

**ANDRZEJ LEWANDOWSKI, JAN KOWALCZYK, MONIKA LITKOWIEC,
LECH URBANIAK, MAREK RZOŃCA**

Wybór elitarnych drzew matecznych sosny zwyczajnej i modrzewia europejskiego do założenia plantacji nasiennych 1,5 generacji*

Selection of elite plus trees of Scots pine and European larch for the establishment of 1.5 generation seed orchards

ABSTRACT

Lewandowski A., Kowalczyk J., Litkowiec M., Urbaniak L., Rzońca M. 2017. Wybór elitarnych drzew matecznych sosny zwyczajnej i modrzewia europejskiego do założenia plantacji nasiennych 1,5 generacji. Sylwan 161 (11): 917-926.

Forest tree breeding is principally concerned with the improvement of growth, wood quality and vitality of tree species of economic interest. In Poland, breeding programs started in the second half of the twentieth century with the choice of plus trees to establish seed orchards. At present, seed orchards are a predominant source for the production of genetically improved seeds of conifers. In our country, Scots pine is the main forest tree, occupying almost 80% of the forest area. Annually, about 30,000 hectares of pines are artificially planted, with only a few percent of seeds coming from seed orchards. European larch is an important admixture tree species of economic significance in some areas, such as the Świętokrzyskie Mountains. Unlike Scots pine, as much as 60% of larch seeds used for artificial regeneration comes from seed orchards. There are 179 seed orchards in Poland, occupying area of 1140 ha, including 48 Scots pine and 30 European larch ones of 384 ha and 207 ha, respectively. All of them are only first generation and were established with vegetative propagules of plus trees selected in wild stands for their outstanding phenotype. Based on the results from the evaluation of plus trees in progeny trials, we selected 40 Scots pine and 40 European larch elite trees to establish 1.5-generation seed orchards. The selected trees were also characterized for their level of genetic variation with the use of nuclear microsatellite loci. We found that the examined trees have a high level of genetic variation. The mean number of alleles per locus and expected heterozygosity were 12.4 and 11.9, and 0.752 and 0.806, for Scots pine and European larch respectively. The calculated parameters are comparable to that observed in the populations of these species in Poland and other European countries. Established genetic profiles will be used in the future for controlling and monitoring the identity of elite trees in the process of creating archives of clones and seed plantations of next generation.

KEY WORDS

seed orchards, genetic gain, forest tree breeding

*Praca wykonana w ramach konsorcjum Dendrogen, przy wsparciu finansowym DGLP w Warszawie, jako projekt „Ocena istniejących powierzchni badawczych jako bazy selekcyjnej do wyboru drzew elitarnych i realizacji specjalnych programów hodowli selekcyjnej drzew leśnych”.

ADDRESSES

Andrzej Lewandowski ⁽¹⁾ – e-mail: alew@man.poznan.pl

Jan Kowalczyk ⁽²⁾ – e-mail: J.Kowalczyk@ibles.waw.pl

Monika Litkowiec ⁽¹⁾ – e-mail: mlit@man.poznan.pl

Lech Urbaniak ⁽³⁾ – e-mail: lechurb@vp.pl

Marek Rzońca ⁽²⁾ – e-mail: M.Rzonca@ibles.waw.pl

⁽¹⁾ Pracownia Biologii Molekularnej, Instytut Dendrologii PAN; ul. Parkowa 5, 62-035 Kórnik

⁽²⁾ Zakład Hodowli Lasu i Genetyki Drzew Leśnych, Instytut Badawczy Leśnictwa; Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn

⁽³⁾ Zakład Genetyki, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza; ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

Wstęp

Prognozy zapotrzebowania na drewno jednoznacznie wskazują, że w najbliższych latach niezbędna będzie intensyfikacja produkcji masy drzewnej. Realizacja programów z wykorzystaniem hodowli selekcyjnej może dostarczyć materiału, który w powiązaniu z odpowiednią jego uprawą pomoże zaspokoić przyszłe potrzeby. Hodowla selekcyjna w Lasach Państwowych rozpoczęła się w drugiej połowie XX wieku od programu wyboru drzew doborowych realizowanego przez Instytut Dendrologii PAN w Kórniku i programu wyboru drzewostanów nasiennych realizowanego przez Instytut Badawczy Leśnictwa. Z wybranych drzew założono też pierwsze plantacje nasienne. Po przejściu programu przez Instytut Badawczy Leśnictwa główny nacisk położono na selekcję populacyjną, która jest mniej efektywna pod kątem osiąganego zysku genetycznego w porównaniu do selekcji indywidualnej [Giertych 2006]. Kierunki postępu w dziedzinie genetycznego ulepszania drzew leśnych realizowane w Lasach Państwowych zawarte są w „Programie zachowania leśnych zasobów genowych i hodowli selekcyjnej drzew na lata 2011-2035” [Chałupka i in. 2011], który jest kontynuacją programu realizowanego w poprzednim dwudziestolecu.

Osiągnięcia hodowlane, będące wynikiem prowadzenia selekcji indywidualnej, jak dotąd nie znalazły szerszego wykorzystania w praktyce leśnej. Odnosi się to także do plantacji nasiennych. Obecnie w LP funkcjonuje 179 plantacji nasiennych o łącznej powierzchni 1140 ha, w tym: 48 sosnowych, o powierzchni 384 ha, i 30 modrzewiowych, o powierzchni 207 ha (informacja ustna DGLP). Są to wyłącznie plantacje pierwszej generacji, a zatem drzewa na nich rosnące pochodzą wyłącznie z wyboru fenotypowego. Do niedawna w Polsce nie prowadzono testowania potomstwa drzew matecznych rosnących na plantacjach nasiennych. W związku z tym niemożliwe było uzyskanie informacji o wartości hodowlanej tych drzew, a co za tym idzie utworzenie plantacji nasiennych kolejnych generacji.

Równocześnie z zakładaniem plantacji nasiennych na terenie Lasów Państwowych stworzono także obszerną sieć plantacyjnych upraw nasiennych (PUN), na których rośnie generatywne potomstwo drzew matecznych. Powierzchnie te można wykorzystać jako źródło informacji o tempie wzrostu i jakości potomstwa określonych drzew matecznych. W Polsce już wcześniej podejmowano próby wykorzystania PUN do testowania drzew matecznych [Kowalczyk 2007; Barzdajn i in. 2008], jednak wyniki tych prac tylko w bardzo niewielkim stopniu zostały wykorzystane w praktyce.

Celem badań był wybór drzew matecznych sosny zwyczajnej i modrzewia europejskiego na podstawie analizy ich potomstwa rosnącego na plantacyjnych uprawach nasiennych oraz w doświadczeniach rodowo-proweniencyjnych w celu założenia plantacji nasiennych 1,5 generacji (plantacje utworzone ze szczepów drzew matecznych, których potomstwo ma najlepsze parametry

wzrostowe na powierzchniach doświadczalnych). Wybrane drzewa zostały również przeanalizowane z zastosowaniem jądrowych loci mikrosatelitarnych celem określenia ich profilu genetycznego i poziomu zmienności genetycznej.

Material i metody

WYBÓR DRZEW ELITARNYCH SPOŚRÓD DRZEW MATECZNYCH. Przyjęto, że plantacja 1,5 generacji modrzewia europejskiego zostanie założona z drzew matecznych z regionu nasiennego Md61 (modrzew polski *Larix decidua* subsp. *polonica* (Racib.) Domin), a sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L) w oparciu o sosnę z regionu nasiennego So24 (tzw. sosna supraska). W przypadku sosny wykorzystano wyniki obserwacji przeżywalności i pomiaru wysokości drzewek z regionu północno-wschodniego, po 5 latach wzrostu na 4 uprawach testujących założonych w roku 2010 w nadleśnictwach Nurzec, Krynki, Pomorze i Maskulińskie. Uwzględniono również dane z doświadczenia rodowo-prowieniencyjnego IBL 2004 zawarte w opracowaniu Kowalczyka [2013] i wyniki pomiarów pierśnicy drzew z PUN nr IBL 31 w Krynkach. Dla modrzewia wykorzystano wyniki pomiarów pierśnicy i ocenę prostości strzały, szerokości korony oraz kąta wyrastania gałęzi na PUN o nr IBL: 1 Wyszków, 46 Świdnik, 67 Sieradz, 68 Brzeziny, 89 Kozienice i 90 Stąporków.

Na podstawie przeprowadzonych pomiarów wyliczono dla każdego drzewa jego wartość hodowlaną. Łącznie przeanalizowano 26 779 drzew będących potomstwem 130 drzew matecznych sosny oraz 7707 drzew będących potomstwem 290 drzew matecznych modrzewia. Wartość hodowlaną (breeding value) zdefiniowano jako uwarunkowaną genetycznie zdolność drzewa do przekazywania określonej cechy lub cech potomstwu [White i in. 2007].

Wyniki pomiarów i obserwacji zostały przeanalizowane według następującego modelu, oddzielnie dla każdej powierzchni (lokalizacji):

$$Y = M + Bk + Rm + En$$

gdzie:

- M – średnia ogólna dla doświadczenia,
- Bk – wpływ bloku k ,
- Rm – wpływ rodu m ,
- En – wpływ drzewa n w rodzie m (błąd).

Do obliczenia składników wariancji i efektów dla rodów, tzw. BLUP (ang. Best Linear Unbiased Prediction), wykorzystano procedury „lm” oraz „breedR” w środowisku programowym R [Munoz, Sanchez 2015]. Z obliczeniowego punktu widzenia metoda BLUP polega na tworzeniu tzw. układu równań najmniejszych kwadratów na podstawie przyjętego modelu liniowego, a następnie układu równań mieszanych zgodnie z teorią podaną przez Hendersona [1973] i opisaną dla zastosowań w doświadczalnictwie leśnym przez White'a i Hodge'a [1989].

Na podstawie analizy potomstwa rodów z wolnego zapylenia zostały obliczone na poszczególnych powierzchniach indeksy cząstkowe (będące wartościami BLUP), które następnie dodano, ważąc je subiektywnie przyjętymi wagami. Dla cech jakościowych i przeżywalności (tam, gdzie były one uwzględniane) wagi wynosiły 0,5, natomiast dla cech przyrostowych 1,0. Indeks ogólny BLUP obliczono według wzoru:

$$BLUP = (BLUP_{pow1} + BLUP_{pow2} + \dots + BLUP_{pown}) / N$$

gdzie:

- $BLUP_{pown}$ – suma ważonych indeksów dla powierzchni n ,
- N – liczba analizowanych powierzchni.

Wyboru rodów do założenia plantacji (po 40 na gatunek) dokonano jedynie na podstawie uszeregowania pod względem wartości BLUP.

ANALIZY MOLEKULARNE. Wybrane w trakcie analiz drzewa mateczne zostały zlokalizowane w terenie i latem 2015 roku pobrano z nich fragmenty pędów do analiz genetycznych. Izolację całkowitego DNA z tkanki roślinnej (igły) przeprowadzono według protokołu Dumolin i in. [1995]. Genotypy drzew sosny zwyczajnej zostały określone w oparciu o 10 loci mikrosatelitarnych w dwóch zaprojektowanych multipleksach: multipleks 1 – SSRPtctg4363 [Chagne i in. 2004], PtTx8446, PtTx3032, PtTx4001 [Elsik i in. 2000] i Spac7.14 [Soranzo i in. 1998] oraz multipleks 2 – Spac11.4 [Soranzo i in. 1998], PtTx3025 [Elsik i in. 2000], Pysl42, Pysl16 [Sebastiani i in. 2012] i PtTx4011 [Zhou i in. 2002]. Natomiast genotypy drzew modrzewia zostały określone w oparciu o 12 loci mikrosatelitarnych, także wchodzących w skład dwóch multipleksów: multipleks 1 – LD50, LD56, LD30 [Wagner i in. 2012], bcLK189, bcLK211, bcLK228 i bcLK253 [Isoda, Watanabe 2006] oraz multipleks 2: LD58, LD101, LD 42, LD45 [Wagner i in. 2012] i bcLK263 [Isoda, Watanabe 2006]. Reakcja PCR została przeprowadzona z zastosowaniem termocyklera Applied Biosystems Veriti Thermal Cycler i zestawu odczynników Qiagen Multiplex PCR kit firmy Qiagen. Warunki przebiegu reakcji PCR i mieszaninę reakcyjną przygotowano według procedury dostarczonej przez producenta.

Produkty amplifikowanych loci analizowano przy użyciu automatycznego sekwenatora ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems) według procedury dostarczonej przez producenta. Do odczytania otrzymanych wyników z elektroforezy kapilarnej pięciu mikrosatelitarnych loci zastosowano program GeneMapper® Software Version 4.0, który umożliwia odczytywanie wielkości fragmentów mikrosatelitarnych w porównaniu z wewnętrznym markerem wielkości LIZ600. Dodatkowe informacje na temat innych multipleksów i warunków reakcji PCR oraz szczegółowe zestawienie loci mikrosatelitarnych zarówno jądrowych, jak i chloroplastowych dla sosny zwyczajnej można znaleźć w pracy Żukowskiej i in. [2017].

Poziom zmienności genetycznej wyselekcjonowanych drzew matecznych określono w oparciu o średnią liczbę alleli w locus (A) oraz heterozygotyczność oczekiwaną (He) i obserwowaną (Ho). Do obliczeń wykorzystano programy FSTAT 2.9.3 [Goudet 2001] oraz INEST v.1.0 [Chybicki, Burczyk 2009].

Wyniki

Do założenia plantacji nasiennych 1,5 generacji wybrano po 40 drzew matecznych sosny zwyczajnej oraz modrzewia polskiego (tab. 1 i 2). Indeksy wartości hodowlanej zawierały się u sosny w znacznie szerszym zakresie niż w przypadku modrzewia i wynosiły od $-7,3$ dla drzewa matecznego nr 9295 do $11,38$ dla drzewa matecznego 264 (tab. 1). W przypadku modrzewia wynosiły od $-0,1$ dla drzewa matecznego 7000 do $4,67$ dla drzewa matecznego 7003 (tab. 2).

Wybrane drzewa mateczne charakteryzowały się w większości wysokim poziomem zmienności genetycznej. Średnia heterozygotyczność drzew matecznych zawierała się w zakresie od $0,200$ do $1,00$ dla sosny zwyczajnej i od $0,545$ do $0,909$ dla modrzewia (tab. 1, 2). Dla wybranych drzew matecznych sosny średnia liczba alleli w locus wynosiła $12,4$, a heterozygotyczność obserwowana $0,605$. W populacji stwierdzono prawie 20-procentowy nadmiar homozygot ($Fis=0,195$) (tab. 3). W przypadku modrzewia średnia liczba alleli w locus była również wysoka i wyniosła $11,9$. Średnia heterozygotyczność obserwowana była wyższa niż u sosny i wyniosła $0,770$. Podobnie jak u sosny, w populacji drzew matecznych modrzewia stwierdzono nadmiar homozygot, jednak był on znacznie mniejszy ($Fis=0,045$) (tab. 3).

Tabela 1.

Indeksy selekcyjne (BLUP), ranga według nich (Ranga) i średnia heterozygotyczność obserwowana (Ho) dla wybranych drzew matecznych sosny zwyczajnej

Breeding values (BLUP), resulting rank (Ranga) and mean observed heterozygosity (Ho) of selected Scots pine plus trees

Lp.	Nr IBL	Nr LMP	Nadleśnictwo	BLUP	Ranga	Ho
1	255	MP/3/32835/05	Supraśl	3,59	18	0,600
2	256	MP/3/32836/05	Supraśl	4,81	12	0,600
3	264	MP/3/32828/05	Supraśl	11,38	1	1,000
4	2435	MP/3/32808/05	Supraśl	7,39	4	0,600
5	2437	MP/3/32798/05	Supraśl	4,67	14	0,600
6	2440	MP/3/32795/05	Supraśl	6,70	6	0,600
7	3338	MP/3/32851/05	Supraśl	1,44	30	0,600
8	3339	MP/3/32839/05	Supraśl	3,36	21	0,500
9	3340	MP/3/32829/05	Supraśl	2,79	24	0,800
10	3343	MP/3/32831/05	Supraśl	5,79	10	0,400
11	3346	MP/3/32863/05	Supraśl	1,29	31	0,600
12	3347	MP/3/32864/05	Supraśl	4,71	13	0,400
13	3348	MP/3/32865/05	Supraśl	6,72	5	0,700
14	3351	MP/3/32860/05	Supraśl	0,73	36	0,600
15	3354	MP/3/32845/05	Supraśl	10,53	2	0,200
16	3355	MP/3/32853/05	Supraśl	1,28	32	0,600
17	3356	MP/3/32856/05	Supraśl	6,40	8	0,700
18	3357	MP/3/32862/05	Supraśl	7,68	3	0,500
19	3359	MP/3/32858/05	Supraśl	0,79	34	0,800
20	3407	MP/3/32824/05	Supraśl	0,25	38	0,400
21	3411	MP/3/32821/05	Supraśl	4,51	15	0,600
22	3412	MP/3/32819/05	Supraśl	1,95	27	0,800
23	3414	MP/3/32813/05	Supraśl	1,85	28	0,700
24	5594	MP/3/32802/05	Supraśl	2,07	26	0,500
25	5595	MP/3/32814/05	Supraśl	2,46	25	0,500
26	5597	MP/3/32816/05	Supraśl	2,87	23	0,600
27	5598	MP/3/32817/05	Supraśl	0,73	35	0,800
28	9291	MP/3/32827/05	Supraśl	3,64	17	0,800
29	9292	MP/3/32792/05	Supraśl	1,74	29	0,700
30	9293	MP/3/32800/05	Supraśl	3,29	22	0,400
31	9294	MP/3/32793/05	Supraśl	3,58	19	0,700
32	9295	MP/3/32818/05	Supraśl	-7,30	40	0,600
33	9296	MP/3/32810/05	Supraśl	0,89	33	0,800
34	9297	MP/3/32811/05	Supraśl	5,17	11	0,700
35	9298	MP/3/32812/05	Supraśl	4,27	16	0,800
36	9299	MP/3/32792/05	Supraśl	6,69	7	0,800
37	9300	MP/3/32804/05	Supraśl	-0,71	39	0,600
38	9301	MP/3/32803/05	Supraśl	3,53	20	0,400
39	9304	MP/3/32854/05	Supraśl	6,38	9	0,300
40	9305	MP/3/32818/05	Supraśl	0,49	37	0,400

Tabela 2.

Indeksy selekcyjne (BLUP), ranga według nich (Ranga) i średnia heterozygotyczność obserwowana (Ho) dla wybranych drzew matecznych modrzewia polskiego

Breeding values (BLUP), resulting rank (Ranga) and mean observed heterozygosity (Ho) of selected European larch plus trees

Lp.	Nr IBL	Nr LMP	Nadleśnictwo	BLUP	Ranga	Ho
1	4	MP/3/39677/05	Suchedniów	1,84	12	0,909
2	5	MP/3/39674/05	Suchedniów	0,25	34	0,818
3	16	MP/3/39622/05	Suchedniów	0,14	36	0,636
4	19	MP/3/39625/05	Suchedniów	1,18	22	0,818
5	22	MP/3/39626/05	Suchedniów	0,57	32	0,909
6	26	MP/3/39641/05	Suchedniów	0,06	37	0,545
7	30	MP/3/39658/05	Suchedniów	1,59	13	0,818
8	33	MP/3/39663/05	Suchedniów	-0,03	38	0,818
9	34	MP/3/39664/05	Suchedniów	1,53	14	0,818
10	35	MP/3/39651/05	Suchedniów	0,75	27	0,545
11	37	MP/3/39653/05	Suchedniów	2,33	8	0,909
12	133	MP/3/39620/05	Suchedniów	1,33	18	0,818
13	134	MP/3/39621/05	Suchedniów	0,69	29	0,818
14	136	MP/3/39648/05	Suchedniów	2,21	9	0,909
15	935	MP/3/39656/05	Suchedniów	1,43	16	0,727
16	1833	MP/3/39632/05	Suchedniów	1,10	24	0,909
17	1836	MP/3/39644/05	Suchedniów	2,41	7	0,818
18	1845	MP/3/39669/05	Suchedniów	0,71	28	0,727
19	1846	MP/3/39670/05	Suchedniów	2,97	5	0,909
20	1847	MP/3/39671/05	Suchedniów	2,04	11	0,818
21	1848	MP/3/39672/05	Suchedniów	1,18	21	0,909
22	1849	MP/3/39665/05	Suchedniów	0,81	25	0,545
23	1850	MP/3/39666/05	Suchedniów	1,26	19	0,818
24	4078	MP/3/39851/05	Stąporków	1,25	20	0,545
25	4079	MP/3/39852/05	Stąporków	1,17	23	0,545
26	4090	MP/3/39634/05	Suchedniów	0,15	35	0,727
27	4096	MP/3/39645/05	Suchedniów	1,34	17	0,727
28	4097	MP/3/39635/05	Suchedniów	1,50	15	0,818
29	4099	MP/3/39649/05	Suchedniów	-0,05	39	0,909
30	7000	MP/3/39607/05	Suchedniów	-0,10	40	0,818
31	7001	MP/3/39608/05	Suchedniów	0,81	26	0,909
32	7002	MP/3/39609/05	Suchedniów	3,66	4	0,818
33	7003	MP/3/39610/05	Suchedniów	4,67	1	0,727
34	7004	MP/3/39611/05	Suchedniów	4,00	3	0,636
35	7005	MP/3/39612/05	Suchedniów	4,10	2	0,636
36	7006	MP/3/39606/05	Suchedniów	0,33	33	0,727
37	7013	MP/3/39867/05	Stąporków	0,57	31	0,818
38	7017	MP/3/39871/05	Stąporków	2,51	6	0,818
39	7694	MP/3/39894/05	Stąporków	0,66	30	0,727
40	7696	MP/3/39888/05	Stąporków	2,11	10	0,727

Tabela 3.

Liczba alleli (A), heterozygotyczność oczekiwana (He) i obserwowana (Ho), wsobność (Fis) oraz częstość alleli zerowych (N0 [%]) wybranych drzew matecznych sosny zwyczajnej (So) i modrzewia polskiego (Md)
 Number of alleles (A), expected (He) and observed (Ho) heterozygosity, inbreeding coefficient (Fis) and null allele frequency (N0 [%]) for selected Scots pine (So) and European larch (Md) plus trees

Locus	A	He	Ho	Fis	N0 (%)
So					
Spac11.4	13	0,862	0,800	0,072	4,7
PtTX3025	8	0,584	0,575	0,016	5,1
Psyl42	3	0,462	0,150	0,675	28,2
PtTx4011	6	0,691	0,550	0,204	13,1
Psyl16	7	0,776	0,725	0,066	4,6
Ptctg4363	7	0,675	0,575	0,148	9,5
PtTx4001	8	0,687	0,300	0,564	22,0
PtTX8446	11	0,848	0,825	0,028	3,6
PtTX3032	31	0,968	0,875	0,096	4,6
Spac7.14	30	0,962	0,675	0,299	14,2
Średnia Mean	12,4	0,752	0,605	0,195	11,0
Md					
LD31	15	0,868	0,900	-0,037	2,4
LK228	17	0,918	0,825	0,103	6,0
LK189	10	0,822	0,800	0,027	3,5
LK253	12	0,772	0,850	-0,102	2,1
LD50	14	0,879	0,769	0,126	8,8
LD58	13	0,887	0,850	0,042	3,6
LD45	7	0,780	0,800	-0,026	2,9
LD42	8	0,763	0,775	-0,016	3,4
LK101	4	0,400	0,350	0,126	8,1
LD56	12	0,870	0,800	0,081	5,5
LD263	19	0,902	0,750	0,171	8,0
Średnia Mean	11,9	0,806	0,770	0,045	4,9

Dyskusja

Sosna zwyczajna zajmuje prawie 80% powierzchni lasów w Polsce. Na obszarze naszego kraju corocznie odnawia się sztucznie sosną około 30 tys. ha, przy czym tylko kilka procent nasion pochodzi z plantacji nasiennych. Z kolei modrzew europejski jest ważnym gatunkiem domieszkowym, a w niektórych rejonach (np. w Górach Świętokrzyskich, gdzie występują drzewostany z 20-30% udziału odmiany tego modrzewia – modrzewiem polskim) stanowi ważny gatunek produkcyjny. Przy tym aż 60% nasion modrzewia stosowanych do odnowień pochodzi z plantacji nasiennych. Jednak są to plantacje wyłącznie pierwszej generacji, a wiele z nich jest już dość starych i przerośniętych, co utrudnia zbiór nasion. Istnieje więc pilna potrzeba założenia nowych plantacji nasiennych, najlepiej kolejnych generacji, które pozwolą na osiągnięcie większego zysku genetycznego, podobnie jak to od dawna robi się w innych krajach. Na przykład szacuje się, że w Finlandii zrealizowany zysk genetyczny dla sosny na średniej miąższości drzew dla materiału pochodzącego z plantacji nasiennych pierwszej i 1,5 generacji jest wyższy odpowiednio o 11,5 i 23,9% w stosunku do materiału z drzewostanu gospodarczego [Haapanen i in. 2016].

W wyniku przeprowadzonych badań wybrano po 40 drzew matecznych sosny i modrzewia europejskiego do założenia plantacji nasiennych 1,5 generacji, zgodnie z obowiązującymi zasadami, według których w Polsce na plantacji nasiennej powinny być obecne szczepy z co najmniej 40 drzew matecznych w przypadku sosny i 30 w przypadku modrzewia [Zarządzenie... 2013]. W zależności od kraju przyjmuje się różną liczebność klonów, które powinny znajdować się na plantacjach nasiennych [Ivetić i in. 2016]. Dla Finlandii Koski [2000] proponuje liczbę nie mniejszą niż 40. Z kolei Lindgren i Prescher [2005] podają dla Szwecji liczbę tylko 20 klonów. Należy przy tym pamiętać, że postawione cele hodowlane muszą być kompromisem pomiędzy funkcją produkcyjną i pozaprodukcyjną przyszłych lasów. Intensywna selekcja prowadząca do polepszenia cech przyrostowych wymaga ograniczenia liczby klonów, ponieważ osiągnąwszy zysk genetyczny wzrasta wraz z większą intensywnością selekcji, a więc ze spadkiem liczby wybranych drzew [Danusevicius, Lindgren 2002; Funda i in. 2009]. Wiąże się to często z ograniczeniem zmienności genetycznej. Z drugiej strony utrzymanie wysokiego poziomu zmienności genetycznej może mieć szczególne znaczenie w adaptacji gatunku do zmian zachodzących w środowisku [Muller-Starck 1995]. Różnorodność genetyczna populacji jest ponadto podstawowym źródłem zmienności wykorzystywanej przez człowieka w programach selekcyjnych.

Jak należało się spodziewać, ze względu na wczesny etap selekcji wybrane drzewa mateczne cechuje wysoki poziom zmienności genetycznej, porównywalny do tego, jaki notuje się dla populacji tych gatunków w Polsce i innych krajach Europy [Lewandowski, Burczyk 2000; Nardin i in. 2015; Wójkiewicz i in. 2016]. Stosunkowo wysoki poziom wsobności wśród drzew matecznych u sosny zwyczajnej należy tłumaczyć głównie wysoką wartością tzw. alleli zerowych (brak amplifikacji DNA) w niektórych loci (do 0,282 w locus Psy124). Obecność alleli zerowych w populacjach uniemożliwia prawidłową ocenę liczby heterozygot, zawyżając liczbę homozygot. Ustalone profile genetyczne będą w przyszłości wykorzystane głównie jako mechanizm kontroli i monitorowania tożsamości (paszport genetyczny) drzew elitarnych w procesie tworzenia archiwów klonów i plantacji nasiennych kolejnych generacji oraz kontroli poprawności prowadzonych krzyżowań.

Obowiązujące w Polsce przepisy w sprawie szczegółowych wymagań, jakie powinien spełniać leśny materiał podstawowy [Rozporządzenie... 2004], nie pozwalają na wybór drzew do dalszej selekcji w wieku poniżej 80 lat dla sosny i 60 lat dla modrzewia. W związku z tym nie można założyć plantacji 2 generacji w oparciu o najlepsze potomstwo wybranych drzew matecznych rosnące na plantacyjnych uprawach pochodnych, lecz jedynie plantacje nasienne 1,5 generacji, wykorzystując szczepy z drzew matecznych, których potomstwo ma najlepsze walory przyrostowe (selekcja wsteczna). Należałoby jak najszybciej doprowadzić do zmiany tej regulacji, gdyż taka procedura wydłuża efektywność procesu selekcyjnego, uniemożliwiając praktyczne wykorzystanie wyników testów wczesnych. Nasiona z plantacji kolejnych generacji powinny być wykorzystywane głównie do zakładania upraw, których podstawowym celem jest intensywna produkcja drewna w skróconym cyklu. W związku z tym wskazana jest selekcja oparta na wynikach testów potomstwa uzyskanych w wieku niższym od zapisanego w obowiązujących przepisach.

Wiele doniesień literaturowych wskazuje na skuteczność stosowania testów wczesnych w działaniach hodowlanych, jakkolwiek niektórzy autorzy zwracają uwagę na konieczność zachowania ostrożności w ich wykorzystywaniu ze względu na niejednoznaczne wyniki. Skuteczność tych testów może być odmienna w zależności od badanego gatunku drzewa. Uwarunkowana jest także środowiskiem, wielkością analizowanego materiału, różnym czasem hodowli i selekcji oraz zastosowanymi zabiegami hodowlanymi [Wakeley 1971; Giertych 1976; Lambeth, Greenwood 1987; Magnussen, Yanchuk 1993; Wu 1998; Adams i in. 2001; Jansson i in. 2003].

Na pełne wykorzystanie potencjału produkcyjnego wyselekcjonowanego materiału nie pozwalają w Polsce także restrykcyjne zasady regionalizacji nasiennej, ukierunkowane raczej na zachowanie odrębności wybranych populacji i w niewielkim stopniu wykorzystujące współczesną wiedzę genetyczną. Ze względów organizacyjnych i finansowych trudno sobie wyobrazić prowadzenie skutecznej i intensywnej selekcji indywidualnej na potrzeby poszczególnych regionów nasiennych. Prawdopodobnie powyższe uwarunkowania oraz niewystarczająca kapitalizacja zysku genetycznego przyczyniają się do krytyki obecnego sposobu prowadzenia hodowli selekcyjnej w Polsce.

Podsumowanie

Na podstawie analizy potomstwa drzew matecznych rosnącego na PUN oraz w doświadczeniach rodowo-prowieniencyjnych wybrano po 40 drzew matecznych sosny zwyczajnej i modrzewia europejskiego charakteryzujących się najwyższymi wartościami indeksów hodowlanych. Wybrane drzewa zostały również przeanalizowane z zastosowaniem jądrowych loci mikrosatelitarnych celem określenia ich profilu genetycznego i poziomu zmienności genetycznej. Zebrano z nich w 2014 roku zrazy do szczepień, a następnie przeprowadzono szczepienia. Z wyhodowanego materiału zostały założone wiosną 2017 roku pierwsze w Polsce dwie plantacje nasienne 1,5 generacji, po jednej dla sosny i modrzewia.

Literatura

- Adams W. T., Aitken S. N., Joyce D. G., Howe G. T., Vargas-Hernandez J. 2001. Evaluating efficacy of early testing for stem growth in coastal Douglas-fir. *Silvae Genetica* 50: 167-175.
- Barzdajn W., Jeleniewski M., Kuss M. 2008. Próba wykorzystania rodowej plantacji nasiennej sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) do testowania drzew matecznych. *Leś. Pr. Bad.* 69 (1): 27-40.
- Chagne 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.
- Chałupka W., Matras J., Barzdajn W., Blonkowski S., Bureczyk J., Fonder W., Grądzki T., Gryzłó Z., Kacprzak P., Kowalczyk J., Koziół C., Pytko T., Rzońca Z., Sabor J., Szeląg Z., Tarasiuk S. 2011. Program zachowania leśnych zasobów genowych i hodowli selekcyjnej drzew w Polsce na lata 2011-2035. CILP, Warszawa.
- Chybicki I. J., Bureczyk J. 2009. Simultaneous estimation of null alleles and inbreeding coefficients. *Journal of Heredity* 100: 106-113.
- Danusevicius D., Lindgren D. 2002. Two-stage selection strategies in tree breeding considering gain, diversity, time and cost. *Forest Genetics* 9: 147-159.
- Dumolin S., Demesure B., Petit R. J. 1995. Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 1253-1256.
- 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* 43: 550-555. DOI: 10.1139/g00-002.
- Funda T., Lstiburek M., Lachout P., Klápšte J., El-Kassaby Y. A. 2009. Optimization of combined genetic gain and diversity for collection and deployment of seed orchard crops. *Tree Genetics and Genomes* 5: 583-593.
- Giertych M. 1976. Progeny tests. W: Przybylski T., Giertych M., Białobok S. [red.]. *Genetics of Scots pine (Pinus sylvestris L.)*. Zagreb. 72-75.
- Giertych M. 2006. Pozytywne oddziaływanie człowieka na strukturę genetyczną drzew leśnych. W: Sabor J. [red.]. *Elementy genetyki i hodowli selekcyjnej drzew leśnych*. CILP, Warszawa. 429-437.
- Goudet J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Version 2.9.3.
- Haapanen M., Hynynen J., Ruotsalainen S., Siipilehto J., Kilpelainen M.-L. 2016. Realised and projected gains in growth, quality and simulated yield of genetically improved Scots pine in southern Finland. *Eur. J. Forest Res.* 135: 997-1009.
- Henderson C. R. 1973. Sire evaluation and genetic trends. W: *Proceedings of the Animal Breeding and Genetics Symposium in Honour of J.L. Lush*. 10-41.
- Isoda K., Watanabe A. 2006. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Larix kaempferi*. *Molecular Ecology* 6: 664-666.

- Ivetić V., Devetaković J., Nonić M., Stanković D., Šijačić-Nikolić M. 2016. Genetic diversity and forest reproductive material – from seed source selection to planting. *iForest Biogeosciences and Forestry* 9: 801-812.
- Jansson G., Li B., Hannrup B. 2003. Time trends in genetic parameters for height and optimal age for parental selection in Scots Pine. *For. Sci.* 49: 696-705.
- Koski V. 2000. A note on genetic diversity in natural populations and cultivated stands of Scots pine *Pinus sylvestris* L. *Investigacion Agraria, Sistemas y Recursos Forestales (Fuera de Serie 1)*: 89-95.
- Kowalczyk J. 2007. Combining production of improved seeds with genetic testing in seedling seed orchards. W: Lindgren D. [red.]. *Proceedings of a Seed Orchard Conference*. Umeå, Sweden. 26-28.
- Kowalczyk J. 2013. Międzypokoleniowa zmienność struktury genetycznej wybranych drzewostanów sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.). *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa. Rozprawy i Monografie* 19: 136.
- Lambeth C. C., Greenwood M. S. 1987. Accelerated breeding and testing of Loblolly pine in the southern USA. *For. Tree Improv.* 20: 27-44.
- Lewandowski A., Burczyk J. 2000. Mating system and genetic diversity in natural populations of European larch (*Larix decidua*) and Stone pine (*Pinus cembra*) located at higher elevations. *Silvae Genetica* 49: 158-161.
- Lindgren D., Prescher F. 2005. Optimal clone number for seed orchards with tested clones. *Silvae Genetica* 54: 80-92.
- Magnussen S., Yanchuk A. D. 1993. Selection age and risk: Finding the compromise. *Silvae Genetica* 42: 25-40.
- Muller-Starck G. 1995. Protection of genetic variability in forest trees. *Forest Genetics* 2: 121-124.
- Munoz F., Sanchez L. 2015. breedR: Statistical methods for forest genetic resources analysts. R package version 0.11-3.
- Nardin M., Musch B., Rousselle Y., Guerin V., Sanchez L., Rossi J-P., Gerber S., Marin S., Paques L. E., Rozenberg P. 2015. Genetic differentiation of European larch along an altitudinal gradient in the French Alps. *Annals of Forest Science* 72: 517-527.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 23 kwietnia 2004 r. w sprawie szczegółowych wymagań, jakie powinien spełniać leśny materiał podstawowy. 2004. *Dz. U. Nr 100, poz. 1026*.
- 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: 231-234. DOI: 10.1007/s12686-011-9513-5.
- Soranzo N., Provan J., Powell W. 1998. Characterization of microsatellite loci in *Pinus sylvestris* L. *Molecular Ecology* 7: 1260-1261.
- Wagner S., Gerber S., Petit R. J. 2012. Two highly informative dinucleotide SSR multiplexes for the conifer *Larix decidua* (European larch). *Molecular Ecology Resources* 4: 717-725.
- Wakeley P. C. 1971. Relation of thirtieth-year to earlier dimensions of southern pines. *For. Sci.* 17 (2): 200-209.
- White T. L., Adams W. T., Neale D. B. 2007. *Forest genetics*. CABI.
- White T. T. L., Hodge G. G. R. 1989. *Predicting breeding values with applications in forest tree improvement*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
- Wójkiewicz B., Litkowiec M., Wachowiak W. 2016. Contrasting patterns of genetic variation in core and peripheral populations of highly outcrossing and wind pollinated forest tree species. *AoB PLANTS* 8: plw054. DOI: 10.1093/aobpla/plw054.
- Wu H. X. 1998. Study of early selection in tree breeding. 1. Advantage of Early selection through increase of selection intensity and reduction of field test size. *Silvae Genetica* 47: 146-155.
- Zarządzenie nr 29 Dyrektora Generalnego Lasów Państwowych z dnia 21 marca 2013 r. w sprawie ochrony leśnych zasobów genowych na potrzeby nasiennictwa i hodowli drzew leśnych. 2013. Znak: ZH-7132-7/2013.
- Zhou Y., Bui T., Auckland L. D., Williams C. G. 2002. Undermethylated DNA as a source of microsatellites from a conifer genome. *Genome* 45: 91-99. DOI: 10.1139/g01-119.
- Żukowska W. B., Wójkiewicz B., Litkowiec M., Wachowiak W. 2017. Cross-amplification and multiplexing of cpSSRs and nSSRs in two closely related pine species (*Pinus sylvestris* L. and *P. mugo* Turra). *Dendrobiology* 77: 59-64.