

AGATA KONECKA, ANNA TEREBA, MARCIN STUDNICKI, JUSTYNA A. NOWAKOWSKA

Allele rzadkie i prywatne jako miara bogactwa puli genetycznej materiału sadzeniowego sosny zwyczajnej

Rare and private alleles as a measure of gene pool richness in Scots pine planting material

ABSTRACT

Konecka A., Tereba A., Studnicki M., Nowakowska J. A. 2019. Allele rzadkie i prywatne jako miara bogactwa puli genetycznej materiału sadzeniowego sosny zwyczajnej. Sylwan 163 (11): 948-956. DOI: <https://doi.org/10.26202/sylwan.2019068>.

In forestry management, artificially produced planting material is mainly used for renewal the tree population. Seedlings are cultivated in two systems: in the ground (the bare-root seedlings) and in controlled conditions (container seedlings). The aim of the study was to analyse the microsatellite markers of nuclear and chloroplast DNA, in terms of the number and frequency of rare, private, low frequency and common alleles in the planting material of Scots pine. The rare alleles included alleles occurring with less than 1% in analyzed group of seedlings and low frequency alleles occurred with a frequency of less than 25%. The private alleles were detected only in one group of seedlings. Genetic pools of seedlings from traditional (soil) and container production were compared. Planting material came from nurseries in the Olsztynek (N Poland) and the Oleszyce (S Poland) forest district. With the similar number of observed nDNA and cpDNA alleles in both analyzed locations, a higher number of rare, low frequency and private alleles was found within container seedlings. Most private alleles were a rare allele. Rare and private alleles are supposed to be responsible for adaptation to changing climatic conditions and a stressful environment. It seems reasonable to continue research on the meaning of rare and private alleles under conditions of strong selective pressure.

KEY WORDS

genetic differentiation, microsatellite markers, forest nursery, *Pinus sylvestris* L.

ADDRESSES

Agata Konecka ⁽¹⁾ – e-mail: A.Konecka@wl.sggw.pl

Anna Tereba ⁽²⁾, Marcin Studnicki ⁽³⁾, Justyna A. Nowakowska ⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Katedra Hodowli Lasu, SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

⁽²⁾ Zakład Ekologii Lasu, Instytut Badawczy Leśnictwa; Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn

⁽³⁾ Katedra Doświadczalnictwa i Bioinformatyki, SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

⁽⁴⁾ Wydział Biologii i Nauk o Środowisku, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego; ul. Wóycickiego 1/3, 01-938 Warszawa

Wstęp

W genetyce drzew leśnych fragmenty mikrosatelitarnego DNA są analizowane dzięki genotypowaniu populacji na podstawie frekwencji alleli polimorficznych loci [Oddou-Muratorio i in. 2003; Robledo-Arnuncio i in. 2004]. Większe zróżnicowanie genetyczne populacji wynika zazwyczaj z obecności tzw. alleli rzadkich, czyli występujących w badanej populacji z częstotliwością niższą niż 5% [García-Gil i in. 2015] lub o frekwencji mniejszej niż 1% [Buchert i in. 1997]. Kolejną cechą, która określa bogactwo puli genetycznej badanych populacji, jest udział alleli prywatnych w ramach poszczególnych grup badanych osobników. Allele prywatne charakteryzują się występowaniem tylko w jednej grupie względem wszystkich badanych grup osobników w ramach gatunku [García-Gil i in. 2015]. W niniejszej pracy przeprowadzono analizę frekwencji alleli w badanych loci SSR w obrębie DNA jądrowego i chloroplastowego w celu określenia udziału alleli rzadkich (frekwencja $<0,01$) i prywatnych.

Analiza udziału alleli rzadkich może służyć do obserwacji zmienności genetycznej osobników występujących w danej populacji na określonym obszarze. Powszechnie uważa się, że występowanie alleli rzadkich może warunkować przystosowanie się gatunków do zmian klimatycznych lub zmian pod wpływem występującej presji selekcyjnej w przyszłości (np. wystąpienie nowej choroby). Jednocześnie stwierdzono, że allele rzadkie nie odgrywają większej roli w procesach metabolicznych drzew leśnych [Bush, Smouse 1992]. Dodatkowo Müller-Starck [1985] wykazał, że niektóre allele rzadkie występujące w drzewostanach buka zwyczajnego wzrastającego w silnie stresogennym środowisku zwiększały potencjał adaptacyjny badanych populacji. Cheng i in. [1997] opisali rolę alleli rzadkich w kształtowaniu odporności na holenderską chorobę wiązów.

Obecność alleli prywatnych jako unikatowych form alleli może świadczyć o zwiększonym bogactwie genetycznym grupy, w której występują. Rajora i in. [2000] twierdzą, że utrata alleli prywatnych obserwowana w drzewostanach poddanych intensywnym zabiegom pielęgnacyjnym może stanowić zagrożenie dla integralności lokalnie przystosowanych puli genowych.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na sadzonkach sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.). Nasiona do produkcji sadzonek zebrano w Nadleśnictwie Olsztynek (RDLP Olsztyn) oraz Nadleśnictwie Oleszyce (RDLP Krosno). Wybrano drzewostany znajdujące się w nadleśnictwach ze szkółką kontenerową, z możliwością wysiania części nasion w szkółce tradycyjnej (gruntowej). Zbiór nasion w Nadleśnictwie Olsztynek odbył się w 2012 roku w leśnictwie Marózek: wydzielanie 240d, nasienny gospodarczy drzewostan sztuczny sosny zwyczajnej, nr w rejestrze LMP: MP/1/11117/05 (aktualnie skreślony z rejestru), drzewostan w klasie do odnowienia – odnawiany rębnią IIIa. Nasiona z Nadleśnictwa Oleszyce (zebrane w 2012 roku) pochodziły z leśnictwa Stare Sioło: wydzielanie 182h, nasienny gospodarczy drzewostan sztuczny sosny zwyczajnej, nr w rejestrze LMP: MP/1/5935/05, drzewostan w klasie odnowienia – odnawiany rębnią IIIb. Szyszki zebrano z drzew leżących. Nasiona zostały wysiane na wiosnę zgodnie z planem pracy każdej szkółki. Część partii zebranych nasion została wysiana (siew rzędowy) na kwaterach szkółki gruntowej i była pielęgnowana przez cały okres wegetacyjny zgodnie z przyjętymi zasadami w danych jednostkach. Drugą część partii zebranych nasion wysiano do kontenerów. Siewki pielęgnowano w namiotach foliowych w warunkach kontrolowanych, które zgodnie z praktyką ustalali szkółkarze.

Do analiz genetycznych wybrano losowo 150 sadzonek z produkcji kontenerowej (C) i 150 sadzonek z produkcji tradycyjnej (T). Łącznie przebadano 300 sadzonek sosny zwyczajnej. Pobierano około 100 mg igieł każdego osobnika. Próby kolekcjonowano tego samego roku – na koniec sezonu wegetacyjnego, tj. we wrześniu i październiku.

Izolacje DNA genomowego wykonano za pomocą komercyjnego zestawu NucleoSpin® Plant II, według procedury zalecaniej przez producenta (Machery-Nagel®, Niemcy). Amplifikacja fragmentów mikrosatelitarnych DNA została przeprowadzona przy pomocy reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR), z wykorzystaniem zestawu Qiagen® Multiplex PCR Kit. Analizę jądrowych sekwencji mikrosatelitarnych (nSSR) przeprowadzono według zmodyfikowanej procedury Soranzo i in. [1998] przy zastosowaniu trzech loci mikrosatelitarnych: SPAG 7.14, SPAC 11.6 i SPAC 12.5 oraz według Chagné'a i in. [2004] dla locus SsrPt_ctg4363. Analizę sekwencji chloroplastowego mikrosatelitarnego DNA (cpSSR) wykonano według wskazówek Provaniego i in. [1998] przy zastosowaniu trzech loci mikrosatelitarnych: PCP36567, PCP71987 i PCP87314. Długość otrzymanych fragmentów DNA odczytywano przy użyciu automatycznego sekwenatora CEQ™8000 (BeckmanCoulter®, Fullerton, USA).

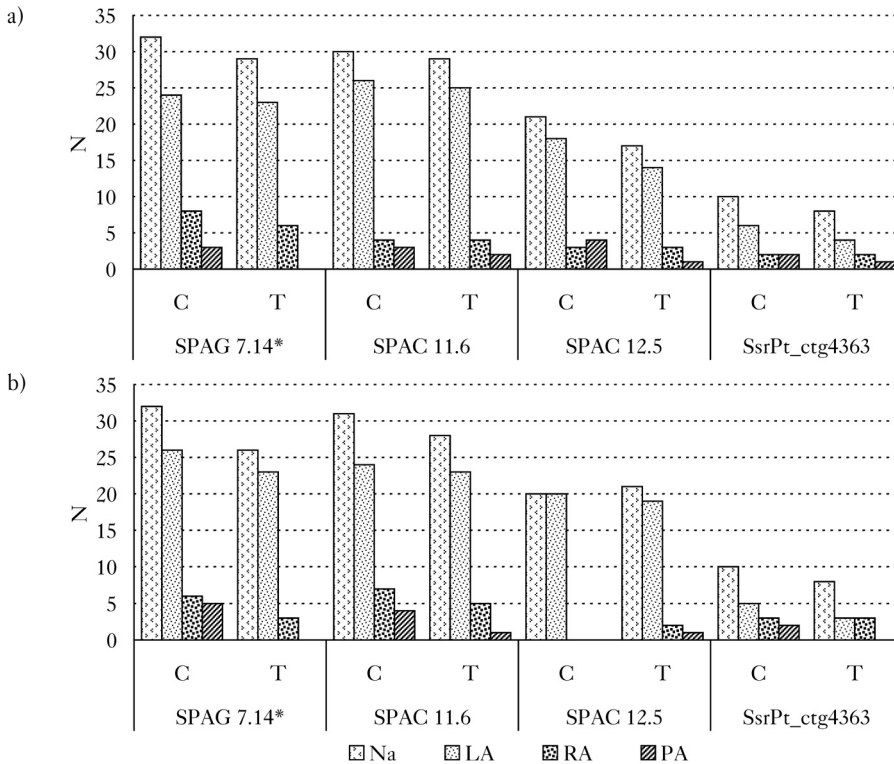
Dla każdego loci określono liczbę oraz frekwencję poszczególnych alleli mikrosatelitarnego DNA jądrowego oraz chloroplastowego przy użyciu programu GenAlEx 6.501 [Peakall, Smouse 2012]. Wyszczególniono allele rzadkie (RA), które występują w populacjach z częstością $p < 0,01$, allele o niskiej frekwencji (LA), gdzie $0,01 \leq p < 0,25$, oraz allele często spotykane (CA), dla których $p \geq 0,25$. Skalę zaczerpnięto z badań Bucherta i in. [1997], którzy analizowali wpływ silnych zabiegów prowadzonych w drzewostanach sosny białej (*Pinus strobus* L.) na zróżnicowanie genetyczne populacji na podstawie markerów izoenzymowych. Określono również liczbę alleli prywatnych (PA) dla wszystkich loci.

Wyniki

MIKROSATELITARNE DNA JĄDROWE. Badane populacje sosny zwyczajnej charakteryzowały się liczną grupą alleli rzadkich w obrębie wszystkich czterech loci SSR w DNA jądrowym i osiągnęły poziom 24% w Nadleśnictwie Olsztynek oraz 22% w Nadleśnictwie Oleszyce (odpowiednio 23 RA na 97 alleli ogółem oraz 21 RA na 95 wszystkich alleli). Najwięcej alleli odnotowano w przedziale od 1 do 25%. Obydwie populacje cechowały się około 75-procentowym udziałem alleli o niskiej frekwencji w ramach wszystkich loci jądrowego DNA.

Rozpatrując udział poszczególnych alleli w ramach sadzonek z zakrytym i odkrytym systemem korzeniowym, wykazano, że najliczniejszy pod względem występowania RA mikrosatelitarnego DNA jądrowego jest materiał sadzeniowy z kontenerów: ponad 18% udziału w populacji Olsztynek i ponad 17% w populacji Oleszyce. W obydwu nadleśnictwach sadzonki ze szkółki tradycyjnej miały niewiele mniejszy udział RA, odpowiednio 18 i 15,5%. Najliczniej reprezentowana była grupa LA: dla Nadleśnictwa Olsztynek 80% dla sadzonek kontenerowych i 82% dla sadzonek gruntowych, a w Nadleśnictwie Oleszyce odpowiednio 80 i 81%. Wykazano istotne statystycznie różnice w liczbie PA między grupami sadzonek kontenerowych i ze szkółki tradycyjnej z obydwu nadleśnictwach w ramach wszystkich loci nSSR (tab.). Locus SPAG 7.14 oraz locus SPAC 11.6 były najbardziej polimorficzne. Dodatkowo cechowały się występowaniem największej liczby RA, szczególnie w grupie sadzonek kontenerowych (ryc. 1a, 1b). Nietypowym rozkładem charakteryzował się locus SPAC 12.5, ponieważ w obrębie sadzonek kontenerowych w Nadleśnictwie Oleszyce nie zaobserwowano występowania ani RA, ani PA (ryc.1b).

Allele prywatne występowały w większej liczbie w grupie sadzonek produkowanych w kontenerach w nadleśnictwach Olsztynek i Oleszyce. W ramach PA większość charakteryzowała się również frekwencją poniżej 1%: w kontenerach w Olsztyнку 8 na 12 alleli prywatnych i Oleszycach 8 na 11 alleli prywatnych to allele rzadkie, a w szkółce tradycyjnej odpowiednio 3 na 4 allele prywatne i 1 z 2 alleli prywatnych należały jednocześnie do grupy alleli rzadkich (tab.). Żadne z analizowanych nadleśnictw wśród sadzonek z gruntu nie miało PA w locus SPAG 7.14



Ryc. 1.

Liczba alleli (N) w czterech loci DNA jądrowego (SPAG 7.14, SPAC 11.6, SPAC 12.5, SsrPt_ctg4363) u sadzonek kontenerowych (C) i z odkrytym systemem korzeniowym (T) w nadleśnictwach Olsztynek (a) i Oleszyce (b)

Number of alleles (N) in four nuclear DNA loci (SPAG 7.14, SPAC 11.6, SPAC 12.5, SsrPt_ctg4363) in container (C) and bare-root (T) seedlings in Olsztynek (a) and Oleszyce (b) forest districts

* istotne przy $p < 0,05$; significant at $p < 0,05$

(ryc. 1a i 1b). Dodatkowo sadzonki produkowane w tradycyjny sposób w Nadleśnictwie Oleszyce wyróżniały się brakiem PA w locus SsrPt_ctg4363 (ryc.1b).

W obydwu nadleśnictwach odnotowano brak istotnych różnic statystycznych między liczbą RA w grupie sadzonek z kontenerów i sadzonek z gruntu w pojedynczo analizowanych loci jądrowych i chloroplastowych. Dla PA wykazano istotne różnice statystyczne między sadzonkami z kontenerów a sadzonkami z gruntu tylko w locus SPAG 7.14 w Nadleśnictwie Oleszyce (ryc. 1b).

MIKROSATELITARNE DNA CHLOROPLASTOWE. W ramach trzech mikrosatelitarnych markerów DNA chloroplastowego populacja z Nadleśnictwa Olsztynek cechowała się aż 37-procentowym udziałem alleli rzadkich (6 na 19 wszystkich alleli zaobserwowanych w populacji). Populacja z Nadleśnictwa Oleszyce zawiera w puli genetycznej 23,5% alleli rzadkich (4 allele na 17 alleli ogółem). W Nadleśnictwie Olsztynek odnotowano mniejszy udział alleli o niskiej frekwencji niż w Nadleśnictwie Oleszyce (odpowiednio 42 i 59%).

Podobnie jak w przypadku markerów jądrowego DNA najbogatsze pod względem udziału RA były sadzonki ze szkółki kontenerowej w Olsztyнку, gdzie na 19 występujących alleli 7 miało frekwencję mniejszą niż 1% (37% udziału alleli rzadkich w grupie), podczas gdy drzewka ze szkółki tradycyjnej wykazywały zaledwie 8% udziału RA (1 na 12 alleli ogółem). Sytuacja na

Tabela.

Liczba alleli ogółem (Na), alleli często spotykanych (CA), alleli o niskiej frekwencji (LA), alleli rzadkich (RA) i prywatnych (PA) w badanych loci DNA jądrowego (nSSR) i chloroplastowego (cpSSR) wśród sadzonek kontenerowych (C) i z odkrytym systemem korzeniowym (T) w nadleśnictwach Olsztynek i Oleszyce
 Number of alleles in total (Na), common alleles (CA), low frequency alleles (LA), rare (RA) and private (PA) alleles in nuclear (nSSR) and chloroplast (cpSSR) DNA loci in container (C) and bare-root seedlings (T) in Olsztynek and Oleszyce forest districts

		nSSR			cpSSR		
		C	T	p C vs T	C	T	p C vs T
Olsztynek	Na	93	93	–	19	12	–
	CA	1	0	0,6976	3	4	0,2551
	LA	75	68	0,2234	9	7	0,5518
	RA	17	15	0,3162	7	1	0,0372*
	PA	12 (8 RA)	4 (3 RA)	0,0364*	7 (5 RA)	0	0,0168*
Oleszyce	Na	93	83	–	15	15	–
	CA	2	3	0,9896	3	3	1
	LA	75	67	0,5565	8	10	0,4561
	RA	16	13	0,7832	4	2	0,3613
	PA	11 (8 RA)	2 (1 RA)	0,00525**	2 (2 RA)	2 (2 RA)	1

* istotne przy $p < 0,05$; significant at $p < 0,05$

** istotne przy $p < 0,01$; significant at $p < 0,01$

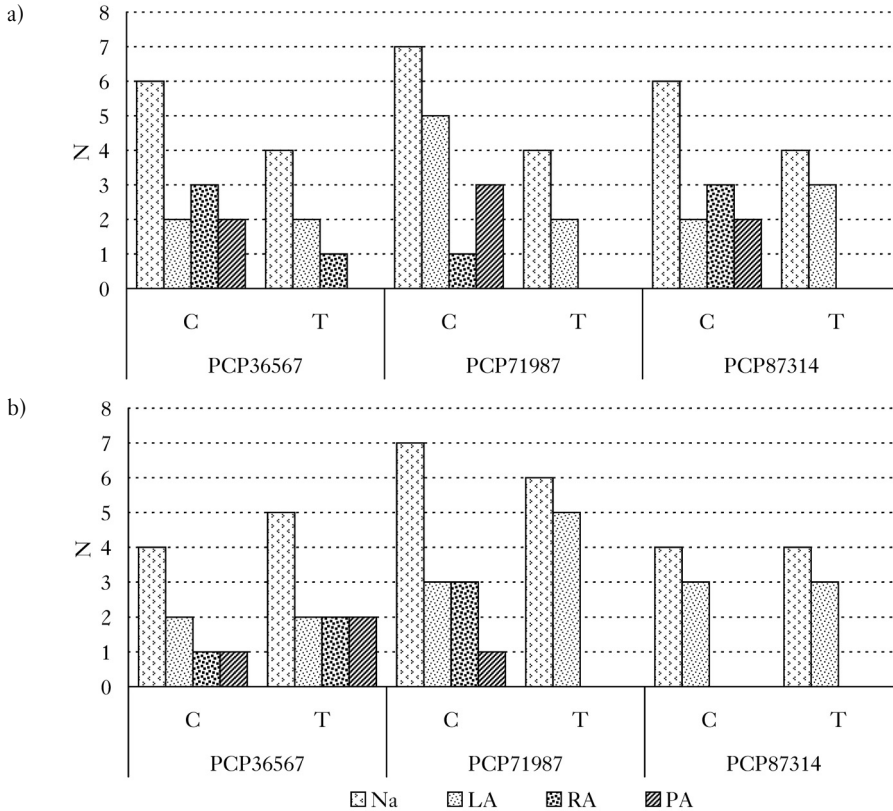
terenie Nadleśnictwa Oleszyce kształtowała się podobnie. Największy udział RA charakteryzował grupę sadzonek produkowanych w kontenerach (27% – co jest równoznaczne z 4 rzadkimi allelami na 15 alleli ogółem), a sadzonki z odkrytym systemem korzeniowym cechował 13-procentowy udział alleli występujących z frekwencją poniżej 1% (2 RA na 15 alleli ogółem). Istotnie statystycznie różnice udziału RA oraz PA, analizowane między populacją z produkcji kontenerowej w odniesieniu do populacji ze szkółki gruntowej, wykazano tylko dla Nadleśnictwa Oleszyce dla wszystkich cpSSR łącznie (tab.).

W obrębie alleli rzadkich również odnotowano występowanie alleli prywatnych. Sadzonki kontenerowe z Nadleśnictwa Olsztynek zawierały 7 wariantów PA, z Nadleśnictwa Oleszyce 2 warianty. Dodatkowo zaobserwowano, że sadzonki produkowane w tradycyjny sposób w Nadleśnictwie Olsztynek nie wykazywały obecności PA, podczas gdy w Nadleśnictwie Olsztynek odnotowano obecność 2 PA, które zaliczały się jednocześnie do grupy RA (tab.).

Analiza poszczególnych loci w grupach sadzonek z kontenerów oraz z produkcji tradycyjnej wykazała brak występowania RA i PA w locus PCP71987 i locus PCP87314 w grupie sadzonek z produkcji tradycyjnej w obydwu badanych lokalizacjach (ryc. 2a, 2b).

Dyskusja

Analizowane w badaniach zmiany częstości występowania alleli rzadkich i prywatnych dotyczą sekwencji niekodujących DNA. Markery mikrosatelitarne DNA jądrowego i chloroplastowego są uznawane za selektywnie neutralne. Jednak Williams [1999] dowodzi, że część sekwencji mikrosatelitarnych w genomie sosny znajduje się w regionie niepodlegającym duplikacji (ang. single-copy region). Tak więc markery SSR mogą być sprzężone z genami, które w procesie adaptacji podlegają selekcji negatywnej. Jeżeli niektóre loci mikrosatelitarnego DNA są powiązane z genami, które odgrywają rolę w dopasowaniu do środowiska, zubożenie puli genowej ma olbrzymie znaczenie. Udział w populacjach alleli rzadkich, prywatnych oraz o niskiej frekwencji stanowi więc prawdopodobnie o wielkości potencjału genetycznego wymaganego w procesie adaptacji do długoterminowych zmian środowiska, ponieważ allele o wyższych częstościach już



Ryc. 2.

Liczba alleli (N) w trzech loci DNA chloroplastowego (PCP36567, PCP71987, PCP87314) u sadzonek kontenerowych (C) i z odkrytym systemem korzeniowym (T) w nadleśnictwach Olsztynek (a) i Oleszyce (b) Number of alleles (N) in three chloroplast DNA loci (PCP36567, PCP71987, PCP87314) in container (C) and bare-root (T) seedlings in Olsztynek (a) and Oleszyce (b) forest districts

zostały poddane procesom selekcji i adaptacji do obecnych lub krótko trwających warunków środowiskowych. Dla przykładu analizy alpejskich populacji sosny zwyczajnej, chociaż wykazywały niewielką erozję puli genetycznej DNA jądrowego, nadal utrzymały wysoki poziom alleli prywatnych, cennych z punktu widzenia ochrony drzewostanów *P. sylvestris* na południu Europy [Scafì i in. 2009]. Utrzymanie ciągłości, stabilności i równowagi ekosystemów leśnych jest bezpośrednio związane z koniecznością zachowania dużej różnorodności genetycznej gatunków drzew leśnych w zmieniającym się środowisku.

Dotychczas przeprowadzone analizy wykazały, że pierwszym skutkiem redukcji liczby osobników, która ma miejsce we wszystkich fazach wzrostu drzewostanów, jest utrata alleli rzadkich [Barrett, Kohn 1991]. Badania na sośnie białej na terenie Kanady [Buchert i in. 1997] wykazały znaczną redukcję (około 80%) udziału alleli rzadkich w drzewostanach po zabiegu trzebieży, gdzie kryterium cięć były klasy grubości drzew. Podobne doświadczenie zostało przeprowadzone przez Rajorę i in. [2000]. Autorzy wykorzystali mikrosatelitarne markery DNA do określenia stopnia zmian zróżnicowania genetycznego w drzewostanie po silnym zabiegu trzebieży. Utratę alleli rzadkich w jednym z dwóch analizowanych drzewostanów określono na poziomie około 92%. Wykazano również redukcję liczby alleli prywatnych na poziomie 43 i 59%

w badanych drzewostanach. Dodatkowo stwierdzono, że występowanie alleli rzadkich jest związane z osobnikami o słabszych fenotypach [Bergman, Scholz 1987; Cheliak i in. 1988; Bush, Smouse 1991; Adams i in. 1998; Zhong i in. 2001], dlatego można przypuszczać, że również cięcia sanitarne powodują wyeliminowanie alleli rzadkich w drzewostanach, które mają pełnić bazę nasienną i brać udział w kształtowaniu się struktury genetycznej następnych pokoleń. Danusevicius i in. [2016] potwierdzili, że utrata alleli rzadkich w drzewostanach sosny zwyczajnej nasila się wraz ze wzrostem intensywności prowadzonych w drzewostanie cięć. Tendencja ta utrzymywała się po zabiegu w drzewostanie podrzędnym i głównym. W badaniach przeprowadzonych w Nadleśnictwie Ostrów Mazowiecka również wykazano utratę alleli rzadkich po wykonaniu cięć pielęgnacyjnych. W ramach analiz zmiany zróżnicowania DNA jądrowego opisano utratę od 11% alleli rzadkich po cięciach sanitarnych wirtualnie wykonanych w drzewostanie modelowym do nawet 67% ich eliminacji po przeprowadzeniu wirtualnej trzebieży dolnej o intensywności 30% [Konecka i in. 2018].

Analiza zmienności i struktury genetycznej generacji potomnych pochodzenia naturalnego wskazała w dotychczasowych badaniach na wzrost udziału alleli rzadkich w tych populacjach w stosunku do populacji matecznych. Raja i in. [1998] uważają, że większa chmura pyłkowa daje możliwość dostarczenia nowych alleli rzadkich – pula genetyczna generacji potomnych może być wówczas wzbogacona o nowe allele, w tym i rzadko spotykane. Na podstawie analiz izoenzymatycznych próbek nasion zebranych w drzewostanach oraz na plantacji nasiennej autorzy twierdzą, że podstawową zaletą i wyższością odnowienia naturalnego nad odnowieniem sztucznym jest wyższa liczba alleli na locus oraz występowanie alleli rzadkich w większym udziale w nasionach, które potencjalnie będą tworzyć odnowienie naturalne. Biorąc pod uwagę wyniki uzyskane w niniejszej pracy, należy podkreślić, że pokolenie potomne pochodzenia sztucznego (bez względu na sposób produkcji) również charakteryzuje się znaczną polimorficznością alleli w badanych loci DNA oraz udziałem rzadkich oraz prywatnych alleli. Można zatem stwierdzić, że odnowienie sztuczne rozpatrywane w wyżej wymienionych kryteriach jest cennym materiałem odnowieniowym, który będzie tworzył nowe generacje. Kosińska i in. [2007] stwierdzili, że zmiany zróżnicowania genetycznego w generacji potomnej są związane z możliwością przepływu pyłku między drzewostanami dojrzałymi. Prowadzona na przestrzeni życia badanych drzewostanów gospodarka leśna z całą pewnością doprowadziła do rozluźnienia pułapu koron, co umożliwiło łatwiejszy dostęp pyłku z drzewostanów sąsiednich. Skutkiem tego jest obecność alleli rzadkich i prywatnych w badanych populacjach potomnych wyprodukowanych dwiema metodami.

W przeprowadzonych badaniach proporcje ukazane między grupami alleli o różnej częstotliwości są porównywalne z wcześniejszymi doniesieniami, w których rozpatrywano znaczenie występowania alleli rzadkich w populacjach różnych gatunków drzew leśnych [Müller-Starck 1985; Beaulieu, Simon 1994; Buchert i in. 1997; Rajora i in. 1998, 2000; Rajora 1999; Kosińska i in. 2007]. Niewielka różnica w udziale rzadkich alleli w ramach sadzonek z kontenerów i ze szkółek gruntowych wynika przypuszczalnie ze zwiększonej selekcji naturalnej w grupie sadzonek produkowanych na polach siewnych szkółek gruntowych. Gorsze warunki kiełkowania nasion i wzrostu siewek (np. nieodpowiednia temperatura, wiatr, opady) oraz konkurencja międzyosobnicza zarówno na poziomie korzeni, jak i pędów powodują prawdopodobnie eliminację „słabszych” genotypów w grupie sadzonek na szkółkach gruntowych. W bardziej sprzyjających warunkach produkcji sadzonek w kontenerach, gdzie środowisko wzrostu każdego nasiona i siewki jest kontrolowane, nie ma miejsca proces adaptacji poprzez selekcję naturalną. Biorąc pod uwagę wcześniejsze doniesienia Williama [1999], jakoby allele rzadkie sprzężone były ze słabszymi

fenotypowo osobnikami, możliwa jest ich eliminacja na poziomie wczesnej adaptacji, która w rozpatrywanym układzie ma możliwość zaistnieć tylko wśród sadzonek produkowanych w szkółkach gruntowych. Większy udział alleli rzadkich oraz unikatowych w materiale sadzeniowym z zakrytym systemem korzeniowym potwierdza powyższe założenia.

Podsumowanie

Ze względu na brak badań poświęconych adaptacyjnej wartości alleli rzadkich, prywatnych i o niskiej frekwencji wydaje się rozsądne prowadzenie gospodarki, która pozwoli na utrzymanie możliwie bogatej puli genowej, tak aby dobór naturalny mógł usunąć niepożądane allele w cyklu życia populacji drzew. Praktyka leśna prowadzona w oparciu o różne systemy zarządzania i kształtowania zasobów leśnych oraz przyjęte sposoby reprodukcji, poprzez popieranie potomstwa powstałego na drodze naturalnego lub sztucznego odnowienia, będzie miała znaczący wpływ na poziom różnorodności genetycznej, strukturę oraz procesy genetyczne zachodzące w przyszłych generacjach populacji drzew leśnych.

Ponieważ porównanie zmienności genetycznej odnowienia sztucznego produkowanego różnymi metodami nie było tematem dotychczas przeprowadzonych badań w skali świata, powyższe rozważania, szczególnie w ramach udziału alleli rzadkich i prywatnych, są unikatowe i uzupełniają wiedzę dotyczącą wpływu działalności człowieka na zasobność genową drzewostanów sosny zwyczajnej.

Podziękowania

Autorzy dziękują pracownikom szkółek nadleśnictw Olsztynek i Oleszyce za pomoc w pozyskaniu materiału roślinnego do badań.

Literatura

- Adams W. T., Zuo J., Shimizu J. Y., Tappeiner J. C. 1998. Impact of alternative regeneration methods on genetic diversity in coastal Douglas-fir. *Forest Science* 44 (3): 390-396.
- Barrett S. C., Kohn J. R. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. W: Falk D. A., Holsinger K. E. [red.]. *Genetics and Conservation of Rare Plants*. Oxford University Press, New York. 3-30.
- Bergmann F., Scholz F. 1987. The impact of air pollution on the genetic structure of Norway spruce. *Silvae Genetica* 36: 80-83.
- Buchert G. P., Rajora O. P., Hood J. V., Dancik B. P. 1997. Effects of harvesting on genetic diversity in old-growth eastern white pine in Ontario, Canada. *Conservation Biology* 11 (3): 747-758.
- Bush R. M., Smouse P. E. 1991. The impact of electrophoretic on life history traits in *Pinus taeda*. *Evolution* 45: 481-498.
- Bush R. M., Smouse P. E. 1992. Evidence for the adaptive significance of allozymes in forest trees. *New Forests* 6: 179-196.
- Chagné D., Chaumeil P., Ramboer A., Collada C., Guevara A., Cervera M. T., Vendramin G. G., Garcia V., Frigerio J.-M., Echt C., Richardson T., Plomion C. 2004. Cross species transferability and mapping of genomic and cDNA SSRs in pines. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 1204-1214.
- Cheliak W. M., Murray G., Pitel J. A. 1988. Genetic effects of phenotypic selection in white spruce. *Forest Ecology and Management* 24: 139-149.
- Cheng Z. M., Shi N. Q., Herman D. E., Capps T. K. 1997. Building in resistance to Dutch elm disease. *Journal of Forestry* 95: 24-27.
- Danusevicius D., Kerpauskaitė V., Kavaliauskas D., Fussi B., Konnert M., Baliuckas V. 2016. The effect of tending and commercial thinning on the genetic diversity of Scots pine stands. *European Journal of Forest Research* 135: 1159-1174.
- García-Gil M. R., Floran V., Östlund L., Mullin T. J., Gull B. A. 2015. Genetic diversity and inbreeding in natural and manager populations of Scots pine. *Tree Genetics and Genomes* 11: 28.
- Konecka A., Brzeziecki B., Bielak K., Tereba A., Bieniek J., Nowakowska J. A. 2018. Wpływ metod trzebieży na strukturę i różnicowanie genetyczne drzewostanów sosnowych na poziomie analiz DNA. Dokumentacja końcowa tematu nr 241403. Instytut Badawczy Leśnictwa, Sękocin Stary.

- Konecka A., Tereba A., Bieniek J., Nowakowska J. A. 2018. Porównanie zmienności genetycznej pokolenia matecznego i sztucznie wyhodowanego potomstwa sosny zwyczajnej na podstawie analiz DNA. *Sylwan* 162 (1): 32-40. DOI: <https://doi.org/10.26202/sylwan.2017092>.
- Kosińska J., Lewandowski A., Chalupka W. 2007. Genetic variability of Scots pine maternal populations and their progenies. *Silva Fennica* 41: 5-12.
- Müller-Starck G. 1985. Genetic differences between 'tolerant' and 'sensitive' beeches (*Fagus sylvatica* L.) in an environmentally stressed adult forest stand. *Silvae Genetica* 34: 241-247.
- Oddou-Muratorio S., Houot M. L., Demesure-Musch B., Austerlitz F. 2003. Pollen flow on the wild service tree *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. I. Evaluating the paternity analysis procedure in continuous populations. *Molecular Ecology* 12 (12): 3427-3439.
- Peakall R., Smouse P. E. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 28 (19): 2537-2539.
- Provan J., Soranzo N., Wilson N. J., McNicol J. W., Forrest G. I., Cottrell J., Powell W. 1998. Gene-pool variation in Caledonian and European Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) revealed by chloroplast simple-sequence repeats. *Proceedings. Biological sciences. The Royal Society. London. B* 265: 1697-1705.
- Raja R. G., Tauer C. G., Wittwer R. F., Huang Y. 1998. Regeneration methods affect genetic variation and structure in shortleaf pine (*Pinus echinata* Mill.). *Forest Genetics* 5 (3): 171-178.
- Rajora O. P. 1999. Genetic biodiversity impacts of silvicultural practices and phenotypic selection in white spruce. *Theoretical and Applied Genetics* 99: 954-961.
- Rajora O. P., DeVerno L., Mosseler A., Innes D. 1998. Genetic diversity and population structure of disjunct Newfoundland and central Ontario populations of eastern white pine (*Pinus strobus* L.). *Canadian Journal of Botany* 76: 500-508.
- Rajora O. P., Rahman M. H., Buchert G. P., Dancik B. P. 2000. Microsatellite DNA analysis of genetic effects of harvesting in old-growth eastern white pine (*Pinus strobus*) in Ontario. *Molecular Ecology* 9: 339-348.
- Robledo-Arnuncio J. J., Smouse P. E., Gil L., Alía R. 2004. Pollen movement under alternative silvicultural practices in native populations of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in central Spain. *Forest Ecology and Management* 197: 245-255.
- Scalfi M., Piotti A., Rossi M., Piovani P. 2009. Genetic variability of Italian southern Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations: the rear edge of the range. *European Journal of Forest Research* 128 (4): 377.
- Soranzo N., Provan J., Powell W. 1998. Characterization of microsatellite loci in *Pinus sylvestris* L. *Molecular Ecology* 7: 1260-1261.
- Williams C. 1999. The peculiarities of pine genome. Plant and Animal Genome VII Conference. January 17-21. San Diego, California.
- Zhong C., Kolb T. E., Clancey K. M., Hipkins V. D., DeWald L. E. 2001. Allozyme variation in interior Douglas-fir: association with growth and resistance to western spruce budworm herbivory. *Canadian Journal of Forest Research* 31: 1691-1700.