

ARTUR DZIAŁUK, JAROSŁAW CZARNECKI, ROMAN GOUT, MACIEJ FILIPIAK

Pochodzenie jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) z Nadleśnictwa Osusznica w świetle badań DNA cytoplazmatycznego – ostoja jodły sudeckiej na Pomorzu?

Origin of silver fir (*Abies alba* Mill.) from Osusznica Forest District revealed by cytoplasmic DNA markers – refugium of Sudety fir in Pomerania?

ABSTRACT

Działuk A., Czarnecki J., Gout R., Filipiak M. 2013. Pochodzenie jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) z Nadleśnictwa Osusznica w świetle badań DNA cytoplazmatycznego – ostoja jodły sudeckiej na Pomorzu? Sylwan 157 (2): 139-148.

Genetic markers in mitochondrial and chloroplast DNA were analysed to determine the native status and possibly trace the origin of the silver fir (*Abies alba* Mill.) growing outside this species natural range in Osusznica Forest District (northern Poland). The provenance of the extralimital populations were determined through comparison with reference samples from the native range of silver fir in Poland and Ukraine. Our results suggest that the Sudety Mts. are the most probable region of the origin of fir from Osusznica. It also seems that the plus seed stands in Osusznica can be treated as a valuable archive of the genetic resources of the fir from the Sudety and, if necessary, may support program of this species restitution.

KEY WORDS

origin of silver fir, *Abies alba*, mt DNA, cp DNA, genetic markers

ADDRESSES

Artur Działuk ⁽¹⁾ – e-mail: dzialuk@ukw.edu.pl

Jarosław Czarnecki ⁽²⁾ – e-mail: jaroslaw.czarnecki@szczecinek.lasy.gov.pl

Roman Gout ⁽³⁾ – e-mail: romangout@gmail.com

Maciej Filipiak ⁽⁴⁾ – e-mail: mfil@man.poznan.pl

⁽¹⁾ Katedra Genetyki; Uniwersytet Kazimierza Wielkiego; ul. Chodkiewicza 30; 85-064 Bydgoszcz

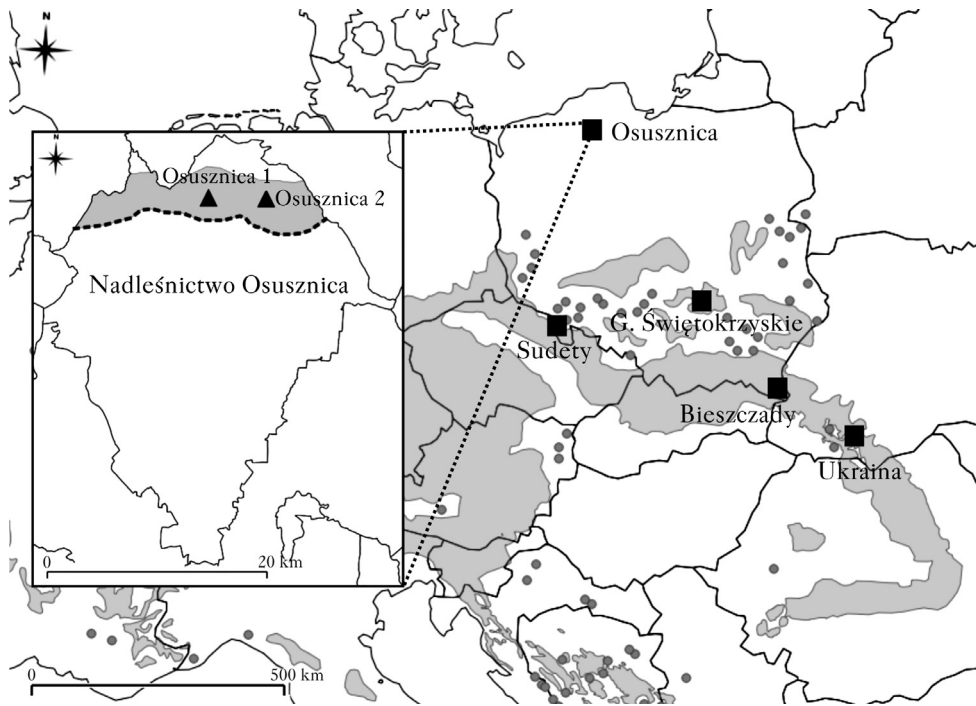
⁽²⁾ Nadleśnictwo Osusznica; Osusznica 3, 77-130 Lipnica

⁽³⁾ Laboratorium Molekularnych Markerów DNA Roślin; Narodowy Leśno-Techniczny Uniwersytet Ukrainy; ul. Gen. Chuprynki 103; 79057 Lwów

⁽⁴⁾ Pracownia Systematyki i Geografii; Instytut Dendrologii PAN; ul. Parkowa 5; 62-035 Kórnik

Wstęp

Jodła pospolita (*Abies alba* Mill.) występuje głównie na terenach wyżynnych i górskich Europy, wyłączając Skandynawię. Jej zasięg jest rozerwany na różnej wielkości wyspy wokół masywów górskich [Boratyński 1983]. W Polsce jego północno-wschodnia granica biegnie mniej więcej wzdłuż równoleżnika 52°N, przechodząc przez północne krańce Niziny Śląskiej, Pasa Wyżyn Środkowych i Niziny Mazowiecko-Podlaskiej (ryc. 1). Są to jednocześnie tereny, gdzie jodła zajmuje najniższej położone obszary w całym swoim zasięgu [Bernadzki 2008].



Ryc. 1.

Lokalizacja badanych populacji na tle zasięgu występowania jodły pospolitej w Europie
 Location of studied populations and borders of natural range of silver fir in Europe

Stanowiska jodły pospolitej poza granicami jej naturalnego zasięgu w Polsce koncentrują się w północno-zachodniej części kraju, w Bałtyckiej i Wielkopolsko-Pomorskiej krainie przyrodniczo-leśnej [Robakowski i in. 2005]. Na styku tych krain leży Nadleśnictwo Osusznica (RDLP Szczecinek), gdzie drzewostany, w których występuje jodła (także miejscowo i pojedynczo), zajmują łącznie 493,96 ha, z czego 28,34 ha to drzewostany w pierwszej klasie wieku (tj. poniżej 20 lat). Jodła „osusznicka” rośnie w pasie o długości 20 km i szerokości 2 km, przedzielonym drogą wojewódzką nr 212 (ryc. 1). Po stronie zachodniej drzewostany jodłowe są młodsze o około 5 lat (aktualny wiek 113 lat) i występują na obszarze 282,10 ha. W części wschodniej jodła występuje w większym rozdrobieniu i rozpiętości wiekowej (od 118 do 123 lat, a miejscowo nawet 132 lat), zajmując powierzchnię 211,86 ha. Nadleśnictwo posiada Gospodarce Drzewostany Nasienne (GDN) jodły o łącznej powierzchni 10,66 ha oraz dwa Wyłączone Drzewostany Nasienne (WDN) jodły rosnące na obszarze 23,15 ha. Podkreślić należy, że są to jedyne WDN jodłowe w północnej oraz częściowo środkowej Polsce. Drzewostany z jodłą w Nadleśnictwie Osusznica bardzo przypominają lasy karpackie, świętokrzyskie i sudeckie, a ich skład jest na ogół zgodny z wytycznymi ujętymi w Zasadach Hodowli Lasu [2011]. Szczególnie wyróżnia się obręb Sierzno, gdzie jodła występuje w różnym zmieszaniu i, co najważniejsze, odnawia się naturalnie.

Od ponad dwustu lat obserwuje się ciągły spadek udziału jodły w składzie lasów europejskich. W Polsce gatunek ten w największym stopniu ustępował na Wyżynie Śląskiej, w Sudetach i w Górach Świętokrzyskich [Sugiero 2005]. Ekotyp jodły sudeckiej jest obecnie zagrożony całkowitym wyginieciem w wyniku eksterminacji gatunku [Boratyński, Filipiak 1997; Raj 2008]. Aby temu zapobiec, Lasy Państwowe oraz sudeckie parki narodowe realizują programy

restytucji jodły, wykorzystując do tego celu plantacje nasienne, w ramach których posadzono szczypty niespełna 2000 „drzew zachowawczych” wybranych w różnych rejonach Sudetów.

Pomimo doskonałej kondycji drzewostanów, występowanie jodły na Pomorzu, w odległości około 200 km na północ od granicy naturalnego zasięgu tego gatunku, budzi ogromne emocje w środowisku leśników i naukowców, a zwłaszcza ekologów. Bez wątpliwości pochodzenie jodły z Nadleśnictwa Osusznica ma charakter antropogeniczny. Miś [1988] podaje, że pochodzi ona z ręcznego siewu w bruzdy pod okapem dębu. Niestety, pochodzenie nasion użytych do wysiewu jest nieznane. Można jedynie przypuszczać, że najbardziej prawdopodobnym ich źródłem mogły być populacje z terenu Cesarstwa Niemieckiego, w tym Sudety, gdzie istnienie jodły, pomimo wzmoczonych wysiłków człowieka, jest wciąż zagrożone.

Celem badań było porównanie poziomu zmienności genetycznej w DNA chloroplastowym jodły pospolitej ze sztucznych nasadzeń w Nadleśnictwie Osusznica oraz w naturalnym zasięgu występowania tego gatunku w Polsce i na Ukrainie. Wysiane przez człowieka, przestrzennie izolowane populacje jodły występujące na Pomorzu mogą charakteryzować się obniżoną zmiennością genetyczną, będącą skutkiem dryfu genetycznego i efektu założyciela. Dodatkowo, podjęto próbę ustalenia najbardziej prawdopodobnego pochodzenia nasion użytych do wysiewu w Osusznicy, zakładając wykorzystanie drzew matecznych z Sudetów, Gór Świętokrzyskich, Bieszczad lub Karpat Wschodnich (Ukraina). Wykorzystano do tego markery genetyczne w DNA cytoplazmatycznym, które są szeroko stosowane w badaniach filogeograficznych jodły pospolitej [Vendramin i in. 1999; Liepelt i in. 2002, 2009; Gömöry i in. 2004; Piovani i in. 2010].

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 460 jodłach reprezentujących 13 populacji z terenów Polski oraz Ukrainy (tab.). Wśród nich były populacje naturalne pochodzące z Karpat Wschodnich (Ukraina i Bieszczady), Sudetów i Gór Świętokrzyskich oraz dwie populacje antropogeniczne reprezentujące zachodnią (oddziały 225, 246, 247, 244) oraz wschodnią (oddziały 96, 113, 117) część Nadleśnictwa Osusznica.

Izolację totalnego DNA przeprowadzono metodą CTAB [Doyle, Doyle 1990] z 50 mg igieł rozdrobnionych w homogenizatorze MM200 (Retsch). Rozcieńczenia DNA o stężeniu 10 ng/μl wykonano przy użyciu kalkulatora DNA (Biophotometer, Eppendorf). Przetestowano polimorfizm 17 loci mikrosatelitarnych w DNA chloroplastowym (cpSSR): Pt 26081, Pt 45002, Pt 36480, Pt 30204, Pt 15169, Pt 71936, Pt 63718, Pt 9383, Pt 79951, Pt 110048 [Vendramin i in. 1996], PCP 1289, PCP 41131, PCP 48256, PCP 102652, PCP 87314, PCP 100842 [Provan i in. 1998] oraz Pt 30141 i Pt 30249 [Liepelt i in. 2001]. Spośród nich wybrano pięć, które dawały produkty wyraźne, powtarzalne i polimorficzne. Amplifikowano je w dwóch reakcjach multipleks PCR, stosując odczynniki Core Kit (Qiagen): Pt 30141, Pt 71936, Pt 63718 w stężeniu 0,035 mM każdy, Pt 30249 (0,1 mM) oraz Pt 15169 (0,05 mM). Stężenie pozostałych składników reakcji PCR były jednakowe w obu przypadkach: bufor (1×), MgCl₂ (2 mM), dNTP (0,2 mM), BSA (5 μg/μl), polimeraza Taq (0,025 U) i DNA (10 ng). Amplifikację mitochondrialnego locus nad5-4 przeprowadzono na odczynnikach Multiplex Master Mix (Qiagen) zgodnie z instrukcją producenta. Reakcje PCR przeprowadzono w termocyklerze PTC-200 MJ Research, w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 μl, wykorzystując następujący profil termiczny: denaturacja wstępna w 94°C przez 5 min., a potem 30 cykli obejmujących denaturację w 94°C przez 30 s, annealing w 50°C przez 1 min oraz elongację w 72°C przez 1 min. Następnie końcowe wydłużanie w 72°C przez 10 min. Badania zmienności DNA mitochondrialnego przeprowadzono w oparciu o analizę locus nad5-4, zgodnie z procedurą opisaną w pracy Liepelt i in. [2002]. Produkty reakcji PCR

Tabela.

Lokalizacja, wielkość próby (N) oraz liczba haplotypów (A) i zmienność haplotypowa (H_{cp}) badanych populacji jodły pospolitej

Location, sample size (N), number of haplotypes (A) and haplotypic diversity (H_{cp}) of analysed silver fir populations

Populacja	Nadleśnictwo	Długość geogr. [°E]	Szerokość geogr. [°N]	N [szt.]	A	A/N	H_{cp}
Bieszczady 1	Lutowiska	22,69	49,27	35	23	0,66	0,968
Bieszczady 2	Lesko	22,34	49,44	37	22	0,59	0,935
Bieszczady 3	Cisna	22,33	49,20	35	20	0,57	0,941
Razem				107	49	0,46	0,961
Sudety 1	Kamienna Góra (leśnictwo Lubawka)	16,03	50,70	30	14	0,47	0,851
Sudety 2	Zdroje	16,50	50,40	34	21	0,62	0,945
Sudety 3	Kamienna Góra (leśnictwo Dobromyśl)	16,11	50,68	30	16	0,53	0,924
Razem				94	40	0,43	0,918
G. Świętokrzyskie 1	Suchedniów	20,98	51,04	30	22	0,73	0,966
G. Świętokrzyskie 2	Rezerwat Dalejów	20,68	51,07	30	18	0,60	0,949
Razem				60	36	0,60	0,960
Osusznica 1	Osusznica (W)	17,38	53,97	40	24	0,60	0,940
Osusznica 2	Osusznica (E)	17,43	53,97	53	12	0,23	0,887
Razem				93	31	0,33	0,925
Ukraina 1	Ust Cziorna	24,04	48,43	36	22	0,61	0,965
Ukraina 2	Tatariv	24,57	48,30	34	28	0,82	0,982
Ukraina 3	Rahiv	24,48	48,10	36	21	0,58	0,949
Razem				106	55	0,52	0,971

analizowano na sekwenatorze ABI Prism 3130xl (Applied Biosystems), wykorzystując marker wielkości LIZ 600 (Applied Biosystems). Wielkości produktów określano za pomocą programów GENESCAN software ver. 3.7 oraz Genotyper ver 3.7 (Applied Biosystems).

Na bazie danych uzyskanych z sekwenatora zdefiniowano allele, stosując procedurę opisaną przez Idury i Cardon [1997]. Allele w pięciu loci cpSSR łączono w haplotypy. Parametry zmienności genetycznej (liczba haplotypów A i zmienność haplotypowa H_{cp}) obliczono za pomocą programu GenAlEx [Peakall, Smouse 2006]. Dla każdej populacji policzono również stosunek liczby haplotypów do liczby osobników w populacji (A/N). Na podstawie 10 000 matryc dystansu genetycznego Goldsteina i in. [1995] pomiędzy populacjami obliczonych za pomocą programu PowerMarker [Liu, Muse 2005], wykreślono dendrogram UPGMA, stosując programy CONSENSE i DRAWTREE w pakiecie PHYLIP [Felsenstein 1989]. Do oceny rzetelności dendrogramu wykorzystano technikę samopróbkowania. Analizę potencjalnej struktury geograficznej przeprowadzono, wykorzystując techniki: a) przestrzennej analizy wariacji molekularnej (SAMOVA) zaimplementowanej w programie SAMOVA 1.0 [Dupanloup i in. 2002], b) analizy Bayesowskiej w układzie przestrzennym (ang. spatial genetic mixture analysis) w programie BAPS ver. 5.1 [Corander i in. 2003] oraz c) analizy barier genetycznych, wykorzystując algorytm Monmoniera w programie Barrier 2.2 [Manni i in. 2004].

Wyniki

W pięciu analizowanych loci zaobserwowano łącznie 35 alleli, które spośród 5184 możliwych kombinacji utworzyły w badanych populacjach jodły 126 haplotypów (tab.). Populacje pocho-

dzące z nasadzeń w Nadleśnictwie Osusznica charakteryzowały się skrajnymi wartościami poziomu zmienności genetycznej. W populacji z części zachodniej zaobserwowano bardzo wysoką liczbę haplotypów (24), przy najwyższej w populacji Ukraina 2 (28) oraz stosunkowo wysoki poziom zmienności haplotypowej. Z kolei populacja z części wschodniej charakteryzowała się najmniejszą liczbą haplotypów (12) oraz bardzo niską zmiennością haplotypową (0,887), przy czym oba parametry zbliżone były do wartości obserwowanych w populacjach Sudety 1 i Sudety 3. Duże różnice pomiędzy populacjami osusznickimi zaobserwowano także w wartości A/N, która określa część haplotypu, spośród ogólnej liczby obserwowanej w danej grupie osobników, przypadającą na pojedyncze drzewo. W populacji Osusznica 2 parametr ten osiągnął najniższą wartość spośród wszystkich badanych populacji, podczas gdy w populacji Osusznica 1 jego wartość była porównywalna do populacji naturalnych. Dendrogram UPGMA wykazał grupowanie się populacji pochodzących z Osusznicy z populacjami Sudety 1 oraz Sudety 3 (Nadleśnictwo Kamienna Góra). Wyraźnie odmienną grupę stanowią populacje ukraińskie wraz z najbardziej południową populacją z Bieszczad (Bieszczady 1). Trzeci klaster składa się z populacji z Gór Świętokrzyskich, Bieszczad (2 oraz 3) i Sudetów 2. Rzetelność dendrogramu została potwierdzona wysokimi wartościami samopróbkowania (ryc. 2). Zarówno analiza BAPS, jak i SAMOVA dały zgodne wyniki, potwierdzając grupowanie populacji sztucznych z Nadleśnictwa Osusznica wraz z dwoma populacjami z Nadleśnictwa Kamienna Góra. Wyznaczono cztery główne strefy genetyczne jodły. Pierwsza bariera oddziela populacje sztuczne oraz pochodzące z Nadleśnictwa Kamienna Góra od pozostałych (a na ryc. 3). Druga wydziela populacje ukraińskie oraz Bieszczady 1 oraz populacje ukraińskie, a trzecia – populacje z Ukrainy (odpowiednio b i c na ryc. 3).

W badanej próbie stwierdzono występowanie dwóch alleli w mitochondrialnym locus nad5-4. Populacje polskie i większość ukraińskich były monomorficzne, bowiem posiadały wyłącznie allel 1 (150 pz), typowy dla populacji pochodzących z refugium apenińskiego. Polimorfizm w locus nad5-4 stwierdzono jedynie w najbardziej południowej populacji: Ukraina 3, gdzie dominował allel 2 (230 pz), występując u 97% osobników.

Dyskusja

Korzystne warunki siedliskowe w północno-zachodniej części naszego kraju sprzyjały i zachęcały do podejmowania prób introdukcji jodły. W czasach Cesarstwa Niemieckiego, na terenie obecnego Nadleśnictwa Osusznica jodła była wysiewana w ramach planu wzbogacania tamtejszych drzewostanów. Ówczesni gospodarze rozpoczęli wysiew około roku 1880 i prowadzili go



Ryc. 2.

Dendrogram UPGMA na bazie dystansu genetycznego między badanymi populacjami jodły pospolitej

UPGMA dendrogram of silver fir populations calculated from Goldstein genetic distance

Liczby obok węzłów to procenty samopróbkowania uzyskane na podstawie 10 000 permutacji

Numbers indicate bootstrap support of the respective nodes based on 10 000 permutations



Ryc. 3.

Granice wyznaczające strefy genetyczne jodły pospolitej

Barriers indicating gene zones of silver fir

Istotność granic wyrażono za pomocą wartości samopróbkowania i grubością linii

Robustness of barriers is shown as a percentage of supporting resampled bootstrap matrices and the thickness of each line

sukcesywnie przez około 20-30 lat do wybuchu I wojny światowej. Obecnie jodła występuje tutaj w postaci jednowiekowych skupisk drzew w wieku 113, 118, 123 oraz 132 lat. Ta wyraźna struktura wiekowa mogła powstać w wyniku wykorzystywania do wysiewu nasion z kolejnych lat dobrego urodzaju, które, jak podaje Bernadzki [2008], występują u jodły co 3-5 do 6-8 lat.

Wyniki badań sekwencji mikrosatelitarnych w DNA chloroplastowym wskazują, że jodły „osusznickie” nie są grupą jednorodną genetycznie. Przyjęty sztuczny podział drzewostanów jodlowych na część wschodnią i zachodnią, poza występowaniem istotnych różnic w strukturze wiekowej, ma, jak się okazuje, swoje uzasadnienie także w ujawnionym zaskakująco wysokim kontraście poziomu zmienności genetycznej. Jodła z części zachodniej (w tym obu WDN) charakteryzuje się wysokim poziomem zmienności, z kolei populacja po stronie wschodniej należy do najmniej zmiennych spośród wszystkich analizowanych w niniejszych badaniach. Zważywszy na możliwość wykluczenia występowania istotnych różnic siedliskowych w obu lokalizacjach, tak olbrzymie różnice muszą mieć zatem źródło antropogeniczne. Niski poziom zmienności genetycznej może być efektem wykorzystania nasion drzew rosnących pojedynczo i/lub w bardzo nielicznych grupach ograniczających lub wręcz uniemożliwiających kojarzenie krzyżowe (takie stanowiska przeważają obecnie w Sudetach, a ponad 100 lat temu było ich już bardzo dużo). Zbiór nasion z niewielkiej liczby drzew matecznych i/lub powstałych w latach słabego urodzaju mógł dodatkowo obniżyć wartość genetyczną powstałych drzewostanów.

Przypuszcza się, że w doświadczeniach nad wprowadzaniem jodły na Pomorze, Niemcy wykorzystywali nasiona z najbliższych drzewostanów jodlowych, np. Sudetów, Gór Harz czy Wzgórz Trzebnickich. Wyniki badań DNA mitochondrialnego wykluczają możliwość bardzo dalekiego transportu nasion z Europy południowo-wschodniej oraz krajów Półwyspu Bałkańskiego, gdzie Gömöry i in. [2004] obserwowali występowanie w locus nad5-4 allelu 2 (230 pz). W populacjach osusznickich obecności tego allelu nie zanotowano. Potencjalnym źródłem nasion mogły być zatem populacje jodły z Europy środkowej i zachodniej (refugium apenińskie), gdzie w locus nad5-4 występuje allel 1 [Gömöry i in. 2004]. Analizy DNA chloroplastowego wykazały dodatkowo, że najbardziej prawdopodobnym źródłem nasion użytych w Osusznicy są Sudety (wspólny klastery populacji z Osusznicy i Kamiennej Góry). Odrębność ekotypu sudeckiego została wielokrotnie dowiedziona już wcześniej [Mejnartowicz 1979, 2004a, b; Środoń 1983; Skrzyszewska 1999; Longauer 1994; Bergmann 1995; Lewandowski, Filipiak 2001; Barzdajn 2009]. Przyjmuje się na ogół, że w odróżnieniu od świerka, którego nasiona sprowadzono w Sudety z różnych części jego zasięgu, jodła w Sudetach powinna mieć raczej pochodzenie miejscowe.

Wyraźnie odmienna genetycznie populacja Sudety 2 z Nadleśnictwa Zdroje, tworząca na dendrogramie wspólny klastery z populacjami z Bieszczad i Gór Świętokrzyskich, może pochodzić ze sztucznych nasadzeń, bowiem rośnie w niedużej odległości od rezydencji zamkowej „Szczytnik”.

Zważywszy na fakt, że sukces programów restytucji jodły w Sudetach nie jest jeszcze przesądzony [Barzdajn 2004, 2009], istniejąca poza naturalnym zasięgiem, licząca tysiące starszych egzemplarzy „diaspora” jodeł o doskonałej wartości gospodarczej i hodowlanej, może służyć jako archiwum zasobów genowych jodły sudeckiej. Jej lokalizacja daleko od populacji źródłowej stanowi dodatkową zaletę, bowiem niezwykle skutecznie chroni przed wieloma negatywnymi czynnikami, które występują lub występowały w Sudetach. Należy przy tym zdawać sobie również sprawę ze szczupłości zasobów jodły w Sudetach. Kompleksowe prace inwentaryzacyjne prowadzone na początku tego wieku w leżących na terenie Sudetów i Pogórza Sudeckiego lasach RDLP Wrocław wykazały niespełna 30 000 tysięcy drzew w wieku powyżej 50 lat, które były rozproszone aż na 2008 stanowiskach [Filipiak 2006]. Taka liczba drzew odpowiada zaledwie około 50 hektarom litego drzewostanu jodłowego w wieku 100 lat [Czuraj 1997]. Niedostatek bazy nasiennej sprawia, że proces zwiększania udziału jodły w lasach sudeckich przebiega bardzo powoli. Stąd też pojawiają się głosy o potrzebie jego przyspieszenia przez sprowadzanie, przynajmniej w niektóre rejony, jodeł spoza Sudetów, np. pochodzeń karpaccich, które dobrze wypadły w badaniach proweniencyjnych [Gunia 1986; Skrzyszewska 1999, 2006]. Nie chcemy w tym miejscu rozsądzać, czy są to działania na ten czas uzasadnione. Jeśli jednak na krok taki by się zdecydowano, to w pierwszej kolejności źródłem nasion powinny być obszary występowania jodły o udowodnionych, podobnych cechach genetycznych, a więc np. Nadleśnictwo Osusznica. Należy wziąć także pod uwagę fakt, że jodły z tego rejonu mogły zachować geny, które kiedyś w Sudetach występowały. Ewentualny powrót jodły z Osusznic w Sudety wydaje się odpowiedniejszym sposobem zatrzymania erozji genetycznej i odbudowy populacji sudeckich niż sprowadzanie nasion czy sadzonek z terenu Karpat. Podobnie zresztą postuluje się włączenie do programu restytucji jodły w Karkonoskim Parku Narodowym populacji z Góry Chojnik, która powstała z sadzenia nasion nieznanego pochodzenia. Badania izoenzymowe udowodniły przynależność tej grupy do populacji jodeł lokalnych [Niemczyk 2008], a zważywszy na dużą ich liczebność (413 drzew) w stosunku do reszty terenu Karkonoskiego Parku Narodowego (około 300 drzew), może ona w znaczny sposób wzbogacić lokalną pulę genową jodły.

Wnioski

- ✦ Rosnąca poza obszarem naturalnego występowania jodła z Nadleśnictwa Osusznica zachowała w sprzyjających warunkach klimatycznych swoje walory, czego wyrazem jest wysoka ocena drzewostanów i odnowień naturalnych, potwierdzona w części przez niniejsze badania genetyczne.
- ✦ Zachowanie *in situ* cennej przyrodniczo i gospodarczo populacji może okazać się korzystne nie tylko dla ekosystemu leśnego na Pomorzu, ale również dla populacji jodły zagrożonych eksterminacją w Sudetach, spowodowaną utratą naturalnych zdolności odbudowy drzewostanów.
- ✦ Jodły „osuszniczek” mogą odegrać również istotną rolę w zwiększaniu różnorodności gatunkowej naszych lasów, wzbogacić pulę genową oraz rozproszyć ryzyko hodowlane jodły w Polsce.

Podziękowania

Składamy serdeczne podziękowania mgr Monice Litkowiec oraz prof. dr. hab. Andrzejowi Lewandowskiemu za dostarczenie części prób do badań, mgr Ewie Sztupeckiej, mgr Katarzynie

Kowalkowskiej oraz mgr Idzie Bartkowiak za pomoc w pracy laboratoryjnej, mgr inż. Krystynie Kozłowskiej za przygotowanie materiałów na temat Nadleśnictwa Osusznica oraz europejskiemu programowi EUFORGEN za udostępnienie mapy występowania jodły pospolitej. Badania zostały sfinansowane ze środków na badania statutowe Katedry Genetyki UKW.

Literatura

- Barzdajn W. 2004.** Odbudowa bazy nasiennej karkonoskich populacji jodły pospolitej. W: Štursa J., Mazurski K. R., Alucki A., Otocka J. [red.]. Geokologiczne problemy Krkonoš. Sborn. Mez. Věd. Konf., Listopad 2003, Szklarska Poręba. Opera Corcontica 41: 376-382.
- Barzdajn W. 2009.** Adaptacja różnych pochodzeń jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) do warunków Sudetów. Leśne Prace Badawcze 70 (1): 49-58.
- Bergmann F. 1995.** Genetische Charakterisierung der erfassten Restvorkommen mittels Isoenzym-Genmarkern. Genetik und Waldbau der Weisstanne. Schriften der Sächsischen Landesanstalt für Forsten 5: 65-78.
- Bernadzki E. 2008.** Jodła pospolita. Ekologia, zagrożenia, hodowla. PWRIL, Warszawa.
- Boratyński A. 1983.** Systematyka i geograficzne rozmieszczenie jodły. W: Białobok S. [red.]. Jodła pospolita (*Abies alba* Mill.). PWN, Warszawa-Poznań. 41-86.
- Boratyński A., Filipiak M. 1997.** Jodła pospolita (*Abies alba* Mill.) w Sudetach. Rozmieszczenie, warunki występowania, stan zachowania drzewostanów. Arboretum Kórnickie 42: 149-183.
- Corander J., Waldmann P., Sillanpää M. 2003.** Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. Genetics 163: 367-374.
- Doyle J. J., Doyle J. L. 1990.** Isolation of plant DNA from fresh tissue. BRL Focus 12: 13-15.
- Czuraj M. 1997.** Tablice zasobności i przyrostu drzewostanów. Wydawnictwo Świat, Warszawa.
- Dupanloup I., Schneider S., Excoffier L. 2002.** A simulated annealing approach to define genetic structure of populations. Molecular Ecology 11: 2571-2581.
- Felsenstein J. 1989.** PHYLIP – Phylogeny Inference Package (Version 3.2), Cladistics 5: 164-166.
- Filipiak M. 2006.** Funkcjonowanie jodły pospolitej *Abies alba* w warunkach silnej antropopresji w Sudetach. Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica 13 (1).
- Goldstein D. B., Ruiz Linares A., Cavalli-Sforza L. L., Feldman M. W. 1995.** Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. Proceedings of the National Academy of Sciences 92: 6723-6727.
- Gömöry D., Longauer R., Liepelt S., Ballian D., Brus R., Kraigher H., Parpan V. I., Paule L., Stupar V. I., Ziegenhagen B. 2004.** Variations patterns of mitochondrial DNA of *Abies alba* Mill. in suture zones of postglacial migration in Europe. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 73 (3): 203-206.
- Gunia S. 1986.** Próba oceny wartości genetycznej i hodowlanej jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) z Sudetów i Karpat polskich. Sylwan 130 (2-3): 83-92.
- Idury R. M., Cardon L. R. 1997.** A simple method for automated allele binning in microsatellite markers. Genome Research 7: 1104-1109.
- Lewandowski A., Filipiak M., Burczyk J. 2001.** Genetic Variation of *Abies alba* in polish part of Sudety Mts. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 70 (3): 215-219.
- Liepelt S., Kuhlenkamp V., Anzidei M., Vendramin G. G., Ziegenhagen B. 2001.** Pitfalls in determining size homoplasy of microsatellite loci. Molecular Ecology Notes 1: 332-335.
- Liepelt S., Bialozyt R., Ziegenhagen B. 2002.** Wind-dispersed pollen mediates postglacial gene flow among refugia. Proc Natl Acad Sci USA 99: 14590-14594.
- Liepelt S., Cheddadi R., de Beaulieu J. L., Fady B., Gömöry D., Hussendorfer E., Hussendorfer E., Konnert M., Litt T., Longauer R., Terhürne-Benson R., Ziegenhagen B. 2009.** Postglacial range expansion and its genetic imprints in *Abies alba* (Mill.): A synthesis from palaeobotanic and genetic data. Review of Palaeobotany and Palynology 153: 139-149.
- Liu K., Muse S. V. 2005.** PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics 21: 2128-2129.
- Longauer R. 1994.** Genetic differentiation and diversity of European silver fir in east part of its natural range. 7. IUFRO-Tannensymposium, Altensteig. 155-163.
- Manni F., Guérard E., Heyer E. 2004.** Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. Human Biology 76: 173-190.
- Mejnartowicz L. 1979.** Polymorphism at the LAP and GOT loci in *Abies alba* Mill. Populations. Bulletin de l’Academie Polonaise des Sciences. Serie des Sciences Biologiques 27 (12): 1063-1070.
- Mejnartowicz L. 2004a.** Genetic Analysis of Silver-fir Populations in the North Carpathian and Sudeten Mountains. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 73 (4): 285-292.
- Mejnartowicz L. 2004b.** North-Carpathians and Sudeten Silver-fir Genetic Variation and Diversity. Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz 52: 169-180.

- Miś R. 1988. Wydajność drzewostanów mieszanych z udziałem jodły (*Abies alba* Mill.) poza granicami jej naturalnego zasięgu. *Poznańskie Towarzystwo Przyjaciół Nauk, Wydział Nauk Rolniczych i Leśnych*. 66: 79-86.
- Niemezyk M. 2008. Struktura genetyczna jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) w Karkonoskim Parku Narodowym. W: Barzdajn W., Raj A. [red.]. *Jodła pospolita w Karkonoskim Parku Narodowym*. Karkonoski Park Narodowy, Jelenia Góra. 55-64.
- Peakall R., Smouse P. E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- Piovani P., Leonardi S., Piotti A., Menozzi P. 2010. Conservation genetics of small relic populations of silver fir (*Abies alba* Mill.) in the northern Apennines. *Plant Biosystems* 144: 683-691.
- Provan J., Soranzo N., Wilson N. J., McNicol J. W., Forrest G. I., Cottrell J., Powell W. 1998. Gene-pool variation in Caledonian and European Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) revealed by chloroplast simple-sequence repeats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 265: 1697-1705.
- Raj A. 2008. Odnowienia sztuczne (restytucja) jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) w Karkonoskim Parku Narodowym. W: Barzdajn W., Raj A. [red.]. *Jodła pospolita w Karkonoskim Parku Narodowym*. Karkonoski Park Narodowy, Jelenia Góra. 213-224.
- Robakowski P., Standio B., Bułaji B. 2005. Występowanie i przydatność hodowlana jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) poza granicami jej naturalnego zasięgu. *Sylwan* 149 (8): 18-30.
- Skrzyszevska K. 1999. Wartość genetyczno-hodowlana jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) reprezentowanej w Ogólnopolskim Doświadczeniu Proweniencyjnym Jd PL 86/90. *Zeszyty Naukowe AR im. H. Kołłątaja w Krakowie* 61: 43-66.
- Skrzyszevska K. 2006. Zmienność wewnątrzgatunkowa jodły pospolitej w doświadczeniach proweniencyjnych. W: Sabor J. [red.]. *Elementy genetyki i hodowli selekcyjnej drzew leśnych*. Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Warszawa.
- Sugiero D. 2005. Jodła pospolita (*Abies alba* Mill.) w drzewostanach zespołu żyźnej buczyny karpackiej (*Dentario glandulosae-Fagetum*). *Sylwan* 149 (11): 42-49.
- Środoń A. 1983. Jodła pospolita w historii naszych lasów. W: Białobok, S. [red.]. *Jodła pospolita *Abies alba* Mill.* PWN, Warszawa-Poznań. 9-41.
- Vendramin G. G., Degen B., Petit R. J., Anzidei M., Madaghiele A., Ziegenhagen B. 1999. High level of variation at *Abies alba* chloroplast microsatellite loci in Europe. *Molecular Ecology* 8: 1117-1126.
- Vendramin G. G., Lelli L., Rossi P., Morgante M. 1996. A set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in Pinaceae. *Molecular Ecology* 5: 111-114.
- Zasady Hodowli Lasu. 2011. Dyrekcja Generalna Lasów Państwowych, Warszawa.

SUMMARY

Origin of silver fir (*Abies alba* Mill.) from Osusznica Forest District revealed by cytoplasmic DNA markers – refugium of Sudety fir in Pomerania?

In Poland, European silver fir (*Abies alba* Mill.) reaches the north-eastern border of its natural range. Moreover, beyond this border, it is found in Pomerania: in the Baltic Region and the Wielkopolska-Pomerania Region, where it constitutes a valuable component of many forests. Osusznica Forest District is located in the south-western part of Pomorskie voivodship (Pomerania), in the Regional Directorate of State Forests in Szczecinek. Despite being about 200 km to the north of the natural range, the fir stands in Osusznica cover 493,96 ha (fig. 1). The plus seed stands for fir (23 ha) are something unique on the scale of Poland as a whole, this being the only case in which firs growing in enclave beyond the main range limits for the species retain features typical for it.

Although the quality of the natural regeneration in Pomerania is high, its occurrence in this region is controversial as it is an anthropogenic element there. The aim of the study was an attempt to determine the provenance of fir seeds used for the afforestation in Osusznica FD. For this purpose, the genetic analyzes were performed on 13 populations of silver fir from Poland and Ukraine, using genetic markers in chloroplast and mitochondrial DNA.

The results of the study on mtDNA show unequivocally that all examined Polish populations, like the fir from western Europe, comes from the Apennine refugium. Therefore the hypothesis of the use of seeds from areas settled by fir originating from Balkan refugium (to the south of the Ukrainian-Romanian border) can be rejected. Analyses of chloroplast microsatellites showed that the Sudety Mts. are the most probable region of origin of the Pomeranian fir from Osusznica. The Carpathian and Świętokrzyskie populations are clearly different genetic groups (fig. 2).

It seems therefore that, considering the dying out of fir in the northern part of its range, the fir from Osusznica can be treated as valuable archive of the genetic resources of the fir from the Sudety. In this light, its occurrence beyond its natural border gains new, positive meaning. This hypothesis requires further testing by including in the research a much larger number of populations, best from the whole natural range of the species in Poland (including mainly a broader representation of the Sudety populations), and the remaining populations of the Pomeranian fir.