

IWONA SZYP-BOROWSKA, ANNA ZAWADZKA, KAZIMIERZ ZAJĄCZKOWSKI

Zróżnicowanie genetyczne czereśni ptasiej (*Prunus avium* L.) w Polsce

Genetic diversity of wild cherry (*Prunus avium* L.) in Poland

ABSTRACT

Szyp-Borowska I., Zawadzka A., Zajączkowski K. 2012. Zróżnicowanie genetyczne czereśni ptasiej (*Prunus avium* L.) w Polsce. Sylwan 156 (7): 502-510.

The purpose of our study was to estimate genetic diversity of *Prunus avium* in natural populations. Genetic studies were carried out in 27 wild cherry populations sampled from several Polish tree stands. Chloroplast DNA variation was assessed and two haplotypes were identified. Theirs distribution divided populations into two groups. Haplotype H1 was present in 11 of 27 populations and H2 in 16 populations. The PCR-SSR technique was used to detect nuclear DNA diversity. Three highly polymorphic SSR (microsatellite) primer pairs were used to describe the genetic variation. Heterozygosity values ranged from 0.500 to 0.633, while gene diversity (PIC) from 0.75 to 0.79. This study demonstrated that SSR fingerprinting with cpDNA diversity, can be used for preliminary characterization of *Prunus avium* populations.

KEY WORDS

cpDNA and SSR diversity, *Prunus avium* L., wild populations

ADDRESSES

Iwona Szyp-Borowska – e-mail: I.Szyp@ibles.waw.pl
Anna Zawadzka
Kazimierz Zajączkowski

Zakład Hodowli Lasu i Genetyki Drzew Leśnych; Instytut Badawczy Leśnictwa; Sekocin Stary, ul. Braci Leśnej 3; 05-090 Raszyn

Wstęp

Rola dzikich drzew owocowych w gospodarce leśnej jest często pomijana i zazwyczaj sprowadza się do stwierdzenia, że ich udział w lasach dawniej był liczniejszy niż obecnie [Karczmarski 2007]. Proces zmniejszania się liczebności populacji rodzimych drzew owocowych w lasach postępuje bardzo szybko.

Zasięg występowania czereśni ptasiej (*Prunus avium* L.) przebiega wzdłuż linii Zielona Góra – Głogów – Ostrów Wielkopolski – Częstochowa – Lubartów – Chełm [Boratyńska 1990]. Największe zasoby leśne tego gatunku skoncentrowane są na południu Polski, a więc w granicach zasięgu uznawanego powszechnie za jej naturalny. W Polsce południowej wyróżnić można 4 główne centra występowania czereśni: Wyżyna Lubelsko-Lwowska, Pogórze Środkowobeskidzkie, Beskidy Zachodnie, Przedgórze Sudeckie [Zajączkowski, Zajączkowski 2008]. W północnej i zachodniej Polsce czereśnia występuje w wielu oddzielonych skupiskach, co zdaje się potwierdzać opinię, że została tam sztucznie wprowadzona.

Określenie rzeczywistego zasięgu występowania *P. avium* jest kłopotliwe ze względu na to, że w lasach występują często dziedziczne formy czereśni uprawnej, które są trudne do odróżnienia od form dzikich. W przeszłości zdarzało się, że w przypadku braku nasion czereśni ptasiej,

zapotrzebowanie na sadzonki tego gatunku, nawet w szkółkach leśnych, zaspokajano przez ich świadomą hodowlę z pestek pochodzących z owoców sadowniczych odmian czereśni. Ponieważ gatunki *Prunus* łatwo się krzyżują, mogą powstawać mieszańce czereśni ptasiej zarówno z wywodzącymi się z Azji udomowionymi formami czereśni, jak i z pokrewną jej wiśnią pospolitą [Boratyńska 1990; Bilger 2001]. Z powyższych względów istnieje realne niebezpieczeństwo nie tylko zubożenia, ale nawet całkowitego zniszczenia zasobów genowych naturalnych pochodzeń czereśni ptasiej w Polsce. Podobne problemy występują również w innych krajach europejskich i dlatego już w drugiej połowie ubiegłego wieku, w Niemczech i we Francji [Bilger 2001; Koblíha 2002], zaczęto interesować się ochroną najcenniejszych pochodzeń tego gatunku. Obecnie krajowe programy ochrony i wykorzystania zasobów genowych *P. avium* realizowane są w większości państw europejskich w ramach przyjętego w latach 90. ubiegłego wieku programu EUFORGEN.

W Polsce, jak dotąd, nie opracowano takiego programu. Jednym z głównych powodów tej sytuacji jest stosunkowo mała wiedza o występowaniu i genetycznym zróżnicowaniu *P. avium* w polskich lasach. Aby ostatecznie wyjaśnić kwestie budzące wątpliwości, konieczne jest przeprowadzenie odpowiednich badań genetycznych przy zastosowaniu metod genetyki molekularnej. W wielu krajach prowadzone były badania zróżnicowania genetycznego czereśni ptasiej na podstawie analiz DNA mikrosatelitarnego [Wunsch, Hormaza 2002] i chloroplastowego [Mohanty i in. 2001; Russel 2003] oraz przy zastosowaniu izoenzymów [Russel 2003]. Analiza DNA chloroplastowego wykazała różnice między proveniencjami centralnoeuropejskimi i południowo-wschodnioeuropejskimi, co sugeruje zróżnicowanie dróg postglacjalnej rekolonizacji Europy przez ten gatunek [Russel 2003]. W związku z rosnącym zainteresowaniem drewnem czereśniowym, które obserwowane jest na rynku drzewnym oraz zmniejszającym się udziałem czereśni ptasiej w lasach, powinno się dążyć do ochrony zasobów genowych tego gatunku, w formie ochrony nie tylko pojedynczych drzew, ale także lokalnych populacji w różnych warunkach siedliskowych. Poznanie struktury populacji i zróżnicowania genetycznego jest kluczowe dla ochrony i zarządzania zasobami genetycznymi czereśni ptasiej.

Materiał i metody

W celu określenia zmienności genetycznej czereśni ptasiej badaniami objęto populacje występujące zarówno w granicach naturalnego występowania tego gatunku, jak i poza nimi. W pięciu różnych centrach występowania czereśni wytypowano po 5 lub 6 drzewostanów z jej udziałem (tab. 1). W każdym drzewostanie wybrano 25 drzew w wieku ponad 50 lat, z których pobrano materiał do analiz. Starano się, aby drzewa te były równomiernie rozmieszczone na całej powierzchni drzewostanu. Na podstawie informacji o występowaniu w Polsce czereśni ptasiej poza jej naturalnym zasięgiem, uzyskanych z bazy danych Biura Urządzenia Lasu i Geodezji

Tabela 1.

Nadleśnictwa, w których zlokalizowano drzewostany wykorzystane w doświadczeniach
Forest districts where analysed *Prunus avium* stands were localised

Centrum	Nadleśnictwa
I. Wyżyna Lubelska	Chełm, Krasnystaw, Mircze, Strzelce, Świdnik
II. Pogórze Środkowobeskidzkie	Gorlice, Łosie, Brzozów, Dynów, Kołaczyce, Krasiczyn
III. Beskidy Zachodnie	Andrychów, Bielsko, Sucha, Brzesko, Mysłenice
IV. Przedgórze i Pogórze Sudeckie	Prudnik, Henryków, Jawor, Lwówek Śl., Świdnica, Złotoryja
V. Poza zasięgiem	Elbląg, Czarniejewo, Damnica, Sławno, Złocieniec

Leśnej w Warszawie, do badań wytypowane zostały drzewostany w nadleśnictwach Czerniejewo (RDLP Poznań), Damnica, Sławno, Złocieniec (RDLP Szczecinek) oraz Elbląg (RDLP Gdańsk).

W celu uzyskania obrazu zmienności genetycznej populacji *P. avium* posłużono się analizą polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP). Badania prowadzono przy użyciu sekwencji chloroplastowego DNA zlokalizowanych w regionach: DT (trnD [tRNA-Asp(GUC)] – trnT [tRNA-Thr(GGU)]) i K1K2 (trnK[tRNA-Lys(UUU)exon1] – trnK [tRNA-Lys(UUU)exon2]) [Demesure i in. 1995] oraz VL [Dumolin-Lapegue i in. 1997]. Produkty PCR trawiono enzymami *Taq I*, *Alu I* i *Hinf I*, a następnie rozdzielano w 2,6% żelu agarozowym w buforze 1×TBE.

Przeprowadzono także analizę zmienności 6 regionów mikrosatelitarnych jądrowego DNA. Badanie zmienności tych regionów przeprowadzono posługując się techniką multipleksowego PCR według procedury opisanej przez Vaughana i Russella [2004]. Reakcję PCR prowadzono z użyciem następujących kombinacji starterów: EMPaS02, EMPaS06, EMPaS04, EMPaS05, EMPaS15, EMPaS18. Powielone w reakcji PCR fragmenty DNA znakowano fluorescencyjnie i analizowano w sekwenatorze CEQ System (Beckman Coulter). Wielkość analizowanych fragmentów DNA, w parach zasad, określono za pomocą komputerowego programu CEQ TM 8000 Genetic Analysis System.

Procent loci polimorficznych markerów SSR oszacowano na podstawie wartości PIC (ang. Polymorphism Information Content) w programie MolKin v 2.0. Obliczenia parametrów genetycznych populacji wykonano w programie PopGene v.1.32.

Wyniki

Dla regionu DT trawionego enzymem *Hinf I* zidentyfikowano fragment wielkości 224 pz., którego obecność lub brak pozwoliły wyznaczyć w analizowanych populacjach dwa typy chloroplastowe H1 i H2. Haplotyp H1 obecny był w 11 na 27 populacje. Wszystkie pochodziły z Beskidu Zachodniego oraz Przedgórze i Pogórze Sudeckiego. Drugi typ chloroplastowy został zidentyfikowany w pozostałych populacjach z obszaru Wyżyny Lubelsko-Lwowskiej oraz Pogórze Środkowobeskidzkiego, a także w populacjach spoza zasięgu (ryc.). W populacjach z nadleśnictw Kołaczyce, Złocieniec i Brzozów wykazano obecność osobników należących do obu haplotypów z zaznaczającą się przewagą H2.

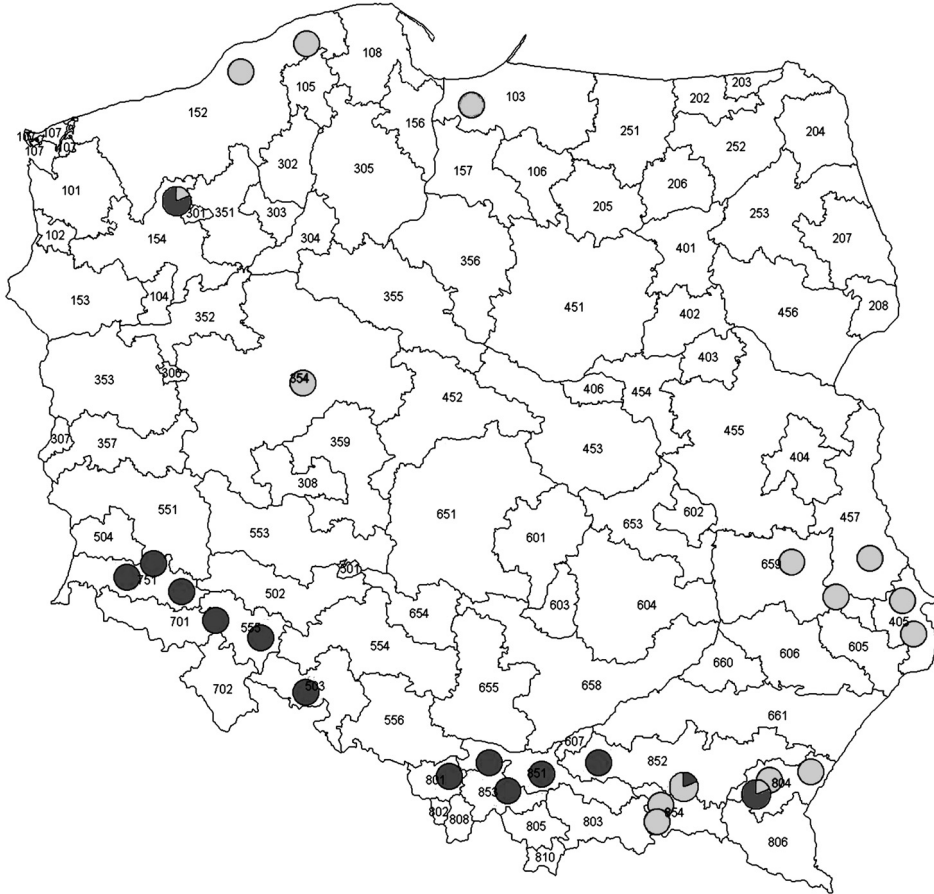
Trzy spośród 6 analizowanych loci mikrosatelitarnych cechowała wysoka wartość polimorfizmu. Locus EMPaS18 był dla wszystkich populacji monomorficzny. Dla startera EMPaS15 nie otrzymano produktów amplifikacji. Liczbę alleli w locus (N_a), heterozygotyczność oczekiwaną (H_o) i obserwowaną (H_e) dla poszczególnych loci przedstawiono w tabeli 2. Wszystkie analizowane loci miały zbliżone wartości heterozygotyczności przy średniej liczbie alleli w locus równej 11,6. Najwyższe wartości współczynników zróżnicowania genetycznego otrzymano dla populacji z Przedgórze i Pogórze Sudeckiego ($H_o=0,633$). Spośród wszystkich badanych drzewostanów najmniej zróżnicowane genetycznie były populacje z Pogórze Środkowobeskidzkiego

Tabela 2.

Wybrane parametry genetyczne analizowanych loci mikrosatelitarnych
Selected genetic parameters for the analysed microsatellites loci

Locus	Wielkość alleli (pz)	N_a	N_e	PIC %	H_o	H_e	FST	FIT
EMPaS02	103-165	11,00	4,48	75,60	0,758	0,78	0,186	0,065
EMPaS05	120-191	13,00	4,79	79,03	0,770	0,80	0,161	0,032
EMPaS06	141-224	11,00	4,58	77,32	0,746	0,79	0,143	0,073

($H_o=0,500$) (tab. 3). Dla wszystkich polimorficznych loci wyznaczono allele najczęściej występujące w badanych populacjach i allele rzadkie. Allel 139 pz dla locus EMPaS02 pojawiał się najczęściej we wszystkich drzewostanach z wyjątkiem centrum II i IV, w których najliczniej



Ryc.

Udział haplotypów H1 (ciemny) i H2 (jasny) w badanych populacjach *P. avium* na podstawie analiz chloroplastowego DNA na tle regionów pochodzenia leśnego materiału rozmnożeniowego w Polsce
H1 (dark) and H2 (light) haplotype distribution in the *Prunus avium* studied populations on the basis of chloroplast DNA analyse in regions of origin forest reproductive material in Poland

Tabela 3.

Wybrane parametry genetyczne analizowanych populacji *Prunus avium*
Selected genetic parameters for the analysed populations of *Prunus avium*

Centrum	Na	Ne	Ho	He
I. Wyżyna Lubelska	4,75	2,78	0,536	0,528
II. Pogórze Środkowobeskidzkie	4,50	2,77	0,500	0,512
III. Beskidy Zachodnie	3,25	2,46	0,604	0,493
IV. Przedgórze i Pogórze Sudeckie	5,25	2,53	0,633	0,500
V. Poza zasięgiem	5,75	3,45	0,550	0,569

Tabela 4.

Dystrybucja alleli analizowanych loci mikrosatelitarnych w wyznaczonych centrach występowania czereśni ptasiej

Alleles distribution at the analysed microsatellites loci in the separated centers of wild cherry occurrence

Locus/ Allel	Centrum I Wyżyna Lubelska	Centrum II Pogórze Środkowo- beskidzkie	Centrum III Beskidy Zachodnie	Centrum IV Przedgórze i Pogórze Sudeckie	Centrum V Poza zasięgiem
EMPaS02					
103 pz	–	–	–	–	–
107 pz	0,071	–	–	–	–
109 pz	0,071	–	–	–	–
111 pz	–	–	–	0,053	–
134 pz	0,071	0,154	–	0,158	0,067
137 pz	0,143	0,115	–	0,026	0,033
139 pz	0,500	0,038	0,375	0,210	0,467
141 pz	–	0,154	0,250	–	0,200
143 pz	–	0,423	0,375	0,552	0,133
147 pz	0,143	0,115	–	–	0,033
161 pz	–	–	–	–	0,033
165 pz	–	–	–	–	0,033
EMPaS05					
120 pz	0,071	–	–	0,026	–
124 pz	0,071	–	–	0,026	–
160 pz	0,500	0,154	0,333	0,132	0,100
162 pz	0,071	0,615	0,167	0,447	0,133
168 pz	0,071	0,195	–	0,052	0,233
170 pz	0,071	–	0,389	0,263	0,300
176 pz	–	–	–	–	0,033
178 pz	–	–	0,056	–	–
183 pz	–	–	0,056	–	–
185 pz	–	–	–	–	0,033
187 pz	–	–	–	0,026	0,033
189 pz	0,143	0,038	–	0,026	–
191 pz	–	–	–	–	0,133
EMPaS06					
141 pz	0,143	–	–	0,026	–
149 pz	–	–	–	0,026	–
151 pz	–	–	–	–	–
197 pz	–	–	–	–	0,067
201 pz	–	0,192	–	–	–
203 pz	0,357	0,153	–	0,026	0,300
205 pz	0,071	0,423	0,556	0,421	0,067
207 pz	–	0,038	–	0,026	0,033
209 pz	–	0,038	0,056	–	–
218 pz	0,357	0,115	0,222	0,368	0,300
220 pz	–	0,038	0,167	0,105	0,233
224 pz	0,071	–	–	–	–

pojawiał się allel 143 pz. Podobnie dla pozostałych loci EMPaS05 i EMPaS06 zidentyfikowano allele dominujące w wyznaczonym centrach występowania, które wskazują na podobieństwa między populacjami (tab. 4).

Dyskusja

Badania struktury populacji i zróżnicowania genetycznego są kluczowe dla ochrony i strategii zarządzania zasobami genetycznymi gatunków. Prezentowane wyniki są pionierskie dla polskich populacji czereśni ptasiej. W badaniach nad zróżnicowaniem genetycznym wykorzystano markery chloroplastowe i jądrowe, które różnią się sposobem dziedziczenia i tempem mutacji. Chloroplastowe DNA (cpDNA) u roślin okrytozalążkowych dziedziczone jest w linii matecznej [Brettin i in. 2000] i wykorzystywane jest zwłaszcza w badaniach filogenetycznych ze względu na wysoki stopień konserwatywności genomu chloroplastowego. Markery te posłużyły do analizy struktury populacji i zależności ewolucyjnych między nimi. Zidentyfikowano dwa haplotypy. Haplotyp H2, występujący najczęściej wśród badanych populacji, obecny był w populacjach zlokalizowanych na Wyżynie Lubelskiej oraz Przedgórzu Środkowobeskidzkim. Zidentyfikowanie tego haplotypu na stanowiskach poza zasięgiem naturalnego występowania czereśni ptasiej może świadczyć o pochodzeniu ich od populacji z Centrum I i/lub II. Na uwagę zasługuje także fakt, że zidentyfikowane typy chloroplastowe różni jedna mutacja. Ta mała różnica nie może więc świadczyć o różnym pochodzeniu badanych populacji, raczej o krótkotrwałym okresie izolacji. Dla czereśni ptasiej Heinz [1999] zidentyfikował trzy haplotypy występujące w Austrii, Słowenii, Słowacji (haplotyp A), Rumunii (haplotyp B) i Turcji (haplotyp C). Spośród zidentyfikowanych haplotypów, A i B charakterystyczne były także dla odmian z otwartych gruntów rolnych i żywo-plotów. Według Heinza [1999] odzwierciedlają one trzy możliwe dla czereśni refugia. Obok bałkańskiego (A) i włoskiego (B) można także wyróżnić trzecie w pobliżu Pirenejów. Z drugiej strony wiadomo, że ponowna imigracja gatunków drzew liściastych po ostatnim zlodowaceniu postępowała znacznie dalej na zachód niż sugeruje to dystrybucja typu B. Drzewa *P. avium* zidentyfikowane w Austrii jako typ B mogą pochodzić z gruntów rolnych. Odmiany typu B są prawdopodobnie potomkami w linii matecznej od starożytnych odmian pochodzących z południa Bałkanów i obszaru Wschodniej Azji. Obszar ten był legendarnym źródłem czereśni wprowadzonych 2000 lat temu do Rzymu, a następnie dalej do Europy Środkowej, głównie przez szczepienia. Typ ten mógł dalej rozprzestrzeniać się przez sporadyczne sukcesy rozmnażania z nasion. Niestety, analizowane w naszych badaniach inne regiony chloroplastowego DNA nie pozwalają na bezpośrednie porównanie tych danych.

Panda [2003] badał zróżnicowanie genetyczne cpDNA czereśni ptasiej na podstawie starterów uniwersalnych (K1K2, CD, DT, VL, HK) metodą PCR-RFLP z 23 populacji z Europy (W. Brytania, Szwecja, Niemcy, Francja, Hiszpania, Włochy, Chorwacja, Rumunia, Słowacja i Grecja) oraz drzew odmian hodowlanych. Kombinacje starterów i enzymów były identyczne jak w naszych analizach i wszystkie okazały się polimorficzne, z wyjątkiem HK-*Taq I*. Kombinacje VL-*Alu I*, VL-*Hinf I* oraz VL-*Taq I* pozwalały odróżnić populacje dzikie i odmiany hodowlane. Były one monomorficzne dla wszystkich odmian hodowlanych, zaś polimorficzne dla dziko rosnących drzew. Dla formy dzikiej wyróżniono 16 haplotypów, spośród których 3 (H3, H4, H5) były wspólne dla hodowlanych odmian czereśni, a 13 było haplotypami charakterystycznymi tylko dla populacjach dzikich. Wspólne haplotypy H3 i H4 były najczęściej występującymi typami chloroplastowymi wśród wszystkich badanych drzew o największym zasięgu geograficznym (H3 obecny u 43 spośród 96 odmian i w 21 na 23 populacje, H4 obecny u 40 z 96 odmian

i w 10 populacjach z 23). Haplotyp H5 (14 drzew spośród 211 w 5 na 23 populacje) był reprezentowany w populacjach greckich oraz sporadycznie w Szwecji, Niemczech i Rumunii [Mohanty i in. 2001]. Polimorficzny fragment o wielkości 410 pz dla kombinacji *DT-Taq I* był obecny tylko u osobników dzikich. Większość zidentyfikowanych mutacji miała charakter insercji lub delecji krótkich fragmentów DNA. Mutacje te w polimorficznych fragmentach łączyły się z określonymi haplotypami. Dla *P. avium* ze stanowisk naturalnych zidentyfikowano mutację punktową dla *VL-Taq I*. Występowanie wspólnego haplotypu dla odmian hodowlanych i drzew dziko rosnących świadczy o pochodzeniu od wspólnego przodka w linii matecznej, gdyż cpDNA dziedziczy się u czereśni matecznie [Heinze, 1999].

Następne analizy z wykorzystaniem markerów o wyższym polimorfizmie (SSR) pokazały w obrębie wyznaczonych haplotypów inne szczegóły. Analiza częstości poszczególnych alleli w trzech polimorficznych loci potwierdziła podobieństwo między stanowiskami czereśni ptasiej poza zasięgiem a populacją z Nadleśnictwa Chełm (frekwencja allelu 139 pz dla locus EMPaS02 najczęściej pojawiającego się w obu centrach). Podobnie dla pozostałych loci EMPaS05 i EMPaS06 zidentyfikowano allele dominujące w wyznaczonym centrum występowania, które wskazały podobieństwa między populacjami.

Ponieważ dość powszechne uprawy czereśni mogły doprowadzić do krzyżowania się między gatunkami dzikimi i odmianami uprawnymi, problematyczne jest określenie, czy dany okaz można uznać za dziki, czy też już tylko za zdziczały i zawleczony do lasu. Badania prowadzone przez badaczy włoskich nad zróżnicowaniem genetycznym *P. avium* w 5 naturalnie występujących populacjach tego gatunku na terenie Włoch, Słowenii i Chorwacji oraz 87 odmian hodowlanych wykazały, że marker EMPaS06 był dla populacji dzikich monomorficzny i dla tych populacji zidentyfikowano dwa allele: 203 lub 219. Dla analizowanych polskich populacji czereśni ptasiej locus EMPaS06 był w większości przypadków polimorficzny i oznaczono dla niego 7 alleli (201, 203, 205, 207, 209 oraz 218, 220). Analiza dystrybucji tych alleli wskazuje, że allele 203 pz i 218 pz są najczęstszymi w populacjach Wyżyny Lubelskiej i populacjach spoza zasięgu. W populacjach z pozostałych nadleśnictw najliczniej występuje allel 205 pz. Jako nieliczne zidentyfikowano osobniki o alleleach odmiennych 198/198 – Czerniejewo, 142/142 – Chełm, 142/150 – Prudnik. Nie są to jednak wystarczające dane, aby móc ostatecznie określić, czy mamy do czynienia z formami czystymi *P. avium*, czy są to formy zdziczałe.

Porównując otrzymane parametry genetyczne, m.in. liczbę alleli, heterozygotyczność dla badanych populacji czereśni ptasiej z innymi gatunkami drzew leśnych (np. dąb 11-33 alleli, $H=0,836$ [Degen i in. 1999]), wartości te są niższe. Podobne obserwacje odnotował Mohanty i in. [2001], Panda i in. [2003] oraz Schueler i in. [2003]. Ten spójny wynik może być związany z biologią gatunku. Austerlitz i in. [2000] rozważa długość okresu juvenilnego jako czynnika, który znacząco wpływa na zróżnicowanie genetyczne.

Obok zapyłania przez owady, czereśnia ptasia ma także zdolność rozmnażania wegetatywnego przez odrośle korzeniowe [Frascaria i in. 1993]. Podawane w literaturze informacje może potwierdzać fakt znalezienia drzew rosnących w sąsiedztwie o identycznych genotypach. W populacjach z Jawora (5 drzew), Brzeska (4 drzewa), Prudnika (2 drzewa) i Czerniejewa (2 drzewa) zidentyfikowano pary drzew z identycznym genotypem we wszystkich analizowanych loci. Dodatkowa analiza przepływu genów przez pyłek, nasiona i odrośle w tych populacjach, przyczyniłaby się do wyjaśnienia procesów demograficznych, kształtujących pulę genową. Podjęte zatem badania nad zróżnicowaniem genetycznym *P. avium* w Polsce wymagają kontynuacji, aby wyjaśnić kwestie, które ujawniły przeprowadzone analizy.

Wnioski

- ✦ Rozmieszczenie geograficzne haplotypów H1 i H2 podzieliło polskie populacje czereśni ptasiej na dwie grupy. Pierwsza obejmująca Przedgórze i Pogórze Sudeckie oraz Beskidy Zachodnie z udziałem haplotypu H1 i druga z populacjami z Wyżyny Lubelsko-Lwowskiej i Pogórza Środkowobeskidzkiego oraz populacjami spoza zasięgu z przeważającym udziałem haplotypu H2.
- ✦ Dystrybucja haplotypów H1 i H2 oraz częstości alleli w trzech loci mikrosatelitarnych mogą świadczyć o pochodzeniu czereśni ptasiej na stanowiskach poza zasięgiem naturalnego występowania od populacji z Wyżyny Lubelsko-Lwowskiej i/lub Pogórza Środkowobeskidzkiego.
- ✦ Analizowane wskaźniki zróżnicowania genetycznego pozwalają stwierdzić, że zróżnicowanie *P. avium* wewnątrz populacji jest wyższe niż między populacjami.
- ✦ W analizowanych populacjach najwyższy poziom zróżnicowania genetycznego odnotowano dla drzewostanów z Przedgórze i Pogórza Sudeckiego.
- ✦ W przypadku analizowanych drzewostanów z udziałem czereśni ptasiej nie można w sposób jednoznaczny określić, czy mamy do czynienia z formami czystymi *P. avium*, czy są to formy zdziczałe. Istnieje konieczność kontynuowania analiz w celu opracowania metody oceny przynależności drzew do gatunku *P. avium*.

Literatura

- Austerlitz F., Mariette S., Machon N., Gouyon P., Godelle B. 2000. Effects of colonization processes on genetic diversity: Differences between annual plants and tree species. *Genetics* 154: 1309-1321.
- Bilger J. 2001. Wild cherry. W: Teissier du Cros E. [red.]. *Forest genetic resources management and conservation. France as a case study*. Ministry of Agriculture and Fisheries, Bureau of Genetic Resources, Commission of Forest Genetic Resources. INRA DIC, Paris. 50-51.
- Boratynska K. 1990. Nasze drzewa leśne 18: Dzikie drzewa owocowe. *Cerasus avium* (L.) Moench, *Pyrus communis* L., *Malus sylvestris* (L.) Miller. Instytut Dendrologii PAN, Poznań. 63-95.
- Brettin T. S., Karle R., Crowe E. L. 2000. Chloroplast inheritance and DNA variation in sweet, sour and ground cherry. *Journal of Heredity* 91: 75-79.
- Degen B., Streiff R., Ziegenhagen B. 1999. Comparative study of genetic variation and differentiation of two pedunculate oak (*Quercus robur*) stands using microsatellite and allozyme loci. *Heredity* 83: 597-603.
- Demasure B., Sodji N., Petit R. J. 1995. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Molecular Ecology* 4: 129-131.
- Dumolin-Lapegue S., Pemonge M. H., Petit R. J. 1997. An enlarged set of consensus primers for the study of organelle DNA in plants. *Molecular Ecology* 6: 393-397.
- Frascaria N., Santi F., Gouyon P. H. 1993. Genetic differentiation within and among populations of chestnut and wild cherry. *Heredity* 70: 634-641.
- Heinz B. 1999. Molecular genetic investigation in wild and cultivated *Prunus avium* in Austria and beyond. International Congress: Applications of Biotechnology to Forest Genetics. 22-25 September. Victoria-Gasteiz, Spain. 77-80.
- Karczmarek J. 2007. Niedoceniana trześnia. *Las Polski* 4: 20.
- Kobliha J. 2002. Wild cherry (*Prunus avium* L.) breeding program aimed at the use of this tree in the Czech forestry. *Journal of Forest Science* 48 (5): 202-218.
- Mohanty A., Martin J. P., Aguinalgalde I. 2001. A population genetic analysis of chloroplast DNA in wild populations of *Prunus avium* L. in Europe. *Heredity* 87: 421-427.
- Panda S., Martin J. P., Mohanty A. 2003. Chloroplast DNA variation in cultivated and wild *Prunus avium* L.: a comparative study. *Plant Breeding* 122: 92-94.
- Russel K. 2003. EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for wild cherry. International Plant Genetic Resources Institute. Roma: 6.
- Schueler S., Tusch A., Schuster M., Ziegenhagen B. 2003. Characterization of microsatellites in wild and sweet cherry (*Prunus avium* L.) – markers for individual identification and reproductive processes. *Genome* 46: 95-102.
- Vaughan S. P., Russell K. 2004. Characterization of novel microsatellites and development of multiplex PCR for large-scale population studies in wild cherry, *Prunus avium*. *Molecular Ecology Notes* 4:429-431.

- Wünsch A., Hormaza J. I. 2002. Molecular characterisation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) genotypes using peach (*Prunus persica* L.) SSR sequences. *Heredity* 89: 56-63.
- Zajączkowski K., Zajączkowski G. 2008. Występowanie czereśni ptasiej (*Cerasus avium*) na terenach Lasów Państwowych. *Leśne Prace Badawcze* 69 (3): 211-223.

SUMMARY

Genetic diversity of wild cherry (*Prunus avium* L.) in Poland

Studies of population structure and genetic diversity are essential for the conservation and management strategies of the genetic resources of any species. The role of wild fruit trees in forest management is often overlooked. Natural range of wild cherry (*Prunus avium* L.), runs along the lines of Zielona Góra, Ostrów Wielkopolski, Częstochowa, Lubartów, Chełm. The biggest resources of wild cherry are concentrated in the southern Poland. In the northern and western wild cherry tree stands occur in many separate clusters, which seems to confirm the opinion that there has been artificially introduced. To clarify the issues of doubt, it is necessary to conduct an adequate genetic studies using molecular genetics methods. The RFLP and PCR-SSR techniques were used to determine the genetic variability of wild cherry populations. Chloroplast DNA variation was assessed and two haplotypes were identified. Distribution of this haplotypes distinguished populations of a two groups. Haplotype H1 was present in 11 of the 27 populations and H2 in 16 populations (Fig. 1). There were also carried out an analysis of microsatellite variability in 3 regions of nuclear DNA. Distribution of H1 and H2 haplotypes and allele frequencies at three microsatellite loci may indicate the origin of wild cherry in positions beyond the reach of the natural occurrence from the population of the Lublin Upland and/or Central Beskid Foothills. Analysis of the frequency of each allele in the three polymorphic loci confirmed the similarity between the positions of wild cherry and populations beyond the reach of Forest division Chełm. All analyzed loci have similar values of heterozygosity and the average number of alleles per locus amounted 11.6. The highest value of genetic diversity were obtained for the population from the Sudety Foothills ($H_o=0.633$).