

# Morfološka analiza populacija kratkozupčaste kadulje (*Salvia brachyodon* Vandas)

---

**Pruša, Monika**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2012**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:653985>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-04-02**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno – matematički fakultet  
Biološki odsjek

Monika Pruša

Morfološka analiza populacija kratkozupčaste  
kadulje (*Salvia brachyodon* Vandas)

Diplomski rad

Zagreb, 2012.

Ovaj rad izrađen u Botaničkom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Zlatka Libera i doc. dr. sc. Sandra Bogdanovića predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra eksperimentalne biologije.

## ZAHVALA

Iskreno zahvaljujem prof. dr. sc. Zlatku Liberu i doc. dr. sc. Sandru Bogdanoviću što su mi pružili priliku da pod njihovim vodstvom napravim diplomski rad i tako mi omogućili stjecanje vrijednog iskustva. Posebice im zahvaljujem na strpljenju, podršci i korisnim savjetima prilikom izrade i pisanja ovoga rada.

Posebno zahvaljujem prof. dr. sc. Zlatku Šatoviću s Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na velikoj pomoći pri statističkoj obradi podataka.

Prof. biol. i kem. Ivanu Radosavljeviću iskreno zahvaljujem što sam mu se mogla obratiti kad god mi je bila potrebna pomoć pri snalaženju u laboratoriju.

Hvala Ivici Trojanoviću koji je svojim korisnim savjetima uvelike olakšao prikupljanje uzoraka na poluotoku Pelješcu i Danijeli Stešević koja je sabrala uzorke populacije s planine Orjen.

I na kraju od srca zahvaljujem svima koji su mi na bilo koji način pomogli prilikom izrade i pisanja rada, a najviše svojoj obitelji i prijateljima čija me ljubav i podrška pratila tijekom svih godina školovanja.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Diplomski rad

## MORFOLOŠKA ANALIZA POPULACIJA KRATKOZUPČASTE KADULJE (*SALVIA BRACHYODON VANDAS*)

Monika Pruša

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb

Kratkozupčasta kadulja (*Salvia brachyodon* Vandas) pripada rodu *Salvia* L., sekciji *Salvia*. Ova vrsta je danas jedna od najrjeđih biljnih vrsta dinarskog krša. Do danas su potvrđena samo dva nalazišta ove vrste: sv. Ilija na poluotoku Pelješcu (Republika Hrvatska) i 150 km jugoistočno planina Orjen (Republika Crna gora i Republika Bosna i Hercegovina). Cilj ovog diplomskog rada bio je uz pomoć morfoloških mjerenja i statističkih metoda utvrditi morfološku raznolikost kratkozupčaste kadulje. Uz pomoć računalnog programa SAS izvršena je analiza varijance (ANOVA), korelacije, analiza glavnih sastavnica (PCA) i diskriminantna analiza. Rezultati morfološke analize temeljene na 16 morfoloških osobina pokazuju kako se populacije najviše razlikuju u četiri morfološka svojstva: duljini cvata, žljezdastim sjedećim dlakama na cvjetnoj stapci, duljini čaške i duljini nastavka čaške. Morfološke razlike među populacijama moguće je objasniti prilagodbom biljka na različite uvjete staništa prisutne na ova dva nalazišta. Saznanja o morfološkoj raznolikosti populacija kratkozupčaste kadulje zajedno s ranije utvrđenim genetičkim parametrima predstavljaju značajan prilog rješavanju zamršenih filogenetskih i taksonomskih odnosa unutar sekcije *Salvia*, ali isto tako omogućuju definiranje efikasnijih mjera zaštite ove rijetke i ugrožene vrste.

(38 stranica, 17 slika, 5 tablica, 34 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Ključne riječi: morfometrija, *Salvia brachyodon* Vandas, Pelješac, Orjen, ugrožena vrsta

Voditelj: Dr. sc. Sandro Bogdanović, doc.

Suvoditelj: Dr. sc. Zlatko Liber, red. prof.

Ocjenitelji: Dr. sc. Zlatko Liber, red. prof.

Dr. sc. Sandro Bogdanović, doc.

Dr.sc. Zdravko Dolenc, red. prof.

Rad prihvaćen: 6.6.2012.

# BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Biology

Graduation Thesis

## MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF SHORT-TOOTH SAGE (*SALVIA BRACHYODON* VANDAS) POPULATIONS

Monika Pruša

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Short-tooth sage (*Salvia brachyodon* Vandas) belongs to the genus *Salvia*, section *Salvia*. This species is one of the rarest species of the Dinaric karst. Only two localities have been confirmed at the present time: Mt. Sveti Ilija on the peninsula of Pelješac (Republic of Croatia) and 150 km southeast of Mt Orijen (Republic of Bosnia and Herzegovina and Republic of Montenegro). The aim of this graduation thesis was to determine morphological diversity of short-tooth sage using morphological measurements and statistical methods. The analysis of variance (ANOVA), correlation, Principal Component Analysis (PCA) and Discriminate Analysis were performed using SAS computer program. The morphological analysis based on 16 morphological characters showed that two populations are especially different in four morphological traits: inflorescence length, glandular sessile trichome on a flower pedicel, calyx length and calyx appendices length. Differences in morphological traits may be explained as the adaptation of plants to different habitat conditions present at these two localities. Information on the morphological diversity of short-tooth sage populations together with the previously established genetic parameters represent a significant contribution to solving the complex phylogenetic and taxonomic relationships within sections *Salvia*, but also contribute to better protection of these rare and endangered species.

(38 pages, 17 figures, 5 tables, 34 references, original in: Croatian)

Thesis deposited in the Central biological library.

Key words: morphometry, *Salvia brachyodon* Vandas, Pelješac, Orjen, endangered species

Supervisor: Dr. sc. Sandro Bogdanović, Asst. Prof.

Cosupervisor: Dr. sc. Zlatko Liber, Prof.

Reviewers: Dr. sc. Zlatko Liber, Prof.

Dr. sc. Sandro Bogdanović, Asst. Prof.

Dr.sc. Zdravko Dolenc, Prof.

Thesis accepted: 6.6.2012.

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Taksonomija i korologija kratkozupčaste kadulje.....	2
1.2. Opis i ekologija kratkozupčaste kadulje.....	4
1.3. Ljekovita svojstva i primjena kratkozupčaste kadulje u tradicionalnoj medicini .....	7
1.4. Genetička raznolikost kratkozupčaste kadulje .....	9
1.5. Ugroženost i zaštita kratkozupčaste kadulje .....	10
1.6. Cilj istraživanja .....	11
2. MATERIJALI I METODE .....	12
2.1. Biljni materijal.....	13
2.2. Opis i mjerenja morfoloških svojstava.....	13
2.3. Statističke metode .....	19
2.3.1. Analiza varijance (ANOVA).....	19
2.3.2. Korelacije .....	19
2.3.3. Analiza glavnih sastavnica .....	19
2.3.4. Diskriminantna analiza.....	19
3. REZULTATI .....	21
4. RASPRAVA.....	29
5. ZAKLJUČAK.....	33
6. LITERATURA .....	35

## 1. UVOD



## 1.1. Taksonomija i korologija kratkozupčaste kadulje

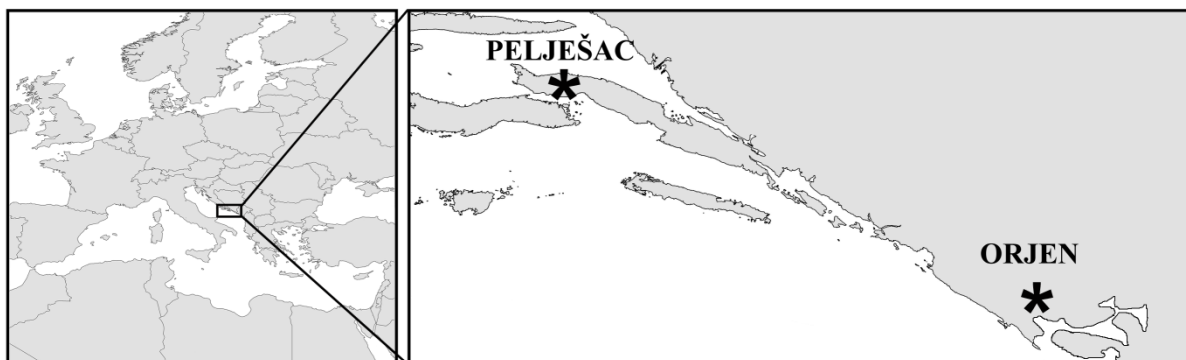
Porodica *Lamiaceae* (usnjače) obuhvaća oko 200 rodova i oko 3500 vrsta široko rasprostranjenih po čitavoj Zemlji, s najvećim rasprostranjenjem na području Sredozemlja i Južne Azije (FILIPOVIĆ 2012). Veliki broj vrsta unutar ove porodice su začinske, aromatične i ljekovite biljke. Mnoge vrste su samonikle u našim krajevima, a veliki broj ih se uzgaja za potrebe farmaceutske, kozmetičke i prehrambene industrije. Budući da su jako dekorativne i mirisne često se uzgajaju kao ukrasne biljke u vrtovima, a također imaju veliku ekološku važnost zbog svoje sposobnosti očuvanja i vezivanja tla (ŽIDOVEC 2004). U hrvatskoj flori porodica je zastupljena s 37 rodova i 226 vrsta i podvrsta (NIKOLIĆ 2012). Unutar porodice *Lamiaceae* najveći je rod *Salvia* (kadulja) s gotovo 1000 vrsta. Rod *Salvia* je kozmopolitski rasprostranjen pa vrste ovog roda nalazimo i u umjerenom klimatskom pojasu i u tropskim područjima, a nisu prisutne jedino u ekstremno vrućim i vlažnim krajevima (BRICKELL 1998). Primjerice, s oko 500 vrsta područje Srednje i Južne Amerike je najbogatije vrstama ovog roda, zatim slijedi središnja Azija i Mediteransko područje s oko 250 vrsta te istočna Azija s oko 90 vrsta (WALKER I SUR. 2004).

Tipski primjerak roda *Salvia* je vrsta *Salvia officinalis* L. (ljekovita kadulja). Ljekovita kadulja je poznata i koristi se kao ukrasna i ljekovita biljka još od antičkog doba, a možda i ranije. Naziv vrste dolazi od latinske riječi *salvus* (zdrav), odnosno glagola *salvare* (spasiti, liječiti) (HORVATH 2006). U narodnoj medicini najpoznatije je liječenje desni i usne šupljine jakim uvarkom od kadulje, a suhi listovi sprječavaju znojenje i krvarenje. Zbog tople klime i vapnenačkog tla koje pogoduje njezinom rastu na području Hrvatske najviše je nalazimo u primorskom području te susjednim krškim područjima uzduž Dinarida.

Prema Flora Croatica Database (NIKOLIĆ 2012) u Hrvatskoj je poznato 18 vrsta roda *Salvia* koje rastu na području cijele Hrvatske kao samonikle vrste, a mnoge od njih se javljaju i kao korovi. Zbog neznanja i neupućenosti stanovništva mnoge vrste roda *Salvia* su ugrožene. Prema kategorijama ugroženosti u Hrvatskoj su vrste *Salvia brachyodon* Vandas (kratkozupčasta kadulja), *S. fruticosa* Mill. (grčka kadulja) i *S. peloponnesiaca* Boiss. et Heldr. gotovo ugrožene (*near threatened*, NT), a vrsta *Salvia nemorosa* L. (podlesna kadulja) ugrožena vrsta (*endangered*, EN). Od svih vrsta roda *Salvia* u hrvatskoj flori jedino *S. brachyodon* ima status endema. Zbog povećane potražnje za kaduljom i njezinim pripravcima u zadnjih nekoliko godina pojačano je sakupljanje ovih vrsta na prirodnim staništima što može imati negativne posljedice na populacijske parametre.

U Hrvatskoj su autohtone sljedeće vrste: *Salvia aethiopsis* L. (etiopska kadulja), *Salvia amplexicaulis* Lam., *Salvia argentea* L. (pustica), *Salvia austriaca* Jacq. (austrijska kadulja), *Salvia bertolonii* Vis. (Bertolonijeva kadulja), *Salvia glutinosa* L. (ljepljiva kadulja), *Salvia officinalis* L. (ljekovita kadulja), *Salvia pratensis* L. (livadna kadulja), *Salvia ringens* Sm., *Salvia sclarea* L. (muškatna kadulja), *Salvia tomentosa* Mill., *Salvia verbenaca* L. (sporišasta kadulja), *Salvia verticillata* L. (pršljenasta kadulja), *Salvia viridis* L. (zelena kadulja), *Salvia brachyodon* Vandas (kratkozupčasta kadulja), *S. fruticosa* Mill. (grčka kadulja) i *S. peloponnesiaca* Boiss. et Heldr..

*Salvia brachyodon* (VANDAS 1899) ili kratkozupčasta kadulja pripada sekciji *Salvia* te istoj skupini vrsta unutar roda *Salvia* kao i ljekovita kadulja (HEDGE 1972). Prema Flora Croatica Database (NIKOLIĆ 2012) narodni hrvatski nazivi vrste su kratkozupčasta kadulja, kratkozupčasta žalfija, kratkozuba kadulja, veliki krstac, krstac, crni pelin, širokolisni pelin i grki pelin. Karl Vandas prvi je otkrio vrstu na planini Orjen na granici između Crne Gore i Bosne i Hercegovine, na području između tvrđave Ulice i Vrbanje (VANDAS 1899) te je to mjesto označeno kao *locus classicus* vrste. Na poluotoku Pelješcu na vrhu Sv. Ilija na visini od oko 900 m sabrao ju je E. Brandis 1904. godine. Taj nalaz prvi objavljuje L. Keller (1915) koji ujedno navodi i narodno ime te biljke – veliki krstac. Dosad je kratkozupčasta kadulja poznata samo na ta dva lokaliteta (Slika 1.).



**Slika 1.** Jedini poznati lokaliteti kratkozupčaste kadulje.

U literaturi se spominje i nalazište na planini Mosor (GIROMETTA 1930), međutim to nalazište tijekom kasnijih istraživanja nije potvrđeno te se smatra nepouzdanim.

## 1.2. Opis i ekologija kratkozupčaste kadulje

Kratkozupčasta kadulja na poluotoku Pelješcu raste na plitkom tlu, na dolomitno-vapnenačkoj podlozi, a mjestimično je nalazimo i na dubljem humoznom tlu te je tada jače zastupljena. Na tom se staništu javlja u svijetlim šumama dalmatinskog crnog bora s vrstom *Erica manipuliflora* Salisb. (TRINAJSTIĆ 1986), na rubovima šuma i šumskim čistinama, ulazeći u sastav subasocijacije *Genisto-Ericetum verticillatae* Horvatić *pinetosum dalmaticae* Horvatić reda *Cisto-ericetalia* Horvatić. Kada je u sastavu borovih šuma kratkozupčasta kadulja raste u skupini većeg broja jedinki. Kratkozupčasta kadulja na području planine Orjen obitava na dolomitno-vapnenačkim plitkim tlima na rubu termofilnih šuma i šikara reda *Quercetalia pubescentis* Br.-Bl., na šumskim čistinama, dopirući do zone primorske šume bukve te se rijetko javlja pojedinačno. Ona je pripadnik podsveze *Saturejon subspicatae* Horvat, reda *Scorzonero-Chrysopogonetalia* Horvatić et Horvat, asocijacije *Lino-Salvietum brachyodoni* Šilić et Abadžić (ABADŽIĆ I ŠILIĆ 1982).

Odrasla biljka ima oblik niskog i gustog polugrma, a stabljika je okruglo ili tupo četverobrida (Slika 2. a).



**Slika 2.** Kratkozupčasta kadulja (*Salvia brachyodon* Vandas) - morfološke osobine: a) habitus, b) cvijet, c) građa prašnika, d) usporedba listova ljekovite i kratkozupčaste kadulje (autor: Z. Liber).

Tijekom sakupljanja uzoraka za ovo istraživanje primijećeno je stvaranje horizontalnih stabljika iz kojih izbijaju novi, nadzemni izdanci i podzemne vriježe (stoloni) kao oblik nespolnog razmnožavanja (Slika 3.).



**Slika 3.** Podzemne vriježe (stoloni) kratkozupčaste kadulje (autor: Z. Liber).

U donjem dijelu stabljika je odrvenjela i pomalo bijelo vunasto dlakava, dok je gore gola, prevučena sivo bjeličastom tankom prevlakom te ispunjena bijelom srži. Nadzemni izdanci su slabo razgranjeni, a na onim fertilnima cvat se pojavljuje samo na vrhu izbojka. Listovi su gusto smješteni i na dugoj peteljci, a veličina im znatno varira (6-14 cm dugi i 1,5-4 cm široki). Plojka je cjelovita ili perasto razdijeljena: terminalna liska je najveća, dok je postranih liski 1-3 (2-4 cm duge i 5-7 mm široke) većinom sraslih s terminalnom liskom. Oblik terminalne liske je lancetast, pri vrhu ušiljen ili slabo zatupljen. Rub lista je blago naboran. Mladi listovi su dlakaviji, a i peteljka im je gusto bijelovunasto dlakava. Razvijeni listovi su na licu slabo dlakavi, a na naličju gusto bijelo pustenasti, dok su stari listovi kožasti, žutozeleni, s jače istaknutim žilama i oskudnije dlakavi.

Cvjetovi formiraju rahli metličast cvat koji je sastavljen od 2-5 svijetloljubičastih cvjetova sa žljezdastim dlakama. Cvjetovi se nalaze na kraćoj ili dužoj cvjetnoj stapci također sa brojnim žljezdastim dlakama (Slika 2. b i c). Brakteje postoje u različitim oblicima i veličinama, od većih s razdijeljenom plojkom smještenih uz najniže ogranke, manjih s nerazdijeljenom plojkom uz više ogranke do onih posve malih uz sam cvijet. Katkad su

posute žljezdastim dlakama i sve otpadaju veoma rano. Cjevasto zvonolika čaška je duga oko 8-10 mm i prekrivena je žljezdastim dlakama. Na čaški su jasno vidljive uzdužne žile, a nastavci čaške su široko trokutasti, na vrhu ušiljeni. Latice su 3-4 puta duže od čaške. U cvijetu su dva fertilna prašnika s kratkim filamentima. Oba su prašnika međusobno povezana i tvore za rod *Salvia* karakterističan oprašivački mehanizam (Slika 2. c). Plodnica je na gornjem dijelu četverodijelna, a na vrhu vrata tučka ima dvocjepnu njušku koja zajedno s prašnicima proviruje iz cijevi vjenčića. Vrijeme cvjetanja je od srpnja do kolovoza. Broj kromosoma je  $2n=14$  (ŠILIC 1990). Plod je jajoliko trokutasti oraščić glatke i sjajne površine, svijetlije ili tamnije boje. Unutar jednog cvijeta iz plodnice od 2 plodna lista nastaju četiri oraščića pa se često nazivaju i merikarpima nastalim iz ploda cijepavca (Slika 4.).



**Slika 4.** Sjemenke kratkozupčaste kadulje (autor: M. Pruša).

Klica kratkozupčaste kadulje razvija najprije dvije okruglaste supke koje kasnije poprimaju bubrežasti oblik. Plojka drugog para listića je jajolika i neravne površine, a svi nadzemni dijelovi su dlakavi (BARBALIĆ 1956).

### 1.3. Ljekovita svojstva i primjena kratkozupčaste kadulje u tradicionalnoj medicini

Za usnjače su karakteristične žljezdaste dlake stabljike, listova i cvjetova koje izlučuju eterično ulje. Sam naziv eterično ulje odnosi se na izuzetno kompleksnu smjesu različitih spojeva (MARIN 2003). Glavna grupa spojeva se sastoji od terpena i terpenoida, a druga od aromatičnih i alifatičnih spojeva (BAKKALI I SUR. 2008). Stanice u podnožju žljezdastih dlaka su mjesto sinteze sekundarnih metabolita koji igraju značajnu ulogu u interakciji između biljaka i biljojeda te patogenih organizama. Eterična ulja biljkama daju jedinstven aromatičan miris zbog kojeg imaju bitno ekonomsko značenje pa se često koriste kao začinsko bilje, u narodnoj medicini, farmaceutskoj industriji, a med od ovih biljaka je izuzetno cijenjen zbog ljekovitosti i specifičnog mirisa (DEVETAK 1950).

Eterično ulje kadulja dobiveno destilacijom iz osušenih listova upotrebljava se kao mirisna komponenta u kozmetičkim proizvodima, za aromatiziranje hrane i u aromaterapiji. Djeluje lipolitično, antibakterijski, antifungalno, ekspektorirajuće i hormonalno. Primjenjuje se kod amenoreje, virusnih infekcija, za poticanje probave, kod afti, celulita i pretilosti. Može nadražiti kožu, a u većim dozama, posebice ako je oralno uneseno ima neurotoksično i abortivno djelovanje (KUŠTRAK 2005).

Podaci mnogobrojnih autora pokazuju da se prinos i kompozicija eteričnog ulja ljekovite kadulje razlikuju ovisno o porijeklu biljke (PUTIEVSKY I SUR. 1992), odnosu dijelova biljke u sirovini za destilaciju (SANTOS-GOMES I FERNANDES-FERREIRA 2001), fenološkom stadiju organa (LANGER I SUR. 1993; AVATO I SUR. 2005), godišnjem dobu odnosno klimatskim uvjetima (PUTIEVSKY I SUR. 1986), lokaciji (PERRY I SUR. 1999), mineralnoj gnojidbi (PICCAGLIA I SUR. 1989) i intenzitetu svjetla (LI I SUR. 1996).

Istraživanja su pokazala kako kratkozupčasta kadulja u svojim listovima sadrži nešto manje eteričnih ulja (1,6%) u odnosu na ljekovitu kadulju (2,3%) te da u sastavu ulja ima najveći postotak seskviterpena (67,8%) dok kod ljekovite kadulje dominira *cis*-tujon (57%) (MAKSIMOVIĆ I SUR. 2007). Kod populacije kratkozupčaste kadulje s Orjena zabilježen je velik udio 1,8-cineola (36,9%) koji ima alelopatski učinak i na taj način sprječava rast drugih biljaka. Taj spoj također štiti samu biljku od raznih biljojeda. U populaciji s Pelješca taj je udio znatno manji (1,6%) što se pripisuje znatno boljim uvjetima u kojima biljke rastu. Zanimljivo je da kod kratkozupčaste kadulje nije zabilježena prisutnost tujona ili je bio

prisutan samo u tragovima (TZAKOU 2003) što ima posebno značenje kada znamo da upravo zbog tujona dugotrajna uporaba ljekovite kadulje može imati štetne posljedice.

Od ljekovite kadulje s prostora Hrvatske dobiva se dalmatinsko kaduljino ulje koje se na tržištu pojavilo kao prvo eterično ulje te biljne vrste te su prema njemu određene standardne konstante. Budući da je ulje toliko kvalitetno naša zemlja predstavlja jednog od najvećih proizvođača i izvoznika svih prerađevina te biljke kojoj privredna važnost sve više raste. S obzirom na tu vrijednost naše ljekovite kadulje posve je prirodno da nas sve više zanimaju i ostale vrste tog roda koje u većoj ili manjoj mjeri nalikuju na nju. Zanimljivo je da je prilikom organiziranog otkupa ljekovite kadulje narod sakupljao kratkozupčastu kadulju i pritom isticao njenu veću ljekovitost u usporedbi s ljekovitom kaduljom (BARBALIĆ 1956).

#### 1.4. Genetička raznolikost kratkozupčaste kadulje

Prilikom istraživanja genetičke raznolikosti kratkozupčaste kadulje u odnosu na ljekovitu kadulju svaka od primijenjenih analiza ukazivala je na velike razlike u genetičkoj slici istraživanih populacija (PRUŠA 2011). Za istraživanje su izabrane po jedna populacija svake vrste s lokaliteta Sv. Ilija na poluotoku Pelješcu, a za utvrđivanje genetičke raznolikosti upotrijebljeni su mikrosatelitni biljezi (*Simple Sequence Repeats*; SSR). Od ukupno 91 detektiranog alela samo njih četiri je bilo zajedničko za obje istraživane vrste. Budući da su mikrosateliti poznati po vrlo brzom evolucijskom tempu, za alele koji su zajednički i jednoj i drugoj vrsti može se reći da su zajednički zbog slučajnost (*identity-in-state*; IIS), a ne zbog zajedničkog podrijetla (*identity-by-descent*; IBD). Ovo istraživanje podržalo je teorije o većoj genetičkoj raznolikost široko rasprostranjenih u odnosu na usko rasprostranjene vrste (FREELAND 2006). Zanimljivo je da je kod kratkozupčaste kadulje utvrđeno postojanje četiri para genetički istih jedinki i pet parova jedinki koje nemaju niti jedan zajednički alel, dok kod ljekovite kadulje nisu zabilježene jedinke s potpuno istim alelima, a različitost po svim alelima utvrđena je za čak 13 parova jedinki. Ovaj rezultat može se povezati s postojanjem podzemnih vriježa i nespolnim razmnožavanjem kod kratkozupčaste kadulje.

Ostali utvrđeni populacijsko-genetički parametri ne ukazuju samo na manju genetičku raznolikost nego i na ugroženi status endemične kratkozupčaste kadulje. Tako je za populaciju kratkozupčaste kadulje s poluotoka Pelješca utvrđeno postojanje dvostruko manje alela nego kod populacije ljekovite kadulje. Kako je kod kratkozupčaste kadulje utvrđena veća primjećena ( $H_O$ ) od očekivane heterozigotnosti ( $H_E$ ), zaključak je da ova populacija ima suvišak heterozigotnih jedinki u odnosu na onu u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži. Ovaj višak heterozigotnosti nužno utječe i na vrijednosti fiksacijskog indeksa (= koeficijent samooplodnje, *inbreeding coefficient*). Do viška heterozigotnosti i smanjenog broja alela najvjerojatniji je došlo jer je populacija na poluotoku Pelješcu u nedavnoj prošlosti prošla kroz tzv. genetičko usko grlo (*bottleneck*). Drugim riječima ona je u svojoj prošlosti morala jako smanjiti svoju nekadašnju veličinu i broj jedinki, a samim tim je izgubila znatan dio alela, osobito onih s malom frekvencijom (tzv. rijetki aleli). Da je pelješka populacija kratkozupčaste kadulje prošla kroz genetičko usko grlo potvrdio je i Wilcoxonov test na temelju četiri mutacijska modela.



## 1.5. Ugroženost i zaštita kratkozupčaste kadulje

Na osnovu danas poznatih nalazišta možemo sa sigurnošću reći da je kratkozupčasta kadulja jedna od najrjeđih biljnih vrsta dinarskog krša. U Hrvatskoj prema kategorijama ugroženosti kratkozupčasta kadulja pripada kategoriji gotovo ugrožene vrste (*near threatened*, NT) i ima status endema (NIKOLIĆ 2012). Prema priručniku za korištenje IUCN (*International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources*) kategorija i kriterija (IUCN 2010) gotovo ugrožena vrsta je kategorija koja bi u bliskoj budućnosti mogla prerasti u jednu od kategorija ugroženosti. Prema objavljenom popisu svojta u Pravilniku o proglašavanju divljih svojti zaštićenim i strogo zaštićenim (»Narodne novine«, broj 99/09) kratkozupčasta kadulja spada u strogo zaštićene zavičajne divlje svojte vaskularne flore. U Crnoj Gori svrstana je u višu kategoriju zaštite, odnosno u kategoriju ugrožene vrste (*endangered*, EN). Zaštićena je zakonom i kao rijetka vrsta (*rare species*, R) uvrštena je na IUCN-ov crveni popis ugroženih vrsta (PETROVIĆ I SUR. 2008). Do sada nisu vršena istraživanja koja bi pratila promjene u brojnosti i veličini areala ove usko rasprostranjene vrste.

Istraživanje genetičke raznolikosti kratkozupčaste kadulje (PRUŠA 2011) dokazalo je genetički usko grlo tj. da se populacija na poluotoku Pelješcu u nedavnoj prošlosti jako smanjila na današnju veličinu i da se taj trend možda nastavlja i dalje. Dobiveni rezultat bi trebao potaknuti provjeru kvantitativnih kriterija (IUCN kriteriji A-E) koji se koriste u određivanju da li je vrsta ugrožena ili ne i ako da u koju kategoriju ugroženosti ju treba smjestiti (kritično ugrožena, ugrožena ili osjetljiva). Drugim riječima dobiveni molekularni podaci su „zvono na uzbunu“ kako bi se čim prije pokrenula procjena ugroženosti na terenu. Procjena na terenu odnosi se na: (1) mjerenje veličine areala (najvjerojatnije manje od 10 km<sup>2</sup>), (2) utvrđivanje točnog broj populacija i usporedba s dosad zabilježenim brojem i (3) brojanje cvjetajućih jedinki (vjerojatno manje od 2500). Dodatni problem je što se ova biljka razmnožava nespolno pa je bez genetičke slike populacija nemoguće utvrditi što je genetički različita jedinka, a što klon. Tek nakon ovih istraživanja moći će se prema IUCN standardima utvrditi stvarna kategorija ugroženosti, a nakon toga i provesti prikladnije mjere zaštite. No ni tu nije kraj, jer je brojnost populacija i njihovu genetsku raznolikost potrebno pratiti i nakon poduzetih mjera zaštite kako bi se utvrdila njihova efikasnost.

## 1.6. Cilj istraživanja

Poluotok Pelješac i planina Orjen jedini su sigurni poznati lokaliteti na kojima je zabilježena prisutnost kratkozupčaste kadulje. Cilj ovog istraživanja je pomoću morfoloških mjerenja i statističkih metoda utvrditi morfološku raznolikost unutar i između populacija kratkozupčaste kadulje. Morfološke osobine populacija zajedno s ranije utvrđenim genetičkim parametrima omogućit će bolje upoznavanje stanja populacije kratkozupčaste kadulje i omogućiti definiranje efikasnijih mjera zaštite ove rijetke vrste. Morfološka i genetička karakterizacija kratkozupčaste kadulje prilog je budućem rješavanju zamršenih filogenetskih i taksonomskih odnosa unutar sekcije *Salvia*.

## 2. MATERIJALI I METODE

## 2.1. Biljni materijal

Biljni materijal je sakupljen na dva lokaliteta: poluotok Pelješac (Hrvatska) i planina Orjen (Crna Gora) (Slika 1.).

Uzorci s Pelješca sakupljeni su 25. kolovoza 2010. u blizini najvišeg vrha sv. Ilija na 843 m nadmorske visine, na koordinatama 42° 59' 45" N i 17° 9' 29" E. Ukupno je sakupljeno 30 jedinki. Uzorci s Orjena sakupljeni su 15. srpnja 2011. na 1024 m nadmorske visine, na koordinatama 42° 34' 12,5" N i 18° 28' 28,9" E. Ukupno je sakupljeno 30 jedinki. Sve jedinke su herbarizirane i pohranjene u Herbarium Croaticum (ZA) Botaničkog zavoda, Biološkog odsjeka PMF-a.

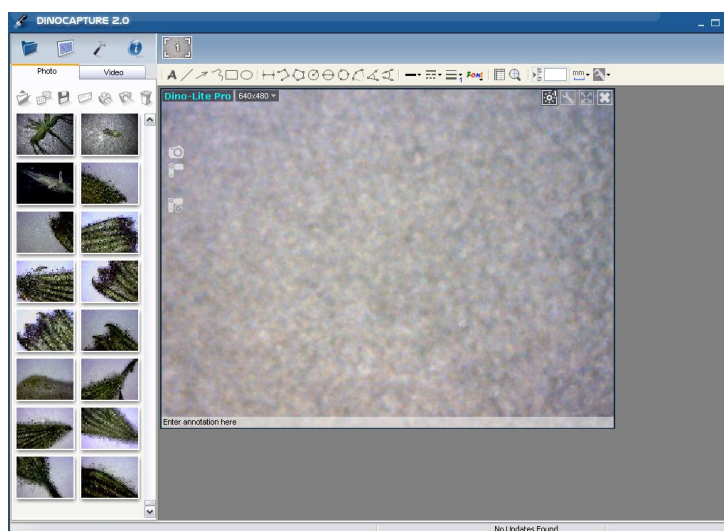
## 2.2. Opis i mjerenja morfoloških svojstava

Na svih 60 herbariziranih primjeraka kratkozupčaste kadulje provedena su morfološka mjerenja 16 kvantitativnih morfoloških svojstava. Sva mjerenja su provedena u Botaničkom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu. Prilikom određivanja i mjerenja većine osobina, osim duljine cvata, broja internodija na osi cvata i broja primarnih ogranaka za koja nisu bila potrebna optička pomagala, korišteni su Olympus Pro-lux Microscope lupa i Dino-Lite pro Digital Microscope (Slika 5.).



**Slika 5.** Digitalni mikroskop Dino-Lite pro Digital Microscope.

Pomoću Olympus Pro-lux Microscope lupe određen je tip dlaka na cvjetnim stapkama i čaškama. Dino-Lite pro Digital Microscope je spojen na računalo, a pomoću software-a Dino-Lite izmjereni su: duljina čaške, duljina režnjeva čaške, duljina nastavaka čaške te tip nervature čaške (Slika 6.).



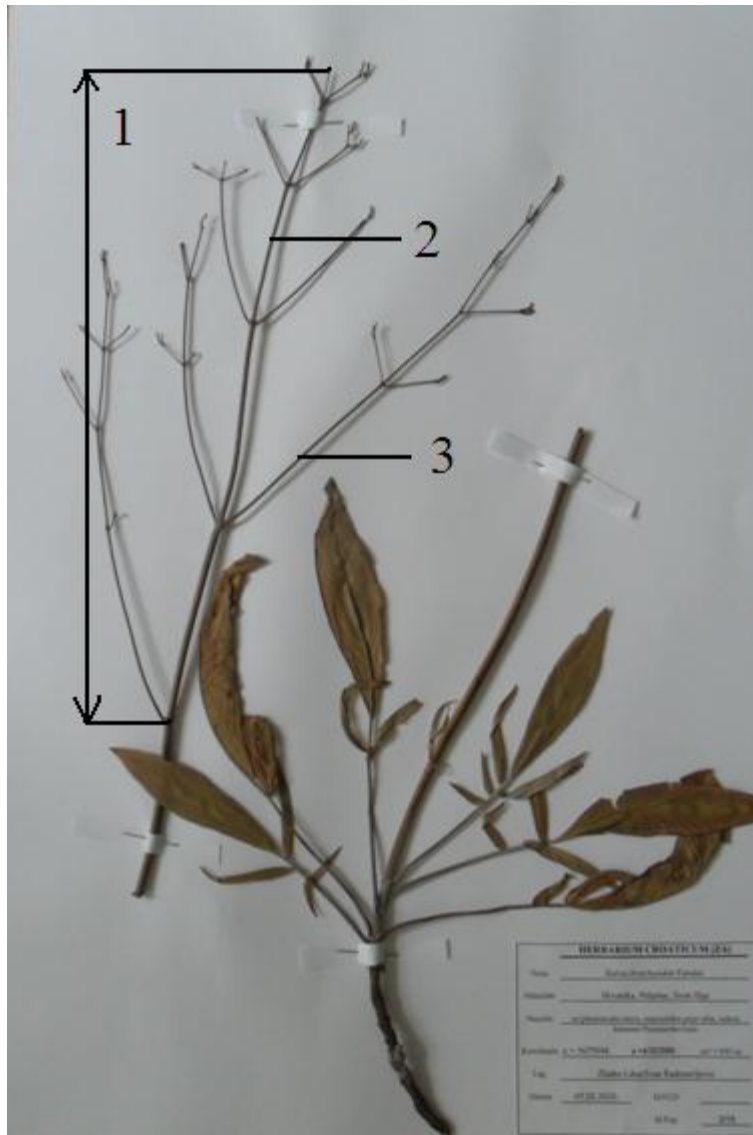
Slika 6. Sučelje Dino-Lite software-a.

Izabrana morfološka svojstva mjerena su za svaki herbarizirani primjerak i prikazana su u Tablici 1.

Tablica 1. Mjerena morfološka svojstva kratkozupčaste kadulje.

Oznaka morf. osobine	Dio biljke	Opis morfološke osobine	Mjerna jedinica	Broj izmjera
S01	Cvat	Duljina cvata	cm	1
S02	Cvat	Broj internodija na osi cvata	broj	1
S03	Ogranci	Broj primarnih ogranaka	broj	1
S04	Cvjetna stapka	Tip dlaka: Nežljezdaste stršeće	0/1	2-5
S05	Cvjetna stapka	Tip dlaka: Kratke žljezdaste	0/1	2-5
S06	Cvjetna stapka	Tip dlaka: Žljezdaste duge glavičaste	0/1	2-5
S07	Cvjetna stapka	Tip dlaka: Žljezdaste sjedeće	0/1	2-5
S08	Cvjetna stapka	Tip dlaka: Žljezdaste na stalku	0/1	2-5
S09	Čaška	Tip dlaka: Nežljezdaste stršeće	0/1	2-5
S10	Čaška	Tip dlaka: Žljezdaste dugačke glavičaste	0/1	2-5
S11	Čaška	Tip dlaka: Žljezdaste na stalku	0/1	2-5
S12	Čaška	Duljina čaške	mm	2-5
S13	Čaška	Duljina režnja čaške	mm	2-5
S14	Čaška	Duljina nastavka čaške	mm	2-5
S15	Čaška	Nervatura čaške: paralelna sa slabo izraženim anastomozama	0/1	2-5
S16	Čaška	Nervatura čaške: paralelna s jako izraženim anastomozama	0/1	2-5

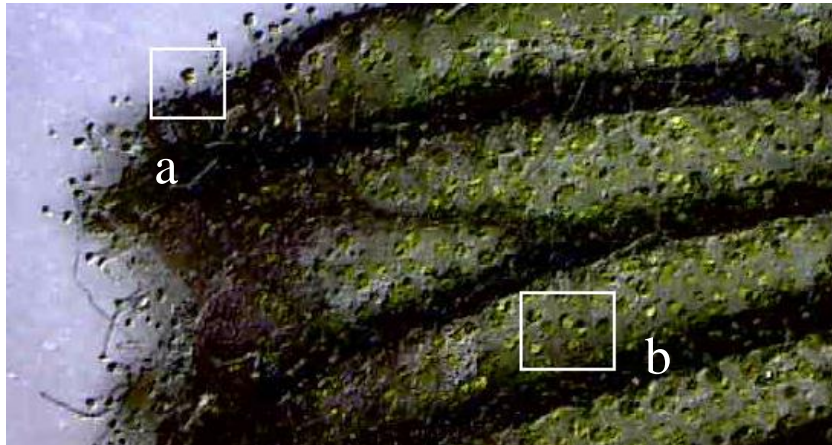
Prilikom mjerenja duljine cvata, broja internodija na osi cvata i primarnih ogranaka nisu bila potrebna optička pomagala (Slika 7.).



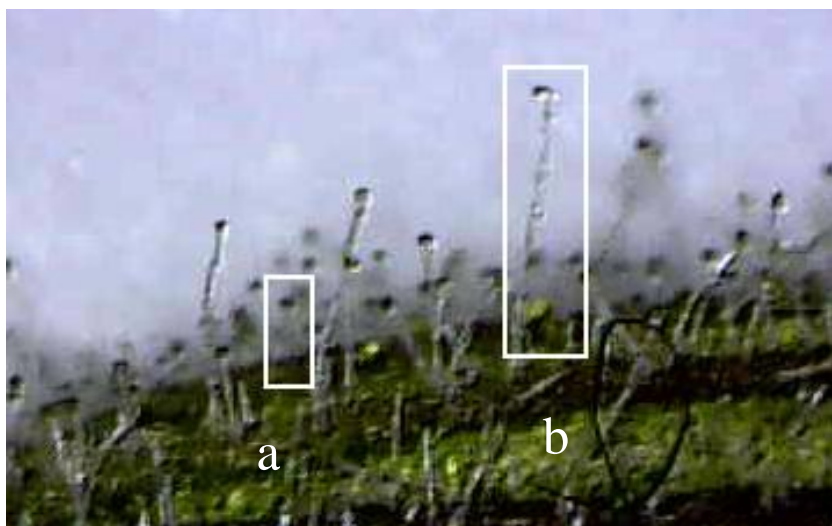
**Slika 7.** Prikaz dijela mjenjenih morfoloških svojstava za koje nisu potrebna optička pomagala: 1 - duljina cvata, 2 - broj internodija na osi cvata, 3 - broj primarnih ogranaka na cvatu.

Ostale morfološke osobine su mjerene tako da je s herbariziranih biljaka uzeto 2-5 čaški s pripadajućom cvjetnom stapkom ovisno o tome koliko ih je nađeno na određivanoj biljci. Pomoću Olympus Pro-lux Microscope lupe pod najvećim povećanjem određen je tip dlaka na cvjetnoj stapci i čaški.

Kod kratkozupčaste kadulje postoje dva tipa dlaka: nežljezdaste i žljezdaste. Žljezdaste dlake imaju na sebi kupolu s eteričnim uljem. S obzirom na oblik žljezdaste dlake mogu biti: sjedeće, kratke žljezdaste, duge glavičaste i žljezdaste dlake na stalku (Slika 8. i 9.).

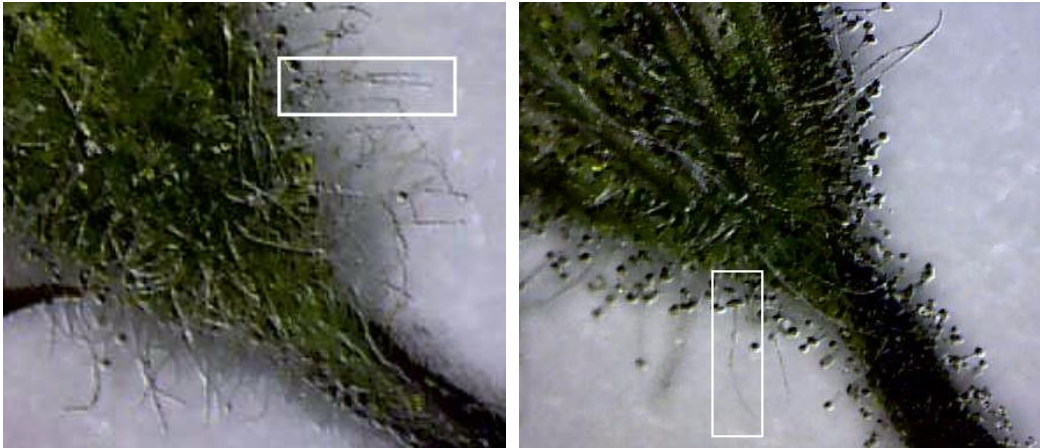


**Slika 8.** Žljezdaste dlake na stalku (a) i žljezdaste sjedeće dlake (b).



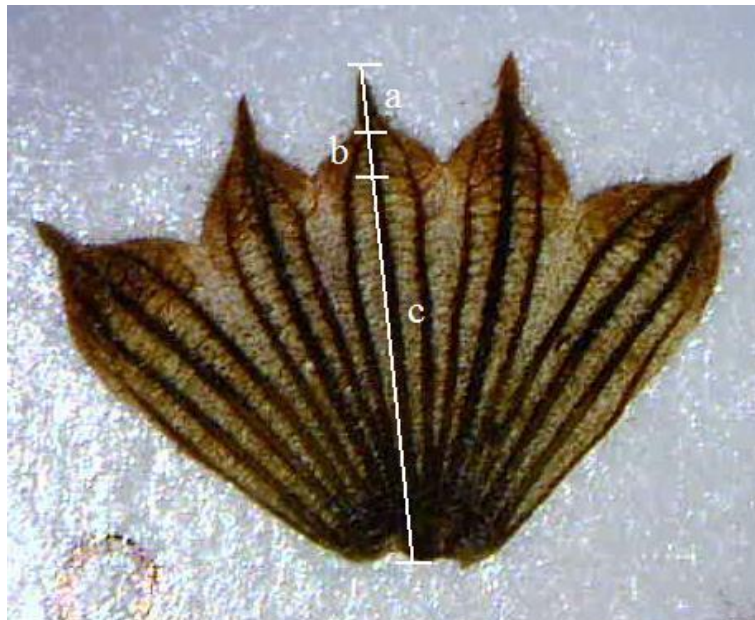
**Slika 9.** Kratka žljezdasta (a) i duga glavičasta dlaka (b).

Od nežljezdastih dlaka moguće je uočiti samo stršeće dlake (Slika 10.).



**Slika 10.** Nežljezdaste stršeće dlake.

Nakon mjerenja pod Olympus Pro-lux Microscope lupom čaške su natopljene 10 min u vrućoj vodi kako bi omekšale, a zatim su pripremljene za promatranje i mjerenje na Dino-Lite pro Digital Microscope-u. Mjerena je duljina čaške do nastavka, duljina režnja čaške do nastavka i duljina nastavka čaške (Slika 11.).



**Slika 11.** Čaška kratkozupčaste kadulje: a) duljina nastavka čaške, b) duljina režnja čaške, c) duljina čaške (od mjesta gdje završava cvjetna stapka do početka nastavka).



Čaške su pregledane kako bi se utvrdilo koliko su jako izražene anastomoze pri vrhu čaške i pritom su podijeljene u dvije kategorije: jako i slabo izražene anastomoze (Slika 12. i 13.).



**Slika 12.** Paralelna nervatura čaški s jako izraženim anastomozama.



**Slika 13.** Paralelna nervatura čaški sa slabom izraženim anastomozama.

## 2.3. Statističke metode

Statistička obrada podataka je provedena pomoću računalnog programa SAS (SAS INSTITUT 2004).

### 2.3.1. Analiza varijance (ANOVA)

Jednosmjerna analiza varijance je provedena u svrhu utvrđivanja signifikantnih razlika između populacija kratkozupčaste kadulje u vrijednostima 16 kvantitativnih morfoloških svojstava. Izračun je proveden pomoću naredbe PROC GLM.

### 2.3.2. Korelacije

Na temelju Pearsonovog korelacijskog koeficijenta izračunate su korelacije između 16 kvantitativnih morfoloških svojstava koristeći naredbu PROC CORR.

### 2.3.3. Analiza glavnih sastavnica

Na temelju 16 kvantitativnih morfoloških svojstava provedena je Analiza glavnih sastavnica (*Principal Component Analysis*; PCA) pomoću naredbe PROC PRINCOMP. Izrađen je dijagram u kojem je u koordinatnom sustavu točkama prikazan položaj analiziranih jedinki, a vektorima pojedina kvantitativna morfološka svojstva.

### 2.3.4. Diskriminantna analiza

Diskriminantna analiza je provedena pomoću naredbi PROC STEPDISC, PROC DISCRIM i PROC CANDISC u svrhu procjene svrsishodnosti i važnosti 16 kvantitativnih svojstava u razlikovanju populacija kratkozupčaste kadulje. Postupnom diskriminantnom analizom (*Stepwise Discriminant Analysis*; PROC STEPDISC) utvrđen je podskup morfoloških svojstava koji maksimalizira multivarijatnu udaljenost između populacija. Odabrani podskup morfoloških svojstava je korišten u diskriminantnoj analizi (*Discriminant Analysis*; PROC DISCRIM) u svrhu pridruživanja pojedinačnih jedinki određenoj populaciji i procjene točnosti klasifikacije postupkom unakrsne provjere valjanosti (*cross-validation*). Naposljetku je provedena kanonička diskriminantna analiza (*Canonical Discriminant*

*Analysis*; PROC CANDISC) na temelju podskupa svojstava. Na temelju rezultata F-testa odabrana su visokosignifikantna svojstva ( $P < 0.01$ ) koja su uključena u ponovnu diskriminantnu analizu kao i kanoničku diskriminantnu analizu. Analizirane jedinice i svojstva su prikazani u koordinatnom sustavu određenom prvim dvjema kanoničkim varijablama.

### 3. REZULTATI

Koristeći 16 kvantitativnih morfoloških osobina provedena je morfološka analiza na ukupno 60 jedinki kratkozupčaste kadulje od kojih je 30 jedinki bilo sabrano na poluotoku Pelješac, a 30 jedinki na planini Orjen. Na temelju analize varijance utvrđena je signifikantna razlika ( $P < 0,05$ ) u vrijednostima osam od ukupno 16 analiziranih morfoloških osobina. Prosječne vrijednosti i rasponi analiziranih svojstava kod obje populacije prikazane su u Tablici 2..

**Tablica 2.** Prosječne vrijednosti i raspon 16 kvantitativnih morfoloških svojstava krakozupčaste kadulje.

Oznaka morf. osobine	Dio biljke	Opis morfološke osobine	P(F) <sup>1</sup>	Pelješac		Orjen	
				Prosjek	Raspon	Prosjek	Raspon
S01	Cvat	Duljina cvata	***	60.52	19.4-94.0	36.77	14.8-66.9
S02	Cvat	Broj internodija na najvišem izbojku	***	10.17	2.0-17.0	7.30	4.0-11.0
S03	Ogranci	Broj primarnih ogranaka	***	20.33	4.0-32.0	14.50	8.0-22.0
S04	Cvj. stapka	Tip dlaka: Nežljezdaste stršeće	ns	0.98	0.7-1.0	0.99	0.8-1.0
S05	Cvj. stapka	Tip dlaka: Kratke žljezdaste	ns	0.98	0.5-1.0	0.95	0.4-1.0
S06	Cvj. stapka	Tip dlaka: Žljezdaste duge glavičaste	*	0.28	0.0-1.0	0.52	0.0-1.0
S07	Cvj. stapka	Tip dlaka: Žljezdaste sjedeće	***	0.66	0.0-1.0	0.96	0.6-1.0
S08	Cvj. stapka	Tip dlaka: Žljezdaste na stalku	ns	0.02	0.0-0.3	0.06	0.0-0.4
S09	Čaška	Tip dlaka: Nežljezdaste stršeće	ns	0.99	0.8-1.0	1.00	1.0-1.0
S10	Čaška	Tip dlaka: Žljezdaste dugačke glavičaste	ns	0.97	0.8-1.0	0.99	0.8-1.0
S11	Čaška	Tip dlaka: Žljezdaste na stalku	*	0.79	0.0-1.0	0.92	0.4-1.0
S12	Čaška	Duljina čaške	**	8.44	7.2-10.5	9.05	7.5-10.3
S13	Čaška	Duljina režnja čaške	ns	0.84	0.3-1.7	0.95	0.7-1.3
S14	Čaška	Duljina nastavka čaške	***	0.48	0.2-0.8	0.91	0.6-1.3
S15	Čaška	Nervatura čaške: paralelna sa slabo izraženim anastomozama	ns	0.48	0.0-1.0	0.53	0.0-1.0
S16	Čaška	Nervatura čaške: paralelna s jako izraženim anastomozama	ns	0.52	0.0-1.0	0.47	0.0-1.0

<sup>1</sup>P(F), signifikantnost F-testa: \*\*\* signifikantan pri  $P < 0.001$ , \*\* signifikantan pri  $0.001 < P < 0.01$ , \* signifikantan pri  $0.01 < P < 0.05$ , ns nesignifikantan ( $P > 0.05$ )

Stupanj linearne povezanosti 16 kvantitativnih morfoloških osobina na temelju izračuna Pearsonovog korelacijskog koeficijenta prikazan je u Tablici 3..

**Tablica 3.** Pearsonovi korelacijski koeficijenti između 16 kvantitativnih morfoloških svojstava kratkozupčaste kadulje. Skraćenice svojstava su navedene u Tablici 2.

Svojstvo	S01	S02	S03	S04	S05	S06	S07	S08	S09	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16
S01		*** <sup>1</sup>	***	ns	ns	**	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	***	ns	ns
S02	0.824		***	ns	ns	**	*	ns	*	ns	*	*	ns	**	ns	ns
S03	0.825	0.992		ns	ns	**	*	ns	*	ns	ns	*	ns	**	ns	ns
S04	-0.101	-0.177	-0.199		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S05	-0.096	-0.059	-0.084	-0.067		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S06	-0.405	-0.348	-0.365	-0.014	0.225		*	*	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
S07	-0.342	-0.289	-0.287	0.092	-0.079	0.260		ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns
S08	-0.040	-0.039	-0.052	-0.242	0.126	0.321	0.086		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S09	-0.212	-0.258	-0.260	-0.041	-0.056	0.146	0.006	0.078		ns	**	ns	ns	ns	ns	ns
S10	-0.082	0.178	0.184	-0.066	0.089	0.120	0.068	0.022	-0.056		ns	ns	ns	ns	ns	ns
S11	-0.123	-0.277	-0.249	-0.084	-0.134	0.074	0.099	0.116	0.355	0.023		ns	ns	ns	ns	ns
S12	-0.248	-0.295	-0.301	-0.164	0.109	0.286	0.040	0.206	0.124	-0.212	0.109		***	**	**	**
S13	-0.156	-0.086	-0.103	0.090	-0.067	0.011	0.042	-0.069	0.017	-0.157	0.123	0.574		*	**	**
S14	-0.465	-0.356	-0.376	0.119	-0.088	0.092	0.425	0.095	0.209	0.009	0.221	0.370	0.303		ns	ns
S15	-0.013	0.003	-0.004	0.109	0.161	0.084	0.112	-0.022	-0.046	0.151	0.053	-0.401	-0.378	0.079		***
S16	0.013	-0.003	0.004	-0.109	-0.161	-0.084	-0.112	0.022	0.046	-0.151	-0.053	0.401	0.378	-0.079	-1.000	

<sup>1</sup>\*\*\* signifikantan pri  $P < 0.001$ , \*\* signifikantan pri  $0.001 < P < 0.01$ , \* signifikantan pri  $0.01 < P < 0.05$ , ns nesignifikantan ( $P > 0.05$ )

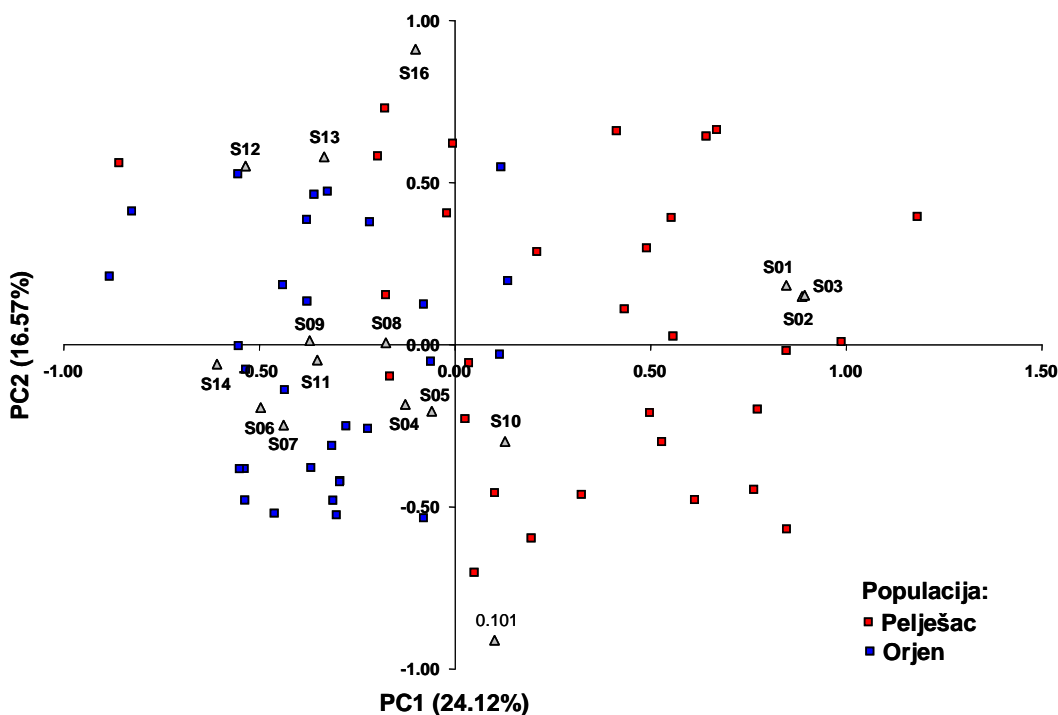
Analizom glavnih sastavnica (*Principal Component Analysis*; PCA) je utvrđeno da su prve tri glavni sastavnice imale svojstvene vrijednosti (*eigenvalues*) veće od 1, a objasnile su 50,7% ukupne varijabilnosti (Tablica 4.). Najvišu korelaciju s prvom glavnom sastavnicom pokazala su svojstva: duljina cvata (S01), broj internodija na najvišem izbojku (S02) i broj primarnih ogranaka (S03), dok su s drugom glavnom sastavnicom visokokorelirana svojstva vezana za nervaturu čaške (S15 i S16).

**Tablica 4.** Pearsonovi korelacijski koeficijenti između 16 kvantitativnih morfoloških svojstava i vrijednosti prvih triju glavnih sastavnica. Skraćenice svojstava su navedene u Tablici 2.

Svojstvo	Glavne sastavnice					
	PC1		PC2		PC3	
S01	0.847	***	0.183	ns	0.054	ns
S02	0.887	***	0.149	ns	0.150	ns
S03	0.894	***	0.153	ns	0.144	ns
S04	-0.127	ns	-0.184	ns	-0.623	***
S05	-0.060	ns	-0.205	ns	0.477	***
S06	-0.497	***	-0.194	ns	0.503	***
S07	-0.438	***	-0.248	ns	-0.070	ns
S08	-0.177	ns	0.006	ns	0.698	***
S09	-0.372	**	0.013	ns	0.068	ns
S10	0.128	ns	-0.298	*	0.271	*
S11	-0.352	**	-0.047	ns	0.042	ns
S12	-0.536	***	0.551	***	0.271	*
S13	-0.335	**	0.579	***	-0.147	ns
S14	-0.609	***	-0.060	ns	-0.143	ns
S15	0.101	ns	-0.912	***	-0.008	ns
S16	-0.101	ns	0.912	***	0.008	ns
Svojstvena vrijednost	3.860		2.650		1.601	
% varijance	24.12		16.57		10.01	

<sup>†</sup>\*\*\* signifikantan pri  $P < 0.001$ , \*\* signifikantan pri  $0.001 < P < 0.01$ , \* signifikantan pri  $0.01 < P < 0.05$ , <sup>ns</sup> nesignifikantan ( $P > 0.05$ )

Na temelju prvih dvaju glavnih sastavnica izrađen je dijagram kojim je u koordinatnom sustavu točkama prikazan položaj analiziranih jedinki, a vektorima pojedina kvantitativna morfološka svojstva (Slika 14.).



**Slika 14.** Biplot dobiven Analizom glavnih sastavnica na temelju 16 kvantitativnih morfoloških svojstava kratkozupčaste kadulje. Skraćenice svojstava su navedene u Tablici 2.

Postupnom diskriminantnom analizom odabrano je šest svojstava koja su imala visokosignifikantnu ( $P < 0,001$ ) vrijednost Wilksovog parametra  $\lambda$  (po redoslijedu: S14, S01, S07, S10, S12, S11) (Tablica 5.). Podskup od šest navedenih svojstava je postupkom unakrsne provjere valjanosti provedbom diskriminantne analize pokazao uspješnost od 97%.

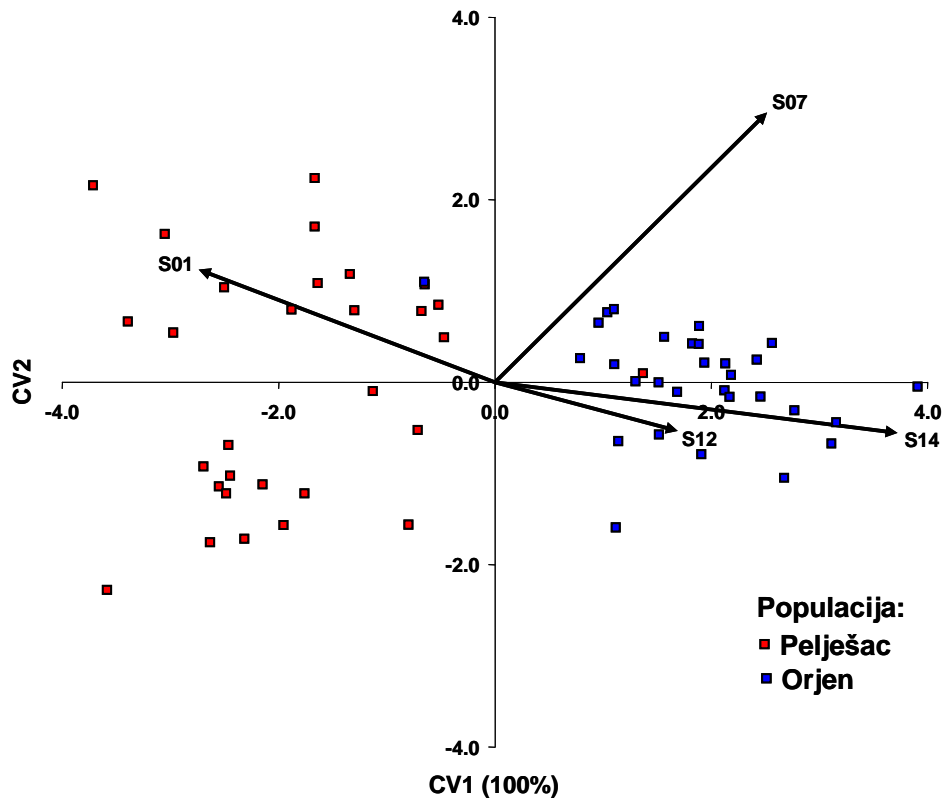
**Tablica 5.** Najvažnija kvantitativna morfološka svojstva za razlikovanje populacija kratkozupčaste kadulje na temelju postupne diskriminantne analize i kanoničke diskriminantne analize.

Oznaka morf. osobine	Svojstvo	Postupna diskriminantna analiza			Kanonička diskriminantna analiza		
		Parcijalni $R^2$	Wilksova $\lambda$	$P(\lambda)^1$	$R^2$	F-statistika	$P(F)^1$
S14	Duljina nastavka čaške	0.675	0.325	***	0.675	120.61	***
S01	Duljina cvata	0.195	0.261	***	0.366	33.44	***
S07	Cvjetna stapka / Tip dlaka: Žljezdaste sjedeće	0.132	0.227	***	0.309	25.90	***
S10	Čaška / Tip dlaka: Žljezdaste duge glavičaste	0.108	0.202	***	0.038	2.30	ns
S12	Duljina čaške	0.074	0.187	***	0.139	9.38	**
S11	Čaška / Tip dlaka: Žljezdaste na stalku	0.047	0.179	***	0.082	5.17	*

<sup>1</sup>\*\*\* signifikantan pri  $P < 0,001$ , \*\* signifikantan pri  $0,001 < P < 0,01$ , \* signifikantan pri  $0,01 < P < 0,05$ , <sup>ns</sup> nesignifikantan ( $P > 0,05$ )



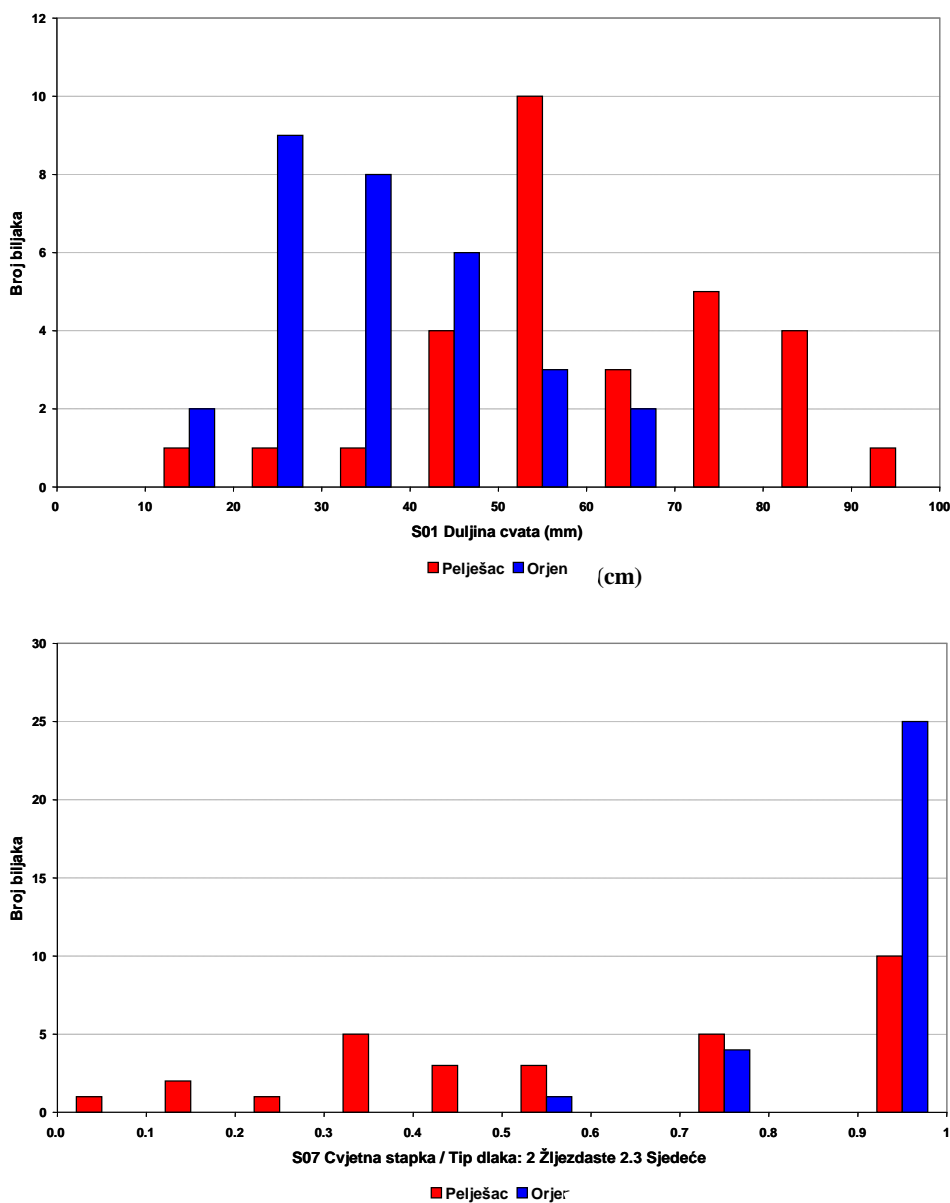
Kanonička diskriminantna analiza na temelju šest svojstava odabranih na temelju postupne diskriminantne analize je pokazala da prva kanonička korelacija iznosi 0,90 ( $P < 0,0001$ ) te da prva kanonička varijabla objašnjava 100% ukupne varijance. Pritom su se četiri svojstva (S01, S07, S12, S14) pokazala visokosignifikantnima ( $P < 0,01$ ) na temelju F-testa. Četiri navedena svojstva su unakrsnom provjerom valjanosti pokazala jednaku uspješnost klasifikacije jedinki u populaciji (97%) (Slika 15.).



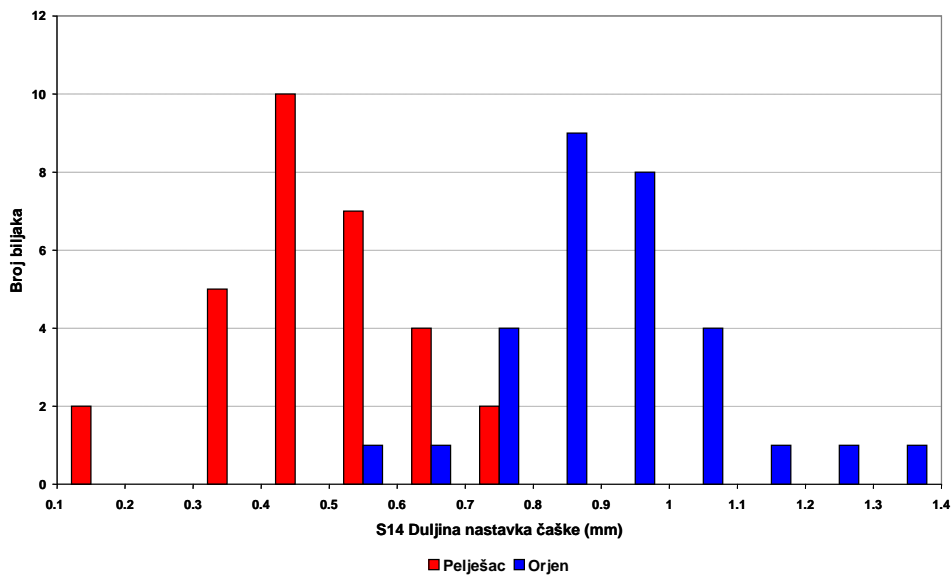
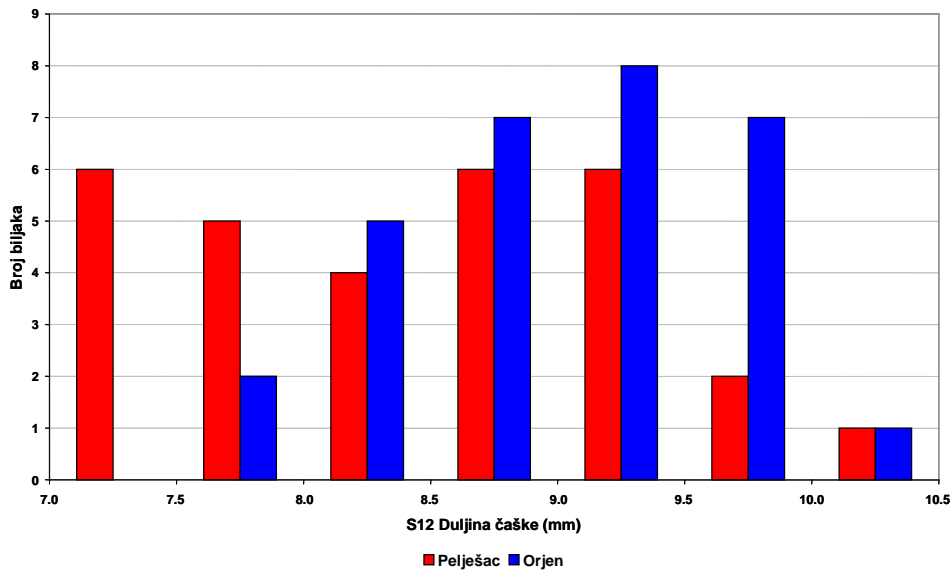
**Slika 15.** Biplot dobiven kanoničkom diskriminantnom analizom na temelju četiri kvantitativna morfoloških svojstava izabranih na temelju postupne diskriminantne analize u svrhu maksimalizacije multivarijatne udaljenosti između populacija kratkozupčaste kadulje. Skraćenice svojstava su navedene u Tablici 2.

Završna kanonička diskriminantna analiza uključivala je četiri svojstva. Pritom je prva kanonička korelacija iznosila 0.88 ( $P < 0.0001$ ), a prva je kanonička varijabla i dalje objašnjavala 100% ukupne varijance.

Raspodjele vrijednosti četiri kvantitativna morfološka svojstva (duljina cvata, žljezdaste sjedeće dlake na cvjetnoj stapci, duljina čaške i duljina nastavka čaške) najpogodnija za razlikovanje populacija kratkozupčaste kadulje prikazane su histogramima (Slika 16. i 17.).



**Slika 16.** Histogrami dva od četiri kvantitativna morfološka svojstva najpogodnija za razlikovanje populacija kratkozupčaste kadulje: duljina cvata i žljezdaste sjedeće dlake na cvjetnoj stapci.



**Slika 17.** Histogrami dva od četiri kvantitativna morfološka svojstva najpogodnija za razlikovanje populacija kratkozupčaste kadulje: duljina čaške i duljina nastavka čaške.

## 4. RASPRAVA

Kratkozupčasta kadulja (*Salvia brachyodon* Vandas) je subendemična i ugrožena vrsta dinarsko-jadranskog krša. Poznate su samo populacije na poluotoku Pelješcu u Hrvatskoj i na planini Orjen na granici između Republike Bosne i Hercegovine i Crne Gore. Budući da do sada nisu vršena morfološka istraživanja obje populacije javila se potreba za utvrđivanjem morfološke raznolikosti unutar i između populacija kako bi se doprinijelo rješavanju zamršenih filogenetskih i taksonomskih odnosa unutar sekcije *Salvia* i kako bi se omogućilo bolje upoznavanje stanja populacije kratkozupčaste kadulje te doprinijelo definiranju efikasnijih mjera zaštite ove vrlo rijetke vrste.

Tijekom morfoloških mjerenja na jedinkama kratkozupčaste kadulje uočena su dva tipa čaške: one koje imaju radijalnu simetriju (aktinomorfne čaške) i čaške s gotovo radijalnom simetrijom, a čaškama je izmjerena duljina od 7,2 do 10,5 mm. Žile čaški su uzdužne s anastomozama koje su kod nekih jedinki jače ili slabije izražene. Na čaški i cvjetnoj stapci pronađeno je pet tipova dlaka: nežljezdaste stršeće, žljezdaste kratke, duge glavičaste, sjedeće i žljezdaste dlake na stalku. Na uzorcima nisu nađene brakteje budući da one ispadaju u veoma ranoj fazi razvoja cvata.

Primjenom statističkih metoda na podacima dobivenim mjerenjima morfoloških svojstava uočeno je nekoliko razlika između dviju populacija kratkozupčaste kadulje. Analizom varijance utvrđena je signifikantna razlika ( $P < 0.05$ ) u vrijednostima osam od ukupno 16 analiziranih morfoloških svojstava. Pritom je populacija s Pelješca pokazala značajno više vrijednosti svojstava vezanih uz habitus i visinski rast biljke (duljina cvata, broj internodija na osi cvata i broj primarnih ogranaka) dok je populacija s Orjena pokazala više vrijednosti svojstava vezanih uz čašku (duljina čaške i duljina nastavka čaške) te je utvrđena i značajno veća prisutnost žljezdastih sjedećih dlaka na cvjetnoj stapci. Najuočljivija razlika među populacijama je upravo kod svojstava vezanih uz habitus i visinski rast biljke. Tako je duljina cvata kod jedinki s Pelješca u prosjeku iznosila 60,52 cm, a raspon se kretao od 19,4 do 94 cm dok je kod jedinki s Orjena prosječna duljina cvata iznosila 36,77 cm, a raspon od 14,8 do 66,9 cm. Budući da je analiza temeljena na Pearsonovim korelacijskim koeficijentima pokazala značajnu pozitivnu koreliranost ( $P < 0,001$ ) tri morfološka svojstva: duljine cvata, broja internodija na osi cvata i broja primarnih ogranaka, vidimo kako je i vrijednost preostala dva svojstva značajno viša kod populacije s Pelješca pa je tako broj internodija na osi cvata u prosjeku 10,17, a raspon je od 2 do 17 dok je kod jedinki s Orjena prosječan broj internodija na osi cvata 7,3, a raspon je od 4 do 11. Broj primarnih ogranaka kod jedinki s Pelješca u prosjeku je 20,33, a raspon je od 4 do 32 dok je kod jedinki s Orjena prosječan broj primarnih ogranaka 14,5, a raspon je od 8 do 22.

Analizom glavnih sastavnica utvrđeno je da se jedinke razvrstavaju u populacije kojima pripadaju na temelju prve glavne sastavnice koja objašnjava 24.12% ukupne varijance.

Diskriminantnom analizom dobiveno je šest svojstava (duljina cvata, žljezdaste sjedeće dlake na cvjetnoj stapci, duljina čaške, duljina nastavka čaške, žljezdaste dlake na stalku na čaški, žljezdaste duge glavičaste dlake na čaški) koja najviše doprinose razlici između populacija i klasifikaciji promatranih jedinki u jednu od populacija. Prema redoslijedu pojavljivanja, najvažnija svojstva koja doprinose razlikovanju vrsta su duljina nastavka čaške i duljina cvata. Pritom  $R^2$  predstavlja % varijance između vrsta koji je objašnjen određenim svojstvom. Tako je duljina nastavka čaške kod populacije s Pelješca u prosjeku iznosila 0,48 mm, a raspon je od 0,2 do 0,8 mm dok je kod populacije s Orjena prosječna duljina nastavka čaške iznosila 0,91 mm, a raspon je od 0,6 do 1,3 mm.

Kanoničkom diskriminantnom analizom na temelju tih šest svojstava dobivena su četiri visokosignifikantna ( $P < 0,01$ ) svojstva na temelju F-testa (duljina cvata, žljezdaste sjedeće dlake na cvjetnoj stapci, duljina čaške, duljina nastavka čaške) i unakrsnom provjerom valjanosti ona su pokazala jednaku uspješnost klasifikacije jedinki u populaciji (97%) što znači da se samo 2 od 60 jedinki nisu točno svrstale u populaciju iz koje su uzorkovane. To je vidljivo i u rezultatima biplot prikaza multivarijantne udaljenosti između populacija kratkozupčaste kadulje, a osim toga uočavamo i njihovo razdvajanje te koje su to morfološke osobine koje najviše razdvajaju dvije populacije. Za populaciju s Pelješca karakteristična je znatno veća duljina cvata, a za populaciju s Orjena karakteristična je veća duljina čaške i duljine nastavka čaške te veća zastupljenost žljezdastih sjedećih dlaka na cvjetnoj stapci.

Iz histograma četiri kvantitativna morfološka svojstva najpogodnija za razlikovanje populacija kratkozupčaste kadulje također je vidljivo odvojeno grupiranje dviju populacija prema broju jedinki koje sadrže određenu vrijednost morfološkog svojstva.

Iako je analiza temeljena na 16 morfoloških svojstava pokazala kako se populacije najviše razlikuju prema četiri morfološka svojstva: duljini cvata, žljezdastim sjedećim dlakama na cvjetnoj stapci, duljini čaške i duljini nastavka čaške, prilikom tumačenja rezultata treba uzeti u obzir nekoliko stvari. Primjerice, uvjeti staništa na Pelješcu i Orjenu znatno se razlikuju što zasigurno doprinosi i razlikama u morfologiji dviju populacija. Pritom su uvjeti vjerojatno bliži optimalnima na Pelješcu nego na Orjenu što je mogući razlog većoj prisutnosti žljezdastih dlaka i izraženijoj dužini nastavka čaške kod jedinki s Orjena kao obrani od biljojeda. Također treba uzeti u obzir da su uzorci sakupljeni u različito vrijeme, odnosno da su jedinke iz populacije s Pelješca sabrane krajem kolovoza, dok su jedinke s Orjena sabrane sredinom srpnja. Međutim, ovo ne bi trebalo imati presudan utjecaj na

dobivene rezultate budući da su prilikom skupljanja jedinke bile u cvatu što podrazumjeva da su biljke postigle svoj vegetacijski maksimum. Ovakav zaključak podupiru nedavno dobiveni i još neobjavljeni rezultati analize ove dvije populacije upotrebom mikrosatelitnih biljega (RADOSAVLJEVIĆ, LIBER I ŠATOVIĆ OSOBNA KOMUNIKACIJA).

## 5. ZAKLJUČAK



Nakon provedenih morfoloških mjerenja i primjene statističkih metoda na populacijama kratkozupčaste kadulje s poluotoka Pelješca i planine Orjen uočeno je nekoliko razlika između dviju populacija:

1. Analizom varijance utvrđena je signifikantna razlika u vrijednostima osam od ukupno 16 morfoloških svojstava što potvrđuje i diskriminantna analiza. Populacija s Pelješca pokazala je značajno više vrijednosti svojstava vezanih uz habitus i visinski rast biljke (duljina cvata, broj internodija i broj primarnih ogranaka) dok je populacija s Orjena pokazala više vrijednosti svojstava vezanih uz čašku (duljina čaške i duljina nastavka čaške) te je utvrđena i značajno veća prisutnost žljezdastih sjedećih dlaka na cvjetnoj stapci.
2. Na temelju diskriminantne analize uvrđeno je da se upotrebom četiri morfološka svojstva (duljina cvata, žljezdaste sjedeće dlake na cvjetnoj stapci, duljina čaške, duljina nastavka čaške) može provesti klasifikacija jedinki u populacije uz uspješnost od 97%. Za populaciju s Pelješca karakteristična je znatno veća duljina cvata, a za populaciju s Orjena karakteristična je veća duljina čaške i duljine nastavaka čaške te veća zastupljenost žljezdastih sjedećih dlaka na cvjetnoj stapci.

Prilikom tumačenja dobivenih rezultata treba uzeti u obzir da su staništa na Pelješcu i Orjenu različita te da morfološke razlike mogu predstavljati prilagodbu biljaka na specifične uvjete staništa.

## 6. LITERATURA

- Abadžić S., Šilić Č. (1982): Horologija, ekologija i fitocenološka pripadnost vrste *Salvia brachyodon* Vandas u flori Jugoslavije. Glas. republ. zavoda zašt. prirode – Prirodnjačkog muzeja Titograd, Titograd 15: 125-131.
- Anonymus (2009): Pravilnik o proglašavanju divljih svojti zaštićenim i strogo zaštićenim. Narodne novine 99/09. Na prijedlog Državnog zavoda za zaštitu prirode donosi ministar mr. sc. Božo Biškupić, v. r., Ministarstvo kulture. Zagreb.
- Avato P., Morone Fortunato I., Ruta C., D'Elia R. (2005): Glandular hairs and essential oils in micropropagated plants of *Salvia officinalis* L.. Plant. Sci. 169: 29-36.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008): Biological effects of essential oils - a review. Food Chem. Toxicol. 46: 446-475.
- Barbalić Lj. (1956): Prilog poznavanju vrste *Salvia brachyodon* Vand.. Period. Biol. 9: 5-9.
- Brickell C. (ur.) (1998): Royal Horticultural Society A-Z Encyclopedya of Garten Plants. Dorling Kindersley, London-New York-Moscow.
- Devetak Z. (1950): Kadulja i njeno iskorištavanje. Farm. Glas. 6: 21-26.
- Freeland J. (2006): Molecular Ecology. John Wiley and Sons Ltd., West Sussex, England.
- Filipović M. (2012): Morfološke značajke hibrida ljekovite i grčke kadulje s otoka Visa. Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Diplomski rad.
- Girometta M. (1930): Mosor planina (1340 m vis.). Hrvatski planinar 3: 76.
- Hedge I.C. (1972): *Salvia* L.. U: Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (ur.) Flora Europaea 3. New York, Cambridge Univ. Press. London, str. 188-192.
- Horvath A. (2006): Raznolikost populacije grčke kadulje (*Salvia fruticosa* Mill) na otoku Visu. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Diplomski rad.
- IUCN (2010): Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 8.1. <<http://intranet.iucn.org/webfiles/doc/SSC/RedList/RedListGuidelines.pdf>> (svibanj 2012).
- Keller L. (1915): Beitrag zur Inselflora Dalmatiens. Mag. bot. Lapok 14: 25.
- Kuštrak D. (2005): Farmakognozija fitofarmacija. Golden marketing-tehnička knjiga, Zagreb.
- Langer R., Mechtler Ch., Tanzler H.O., Jurenitsch J. (1993): Differences of the composition of the essential oil within an individuum of *Salvia officinalis*. Planta Med. 59 (A): 635-636.
- Li Y., Craker L. E., Potter T. (1996): Effect of light level on essential oil production on sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). Acta Hort. 426: 419-426.

- Maksimović M., Vidic D., Miloš M., Šolić M. E., Abadžić S., Siljak-Yakovlev S. (2007): Effect of the environmental conditions on essential oil profile in two Dinaric *Salvia* species: *Salvia brachyodon* Vandas and *S. officinalis* L.. *Biochemical Systematics and Ecology* 35: 473-478.
- Marin P. (2003): *Biohemijska i molekularna sistematika biljaka*. NNK International, Beograd.
- Nikolić T. ur. (2012): *Flora Croatica Database*. Botanički zavod, PMF, Sveučilište u Zagrebu <<http://hirc.botanic.hr/fcd/>> (svibanj 2012).
- Perry N. B., Anderson R. E., Brennan N. J., Douglas M. H., Heaney A. J., Mc Gimpsey J. A., Smallfield B. M. (1999): Essential oils from Dalmation sage (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. *J. Agr. Food Chem.* 47: 2048-2054.
- Petrović D., Stešević D., Vuksanović S. (2008): Materials for the Red book of Montenegro. *Natura Montenegrina, Podgorica* 7(2): 605-631.
- Piccaglia R., Marotti M., Galletti G. C. (1989): Effect of mineral fertilizers on the composition of *Salvia officinalis* oil. *J. Essent Oil Res.* 1: 73-83.
- Pruša M. (2011): Genetička raznolikost i rasprostranjenost vrsta: *Salvia brachyodon* Vandas vs. *Salvia officinalis* L. Botanički zavod, PMF, Sveučilište u Zagrebu. Rad za rektorovu nagradu.
- Putievsky E., Ravid U., Dudai N. (1986): The influence of season and harvest frequency on essential oil and herbal yields from a pure clone of sage (*Salvia officinalis*) grown under cultivated conditions. *J. Nat. Prod.* 49: 326-329.
- Putievsky E., Ravid U., Sanderovich D. (1992): Morphological observations and essential oils of sage (*Salvia officinalis* L.) under cultivation. *J. Essent. Oil Res.* 4: 291-293.
- Santos-Gomes P. C., Fernandes-Ferreira M. (2001): Organ and season-dependent variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at two different sites. *J. Agr. Food Chem.* 49: 2908-2916.
- SAS Institute (2004): *SAS/STAT<sup>®</sup> 9.1 User's Guide*. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Šilić Č. (1990): *Endemične biljke*. Svjetlost, Sarajevo.
- Trinajstić I. (1986): Šume dalmatinskog crnog bora – *Pinus nigra* Arnold subsp. *dalmatica* (Vis) Franco – sredozemnog područja Hrvatske. *Poljoprivreda i šumarstvo, Titograd* 1: 37-48.
- Tzakou O., Couladis M., Slavkowska V., Mimica-Dukic N., Jancic R. (2003): The essential oil composition of *Salvia brachyodon* Vandas. *Flavour Fragr. J.* 18: 2-4.

- Vandas L. (1899): Beitrage zur Kenntniss der Flora von Sud-Hercegovina. Osterr. Bot. Zeitschr., Wien 39 (5): 179-180.
- Walker J. B., Sytsma K. J., Treutlein J., Wink M. (2004): *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation and ecological specialization of *Salvia* and Tribe Menthae. Am. J. Bot. 91: 1115-1125.
- Židovec V. (2004): Varijabilnost prirodnih populacija mirisave kadulje (*Salvia officinalis* L.). Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Doktorska disertacija.