

Ispitivanje SPAD vrednosti i morfometrijskih odlika listova u populacijama divlje kupine na Staroj planini

Jovana Janković, Vera Vidaković, Srđan Bojović, Zorica Popović

Odeljenje za ekologiju, Institut za biološka istraživanja, Univerzitet u Beogradu, Bulevar despota Stefana 142, 11000 Beograd
e-mail: jovanajankovic86@gmail.com

REZIME

U radu su ispitivani ekofiziološki i ekomorfološki parametri jedinki *Rubus hirtus* Waldst. & Kit. iz tri prirodne populacije sa Stare planine. Sadržaj ukupnog hlorofila u listovima, procenjen metodom SPAD, kao i širina listova i odnos širina/dužina listova imali su najveće vrednosti u populaciji A koja naseljava šumsku zajednicu u kojoj dominiraju grab i kitnjak i raste u uslovima vegetacijske senke. Manje vrednosti ispitivanih parametara bile su zabeležene u populacijama B (koja je takođe locirana unutar šumskog sklopa) i C (koja se nalazi na relativno otvorenom staništu). Među-populacione razlike u ispitivanim parametrima se mogu delimično tumačiti kao prilagođenost na svetlosne uslove staništa (značajne razlike između jedinki iz populacija A i C), dok se vrednosti parametara u populaciji B ne mogu objasniti delovanjem svetlosnih uslova, već ukazuju na neophodnost razmatranja kompleksnih sredinskih faktora na tom lokalitetu, pre svega kontaminiranosti zemljišta i podzemnih voda teškim metalima.

Ključne reči: *Rubus hirtus*, prirodne populacije, hlorofil, morfometrija lista, Stara planina.

UVOD

Zbog složene reproduktivne biologije koja uključuje hibridizaciju, poliploidiju, apomiksis kao i nedostataka univerzalnog koncepta vrsta (Gustafsson, 1943; Weber, 1996), opisivanje vrsta roda *Rubus* L. je otežano tako da predstavlja jedan od taksonomski najizazovnijih rodova cvetnica (Aalders and Hall, 1966; Robertson, 1974; Lu, 1983; Richards et al., 1996). Vrste ovog roda rasprostranjene su na svim kontinentima (Thompson, 1995), izuzev Antarktika, od nizijskih tropskih krajeva do subarktičkih regiona, od nivoa mora pa sve do 4500 m (Raya,

2005). Centar diverziteta u Evropi nalazi se u Atlantskom i subatlantskom regionu, odnosno severozapadu Nemačke, zemljama Beneluksa i Francuskoj (Haveman, 2017), dok broj vrsta opada prema istoku (Kosiński and Zieliński, 2013). Prema podacima Kurtto i sar. (2010), u Evropi je prisutno više od 760 vrsta ovog roda, među kojima se nalaze značajne voćne kulture, kao i invazivni korovi, ukrasne biljke, a javljaju se i u ranoj sukcesiji šuma (Thompson, 1995; Hummer, 1996; Hovarth et al., 1997). U flori Srbije je opisano 11 vrsta roda *Rubus*, koje su rasprostranjene po brdskim i planinskim predelima, a takođe se mogu sresti na proplancima, pored puteva i njiva (Tatić, 1972). U okviru roda *Rubus*, vrsta *Rubus caesius* L. se najčešće javlja kao korov useva strnih žita (Vrbničanin, 1997), okopavina, vinograda, voćnjaka i ruderalnih staništa (Kojić i Vrbničanin, 1998), odnosno kao korov različitih tipova agroflocenoza (Šilc et al., 2009).

Većina vrsta iz roda *Rubus* predstavljaju višegodišnje žbunove sa dvogodišnjim ili jednogodišnjim lastarima. Stablo može biti uspravno ili puzeće, obično pokriveno velikim, zakrivljenim trnovima do 1,5 cm dugačkim, dok su kod nekih vrsta prisutne i dlake. Pored listopadnih, koje čine većinu, u okviru roda prisutne su i zimzelene vrste (Hummer, 1996). Građa stabla i morfologija lista su ključne karakteristike u taksonomiji vrsta ovog roda (Wada and Reed, 2008).

Prema Milovanoviću (2010), Stara planina u širem smislu pripada Karpatsko-balkanskom luku, dok u užem smislu pripada severnom delu Balkanskih planina koje se pružaju od istočne Srbije prema istoku kroz centralnu Bugarsku do rta Emine na Crnom moru u dužini od 560 km. U Srbiji se masiv prostire na jugoistočnom delu zemlje (N 43°5' do 43°27', E 28°8' do 20°41'). Kao morfološka celina omeđena je dolinama Belog i Trgoviškog Timoka i Visočice, a na istoku državnom granicom Srbije i Bugarske. Nadmorska visina kreće se u rasponu od 300 m do 2168 m. Klima regiona je okarakterisana kao prelazna, između umereno kontinentalne i planinske klime, na koju sa zapada utiču Vlasinska visoravan, Karpatske planine i Crno more, s juga Sredozemno more i Balkanske planine. Vegetacija Stare planine sastoji se od 52 biljne zajednice sa prostornim rasporedom u zavisnosti od ekoloških faktora, uglavnom nadmorske visine, reljefa, tla i klime. Glavne vegetacione formacije su šume, vegetacija grmova, travnjaci i biljne asocijacije. Vertikalni prostorni raspored vegetacije uključuje pojaseve hrastovih, bukovih i smrekovih šuma, praćene vegetacijom subalpskog grmlja *Juniperus nana* i subalpskim zajednicama smrčice i planinskog bora (Dajić et al., 2008). Od predstavnika roda *Rubus*, na području Stare planine opisane su sledeće vrste: *Rubus caesius* L., *R. canescens* DC., *R. hirtus* Waldst. & Kit., *R. idaeus* L., *R. montanus* Libert ex Lej., *R. pedemontanus* Pinkwart, *R. plicatus* Weihe & Ness, *R. praecox* Bertol., *R. ulmifolius* Schott (Lakušić i sar., 2017).

Rubus hirtus Waldst. & Kitt. je široko rasprostranjena vrsta u nižem spratu mešovitih i listopadnih šuma, a veoma se intenzivno širi na mestima delimično otvorenih šumskih prostora, nastalih degradacijom ili planskom sečom gde može postati dominantna vrsta i delovati inhibitorno na ponik drvenastih i zeljastih biljaka (Bobinac i Dinić, 2005).

R. hirtus je klonalna biljka sa jednim ili nekoliko izdanaka koji se prostiru u različitim pravcima. Može godinama opstati u dubokoj senci produkujući samo jedan kratak izdanak, a kada dođe do većeg prodora svetlosti ekspanzivno se širi produkujući veoma dugačke izdanke svake godine (Gazda, 2000), pri čemu je stepen ekspanzije proporcionalan količini dostupne

svetlosti (Pancer-Koteja et al., 1998). Promenljiva dostupnost resursa na staništu utiče na rast, morfologiju i reprodukciju biljaka (Anderson et al., 1969) i uzrokuje odgovor biljaka koji se ogledava u varijabilnosti različitih biljnih karaktera. Klonalne biljke, a naročito one koje naseljavaju donje spratove šumskih zajednica, su veoma dobro adaptirane na promene u dostupnosti resursa (Pancer-Koteja et al., 1998).

Cilj ovog rada je bio da se ispita varijabilnost sadržaja hlorofila u listovima i morfoloških karakteristika listova iz tri prirodne populacije divlje kupine.

MATERIJAL I METODE

Biljni materijal je uzorkovan iz tri populacije divlje kupine (*Rubus hirtus* Waldst. & Kit.), koje potiču iz priobalnih zajednica duž sliva reke Gabrovnice na Staroj planini. Populacija A se nalazi u gornjem toku reke Gabrovnica, dok je populacija B locirana u srednjem toku. Na oba lokaliteta je razvijena vegetacija sa potpuno sklopljenim spratom drveća u kome svojom brojnošću dominiraju grab *Carpinus betulus* i kitnjak *Quercus petraea*. U spratu drveća i žbunova se javljaju sa manjim učešćem *Cornus mas*, *Quercus cerris*, *Tilia tomentosa*. Spart zeljastih biljaka je dobro razvijen i u vreme terenskih istraživanja, u avgustu 2020. godine, nalazio se ispod potpuno razvijenih kruna drveća, u uslovima senke. U donjem toku reke, u kome je locirana populacija C, šuma je degradirana, a u spratu žbunova zastupljene su vrste *Carpinus orientalis*, *Cornus mas*, *Crataegus monogyna*, *Corylus avellana*. Svetlosni uslovi u spratu prizemne flore bi se mogli okarakterisati kao delimična senka. Na svakom od lokaliteta vrsta *Rubus hirtus* je bila zastupljena sa značajnom brojnošću.

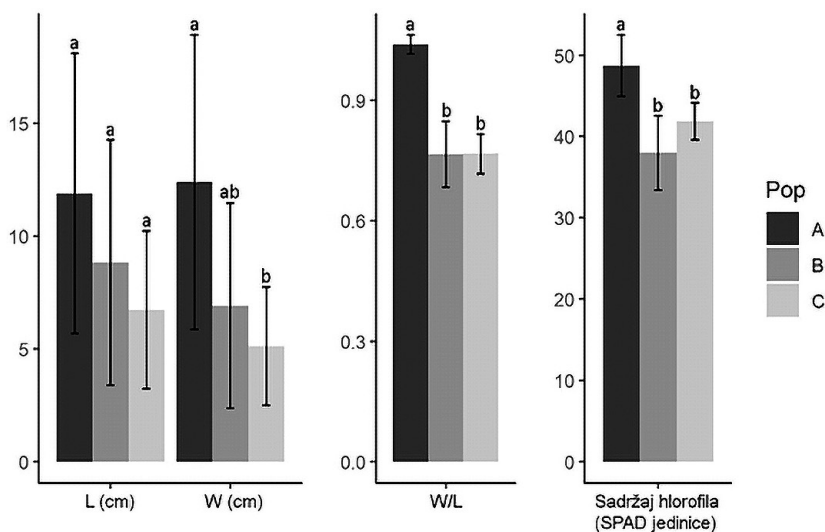
Merenja količine hlorofila u listovima su obavljena u avgustu 2020. godine. Za merenje je odabran terminalni list u okviru složenog lista divlje kupine pozicioniranog na središnjem delu stabla i orijentisanog prema spoljašnjosti. Određivanje sadržaja hlorofila je obavljeno na 7 listova sa 7 različitih stabala u svakoj populaciji ($n = 7 \times 7 \times 3 = 147$). Sadržaj hlorofila u listu je procenjen na osnovu merenja intaktnih listova upotrebom SPAD-502 aparata (Konica Minolta Inc., Osaka, Japan). Ručni prenosni SPAD (Spectral Plant Analysis Diagnostic) hlorofilmetar omogućava brzo, tačno i nedestruktivno određivanje hlorofila u listu koje se zasniva na merenju propuštene svetlosti u infracrvenom delu elektromagnetnog spektra, koju hlorofil ne apsorbuje, i crvenom delu, gde dolazi do apsorpcije svetlosti od strane hlorofila. Razlika u propuštenoj svetlosti između ova dva dela spektra predstavlja dobar indikator sadržaja hlorofila, i preračunavanjem dve apsorpcione vrednosti aparat očitava numeričku SPAD vrednost koja je direktno proporcionalna količini hlorofila u listu (Xiong et al., 2015; Dong et al., 2019). Listovi na kojima je merena količina hlorofila SPAD metodom su žrtvovani radi određivanja morfoloških karaktera. Morfološki karakteri su analizirani na herbarizovanom biljnom materijalu, pri čemu je određena dužina lista (L), merena od vrha lisne ploče do početka lisne drške i širina lista (W), merena na najširem delu lisne ploče. Za statističku obradu podataka je korišćen R softver (R fondacija za statističke proračune, 64-bit verzija 3.4.0). Normalnost raspodele svakog svojstva (širina lista-W, dužina lista-L, odnos širine i dužine lista-W/L i sadržaj hlorofila) proverena je Shapiro-Wilk testom (nivo značajnosti $P > 0,05$, ukazivao je

na normalnu raspodelu). Poređenje populacija vršeno je pomoću analize varijansi, $P \leq 0,05$. Tukey post-hoc test korišćen je za utvrđivanje značajnih razlika između populacija.

REZULTATI I DISKUSIJA

Fitoekološke studije prirodnih populacija su usredređene na ispitivanje različitih biljnih karaktera koji su usko povezani sa ekološkim uslovima na staništu. Variranje uslova životne sredine u velikoj meri utiče na varijabilnost brojnih razvojnih, morfoloških i fizioloških karaktera kod biljaka, koje omogućavaju individuuama i populacijama da se fenotipski prilagode vremenskim i prostornim varijacijama u dostupnosti neophodnih resursa u njihovom neposrednom okruženju. Sposobnost jednog genotipa da u promenljivim sredinskim uslovima formira alternativne odgovore na nivou fenotipa koja se naziva fenotipska plastičnost omogućava prilagođavanje i opstanak na nivou populacije (Bradshaw, 1965).

Od svih faktora okruženja koji deluju na biljke, svetlost se odlikuje najvećom prostornom i vremenskom heterogenošću (Pearcy, 1999). U biljnim zajednicama sa izraženom spratvnošću, u kojima do nižih spratova dopire samo deo Sunčevog zračenja, količina dostupne svetlosti ima veoma značajnu ulogu u dinamičnom adaptivnom odgovoru biljaka koji se ogleda pre svega u morfologiji i fiziologiji asimilatornih površina (Larcher, 1995). Budući da



Grafik 1. Poređenje populacija A, B i C *R. hirtus* na osnovu srednjih vrednosti dužine lista (L), širine lista (W), odnosa širine i dužine lista (W/L) i sadržaja hlorofila. Mala slova prikazuju statistički značajne razlike između populacija ($P < 0,05$)

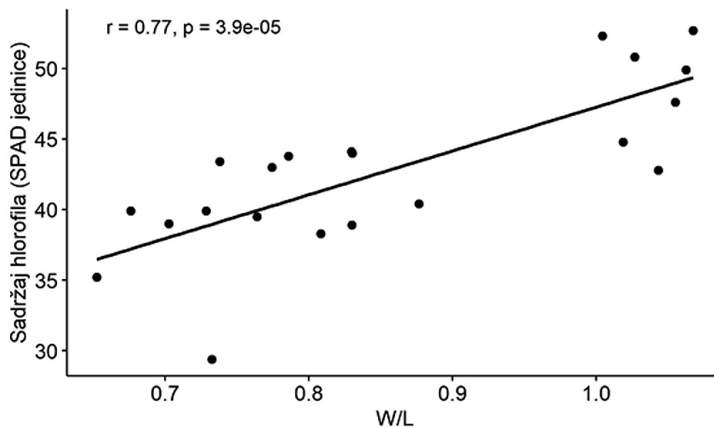
Figure 1. Comparison of *R. hirtus* populations (A, B and C), based on the mean values of their leaf length (L), width (W), leaf width and length ratio (W/L) and chlorophyll content. Lower caps letters represent the statistically significant differences between populations ($P < 0.05$)

intenzitet fotosinteze i ukupna produkcija zavise od količine, rasporeda i fiziološkog stanja fotosintetički aktivnih površina, morfo-fiziološke osobine listova predstavljaju najznačajniji faktor u povećanju adaptivne sposobnosti individua i populacija (Sultan, 1995; Robakowski et al., 2003). Obimna literatura koja se odnosi na povezanost količine hlorofila u listovima i morfologije listova sa svetlosnim uslovima u nižim spratovima šumskih zajednica govori u prilog zaključku da se ukupna količina hlorofila u listu i specifična površina lista povećavaju u uslovima rastuće senke (Niinemets, 2010).

Vrednosti za količinu hlorofila u listovima (izraženog preko numeričkih SPAD vrednosti) i dužinu, širinu i odnos dužine i širine lista kod jedinki iz tri populacije divlje kupine su prikazane na grafiku 1.

Dužina listova jedinki iz tri populacije nije se statistički značajno razlikovala, dok je širina listova bila značajno različita, najveća kod jedinki u populaciji A, a najmanja kod jedinki u populaciji C. Kada se posmatra odnos širine i dužine listova (W/L), uočava se da je ovaj parametar najveći kod jedinki iz populacije A, dok između jedinki iz populacija B i C nisu utvrđene statistički značajne razlike. U pogledu količine hlorofila u listovima, najveća količina hlorofila je zabeležena kod jedinki iz populacije A, dok se jedinke iz populacija B i C nisu značajno razlikovale u pogledu ovog parametra. Odnosi između ispitivanih parametara nisu pokazali međusobne značajne korelacije, osim pozitivne korelisanosti između količine hlorofila (SPAD vrednosti) i odnosa širina/dužina lista na nivou ukupnog uzorka (Grafik 2).

Obzirom da se efikasnost korišćenja dostupne svetlosti na staništu direktno ogleda u morfo-fiziološkim adaptacijama na nivou lista (Niinemets, 2010), dobijeni rezultati se mogu tumačiti time što su tri populacije bile izložene različitim svetlosnim uslovima. Listovi biljaka iz populacije A, iz pune vegetacijske senke, imali su veće srednje vrednosti za širinu lista i odnos širina/dužina lista, što ukazuje na veću površinu listova, u poređenju sa listovima izloženim većim prodorima svetlosti u uslovima delimične senke kod biljaka iz populacije C.



Grafik 2. Korelisanost između SPAD vrednosti i odnosa širina/dužina lista (ukupni uzorak)
Figure 2. Correlation between the SPAD values and the leaf width/length ratio (total sample)

Prema ranijim studijama, biljke koje rastu u senci razvijaju veće i tanje listove, što omogućava efikasniju apsorpciju svetlosti (Lambers et al., 1998; Taiz and Zeiger, 2002). Obzirom da stopa fotosinteze po jedinici površine lista direktno zavisi od količine svetlosne energije, biljke koje rastu u uslovima staništa sa niskim intenzitetom svetlosti, povećanjem količine fotosintetički aktivne površine nadoknađuju neizbežnu redukciju stope fotosinteze (Sultan, 1995; Popović et al., 2006; Popović et al., 2016). Prema podacima Jefferson-a (2008), listovi senke kod *Mercurialis perennis* su širi i značajno veći od osunčanih listova.

Obzirom da listovi predstavljaju osnovne fotosintetičke organe, njihov oblik i veličina značajno određuju efikasnost fotosinteze, a samim tim i rast biljaka. Oblik listova u velikoj meri je posledica anatomskih, morfoloških i fizioloških prilagođavanja kojima se biljke adaptiraju na sinergističko delovanje sredinskih faktora. Parametar koji utiče na oblik lista predstavlja količnik širine i dužine lista. W/L odnos imao je najveću vrednost kod biljaka iz populacije A. Iako je ispitivanje morfologije listova izuzetno značajno u botaničkim istraživanjima, postoji malo istraživanja u kojima su se radile morfometrijske i genetičke analize da bi se utvrdio odnos između veličine i oblika lista, odnosno obrasca njihove kovarijabilnosti (Viscosi et al., 2012). Pozitivna korelisanost između količine hlorofila i površine lista je odlika listova senke, dok se kod listova sunca količina hlorofila uobičajeno pozitivno koreliše sa debljinom lista (Yano and Terashima, 2004). Kada su ispitivane korelacije SPAD vrednosti sa istim morfološkim karakteristikama lista, nisu uvek dobijeni isti rezultati, zbog toga što je apsorbancija izmerena pomoću SPAD aparata proporcionalna debljini lista, te se pri interpretaciji mora korigovati deljenjem sa vrednošću debljine lista (Sano et al., 2018). Ipak, naši rezultati pokazuju da postoji korelisanost SPAD vrednosti sa pojedinim morfološkim parametarima lista (odnos širina/dužina).

Živković i sar. (2015) su tokom dvogodišnjih istraživanja konstatovali da su biljake *Iris variegata* koje su rasle u uslovima vegetacijske senke razvijale veće listove, sa većom specifičnom površinom u odnosu na jedinke sa otvorenog staništa. Isti autori navode da su ukupne koncentracije hlorofila bile veće kod biljaka sa osenčenih staništa. Rotundo i sar. (1998) su prilikom ispitivanja uticaja mreže za senčenje (shadow net) na dve sorte gajene kupine, došli do zaključka da je veći sadržaj hlorofila kod biljaka u senci nastao usled prilagođavanja biljaka na uslove slabijeg osvetljenja. Rezultati naših ispitivanja su u skladu sa rezultatima velikog broja autora, obzirom da je najveći sadržaj hlorofila zabeležen kod biljaka iz populacije A, tj. kod biljaka koje su rasle u vegetacijskoj senci. Ono što odstupa od očekivanih vrednosti je da jedinke iz populacije B imaju značajno manji sadržaj hlorofila u listovima, iako su svetlosni uslovi na lokalitetima A i B relativno slični, dok se sadržaj hlorofila između jedinki iz populacija B i C ne razlikuje značajno. Ovakva odstupanja od očekivanih vrednosti sadržaja hlorofila u odnosu na svetlosne uslove kod vrste *R. hirtus* su zabeležene i od strane drugih autora. Diskutujući rezultate studije u kojoj je prikazana velika individualna i međupopulaciona varijabilnost u morfološkim i genetičkim parametrima, Gazda i sar. (2007) su zaključili da svetlosni uslovi i prisustvo potencijanih kompetitora objašnjavaju oko 24% ukupne varijabilnosti kod biljaka *R. hirtus* sa osunčanog i zasenčenog staništa, dok se ostali deo varijabilnosti može objasniti heterogenošću podzemnih resursa. Rezultati prikazani

u ovom radu posebno skreću pažnju na biljke iz populacije B, koja je locirana u srednjem toku reke Gabrovnica, u neposrednoj blizini bivšeg rudnika uranijuma koji je zatvoren 1966. godine. Podaci koji se odnose na ispitivanje radioaktivnosti u uzorcima zemljišta i vode oko napuštenog rudnika „Gabrovnica” ukazuju da na tom području postoji povećana radioaktivnost (Nikolov et al., 2013). U uslovima eksperimentalnog ispitivanja efekta uranijuma na količinu hlorofila u listovima utvrđeno je da je sadržaj hlorofila negativno korelisan sa apliciranim koncentracijama uranijuma (Jain and Aery, 1997; Jagetiya and Purohit, 2006; Bagherifam et al., 2009), dok za odnos između ova dva parametra u prirodnim populacijama još uvek nema sličnih podataka. I ovaj podatak, zajedno sa ostalim parametrima koji se odnose na heterogenost zemljišta i podzemnih voda, može da ukaže na uticaj kompleksnih uslova staništa na biljni pokrivač.

ZAKLJUČAK

U radu je ispitivana varijabilnost količine hlorofila u listovima i širine, dužine, i odnosa širine i dužine listova kod individua *R. hirtus* uzorkovanih iz tri populacije duž sliva reke Gabrovnica na Staroj planini. Kod biljaka iz populacija A utvrđeno je prisustvo najveće količine hlorofila u listovima i izmerene su najveće vrednosti za širinu listova i odnos širine i dužine listova. Ovi rezultati su u skladu sa literaturnim podacima da se najveća količina hlorofila i površina lista beleže u populacijama koje rastu u vegetacijskoj senci. Populacija B, takođe rasla u uslovima senke, i populacija C sa delimično otvorenog staništa, imaju niže vrednosti ispitivanih parametara u odnosu na populaciju A, ali se među sobom ne razlikuju značajno. Ovo se može objasniti većom izloženošću svetlosti kod populacije C, odnosno dodatnim efektom kontaminiranog zemljišta i vode (radioaktivnost, teški metali) kod populacije B. Dobijeni rezultati predstavljaju doprinos sagledavanju varijabilnosti ekomorfoloških i ekofizioloških parametara u prirodnim populacijama divlje kupine, i ukazuju na potrebu dodatnih ispitivanja zajedničkog delovanja kompleksnih uslova koji deluju na staništu.

ZAHVALNICA

Ovaj rad rezultat je rada u okviru projekta 451-03-9/2021-14/200007, Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja R. Srbije.

LITERATURA

- Aalders, L. E., Hall, I. V.: A cytotoxic survey of the native blackberries of Nova Scotia. Canadian Journal of Genetics and Cytology, 8, 528-532, 1966.
- Anderson R. C., Loucks O. L., Swain A. M.: Herbaceous response to canopy cover, light intensity and throughfall precipitation in coniferous forests. Ecology, 50, 255-263, 1969.

- Bagherifam, S., Lakzian, A. M. I. R., Ahmadi, S. J., Fotovat, A. M. I. R., Rahimi, M. F.:** The effect of different uranium concentrations on physiological characteristics and chlorophyll contents in sunflowers and soybean. *Journal of Nuclear Science and Technology*, 30 (1), 7-14, 2009.
- Bobinac, M., Dinić, A.:** Predlog mera za uređenje semenske sastojine bukve na Fruškoj gori – sa posebnim osvrtom na kontrolu zakorovljenosti kupinom. *Acta herbologica*, 14 (2), 75-88, 2005.
- Bradshaw, A. D.:** Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics*, 13 (1), 115-155, 1965.
- Dajić Stevanović, Z., Peeters, A., Vrbničanin, S., Šošćarić, I., Ačić, S.:** Long term grassland vegetation changes: Case study Nature Park Stara Planina (Serbia). *Community Ecology*, 9 (Supplement 1), 23–31, 2008.
- Dong, T., Shang, J., Chen, J. M., Liu, J., Qian, B., Ma, B., Morrison, M. J., Zhang, C., Liu, Y., Shi, Y., Pan, H., Zhou, G.:** Assessment of portable chlorophyll meters for measuring crop leaf chlorophyll concentration. *Remote Sensing*, 11 (22), 2706, 2019.
- Gazda A.:** Response of *Rubus hirtus* to canopy gaps: results of long-term studies in Western Carpathians (In: *Plant population Biology VI*, Ed. P. Elias). SEKOS, Bratislava Nitra, pp. 120–125, 2000.
- Gazda, A., Szwagrzyk, J., Nybom, H., Werlemark, G.:** Morphological and genetical variability of *Rubus hirtus* (Waldst. and Kitt.) plants under partly open forest canopy. *Polish Journal of Ecology*, 55 (1), 49, 2007.
- Gustafsson, A.:** The genesis of the European blackberry flora. *Lunds Universitets Arsskrift*, 39, 1-200, 1943.
- Haveman, R.:** Concealed diversity. Taxonomical, phytogeographical and phytosociological notes on brambles (*Rubus* L. subgen. *Rubus*) in north-west Europe. PhD thesis, Wageningen University, 2017.
- Howarth, D. G., Gardner, D. E., Morden, C. W.:** Phylogeny of *Rubus* subgenus *idaeobatus* (*Rosaceae*) and its implications toward colonization of the Hawaiian Islands. *Systematic Botany*, 22, 433–441, 1997.
- Hummer, K.:** *Rubus* diversity. *HortScience*, 31 (2), 182-183, 1996.
- Jagetiya, B. L., Purohit, P.:** Effects of various concentrations of uranium tailings on certain growth and biochemical parameters in sunflower. *Biologia*, 61 (1), 103-107, 2006.
- Jain, G. S., Aery, N. C.:** Effect of uranium additions on certain biochemical constituents and uranium accumulation in wheat. *Biologia*, 52 (4), 599-604, 1997.
- Jefferson, G. R.:** Biological Flora of the British Isles: *Mercurialis perennis* L. *Journal of Ecology*, 96, 386–412, 2008.
- Kojić, M., Vrbničanin, S.:** Agrestal, ruderal, grass and aquatic weeds in Serbia. *Acta biologica Iugoslavica, series G: Acta herbologica*, 7 (1-2), 7-37, 1998.
- Kosiński, P., Zieliński, J.:** *Rubus maximus* (*Rosaceae*) found also in Poland. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu. Botanika-Steciana*, 17, 33 -37, 2013.
- Kurtto, A., Weber, H. E., Lampinen, R., Senikov, A. (Eds.):** Atlas Florae Europaeae. Distribution of vascular plants in Europe. 15. *Rosaceae* (*Rubus*). The Committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Fennica Vanamo. Helsinki, p. 97, 2010.
- Lakušić, D., Randelović, V., Zlatković, B., Jovanović, S., Tomović, G., Ivančević, B., Sabovljević, M.:** Diverzitet staništa i vrsta Stare planine u Srbiji. In: Lakušić, D., Četković, A. (Eds.), *Biodiverzitet Stare planine u Srbiji. – Rezultati projekta „Prekogranična saradnja kroz upravljanje zajedničkim prostornim resursima – Promocija umrežavanja i saradnje između zemalja jugoistočne Evrope”*. Regionalni centar za životnu sredinu za centralnu i istočnu Evropu, Kancelarija u Srbiji, Beograd, pp. 43-78, 2017.
- Lammers, H., Chapin, S. F., Pons, T. L.:** Plant physiological ecology. Springer Verlag, New York, 1998.
- Lu, L.:** A study on the genus *Rubus* of China. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 21, 13–25, 1983.
- Milovanović, B.:** Klima Stare planine, Beograd, Geografski institut „Jovan Cvijić” SANU, 2010.
- Niinemets, Ü.:** A review of light interception in plant stands from leaf to canopy in different plant functional types and in species with varying shade tolerance. *Ecological Research*, 25 (4), 693-714, 2010.
- Nikolov, J., Forkapić, S., Hansman, J., Kozmidis-Luburić, U., Bikit, I., Vesković, M., Krmar, M., Todorović, N., Mrđa, D., Bikit, K.:** Natural radioactivity around former uranium mine Kalna in Eastern Serbia. In the Proceedings of 9th Symposium of the Croatian Radiation Protection Association, pp. 413-418, 2013.

- Robakowski, P., Montpied, P., Dreyer, E.:** Plasticity of morphological and physiological traits in response to different levels of irradiance in seedlings of silver fir (*Abies alba* Mill). *Trees*, 17 (5), 431–441, 2003.
- Pancer-Koteja, E., Szwagrzyk, J., Bodziarczyk, J.:** Small scale spatial pattern and size structure of *Rubus hirtus* in a canopy gap. *Journal of Vegetation Science*, 9, 755–762, 1998.
- Pearcy, R. W.:** Responses of plants to heterogeneous light environments. *Handbook of Functional Ecology* (Eds F. I. Pugnaire & F. Valladares). Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 269-314, 1999.
- Popović, Z., Bojović, S., Matić, R., Stevanović, B., Karadžić, B.:** Comparative ecophysiology of seven spring geophytes from an oak-hornbeam forest. *Brazilian Journal of Botany*, 39 (1), 29-40, 2016.
- Popović, Z., Mijović, A., Karadžić, B., Mijatović, M.:** Response of growth dynamics of two spring geophytes to light regime in a lime-beech forest. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48 (5), 527-535, 2006.
- Raya, H. E. A.:** Carbon supply and demand in an annual raspberry (*Rubus idaeus* L.) cropping system. PhD thesis. University of Florida. Horticultural Science Department, 2005.
- Richards, A. J., Kirschner, J., Štepanek, J., Marhold, K.:** Apomixis and taxonomy: an introduction. *Folia Geobotanica Phytotaxonomica*, 31, 281-282, 1996.
- Robertson, K. R.:** The genera of Rosaceae in the south-eastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*, 55, 352-36, 1974.
- Rotundo, A., Forlani, M., Di Vaio, C.:** Influence of shading net on vegetative and productive characteristics, gas exchange and chlorophyll content of the leaves in two blackberries (*Rubus ulmifolius* Schott.) Cultivars. *Acta Horticulture*, 457, 333-340, 1998.
- Sano, T., Horie, H., Matsunaga, A., Hirono, Y.:** Effect of shading intensity on morphological and colour traits and on chemical components of new tea (*Camellia sinensis* L.) shoots under direct covering cultivation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98 (15), 5666-5676, 2018.
- Šilc, U., Vrbničanin, S., Božić, D., Čarni, A., Dajić Stevanović, Z.:** Weed vegetation in northwestern Balkans: diversity and species composition. *Weed Research*, 49 (6), 602-613, 2009.
- Tatić, B.:** Rod *Rubus* L. U: Josifović, M. (Ed.), *Flora Republike Srbije*, IV, SANU, Beograd. 1970-1986.
- Sultan, S. E.:** Phenotypic plasticity and plant adaptation. *Acta Botanica Neerlandica*, 44 (4), 363-383, 1995.
- Taiz, L., Zeiger, E.:** *Plant Physiology*. 4th Ed., Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, USA, p. 76, 2006.
- Thompson, M. M.:** Chromosome numbers of *Rubus* species at the national clonal germplasm repository. *HortScience*, 30 (7), 14 47-1452, 1995.
- Viscosi, V., Antonecchia, G., Lepais, O., Fortini, P., Gerber, S., Loy, A.:** Leaf shape and size differentiation in white oaks: assessment of allometric relationships among three sympatric species and their hybrids. *International Journal of Plant Sciences*, 173, 875–884, 2012.
- Vrbničanin, S.:** Korovska flora strnih žita kraljevačkog područja. *Acta herbologica*, 6 (2), 5-30, 1997.
- Wada, S., Reed, B.:** Morphological analysis of *Rubus* seed. *Acta Horticulturae*, 782, 67-74, 2008.
- Weber, H. E.:** Former and modern taxonomic treatment of the apomictic *Rubus* complex. *Folia Geobotanica Phytotaxonomica*, 31, 373-380, 1996.
- Xiong, D., Chen, J., Yu, T., Gao, W., Ling, X., Li, Y., Peng, S., Huang, J.:** SPAD-based leaf nitrogen estimation is impacted by environmental factors and crop leaf characteristics. *Scientific reports*, 5 (1), 1-12, 2015.
- Yano, S., Terashima, I.:** Developmental process of sun and shade leaves in *Chenopodium album* L. *Plant, Cell & Environment*, 27, 781–793, 2004.
- Živković, U., Miljković, D., Barišić-Klisarić, N., Tarasjev, A., Avramov, S.:** Seasonal variation of leaf ecophysiological traits of *Iris variegata* observed in two consecutive years in natural habitats with contrasting light conditions. *Archives of Biological Science*, 67 (4), 1227-1236, 2015.

Investigation of SPAD values and morphometric characteristics of leaves in wild blackberry populations on Stara Planina Mt.

SUMMARY

Natural populations of *Rubus hirtus* Waldst. & Kit. were studied at three locations along the Gabrovnica river on Stara Planina mountain, to assess the inter-population differences in ecophysiological and ecomorphological parameters. The content of total chlorophyll in leaves, estimated by the SPAD method, as well as leaf width and leaf width/length ratio had the highest values in population A, which inhabits a forest community dominated by hornbeam and sessile oak and grows in vegetative shade. Populations B (which is also located within the forest complex) and C (which is located in a relatively open habitat) had lower values for the examined parameters. Inter-population differences in the examined parameters can be partially interpreted as an adaptation to habitat light conditions (significant differences between individuals from populations A and C). However, the values of parameters in population B cannot be explained by light conditions, indicating the need to consider complex environmental conditions at that site, primarily heavy metal contamination of soil and groundwater.

Keywords: *Rubus hirtus*, natural populations, chlorophyll, leaf morphometry, Stara planina Mt.