

Małgorzata Sulkowska<sup>1\*</sup>, Jan Kowalczyk<sup>1</sup>, Paweł Przybylski<sup>1</sup>

## Zmienność genetyczna i ekotypowa buka zwyczajnego (*Fagus sylvatica* L.) w Polsce

Genetic and ecotype diversity of European beech (*Fagus sylvatica* L.) in Poland

**Abstract.** In Poland, beech attains its north-eastern limit of natural range which is limited by climate continentality, soil conditions, winter temperatures and air humidity. The growth of beech stands outside the natural beech limit indicates that species possess potentially wider range. Diversity of adaptive features of beech provenances and their progeny on the basis of soil characteristics of their habitats were studied. The mineral content and basic soluble components important for grow of the trees were estimated.

Nine beech experimental plots of 1 ha area were established in selected seed stands located in forest divisions: Gryfino, Kartuzy, Zdroje, Lutowska, Łosie, Miechów, Suchedniów, Tomaszów Lubelski and Zwierzyniec. These stands were located in compact forest areas mainly in provenance regions.

The genetic analyses were performed using isoenzyme electrophoresis method: glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT – EC 2.6.1.1 – *Got-2*), leucine aminopeptidase (LAP – EC 3.4.11.1 – *Lap-1*), malate dehydrogenase (MDH – EC 1.1.1.37 – *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*), menadione reductase (MNR – EC 1.6.99.2), phosphoglucomutase (PGM – EC 2.7.5.1), phosphoglucose isomerase (PGI – EC 5.3.1.9 – *Pgi-2*), shikimate dehydrogenase (SKDH – EC 1.1.1.25) and DNA with RAPD starters H02, H12, P06, W09, W11 (QIAGEN distribution).

On the basis of obtained results of DNA and isoenzyme markers population differentiation for chosen genetic parameters (percentage of polymorphic loci, average number of alleles per locus and observed heterozygosity) were studied and dendrogrammes of genetic distances using average frequencies of alleles were constructed.

The estimation of genetic diversity on the basis of izoenzyme and DNA analysis showed high variation of investigated populations. Important correlations were estimated for genetic diversity and differentiation of beech populations and their progeny and the level of mineral and ions important for growth and functions of plants. The importance of very high interpopulation diversity was shown.

**Key words:** isoenzyme analysis, DNA-RAPD markers, soil components, differentiation of populations and progeny.

### 1. Wstęp

Buk zwyczajny (*Fagus sylvatica* L.) uważany jest za gatunek subatlantycki. W północnej części swojego zasięgu występuje na nizinach, natomiast w środkowej i południowej zajmuje tereny wyżej położone, o klimacie górskim i podgórskim. Jego naturalny zasięg omija wyraźnie klimat kontynentalny (Szafer, Pawłowski 1972, Dzwonko 1990).

W Polsce buk zwyczajny zajmuje 5,0% ogólnej powierzchni leśnej (Lasy Państwowe 2006). Z uwagi na dużą żywotność, ekspansywność i niewrażliwość na zacinienie buk jest jednym z podstawowych gatunków lasotwórczych.

Buk odznacza się dość wysokimi wymaganiami glebowymi. Charakteryzuje go duża tolerancja na poziom zakwaszenia gleby – występuje zarówno na glebach silnie kwaśnych (gleby brunatne), jak i o odczynie zasadowym (gleby wapienne) (Wojterski 1990).

W lasach bukowych, według aktualnie obowiązującej klasyfikacji, można wyróżnić dwa taksony fitosocjologiczne (Matuszkiewicz 2005): buczynę karpacką – *Fagetum carpaticum*, oraz buczynę pomorską – *Melico-Fagetum*.

<sup>1</sup> Instytut Badawczy Leśnictwa, Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn, ☒ Fax +48 227200397, e-mail M.Sulkowska@ibles.waw.pl

Na terenie Polski przebiega naturalna północno-wschodnia granica występowania buka. Badaniami jej przebiegu i zależnością od warunków klimatycznych i siedliskowo-edaficznych, a nawet czynników antropogenicznych, zajmowało się wielu autorów: De Candolle (1855), Köppen (1889), Lämmermayer (1923), Steffen (1931, za Sławińskim 1947), Sławiński (1947), Jedliński (1953), Boratyńska i Boratyński (1990), Brzeziecki (1995), Tarasiuk (1999). W granicach zasięgu buka w Polsce znajdują się dwa duże ośrodki jego występowania – pomorski i górsko-wyżynny (Jedliński 1953, Boratyńska i Boratyński 1990, Sabor 2000). Brzeziecki (1995), Sykes i Prentince (1995) i Tarasiuk (1999) nie ograniczają możliwości wzrostu buka do obecnie zajmowanych obszarów. Widzą oni duże możliwości ekspansji buka w aspekcie narastających zmian klimatycznych.

Następstwem migracji buka po okresie zlodowaceń było zmniejszenie zróżnicowania genetycznego na nowo zasiedlanych terenach (Comps et al. 2001) z powodu:

- zawężenia puli genetycznej do zmienności genetycznej osobników, które uczestniczyły w migracji (bottle-neck effect),
- selekcji genotypów podczas procesu zasiedlania (formowania zbiorowisk),
- krzyżowania się blisko spokrewnionych osobników w małych liczących populacjach (chów wsobny).

Pewne genotypy były faworyzowane pod wpływem czynników środowiska, w efekcie następowała eliminacja z populacji osobników nieodpornych i zubożenie genetyczne (Müller-Starck 1985, Starke et al. 1996).

O sukcesie wzrostu tego gatunku decydują: źródło pochodzenia nasion, dobra jakość sadzonek, respektowanie wymagań ekologicznych buka przy wprowadzaniu go do drzewostanu, a także sposób prowadzenia zabiegów pielęgnacyjnych.

W ciągłym procesie weryfikacji przystosowania osobników, jaki zachodzi w przyrodzie, swój udział mają zarówno człowiek, jak i naturalna selekcja. Świadczą o tym m.in. różnice struktury genetycznej dwóch proveniencji buka – niemieckiej i rumuńskiej, hodowanych w warunkach szklarniowych i naturalnych przez Kima (1985). Stwierdził on, że siewki buka posiadające allel *Lap-A<sub>2</sub>* charakteryzowały się zawsze wyższą przeżywalnością.

W Czechach zastosowanie metody analiz izoenzymatycznych z wykorzystaniem metod geostatyki umożliwiło wydzielenie dla buka 8 regionów nasiennych. Badania prowadzono dla 20 pochodzeń buka analizując 12 loci enzymatycznych (Gömöry et al. 1998).

Stwierdzenie, że warunki siedliskowe wpływają na obraz struktury genetycznej populacji buka, uzasadnia celowość podjęcia badań nad wyróżnieniem jego ekotypów siedliskowych, występujących na obszarze Polski.

Celem pracy była analiza zróżnicowania cech adaptacyjnych wybranych do badań proveniencji buka w naturalnym zasięgu gatunku w Polsce w połączeniu z charakterystyką zmienności zajmowanych siedlisk. Na podstawie analiz izoenzymatycznych oceniano również zmiany struktury genetycznej populacji matecznych w odniesieniu do ich pokoleń potomnych.

## 2. Metody

Do badań wytypowano 9 powierzchni badawczych buka w drzewostanach wyselekcjonowanych w wyróżnionych regionach pochodzenia. Wybrane powierzchnie reprezentują cały zakres zmienności siedlisk, na których występuje gatunek w warunkach Polski, w naturalnym zasięgu geograficznym. Wytypowane drzewostany są rodzimego pochodzenia i stanowią zwarte kompleksy leśne z dużym udziałem buka (tab. 1).

Na powierzchniach badawczych, o powierzchni 1 ha każda, pobrano próby glebowe, po 5 dla każdej powierzchni, zgodnie z ustalonym standardowym schematem (w narożach i w środku). Dla każdej próby pobierano glebę z dwóch głębokości: 0–20 cm i 20–40 cm.

Analizy glebowe zostały wykonane w Pracowni Chemii Środowiska Leśnego IBL. Oznaczono pH gleby w H<sub>2</sub>O i w KCl metodą potencjometryczną. Oznaczenie zawartości składników ogólnych po mineralizacji próbek w HClO<sub>4</sub> wykonano metodą atomowej spektrometrii emisyjnej przy wykorzystaniu aparatury firmy Thermo-Elemental Iris Advantage. Oznaczenie kationów wmiennych w CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> wykonano zgodnie z metodą Kowalkowskiego i in. (1973) i przy wykorzystaniu atomowej spektrometrii emisyjnej. Fosfor łatwo przyswajalny (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) określono metodą kolorymetryczną Egnera-Riehma. Azot ogólny oznaczono metodą Kjeldahla. Węgiel ogólny obliczono metodą mineralizacji na sucho w aparacie firmy LECO.

Do analiz pobrano pąki wegetatywne w stanie zimowego spoczynku.

Charakterystyka zmienności genetycznej badanych populacji buka wykonana została na podstawie analiz izoenzymatycznych oraz markerów RAPD (losowo amplifikowanych polimorficznych fragmentów DNA). Do oceny zmienności genetycznej drzewostanów matecznych pozyskano materiał roślinny z 50 drzew z każdej powierzchni badawczej buka (tab. 1). Ocenę zmienności genetycznej populacji potomnych wykonano na podstawie analiz izoenzymatycznych. Analizy prowadzono dla około 150 osobników z każdej populacji. Materiał roślinny pozyskano z nalotu buka powstałego z samozsiewu. Rozdział białek enzymatycznych na poszczególne frakcje izoenzymów wykonano wykorzystując metodę elektroforezy na żelu skrobiowym (Conkle et al. 1982).

**Tabela 1. Lokalizacja badanych powierzchni z bukiem zwyczajnym (*Fagus sylvatica* L.)**Table 1. Location of studied area with beech (*Fagus sylvatica* L.)

RDLP Regional Directory	Wiek Age	Nadleśnictwo Forest division	Leśnictwo Forestry	Oddział Compartment	Region nasienny Seed region	Zbiorowisko leśne Forest association	Gleba Soil
Szczecin	132	Gryfino	Kołowo	317a	102	<i>Galio-odorati-Fagetum</i>	<b>brunatna kwaśna</b> brown acid
Gdańsk	90–116	Kartuzy	Bilowo	116b	109	<i>Galio-odorati-Fagetum</i>	brunatna właściwa typical brown
Krosno	85–145	Lutowiska	Jawornik	63a	806	<i>Dentario glandulosae-Fagetum</i>	<b>brunatna kwaśna</b> brown acid
Kraków	65–110	Łosie	Bielanka	25b	854	<i>Dentario glandulosae-Fagetum</i>	<b>brunatna kwaśna</b> brown acid
Kraków	121	Miechów	Tunel	149b	658	<i>Luzulo-luzuloides-Fagetum</i>	<b>rędziny</b> rendzina
Radom	55–140	Suchedniów	Kamionka	110h	604	<i>Luzulo-luzuloides-Fagetum</i>	<b>brunatna kwaśna</b> brown acid
Lublin	115	Tomaszów	Hrebenne	341b	605	<i>Luzulo-luzuloides-Fagetum</i>	<b>brunatna właściwa</b> typical brown
Wrocław	110	Zdroje	Zdrój	297a	702	<i>Dentario enneaphyllidis-Fagetum</i>	<b>brunatna kwaśna</b> brown acid
Lublin	120	Zwierzyniec	Adamów	38a	605	<i>Luzulo-luzuloides-Fagetum</i>	<b>płowa</b> grey brown

Badania prowadzono przy wykorzystaniu dwóch układów buforowych, dla następujących układów enzymatycznych:

1) Ashton – bufor tris-cytrynowo-litowo-boranowy pH = 8.1 dla enzymów: L-leucyloaminipeptydazy (LAP – EC 3.4.11.1 – *Lap-1*), transaminazy glutaminianowoszczawiooctowej (GOT – EC 2.6.1.1 – *Got-2*), reduktazy menadionu (MNR – EC 1.6.99.2),

2) tris-cytrynowy, pH = 7.0 dla enzymów: dehydrogenazy jabłczanowej (MDH – EC 1.1.1.37 – *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*), dehydrogenazy szikimianowej (SKDH – EC 1.1.1.25), fosfoglucoizomerazy (PGI – EC 5.3.1.9 – *Pgi-2*) i fosfoglukomutazy (PGM – EC 2.7.5.1).

Po zakończeniu elektroforezy dla izoenzymów znajdujących się w żelu przeprowadzono reakcje umożliwiające ich wizualizację zgodnie z metodyką: Kim (1979), Thiébaud et al. (1982), Merzeau et al. (1989), Müller-Starck i Starke (1993).

W celu oceny różnicowania genetycznego badanych pochodzeń buka na podstawie DNA wyizolowano genomowe DNA. W dalszej kolejności, dokonano rozdziału elektroforetycznego oraz oceny jakościowej i ilościowej uzyskanego DNA. Oceny zmienności genetycznej dokonano na podstawie analizy markerów RAPD, przy użyciu pięciu starterów: H02, H12, P06, W09, W11.

Na podstawie otrzymanych wyników oceny analiz izoenzymatycznych oraz DNA obliczono podstawowe parametry genetyczne dla badanych populacji, między innymi: procent loci polimorficznych, średnią liczbę alleli na locus, heterozygotyczność obserwowaną. Na podstawie średnich częstości alleli sporządzono dendrogramy dystansu genetycznego między badanymi populacjami. Do oceny zmienności genetycznej i różnicowania genetycznego populacji wykorzystano wartości efektywnej liczby alleli na locus (Crow i Kimura 1970) i heterozygotyczności oczekiwanej (Nei 1978) oraz ocenę odległości genetycznej – dystansu nieobciążonego (Nei 1972). Dendrogram oparty został na grupowaniu metodą UPGMA (Sneath i Sokal 1973).

Porównano podstawowe charakterystyki glebowe i parametry genetyczne populacji oraz dla ich pokoleń potomnych.

Wykonano analizę regresji i korelacji wszystkich badanych cech oraz obliczono istotność korelacji. Dla par cech istotnie statystycznie skorelowanych podano współczynnik korelacji liniowej Pearsona wraz z poziomem istotności korelacji.

Obliczenia wykonano przy zastosowaniu programu The R Project for Statistical Computing wersja R.2.4.1<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Nowsza wersja tego programu jest dostępna na stronie [www.r-project.org](http://www.r-project.org). Por. też: R Development Core Team, 2005: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. .

**Tabela 2. Średnia zawartość składników mineralnych i kationów wymiennych w glebie na wyznaczonych w powierzchniach badawczych z bukiem zwyczajnym**  
 Table 2. Medium contents of mineral and ions components in the soil of chosen studied areas with beech

Powierzchnia Studied area	Głębokość Depth [cm]	Składniki ogólne / Mineral components										pH w		C	N	C/N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Kationy wymienne / Ions			
		Ca	Mg	P	K	Mn	B	Mo	Cu	Zn	H <sub>2</sub> O	KCL	Ca					Mg	K	Na	
		g/kg												mg/kg							
Gryfino	0–20	0,42	0,58	0,21	0,65	197,26	2,57	0,41	2,50	14,45	4,27	3,74	12,28	0,70	17,50	42,10	37,36	3,89	21,19	3,05	
	20–40	0,48	0,80	0,16	0,75	166,68	2,78	0,37	2,41	14,12	4,61	4,25	2,58	0,18	14,01	19,90	21,75	2,26	10,23	2,65	
Kartuzy	0–20	0,43	1,11	0,14	1,13	258,82	4,52	0,46	3,36	22,22	4,35	3,72	17,12	0,83	20,29	17,50	51,89	6,89	21,71	5,34	
	20–40	0,42	1,78	0,13	1,69	462,86	6,24	0,50	4,57	27,35	4,52	4,13	4,35	0,29	15,44	0,40	24,74	2,60	12,10	3,79	
Lutowiska	0–20	0,30	2,78	0,38	2,32	148,58	4,69	0,93	10,11	37,08	4,30	3,83	55,77	3,37	16,42	12,80	109,43	16,49	50,02	7,17	
	20–40	0,18	3,17	0,22	2,26	151,99	3,73	0,89	9,68	39,47	4,45	4,14	26,10	1,54	16,84	6,20	25,08	4,96	16,67	4,06	
Łosie	0–20	0,66	2,57	0,30	4,17	1123,65	12,06	1,10	13,87	62,07	4,57	3,62	18,26	1,49	12,23	2,60	401,72	32,27	80,50	3,10	
	20–40	0,69	2,60	0,20	4,07	896,15	11,63	1,01	13,96	47,74	4,93	3,75	5,89	0,63	9,49	0,00	441,67	34,02	51,23	3,38	
Miechów	0–20	3,10	2,13	0,34	2,15	286,71	10,67	0,84	5,59	73,51	5,51	4,44	18,22	1,26	14,72	59,50	3027,37	76,77	69,49	7,81	
	20–40	31,29	4,38	0,42	3,90	167,32	19,05	1,34	11,79	66,15	7,05	5,85	18,02	0,86	20,63	63,80	9919,70	84,84	99,81	23,58	
Suchedniów	0–20	0,15	0,38	0,10	0,93	449,89	3,42	0,34	1,78	9,71	4,38	3,61	8,66	0,56	15,88	2,65	40,57	2,92	20,19	1,88	
	20–40	0,17	0,49	0,10	1,04	278,16	3,37	0,38	2,03	10,70	4,42	3,91	3,67	0,27	13,85	0,11	15,98	1,33	13,38	1,68	
Tomaszów Lub.	0–20	0,60	1,13	0,13	1,07	439,17	3,13	0,31	5,22	25,20	4,42	3,66	11,61	0,75	15,10	8,40	96,35	9,35	30,46	4,49	
	20–40	0,97	2,13	0,11	2,00	293,72	5,93	0,42	8,79	29,67	4,89	3,63	1,84	0,22	8,53	6,10	504,53	72,71	40,37	5,46	
Zdroje	0–20	27,12	15,23	1,17	4,19	2114,80	10,12	1,25	13,05	279,84	6,19	5,51	93,05	5,48	15,82	18,58	5322,87	1047,77	61,88	6,31	
	20–40	51,97	25,55	0,75	3,53	1777,40	5,97	1,04	8,90	198,57	6,74	6,12	58,00	1,33	59,36	9,90	1738,89	387,84	23,31	2,70	
Zwierzyniec	0–20	0,69	0,99	0,22	1,09	729,32	2,85	0,22	4,49	25,38	4,42	3,79	12,82	0,99	12,88	21,00	98,87	7,37	32,00	13,96	
	20–40	0,95	1,64	0,15	1,65	485,58	4,14	0,19	6,55	29,36	4,80	3,70	2,73	0,32	8,09	15,90	422,93	44,27	31,27	17,12	

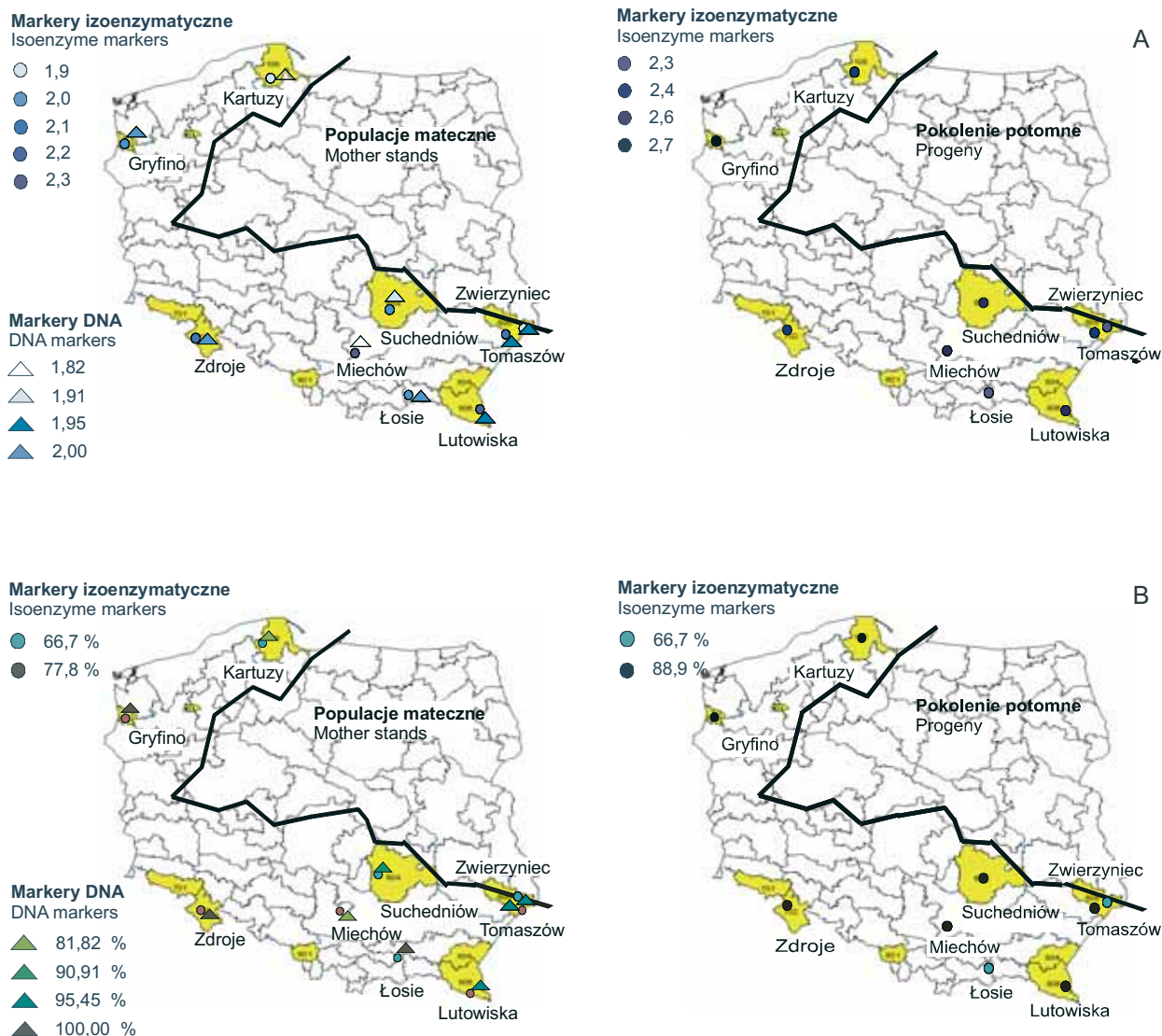


### 3. Wyniki

Ocena warunków glebowych na 9 powierzchniach doświadczalnych buka (tab. 2) wykazała, że średnia zawartość składników mineralnych była najwyższa w glebie populacji Zdroje z Sudetów, najniższa zaś w glebie populacji z Lutowisk w Bieszczadach. Bardzo zasobne w łatwo przyswajalne składniki biogenne, niezbędne dla wzrostu roślin, zarówno w strefie blisko powierzchni gleby, jak w głębszych warstwach, okazało się siedlisko populacji Miechów, o wysokim pH ok. 5,51–7,05 w H<sub>2</sub>O, i Zdroje – 6,19–6,74 pH w H<sub>2</sub>O. Siedlisko populacji pomorskiej Kartuzy, o niskim pH

gleby, ok. 4,35–4,52 w H<sub>2</sub>O, charakteryzowało się niską zawartością kationów wymiennych oraz niezbędnych do życia roślin dostępnych im form węgla, azotu i fosforu. Analizowane warstwy gleby, na głębokości 0–20 cm i 20–40 cm, najczęściej znacznie różniły się zawartością składników mineralnych i łatwo przyswajalnych biogennych.

Przeprowadzone analizy izoenzymatyczne drzewostanów matecznych buka (tab. 3, ryc. 1) wykazały, że najwyższą średnią liczbą alleli na locus – 2,3, charakteryzowała się populacja Miechów, najniższą zaś populacje Kartuzy i Zwierzyniec – 1,9. Procent loci polimorficznych, podobnie jak średnia liczba alleli na locus



**Rycina 1. Charakterystyka zmienności genetycznej badanych populacji buka i ich potomstwa na podstawie markerów izoenzymatycznych i DNA: A – średnia liczba alleli na locus, B – procent loci polimorficznych**

Figure 1. Characteristics of genetic diversity studied beech populations and their progeny on the basis of isoenzyme and DNA markers: A – average number of alleles per locus, B – percentage of polymorphic loci

**Tabela 3. Charakterystyka zmienności genetycznej badanych populacji buka zwyczajnego na podstawie analiz izoenzymatycznych**

Table 3. Characteristics of genetic diversity studied beech populations on the basis of isoenzyme analysis

Proweniencja Provenience	Średnia liczba alleli na locus Average number of alleles per locus		Procent loci polimorficznych Percentage of polymorphic loci		Heterozygotyczność Heterozygosity			
					obserwowana observed		oczekiwana expected	
	M	P	M	P	M	P	M	P
Gryfino	2,0	2,7	77,8	88,9	0,245	0,237	0,209	0,221
Kartuzy	1,9	2,4	66,7	88,9	0,201	0,229	0,194	0,197
Lutowiska	2,2	2,6	77,8	88,9	0,226	0,223	0,212	0,204
Łosie	2,0	2,3	66,7	66,7	0,195	0,240	0,216	0,221
Miechów	2,3	2,6	77,8	88,9	0,208	0,241	0,221	0,207
Suchedniów	2,0	2,6	66,7	88,9	0,236	0,225	0,213	0,202
Tomaszów Lub.	2,1	2,4	77,8	88,9	0,233	0,223	0,205	0,213
Zdroje	2,1	2,4	77,8	88,9	0,216	0,238	0,202	0,208
Zwierzyniec	1,9	2,3	66,7	66,7	0,238	0,219	0,178	0,200

M – populacje mateczne / mother stands, P – populacje potomne / progeny

wykazywały zróżnicowanie o charakterze nie klinalnym, lecz ekotypowym. Duży udział loci polimorficznych stwierdzono w populacjach zarówno południowej części Polski, jak i środkowej oraz północnej – 77,8%. Równie dużym udziałem loci polimorficznych wyróżniała się populacja buka Tomaszów Lubelski, z granicy naturalnego zasięgu. Wysoką wartość heterozygotyczności obserwowanej, bardzo różniącą się od heterozygotyczności oczekiwanej, miały populacje Gryfino, o przypuszczalnie sztucznym pochodzeniu, oraz Zwierzyniec, z granicy naturalnego zasięgu (tab. 3). Dendrogram sporządzony na podstawie matrycy podobieństw dystansu genetycznego między populacjami (ryc. 2) dzieli analizowane populacje na dwie główne grupy, z których pierwsza obejmuje populacje Zwierzyniec i Gryfino, druga zaś pozostałe pochodzenia. Trudno mówić o zróżnicowaniu genetycznym populacji drugiej grupy na podstawie regionu geograficznego, ponieważ populacje bardzo odległe geograficznie, jak np. Kartuzy i Suchedniów, mogą znaleźć się na dendrogramie obok siebie. Potwierdza to istnienie wpływu środowiska na zróżnicowanie genetyczne buka.

Analizy izoenzymatyczne pokolenia potomnego drzewostanów matecznych buka (tab. 3, ryc. 1) wykazały, że najwyższą średnią liczbę alleli na locus – 2,7, charakteryzowała się populacja Gryfino, najniższą zaś populacje Łosie i Zwierzyniec – 2,3. Duży udział loci polimorficznych (88,9%) stwierdzono w większości badanych pochodzeń, z wyjątkiem Łosi i Zwierzynca (66,7%). Dużą heterozygotycznością obserwowaną charakteryzowało się pochodzenie Łosie, natomiast małą – pochodzenie ze Zwierzynca, odpowiednio 0,240 i 0,219. Największą różnicę pomiędzy heterozygotycznością ob-

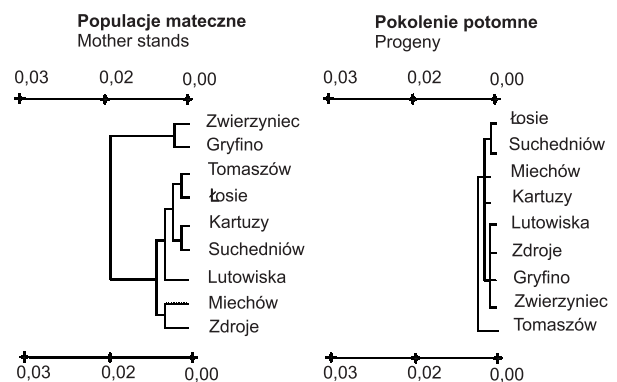
**Rycina 2. Geograficzne zróżnicowanie genetyczne badanych populacji matecznych oraz ich pokoleń potomnych sporządzone na podstawie dystansu średnich częstości alleli**

Figure 2. Geographic genetic differentiation of studied mother stands and their progeny on the basis of average frequency of alleles

serwowaną a oczekiwaną oszacowano dla populacji Miechów. Dendrogram sporządzony na podstawie matrycy podobieństw dystansu genetycznego między populacjami (ryc. 2) dzieli analizowane populacje na dwie główne grupy, z których jedna obejmuje populację Tomaszów, druga zaś grupa pozostałe pochodzenia. Bliskie pod względem genetycznym położenia zajmują populacje bardzo odległe geograficznie, jak np. Gryfino, Zdroje, Zwierzyniec i Lutowiska.

Na podstawie analiz DNA wszystkich badanych populacji (tab. 4) stwierdzono wysoki stopień polimorficzności, wynoszący od 81,82% do 100%. Do populacji

**Tabela 4. Charakterystyka zmienności genetycznej badanych populacji matecznych buka zwyczajnego na podstawie analiz markerów DNA**

Table 4. Characteristics of genetic diversity studied beech populations on the basis of DNA analysis

Prowieniec Provenience	Średnia liczba alleli na locus Average number of alleles per locus	Efektywna liczba alleli na locus Effective number of alleles per locus	Procent loci polimorficznych Percentage of polymorphic loci	Heterozygotyczność obserwowana Heterozygosity observed
Gryfino	2,000	1,549	100,00	0,334
Kartuzy	1,818	1,469	81,82	0,268
Lutowiska	1,954	1,528	95,45	0,314
Łosie	2,000	1,503	100,00	0,305
Miechów	1,818	1,455	81,82	0,269
Suchedniów	1,909	1,541	90,91	0,317
Tomaszów Lub.	1,954	1,484	95,45	0,300
Zdroje	2,000	1,559	100,00	0,329
Zwierzyniec	1,954	1,514	95,45	0,309

odznaczających się największym udziałem polimorficznych loci należały Gryfino, Łosie oraz Zdroje, a najmniejszym – Kartuzy i Miechów. Wartość heterozygotyczności wynosiła od 0,268 w populacji z Kartuz do 0,334 w populacji z Gryfina. Największa średnia liczby alleli na locus była w populacjach: Gryfino, Łosie i Zdroje. Najmniejszą wartością tej cechy wyróżniły się populacje: Kartuzy i Miechów. Populacja Zdroje miała największą efektywną liczbę alleli na locus, a populacja Miechów – najmniejszą.

Wyniki oceny zmienności genetycznej pozyskanego materiału roślinnego buka na podstawie analiz izoenzymatycznych i DNA wykazały dużą zmienność badanych populacji. Wysoki procent loci polimorficznych oraz wartość heterozygotyczności obserwowanej w ocenie zróżnicowania DNA nie oznaczały, że populacje można charakteryzować także stopniem polimorficzności i heterozygotyczności izoenzymatycznej. Taka charakterystyka wydaje się bardziej istotna w przypadku populacji rosnących blisko granicy zasięgu.

Wyniki oceny zmienności genetycznej badanych populacji buka i ich potomstwa na podstawie markerów izoenzymatycznych i DNA wskazują na wysoki poziom zróżnicowania genetycznego tych populacji. Analizowane parametry zmienności genetycznej (średnia liczba alleli na locus, procent loci polimorficznych oraz wartość heterozygotyczności obserwowanej i oczekiwanej) mają większe średnie wartości w pokoleniu potomnym niż w populacjach matecznych. Świadczy to o losowym systemie krzyżowania badanych populacji, zapewniającym stabilność przyszłych pokoleń, bez zubożenia ge-

netycznego. Zachowanie równowagi genetycznej badanych populacji buka znajduje wyraz także w braku różnic między heterozygotycznością obserwowaną a oczekiwaną pokoleń potomnych (tab. 3).

Poziom zróżnicowania genetycznego populacji rodzicielskich jest wyraźnie wyższy niż pokoleń potomnych. Świadczą o tym mniejsze wartości dystansu genetycznego na obrazie dendrogramów (ryc. 2).

Znaleziono istotne korelacje między zawartością potasu i boru w warstwie gleby 0–20 cm a heterozygotycznością obserwowaną populacji matecznych oraz między zawartością w glebie jonów sodu a heterozygotycznością oczekiwaną badanych pochodzeń (tab. 5). Stwierdzono także istotną statystycznie korelację między cechami populacji rodzicielskich określonymi na podstawie markerów izoenzymatycznych a wieloma charakterystykami gleby na głębokości 20–40 cm: między heterozygotycznością obserwowaną a zawartością pierwiastków takich jak potas, bor, miedź i molibden, między heterozygotycznością oczekiwaną a zawartością molibdenu, między średnią liczbą alleli na locus a zawartością molibdenu, azotu, jonów wapnia i potasu oraz fosforanów, a także pH roztworu glebowego w środowisku wodnym i chlorku potasu.

Znaleziono istotne zależności między heterozygotycznością obserwowaną pochodzeń potomnych a zawartością potasu, boru i molibdenu oraz pH roztworu glebowego w środowisku wodnym i w chlorku potasu w warstwie gleby 20–40 cm. W przypadku powierzchniowej warstwy gleby (0–20 cm), dla pokoleń potomnych istotna okazała się zależność między zawartością boru i molibdenu a heterozygotycznością obserwowaną oraz między stosunkiem azotu do potasu a udziałem loci polimorficznych.

Korelację wykryto również między niektórymi cechami populacji rodzicielskich określonymi na podstawie markerów DNA a charakterystykami gleby: między stopniem polimorficzności a zawartością azotu ( $R = 0,406^*$ ), między efektywną liczbą alleli na locus a zawartością boru ( $R = 0,453^{**}$ ) i rozpuszczalnych form potasu ( $R = 0,417^*$ ) oraz między heterozygotycznością obserwowaną a zawartością boru ( $R = 0,413^*$ ).

## Dyskusja

Uzyskane wyniki opisują zakres zróżnicowania cech adaptacyjnych i wzrostowych między badanymi proveniencjami buka w Polsce, w naturalnym zasięgu występowania gatunku. Zmienność wewnątrzproweniencyjna badanych drzewostanów jest również duża. Dane dotyczące zmienności genetycznej określonej na podstawie analiz izoenzymatycznych systematyzują wiedzę dotyczącą kierunków migracji gatunku po okresie zlodowacenia. Ocena zmienności genetycznej na podstawie

**Tabela 5. Wartości współczynników korelacji Pearsona dla parametrów genetycznych na podstawie analiz izoenzymatycznych i charakterystyk glebowych**  
 Table 5. Coefficient of Pearson correlation values of genetic parameters on the basis of isoenzyme analyses and soil characteristics

Analizowany parametr Analised parameter	Głębokość 0–20 cm / Depth 0–20 cm						Głębokość 20–40 cm / Depth 20–40 cm									
	K	B	Mn	C/N	Na <sup>+</sup>		K	B	Cu	Mn	pH w / pH in H <sub>2</sub> O KCL		N	Ca <sup>++</sup>	K <sup>+</sup>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
<b>Heterozygotyczność obserwowana</b> Heterozygosity observed	M	0,413*	0,618**		0,429*		0,572**	0,435*	0,401*	0,454**						
<b>Heterozygotyczność oczekiwana</b> Heterozygosity expected	M								0,403*							
<b>Heterozygotyczność obserwowana</b> Heterozygosity observed	P	0,594***	0,409*				0,368*	0,390*	0,487**	0,389*	0,396*					
<b>Średnia liczba alleli na locus</b> Average number of alleles per locus	M								0,564**	0,376*	0,341*	0,406*	0,501**	0,377*		0,400*
<b>Procent loci polimorficznych</b> Percentage of polymorphic loci	P				0,533**											

M – populacje mateczne / mother stands, P – populacje potomne / progeny

Korelacje istotne przy wartości: \*  $p = 0,05$ , \*\*  $p = 0,01$ , \*\*\*  $p = 0,001$  / Significant code: \*  $p = 0,05$ , \*\*  $p = 0,01$ , \*\*\*  $p = 0,001$



analiz izoenzymatycznych oraz DNA wskazuje na zubożenie genetyczne populacji z północy Polski, nieznaczne w stosunku do populacji południowych, co może potwierdzać główne kierunki migracji buka.

Badanie zleżności między szacowanymi parametrami zmienności i różnicowania genetycznego badanych pochodzeń buka a kwasowością gleby, zawartością substancji mineralnych i łatwo przyswajalnych jonów w glebie pozwoliło wykryć korelację dla takich pierwiastków jak bor, potas i molibden. Pierwiastki te są niezbędne do prawidłowego wzrostu i funkcjonowania roślin (Kopcewicz i Lewak 1998).

Uzyskane wyniki potwierdzają istnienie ras glebowych buka, wykazane wcześniej w badaniach Teissier du Cros (1981), Lepoutre i Teissier du Cros (1983), Bidlo i Kovacs (1998) oraz Rzeźnik (1990) i omówione również szeroko przez Giertycha (2000). Przystosowanie siedliskowe buka potwierdzono w Alzacji i Lotaryngii, gdzie wykazano istnienie ras glebowych buka zwyczajnego, które preferują gleby wyraźnie kwaśne bądź o bardziej zasadowym odczynie. Różnice między rasami siedliskowymi dotyczyły wzrostu drzewek na wysokość, a także zawartości substancji mineralnych w glebie (Teissier du Cros 1981, Lepoutre i Teissier du Cros 1983). Podobne różnice obserwowali także Bidlo i Kovacs (1998) oraz Rzeźnik (1990).

Istotność korelacji pomiędzy obliczonymi parametrami różnicowania genetycznego a właściwościami chemicznymi gleby stanowi potwierdzenie słuszności nieprzenoszenia pochodzeń poza rejony o podobnym zakresie zmienności siedliskowej.

## 5. Wnioski

1. Uzyskane wyniki zmienności genetycznej określonej na podstawie analiz izoenzymatycznych oraz DNA wskazują na nieznaczne zubożenie genetyczne populacji buka z północy Polski w stosunku do populacji południowych, co może potwierdzać główne kierunki migracji tego gatunku.

2. Zmienność genetyczna drzewostanów matecznych była mniejsza niż zmienność potomstwa tych pochodzeń, co świadczy o swobodnym przepływie genów i losowym systemie krzyżowania.

3. Duże różnicowanie pochodzeń potomnych świadczy o wysokiej zmienności wewnątrzpopulacyjnej badanych populacji buka.

4. Znaleziono istotny związek między poziomem zmienności i różnicowania genetycznego badanych pochodzeń buka i ich potomstwa a zawartością w glebie substancji mineralnych i łatwo przyswajalnych przez rośliny jonów.

5. W gospodarce leśnej należy wykorzystywać przede wszystkim wartościowe lokalne (drzewostany) ekotypy buka, co przy uwzględnieniu ich plastyczności ekologicznej może zapewnić sukces hodowlany.

## Literatura

- Bidlo A., Kovacs G. 1998: Investigations on nutrient content in beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings of various provenances. [W:] Hungarian contributions to the 16<sup>th</sup> International Congress of Soil Science. *Agrokémia és Talajtan*, 47 (1–4): 317–328.
- Boratyńska K., Boratyński A. 1990: Systematyka i geograficzne rozmieszczenie. [W:] Buk zwyczajny *Fagus sylvatica*. PWN, Warszawa – Poznań: 27–73.
- Brzeziecki B. 1995: Skale nominalne wymagań klimatycznych gatunków leśnych. *Sylvan*, 139 (3): 53–65.
- Comps B., Paule L., Sugar I., Thiébaud B., Trinajstić I. 1988: Genetic variability in beechwoods (*Fagus sylvatica* L.) over central Europe, allozymic variations in six enzyme systems: spatial differentiation among and within populations. *Proceedings IUFRO – Buchensymposium*. (eds Š. Korpeľ & L. Paule ). Zvolen 3–6.06.1988: 5–21.
- Conkle M. T., Paul D. H., Nunnally L. B., Hunter S. C. 1982: Starch Gel Electrophoresis of Conifer Seeds: a laboratory manual. Pacific Southwest Forest and Range Experiment Station, Berkeley.
- Crow J.F., Kimura M. 1970: Introduction to Population Genetics Theory. Harper and Row, New-York.
- De Candolle A. 1855: *Geographie botanique raisonnée*. Paris et Geneve.
- Dzwonko Z. 1990: Ekologia. [W:] Buk zwyczajny *Fagus sylvatica*. PWN, Warszawa – Poznań: 237–328.
- Giertych M. 2000: Zmienność genetyczna buka. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie, Seria Rozprawy*, 69: 165–175.
- Gostyńska-Jakuszczyńska M., Zieliński J. 1976: Atlas rozmieszczenia drzew i krzewów w Polsce. Zeszyt 18. (red. K. Browicz). Zakład Dendrologii i Arboretum Kórnickie Polskiej Akademii Nauk, Kórnik.
- Gömöry D., Vyšný J., Comps B., Thiébaud B. 1992: Geographical patterns of genetic differentiation and diversity in European beech (*Fagus sylvatica* L.) populations in France. *Biologia* (Bratislava), 47(7): 571–579.
- Gömöry D., Hynek V., Paule L. 1998: Delineation of seed zones for European beech (*Fagus sylvatica* L.) in the Czech Republic based on isozyme gene markers. *Annales des Sciences Forestières*, 55: 425–436.
- Gömöry D., Paule L., Brus R., Zhelev P., Tomović Z., Gračan J. 1999: Genetic differentiation of phylogeny of beech on the Balkan peninsula. *Journal of Evolutionary Biology*, 12: 746–754.
- Grüger E. 1977: Pollenanalytische Untersuchung zur wurmzeitlichen Vegetationsgeschichte von Kalabrien (Süditalien). *Flora*, 166: 475–489.
- Jedliński W. 1953: Prace wybrane: O granicach naturalnego zasięgu buka, jodły świerka i innych drzew na Wyżynie

- Małopolskiej i Lubelskiej oraz ich znaczeniu dla gospodarstwa leśnego. PWRiL, Warszawa.
- Kim Z. S. 1979: Inheritance of leucine aminopeptidase and acid phosphatase in beech (*Fagus sylvatica* L.). *Silvae Genetica*, 28: 68–71.
- Kim Z. S. 1985: Viability selection at an allozyme locus during development in European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Silvae Genetica*, 34 (4–5): 181–186.
- Kopcewicz J., Lewak S. 1998: Podstawy fizjologii roślin. PWN, Warszawa.
- Kowalkowski A., Król H., Ostrowska A., Sytek J., Szczubiałka Z. 1973: Instrukcja laboratoryjna dla pracowni gleboznawczo-nawożeniowych. Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Gleboznawstwa i Nawożenia, Warszawa–Sękocin.
- Köppen F.T. 1889: Geographische Verbreitung der Holzgewächse des Europäischen Russlands und des Kukusus. St. Petersburg.
- Larsen J. B. 1985: Beech provenances in Denmark. *Mitteilungen der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft*, 150: 85–91.
- Lasy w Polsce. 2006. Centrum Informacyjne Lasów Państwowych. Warszawa.
- Lämmermayr L. 1923: Die Entwicklung der Buchenassoziation seit dem Tertiär. Dahlem b. Berlin.
- Lepoutre B., Teissier du Cros E. 1983: Soil × provenance interaction in beech (*Fagus sylvatica* L.). *Forest Science*, 29(2): 403–411.
- Matuszkiewicz W. 2005: Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski. PWN, Warszawa.
- Merzeau D., Di Giusto F., Comps B., Thiébaud B., Letouzey J., Cuguen J. 1989: Genetic control of isozyme systems and heterogeneity of pollen contribution in beech (*Fagus sylvatica* L.). *Silvae Genetica*, 38 (5–6): 195–201.
- Müller-Starck G. 1985: Genetic Differences between „Tolerant” and „Sensitive” Beeches (*Fagus sylvatica* L.) in Environmentally Stressed Adult Forest Stand. *Silvae Genetica*, 34(6): 241–248.
- Müller-Starck G., Starke R. 1993: Inheritance of isoenzymes in European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Journal of Heredity*, 84(4): 291–296.
- Nei M. 1972: Genetic distance between populations. *American Nature*, 106: 283–292.
- Nei M. 1978: Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583–590.
- Rzeźnik Z. 1990: Wyniki 20-letnich badań na proveniencyjnych powierzchniach bukowych w Polsce. *Sylwan*, 170 (1): 5–10.
- Sabor J. 2000: Wartość genetyczna buka karpackiego. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej im. H. Kołłątaja w Krakowie*, 69: 139–152.
- Sławiński W. 1947: Granice zasięgu buka na wschodzie Europy. *Annales UMCS, Section E*, 2:57–68.
- Sneath P.H.A., Sokal R.R. 1973: Numerical Taxonomy. W.H. Freeman. San Francisco.
- Starke R., Ziehe M., Müller-Starck G. 1996: Viability selection in juvenile populations of European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Forest Genetics*, 3(4): 217–255.
- Steffen H. 1931. Vegetationskunde von Ostpreußen. Pflanzensoziologie. Fischer, Jena.
- Sykes M. T., Prentice I. C. 1995: Boreal forest futures: modeling the controls on tree species range limits and transient responses to climate change. *Water, Air and Soil Pollution*, 82: 415–428.
- Szafer W., Pawłowski W. 1972: Szata roślinna Polski. PWN, Warszawa.
- Tarasiuk S. 1999: Buk zwyczajny (*Fagus sylvatica* L.) na obrzeżach zasięgu w Polsce. Warunki wzrostu i problemy hodowlane. Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa.
- Teissier du Cros E. 1981: Amélioration génétique du hêtre. [W:] Le Hêtre (ed. Tessier du Cros). INRA, Paris: 447–466.
- Thiébaud B., Lumaret R., Vernet Ph. 1982: The bud enzymes of beech (*Fagus sylvatica* L.) genetic distinction and analysis of polymorphism in several French populations. *Silvae Genetica*, 31 (2–3): 51–60.
- Thiébaud B., Comps B., Leroux A. 1992: Relation hauteur – génotype dans une régénération naturelle de hêtre (*Fagus sylvatica* L.), équienne et âgée de 18. *Annales des Sciences Forestières*, 49: 321–335.
- Wojterski T. 1990: Buczyzny i lasy z udziałem buka w Polsce. [W:] Buk zwyczajny *Fagus sylvatica*. PWN, Warszawa – Poznań: 329–374.