982. u Valjevu, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju, prirodno-matematički smer. 2001. godine upisuje Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu, Departman za biologiju i ekologiju, smer Diplomirani biolog. 2006. godine diplomira sa prosečnom ocenom 9,21. Iste godine na istom fakultetu upisuje petu godinu diplomskih akademskih studija – master, modul Zaštita prirode i održivi razvoj. Zvanje diplomirani biolog – master stiče 2007. godine sa prosečnom ocenom 10,00. Tokom studija bila je stipendista Ministarstva za prosvetu i sport, Republičke fondacije za razvoj naučnog i umetničkog podmlatka i Ministarstva nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije. Doktorske studije, obrazovni profil Doktor prirodnih nauka – biološke nauke, na Prirodno-matematičkom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu upisuje 2007. Iste godine izabrana je u zvanje istraživač-pripravnik za užu naučnu oblast Zaštita životne sredine. U periodu od 2007. do 2011. godine je stipendista Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj i angažovana je za izvođenje nastave na Katedri za ekologiju i zaštitu životne sredine. 2009. godine bila na dvomesečnoj obuci za primenu molekularnih metoda u botaničkim istraživanjima, u okviru CIBIO (*Centro Iberoamericano de la Biodiversidad*) istraživačkog centra Univerziteta Alikante, Španija. Zvanje istraživač-saradnik za užu naučnu oblast Zaštita životne sredine stiče 2011. Iste godine zasniva radni odnos na određeno vreme na realizaciji projekata “Konzervaciona strategija za očuvanje zaštićenih i strogo zaštićenih vrsta u Srbiji – osolike muve (Diptera: Syrphidae) kao model organizmi” i “Biosensing tehnologije i globalni sistem za kontinuirana istraživanja i integrisano upravljanje ekosistemima”, finansiranih od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, u okviru Laboratorije za istraživanje i zaštitu biodiverziteta. 2013. godine reizabrana je u zvanje istraživač-saradnik, a 2014. upisuje treću godinu doktorskih akademskih studija programa Doktor nauka – biološke nauke (plan 2013.).

Oblast naučne delatnosti je proučavanje kompleksnih bio-ekoloških odnosa osolikih muva i biljaka sa kojima su povezane, korišćenjem različitih metoda radi dobijanja podataka o njihovoj biologiji, kao osnove za donošenje validnih konzervacionih odluka. Koautor je pet radova u međunarodnim časopisima, tri saopštenja sa međunarodnih skupova i jednog sa skupa nacionalnog značaja. Član je Društva genetičara Srbije i Akademskog društva za proučavanje i zaštitu prirode Novi Sad.

Novi Sad, 2015.

Andrijana Andrić

---

**UNIVERZITET U NOVOM SADU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Andrijana Andrić
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Dr Dragana Obreht Vidaković, vanredni profesor
Naslov rada: NR	Analiza varijabilnosti taksona <i>Ornithogalum umbellatum</i> L. 1753 (Hyacinthaceae) primenom molekularnih markera i anatomsko-morfoloških karaktera
Jezik publikacije: JP	Srpski jezik
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	AP Vojvodina
Godina: GO	2015.
Izdavač: IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Departman za biologiju i ekologiju, PMF, Trg Dositeja Obradovića 2, 21 000 Novi Sad, Srbija

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 8/ stranica 148/ slika 24/ tabela 22/ referenci 198/ priloga 1)
Naučna oblast: NO	Biologija
Naučna disciplina: ND	Genetika
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	<i>Ornithogalum umbellatum</i> , RAPD, genetički diverzitet, genetička struktura, anatomija, morfologija
UDK	
Čuva se: ČU	Biblioteka Departmana za biologiju i ekologiju, PMF, Trg Dositeja Obradovića 2, 21000 Novi Sad, Srbija
Važna napomena: VN	/
Izvod: IZ	<p>Predmet ovog istraživanja je varijabilnost taksona <i>Ornithogalum umbellatum</i> L. 1753. (Hyacinthaceae) na području Srbije i Mađarske. Ovaj najpoznatiji i najrasprostranjeniji predstavnik roda <i>Ornithogalum</i> L. izučava se dugi niz godina sa različitih aspekata: kao gajena baštenska vrsta i kao invazivni korov; kao otrovna biljka i potencijalno lekovita. Sa ekološkog aspekta ove biljke su značajne kao domaćini insektima polinatorima koji su višestruko i u različitim fazama razvića vezani za ove lukovičaste geofite. Veliki areal i prilagođenost različitim tipovima staništa uzrokuju značajnu varijabilnost, koja rezultuje taksonomskom konfuzijom. Jedan od razloga za istorijski prepoznatljive taksonomski i filogenetski nerazjašnjene relacije su područja sa prirodnim staništima populacija <i>O. umbellatum</i> čijem izučavanju nije posvećeno dovoljno pažnje. Jedno od takvih je i ovde istraživano područje. Kako je u Flori Srbije kao podvrsta <i>O. umbellatum</i> opisan i <i>O. umbellatum</i> subsp. <i>divergens</i> (Boreau), analizama su obuhvaćene i populacije ovog taksona.</p> <p>RAPD-PCR metodom ustanovljen je viši nivo genetičkog diverziteta između nego u okviru populacija, bez jasnog geografskog trenda dispozicije ove varijabilnosti. Ovi su rezultati očekivani za poliploidne taksonove sa velikim udelom vegetativnog razmnožavanja u reproduktivnoj strategiji biljke, koji su pritom široko rasprostranjeni a u istraživanom području predstavljeni uglavnom relativno udaljenim te izolovanim populacijama. Determinacija genetičke struktuiranosti među ispitivanim genotipovima ukazala je na razdvajanje populacija dva taksona u dva klastera. Rezultate u saglasnosti sa ovim dala je i analiza parametara poprečnih preseka lista, skapusa i plodnika, a ustanovljeni su i diskriminativni anatomske karakteri koji su razdvojili populacije dva taksona. Izdvojeni su pojedini kvantitativni karakteri, kako anatomske tako i morfološki, koji su najviše doprineli varijabilnosti na interpopulacionom nivou. Pokazana je velika raznolikost morfoloških karakterata i heterogenost populacija <i>O. umbellatum</i>, što je u skladu sa podacima u postojećoj literaturi. Poznato je i da habitus ovih biljaka veoma zavisi od uslova sredine, kao i stadijuma razvića biljke, dok na</p>

<p>molekularne markere ovi faktori ne utiču. Sa druge strane, iako primenjena RAPD metoda nije dovoljna za determinaciju filogenetski blisko srodnih taksona poput ovih, pokazala se pouzdanom i efikasnom za ispitivanje diverziteta na populaciono-genetičkom nivou. Stoga je u cilju što sveobuhvatnije procene stanja korišćena kombinacija različitih pristupa, koji su dali usaglašene rezultate, istovremeno dajući uvid u nivo polimorfnosti i struktuiranosti populacija i ukazujući na jedinstvene oblike varijabilnosti morfo-anatomskih karakteristika.</p> <p>Sa jedne strane ovo je važno zbog razjašnjenja komplikovane taksonomije, a sa druge zbog značaja ovih biljaka sa aspekta potencijalne koristi odnosno štete za čoveka, ali i iz ugla zaštite biodiverziteta. Uvid u nivo varijabilnosti populacija doprineće adekvatnim strategijama konzervacije i menadžmenta kako ovih biljnih vrsta, tako i insekatskih sa kojima su povezane.</p>	
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	26.03.2015.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	<p>predsednik: dr Mihajla Đan, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu</p> <p>član: dr Dragana Obreht Vidaković, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu, mentor</p> <p>član: dr Lana Zorić, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu</p> <p>član: dr Goran Anačkov, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu</p> <p>član: dr Marija Kraljević-Balalić, profesor emeritus, Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu</p>

University of Novi Sad  
Faculty of sciences  
Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Andrijana Andrić
Mentor: MN	Dragana Obreht Vidaković, PhD, Associate Professor
Title: TI	Analysis of the variability of the <i>Ornithogalum umbellatum</i> L. 1753 (Hyacinthaceae) using molecular markers and morpho-anatomical characters
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	Serbian/English
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	AP of Vojvodina
Publication year: PY	2015
Publisher: PU	Author reprint
Publication place: PP	Department of Biology and Ecology, Faculty of Sciences, Trg Dositeja Obradovića 2, 21000 Novi Sad
Physical description: PD	chapters 8/ pages 148/ figures 24/ tables 22/ references 198/ supplement 1
Scientific field SF	Biology
Scientific discipline SD	Genetics

Subject, Key words SKW	<i>Ornithogalum umbellatum</i> , RAPD, genetic diversity, genetic structure, anatomy, morphology
UC	
Holding data: HD	The Library of Department of Biology and Ecology, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 2, 21 000 Novi Sad, Republic of Serbia
Note: N	/
Abstract: AB	<p>Variability of <i>Ornithogalum umbellatum</i> L. 1753. (Hyacinthaceae) in Serbia and Hungary was analyzed in this research. This most famous and the most widespread taxon in genus <i>Ornithogalum</i> L. has been a research subject for many years for various reasons: as garden plant and invasive weed; for its toxic and pharmaceutical properties. From an ecological point of view those bulbous geophytes are the important host-plants for insect pollinators associated with them in different life stages. Large distribution area and adaptation to diverse habitat types result in significant variability of these plants which is followed by taxonomic confusion. Persisting taxonomic problems arise also from the fact that there are under-investigated regions with native populations of <i>O. umbellatum</i>, such as localities in Serbia and neighbouring countries. Since published floras of these countries include <i>O. umbellatum</i> subsp. <i>divergens</i> (Boreau), analyses involve populations of this taxon as well.</p> <p>RAPD-PCR method revealed higher levels of genetic diversity among than within populations, without distinct geographical trend in the disposition of the variability. These results have been expected for polyploid taxa with high levels of vegetative reproduction, widespread and represented mostly with relatively distant and isolated populations in the given region. Genetic structure analyses have separated populations of the two investigated taxa into two clusters. Analyses of the anatomical characteristics of the leaf, scapus and ovary cross-sections have shown results in accordance with those. Discriminative characters which divided populations of the two taxa were determined. Distinctive quantitative characters, both anatomical and morphological, which have contributed the most to the interpopulation variability, were singled out. Great diversity of morphological characters and population heterogeneity of <i>O. umbellatum</i> has been shown, which was already described in literature dealing with the subject. Additionally, the high diversity is explained by the fact that habitus of those plants with very plastic phenotypes is influenced by environmental conditions and life stage of the plant. Those factors do not affect molecular markers; however techniques like RAPD-PCR could not be used independently for characterization of phylogenetically close taxa such as these. Nevertheless, RAPDs proved to be a reliable and efficient method suitable for distinguishing genetic differentiation on population level. Therefore, combination of different approaches was used in order to give comprehensive assessment of the situation. The results were consistent, revealing the levels of populations' polymorphism and structure, as well as certain variations of morpho-anatomical</p>

<p>features.  This is important in the light of complicated taxonomy clarification, and on the other hand from the aspect of potential value or harm of these plants to humans. In terms of biodiversity conservation, insight into population variability levels might contribute to adequate management strategies for both plants and insects related to them.</p>	
Accepted on Senate on: AS	26.03.2015.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<p>president: Mihajla Đan, PhD, Associate Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad</p> <p>member: Dragana Obreht Vidaković, PhD, Associate Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad, mentor</p> <p>member: Lana Zorić, PhD, Associate Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad</p> <p>member: Goran Anačkov, PhD, Associate Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad</p> <p>member: Marija Kraljević-Balalić, PhD, Professor Emeritus, Faculty of Agriculture, Novi Sad</p>