

ELŻBIETA CHOMICZ-ZEGAR, JUSTYNA A. NOWAKOWSKA

Zmienność genetyczna dolnoreglowych drzewostanów bukowych o charakterze pierwotnym w porównaniu z drzewostanami zagospodarowanymi*

Genetic diversity in the lower mountain zone beech forest stands of a primeval character in comparison with managed stands

ABSTRACT

Chomicz-Zegar E., Nowakowska J. A. 2021. Zmienność genetyczna dolnoreglowych drzewostanów bukowych o charakterze pierwotnym w porównaniu z drzewostanami zagospodarowanymi. Sylwan 165 (2): 126-135. DOI: <https://doi.org/10.26202/sylvan.2020123>.

The aim of the study was to recognize genetic variability in selected beech (*Fagus sylvatica* L.) stands of the primeval character from the mountain areas of Poland. Research was conducted in three locations: Beskid Żywiecki, Beskid Sądecki and Bieszczady (S Poland). In each of them, two beech populations were selected: one in the nature reserve and the other in the managed forest (and was considered as a reference). Principal genetic parameters of each population were determined using four highly polymorphic microsatellite loci (FS1-03, FS1-25, mcf5, mcf11). In general, high genetic diversity was found in all studied populations (H_E : 0.753-0.845). Mean (per three location) allelic richness, effective number of alleles, observed and expected heterozygosity was higher in nature reserves (14.173, 5.591, 0.674 and 0.806, respectively) than in the managed stands (13.976, 5.233, 0.653 and 0.776, respectively). Average inbreeding coefficient was higher in managed forests than in nature reserves (0.162 vs. 0.156). However, none of these differences was statistically significant ($p > 0.05$). It seems that higher inbreeding of forest tree population should be associated not so much with the naturalness of the stand, but with its structure and density.

KEY WORDS

Fagus sylvatica, genetic variation, microsatellites, primeval forests, shelterwood system

ADDRESSES

Elżbieta Chomicz-Zegar ⁽¹⁾ – e-mail: E.Chomicz@ibles.waw.pl
Justyna A. Nowakowska ⁽²⁾

⁽¹⁾ Zakład Lasów Górskich, Instytut Badawczy Leśnictwa; ul. Fredry 39, 30-605 Kraków

⁽²⁾ Zakład Genetyki i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego; ul. Wóycickiego 1/3, 01-938 Warszawa

Wstęp

Las pierwotny stanowi dynamicznie zrównoważony ekosystem leśny rozwijający się poza bezpośrednim i pośrednim wpływem działalności człowieka [Jaworski 1997]. Rządzą nim jedynie prawa przyrody. Jego skład gatunkowy, budowa, struktura, wzrost i pozostałe procesy życiowe są uwarun-

*Badania zostały sfinansowane przez MNiSW w ramach tematu statutowego IBL (nr 240508).

kowane właściwościami środowiska. W Polsce, głównie w górach, istnieją kompleksy leśne (np. w Bieszczadach, na Babiej Górze, w Tatrach i Gorcach), w których człowiek nie użytkował drzewostanów lub co najwyżej wycinał pojedyncze drzewa. Lasy te uległy jednak zmianom w wyniku pośredniego wpływu człowieka (m.in. imisje, zakłócenia stosunków wodnych), stąd proponuje się je nazywać „lasami o charakterze pierwotnym” [Jaworski 1997].

Poznanie ekosystemów leśnych rządzonych głównie prawami przyrody, a następnie wykorzystanie tej wiedzy w lasach zagospodarowanych jest podstawą doskonalenia naturalnego kierunku hodowli lasu [Chodzicki 1976]. Dolnoregłowe lasy o charakterze pierwotnym zostały szeroko opisane w zakresie budowy, struktury i dynamiki drzewostanów [Szwagrzyk i in. 1995; Jaworski, Paluch 2001; Jaworski i in. 2002, 2006], jednocześnie struktura genetyczna tych populacji pozostaje nieznana.

W populacjach drzew leśnych wysoki stopień zmienności genetycznej oznacza na ogół większe możliwości adaptacji do zmieniających się warunków środowiska przyrodniczego, co warunkuje stabilność i trwałość lasu. Pierwotny skład genetyczny istniejących populacji, warunkowany historią gatunku w okresie zlodowaceń, kształtowany jest przez naturalne procesy ewolucyjne (dobór naturalny, dryf genetyczny, przepływ genów), jak również pośrednią i bezpośrednią działalność człowieka (w tym planowo wykonywane zabiegi hodowlane). Hipoteza o pozytywnej korelacji pomiędzy naturalnością drzewostanu a jego zmiennością genetyczną nie znajduje potwierdzenia w wynikach badań [Wehenkel i in. 2009]. Co więcej, niektórzy autorzy sugerują występowanie wyższej wsobności w drzewostanach wyłączonych z użytkowania aniżeli w zagospodarowanych [Neale, Adams 1985; Buiteveld i in. 2007; Wang i in. 2010; Chomicz-Zegar i in. 2015].

Buk zwyczajny (*Fagus sylvatica* L.) należy do głównych gatunków lasotwórczych w regionach górskich w Polsce. Badania dotyczące zmienności genetycznej buka na poziomie molekularnym były prowadzone najczęściej z zastosowaniem izoenzymów. Zmienność buka w zakresie markerów izoenzymowych została szeroko opisana zarówno w skali Polski [Sułkowska i in. 2012], jak i całego regionu Karpat [Gömöry i in. 2003]. Markery DNA, przede wszystkim markery mikrosatelitarne, były z kolei stosowane w badaniu przestrzennej struktury genetycznej [Vornam i in. 2004; Jump, Peñuelas 2007] oraz przepływu genów [Chybicki i in. 2009; Oddou-Muratorio i in. 2010] w populacjach buka. Markery SSR zastosowano także do badania wpływu gospodarki leśnej na zmienność genetyczną drzewostanów bukowych [Buiteveld i in. 2007; Pafetti i in. 2012; Piotti i in. 2012; Rajendra i in. 2014].

Celem badań było rozpoznanie zakresu zmienności genetycznej w drzewostanach bukowych o charakterze pierwotnym w wybranych rezerwach z terenów górskich Polski. Referencją dla populacji objętych ochroną rezerwatową były drzewostany gospodarcze, w których przeprowadzono analogiczne analizy genetyczne. Badania pozwoliły stwierdzić, czy istnieją istotne różnice w wartościach podstawowych parametrów genetycznych pomiędzy drzewostanami bukowymi o charakterze pierwotnym a zagospodarowanymi.

Material i metody

OBIEKT BADAŃ. Badania prowadzono w trzech lokalizacjach: Beskid Żywiecki, Beskid Sądecki i Bieszczady. W każdej z nich wybrano po 2 drzewostany bukowe, które różniły się sposobem zagospodarowania. Pierwszy reprezentował drzewostany o charakterze pierwotnym, stanowiące pozostałość dawnej Puszczy Karpackiej, wyłączone z użytkowania i objęte ochroną w formie rezerwatów. Drugi to drzewostan gospodarczy zagospodarowany rębnią stopniową gniazdową udoskonaloną (IVd), znajdujący się w klasie odnowienia. Obiekty badawcze zostały wybrane w ten sposób, żeby poszczególne pary: drzewostan zagospodarowany – drzewostan wyłączony z użytkowania (łącznie 3 pary), znajdowały się w niedalekim sąsiedztwie.

Tabela 1.

Lokalizacja oraz charakterystyka badanych drzewostanów
Location and characteristic of studied forest stands

Lokalizacja Location	Populacja Population	Kod Code	Sposób zagospodarowania Management regime	Współrzędne Coordinates	Wysokość [m n.p.m.] Elevation [m a.s.l.]	Wiek [lata] Age [years]
Beskid Żywiecki	Żarnówka	RZ	obszar ochrony ścisłej, PN strict reserve	49,592258°N 19,554964°E	940-1010	80-230
	Lachowice	GZ	gospodarczy, rębnia IVd, KO managed forest	49,681228°N 19,451871°E	740-840	120
Beskid Sądecki	Lembarczek	RS	rezerwat częściowy partial reserve	49,445593°N 20,840956°E	650-900	75-175
	Runek	GS	gospodarczy, rębnia IVd, KO managed forest	49,448406°N 20,826223°E	600-800	90-150
Bieszczady	Tworylczyk	RB	obszar ochrony ścisłej, PN strict reserve	49,233814°N 22,482810°E	740-1100	do 350
	Nasiczne	GB	gospodarczy, rębnia IVd, KO managed forest	49,196374°N 22,588762°E	820-980	50-150

PN – park narodowy, KO – klasa odnowienia
PN – national park, KO – renewal class

Drzewostan o charakterze pierwotnym na terenie Beskidu Żywieckiego to objęty ochroną ścisłą las pomiędzy Mokrym Stawkiem a Halą Żarnówka (zwany też Rezerwatem Żarnówka) na terenie Babiogórskiego Parku Narodowego. Obszar ochrony ścisłej obejmuje 35 ha położonego w reglu dolnym lasu o charakterze naturalnym. Obszar jest objęty ścisłą ochroną od 1934 roku: początkowo w formie rezerwatu, a następnie – od 1954 roku – jako część Babiogórskiego Parku Narodowego. Główne gatunki tworzące drzewostan to buk, jodła i świerk. Rozpiętość wieku drzew w warstwie drzewostanu głównego i podrzędnego na powierzchni 1 ha położonej w centralnej części rezerwatu wahała się od około 80 do ponad 230 lat [Szwagrzyk i in. 1995]. Z kolei drzewostan gospodarczy zlokalizowany był w Nadleśnictwie Sucha, leśnictwie Lachowice, w wydzielaniu 277f o powierzchni 7,80 ha. Charakteryzował się on zwarciem przerywanym. Warstwę drzew tworzył buk w wieku 120 lat.

Objęte badaniami drzewostany w Beskidzie Sądeckim znajdowały się na terenie Nadleśnictwa Piwniczna, w niewielkiej odległości od siebie (w obrębie jednego leśnictwa). Jako obiekt wyłączony z użytkowania został wybrany jodłowo-bukowy drzewostan o charakterze naturalnym, tworzący Rezerwat Lembarczek (leśnictwo Runek, wydzielania 63a i 64a). Rezerwat, utworzony w 1985 roku na powierzchni 47,16 ha, był położony na stromych stokach masywu Lembarczka (917 m n.p.m.). Drzewostan budowały buk i jodła, miejscami występował także jawor. Wiek buków tworzących warstwę drzew mieścił się w zakresie 75-175 lat. Drzewostan gospodarczy zlokalizowany był na terenie leśnictwa Runek, w wydzielaniach 66a (powierzchnia 17,59 ha) oraz 67a (21,39 ha). Charakteryzował się umiarkowanym zwarciem. Warstwę drzew tworzyły buk i jodła w wieku 90-150 lat.

W Bieszczadach badania przeprowadzono w litej buczynie o charakterze pierwotnym, rosnącej w Dolinie Tworylczyka, w Bieszczadzkim Parku Narodowym. Obszar ochrony ścisłej obejmuje całą Dolinę Tworylczyka, czyli około 300 ha. Las w Dolinie Tworylczyka został objęty ochroną w 1980 roku jako rezerwat Puszcza Bukowa nad Sanem, a następnie w 1991 roku włączono go do Bieszczadzkiego Parku Narodowego. Buczyna w Dolinie Tworylczyka stanowi starodrzew o zróżnicowanym wieku [Kucharzyk 2008]. Maksymalny stwierdzony dotąd wiek buka w Bieszczadzkim Parku Narodowym to około 350 lat (E. Muter, informacja ustna). Jako drzewostan gospodarczy wybrany został jodłowo-bukowy drzewostan w Nadleśnictwie Lutowiska, leśnictwie Nasiczne, w wydzielaniu 36b, o powierzchni 62,65 ha. Drzewostan charakteryzował się luźnym zwiarcem. Wiek buków tworzących warstwę drzew mieścił się w zakresie 50-150 lat.

BADANIA MOLEKULARNE. W każdym drzewostanie z 50 buków pobrano świdrem Presslera krótkie wywierty (3-5 cm) do analiz DNA. Osobniki do analiz genetycznych wybierano w taki sposób, żeby odległość pomiędzy kolejnymi drzewami była nie mniejsza niż 30 m – w celu uniknięcia zbioru prób z osobników stanowiących półrodzeństwo [Vornam i in. 2004]. Lokalizację kolejnych drzew przeznaczonych do zbioru wyznaczano za pomocą odbiornika GPS, tak aby otrzymać możliwie regularną siatkę.

Izolację DNA z drewna i łyka wykonano za pomocą zestawu NucleoSpin Plant II firmy Macherey-Nagel (Genomic DNA from plant, Düren, Niemcy). Zmienność genetyczną populacji określono na podstawie analizy polimorfizmu sekwencji mikrosatelitarnych (SSR) DNA jądrowego przy zastosowaniu 4 loci: FS1-25, FS1-03, mcf 5 i mcf 11 [Pastorelli i in. 2003; Vornam i in. 2004]. Amplifikację DNA prowadzono w 10 μ l mieszaniny reakcyjnej z zastosowaniem zestawu QIAGEN Multiplex PCR Kit. W pojedynczej reakcji multiplex PCR amplifikowano jednocześnie 4 loci, zgodnie z procedurą podaną przez producenta (QIAGEN Multiplex, USA). Produkty PCR zostały rozdzielone elektroforetycznie w żelu poliakrylamidowym o stężeniu 7% w sekwenatorze kapilarnym CEQ 8000 firmy Beckman-Coulter (USA). Wielkość powielonych fragmentów mikrosatelitarnego DNA w parach zasad (pz) odczytano za pomocą oprogramowania CEQ 8000 Series Genetic Analysis System Software v 9.0 (Beckman-Coulter, USA).

Na podstawie danych otrzymanych z sekwenatora określono liczbę oraz frekwencję alleli w poszczególnych loci SSR. Dla każdej populacji określono liczbę alleli rzadkich (występujących z frekwencją mniejszą lub równą 1%) oraz alleli prywatnych (obecnych tylko w danej populacji). Dla każdego locus i każdej populacji oszacowano także frekwencję alleli zerowych metodą największego prawdopodobieństwa według algorytmu EM w programie Genepop 4.3 [Rousset 2008].

W programie Fstat wersja 2.9.3.2 [Goudet 1995] obliczono bogactwo alleliczne AR , współczynnik wsobności F_{IS} oraz określono odstępstwo od równowagi Hardy’ego-Weinberga w każdej próbie. W programie GenAlEx [Peakall, Smouse 2012] obliczono efektywną liczbę alleli na locus A_E , heterozygotyczność obserwowaną H_O i heterozygotyczność oczekiwaną H_E , stosując estymację nieobciążoną według Nei’a [1978], oraz wykonano analizę głównych współrzędnych (PCoA, Principal Coordinate Analysis) na podstawie maczy kowariancji wystandaryzowanych odległości genetycznych Nei’a i Li [1979].

Wymienione parametry zmienności genetycznej populacji określone w drzewostanach o charakterze pierwotnym porównano z odpowiednimi parametrami w drzewostanach gospodarczych za pomocą testu t-Studenta dla dwóch prób niezależnych w programie Statistica 9.0. (StatSoft, Inc.).

Wyniki

FREKWENCJA ALLELI. Badane loci mikrosatelitarne cechowały się dużym polimorfizmem. We wszystkich 4 loci stwierdzono od 109 alleli w populacji Żarnówka do 113 alleli w populacjach Tworyl-

czyk i Nasiczne. Sumaryczna liczba alleli w populacji była podobna w rezerwatach (109 alleli w populacji RZ, RS – 111, RB – 113 alleli) i w drzewostanach gospodarczych (GZ – 112, GS – 112, GB – 113 alleli).

W drzewostanach gospodarczych odnotowano więcej alleli rzadkich (GZ – 19, GS – 8, GB – 17 alleli) oraz częstsze występowanie alleli prywatnych (GZ – 2, GS – 5, GB – 1 allel) aniżeli w rezerwatach (allele rzadkie: RZ – 12, RS – 4, RB – 10; allele prywatne: RZ – 1, RS – brak, RB – 1).

Najwięcej alleli zerowych stwierdzono w locus FS1-25 (12%), a najmniej w locus FS1-03 (3%). Średnia liczba alleli zerowych dla 4 loci wynosiła 8%.

ZMIENNOŚĆ GENETYCZNA. Badane drzewostany charakteryzowały się generalnie wysoką zmiennością genetyczną. Heterozygotyczność oczekiwana przyjmowała wartości od 0,753 w populacji Lachowice do 0,845 w populacji Żarnówka (tab. 2).

W drzewostanach z Beskidu Żywieckiego i Bieszczadów różnorodność alleliczna, efektywna liczba alleli oraz heterozygotyczność oczekiwana były wyższe w drzewostanie objętym ochroną rezerwatową (w populacji Żarnówka: $AR=14,738$, $A_E=6,442$, $H_E=0,845$; w populacji Tworylczyk odpowiednio: 13,753, 5,634, 0,793; tab. 2) aniżeli w gospodarczym (w populacji Lachowice: $AR=13,040$, $A_E=5,881$, $H_E=0,753$; w populacji Nasiczne odpowiednio: 13,753, 4,945, 0,779; tab. 2). Odwrotną sytuację zaobserwowano w przypadku drzewostanów z Beskidu Sądeckiego, gdzie wymienione parametry były wyższe w drzewostanie gospodarczym (w populacji Runek: $AR=15,136$, $A_E=4,874$, $H_E=0,797$; w populacji Lembarczek odpowiednio: 13,981, 4,697, 0,780; tab. 2).

We wszystkich drzewostanach heterozygotyczność obserwowana (H_O) była niższa od oczekiwanej, stąd w obu populacjach i obu pokoleniach stwierdzono istotnie dodatnią wartość współczynnika wsobności (F_{IS}). Przyjmował on wartości od 0,083 w populacji Nasiczne do 0,225 w populacji Lachowice (tab. 2). W drzewostanach z Beskidu Żywieckiego i Bieszczadów współczynnik wsobności był nieznacznie niższy w rezerwatach (w populacji Żarnówka $F_{IS}=0,223$, w populacji Tworylczyk $F_{IS}=0,134$; tab. 2) niż w drzewostanach gospodarczych (w populacji Lachowice $F_{IS}=0,225$, w populacji Nasiczne $F_{IS}=0,083$; tab. 2). W Beskidzie Sądeckim współczynnik wsobności był niższy w drzewostanie zagospodarowanym (w populacji Runek $F_{IS}=0,177$, w populacji Lembarczek $F_{IS}=0,111$; tab. 2).

Średnie dla 3 lokalizacji wartości poszczególnych parametrów zmienności genetycznej były wyższe w drzewostanach o charakterze pierwotnym (w rezerwatach: $AR=14,173$, $A_E=5,591$, $H_O=0,674$, $H_E=0,806$; w drzewostanach gospodarczych odpowiednio: 13,976, 5,233, 0,653, 0,776; tab. 2), natomiast średni współczynnik wsobności był wyższy w drzewostanach gospodarczych (w drzewostanach gospodarczych $F_{IS}=0,162$, w rezerwatach $F_{IS}=0,156$). Analiza statystyczna wykazała jednak, że żadna z tych różnic nie była istotna ($p \geq 0,05$; tab. 2).

Analiza PCoA w układzie dwóch osi (opisujących w pierwszej współrzędnej PC1 – 52,66% i drugiej współrzędnej PC2 – 25,13% całkowitej zmienności genetycznej) wyróżniła dwie grupy populacji reprezentujące zbiory o wysokim podobieństwie genetycznym. Pierwszą grupę stanowiły dwa drzewostany z Bieszczadów, drugą – dwa drzewostany z Beskidu Sądeckiego (ryc.). Populacje z Beskidu Żywieckiego nie tworzyły żadnej grupy spokrewnionej genetycznie i zajmowały osobne pola na diagramie PCoA.

Dyskusja

Badane drzewostany charakteryzowały się generalnie wysokim poziomem zmienności genetycznej. Powszechnie stosowaną miarą zmienności genetycznej populacji jest heterozygotyczność oczekiwana (H_E), interpretowana jako prawdopodobieństwo, że 2 allele losowo wybrane z populacji będą się różnić od siebie [Hartl, Clark 1989]. Heterozygotyczność oczekiwana badanych popu-

Tabela 2.

Różnorodność alleliczna (AR), efektywna liczba alleli na locus (A_E), heterozygotyczność obserwowana (H_O) i oczekiwana według Nei'a (H_E), współczynnik wsobności (F_{IS}) oraz istotność odstępstwa od równowagi Hardy'ego-Weinberga (H-W) drzewostanów w rezerwach (R) i gospodarczych (G)

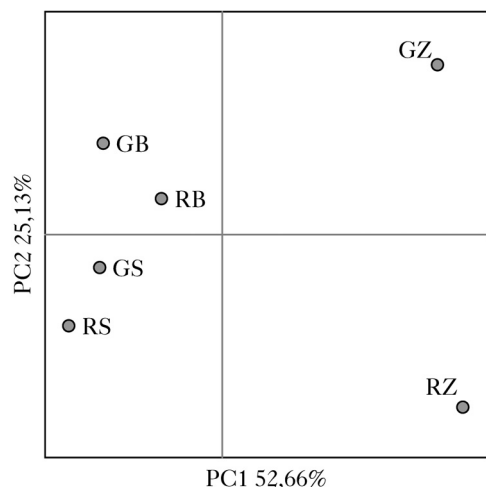
Allelic richness (AR), effective number of alleles per locus (A_E), observed (H_O) and expected heterozygosity according to Nei (H_E), inbreeding coefficient (F_{IS}) and significance of departure from Hardy-Weinberg equilibrium (H-W) for analysed protected (R) and managed (G) stands

	Locus	AR	A_E	H_O	H_E	F_{IS}	H-W
RZ	FS1-03	17,045	6,596	0,800	0,857	0,067	
	mcf5	16,879	6,803	0,760	0,862	0,119	*
	mcf11	9,145	4,327	0,553	0,777	0,29	***
	FS1-25	15,881	8,042	0,521	0,885	0,414	***
	M	14,738	6,442	0,659	0,845	0,223	***
GZ	FS1-03	12,529	2,684	0,612	0,634	0,035	
	mcf5	19,196	11,655	0,780	0,923	0,157	***
	mcf11	6,387	2,430	0,429	0,595	0,281	**
	FS1-25	14,049	6,757	0,521	0,861	0,398	***
	M	13,040	5,881	0,585	0,753	0,225	***
RS	FS1-03	18,786	6,378	0,780	0,852	-0,008	
	mcf5	16,044	5,473	0,689	0,826	0,168	**
	mcf11	8,094	3,329	0,553	0,707	0,22	**
	FS1-25	13,000	3,607	0,676	0,734	0,079	
	M	13,981	4,697	0,675	0,780	0,111	***
GS	FS1-03	18,134	4,642	0,833	0,794	-0,05	
	mcf5	15,855	5,603	0,735	0,830	0,116	*
	mcf11	10,141	3,638	0,388	0,733	0,473	***
	FS1-25	16,413	5,613	0,674	0,831	0,191	**
	M	15,136	4,874	0,657	0,797	0,177	***
RB	FS1-03	17,618	5,203	0,857	0,816	-0,051	
	mcf5	16,014	9,481	0,638	0,904	0,296	***
	mcf11	6,713	2,696	0,689	0,636	-0,084	
	FS1-25	14,851	5,155	0,565	0,815	0,309	***
	M	13,799	5,634	0,687	0,793	0,134	***
GB	FS1-03	16,676	5,482	0,880	0,826	-0,066	
	mcf5	15,727	7,225	0,780	0,870	0,105	*
	mcf11	7,289	2,776	0,580	0,646	0,103	
	FS1-25	15,318	4,296	0,620	0,775	0,202	**
	M	13,753	4,945	0,715	0,779	0,083	***
MR		14,173	5,591	0,674	0,806	0,156	
MG		13,976	5,233	0,653	0,776	0,162	
p(R vs. G)		0,787	0,583	0,615	0,282	0,921	

oznaczenia populacji jak w tabeli 1; * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001
population denotes as in table 1; * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

lacji, określona jako wartość średnia dla 4 loci, mieściła się w zakresie od 0,753 (populacja GZ) do 0,845 (RZ). Podobne wielkości tego parametru uzyskiwali inni autorzy, badając strukturę genetyczną drzewostanów bukowych z zastosowaniem różnych zestawów 4 do 5 loci mikrosatelitarnych: $H_E=0,765$ [Vornam i in. 2004], 0,749-0,868 [Buiteveld i in. 2007], 0,855-0,869 [Kraj, Sztorc 2009] oraz 0,740-0,792 [Bilela i in. 2012].

Heterozygotyczność oczekiwana (H_E) była wyższa od heterozygotyczności obserwowanej (H_O) we wszystkich populacjach, stąd w każdym przypadku stwierdzono istotnie dodatnią war-



Ryc.

Podobieństwo genetyczne badanych drzewostanów na podstawie analizy głównych współrzędnych

Principal coordinate analysis of genetic similarity among studied stands

oznaczenia populacji jak w tabeli 1; population denotes as in table 1

tość współczynnika wsobności (F_{IS}). Analogiczny niedobór genotypów heterozygotycznych w stosunku do wartości oczekiwanej w populacji znajdującej się w równowadze Hardy'ego-Weinberga (dodatnia wartość współczynnika wsobności) stwierdzono też w innych badaniach struktury genetycznej drzewostanów bukowych z zastosowaniem markerów mikrosatelitarnych [Vornam i in. 2004; Buiteveld i in. 2007; Bilela i in. 2012]. Większość autorów uzasadnia dodatnią wartość współczynnika wsobności u buka występowaniem nielosowej mikroprzestrzennej struktury genetycznej populacji związanej z krzyżowaniem w bliskim sąsiedztwie [Cuguen i in. 1988; Comps i in. 1990; Merzeau i in. 1994]. Badania z zastosowaniem markerów mikrosatelitarnych wskazują, że w drzewostanach bukowych powstałych w drodze naturalnego odnowienia występuje silna struktura rodzinna u drzew rosnących w odległości do 30-40 m [Vornam i in. 2004; Jump, Penuelas 2007; Chybicki i in. 2009]. W prezentowanych badaniach, aby uniknąć pobierania prób z osobników spokrewnionych, do analiz genetycznych wybierano drzewa oddalone od siebie o co najmniej 30 m. Mimo to nie można wykluczyć, że istnienie przestrzennej struktury genetycznej w badanych populacjach, będące efektem ograniczonej odległości transportu pyłku oraz – w jeszcze większej mierze – nasion buka [Chybicki i in. 2009], miało wpływ na stwierdzone dodatnie wartości współczynnika wsobności.

Badając zmienność genetyczną drzewostanów o charakterze naturalnym różnych gatunków, niektórzy autorzy sugerowali występowanie wyższej wsobności w drzewostanach wyłączonych z użytkowania aniżeli w zagospodarowanych w odniesieniu do *Pseudotsuga menziesii* [Neale, Adams 1985], *Fagus sylvatica* [Buiteveld i in. 2007], *Picea asperata* [Wang i in. 2010] czy *Picea abies* [Chomicz-Zegar i in. 2015]. Według Lediga [1992] krzyżowanie pomiędzy sąsiadującymi osobnikami prawdopodobnie dominuje w naturze, w związku z czym system kojarzenia w naturalnych drzewostanach może charakteryzować się wsobnością. W badanych drzewostanach średni współczynnik wsobności (F_{IS}) był wyższy w drzewostanach gospodarczych. Jednocześnie różnice w zakresie współczynnika wsobności pomiędzy drzewostanami o różnym sposobie zagospodarowania nie były istotne statystycznie.

Pewną rozbieżność otrzymanych wyników ze stwierdzeniami innych autorów można tłumaczyć różnicami w zwariu badanych drzewostanów. Buiteveld i in. [2007] stwierdzali zazwyczaj (w 4 na 5 badanych przypadków) wyższe współczynniki wsobności w drzewostanach bukowych o charakterze naturalnym aniżeli w drzewostanach zagospodarowanych. Jednocześnie wiązali tę

sytuację z silnym zwarciem drzewostanów naturalnych, sprzyjającym zapyleniom w obrębie bliższego sąsiedztwa. Podobnie w badaniach Chomicz-Zegar i in. [2015] – drzewostan świerkowy o charakterze pierwotnym cechował się większą wsobnością, ale również większym zwarciem niż drzewostany gospodarcze, znacznie przerzedzone na skutek zamierania świerka w Beskidach. W przedstawianych badaniach większym zwarciem charakteryzowały się z kolei drzewostany gospodarcze, w których analogicznie odnotowano wyższy średni współczynnik wsobności.

Drzewostany w rezerwach cechowały się luźniejszym i bardziej nierównomiernym zwarciem (obok fragmentów zwartego drzewostanu występowały fragmenty przerzedzone oraz luki), jak również licznym udziałem innych gatunków (jodła, świerk) w strukturze drzewostanu. Stanowiły mozaikę różnych stadiów i faz rozwojowych oraz składu gatunkowego w sposób właściwy dla dolnoregłowych lasów o charakterze pierwotnym [Szwagrzyk i in. 1995; Jaworski 1997; Jaworski, Paluch 2001; Jaworski i in. 2002, 2006]. W drzewostanach o takiej charakterystyce zwiększa się odległość pomiędzy dojrzałymi osobnikami tego samego gatunku, w związku z czym może też wzrosnąć udział długodystansowego transportu pyłku w procesie reprodukcji drzewostanu [Piotti i in. 2012]. Wydaje się zatem, że większą wsobność populacji należy wiązać nie tyle z naturalnością drzewostanu, co z jego strukturą i zwarciem.

Średnie dla danego sposobu zagospodarowania parametry zmienności genetycznej (różnorodność alleliczna AR , oczekiwana liczba alleli A_E oraz heterozygotyczność obserwowana H_O i oczekiwana H_E) były nieznacznie wyższe w drzewostanach objętych ochroną rezerwatową niż w gospodarczych. Taka prawidłowość może wynikać z opisanych wcześniej różnic w budowie, strukturze gatunkowej, zwarciu i rozmieszczeniu drzew w drzewostanach o odmiennym sposobie zagospodarowania. Kluczowe jest jednak stwierdzenie, że żadna z wymienionych różnic w parametrach zmienności genetycznej pomiędzy drzewostanami o różnym sposobie zagospodarowania nie była istotna statystycznie. Pozostaje to w zgodzie z wynikami badań Wehenkela i in. [2009], które nie potwierdziły hipotezy o pozytywnej korelacji pomiędzy naturalnością drzewostanu a jego zmiennością genetyczną. Brak istotnych różnic w zakresie zmienności genetycznej drzewostanów bukowych zagospodarowanych rębnią częściową i wyłączonych z użytkowania stwierdzali też inni autorzy [Buiteveld i in. 2007; Pafetti i in. 2012; Rajendra i in. 2014].

Drzewostany różniące się sposobem zagospodarowania nie tylko nie wykazywały znaczących różnic w zakresie podstawowych parametrów genetycznych, ale w większości przypadków dzieliły też regionalnie wspólną pulę genową. W analizie głównych współrzędnych populacje z Beskidu Sądeckiego i Bieszczadów tworzyły odrębne grupy spokrewnione genetycznie. Inaczej przedstawia się sytuacja w przypadku drzewostanów z Beskidu Żywieckiego. Populacje z Babio-górskiego Parku Narodowego oraz z Nadleśnictwa Sucha różniły się genetycznie od tych z pozostałych dwóch regionów, ale nie wykazywały podobieństwa genetycznego pomiędzy sobą. Może to świadczyć o sztucznym pochodzeniu drzewostanu gospodarczego Lachowice, za czym przemawia dostępność drzewostanu dla prac leśnych (zlokalizowany przy drodze stokowej), jak również historia intensywnego użytkowania lasów w Beskidzie Żywieckim [Opis... 1905; Kaweckie 1939]. Z uwagi na pochodzenie buka z jednego refugium lodowcowego na obszarze objętym badaniami [Magri i in. 2006; Sułkowska i in. 2012] historia gatunku w okresie zlodowaceń nie wyjaśnia regionalnych różnic genetycznych między populacjami. Stwierdzone różnice należałoby raczej uzasadnić adaptacją do lokalnych warunków środowiska oraz działaniem losowych procesów ewolucyjnych [Gömöry i in. 2003].

Warto zauważyć, że drzewostany gospodarcze w przedstawionych badaniach były prowadzone rębnią stopniową udoskonaloną, zalecaną do stosowania w dolnoregłowych drzewostanach bukowych, m.in. ze względu na możliwość zwiększenia ich różnorodności genetycznej poprzez

wykorzystanie wielu lat nasiennych w procesie odnowienia [Jaworski 1997]. Ideą tej rębni, wpi-sującej się w kierunek naturalnej hodowli lasu, jest naśladowanie procesów zachodzących w drzewostanach o charakterze naturalnym [Chodzicki 1976]. Można wysunąć wniosek, że ten sposób prowadzenia drzewostanu naśladuje naturalne procesy na tyle skutecznie, że również w aspekcie genetycznym nie stwierdza się znaczących różnic pomiędzy drzewostanami zagospodarowanymi rębnią stopniową udoskonaloną a drzewostanami o charakterze pierwotnym.

Wnioski

- ✦ Wszystkie badane drzewostany charakteryzowały się wysokim poziomem zmienności genetycznej.
- ✦ Drzewostany o charakterze pierwotnym nie różniły się istotnie od tych zagospodarowanych rębnią stopniową udoskonaloną w zakresie podstawowych parametrów zmienności genetycznej (różnorodność alleliczna, oczekiwana liczba alleli, heterozygotyczność obserwowana i oczekiwana).
- ✦ Drzewostany o charakterze pierwotnym nie charakteryzowały się wyższą wsobnością niż drzewostany gospodarcze. Różnice w zakresie współczynnika wsobności pomiędzy drzewostanami o różnym sposobie zagospodarowania nie były istotne statystycznie.
- ✦ Wydaje się, że większą wsobność populacji należy wiązać nie tyle z naturalnością drzewostanu, co z jego strukturą i zwarciem.

Podziękowania

Dziękujemy kolegom Mariuszowi Kapsie, Marcinowi Jachymowi i Rusłanowi Vytseha za pomoc w zbiorze materiału oraz Pani Jolancie Bieniek za pomoc techniczną w laboratorium.

Literatura

- Adams W. T., Zuo J. H., Shimizu J. Y., Tappeiner J. C. 1998. Impact of alternative regeneration methods on genetic diversity in coastal Douglas-fir. *Forest Science* 44: 390-396.
- Bilela S., Dounavi A., Fussi B., Konnert M., Holst J., Mayer H., Rennenberg H., Simon J. 2012. Natural regeneration of *Fagus sylvatica* L. adapts with maturation to warmer and drier microclimatic conditions. *Forest Ecology and Management* 275: 60-67.
- Buiteveld J., Vendramin G. G., Leonardi S., Kamer K., Geburek T. 2007. Genetic diversity and differentiation in European beech (*Fagus sylvatica* L.) stands varying in management history. *Forest Ecology and Management* 247: 98-106.
- Chodzicki E. 1976. Zagadnienie współdziałania hodowli lasu z postulatami kształtowania środowiska przyrodniczego w Polsce. *Folia Forestalia Polonica A* 22: 15-27.
- Chomicz-Zegar E., Nowakowska J. A., Tereba A. 2015. Forest decline has not reduced genetic diversity of naturally regenerated Norway spruce from the Beskids, Poland. *Silvae Genetica* 64 (5-6): 270-278.
- Chybicki I. J., Trojankiewicz M., Oleksa A., Działuk A., Burezyk J. 2009. Isolation-by-distance within naturally established populations of European beech (*Fagus sylvatica*). *Botany* 87 (8): 791-798.
- Comps B., Thiébaud B., Paule L., Merzeau D., Letouzey J. 1990. Allozymic variability in beech woods (*Fagus sylvatica* L.) over Central Europe: spatial differentiation among and within populations. *Heredity* 65: 407-417.
- Cuguen J., Merzeau D., Thiébaud B. 1988. Genetic structure of the European beech stands (*Fagus sylvatica* L.): F-statistics and importance of the mating system characteristics in their evolution. *Heredity* 60: 91-100.
- Goudet J. 1995. FSTAT (Version 1.2): A Computer Program to Calculate F-Statistics. *Journal of Heredity* 86 (6): 485-486.
- Gömöry D., Paule L., Shvadchak I. M., Popescu F., Sułkowska M., Hynek V., Longauer R. 2003. Spatial patterns of the genetic differentiation in European beech (*Fagus sylvatica* L.) at allozyme loci in the Carpathians and the adjacent regions. *Silvae Genetica* 52 (2): 78-83.
- Hartl D. L., Clark A. G. 1989. Principles of population genetics. Sinauer Associates.
- Jaworski A. 1997. Karpackie lasy o charakterze pierwotnym i ich znaczenie w kształtowaniu proekologicznego modelu gospodarki leśnej w górach. *Sylvan* 141 (4): 33-49.
- Jaworski A., Kołodziej Z., Łapka M., Bartkiewicz L. 2006. Budowa, struktura i dynamika drzewostanów o charakterze pierwotnym w rezerwacie „Dolina Łopusznej” (Gorczański Park Narodowy). *Leś. Pr. Bad.* 4: 35-59.

- Jaworski A., Kołodziej Z., Porada K. 2002. Structure and dynamics of stands of primeval character in selected areas of the Bieszczady National Park. *Journal of Forest Science* 48: 185-201.
- Jaworski A., Paluch J. 2001. Structure and dynamics of the lower mountain zone forests of primeval character in the Babia Góra Mt. National Park. *Journal of Forest Science* 47: 60-74.
- Jump A. S., Peñuelas J. 2007. Extensive spatial genetic structure revealed by AFLP but not SSR molecular markers in the wind-pollinated tree, *Fagus sylvatica*. *Molecular Ecology* 16: 925-936.
- Kawecki W. 1939. Lasy Żywiecczyny, ich teraźniejszość i przeszłość. PAU Prace Rolniczo-Leśne 35, Kraków.
- Kraj W., Sztore A. 2009. Genetic structure and variability of phenological forms in the European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Annals of Forest Science* 66 (2): 203-209.
- Kucharzyk S. 2008. Lasy o charakterze pierwotnym w Bieszczadzkim Parku Narodowym. *Roczniki Bieszczadzkie* 16: 19-32.
- Ledig F. T. 1992. Human impacts on genetic diversity in forest ecosystems. *Oikos* 63: 87-108.
- Magri D., Vendramin G. G., Comps B., Dupanloup I., Geburek T., Gömöry D., Latałowa M., Litt T., Paule L., Roure J. M., Tantau I., Van Der Knaap W. O., Petit R. J., De Beaulieu J. L. 2006. A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: paleobotanical evidence and genetic consequences. *New Phytologist* 171: 199-221.
- Mehta C. R., Patel N. R. 2010. IBM SPSS Exact Tests. SPSS.
- Merzeau D., Comps B., Thiebaut B., Cuguen J., Letouzey J. 1994. Genetic structure of natural stands of *Fagus sylvatica* L. (beech). *Heredity* 72: 269-277.
- Neale D. B., Adams W. T. 1985. The mating system in natural and shelterwood stands of Douglas-fir. *Theoretical and Applied Genetics* 71: 201-207.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Nei M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. New York, Columbia University Press.
- Nei M., Li W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76 (10): 5269-5273.
- Oddou-Muratorio S., Bontemps A., Klein E. K., Chybicki I., Vendramin G. G., Suyama Y. 2010. Comparison of direct and indirect genetic methods for estimating seed and pollen dispersal in *Fagus sylvatica* and *Fagus crenata*. *Forest Ecology and Management* 259 (11): 2151-2159.
- Opis dóbr żywic należących do Jego Cesarskiej i Królewskiej Wysokości Najdostojniejszego Arcyksięcia Karola Stefana. 1905. *Sylvan* 23: 357-366.
- Pafetti D., Travaglini D., Buonamici A., Nocentini S., Vendramin G. G., Giannini R., Vettori C. 2012. The influence of forest management on beech (*Fagus sylvatica* L.) stand structure and genetic diversity. *Forest Ecology and Management* 284: 34-44.
- Pastorelli R., Smulders M. J. M., van't Westende W. P. C., Vosman B., Giannini R., Vettori C., Vendramin G. G. 2003. Characterization of microsatellite markers in *Fagus sylvatica* L. and *Fagus orientalis* Lipsky. *Molecular Ecology Notes* 3 (1): 76-78.
- Peakall R., Smouse P. E. 2012. GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2539.
- Piotti A., Leonardi S., Buiteveld J., Geburek T., Gerber S., Kramer K., Vettori C., Vendramin G. G. 2012. Comparison of pollen gene flow among four European beech (*Fagus sylvatica* L.) populations characterized by different management regimes. *Heredity* 108 (3): 322-331.
- Rajendra K. C., Seifert S., Prinz K., Gailing O., Finkeldey R. 2014. Subtle human impacts on neutral genetic diversity and spatial patterns of genetic variation in European beech (*Fagus sylvatica*). *Forest Ecology and Management* 319: 138-149.
- Rousset F. 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8 (1): 103-106.
- Sułkowska M., Gömöry D., Paule L. 2012. Genetic diversity of European beech in Poland estimated on the basis of isoenzyme analyses. *Folia Forestalia Polonica* A 54 (1): 48-55.
- Szwagrzyk J., Szewczyk J., Bodziarczyk J. 1995. Structure of forest stand in the Żarnówka reserve of the Babia Góra National Park. *Folia Forestalia Polonica* A 37: 111-123.
- Vornam B., Decarli N., Gailing O. 2004. Spatial distribution of genetic variation in a natural beech stand (*Fagus sylvatica* L.) based on microsatellite markers. *Conservation Genetics* 5: 561-570.
- Wang Z.-S., Liu H., Xu W.-X., Wei N., An S. Q. 2010. Genetic diversity in young and mature cohorts of cultivated and wild populations of *Picea asperata* Mast (*Pinaceae*), a spruce endemic in western China. *European Journal of Forest Research* 129: 719-728.
- Wehenkel C., Corral-Rivas J. J., Castellanos-Bocaz H. A., Pinedo-Alvarez A. 2009. Is there a positive relationship between naturalness and genetic diversity in forest tree communities? *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 18: 20-27.