

UDK: 582.824
Originalni naučni rad

DIVERGENTNOST DOMAĆIH POPULACIJA KANTARIONA (*HYPERICUM PERFORATUM* L.) PO MORFOLOŠKIM OSOBINAMA LISTA

N. Krstonijević Živanović, S. Prodanović, Z. Girek*

Izvod: U radu je analizirana divergentnost četrnaest autohtonih populacija kantariona (*Hypericum perforatum* L.) poreklom sa različitih lokaliteta u Srbiji u odnosu na šest morfoloških osobina lista: dužinu i širinu lista, odnos dužine i širine lista, lisnu površinu i gustinu providnih i tamnih žlezda na listovima. Genotipovi su gajeni u istim *situ* uslovima zajedno sa standardnom sortom Maja, korišćenom kao kontrola. Rezultati ANOVA testa identifikovali su statistički značajne ($p < 0,01$) razlike između analiziranih populacija po svim ispitivanim osobinama. Najvarijabilnije osobine unutar populacija bile su gustina providnih žlezda (CV = 58,75%) i gustina tamnih žlezda na listu (CV = 51,00%), koje se smatraju značajnim morfološkim markerima za sadržaj bioaktivnih supstanci kod kantariona. Uočena morfološka varijabilnost verovatno imagenetičkosnovu, s obzirom da su analizirani genotipovi gajeni pod uniformnim sredinskim uslovima. Stoga se može očekivati da divlje populacije kantariona predstavljaju potencijalno značajan izvor genetičke varijabilnosti, koji bi se mogao koristiti u programima oplemenjivanja u cilju poboljšanja postojećih i/ili selekciju novih sorti. Klaster analiza po metodi UPGMA je izdvojila grupu genotipova koji se od drugih razlikuju prema većoj gustini lisnih žlezda u poređenju sa standardnom sortom Maja, i koji bi stoga mogli da predstavljaju značajan početni materijal u budućim programima oplemenjivanja.

Ključne reči: varijabilnost, gustina lisnih žlezda, domaće populacije, morfološke osobine lista, Srbija, *Hypericum perforatum* L.

Uvod

Vrsta *Hypericum perforatum* L., u narodu poznata kao kantarion ili bogorodičina trava, je višegodišnja zeljasta biljka iz porodice *Clusiaceae*. Od davnina je poznata kao lekovita biljka sa mnogostrukim terapeutskim dejstvima, uključujući antidepresivno, antivirusno, antiretrovirusno i antitumorsko dejstvo (Gartner i sar., 2005; Barnes i sar., 2001). Lekovitost biljke potiče od velikog broja različitih sekundarnih metabolita koji se proizvode nadzemnim biljnim organima, od kojih su najznačajniji naftodiantroni, flavonoidi i floroglucinoli (Patocka, 2003). Mesta sinteze i/ili akumulacije ovih biološki aktivnih supstanci, predstavljaju specijalne morfološke sekretorne strukture, i to: providne sferoidalne žlezde, višecelijske tamne žlezde i sekretorni kanali izduženog oblika (Curtis i Lersten, 1990).

Aktuelni porast potražnje za ovom lekovitom biljkom na svetskom tržištu stimulisao je istraživanja njenog morfološkog, fitohemijskog i genetičkog diverziteta, te kantarion spada u grupu najbolje ispitanih lekovitih biljaka. U cilju obezbeđivanja homogenog biljnog materijala visokog kvaliteta za sve veće potrebe prerađivačke farmaceutske industrije, ali i radi očuvanja sveukupnog biodiverziteta, rad na oplemenjivanju biljaka kantariona je započeo u mnogim zemljama u Evropi (Pluhár i sar., 2002; Pank i Heine, 1998). Ova vrsta, autohtona za Evropu, srednju i zapadnu Aziju i severnu Afriku, uspešno je introdukovana u

* Nina Krstonijević Živanović, dipl.biol., student doktorand, dr Slaven Prodanović, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun; dr Zdenka Girek, naučni-saradnik, Institut za povrtarstvo, Smederevska Palanka.

E-majl prvog autora: nina.krstonijevic@gmail.com

Ovo istraživanje je deo dva projekta finansirana od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije Br. TR-31069 i Br. TR31059 i dva projekta finansirana od strane Norwegian Ministry of Foreign Affairs, HERD/Agriculture: No. 332160 UÅ "Research, education and knowledge transfer promoting entrepreneurship in sustainable use of pastureland/grazing", No. 332160 UØ "Agricultural Adaptation to Climate Change – Networking, Education, Research and Extension in the West Balkans".

ostale delove sveta, gde se adaptirala na različite klimatske i ekološke uslove, često dostižući status korovske biljke (Gillett i Robson, 1981). Kao rezultat toga, kantarion je fenotipski i genetički veoma varijabilna vrsta, što u velikoj meri olakšava selekciju divljih genotipova sa željenim svojstvima, tj. visokim sadržajem sekundarnih metabolita i razvoj odgovarajuće sorte za kultivaciju velikih razmera.

Na teritoriji Srbije kantarion je veoma zastupljena biljna vrsta. Pronalazi se od nizijskih do planinskih predela, najčešće po rubovima šuma i otvorenom šumskom zemljištu, suvim brežuljcima, osunčanim livadama, poljima, pašnjacima, oko močvara, po kamenjarima, na pustim i neobrađenim zemljištima, krčevinama, požarištima, oko puteva (Flora Srbije, 1970-1986). Populacije kantariona ispitivane u ovoj studiji potiču sa različitih područja Srbije koja se međusobno razlikuju prema geografskim, klimatskim i edafskim faktorima. Varijabilnost ove vrste je mogla nastati kao odgovor na lokalne sredinske uslove koji variraju u geografski različitim oblastima koje naseljava ili kao posledica genetičke varijabilnosti nastale usled dugotrajne izolacije i adaptacije na različite sredinske uslove kod prostorno odvojenih grupa biljaka (Walker i sar., 2001). U ovom radu korišćen je eksperimentalni protokol u kome su predstavnici kantariona poreklom sa različitih kolekcionih regiona gajeni u istim sredinskim uslovima, što je omogućilo procenu do kog stepena genetički i sredinski uslovi utiču na ekspresiju merenih fenotipskih karakteristika (Bagdonaitė i sar., 2007; Walker i sar., 2001). Cilj ovog rada bio je da se ispita varijabilnost autohtonih populacija *H. perforatum* L. u Srbiji na osnovu šest morfoloških karakteristika lista, i da se sakupljeni material oceni kao potencijalna osnova za dalje oplemenjivanje ove vrste u Srbiji.

Materijal i metod rada

Ukupno 14 uzoraka semena populacija kantariona, *Hypericum perforatum* L., prikupljeno je krajem avgusta 2008. godine sa četrnaest različitih lokaliteta na teritoriji Srbije: Novi Sad, Beograd, Šabac, Slatina, Ub, Bistrica, Vreoci, Ljig, Rudnik, Čačak, Milićevci, Divčibare, Mokra Gora i Tara, dok je standardna sorta Maja (Jevđović i sar. 2005) korišćena kao kontrola (KN). Za identifikaciju geografskih koordinata i nadmorske visine na svakom kolekcionom mestu korišćen je program Google Earth (www.earth.google.com). Klimatske varijable za svaki lokalitet ocenjene su na osnovu podataka dobijenih iz najbližih meteoroloških stanica, dok sutipovi zemljišta determinisani su na osnovu pedološke karte Srbije (Škorić i sar., 1985).

Svi uzorci biljaka sakupljeni su u fazi plodonošenja. Setva semena kantariona obavljena je u jesen 2009. godine u kontejnere od stiropora, opremljene odgovarajućim supstratom, u staklari na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Beogradu. U martu 2010 godine, mlade biljčice dovoljne visine, sa oko 5-10 listića, rasađene su u individualne plastične saksije napunjene odgovarajućim komercijalnim supstratom. Biljke su gajene u kontrolisanim sredinskim uslovima (27/24°C sa 16h dan i 8h noć). Tokom izvođenja ogleđa primenjivana je redovna nega, prihranjivanje i navodnjavanje. Morfološka karakterizacija biljaka sprovedena je u u fazi cvetanja biljaka, u leto 2010 godine, na uzorku od 10 biljaka iz svake populacije u odnosu na šest morfoloških karakteristika lista: dužinu i širinu lista, odnos dužine i širine lista, lisnu površinu i gustinu providnih i tamnih žlezda na listovima. Sve morfološke osobine lista izražene su kao proseki tri analizirana lista uzorkovana po principu slučajnosti sa središnjeg dela stabljike. Širina lista je merena od ivice do ivice na najširem delu liske, a dužina je merena od vrha liske do lisne drške duž središnjeg lisnog nerva. Na osnovu dužine (a) i širine (b) listova utvrđen je odnos dužina/širina (a/b), kao i veličina lista izračunata kao površina elipse (A) iz formule: $A = \pi(a/2)(b/2)$ (Walker i sar., 2001). Gustina tamnih i providnih žlezda na svakom listu je izražena kao broj žlezda po mm² lisne površine.

Rezultati merenja morfoloških osobina lista su statistički obrađeni primenom kompjuterskog programa STATISTICA 7.0. Izračunati su deskriptivni statistički pokazatelji (srednja vrednost, \bar{X} i standardna devijacija, S), dok je za ocenu varijabilnosti morfoloških osobina unutar populacija korišćen koeficijent varijacije (CV). Statistički značajne razlike između srednjih vrednosti osobina unutar i između populacija testirane su primenom jednofaktorske analize varijanse (One-way ANOVA) na $\alpha = 0,05$ i $\alpha = 0,01$ nivou značajnosti,

dok je homogenost grupa na međupopulacionom nivou ispitivana primenom Duncan-ovog testa višestrukih poređenja ($P < 0,05$). Za identifikaciju potencijalne korelacije između analiziranih osobina korišćen je Pearson-ov koeficijent korelacije. U cilju utvrđivanja odnosa između analiziranih populacija na osnovu svih morfoloških osobina lista i eventualnu selekciju najboljih populacija za buduće programe oplemenjivanja konstruisan je dendrogram hijerarhijske klaster analiza primenom UPGMA metode (*engl.* Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) uz korišćenje Euklidove udaljenosti (Sneath i Sokal, 1973).

Rezultati istraživanja i diskusija

Rezultati ANOVA testa identifikovali su statistički značajne ($p < 0,01$) razlike između analiziranih populacija po svim ispitivanim osobinama. U tabeli 1 su prikazani rezultati deskriptivne statističke analize za svaku od analiziranih osobina.

Najvarijabilnija osobina između ispitivanih populacija bila je gustina providnih lisnih žlezda. Prosečne vrednosti ove osobine varirale su od $3,47/\text{mm}^2$ kod biljaka poreklom sa Mokre Gore do $20,33/\text{mm}^2$ kod biljaka poreklom iz Šapca i $20,83/\text{mm}^2$ kod biljaka poreklom iz Beograda (Tabela 1). Biljke poreklom iz Beograda i Šapca okarakterisane su i najvećom prosečnom gustinom tamnih žlezda na listovima ($0,52$, odnosno $0,54/\text{mm}^2$), većom u odnosu na standardnu sortu Maja, kod koje je prosečna vrednost ove osobine iznosila $0,33/\text{mm}^2$. Najmanja gustina tamnih lisnih žlezda uočena je kod biljaka sa Tare i Divčibara (prosečne vrednosti kod obe populacije bile su po $0,14/\text{mm}^2$). Tamne žlezde kod *Hypericum perforatum* predstavljaju mesta sinteze naftodiantronskog derivata hipericina (Zobayed i sar., 2007), ključnog jedinjenja za evaluaciju kvaliteta ove lekovite biljke (Patočka, 2003). Kako je u mnogim istraživanjima kantarionu potvrđena pozitivna korelacija između gustine tamnih žlezda i sadržaja hipericina (na primer, Farsad Akhtar i sar., 2014; Ćirak i sar., 2007; Sothwell i Campbell, 1991), to se ova morfološka osobina generalno smatra značajnim markerom koji pokazuje relativni sadržaj hipericina u analiziranim genotipovima bez potrebe za hemijskom evaluacijom (Raina i sar., 2005). Na osnovu navedenog može se zaključiti da među genotipovima analiziranim u ovom radu, oni koji su poreklom iz Beograda i Šapca verovatno akumuliraju veće količine sekundarnih metabolita u poređenju sa ostalima.

Deskriptivnom statističkom analizom (Tabela 1) utvrđena je visoka amplituda variranja unutar populacija za većinu analiziranih morfoloških osobina, o čemu svedoče vrednosti odgovarajućih koeficijenata varijacije (CV). Najviša morfološka heterogenost unutar populacija dobijena je za gustinu providnih žlezda (CV = $9,71 - 47,81\%$) i gustinu tamnih žlezda na listovima (CV = $12,94 - 42,19\%$), dok su najmanji koeficijenti varijacije dobijeni za osobine dužinu lista (CV = $4,41 - 27,4\%$) i odnos dužine i širine listova (CV = $4,37 - 22,91\%$).

Tab. 1. Deskriptivna statistička analiza šest morfoloških osobina listakod lokalnih populacija kantariona (*H. perforatum*L.)Descriptive statistics of six leaf morphological characteristics in local populations of *St. John's wort* (*H. perforatum* L.)

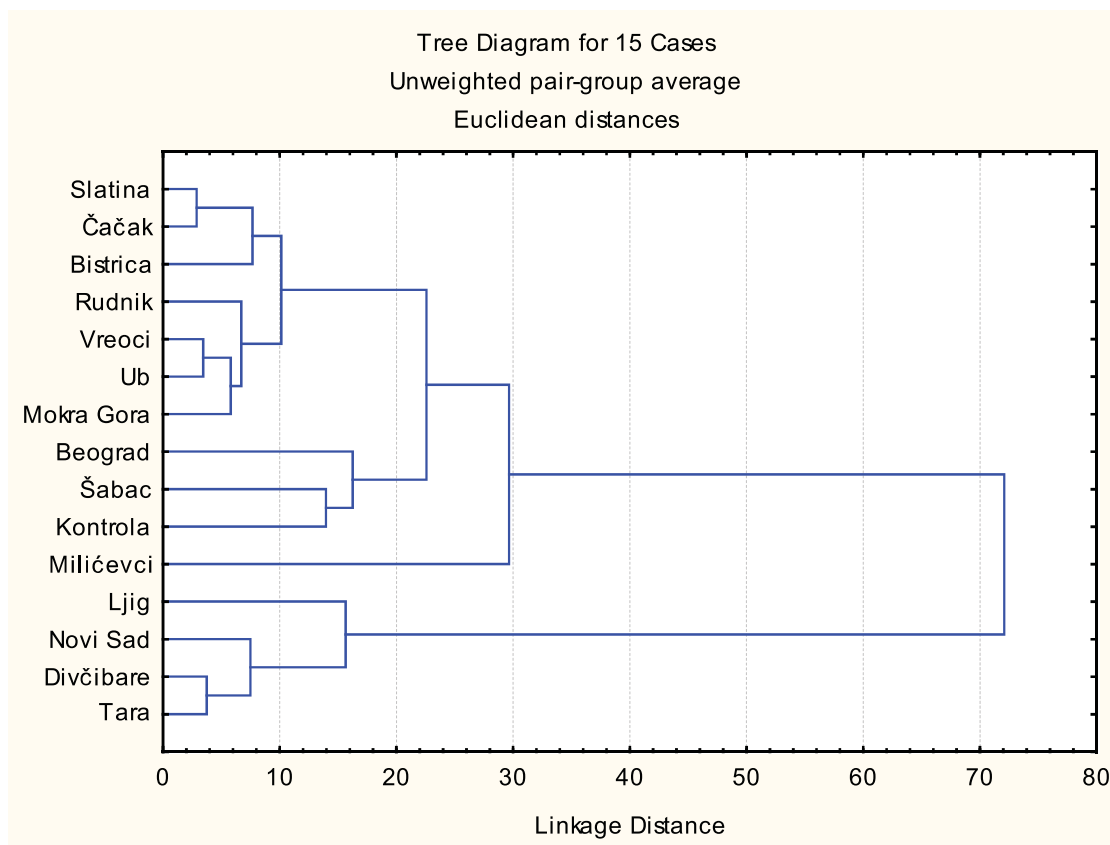
Lokalitet Locality		Karakteristike Characteristics					
		Dužina lista (mm) Leaf length (mm)	Širina lista (mm) Leaf width (mm)	Lisna površina (mm ²) Leaf area (mm ²)	Dužina/širina lista Leaf length/width	Broj providnih žlezda/mm ² Light glands/mm ²	Broj tamnih žlezda/mm ² Dark glands/mm ²
Slatin	\bar{X} (S)	16,08(2,46)ab	6,35 (1,32)cde	81,15(25,28)bc	2,63 (0,56)bc	10,57 (3,80)c	0,35(0,08)de
	CV, %	15,32	20,72	31,15	21,20	35,95	24,38
Rudnik	\bar{X} (S)	14,83(4,06)a	7,15(1,27)ef	86,69(37,57)bc	2,05 (0,26)a	6,27(0,86)ab	0,23(0,05)abc
	CV, %	27,40	17,73	43,33	12,67	13,68	21,14
Vreoci	\bar{X} (S)	17,88 (2,72)bc	6,48 (0,67)cde	91,51(19,34)bcd	2,79 (0,43)bcd	9,87 (3,35)c	0,30(0,11)cde
	CV, %	15,20	10,40	21,13	15,41	33,93	35,88
Beograd	\bar{X} (S)	16,2 (2,90)ab	4,58 (0,92)a	58,81 (17,49)a	3,71 (0,85)gh	20,83 (6,51)e	0,52 (0,22)f
	CV, %	17,91	19,99	29,74	22,91	31,24	42,19
Ub	\bar{X} (S)	17,58 (1,62)bc	6,72 (0,33)def	92,98 (12,07)cd	2,63 (0,20)bc	6,77 (0,91)b	0,28 (0,08)cd
	CV, %	9,19	4,95	12,98	7,64	13,52	29,26
Bistrica	\bar{X} (S)	17,38 (3,32)bc	6,27 (1,45)cde	88,14 (27,77)bc	2,87 (0,47)cde	13,60 (2,61)d	0,38 (0,07)e
	CV, %	19,08	23,18	31,50	16,53	19,23	18,90
Miličevci	\bar{X} (S)	18,93 (1,61)c	7,42(0,42)f	110,36 (11,66)d	2,57 (0,25)bc	10,10 (2,09)c	0,16 (0,05)ab
	CV,%	8,51	5,72	10,57	9,74	20,70	28,81
Ljig	\bar{X} (S)	23,1 (2,11)e	9,15 (1,28)g	166,65 (31,85)e	2,56 (0,31)bc	4,63 (1,30)ab	0,21 (0,05)abc
	CV, %	9,12	13,98	19,11	12,05	28,03	22,05
Šabac	\bar{X} (S)	17,92 (2,39)bc	5,15 (0,90)ab	73,11(18,09)abc	3,56 (0,69)fg	20,33 (2,62)e	0,54 (0,16)f
	CV, %	13,37	17,47	24,74	19,49	12,86	29,07
Novi Sad	\bar{X} (S)	21,67(0,96)e	9,05(0,59)g	154,26 (15,48)e	2,41 (0,11)ab	11,80 (1,15)cd	0,23 (0,03)bc
	CV, %	4,41	6,52	10,03	4,37	9,72	13,43
Divčibare	\bar{X} (S)	21,18 (1,21)de	9,12 (1,13)g	152,33 (26,44)e	2,36(0,20)ab	5,70 (1,74)ab	0,14 (0,02)a
	CV, %	5,70	12,41	17,36	8,65	30,54	17,25
Čačak	\bar{X} (S)	17,82 (2,45)bc	5,70 (0,70)bc	80,61 (20,03)bc	3,17 (0,32)def	12,63 (4,04)cd	0,35 (0,12)de
	CV, %	13,74	12,21	24,84	10,18	31,96	33,04
Mokra Gora	\bar{X} (S)	19,27(0,99)cd	5,93(0,45)bcd	89,99(10,43)bcd	3,27 (0,19)ef	3,47 (1,66)a	0,22(0,03)abc
	CV, %	5,16	7,66	11,59	5,79	47,81	12,94
Tara	\bar{X} (S)	21,57 (1,20)e	8,75 (0,90)g	148,64 (22,36)e	2,49 (0,20)bc	5,33 (1,70)ab	0,14 (0,03)a
	CV, %	5,55	10,28	15,04	7,92	31,90	18,26
KN	\bar{X} (S)	18,70 (2,29)c	4,77 (0,56)a	69,92 (10,21)ab	4,01 (0,68)h	6,77 (2,78)b	0,33 (0,04)de
	CV, %	12,24	11,81	14,60	17,05	41,11	13,44
	F	10,08**	28,63**	25,46**	16,03**	34,24**	17,78**

\bar{X} : srednja vrednost; S: standardna devijacija; CV: koeficijent varijacije; *abcdefg* : vrednosti označene različitim slovima se međusobno statistički značajno razlikuju ($p < 0,05$) prema Duncan-ovom testu višestrukog poređenja; F: Fisher-ov kriterijum; ** značajno na nivou 0,01.

\bar{X} : mean; S: standard deviation; CV: coefficient of variation; *abcdefg* : values followed by different small letters in each column are significantly different ($P < 0.05$) according to Duncan's multiple range test; F: Fisher's criterion; ** significant at the probability level $P < 0.01$.

Varijabilnost u dimenzijama lista tj. u odnosu dužine i širine lista predstavlja najizraženiju morfološku intraspecijsku varijabilnost kod *Hypericum perforatum* L. (Bruni i Sacchetti, 2009). Na osnovu te osobine vrsta je klasifikovana u tri varijeteta: širokolisni var. *perforatum* (poreklom iz Severne Evrope), kod koga odnos dužine i širine lista iznosi 2,0, uskolisni var. *angustifolium* (poreklom iz Južne Evrope), sa odnosom dužine i širine lista od 3,1, i var. *microphyllum* sa malim listovima (Southwell i Campbell, 1991; Robson, 1968). Analiza odnosa dužine i širine lista u ovom radu identifikovala je uskolisne (4-3,5), intermedijerne (2,5-3,5) i širokolisne (2-2,5) varijetete (Radušienė i Bjørn, 2005). Najveći broj lokalnih populacija pripadao je intermedijernim i širokolisnim varijetetima, dok su genotipovi poreklom iz Beograda i Šapca bili jedini predstavnici uskolisnog varijeteta, sa prosečnim odnosom dužine i širine lista od 3,71 odnosno 3,56, zajedno sa kontrolnim biljkama, čija je prosečna vrednost ove osobine iznosila 4,01.

Korelaciona analiza otkrila je značajnu pozitivnu korelaciju između gustine providnih i tamnih lisnih žlezda i odnosa dužine/širine lista ($r = 0,55^{**}$, odnosno $r = 0,36^{**}$). To je u saglasnosti sa prethodnim istraživanjima sprovedenim u Australiji na kantarionu, koja su pokazala da je sadržaj hipericina kod uskolisnih varijeteta četverostruko veći u odnosu na širokolisne varijetete, i slično tome, da je gustina tamnih žlezda viša kod uskolisnih varijeteta (Southwell i Campbell 1991). Između veličine lista i gustine tamnih i providnih lisnih žlezda utvrđena je značajna negativna korelacija ($r = -0,59^{**}$, odnosno $r = -0,35^{**}$). Ovaj rezultat se može objasniti fenomenom kojim je broj sekretornih struktura određen u vreme diferencijacije sekretornih ćelija u meristemu, i koji je kao takav fiksiran (Esau, 1977). Stoga, svako povećanje u veličini lista rezultira u smanjenju gustine tamnih žlezda. Taj rezultat je u saglasnosti sa studijom u kojoj je utvrđena negativna korelacija između veličine lista i sadržaja hipericina u listu (Çirak i sar., 2007).



Slika 1. Dendrogram dobijen UPGMA klaster analizom šest morfoloških osobina lista kod lokalnih populacija kantariona (*Hypericum perforatum* L.)

Fig. 1. The dendrogram obtained by UPGMA cluster analysis of six leaf morphological traits in local populations of St. John's wort (*H. perforatum* L.)

Korišćenjem UPGMA klaster analize studirane populacije su na osnovu morfoloških osobina lista grupisane u četiri osnovne grupe, koje su u određenom stepenu u skladu sa njihovim geografskim poreklom (Slika 1). Na osnovu dendrograma dobijenog klaster analizom može se zaključiti da biljke poreklom iz šumskih i zasenjenih lokaliteta (na primer, Ljiga, Divčibara i Tare), okarakterisanih kiselo smeđim tipom zemljišta i niskim stepenom antropogenih uticaja, razvijaju krupnije i šire listove, ali i najmanji broj lisnih žlezda. S druge strane, biljke poreklom sa degradiranih ili kultivisanih staništa, koja se odlikuju većim intezitetom svetlosti, višim temperaturama, kao i višim stepenom zagađenja vazduha i zemljišta, bile su okarakterisane užim i manjim listovima, ali većom gustinom lisnih žlezda u poređenju sa ostalim populacijama. Primer za to su biljke koje potiču sa dva urbana lokaliteta (Beograda i Šapca), koje zajedno sa kontrolnim biljkama, obrazuju zaseban klaster (Sl. 1). Taj rezultat je u saglasnosti sa činjenicom da akumulacija sekundarnih metabolita kod biljaka generalno predstavlja odbrambeni mehanizam protiv raznih štetnih abiotičkih i biotičkih faktora spoljašnje sredine (Bruni i Sacchetti, 2009).

Zaključak

Rezultati ove studije potvrđuju postojanje značajne morfološke varijabilnosti između populacija kantariona poreklom sa različitih prirodnih staništa u Srbiji, te se može zaključiti da poreklo biljaka svakako ima značajnu ulogu u intraspecijskom divezitetu ove vrste.

- S obzirom da su sve biljke gajene u istim *ex situ* uslovima, uočena varijabilnost je verovatno rezultat genetičke varijabilnosti, nastale kao posledica dugotrajnih evolutivnih prilagođavanja biljaka u geografski odvojenim staništima okarakterisanim međusobno različitim klimatskim, edafskim i geografskim faktorima.

- Stoga se može očekivati da divlje populacije kantariona predstavljaju značajne genetičke resurse i potencijalni izvor genetičke varijabilnosti koja bi se mogao koristiti u programima oplemenjivanja u cilju poboljšanja postojećih i/ili selekciju novih sorti.
- Na osnovu rezultata UPGMA klaster analize izdvojena je grupa genotipova koja se odlikuje većom gustinom lisnih žlezda i verovatno višim sadržajem sekundarnih metabolita u poređenju sa standardnom sortom Maja, koji bi stoga mogli da predstavljaju značajan početni materijal u budućim programima oplemenjivanja.
- Ipak, s obzirom da navedena kolekcija kantariona ne pokriva celu geografsku distribuciju ove vrste na teritoriji Srbije, potencijalni objekat za buduća istraživanja bi bio dodatno kolekcionisanje u cilju detaljne i sveobuhvatne analize morfološke varijabilnosti domaćih populacija kantariona, kao početnog koraka u procesu oplemenjivanja.

Literatura

1. Asdal, Å., Galambosi, B., Kjeldsen Bjørn, G., Olsson, K., Pihlik, U., Radušiene, J., Thorvaldsdottir, E., Wedelsbäck Bladh, K., Zukauskas, I. (2006): Spice- and Medicinal Plants in the Nordic and Baltic Countries. Conservation of Genetic Resources. Report from a project group at the Nordic Gene Bank. Nordic Gene Bank, Alnarp, Sweden.
2. Bagdonaitė, E., Janulis, V., Ivanauskas, L., Labokas, J. (2007): *Ex situ* studies on chemical and morphological variability of *Hypericum perforatum* L. in Lithuania. *Biologija* 53(3): 63-70.
3. Barnes, J., Anderson, L.A., Phillipson, J.D. (2001): St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 53(5): 583-600.
4. Bruni, R., Sacchetti, G. (2009): Factors Affecting Polyphenol Biosynthesis in Wild and Field Grown St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L. Hypericaceae/Guttiferae). *Molecules* 14: 682-725.
5. Curtis, J.D., Lersten, N.R. (1990): Internal secretory structures in *Hypericum* (*Clusiaceae*): *H. perforatum* L. and *H. balearicum* L. *New Phytologist* 114: 571-580.
6. Esau, K. (1977): *Anatomy of Seed Plants*, 2nd Ed. John Wiley and Sons, New York, UK.
7. Farsad Akhtar, N., Aharizad, S., Abolghasem Mohammadi, S., Motallebi-Azar, A., Movafeghi, A. (2014): The study of relationship between morphological traits and hypericins content in *Hypericum perforatum* L. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences* 4 (2): 45-47.
8. *Flora Srbije* (1970-1986): tom III (urednik M. Josifović). SANU, Beograd.
9. Gartner, M., Muller, T., Simon, J.C., Giannis, A., Sleeman, J.P. (2005): Aristoforin, a novel stable derivative of hyperforin, is a potent anticancer agent. *Chembiochem* 6: 171-177.
10. Gillett, J.M., Robson, N.K.B. (1981): The St. John's-worts of Canada (*Guttiferae*). National Museum of Natural Sciences. Ottawa. Ont. Publ. Bot. No. 11, 44 pages.
11. Jevđović R., Ivanović M., Radanović D. (2005): Novostvorena sorta kantariona „Maja“, priznata Rešenjem Ministarstva poljoprivrede šumarstva i vodoprivrede Vlade Republike Srbije, broj, 320-09-39/134/3-2005-06 od 21.09.2005, Beograd.
12. Pank, F., Heine, H. (1998). Ziele und Methoden der Arznei und Gewürzpflanzenzüchtung und verfügbare Sorten in Deutschland. *Zeit. Arznei und Gewürzpflanzen* 3:125-128.
13. Patocka, J. (2003): The chemistry, pharmacology, and toxicology of the biologically active constituents of the herb *Hypericum perforatum* L. *J. Appl. Biomed.* 1: 61-73.
14. Pluhár, Z.S., Bernáth, J., Neumayer, E. (2002): Morphological, Production biological and chemical diversity of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). *Acta Horticulturae* 576:33-40.
15. Raina, R., Singh, J., Chand, R., Sharma, Y. (2005): Hypericin accumulation in glands of *Hypericum perforatum* L. *Current Science* 89(12): 1981-1982.

16. Robson, N.K.B. (1968). Guttiferales, 109, Guttiferae (Clusiaceae). In: Tutin, T.G., Heywood, W.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (Eds.), Flora Europa, vol. 2. Cambridge University press, Cambridge, UK, pp. 261-269.
17. Škorić, A., Filipovski, G., Ćirić, M. (1985): Klasifikacija zemljišta Jugoslavije. Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine, Posebna izdanja, knjiga LXXVIII, Sarajevo.
18. Sneath, P.H.A., Sokal, R.R. (1973): Numerical Taxonomy, The Principles and Practice of Numerical Classification. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
19. Southwell, H.A., Campbell, M.H. (1991): Hypericin content variation in *Hypericum perforatum* in Australia. Phytochem. 30: 475 - 8.
20. Walker, L., Sirvent, T., Gibson, D., Vance, N. (2001): Regional differences in hypericin and pseudohypericin concentrations and five morphological traits among *Hypericum perforatum* plants in the northwestern United States. Can. J. of Botany 10:1248-1255.
21. Zobayed, S. M. A., Afreen, F., Goto, E., Kozai, T. (2006): Plant-environment interactions: accumulation of hypericin in dark glands of *Hypericum perforatum*. Annals of Botany 98 (4): 793-804.
22. Çirak C., Radusiene, J., Karabuk, B., Janulis, V. (2007): Variation of bioactive substances and morphological traits on *Hypericum perforatum* populations from Northern Turkey. Biochemical Systematics and Ecology 35: 403-409.

UDC: 582.824
Original scientific paper

**DIVERGENCE OF THE LOCAL POPULATIONS OF ST. JOHN'S WORT
(*HYPERICUM PERFORATUM* L.) BASED ON LEAF
MORPHOLOGICAL TRAITS**

*N. Krstonijević Živanović, S. Prodanović, Z. Girek**

Summary

The present study was conducted in order to analyze the divergence of the fourteen native populations of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) originating from different locations of Serbia based on six leaf morphological characteristics including leaf length and width, leaf area, leaf length/width ratio and light and dark gland density on leaves. Plants were grown under the same *ex situ* conditions, along with the standard cultivar 'Maya', used as control. The one way analysis of variance (ANOVA) revealed highly significant differences ($p < 0.01$) among investigated populations of *H. perforatum* in all studied characteristics. The highest morphological heterogeneity within populations was observed in the leaf light gland density (CV = 9.71 – 47.81%) and was followed by leaf dark gland density (CV = 12.94 – 42.19%). These characteristics are considered as important morphological markers, indicating thereby the relative extent of biologically active substances present in the analyzed genotypes of this species, without the need of chemical estimation. The noted morphological variation in *H. perforatum* probably had a genetic character as all plants had grown under uniform conditions. One can therefore expect that wild populations of *H. perforatum* are potentially important sources of genetic variation that could be utilized in breeding programs for an improvement of cultivated material and/or selection of new cultivars. Based on the results of UPGMA cluster analysis a group of genotypes of *H. perforatum* are distinguished from others by higher leaf gland density and presumably higher contents of the biologically active substances if compared with the cv. 'Maya' and hence could be considered in the future breeding programs.

Key words: variability, leaf gland density, native populations, leaf morphological traits, Serbia, *Hypericum perforatum* L.

* Nina Krstonijević Živanović, B.Sc., Ph.D student, Slaven Prodanovic, Prof., Ph.D., Faculty of Agriculture, Zemun-Belgrade; Zdenka Girek, Ph.D., Institute for Vegetable Crops, Smederevska Palanka.

E-mail of corresponding author: nina.krstonijevic@gmail.com

This investigation is a part of two projects of the Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia No. TR-31069 and No. TR31059 and two projects of Norwegian Ministry of Foreign Affairs, HERD/Agriculture: No. 332160 UÅ "Research, education and knowledge transfer promoting entrepreneurship in sustainable use of pastureland/grazing", and No. 332160 UØ "Agricultural Adaptation to Climate Change – Networking, Education, Research and Extension in the West Balkans".