

ANNA HEBDA, JERZY SKRZYSZEWSKI, WITOLD WACHOWIAK

Zróżnicowanie fenotypowe i zmienność tła genetycznego polskich proveniencji sosny zwyczajnej*

Phenotypic differentiation and genetic background variation of Polish provenances of *Pinus sylvestris* L.

ABSTRACT

Hebda A., Skrzyszewski J., Wachowiak W. 2017. Zróżnicowanie fenotypowe i zmienność tła genetycznego polskich proveniencji sosny zwyczajnej. Sylwan 161 (4): 277-286.

We looked at the patterns of differentiation at a set of phenotypic traits of Scots pine populations derived from different environmental conditions of the species distribution range in Poland. The growth traits were tested over 47 years at the provenance trial experiment in the Carpathians. The phenotypic differentiation of the populations was compared to diversity estimates at a set of ten nuclear microsatellite markers. Scots pine populations were highly differentiated concerning diameter at breast high, stand volume, stem straightness and crown width according to the provenance and climatic zones. At the same time a low genetic diversity for microsatellite markers and no evidence of population structure was found among proveniences. Local populations from the Carpathian Mountains had lower genetic variation and weaker growth compared to lowland provenances. Among the tested populations Scots pine from lowlands were characterized by the great growth potential and good adaptation to the severe climate of the Carpathians. Populations that showed high quantitative traits differentiation were genetically homogenous at the neutral loci. The results indicate that there are some regions in the genome under selection that drive species adaptive variation.

KEY WORDS

Scots pine, phenotypic differentiation, neutral variation, microsatellite markers, environment correlation, local adaptation

ADDRESSES

Anna Hebda ⁽¹⁾ – e-mail: ana.hebda@gmail.com

Jerzy Skrzyszewski ⁽²⁾ – e-mail: rlskrzys@cyf.kr.edu.pl

Witold Wachowiak ^(3,4) – e-mail: witoldw@man.poznan.pl

⁽¹⁾ Zakład Genetyki, Nasiennictwa i Szkółkarstwa Leśnego, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie; al. 29 Listopada 46, 31-425 Kraków

⁽²⁾ Zakład Hodowli Lasu, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie; al. 29 Listopada 46, 31-425 Kraków

⁽³⁾ Instytut Dendrologii, Polska Akademia Nauk; ul. Parkowa 5, 62-035 Kórnik

⁽⁴⁾ Wydział Biologii, Uniwersytet Adama Mickiewicza; ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

*Anna Hebda realizowała prace w ramach działalności statutowej DS-3405/ZGNiSL-IEiHL oraz BM-4435 Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Witold Wachowiak otrzymał wsparcie finansowe badań z Narodowego Centrum Nauki (nr grantu: DEC-2012/05/E/NZ9/03476) oraz działalności statutowej Instytutu Dendrologii PAN w Kórniku.

Wstęp

Zmienność fenotypowa organizmów jest wypadkową działania czynników środowiskowych oraz zmienności genetycznej, kształtowanej w wyniku procesów ewolucyjnych i demograficznych [Wójcikiewicz i in. 2016]. Zmienność neutralna wynika ze zróżnicowania rejonów genomowych będących pod wpływem dryfu genetycznego i procesów demograficznych związanych z historią populacji. Zmienność adaptacyjna dotyczy rejonów genomowych podlegających naturalnej selekcji, które wpływają na sukces reprodukcyjny i przeżywalność w danych warunkach środowiska [Kawecki, Ebert 2004]. Tym samym badanie zmienności neutralnej jest kluczowe w ocenie tła genetycznego i stanowi punkt wyjścia do analiz korelacji zmienności genetycznej i fenotypowej populacji.

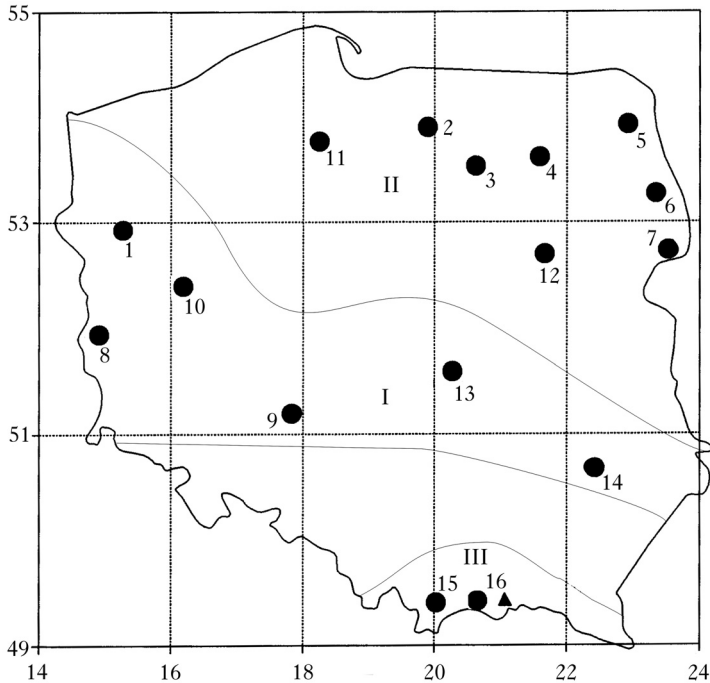
Geograficzne rozmieszczenie drzew leśnych w Europie jest w dużej mierze wynikiem ostatniego zlodowacenia oraz procesów rekolonizacji kontynentu w okresie postglacialnym. W swoim rozległym zasięgu występowania sosna zwyczajna charakteryzuje się dużą zmiennością fenotypową [Giertych 1993]. Zmienność cech związanych z okresem zawiązywania pąków i przerywania ich spoczynku ma charakter wyraźnie kłinalny [Savolainen i in. 2007]. Na podstawie zmienności cech fenotypowych sosny zwyczajnej wyróżniono liczne klimatotypy, ekotypy i rasy [Giertych 1993]. Niemniej zmienność cech fenotypowych populacji, ich plastyczność i zakres regulacji genetycznych są nadal słabo poznane.

Celem pracy była ocena zmienności cech fenotypowych proveniencji sosny zwyczajnej reprezentujących zasięg występowania gatunku w Polsce i testowanych przez 47 lat na powierzchni doświadczalnej w Karpatach. Zmienność fenotypową sosen pochodzących z wyznaczonych stref klimatycznych porównano z ich zmiennością genetyczną na podstawie polimorfizmu szeregu loci mikrosatelitarnych jądrowego DNA. Oceniono również zmienność adaptacyjną sosen naturalnie rosnących na niżu Polski do warunków górskich Beskidu Sądeckiego. Uzyskane wyniki pozwoliły na analizę wzajemnych relacji genetycznych badanych populacji.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiło potomstwo 16 drzewostanów sosny zwyczajnej reprezentujących zasięg występowania *Pinus sylvestris* w Polsce (ryc. 1). Drzewostany macierzyste zlokalizowane były głównie na nizinach, na wysokości od 70 do 250 m n.p.m. Obejmowały one również drzewostany karpackie rosnące na wysokości 500 i 590 m n.p.m., których potomstwo określono jako pochodzenia lokalne (15 – Nowy Targ i 16 – Piwniczna). Dla poszczególnych lokalizacji geograficznych drzewostanów macierzystych ustalono odpowiadające im trzy regiony klimatyczne [Sabor 1993] (tab. 1). Jednoroczny materiał sadzeniowy wyhodowany z nasion posłużył do założenia w 1966 roku powierzchni badawczej w Polanach k. Grybowa zlokalizowanej na 620 m n.p.m. w Nadleśnictwie Nawojowa [Sabor 1993]. Powierzchnia ta stanowi jedno z pięciu równoległych doświadczeń proveniencyjnych zainicjowanych przez Instytut Badawczy Leśnictwa, a prowadzonych przez różne jednostki naukowe w Polsce.

Ocena zmienności fenotypowej obejmowała analizę wzrostu – wysokości H, pierśnicy D i miąższości na jednostkę powierzchni V [m³/ha] – oraz jakości drzew (prostność strzały SS i szerokość korony CW) w wieku 47 lat. Miąższość na jednostkę powierzchni obliczono z wykorzystaniem funkcyjnej zależności liczby kształtu od pierśnicy [Bruchwald 1996] jako sumę miąższości pojedynczych drzew. Natomiast cechy jakościowe oceniane były w 5-stopniowej skali (dla SS: 1 – drzewa bardzo krzywe / z wieloma wierzchołkami, 2 – jedno wyraźne skrzywienie, 3 – niewielkie krzywizny, 4 – proste lub jedno/dwa nieznaczne skrzywienia, 5 – bardzo proste; dla CW:



Ryc. 1.

Lokalizacja drzewostanów macierzystych sosny zwyczajnej (czarne koła) testowanych na Ogólnopolskiej Powierzchni Porównawczej w Polanach koło Grybowa (trójkąt)

Location of the native Scots pine stands (black circles) grown on the experimental trial in the Polish Carpathian Mountains (triangle)

1 – Karsko, 2 – Tabórz, 3 – Dłużek, 4 – Ruciane, 5 – Rospuda, 6 – Supraśl, 7 – Starzyna, 8 – Gubin, 9 – Rychtal, 10 – Bolewice, 11 – Lipowa, 12 – Jegiel, 13 – Spała, 14 – Janów Lubelski, 15 – Nowy Targ, 16 – Piwniczna

I – strefa z okresem wegetacyjnym >215 dni, II – strefa z okresem wegetacyjnym 200-215 dni, III – strefa z okresem wegetacyjnym <200 dni [Sabor 1993 z modyfikacjami]

I – zone with the growing period >215 days, II – zone with the growing period 200-215 days, III – zone with the growing period <200 days [Sabor 1993 with modifications]

Tabela 1.

Średnie wartości parametrów meteorologicznych dla poszczególnych stref klimatycznych w latach 1966-2010 (http://klimat.icm.edu.pl/serv_climate.php)

Mean values of meteorological parameters for the distinguished climatic zones for the period 1966-2010

	I	II	III
Średnia roczna temperatura [°C]	8,52	8,01	3,53
Mean annual temperature			
Maks./min. temperatura miesięcy letnich [°C]	23,3/12,2	22,6/11,6	17,2/7,6
Max./min. temperature of summer months			
Maks./min. temperatura miesięcy zimowych [°C]	2,0/-3,6	0,2/-5,1	-1,7/-8,8
Max./min. temperature of winter months			
Liczba dni w ciągu roku z temperaturą <0°C	100	108	177
Number of days with temperature <0°C			
Liczba dni w ciągu roku z temperaturą >25°C	38	38	3
Number of days with temperature >25°C			
Opady [mm]	600	600	1000
Precipitation [mm]			

1 – drzewa o bardzo szerokich koronach, 2 – szerokich, 3 – średnich, 4 – wąskich, 5 – bardzo wąskich). Uzyskane wyniki dla cech ilościowych poddano analizie kowariancji [Barzdajn 2006], ponieważ stwierdzono silną zależność tych cech od liczby drzew na poletkach. Jeśli wyniki analizy kowariancji pozwalały odrzucić hipotezę o braku różnic pomiędzy proveniencjami, do dalszych porównań wykorzystywano analizę *post-hoc* testem NIR Fischera. Dla cech jakościowych wykonano nieparametryczną analizę wariancji metodą Kruskala-Wallis.

Badania polimorfizmu genetycznego obejmowały analizę 10 rejonów mikrosatelitarnych jądrowego DNA, tj. psyl42, psyl25, psyl36, psyl44, psyl57, psyl18 [Sebastiani i in. 2012], PrTX4011, PrTX4001 [Zhou i in. 2002], Spac11.4 [Soranzo i in. 1998] i PrTX3025 [Elsik i in. 2000]. Dla badanych proveniencji określono szereg parametrów genetycznych (tab. 2) przy wykorzystaniu programu GenAlEx ver. 5 [Peakall, Smouse 2012] oraz bogactwo alleliczne z zastosowaniem programu FSTAT 2.9.3 [Goudet 2001]. Hierarchiczne rozmieszczenie molekularnej zmienności w obrębie i pomiędzy strefami klimatycznymi proveniencji sosny określono z wykorzystaniem metod AMOVA.

Ocenę zróżnicowania między badanymi pochodzeniami sosny i reprezentowanymi przez nie regionami klimatycznymi przeprowadzono na podstawie analizy głównych składowych (PCA). Metoda ta umożliwiła wskazanie grup jednorodnych w obrębie badanych proveniencji. Spośród szeregu cech genetycznych do analizy wybrano parametr bogactwa allelicznego (A_R), gdyż istotnie korelował z pierśnicą ($r=-0,512$; $p \leq 0,05$). Korelację zmienności cech z lokalizacją drzewostanów macierzystych przeprowadzono za pomocą korelacji rang Spearmana. Jako charakterystyki lokalizacji wykorzystano długość i szerokość geograficzną oraz wysokość nad poziomem morza drzewostanów macierzystych testowanych proveniencji.

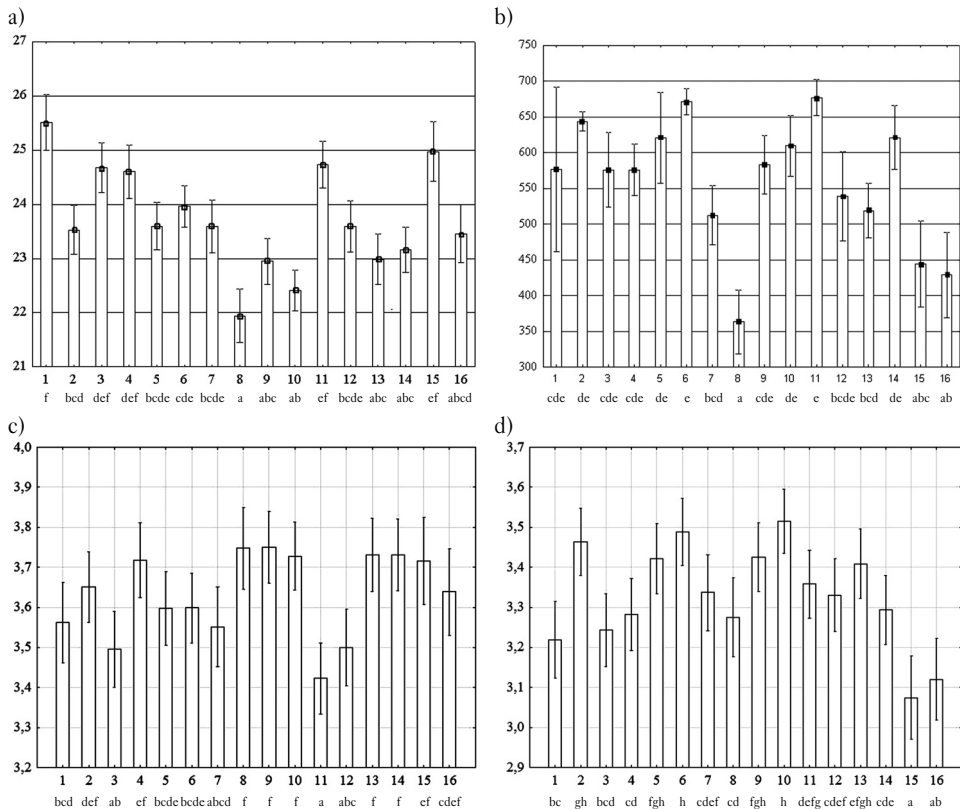
Tabela 2.

Liczba badanych drzew (N), średnia liczba alleli w locus (A), średnia efektywna liczba alleli w locus (A_e), liczba alleli prywatnych (A_p), bogactwo alleliczne (A_R), heterozygotyczność obserwowana (H_o) i oczekiwana (H_e) oraz indeks wsobności (F) badanych populacji sosny (1-16) i w regionach klimatycznych (I-III) Number of individuals (N), mean number of alleles per locus (A), mean effective number of alleles per locus (A_e), number of private alleles (A_p), allelic richness (A_R), mean observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity and mean fixation index (F) for analysed Scots pine populations (1-16) and climatic regions (I-III)

	N	A	A_e	A_p	A_R	H_o	H_e	F
1	19	4,8	2,658	0	4,587	0,4962	0,5064	0,0045
2	23	4,4	2,447	0	4,762	0,3905	0,4245	0,0509
3	21	4,9	2,388	1	4,198	0,4556	0,4820	0,0368
4	22	5,3	2,841	2	4,862	0,4524	0,5009	0,0621
5	23	5,0	2,740	0	5,126	0,4238	0,4637	0,0769
6	21	5,1	2,465	0	4,816	0,4381	0,4645	0,0102
7	22	5,5	2,701	1	4,846	0,4107	0,4611	0,0745
8	19	5,3	2,839	0	5,155	0,4870	0,4920	-0,0011
9	24	4,5	2,630	0	4,811	0,3876	0,4909	0,1802
10	21	5,0	2,480	0	4,994	0,4071	0,4363	0,0531
11	21	5,1	2,271	2	4,742	0,4150	0,4450	0,0368
12	21	5,1	2,549	0	4,915	0,4109	0,4706	0,0704
13	20	5,1	2,718	1	4,410	0,4565	0,4726	0,0104
14	23	4,9	2,409	0	4,828	0,3762	0,4446	0,1084
15	23	5,1	2,242	1	4,643	0,3609	0,4165	0,0849
16	23	4,9	2,347	0	4,693	0,4043	0,4165	0,0237
I	126	4,9	2,620	1	4,800	0,4350	0,4740	0,0590
II	174	5,1	2,550	6	4,780	0,4250	0,4640	0,0520
III	46	5,0	2,290	1	4,670	0,3830	0,4170	0,0540

Wyniki

Zróżnicowanie cech fenotypowych testowanych proveniencji sosny było duże (ryc. 2), z istotnym wpływem genotypu na kształtowanie się tego zróżnicowania dla pierśnicy, miąższości oraz cech jakościowych. Różnice w wysokości były niewielkie i wynikały z wpływu interakcji genotypu \times blok, przez co zostały pominięte w prezentacji wyników. Pochodzenia 1 – Karsko, 11 – Lipowa i 15 – Nowy Targ charakteryzowały się najwyższą pierśnicą (ryc. 2a). Proveniencje 2 – Tabórz, 6 – Supraśl i 11 – Lipowa miały najwyższą średnią miąższość (ryc. 2b). Z kolei najlepszą jakość strzały wykazywały pochodzenia 8 – Gubin i 9 – Rychtal, a najwyższe korony sosny proveniencji 10 – Bolewice, 6 – Supraśl i 2 – Tabórz (ryc. 2c, d). Badane populacje wykazały zróżnicowanie w obrębie stref klimatycznych na podstawie analizy głównych składowych, które pogrupowały większość pochodzeń zgodnie z ich przynależnością do wyznaczonych stref (ryc. 3a). Pierwsza składowa PC1 tłumaczyła zmienność głównie takich cech jak pierśnica (D), miąższość (V) i odwrotnie skorelowanej prostości strzały (SS). Grupowała ona pochodzenia po przeciwległych stronach osi: po jednej stronie proveniencje reprezentujące II region klimatyczny, a po drugiej



Ryc. 2.

Średnia (\pm błąd standardowy) pierśnica [cm] (a), miąższość [m^3/ha] (b), prostość strzały (c) i szerokość korony (d) poszczególnych proveniencji (1-16)

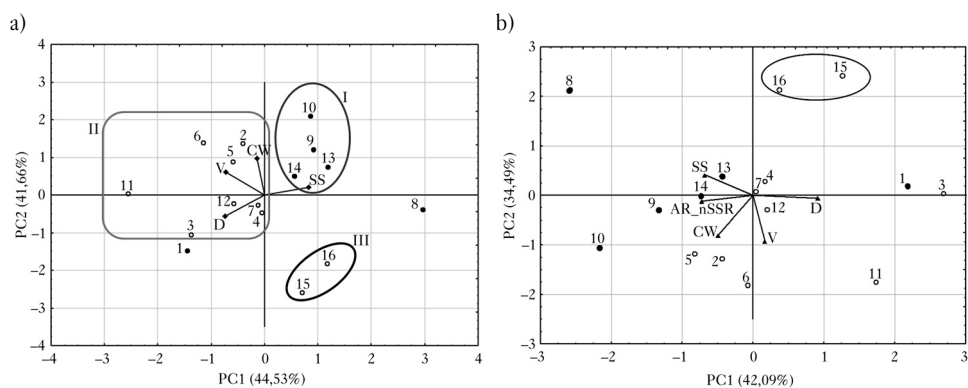
Mean (\pm standard error) diameter [cm] (a), stand volume [m^3/ha] (b), stem straightness (c) and crown width (d) for individual provenances (1-16)

ta sama litera oznacza grupę jednorodną, oznaczenia proveniencji jak na rycinie 1
the same letter indicates homogenous groups, proveniences denotes as in figure 1

stronie I i III region. Druga składowa główna PC2 tłumaczyła zmienność przede wszystkim szerokości korony i wyraźnie oddzielała pochodzenia I i III regionu klimatycznego. Na podstawie wyników analizy PCA można stwierdzić, że pochodzenia z Centralnej Polski (I region klimatyczny) charakteryzowały się dobrymi parametrami jakości strzały. Proweniencje lokalne (III region klimatyczny) tworzyły grupę jednorodną, która wykazywała niskie wartości wszystkich analizowanych cech jednocześnie. Sosny z północy i północnego wschodu Polski (II region klimatyczny) miały wysokie wartości cech ilościowych (D i V) oraz niektóre z nich wąskie korony. Jedyne odstępstwo od opisanego podziału stanowiły proveniencje 1 – Karsko i 8 – Gubin, które nie grupowały się zgodnie z regionami klimatycznymi.

Stwierdzono istotne zróżnicowanie genetyczne badanych pochodzeń sosny zwyczajnej, bez wyraźnej struktury w obrębie regionów klimatycznych (tab. 2). AMOVA wykazała zmienność genetyczną pomiędzy proveniencjami na poziomie 2%. Najwyższymi wskaźnikami parametrów genetycznych charakteryzowały się m.in. pochodzenia 8 – Gubin, 1 – Karsko, 4 – Ruciana i 7 – Starzyna. Jedyną charakterystyką różnicującą wyznaczone strefy klimatyczne była liczba alleli prywatnych – najwyższa dla pochodzeń z północy i północnego wschodu Polski (II region). Proweniencje charakteryzujące się najniższymi wartościami parametrów pochodziły z południowo-wschodniej Polski (III region klimatycznej) i były to pochodzenia 15 – Nowy Targ i 16 – Piwniczna oraz 14 – Janów Lubelski z Centralnej Polski (I region). Przy uwzględnieniu w analizie PCA bogactwa allelicznego grupowanie proveniencji względem stref klimatycznych przestało być tak wyraźnie widoczne (ryc. 3b). Jedyne pochodzenia lokalne tworzyły odrębną grupę jednorodną.

Analiza korelacji cech genetycznych i fenotypowych z lokalizacją drzewostanów macierzystych wykazała związek położenia drzewostanów na wysokości nad poziomem morza z kształtowaniem się zmienności genetycznej osobników potomnych (tab. 3). Ujemna zależność większości parametrów genetycznych wskazywała na zmniejszenie się ich wartości wraz ze wzrostem wysokości nad poziomem morza. Analizowane cechy fenotypowe potomstwa były również związane z szerokością geograficzną występowania drzewostanów macierzystych. Korelacje te były pozytywne i istotne statystycznie względem zmian miąższości na jednostkę powierzchni oraz szerokości korony, a negatywne względem prostości strzały. Spośród analizowanych cech fenotypowych



Ryc. 3.

Grupowanie proveniencji (1-16) testowanych w doświadczeniu według składowych głównych
 Grouping of proveniences (1-16) tested on the experimental site according to the principal components
 D – pierśnica, V – miąższość, SS – prostość strzały, CW – szerokość korony, AR_nSSR – bogactwo alleliczne
 D – diameter, V – stand volume, SS – stem straightness, CW – crown width, AR_nSSR – allelic richness

Tabela 3.

Współczynniki korelacji cech genetycznych i fenotypowych z warunkami środowiskowymi występowania drzewostanów macierzystych

Coefficients of correlation for phenotypic or genotypic traits and environmental condition of natural stands

	Szerokość geograficzna Latitude	Długość geograficzna Longitude	Wysokość n.p.m. Altitude
Fenotypowe Phenotypic			
D	0,2028	0,1545	0,2025
V	0,6222*	0,2494	-0,4043
SS	-0,5064*	-0,2077	0,2169
CW	0,5730*	0,0598	-0,6523*
Genetyczne Genetic			
A	0,0289	0,2470	-0,0049
Ac	0,3201	-0,0870	-0,5212*
Ap	0,2128	0,1594	0,0404
A _R	0,1050	-0,0517	-0,1753
Ho	0,4293	-0,3735	-0,5684*
He	0,4146	-0,2149	-0,6143*
F	-0,2282	0,2210	0,2126

oznaczenia cech fenotypowych jak na rycinie 3, a cech genetycznych jak w tabeli 2;

denotes of phenotypic traits as in figure 3 and genetic traits as in table 2

* istotność statystyczna ($p \leq 0,05$); significance ($p \leq 0,05$)

jedynie szerokość korony wykazała istotny związek z położeniem drzewostanów matecznych nad poziomem morza.

Dyskusja

Celem niniejszej pracy była analiza zmienności fenotypowej i zróźnicowania genetycznego pochodzeń sosny zwyczajnej reprezentujących zasięg występowania gatunku w Polsce, testowanych przez 47 lat w doświadczeniu porównawczym w Beskidzie Sądeckim. Wyniki doświadczeń proweniencyjnych wskazują, że w Polsce zlokalizowane są jedne z najlepszych europejskich populacji sosny zwyczajnej, do których należą sosny proweniencji rychtalskiej [Barzdajn i in. 2016; Szeliowski i in. 2016]. W prezentowanych badaniach pochodzenia z północy i północno-wschodniej Polski, tj. 11 – Lipowa, 1 – Karsko, 3 – Dłużek i 6 – Supraśl, wykazały wysokie wartości pierśnicy i miąższości na jednostkę powierzchni. Jednocześnie pochodzenia sosny z niżu Polski w większości charakteryzowały się w warunkach górskich Beskidu Sądeckiego lepszym wzrostem niż oba pochodzenia lokalne. Wskazuje to na wysoki potencjał wzrostu pochodzeń z niżu Polski i ich duże zdolności adaptacji do warunków surowego klimatu Karpat.

Słabe wyniki wzrostu i rozwoju sosen lokalnych obserwowane w Polanach, jak również na innych powierzchniach doświadczalnych [Barzdajn 2008] oraz ich niskie wartości zmienności genetycznej pokazują, że populacje te mogą być poważnie zdegradowane. Zjawiska zachodzące w pojedynczych populacjach rozproszonych w górach mogą powodować depresję genetyczną wynikającą z chowu wsobnego oraz utratę zmienności genetycznej w wyniku dryfu [Hampe, Petit 2005]. Uzyskane wyniki wskazują na zagrożenie utratą zasobów genowych populacji sosny zwyczajnej rosnących w Karpatach, szczególnie w kontekście zmian klimatycznych i ich wpływu na wzrost i rozwój populacji drzew leśnych.

Testowane proveniencje wykazały niski poziom zróżnicowania genetycznego markerów mikrosatelitarnych jądrowego DNA i jednorodną strukturę w ramach wyznaczonych stref klimatycznych. Poziom zmienności genetycznej badanych stanowisk był niższy w porównaniu do analizy zmienności genetycznej innych naturalnych drzewostanów sosnowych z Polski [Nowakowska 2016]. Jednakże cytowana praca dotyczy analizy jedynie czterech loci mikrosatelitarnych, co mogło wpłynąć na precyzję otrzymanych wyników [Kalinowski 2005]. Rezultaty badań paleobotanicznych związanych z wędrówką gatunków w holocenie sugerują znaczną homogenizację cech sosny zwyczajnej na terenie Polski [Ralska-Jasiewiczowa i in. 2004]. Ponadto oddziaływanie zmiennych warunków strefy przejściowej między klimatem oceanicznym a kontynentalnym spowodowało, że populacje środkowoeuropejskie cechuje bogata pula genetyczna [Giertych 1991], wysoka zmienność wewnątrzpopulacyjna i niskie zróżnicowanie między populacjami [Hampe, Petit 2005].

Przeprowadzone analizy korelacji międzycechowej wskazały na istotną negatywną korelację bogactwa allelicznego z wielkością pierśnicy. Potencjalną przyczyną takiej zależności może być oddziaływanie selekcji kierunkowej, faworyzującej osobniki o grubych pniach, odporne na działanie wiatru i śniegu. Korelacja badanych cech z lokalizacją drzewostanów macierzystych wskazuje na trend zmian miąższości na jednostkę powierzchni oraz parametru prostości strzały i szerokości korony z południa na północ Polski. Warunki klimatyczne Polski nie zmieniają się jednak w dużym zakresie wraz ze wzrostem szerokości geograficznej, stąd uzyskane wyniki mogą mieć związek ze sprzyjającymi lokalnymi warunkami siedliskowymi w poszczególnych miejscach występowania drzewostanów matecznych.

Prezentowane wyniki wskazują na ślady przystosowań adaptacyjnych badanych pochodzeń do wysokości położenia drzewostanów matecznych nad poziomem morza. Wraz z jej wzrostem zmniejsza się szerokość korony, jak również efektywna liczba alleli oraz heterozygotyczność obserwowana i oczekiwana. Zależność frekwencji alleli loci izoenzymowych od wysokości nad poziomem morza była zauważona m.in. przez Szweykowskiego i in. [2014]. Wraz z wysokością nad poziomem morza zmieniają się warunki środowiskowe związane z vegetacją drzew, następuje spadek średniej temperatury i wzrost ilości opadów, w tym śniegu. Ograniczenia w rozprzestrzenianiu się pyłku i nasion drzew w górach mogły wpływać na spadek zmienności genetycznej wraz ze wzrostem wysokości nad poziomem morza i różnicować populacje [Skrzyszewski 2004]. Wszystkie te czynniki mogły mieć wpływ na zróżnicowanie genetyczne pochodzeń sosny zmieniające się wraz z wysokością położenia drzewostanów matecznych.

Prezentowane wyniki potwierdzają przydatność zastosowanych markerów mikrosatelitarnych do badania zmienności i struktury genetycznej na poziomie neutralnego DNA. Umożliwiają ocenę korelacji zmienności genetycznej ze zmiennością cech fenotypowych [Bastien, Alía 2000], której pozytywne wyniki mogą wskazywać na bliskie położenie określonych loci mikrosatelitarnych z regionami genomowymi podlegającymi selekcji. Analizowana zmienność neutralnego DNA w populacjach umożliwia badanie tła genetycznego do rozróżnienia wpływu procesów demograficznych i naturalnej selekcji oddziałujących na zmienność populacji [Grivet i in. 2009; Chhatre, Rajora 2014]. Badane w niniejszej pracy populacje sosny zwyczajnej, scharakteryzowane pod kątem szeregu cech fenotypowych oraz zmienności w neutralnym DNA, stanowią dogodny obiekt do analiz genetycznych z wykorzystaniem wysokoprzepustowych technik genotypowania miejsc polimorficznych [Wachowiak i in. 2015] w celu identyfikacji regionów genomowych podlegających naturalnej selekcji i wpływających na zróżnicowanie fenotypowe.

Wnioski

- ✦ Proweniencje sosny zwyczajnej reprezentujące zasięg występowania gatunku w Polsce wykazały duże zróżnicowanie w większości analizowanych cech fenotypowych oraz jednolitą strukturę genetyczną ocenioną przy wykorzystaniu markerów mikrostatelitarnych jądrowego DNA.
- ✦ Pochodzenia lokalne z Karpat cechowały słabszy wzrost i miąższość na jednostkę powierzchni oraz niższy poziom zmienności genetycznej w stosunku do proveniencji naturalnie rosnących na niżu Polski. Sugerowałoby to, że pochodzenia niżowe wykazują duży potencjał wzrostu i zdolność adaptacji do warunków klimatycznych Karpat.
- ✦ Stwierdzono zależność zmienności szerokości korony i parametrów genetycznych (efektywna liczba alleli oraz heterozygotyczność obserwowana i oczekiwana) od wysokości położenia drzewostanów macierzystych nad poziomem morza, co może wskazywać na ślady przystosowań adaptacyjnych i działanie selekcji naturalnej na badane populacje sosny zwyczajnej.

Literatura

- Barzdajn W. 2006. Zmienność cech taksacyjnych sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) polskich pochodzeń w doświadczeniu proveniencyjnym z 1985 roku w Nadleśnictwie Zielonka. Sylwan 150 (1): 8-19.
- Barzdajn W. 2008. Wyniki 24-letniego doświadczenia proveniencyjnego z sosną w Nadleśnictwie Supraśl. Sylwan 152 (4): 21-29.
- Barzdajn W., Kowalkowski W., Chmura D. J. 2016. Variation in growth and survival among European provenances of *Pinus sylvestris* in a 30-year-old experiment. Dendrobiology 75: 67-77.
- Bastien C., Alía R. 2000. What might be useful measures of genetic variability for adaptive traits within populations of Scots pine? Invest. Agr.: Sist. Recur. For. 9: 97-110.
- Bruchwald A. 1996. New empirical formula of determination of volume of Scots pine stands. Folia Forestalia Polonica Seria A 38.
- Chhatre V. E., Rajora O. P. 2014. Genetic divergence and signatures of natural selection in marginal populations of a keystone, long-lived conifer, eastern white pine (*Pinus strobus*) from Northern Ontario. PLoS ONE 9 (5): 1-13.
- Elsik C. G., Minihan V. T., Hall S. E., Scarpa A. M., Williams C. G. 2000. Low-copy microsatellite markers for *Pinus taeda* L. Genome / National Research Council Canada 43 (3): 550-555.
- Giertych M. 1991. Provenance variation in growth and phenology. W: Giertych M., Matyas C. [red.]. Genetics of Scots pine. Elsevier Science Publisher, Amsterdam. 19-30.
- Giertych M. 1993. Zmienność proveniencyjna. W: Białobok S., Boratyński A., Bugała W. [red.]. Biologia sosny zwyczajnej. Sorus, Poznań – Kórnik. 325-339.
- Goudet J. 2001. FSTAT, version 2.9. 3. A program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Lausanne University, Lausanne, Switzerland.
- Grivet D., Sebastiani F., González-Martínez S. C., Vendramin G. G. 2009. Patterns of polymorphism resulting from long-range colonization in the Mediterranean conifer Aleppo pine. New Phytologist 184 (4): 1016-1028.
- Hampe A., Petit R. J. 2005. Perspectives conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. Ecology Letters 8: 461-467.
- Kalinowski S. T. 2005. Do polymorphic loci require large sample sizes to estimate genetic distances? Heredity 94 (1): 33-36.
- Kawecki T. J., Ebert D. 2004. Conceptual issues in local adaptation. Ecology Letters 7 (12): 1225-1241.
- Nowakowska J. A. 2016. Microsatellite markers in analysis of forest tree populations. W: Abdurakhmonov I. Y. [red.]. Microsatellite markers. Open Science INTECH, Croatia. 95-116.
- 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.
- Ralska-Jasiewiczowa M., Latalowa M., Wasylkowa K., Tobolski K., Madeyska E., Herbert E., Wright J., Turner C. 2004. Late glacial and holocene history of vegetation in Poland based on isopollen maps. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences. Cracow, Poland.
- Sabor J. 1993. Zmienność sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) i hodowlana wartość jej polskich proveniencji w warunkach siedliskowych Beskidu Sądeckiego. Zesz. Nauk. AR w Krakowie.
- Savolainen O., Pyhäjärvi T., Knürr T. 2007. Gene flow and local adaptation in trees. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 38 (1): 595-619.
- Sebastiani F., Pinzauti F., Kujala S. T., González-Martínez S. C., Vendramin G. G. 2012. Novel polymorphic nuclear microsatellite markers for *Pinus sylvestris* L. Conservation Genetics Resources 4 (2): 231-234.

- Skrzyszewski J. 2004. Charakterystyka morfologiczno-przyrostowa sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w polskiej części Karpat i Sudetów. Zesz. Nauk. AR w Krakowie.
- Soranzo N., Provan J., Powell W. 1998. Characterization of microsatellite loci in *Pinus sylvestris* L. Molecular Ecology 7 (9): 1260-1261.
- Szeligowski H., Buraczyk W., Drozdowski S., Gawron L. 2016. Zmienność sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w doświadczeniu serii IUFRO 1982 w Nadleśnictwie Rogów. Sylwan 160 (3): 230-237.
- Szweykowski J., Prus-Głowacki P., Hrynkiewicz J. 2014. The genetic structure of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) population from the top of Szezeliniec Wielki Mt., Central Sudetes. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 63 (3-4): 315-324.
- Wachowiak W., Trivedi U., Perry A., Cavers S. 2015. Comparative transcriptomics of a complex of four European pine species. BMC Genomics 16 (1): 234.
- Wójkiewicz B., Cavers S., Wachowiak W. 2016. Current approaches and perspectives in population genetics of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). Forest Science 62 (3): 343-354.
- Zhou Y., Bui T., Auckland L. D., Williams C. G. 2002. Undermethylated DNA as a source of microsatellites from a conifer genome. Genome 45 (1): 91-99.