

MORPHO - ANATOMICAL DIFERENTIATION OF THE LEAF OF SPECIES *QUERCUS COCCIFERA L.* FROM THE LOCATION OF REPUBLIC OF SERBIA AND TWO DIFFERENT LOCATION FROM REPUBLIC OF MACEDONIA

Tijana Micić

College of Applied Professional Studies, Vranje, Serbia, tijanamicic4@gmail.com

Gordana Bogdanović

College of Applied Professional Studies, Vranje, Serbia, gordanabd@gmail.com

Damjan Stanojević

College of Applied Professional Studies, Vranje, Serbia, damjan.stanojevic@yahoo.com

Abstract: Fagaceae family is one of the leading families in relation to the abundance and distribution of species. The most numerous genus within the family were Quercus, which according to some authors comprises between 300 and 600 species. In this study, the types of *Quercus coccifera L.*, belonging to the genus Quercus. The analysis included morphological and anatomical characteristics of the leaf. The material was collected at three sites. The two sites are located in the Republic of Macedonia, the region Dojran and the region Strumica. Third site is located on the border of the Republic of Serbia with Albania, on Mount Paštrik. The main objective of this study was to investigate and establish the degree of variability of selected characteristics of the leaf, on which we have pointed out the potential degree of differentiation within a species. Based on these results it was concluded that there is a small variation within a species that grow at similar altitudes which are influenced by the same or similar environmental factors. While a large variability present in those species that inhabit the habitat with a significant difference in altitude and where the ecological conditions are different. The results indicate a certain degree of differentiation of a population within a species.

Keywords: Anatomy of leaf, *Quercus coccifera*, Morphology of leaf.

MORFO – ANATOMSKA DIFERENCIJACIJA LISTA VRSTE *QUERCUS COCCIFERA L.* SA LOKALITETA REPUBLIKE SRBIJE I SA DVA RAZLIČITA LOKALITETA REPUBLIKE MAKEDONIJE

Tijana Micić

Visoka škola primenjenih strukovnih studija, Vranje, tijanamicic4@gmail.com

Gordana Bogdanović

Visoka škola primenjenih strukovnih studija, Vranje, gordanabd@gmail.com

Damjan Stanojević

College of Applied Professional Studies, Vranje, Serbia, damjan.stanojevic@yahoo.com

Rezime: Familija *Fagaceae* predstavlja jednu od vodećih familija u odnosu na brojnost i rasprostranjenje vrsta. Najbrojniji rod u okviru ove familije je *Quercus*, koji prema nekim autorima obuhvata između 300 i 600 vrsta. U radu je analizirana vrsta *Quercus coccifera L.*, koja pripada rodu *Quercus*. Analizom su obuhvaćene morfološke i anatomske karakteristike lista. Materijal je prikupljen na tri lokaliteta. Dva lokaliteta se nalaze u Republici Makedoniji, lokalitet Dojran i lokalitet Strumica. Treći lokalitet se nalazi na granici Republike Srbije sa Albanijom, na planini Paštrik. Osnovni cilj rada bio je da se ispita i utvrди stepen varijabilnosti odabranih karakteristika lista, na osnovu kojih smo ukazali na potencijalni stepen diferencijacije u okviru vrste. Na osnovu dobijenih rezultata zaključeno je da postoji mala varijabilnost unutar vrste koje rastu na sličnim nadmorskim visinama i koje su pod uticajem sličnih ili istih ekoloških faktora. Dok je velika varijabilnost zastupljena kod onih vrsta koje naseljavaju staništa sa značajnom razlikom u nadmorskoj visini i gde se ekološki uslovi uveliko razlikuju. Dobijeni rezultati ukazuju na postojanje izvesnog stepena diferencijacije populacija u okviru vrste.

Ključne reči: Anatomija lista, *Quercus coccifera*, Morfologija lista.

1. UVOD

Rod *Quercus* se nalazi u obliku žbunja i drveća (listopadno i četinarsko), koje se autohtono može naći u Evropi, Aziji i srednjoj i južnoj Americi. Predstavlja simbol otpornosti i čvrstine, koje često dostižu starost do 600 godina, visinu do 40 m i širinu do 2 m. Vrsta *Quercus coccifera*, poreklom je sa Mediterana i Severne regije

afričkoričkog kontinenta Magreb. Poznat je pod nazivom Hrast Prnar ili Hrast Oštika. Nalazi se u obliku zimzelenog drveta ili visokog žbunja. Visina stabla varira od 1-7 m, dok širina stable se kreće oko 0,6 m. To je jednodoma, anemofilna i kserotermna vrsta. Korenov sistem ima jako razvijeni centralni koren sa brojnim bočnim korenovima. Kora stabla je siva do tamnosive boje. Pupoljci su sitni, smede boje. Listovi su zimzeleni, kožasti, kruti, bodljikavo nazubljeni. Kod mladih listova je karakteristično prisustvo dlaka. Lice lista je sjajnozelene do tamnozelene boje, dok naličje lista je nešto svetlijе boje. Muški cvetovi su sakupljeni u dlakavim resama, dok su ženski cvetovi zasebni ili po dva spojena. Razmnožavanje se vrši semenom. Plod hrasta je žir i on se većim delom nalazi u kupoli (Hardin, 1976).

Značajnu ulogu hrast oštika ima u zaštiti tla od erozije. Osim toga otporan je na požare i brzo se obnavlja nakon istih, stvarajući u kratkom roku zeleni pokrivač tla. Poseban i upečatljiv izgled, hrast oštika daje prostoru zahvaljujući svojim kožastim, nazubljenim lišćem koji formiraju bogatu krošnju i krupnim žironim koji dugi ostaje na stablu.

2.CILJ RADA

Vrsta *Q. coccifera* od velikog je značaja u botanici, ekologiji i ekonomiji. Morfo-anatomskim analizama i statističkom obradom podataka tri populacije ove vrste dobije se jasnija slika varijabilnosti određenih karakteristika lista. U skladu sa tim, cilj rada bio je: sakupljanje, identifikacija i herbarizovanje sakupljenog materijala, anatomska analiza karakteristika listova, morfološka analiza karakteristika listova, utvrđivanje stepena varijabilnosti analiziranih karakteristika listova, utvrđivanje potencijalnog stepena diferencijacije u okviru vrste.

3.MATERIJAL I METODE

Terenska istraživanja i sakupljanje biljnog materijala

Uzorci ispitivane vrste sakupljeni su sa tri lokalitera: Dojran i Strumica na jugoistoku Republike Makedonije i planina Paštrik na jugozapadu Republike Srbije.

Opština Dojran nalazi se na jugoistoku Republike Makedonije. Predstavlja granicu sa Grčkom na jugu i istoku Makedonije, u obliku jezera (Dojransko jezero). Zapadni i severni deo opštine prostiru se u vidu planinskog pojasa. Materijal korišćen tokom istraživanja prikupljen je u Dojranskom selu Gjopčeli, 9,48 km udaljenog od centra opštine Dojran. Nalazi se na nadmorskoj visini od 218m, i sa geografskim koordinatama $41^{\circ} 15' 21.95''$ na severu i $22^{\circ} 39' 54.81''$ na jugu.

Strumica je grad koji zauzima jugoistočni deo Republike Makedonije. Imala umerenu kontinentalnu klimu. Materijal za istraživanje prikupljen je u Čam-čifliku, selu nedaleko od Strumice, koje se nalazi na nadmorskoj visini od 381m i u granicama koordinata $41^{\circ} 26' 18''$ N i $22^{\circ} 38' 00''$ E.

Planina Paštrik, nalazi se na nadmorskoj visini od 1986m i predstavlja granični region između Republike Srbije i Albanije. Svega jedna trećina planine se nalazi na Kosovu i Metohiji na jugozapadu Srbije, dok ostale dve trećine se nalaze u Albaniji. Planina se prostire na 42.2150° N i 20.5171° E. Sa svakog lokaliteta prikupljeno je po 20 grančica ispitivane vrste *Quercus coccifera*. Pored determinacije na samom terenu, dalja analiza je vršena u laboratoriji.

Analiza površinskih struktura

Svake grančice je uzeto po 3 lista. Listovi su zatim bili podvrgnuti rastvoru vodonik-peroksida i kalijum-hidroksida, s ciljem prosvetljavanja listova. Vodonik-peroksid i kalijum-hidroksid imaju funkciju prosvetljavanja epidermisa, odnosno vrše saponifikaciju hlorofila čineći ga rastvorljivim u vodi. Fizičkim odvajanjem lica od naličja lista, epidermis se stavlja na mikroskopsku pločicu u kap glicerola i prekriva pokrovnom pločicom. Fotografisanje i analiza preparata urađena su na mikroskopskom sistemu Leica DM2500, kamerom Leica DFC 490 i softverskim sistemom Leica Q WinStandard. Morfometrijska merenja obavljena su u softverskim paketima Leica Q Win.

Anatomska analiza listova

Analiza anatomske karakteristike listova obavlja se na trajnim i privremenim preparatima koji su obrađeni standardnom histološkom metodom za svetlosnu mikroskopiju. Poprečni preseci listova dobijaju se sečenjem na mikrotomu Leica RM2125 RTS. Preseci dobijeni na taj način su, zatim, provlačeni kroz seriju alkohola rastuće koncentracije (50% - 99,6% etanol). Zatim su napravljeni preparati koju su posmatrani i slikani uz pomoć kamere Leica DFC490, na mikroskopu Leica DM2500. Kvantitativne i kvalitativne karakteristike analizirane su na 90 listova iz 3 populacije. Na svakom listu su urađena merenja sledećih varijabli: kvantitativni karakteri (dužina lista, širina lista, dužina lisne drške, dužina vrha lista, dužina zubača u centralnom delu lista, broj zubača po polovini lista, broj bočnih nerava po polovinu lista, površina ćelija epidermisa lica lista, površina ćelija epidermisa naličja lista, dužina stoma, širina stoma, površina stoma, broj stoma, broj stoma po milimetru kvadratnom, debljina lista, debljina mezofila, debljina palisadnog tkiva, debljina sunderastog tkiva, visina ćelija epidermis lica lista, visina ćelija

epidermis naličja lista, debljina kutikule lica lista, debljina kutikule naličja lista) i kvalitativni karakteri (prisustvo dlaka na licu lista, prisustvo dlaka na naličju lista, oblik baze lista).

Statistička obrada podataka

Dobijeni podaci, koji su prethodno zavedeni u bazi podataka, su statistički obradjeni u statističkom paketu SYSTAT 12 (Systat Software, Inc. 2007). Za utvrđivanje varijabilnosti odabranih karaktera, između istraživanih populacija, korišćen je Studentov t- test.

2. REZULTATI I DISKUSIJA

Morfološka analiza listova vrste Q. coccifera

Listovi vrste *Quercus coccifera* su zimzeleni, kruti i kožaste strukture. Za mlade listove je karakteristična pojava dlaka, koje se spontano gube sa starošću listova. Mogu se naći na licu i na naličju lista. Boja lista varira od sjajnozelene do bledozelene, zavisi od starosti listova, ali i od izloženosti listova Sunčevim zracima. Baza lista se razlikuje kod listova iste vrste. Može biti: ravna, konična i srcasta. Kod vrste *Quercus coccifera* koja je prikupljena na lokalitetu Dojрана (Gjopčeli), od 30 ispitivanih listova, 9 je imalo ravnu bazu, 5 koničnu i 16 srcastu bazu lista. Prisustvo dlaka je zabeleženo kod 16 listova na licu lista i kod 19 listova na naličju lista. Kod vrste *Quercus coccifera* koja je prikupljena na lokalitetu Strumica (Čam-Čiflik), od 30 ispitivanih listova, 3 je imalo ravnу bazu, 14 koničnu i 13 srcastu bazu lista. Prisustvo dlaka je zabeleženo kod 19 listova na licu lista i kod 18 listova na naličju lista. Kod vrste *Quercus coccifera* koja je prikupljena na lokalitetu Paštrik (Kosovo i Metohija), od 30 ispitivanih listova, 13 je imalo ravnу bazu, 9 koničnu i 8 srcastu bazu lista. Prisustvo dlaka je zabeleženo kod 9 listova na licu lista i kod 7 listova na naličju lista.

Anatomska analiza lista vrste Q. coccifera

Dorzoventralna građa listova karakteristična je za vrstu *Quercus coccifera*. Na površini lica lista je dobro razvijena kutikula lista, ispod koje se nalaze jednojedarne ćelije epidermisa lista mnogougaonog do okruglog oblika. Ispod epidermisa lista nalaze se ćelije mezofila lista koje čini palisadni i sunđerasti parenhim. Palisadni parenhim je obično raspoređen u jednom ili dva sloja sa ćelijama pravougaonog oblika. Sunđerasti parenhim je raspoređen u tri do četiri sloja, sa ćelijama nešto oblijeg oblika od ćelija palisadnog parenhima. Između ćeija palisadnog i sunđerastog tkiva nema intercelulara. Na sunđerasti parenhim nastavljaju se ćelije epidermisa naličja okruglog do nepravilnog oblika, raspoređene u jednom redu. Epidermis naličja lista štiti kutikula naličja lista. Prosečna površina epidermalnih ćelija lica lista je veća od površine epidermisa naličja lista. Analizom 30 listova koji su prikupljeni na lokalitetu Dojran (Gjopčeli), na osnovu srednje vrednosti, dobijeno je da prosečna površina ćelija epidermisa lica listova iznosi $490,96 \pm 48,74 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima od $397,06 \mu\text{m}^2$ i maksimalnim vrednostima do $588,83 \mu\text{m}^2$. Srednja vrednost, površine ćelija epidermisa naličja lista iznosi $195,49 \pm 48,74 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima od $134,04 \mu\text{m}^2$, i maksimalnim vrednostima $588,83 \mu\text{m}^2$. Analizom 30 listova koji su prikupljeni na lokalitetu Strumica (Čam-Čiflik), na osnovu srednje vrednosti, dobijeno je da prosečna površina ćelija epidermisa lica listova iznosi $492,43 \pm 43,17 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima od $423,22 \mu\text{m}^2$ i maksimalnim vrednostima do $569,89 \mu\text{m}^2$. Srednja vrednost, površine ćelija epidermisa naličja lista iznosi $220,25 \pm 35,21 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima od $164,78 \mu\text{m}^2$, i maksimalnim vrednostima $279,88 \mu\text{m}^2$. Analizom 30 listova koji su prikupljeni na lokalitetu Paštrik (Kosovo i Metohija), na osnovu srednje vrednosti, dobijeno je da prosečna površina ćelija epidermisa lica listova iznosi $1864 \pm 54,12 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima od $1704,26 \mu\text{m}^2$ i maksimalnim vrednostima do $2745,18 \mu\text{m}^2$. Srednja vrednost, površine ćelija epidermisa naličja lista iznosi $246,34 \pm 65,22 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima od $189,23 \mu\text{m}^2$, i maksimalnim vrednostima $297,47 \mu\text{m}^2$. Za razliku od listova koji su prikupljeni na lokalitetu Dojran i Strumice, listovi sa lokalitetom Paštrik, imaju 8 puta veću površinu epidermisa lica lista od površine epidermisa naličja lista, na osnovu njihovih srednjih vrednosti. Stome su anemocitnog tipa i nalaze se na naličju lista. Broj ćelija epidermisa koje okružuju stome je 6-8 ćelija, pri čemu je najveći broj stoma koje su okružene sa 6 i 7 ćelija. Stome se nalaze na naličju lista i javljaju se u nivou ćelija epidermisa. Srednja vrednost, površine stoma naličja lista, prikupljenog na lokalitetu Dojran, iznosi $320,19 \pm 36,04 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima $246,61 \mu\text{m}^2$, i maksimalnim vrednostima $384,31 \mu\text{m}^2$. Broj stoma po mm^2 iznosi $289,99 \pm 35,52 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima $242,86 \mu\text{m}^2$, i maksimalnim vrednostima $371,43 \mu\text{m}^2$. Srednja vrednost, površine stoma naličja lista, prikupljenog na lokalitetu Strumica, iznosi $294,27 \pm 24,50 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima $260,23 \mu\text{m}^2$, i maksimalnim vrednostima $365,49 \mu\text{m}^2$. Broj stoma po mm^2 iznosi $250,95 \pm 29,98 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima $214,29 \mu\text{m}^2$, i maksimalnim vrednostima $314,29 \mu\text{m}^2$. Srednja vrednost, površine stoma naličja lista, prikupljenog na lokalitetu Paštrika, iznosi $1264,18 \pm 28,16 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima $810,99 \mu\text{m}^2$, i maksimalnim vrednostima $1529,68 \mu\text{m}^2$. Broj stoma po mm^2 iznosi $168,37 \pm 46,24 \mu\text{m}^2$, sa minimalnim vrednostima $133,28 \mu\text{m}^2$, i maksimalnim vrednostima $290,42 \mu\text{m}^2$.

Da bi se utvrdilo postojanje statistički značajnih razlika između odabranih morfo-anatomskih karaktera lista istraživanih populacija korišćen je Studentov t-test.

Rezulati t testa prikazali su da najveći broj karaktera ne pokazuju statistički značajnu razliku između istraživanih populacija. Karakteri: debljina lista, debljina sunđerastog tkiva, visina ćelija epidermisa lica lista, broj stoma, dužina i površina stoma i širina gornje trećine lista pokazuju visok nivo statističke značajnosti. Najveća statistička značajnost između populacija iz Strumice, Dojrana i Paštrika je zabeležena u broju i dužini stoma. Nepostojanje statistički značajnih razlika u većini analiziranih karaktera, između dve populacije (Dojran i Strumica) *Q. coccifera*, može se objasniti sličnim ekološkim uslovima na staništima istraživanih populacija u jugoističnoj Makedoniji. Dok statistički značajna razlika između vrste koje su prikupljene na lokalitetu Paštrik postoji, i objašnjava se razlikom u nadmorskoj visini i ekološkim uslovima na tom staništu. Međutim, razlika koja postoji u broju i veličini stoma kod biljaka *Q. coccifera*, predstavlja najverovatnije adaptaciju na ekološke faktore specifične za stanište (intenzitet sunčeve radijacije i dostupnost vode).

3. ZAKLJUČAK

U ovom radu su analizirane jedinke sa tri populacija pomenute vrste i to dve vrste sa područja Republike Makedonije, sa lokaliteta Dojrana i lokaliteta Strumice, i jedna vrsta sa područja Republike Srbije (Kosovo i Metohija), sa lokaliteta Paštrik. Listovi su zimzeleni, kruti i kožasti. U mladosti dlakavi, dok kasnije goli. Boja lista varira od sjajnozelene do bledozelene. Baza lista se javlja u tri oblika: sa koničnom, srastom i ravnom bazom. Stome su anemocitnog tipa, nalaze se na naličju lista i javljaju se u nivou ćelija epidermisa. Listovi su dorzoventralne građe. Lice lista i naličje lista prekriva jednoslojna kutikula. Ispod kutikule lica lista nalaze se ćelije epidermisa lica lista raspoređene u jednom redu. Mezofil je diferenciran na palisadni i sunđerasti parenhim. Ispod kutikule naličja lista nalazi se jedan sloj ćelija epidermisa naličja lista. Rezulati t testa ukazuju da najveći broj karaktera između vrste sa lokaliteta Dojran i lokaliteta Strumica ne pokazuju statistički značajnu razliku između istraživanih populacija. Visok nivo statističke značajnosti pokazuju sledeći karakteri: debljina lista, debljina sunđerastog tkiva, visina ćelija epidermisa lica lista, broj stoma, dužina i površina stoma i širina gornje trećine lista. Nepostojanje statistički značajnih razlika u većini analiziranih karaktera, između dve populacije *Q. coccifera*, može se objasniti sličnim ekološkim uslovima na staništima istraživanih populacija (nadmorska visina i geološka podloga). Dok postojanje značajne razlike između vrsta čije je stanište Dojran i Strumica i vrsta čije je stanište na planini Paštrik je zahvaljujući značajnoj razlici u nadmorskoj visini, geološkoj podlozi i različitom uticaju ekoloških faktora. Dobijeni rezultati predstavljaju dobru polaznu osnovu za utvrđivanje morfo-anatomskih razlika između analiziranih populacija vrste *Q. coccifera*.

LITERATURA

- [1] P.M.S. Ashton, & G.P. Berlyn, A comparison of leaf physiology and anatomy of *Quercus* (section *Erythrobalanus*-*Fagaceae*) species in different light environments. American Journal of Botany, vol: 81(5), pp. 589-597, 1994.
- [2] E. Martinez-Ferri, L. Balaguer, F. Valladares, J.M. Chico, E. Manrique, Energy dissipation in drought-avoiding and drought-tolerant tree species at midday during the Mediterranean summer. Tree Physiology vol: 20, pp: 131-138, 2000.
- [3] F. Bussotti; F. Borghini; C. Celesti; C. Leonzio; P. Bruschi, Leaf morphology and macronutrients in broadleaved trees in central Italy. Trees vol: 14: pp: 361-368, 2000.
- [4] F.M. Catarino, O.C.A. Correia, A.I.V.D. Correia, Structure and dynamics of Serra da Arrabida Mediterranean vegetation. Ecología Mediterránea vol: 8, pp: 203-222. 1982.
- [5] J. W. Hardin, Patterns of variation in foliar trichomes of eastern North American *Quercus*. American Journal of Botany, vol: 66(5), pp: 576-585, 1979.
- [6] T. Bačić, D. Milić, Leaf anatomy of a *Quercus coccifera* L. from the east Adriatic coast. Acta bot. croat. Zagreb, vol: 47, pp: 135-144, 1988.
- [7] T. Bačić, D. Milić, Contribution to the leaf anatomy of *Quercus ilex* L. Acta Bot. Croat. vol: 44, pp: 23—31, 1985.
- [8] T. S. Elias, The genera of *Fagaceae* in the southeastern United States. J. Arnold Arbor. vol: 52, pp: 159-195, 1971.