

Justyna A. NOWAKOWSKA¹, Tomasz OSZAKO², Jolanta BIENIEK¹, Krzysztof RAKOWSKI¹

CHARAKTERYSTYKA GENETYCZNA PCR-RFLP ORAZ OCENA ZDROWOTNOŚCI WYBRANYCH POPULACJI DĘBU ELBLĄSKIEGO I KROTOSZYŃSKIEGO

GENETIC CHARACTERIZATION IN RELATION TO THE HEALTH STATE
OF OAK POPULATIONS IN THE ELBLĄSKI AND KROTOSZYŃSKI REGIONS
OF POLAND

Abstract. *Thirteen oak (*Quercus robur* L.) populations in the Elbląg and Krotoszyn Forest Districts were analyzed in order to determine genetic variation and similarity in relation to health and resistance to stress factors. Chloroplast DNA was analyzed using PCR-RFLP markers and, after amplification, separated on 8% polyacrylamide gel. Different frequencies of six haplotypes (“1”, “4”, “5”, “7”, “10” and “12”) of “DT” and “CD” loci primers were determined. Higher genetic variation was observed in trees from Krotoszyn ($H_T = 0.809$) in comparison to Elbląg ($H_T = 0.785$). All oak populations studied were characterized by high genetic variation ($G_{ST} = 0.818$). In oak stands at the Elbląg Dobrocin, Młynary, Orneta, Starogard and Zaporowo populations shared some genetic similarity except the population Górowo Itaweckie. Most stands of the Elbląg provenances presented a haplotype-pattern typical of the Apennines postglacial oak refugium. High genetic distance separated two populations (Jarocin and Karczma Borowa) from the other populations at Krotoszyn (Krotoszyn-1, Krotoszyn-2, Milicz, Piaski and Taczanów). The majority of Krotoszyn provenances showed the haplotype-pattern typical of the Balkan and Iberian oak refugia. Stand health was monitored from 1999 in two populations, Młynary (provenance region 103) and Jarocin (provenance region 359). Different levels of injury symptoms were observed between stands but mortality was higher in Jarocin, presenting high frequency of Balkan haplotype “7”. Severe damage affected 60% of trees in the Jarocin stand after 2003, probably due to a combination of unfavorable climatic conditions and infection by pathogens e.g. *Phytophthora* and *Pythium*. Comparing chloroplast DNA variation data obtained for Młynary and Jarocin, the population with higher cpDNA differentiation (Młynary) appeared better adapted to the changing environmental conditions (drought, high temperature) than Jarocin with lower genetic variation.*

Key words: *Quercus robur, drought, high temperature, chloroplast DNA markers, genetic variation of oak stands, health state of oak stands.*

¹ Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Genetyki i Fizjologii Drzew Leśnych, Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn,

² Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Fitopatologii Leśnej, Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn

1. WSTĘP

Zmienność genetyczna populacji drzew leśnych jest jednym z kluczowych elementów gwarantujących przeżywalność gatunku w ekosystemie i jego adaptację do zmiennych warunków środowiska. Genom każdego organizmu zawiera podstawową informację nt. cech strukturalnych (budowa, kształt, kolor), funkcjonalnych (biorących udział w szeregu procesów metabolicznych) i odpornościowych (takich jak białka i substancje obronne przed patogenami grzybowymi i owadziemi). Poznanie struktury puli genetycznej populacji umożliwi w pierwszym rzędzie ocenę zmienności wewnątrz- i międzypopulacyjnej, dalej – przepływu genów między populacjami i powiązań filogenetycznych. Badanie struktury DNA jest możliwe dzięki zastosowaniu markerów genetycznych DNA jądrowego (m.in. SSR) i cytoplazmatycznego (PCR-RFLP, STS), powszechnie stosowanych do określenia zmienności genetycznej osobników, populacji i gatunków w genetyce drzew leśnych, entomologii, fitopatologii i łowiectwie (Nowakowska 2005, 2006, Nowakowska i in. 2005).

Dąb szypułkowy (*Quercus robur* L.) jest jednym z najważniejszych rodzimych gatunków liściastych, zajmuje różnorodne warunki środowiskowe i występuje przeważnie na nizinach, do 600 m n.p.m. Zasięg dębu szypułkowego obejmuje większą część Europy, z wyjątkiem północnej Szkocji, Finlandii i północnej części Rosji. Na południu Europy populacje dębowe porastają północną część Półwyspu Pirenejskiego, Półwysep Apeniński oraz część Półwyspu Bałkańskiego (Tomanek 1997).

Zmienność genetyczna dębów w Europie jest szczegółowo przebadana jedynie na podstawie niekodujących sekwencji DNA chloroplastowego (Petit i in. 1997). Polimorfizm fragmentów DNA chloroplastowego polega na występowaniu mutacji punktowych, zlokalizowanych w sekwencjach restrykcyjnych, niekodujących regionów genomu. Chloroplastowe DNA charakteryzuje się matecznym sposobem dziedziczenia u drzew liściastych i wykazuje większy stopień zmienności niż DNA jądrowe, dlatego więc jest powszechnie stosowane w badaniach filogenezy wielu gatunków drzew liściastych, w tym również dębów *Quercus petraea* (Matt. Liebl.) i *Q. robur* L. (McCauley 1995, Petit i in. 2002). Na podstawie genetycznej mapy rozmieszczenia haplotypów chloroplastowego DNA dla dębu w Europie udokumentowano występowanie 5 głównych grup (od A do E) populacji dębowych (Csaikl i in. 2002). Badania obecności pyłku dębów w skamienielinach wskazują na kolonizację środkowej i północnej Europy przez *Quercus* z trzech głównych refugium południowoeuropejskich, a mianowicie Półwyspu Iberyjskiego, Apenińskiego i Bałkańskiego. Na podstawie analiz chloroplastowych loci *psaA*, *psbC*, *trnC*, *trnD*, *trnS* i *trnT* ustalono, że europejskie populacje dębu dzielą się na 5 podstawowych grup: „A”, „B”, „C”, „D” i „E”. Populacje typu „A”, „D” i „E” wywodzą się z refugium Półwyspu Bałkańskiego, grupa „B” z Półwyspu Iberyjskiego, a grupa „C” z Półwyspu Apenińskiego (Demesure i in. 1995, Taberlet i in. 1991, Petit i in. 1997, Petit i in. 2002). Badania DNA chloroplastowego

przeprowadzone dla 33 wybranych populacji dębu w Polsce, wykazały ich przynależność filogenetyczną głównie do grup „A” i „C” (Głaz 2000, Csaikl i in. 2002). Badania te określiły charakterystykę genetyczną populacji dębowych, bez szczegółowej analizy rozmieszczenia haplotypów w obrębie badanego regionu pochodzenia.

W Lasach Państwowych od 1988 r. obowiązuje regionalizacja nasienna podstawowych gatunków drzew leśnych, która ma na celu zminimalizowanie strat spowodowanych hodowlą odmian nieprzystosowanych do warunków klimatycznych i siedliskowych danego terenu. Granice poszczególnych regionów leśnego materiału podstawowego (LMP) i zasady transferu leśnego materiału rozmnożeniowego (LMR) określono m.in. na podstawie istniejącej w Instytucie Badawczym Leśnictwa bazy nasiennej rodzimych gatunków drzew leśnych oraz cech siedliskowych i klimatycznych danego regionu, jak również podziału administracyjnego Polski na gminy (Matras 1996, Załęski 2005, Dz. U. Nr 67, poz. 621).

Populacje dębowe rozmieszczone są w 10 regionach pochodzenia LMR (nr: 103, 104, 106, 301, 304, 308, 405, 501, 502 i 607) i dotychczas badano głównie zmienność cech hodowlanych drzewostanów założonych na rodowo-prowieniencyjnych powierzchniach doświadczalnych z nasion pochodzących z ww. regionów (Załęski 2005). Potrzeba jednak czasu, aby na podstawie tych doświadczeń można było ustalić zróżnicowanie genetyczne i wartość hodowlaną badanych populacji dębu szypułkowego i bezszypułkowego, a przede wszystkim poprawnie określić obszary zróżnicowania pul genetycznych populacji.

Zamieranie drzewostanów dębowych w Europie nie jest zjawiskiem nowym i okresowo pojawia się w tych samych rejonach, zarówno w kraju, jak i za granicą od ponad 130 lat (Oszako, 2004). Nasuwa się pytanie, czy zróżnicowanie genetyczne ma wpływ na odporność drzewostanów dębowych. Pytanie to jest tym bardziej zasadne, że do tej pory (pomimo szeroko zakrojonych badań interdyscyplinarnych w wielu krajach Europy) nie stwierdzono, by za wielkopowierzchniowe uszkodzenia drzewostanów dębowych był odpowiedzialny jeden czynnik. Pomimo iż syndrom zamierania dotyczy wielu gatunków dębów, to jednak w centralnej Europie najsilniej uszkodzone są monokultury dębu szypułkowego (a w szczególności odmiana wczesna, tzw. *precox*).

W celu przeprowadzenia szybkiej i precyzyjnej charakterystyki genetycznej populacji dębowych w Polsce zastosowano markery zmienności DNA chloroplastowego, a otrzymane wyniki porównano ze stanem zdrowotnym badanych populacji, uwzględniając wygląd koron i pni drzew w dwóch rejonach Polski: północnym (reprezentowanym przez drzewostan w Nadleśnictwie Młynary) i zachodnim (Jarocin).

2. MATERIAŁ I METODY

2.1. Materiał roślinny

Badaniami* objęto trzynaście drzewostanów dębowych, położonych w dwóch regionach pochodzenia – elbląskim (nr 103) i krotoszyńskim (nr 308). W obrębie każdego z regionów wybrano trzy drzewostany dębowe. W regionie dębu elbląskiego (103) przebadano dwa drzewostany z centrum regionu (Młynary i Orneta) oraz jeden drzewostan położony na obrzeżu regionu (Zaporowo). Trzy drzewostany kontrolne, położone poza granicami regionu 103, były zlokalizowane w regionach pochodzenia 251 (Górowo Iławeckie), 156 (Starogard) i 106 (Dobrocin) (ryc. 1).

W regionie pochodzenia dębu krotoszyńskiego (308) wybrano jeden drzewostan położony centralnie (Krotoszyn-1) oraz dwa drzewostany położone na obrzeżach (Krotoszyn-2 i Karczma Borowa). Populacjami kontrolnymi dla regionu 308 były Taczanów i Jarocin (region 359), Piaski (354) i Milicz (553) (ryc. 1).

Przy kwalifikacji drzewostanów kierowano się następującymi zasadami:

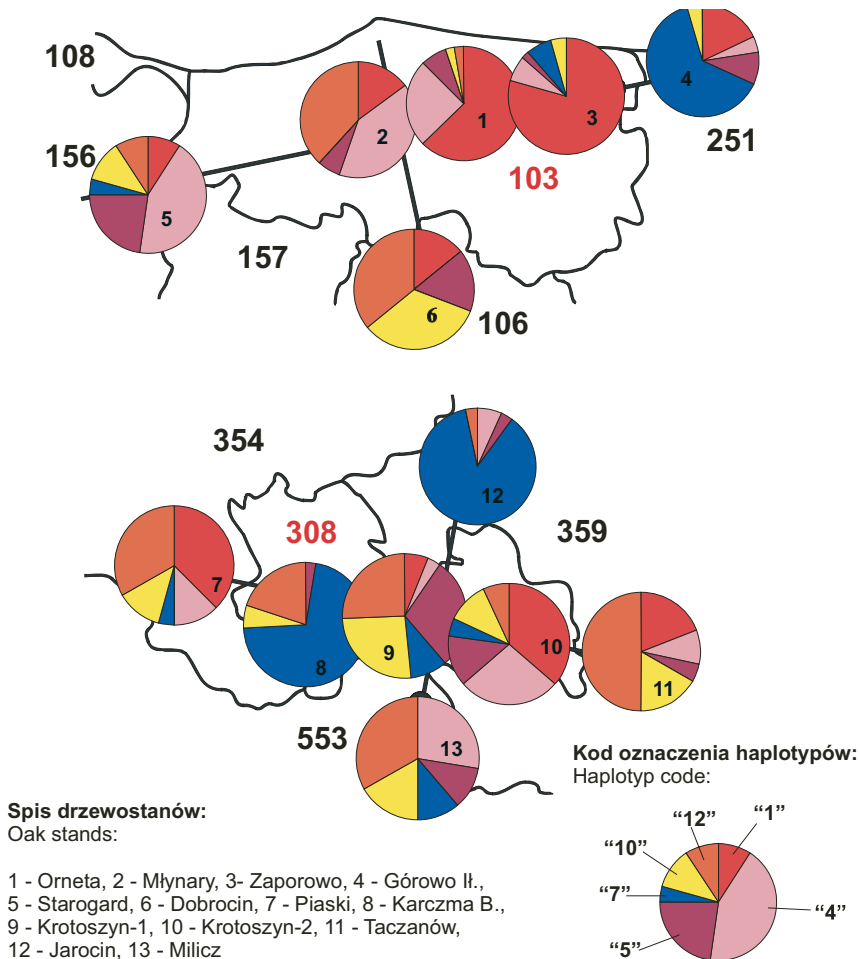
- do analiz typowano drzewostany rodzime, które powstały z materiału lokalnego rozmnożeniowego,
- powierzchnia drzewostanu wynosiła powyżej 4 ha,
- wybór ograniczono do drzewostanów stanowiących rozmnożeniową bazę nasienną, na którą składają się wyłączone drzewostany nasienne (WDN) lub gospodarcze drzewostany nasienne (GDN) w wieku powyżej 100 lat,
- badane drzewostany były zlokalizowane na optymalnych dla siebie siedliskach (Lśw) i typowych dla gatunku glebach, tylko w wyjątkowych wypadkach dopuszczano różnice w jakości siedliska o jedną klasę żyzności (LMśw do Lw),
- udział badanego gatunku w wytypowanych do analiz drzewostanach wynosił od 50 do 70%.

Analizami objęto po 50 drzew z każdego drzewostanu. W celu prawidłowego określenia zmienności genetycznej w drzewostanach, kierowano się następującymi zasadami:

- każdy drzewostan reprezentowany był przez jednakową ilość osobników w zbliżonym wieku,
- z pojedynczego drzewostanu zebrano materiał w sposób losowy,
- między wybranymi drzewami zachowano odstęp 25 m (przeciętna wysokość drzew), w celu ograniczenia możliwości wyboru osobników blisko spokrewnionych,
- minimalna odległość wytypowanych osobników od granicy drzewostanu wynosiła przynajmniej 25 m.

Przed wykonaniem analiz laboratoryjnych zebrany materiał roślinny przechowywano w temp. -76°C .

* Badania sfinansowano ze środków Narodowego Funduszu Środowiska i Gospodarki Wodnej (Grant 12-U-31).



Ryc. 1. Frekwencja haplotypów chloroplastowego locus „DT” w badanych populacjach dębowych
Fig. 1. Haplotype distribution of chloroplast locus „DT” in studied oak stands

Ocenę zdrowotności przeprowadzono na powierzchniach doświadczalnych Nadleśnictw Młynary i Jarocin, reprezentujących drzewostany dębowe typowe – pod względem wieku (powyżej 100 lat), siedliska (żyzne, bonitacja I lub II) i stanu zdrowotnego – dla obu nadleśnictw. Wyznaczono losowo po 100 drzew (20 drzew wzdłuż linii oddziałowych i 80 w głębi drzewostanów).

2.2. Metody

2.2.1. Izolacja DNA z liści

Całkowite DNA ekstrahowano za pomocą zestawów do izolacji DNA (DNeasy 250 Plant Mini Kit, QIAGEN). Wydajność ekstrakcji badano za pomocą elektroforezy w 1% żelu agarozowym i otrzymane wyniki analizowano za pomocą programu Gel Doc™ 2000 (BioRad).

2.2.2. Analizy PCR-RFLP

Analizy zmienności genetycznej przeprowadzono na podstawie reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) przy zastosowaniu markerów dwóch loci chloroplastowego DNA: „DT” (trnD [tRNA-Asp(GUC)] – trnT [tRNA-Thr(GGU)]) i „CD” (trnC [tRNA-Cys(GCA)]- trnD [tRNA-Asp(GUC)]) (Demesure i in. 1995). Wybrane regiony DNA powielano za pomocą specyficznych starterów, po czym analizowano polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych metodą RFLP (ang. Restriction Fragment Length Polymorphism) (Demesure i in. 1995, Dumolin-Lapègue i in. 1997).

Po oszacowaniu zawartości DNA genomowego, ekstrahowanego z każdego drzewa, przygotowywano po 25 µl następującej mieszaniny reakcyjnej (QIAGEN PCR Master Kit, w nawiasach podano stężenia końcowe): DNA genomowe (50 ng), bufor reakcyjny (1,2×; pH = 8,0), MgCl₂ (1,7 mM), roztwór Q (1,2×), dNTPs (200 µM), startery „CD” lub „DT” (1 µM) oraz Taq polimeraza (1 U).

Mieszaninę umieszczano w termocyklerze (Biometra), zaprogramowanym na 30 cykli amplifikacji DNA, przy czym każdy cykl obejmował następujące etapy:

Locus	1		2		3		4		5	
	temp. [°C]	czas [min.]	temp. [°C]	czas [min.]	temp. [°C]	czas [min.]	temp. [°C]	czas [min.]	temp. [°C]	czas [min.]
„DT”	95	4	93	0'45''	54,5	0'45''	72	3	72	10
„CD”	95	4	93	0'45''	58	0'45''	72	4	72	10

Do powielonych fragmentów DNA chloroplastowego (1 µg/µl) dodawano enzym *TaqI* (Promega; 2,5U), bufor E (1×), BSA (2 µg/µl) i poddawano 3 godzinemu trawieniu w 65°C.

Fragmenty powstałe w wyniku trawienia enzymem *TaqI* wizualizowano w 8% żelu akrylamidowym i analizowano przy użyciu programu BIO-PROFIL Bio-Gene Windows Application V99.05 (Vilber Lourmat).

Powielone sekwencje DNA chloroplastowego oznaczano na podstawie kodu określonego przez Petit i in. (2002a, 2003). Zmienność wewnątrzpopulacyjną w danej populacji obliczano na podstawie częstości haplotypów oraz heterozygotyczności *h* (Nei 1978), a pokrewieństwo genetyczne - wyrażane za pomocą dendrogramów - według metody analizy skupień średnich połączeń (UPGMA, Nei 1978), obliczanych w programie PopGene wersja 1.32 (<http://www.ualberta.ca/~fyeh/>). Statystyczne prawdopodobieństwo występowania grup w dendrogramach testowano za pomocą analizy MCMC (łańcuchy Markowa Monte-Carlo), w programie BAPS 2.0 (liczba randomizacji = 10000, zapisywanie = 5000, zawieranie = 5, *p* = 0,02; Corander i in. 2003).

2.2.3. Ocena zdrowotności

Ocenę wzrokową stanu ulistnienia i uszkodzenia pni wykonywano dwukrotnie w ciągu sezonu wegetacyjnego, tj. na jego początku (w czerwcu) i na zakończenie

(we wrześniu/październiku). Przyjęto 5-stopniową skalę uszkodzeń, od 0 – drzewa zdrowe, do 4 – drzewa obumarłe (Oszako 1990). Dla uproszczenia, w niniejszym opracowaniu stopnie uszkodzenia 1, 2 i 3 zsumowano razem i wykazano jako drzewa chore. Dzięki przyjętej jednolitej metodyce i ciągłości obserwacji wykonywanej co roku, analizowano zarówno tempo zmian zdrowotności drzewostanów, jak i konsekwencji obumierania drzew (wyrażonej odsetkiem drzew martwych).

3. WYNIKI

3.1. Izolacja DNA

Średnia zawartość cząsteczek genomowego DNA dla badanych pochodzeń dębu wynosiła ok. 15 µg DNA/100 mg świeżej masy liści. Dane te posłużyły do ustalenia składu buforu reakcyjnego tak, aby w amplifikacji brało udział 50 ng wyjściowej ilości DNA.

3.2. Frekwencja i lokalizacja haplotypów w badanych populacjach

W wyniku amplifikacji PCR otrzymano 6 różnych haplotypów chloroplastowego genu *trn* dębu, mianowicie haplotypy „1”, „4”, „5”, „7”, „10” i „12” (ryc. 1, tab. 1).

Haplotyp „1” występował we wszystkich badanych populacjach dębu elbląskiego (103) (średnia częstość występowania 33,9%) oraz w czterech drzewostanach dębowych z regionu krotoszyńskiego: Piaski, Krotoszyn-1, Krotoszyn-2 i Taczanów (tab. 1). Najmniejszy udział haplotypu „1” stwierdzono w drzewostanach: Krotoszyn-1 (6,04%) i Starogard (9,1%).

Haplotyp „4” występował we wszystkich badanych drzewostanach, z wyjątkiem drzewostanu Dobrocin (106) i Karczma Borowa (354). Był to najczęściej spotykany haplotyp w populacjach Młynary (40,4%) i Starogard (43,2%). Najmniej haplotypu „4” odnotowano w populacjach Krotoszyn-1 (3,2%), Górowo Iławeckie (4,5%), Jarocin (6,6%) i Zaporowo (6,8%). Łącznie, w regionach pochodzenia dębu elbląskiego występowało ok. dwa razy więcej haplotypów „1” i „4” (odpowiednio 33,9 i 21,7%), niż w populacjach dębu krotoszyńskiego (15,6 i 12,0%) (tab. 1).

Haplotyp „5” występował we wszystkich badanych populacjach, oprócz populacji Piaski (308). Najmniejszy udział tego haplotypu odnotowano w populacjach: Zaporowo (2,3%), Karczma Borowa (2,8%), Jarocin (3,3%) i Taczanów (4,7%). Najwięcej haplotypu „5” wykryto w populacjach Starogard (22,7%) i Krotoszyn-1 (29,0%). Ogólnie, badane drzewostany dębu elbląskiego i krotoszyńskiego miały podobny udział haplotypu „5” (odpowiednio 10,9 i 9,4%) (tab. 1).

Niską, 4,2–4,5% frekwencję występowania haplotypu „7” odnotowano w populacjach Starogard, Krotoszyn-2 i Piaski. Wysoki udział tego haplotypu zaobserwowano w populacjach Jarocin (86,6%), Karczma Borowa (71,4%) i Górowo

Tabela 1. Frekwencje haplotypów DNA chloroplastowego w badanych drzewostanach dębowych
 Table 1. Haplotype frequencies of chloroplast DNA in studied oak populations

Nadleśnictwo Forest District	Region pochodzenia Provenance region	Frekwencja haplotypów Haplotype frequency						<i>h</i>
		„1”	„4”	„5”	„7”	„10”	„12”	
1. Ornetą	103	0,625	0,250	0,075	–	0,025	0,025	0,540
2. Młynary	103	0,149	0,404	0,064	–	–	0,383	0,664
3. Zaporowo	103	0,795	0,068	0,023	0,068	0,045	–	0,355
4. Górowo �.	251	0,182	0,045	0,090	0,636	0,045	–	0,549
5. Starogard	156	0,091	0,432	0,227	0,045	0,113	0,091	0,730
6. Dobrocin	106	0,143	–	0,166	–	0,333	0,357	0,713
Średnia Mean		0,339	0,217	0,109	0,079	0,096	0,159	$H_T = 0,785$
7. Piaski	354	0,375	0,125	–	0,042	0,125	0,333	0,715
8. Karczma B.	308	–	–	0,028	0,714	0,057	0,200	0,445
9. Krotoszyn-1	308	0,064	0,032	0,290	0,258	0,258	0,258	0,768
10. Krotoszyn-2	308	0,363	0,273	0,136	0,045	0,114	0,068	0,755
11. Taczanów	359	0,190	0,095	0,047	–	0,167	0,500	0,675
12. Jarocin	359	–	0,066	0,033	0,866	–	0,033	0,242
13. Milicz	553	–	0,277	0,111	0,111	0,167	0,333	0,759
Średnia Mean		0,156	0,120	0,094	0,263	0,125	0,241	$H_T = 0,809$
Razem All		0,250	0,170	0,101	0,168	0,110	0,198	$G_{ST} = 0,818$

h – zmienność wewnątrzpopulacyjna, H_T – zmienność genetyczna między populacjami, G_{ST} – współczynnik zmienności genetycznej (Nei 1987)

h – genetic differentiation within a population, H_T – genetic differentiation among populations, G_{ST} – coefficient of genetic differentiation (Nei 1987)

 . (63,6%). Ogólnie, populacje dębu z regionu krotoszyńskiego miały ok. 3 razy więcej haplotypu „7” (26,3%) w porównaniu z populacjami z regionu elbląskiego (7,9%) (tab. 1).

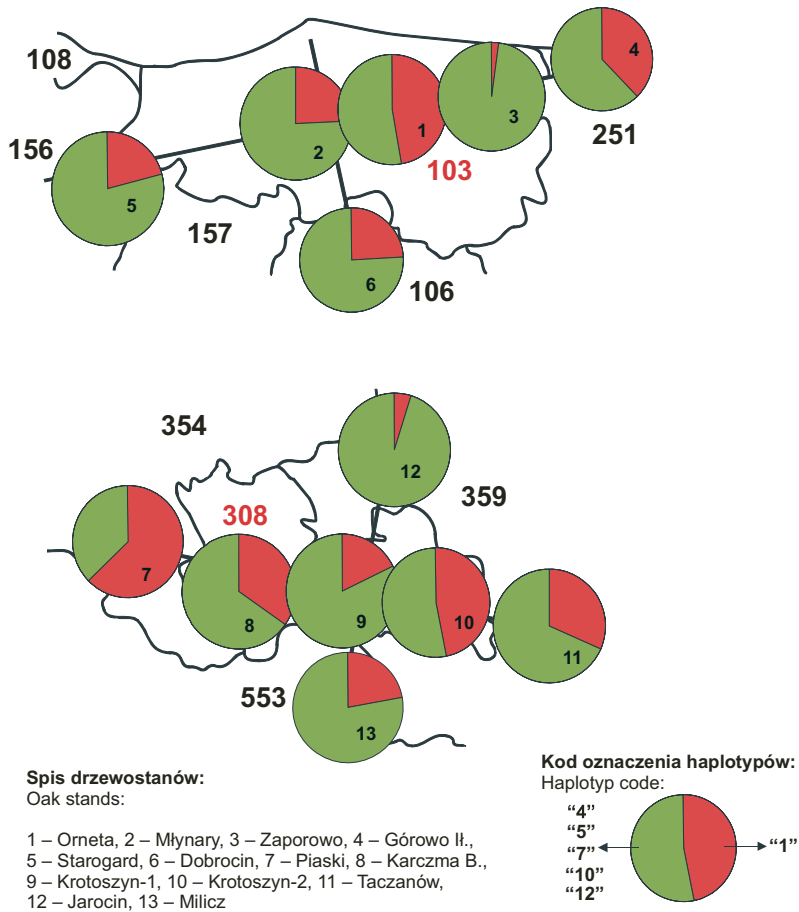
Haplotyp „10” występował w populacjach dębu krotoszyńskiego (12,5%) i elbląskiego (9,6%). Najmniejszą frekwencję haplotypu „10” zaobserwowano w populacjach Ornetą (2,5%), Górowo  . i Zaporowo (obie populacje po 4,5%), a największą w populacjach Dobrocin (33,3%) i Krotoszyn-1 (25,8%) (tab. 1).

Badane drzewostany dębu szypułkowego z regionu elbląskiego charakteryzowała mniejsza frekwencja haplotypu „12” (15,9%) w porównaniu do dębu krotoszyńskiego (24,1%). Najmniejszy udział haplotypu „12” odnotowano w populacji Ornetą (2,5%), a największy – w populacji Taczanów (50,0 %) (tab. 1).

Podsumowując, badane populacje dębów z regionu elbląskiego charakteryzują się wysoką frekwencją haplotypów „1” (33,9 %) i „4” (21,7%). W regionie tym, haplotypy „5”, „7”, „10” i „12” są rzadkie (tab. 1).

W regionie dębu krotoszyńskiego, najczęściej występuje haplotyp „7” (26,3%) i „12” (24,1%). Najrzadziej spotykanym haplotypem jest „5” (9,4%).

We wszystkich badanych populacjach dębowych, najczęściej występującym haplotypem jest haplotyp „1” (25,0%), a najrzadziej występującym – „5” (10,1%) (tab. 1).



Ryc. 2. Frekwencja haplotypów chloroplastowego locus „CD” w badanych populacjach dębowych
Fig. 2. Haplotype distribution of chloroplast locus “CD” in studied oak stands

Geograficzne rozmieszczenie frekwencji wszystkich haplotypów w badanych drzewostanach dębowych obu regionów przedstawiono na rycinach 1 i 2. W regionie dębu elbląskiego, drzewostan Orneta (103) oraz populacja Dobrocin (106) mają podobny skład haplotypów locus „DT” „1”, „5”, „10” i „12”, występujących jednakże z odmienną frekwencją. Pozostałe populacje z regionu 103 - Młynary i Zaporowo mają odpowiednio cztery („1”, „4”, „5” i „10”) i pięć haplotypów („1”, „4”, „5”, „7” i „10”). Populacja Starogard (156) ma sześć haplotypów („1”, „4”, „5”, „7”, „10” i „12”), a Górowo Ił. (251) – pięć haplotypów („1”, „4”, „5”, „7” i „10”). Ta ostatnia populacja wyróżnia się na tle pozostałych z powodu dużego udziału haplotypu „7” (ryc. 1).

Geograficzne rozmieszczenie haplotypów locus „DT” w pochodzeniach dębu krotoszyńskiego wskazuje na wysoką frekwencję haplotypu „7” w populacji wewnętrznej regionu – Karczma Borowa (308), i populacji obrzeżnej – Jarocin (359),

oraz na wysoką frekwencję haplotypu „12” w trzech populacjach na zewnątrz regionu 308, a mianowicie Piaski (354), Milicz (553) i Taczanów (359). Warto zwrócić uwagę, że dwie badane populacje z regionu 359 – Jarocin i Taczanów, bardzo różnią się pod względem składu i częstości występowania haplotypów DNA chloroplastowego (ryc. 1).

Analiza chloroplastowego locus „CD” wykazała większą jednorodność haplotypów, występujących z podobną częstością zarówno w badanym regionie, jak i w regionach sąsiednich. Otrzymany obraz zmienności haplotypów wynika z istnienia wyłącznie dwóch wariantów: haplotypu „1” oraz pozostałych haplotypów, postrzeganych jako jedna grupa (Petit i in. 2002a). Na podstawie analizy locus „CD” okazało się, że w regionie dębu elbląskiego populacja Młynary (103) ma podobny rozkład haplotypów jak dwie populacje ościenne: Starogard (156) i Dobrocin (106), a populacja Orneta (103) przedstawia podobny wzorzec haplotypów jak populacja Górowo Ӏ. (251) (ryc. 2).

W regionie dębu krotoszyńskiego haplotypy locus „CD” wskazują na genetyczne podobieństwo populacji Krotoszyn-1 (308) i Milicz (553), Karczma Borowa (308) i Taczanów (359) oraz Piaski (354) i Krotoszyn-2 (308) (ryc. 2).

3.3. Zmienność genetyczna badanych drzewostanów dębowych

Najbardziej zróżnicowanymi genetycznie populacjami w regionie dębu elbląskiego są drzewostany Starogard ($h = 0,730$) i Dobrocin ($h = 0,713$), a najmniej Zaporowo ($h = 0,355$) (tab. 1). W obrębie regionu dębu krotoszyńskiego, najbardziej zróżnicowanymi genetycznie są populacje Krotoszyn-1 ($h = 0,768$), Milicz ($h = 0,759$) i Krotoszyn-2 ($h = 0,755$). Najmniej haplotypów DNA chloroplastowego ma populacja Jarocin ($h = 0,242$) (tab. 1).

Badane populacje dębu elbląskiego charakteryzuje mniejsza efektywna liczba alleli w locus ($n_e = 4,673$), mniejszy indeks zmienności genetycznej Shannon’a ($I = 1,658$), mniejsza całkowita zmienność międzypopulacyjna ($H_T = 0,785$) i mniejszy współczynnik fiksacji haplotypów $F_{ST} = 0,186$; w porównaniu do parametrów genetycznych, otrzymanych dla badanych populacji dębu krotoszyńskiego ($n_e = 5,240$; $I = 1,721$; $H_T = 0,809$; $F_{ST} = 0,309$) (tab. 2).

Ogólne zróżnicowanie genetyczne wszystkich badanych populacji jest wysokie ($G_{ST} = 0,818$) (tab. 1), jak i współczynnik fiksacji dla obu loci ($F_{ST} = 0,292$) (tab. 2).

3.4. Charakterystyka podobieństwa genetycznego

Na podstawie dystansu genetycznego (tab. 3 i 4), obliczonego wg metody UPGMA, skonstruowano dendrogramy podobieństwa genetycznego dla drzewostanów z dwóch badanych regionów dębów (ryc. 3).

Wśród badanych drzewostanów z regionu 103 wyróżniono jedną grupę pięciu populacji spokrewnionych genetycznie (Dobrocin, Młynary, Starogard, Orneta i Zaporowo) oraz populację Górowo Ӏ., oddaloną od pozostałych populacji naj-

Tabela 2. Zmienne genetyczne badanych populacji dębu z regionów pochodzenia 103 i 308 wraz z populacjami ościennymi

Table 2. Genetic variables calculated for oak stands in provenance regions 103 and 308 and their neighborhood

Region pochodzenia Provenance region	<i>N</i>	<i>n_e</i>	<i>I</i>	<i>H_T</i>	<i>F_{ST}</i> (±S.D.)
103	239	4,653	1,658	0,785	0,186 (0,022)
308	224	5,240	1,721	0,809	0,309 (0,027)
Razem All		5,489	1,745		<i>F_{ST}</i> = 0,292 (0,016)

N – liczba drzew, *n_e* – efektywna liczba alleli w locus, *I* – współczynnik zmienności genetycznej Shannona (Lewontin 1972), *H_T* – współczynnik zmienności międzypopulacyjnej, *F_{ST}* – współczynnik fiksacji

N – number of trees, *n_e* – effective allele number, *I* – Shannon index (Lewontin 1972), *H_T* – genetic diversity among populations, *F_{ST}* – fixation index

Tabela 3. Podobieństwo genetyczne (nad przekątną) i dystans genetyczny (poniżej przekątnej) badanych populacji dębowych z regionu pochodzenia 103 i populacji sąsiednich, na podstawie analiz chloroplastowego DNA

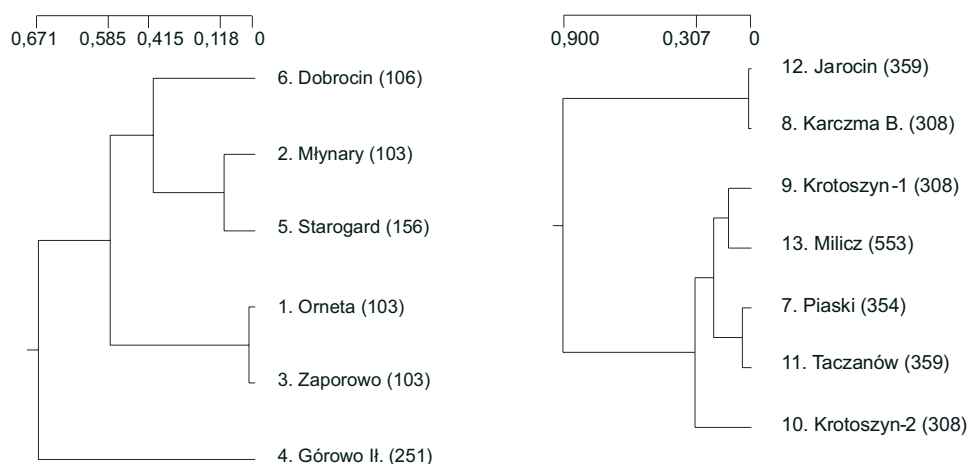
Table 3. Genetic identity (above diagonal) and distance (below diagonal) calculated for studied oak populations from 103 provenance region and neighbor regions, based on the chloroplast DNA data

Populacja Population	Dobrocin	Górowo H.	Młynary	Orneta	Starogard	Zaporowo
Dobrocin	****	0,1566	0,5431	0,3277	0,4359	0,3083
Górowo H.	1,8543	****	0,1317	0,2921	0,2609	0,3623
Młynary	0,6105	2,0273	****	0,5301	0,7884	0,3167
Orneta	1,1156	1,2307	0,6347	****	0,5308	0,9495
Starogard	0,8305	1,3437	0,2377	0,6334	****	0,2763
Zaporowo	1,1767	1,0151	1,1497	0,0518	1,2863	****

Tabela 4. Podobieństwo genetyczne (nad przekątną) i dystans genetyczny (poniżej przekątnej) badanych populacji dębowych z regionu pochodzenia 308 i populacji sąsiednich, na podstawie analiz chloroplastowego DNA

Table 3. Genetic identity (above diagonal) and distance (below diagonal) calculated for studied oak populations from 308 provenance region and neighbor regions, based on the chloroplast DNA data

Populacja Population	Jarocin	Karczma B.	Krotoszyn-1	Krotoszyn-2	Milicz	Piaski	Taczanów
Jarocin	****	0,9753	0,2565	0,1526	0,3190	0,1233	0,0503
Karczma B.	0,0250	****	0,4147	0,1571	0,4582	0,2695	0,2660
Krotoszyn-1	1,3608	0,8803	****	0,5410	0,8255	0,6190	0,7626
Krotoszyn-2	1,8797	1,8511	0,6143	****	0,6051	0,8296	0,5654
Milicz	1,1424	0,7804	0,1917	0,5023	****	0,7050	0,8580
Piaski	2,0934	1,3110	0,4797	0,1869	0,3495	****	0,9262
Taczanów	2,9895	1,3244	0,2710	0,5702	0,1531	0,0767	****



Ryc. 3. Dendrogramy odległości genetycznej wg Nei (1978) dla drzewostanów dębowych z regionu pochodzenia 103 i okolic oraz 308 i okolic na podstawie markerów chloroplastowego DNA. Cyframi oznaczono poszczególne drzewostany, a numery regionów podano w nawiasach, jak w tab. 1.

Fig. 3. Dendrograms of genetic distances of Nei (1978) for oak populations from 103 region and neighborhood and 308 and neighborhood, assessed with chloroplast DNA marker. Population numbers follow table 1 and provenance region number are given in brackets

większym dystansem genetycznym $D_N = 0,671$ (ryc. 3). Spośród badanych populacji regionu 103, Ormeta i Zaporowo są bardzo zbliżone genetycznie (podobieństwo genetyczne 94,9%; $D_N = 0,026$; tab. 3 i ryc. 3). Populacja Młynary (103) wykazuje większe podobieństwo genetyczne do populacji Starogard (78,8%, $D_N = 0,118$) (ryc. 3).

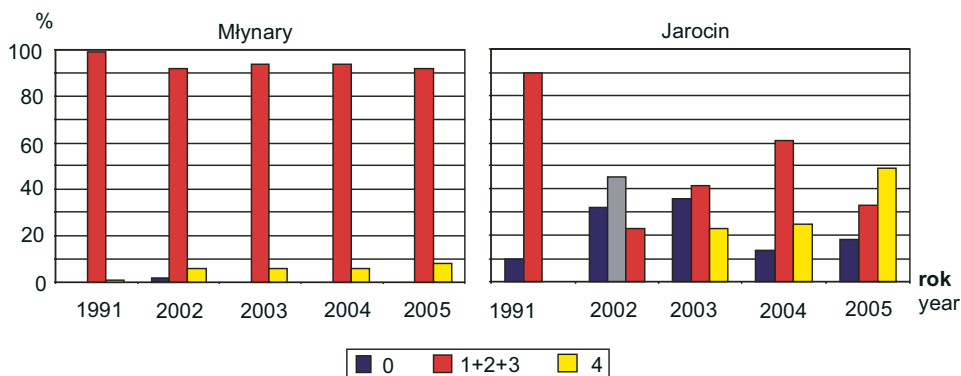
Na podstawie analizy odległości genetycznej Nei (1978) określonej dla badanych drzewostanów z regionu 308 i okolic można wyróżnić dwie grupy populacji zbliżonych filogenetycznie: grupę Jarocin (359) i Karczma Borowa (308) oraz grupę pozostałych populacji badanych w regionie dębu krotoszyńskiego. Populacje Jarocin i Karczma Borowa wykazują wysokie podobieństwo genetyczne (97,5%) i dzieli je bardzo mały dystans genetyczny ($D_N = 0,012$; tab. 4 i ryc. 3). Populacje te stanowią odrębną pulę genową w tym regionie, gdyż dzieli je od pozostałych badanych drzewostanów regionu 308 i okolic duży dystans genetyczny ($D_N = 0,900$). Wśród pozostałych populacji dębu krotoszyńskiego większe podobieństwo DNA chloroplastowego jest między drzewostanami Krotoszyn-1 i Milicz (82,5%; $D_N = 0,095$) oraz drzewostanami Piaski i Taczanów (92,6%; $D_N = 0,038$) (ryc. 3, tab. 4). W obu dendrogramach (ryc. 3), testowano prawdopodobieństwo zgrupowania $P = 0,95$ dla $\alpha = 0,05$.

3.5. Ocena zdrowotności wybranych drzewostanów dębowych

Inwentaryzacja drzewostanów dębowych w Nadleśnictwie Młynary, wykonywana od 15 lat, wykazywała stale duży odsetek drzew chorych (stopnie 1–3, ryc. 4).

Objawy chorobowe wykazują prawie wszystkie drzewa, choć do roku 1991 nie stwierdzono w ogóle śmiertelności drzew. Od kilkunastu lat i obecnie poziom śmiertelności jest bardzo niski (ok. 8%), pomimo dynamicznie zmieniających się warunków środowiska.

Przeciwnie jest w drzewostanach dębowych reprezentujących Nadleśnictwo Jarocin. Obserwuje się tam od kilkunastu lat procesy intensywnego wydzielania się drzew, sięgające w 2005 roku aż 50%. Spośród pozostałych drzew ponad 30% to drzewa chore, a jedynie niecałe 20% stanowią drzewa zdrowe (ryc. 4).



Ryc. 4. Zdrowotność drzewostanów dębowych w stopniach uszkodzenia (0-zdrowe, 1+2+3-chore, 4-obumarłe) na terenie nadleśnictw Młynary i Jarocin w latach 1991 i 2002–2005

Fig. 4. Health state of oak stands according to injury-scale (0 – healthy, 1+2+3 – damaged, 4 – dead) from Młynary and Jarocin Forest District in years 1991 and 2002–2005

4. DYSKUSJA

Analizy haplotypów DNA chloroplastowego są źródłem informacji na temat przebiegu dróg migracji polodowcowej gatunków liściastych takich, jak dąb, buk, brzoza i jesion (Petit i in. 2002a, Nowakowska 2006). W Europie naturalne bariery masywów górskich (Alpy, Pireneje, Bałkany i Karpaty) ograniczały migrację z południowych refugium lodowcowych na północ kontynentu i kierowały drogi migracji gatunków na dostępne szlaki.

Oba analizowane pochodzenia dębu – elbląski (103) i krotoszyński (308), charakteryzuje zróżnicowany profil chloroplastowych loci „DT” i „CD”. Według klasyfikacji przedstawionej przez Petit i in. (2002a), populacje z dużym udziałem haplotypu „1” wywodzą się z Półwyspu Apenińskiego (grupa „C”), natomiast haplotypy „4”, „5” i „7” przynależą do grupy populacji „A”, które historycznie wywodzą się z Półwyspu Bałkańskiego. Populacje, które mają przeważający udział

haplotypów „10” i „12”, prawdopodobnie zasiedliły kontynent europejski z Półwyspu Iberyjskiego (grupa „B”). Populacje dębu elbląskiego w większości wykazują genetyczne powinowactwo z populacjami dębu z refugium apenińskiego, a populacje dębu krotoszyńskiego – w większości z populacjami dębu z refugium bałkańskiego. Otrzymane wyniki badań potwierdziły dane otrzymane dla tych regionów pochodzenia w analizach dębu szypułkowego i bezszypułkowego (Głaz 2000, Csaikl i in. 2002). Badania tych autorów wykazały, że 3/4 populacji dębowych, głównie z południowej i zachodniej Polski, pochodzi z refugium Półwyspu Bałkańskiego. Populacje mazurskie pochodzą z refugium Iberyjskiego, a populacje z Pomorza i północno-zachodniej Polski – z refugium Półwyspu Apenińskiego. Haplotypy występujące w polskich drzewostanach dębowych, występują również w innych krajach Europy, np. w Niemczech (haplotypy „1”, „4”, „5”, „7” i „12”), we Francji („1”, „7”, „10”, „12”), w Czechach („1”, „5”, „7”), we Włoszech („1”, „5”) i w Hiszpanii („1”, „7”, „10” i „12”) (Csaikl i in. 2002, Jensen i in. 2002, König i in. 2002, Petit i in. 2002a, b, c; Finkeldey i Mátyás 2003).

Haplotypy „10” i „12” są głównymi haplotypami występującymi w populacjach dębowych w Irlandii (Kelleher i in. 2004). Na podstawie analizy dwóch chloroplastowych loci (DT i TF), stwierdzono, że haplotyp „10” występuje zarówno w drzewostanach dębu szypułkowego i bezszypułkowego, podczas gdy haplotyp „12” charakteryzuje głównie drzewostany dębu szypułkowego (*Q. petraea*), przy czym populacje irlandzkie dębu charakteryzuje wysoki współczynnik zmienności $G_{ST} = 0,730$.

Wraz z migracją dębu z południa na północ obserwuje się spadek zmienności genetycznej tego gatunku. Populacje dębowe w Półwyspu Iberyjskiego charakteryzuje współczynnik zmienności $H_T = 0,804$; populacje francuskie $H_T = 0,734$; brytyjskie $H_T = 0,629$ a irlandzkie $H_T = 0,374$ (Cotrell i in. 2002, Olalde i in. 2002, Petit i in. 2002a). Najprawdopodobniej spowodowane jest to utratą alleli podczas polodowcowej migracji gatunku i stopniowej adaptacji do zmieniających się wraz z szerokością geograficzną warunków klimatycznych.

Badane drzewostany w regionie dębu elbląskiego (region pochodzenia 103) charakteryzuje wysoka frekwencja haplotypów „1” i „4”, tak więc populacje te są w większości spokrewnione filogenetycznie z populacjami z Półwyspu Apenińskiego i Bałkańskiego. Populacja Górowo Ił. (251), „bogata” w haplotyp „7”, ma prawie wyłącznie pochodzenie bałkańskie.

W regionie dębu krotoszyńskiego populacje Jarocin (359) i Karczma Borowa (308) są pochodzenia bałkańskiego ze względu na duży udział haplotypu „7”, a pozostałe badane populacje przynależą zarówno do grupy dębów z Półwyspu Apenińskiego, jak i Bałkańskiego (haplotypy „1” i „4”) oraz Iberyjskiego (haplotypy „10” i „12”).

Niektóre badane populacje, np. Milicz (553), w której duży jest udział haplotypu „4” i „12”, są powiązane genetycznie z populacjami dębu zarówno z Półwyspu Apenińskiego, jak i Iberyjskiego. Obecność haplotypów z różnych pul genowych w poszczególnych badanych populacjach dębowych można najprawdopodobniej tłumaczyć intensywną gospodarką leśną w przeszłości oraz przenoszeniem nasion dębu na daleką odległość (Petit i in. 1997).

Ogólne zróżnicowanie genetyczne badanych populacji dębu elbląskiego i krotoszyńskiego jest wysokie ($G_{ST} = 0,818$) w porównaniu do innych populacji dębu w Europie (Moreau i in. 1994). Poprzednie badania polskich pochodzeń dębów przy użyciu czterech markerów DNA chloroplastowego wykazały porównywalne, wysokie zróżnicowanie genetyczne między badanymi populacjami *Q. robur* i *Q. petraea* ($G_{ST} = 0,700$) (Głaz 2000). Zróżnicowanie genetyczne europejskich populacji dębu wynosi $G_{ST} = 0,780$ (Petit i in. 2002a), buka $G_{ST} = 0,830$ (Demesure i in. 1996), okrytonasiennych $G_{ST} = 0,760$ (Petit i in. 1999). Dla porównania, zmienność genetyczna populacji dębu *Q. rubra* L. z północnej Ameryki, badanych na podstawie markerów chloroplastowego DNA techniką PCR-RFLP, wynosi $G_{ST} = 0,460$ (Magni i in. 2005). Warto zaznaczyć, że w tym przypadku różnice poziomu zróżnicowania genetycznego między gatunkami drzew leśnych są przede wszystkim spowodowane zmienną liczbą analizowanych polimorficznych loci, a nie różnicami w częstości alleli (Hamrick i in. 1992).

Porównanie stanu zdrowotności analizowanych drzewostanów w regionach pochodzeń dębu elbląskiego (Nadl. Młynary) i krotoszyńskiego (Nadl. Jarocin) ze stopniem zróżnicowania genetycznego wykazało, iż populacja bardziej zróżnicowana genetycznie (Młynary, mająca haplotypy pochodzenia apenińskiego, bałkańskiego i iberyjskiego, $h = 0,664$, tab. 1) jest lepiej przystosowana do reagowania na wystąpienie zjawisk o charakterze kompleksowym i wieloczynnikowym, jakim jest zjawisko zamierania dębów w Europie, niż drzewostan o mniejszym stopniu zmienności genetycznej (Jarocin, posiadający głównie haplotyp pochodzenia bałkańskiego, $h = 0,242$, tab. 1).

Czynniki klimatyczne (np. suche i upalne lata) w różnym stopniu predysponują poszczególne drzewa na uszkodzenia ze strony czynników szkodliwych, takich jak np. owady czy grzyby uszkadzające aparat asymilacyjny, czy też patogeny korzeni lub szkodniki wtórne. Gdy w maju 2003 roku wystąpiły niekorzystne warunki meteorologiczne (miesięczna suma opadów nie przekraczała 25 mm, tj. 50% normy), zdrowotność dębów w Nadleśnictwie Młynary nie zmieniła się do chwili obecnej (ryc. 4). Przeciwna sytuacja miała miejsce w drzewostanach jednorodnych w Nadleśnictwie Jarocin, gdzie po okresie suszy 2003 r. zaobserwowano gwałtowny wzrost liczby drzew chorych (z 40 do 60%), a w następnym roku (2005) liczba drzew obumarłych wzrosła z 25 do 50%.

Z punktu widzenia gospodarki leśnej masowe obumieranie drzew stanowi poważny problem nie tylko w aspekcie trwałości gospodarki leśnej, ale również jest wyzwaniem organizacyjno-logistycznym, wynikającym z konieczności zagospodarowania powstałego nieoczekiwanie surowca uzyskanego w cięciach sanitarnych. Osłabione monokultury dębu szypułkowego, jednorodne z punktu widzenia genetyki, mogą być także bardziej predysponowane na atak ze strony opiótków, opieniek czy lęgniowców (Oomycetes).

Prawdopodobną przyczyną lepszej zdrowotności drzewostanów bardziej zróżnicowanych są ich większe możliwości adaptacyjne do zmieniających się dynamicznie warunków środowiska i mniejsza podatność chorobowa (np. na infekcje korzeni drobnych przez patogeny rodzaju *Phytophthora* i *Pythium*). Hipotezę o zamieraniu dębów wywołanym przez patogeny rodzaju *Phytophthora*, głównie *P.*

quercina zaproponował Jung i in. (1999, 2000, 2002) na podstawie badań prowadzonych w Niemczech. Twierdzi on, że patogeny te w sprzyjających dla siebie warunkach, okresowej dużej wilgotności gleby i wysokiej temperaturze mogą spowodować uszkodzenia nawet 90% korzeni drobnych i to w bardzo krótkim czasie. Tak duża zdolność infekcji wynika z biologii patogenów, wytwarzających duże ilości zarodników pływkowych (zoospor) mających zdolność ruchu także w wodzie zawartej pomiędzy cząsteczkami gleby. Wystarczą krótkie, intensywne opady, aby w nasączonej wodą glebie masowo powstawały zarodnie (zoosporangia) z zoosporami. Zatem okres burzowy w obu regionach badań w maju 2003 (Sasim i Mierkiewicz 2005) stymulował zapewne masowy rozwój zarodników pływkowych i prowadził do licznych infekcji korzeni przez patogeny rodzaju *Phytophthora* i *Pythium*. Następnie, od połowy czerwca, kiedy dęby wykazują najintensywniejszy wzrost, napływało bardzo ciepłe i suche powietrze, co osłabiło drzewa i zakłóciło przebieg ich procesów fizjologicznych. Przepuszczalnie, powstała susza atmosferyczna i w konsekwencji glebowa, w miesiącach gdy sumy opadów stanowiły zaledwie kilkanaście procent normy wieloletniej, spowodowały zahamowanie wzrostu i zwiększenie śmiertelności drzew w roku następnym 2004, szczególnie w drzewostanach jednorodnych (por. ryc. 4). W kolejnym roku (2005) wystąpiła już susza hydrologiczna, której efektem był spadek zwierciadła wód powierzchniowych i podziemnych. Półrocze zimowe, od listopada 2002 do kwietnia 2003, charakteryzowało się niedoborem opadów, największym w Polsce centralnej i północnej, pomimo tego zdrowotność drzew w roku 2004 pogorszyła się jedynie w drzewostanach jednorodnych w zachodniej części kraju. (Sasim i Mierkiewicz 2005).

Wzrost temperatury w maju i czerwcu 2003, odbiegający od norm wieloletnich o średnio 2–3°C, także faworyzował rozwój patogenów ciepłolubnych (np. nowo odkryty gatunek *Phytophthora polonica* rośnie najlepiej w temperaturze ok. 30°C). Ostatnio w Polsce odkryto także nowe gatunki *Pythium*: *P. sterilum*, *P. spiculum* i *P. quercum* powodujące uszkodzenia korzeni drobnych wielu gatunków dębów (Belbahri i in. 2006).

5. WNIOSKI

Na podstawie uzyskanych wyników można sformułować następujące wnioski:

1. W obu badanych regionach: dębu elbląskiego i krotoszyńskiego stwierdzono występowanie 6 różnych haplotypów DNA chloroplastowego, a mianowicie „1”, „4”, „5”, „7”, „10” i „12”.
2. Badane drzewostany dębu krotoszyńskiego charakteryzuje większe zróżnicowanie frekwencji haplotypów w porównaniu do dębu elbląskiego, m.in. poprzez większy udział rzadkiego haplotypu „7”, w porównaniu do populacji elbląskich.
3. Dąb krotoszyński ma większy stopień zmienności wewnątrzpopulacyjnej ($H_T = 0,809$) w porównaniu do dębu elbląskiego ($H_T = 0,785$). Ogólny poziom

zróźnicowania międzypopulacyjnego dla badanych drzewostanów dębu jest wysoki ($G_{ST} = 0,818$).

4. Analiza dystansu genetycznego wykazała, że populacja Górowo Iławeckie (251) stanowi odrębną pulę genową w regionie dębu elbląskiego. Pozostałe populacje dębu elbląskiego (Dobrocin, Młynary, Orneta, Starogard, Zaporowo) są zbliżone genetycznie.

5. Analiza dystansu genetycznego w regionie dębu krotoszyńskiego wykazała, że populacje Jarocin (359) i Karczma Borowa (308) stanowią odrębne pule genowe. Pozostałe populacje dębu (Krotoszyn-1, Krotoszyn-2, Milicz, Piaski i Taczanów) wykazują duże podobieństwo genetyczne.

6. Drzewostany dębu elbląskiego w większości przynależą do grupy pochodzeń wywodzących się z Półwyspu Apenińskiego (haplotyp „1”).

7. Populacje dębu krotoszyńskiego w większości wywodzą się z refugium Półwyspu Bałkańskiego (haplotyp „7”) i Iberyjskiego („10” i „12”).

8. Populacje północne dębów (zróźnicowane) o wysokiej frekwencji haplotypów (jak np. Młynary, region 103) wydają się być lepiej przystosowane do zmieniających się warunków środowiska (susze, wysokie temperatury). Przejawia się to w obserwowanej niskiej śmiertelności drzew w pochodzeniu Młynary, pomimo widocznych uszkodzeń koron (defoliacja, deformacja pędów) i pni drzew (pęknięcia kory i wysięki soków).

9. Wysoka śmiertelność drzew cechuje populację Jarocin (region 359), mniej zróźnicowaną genetycznie, o dużym udziale haplotypu pochodzenia bałkańskiego.

10. Generalnie, odsetek drzew chorych w Nadleśnictwie Młynary i Jarocin 15 lat temu był na podobnym, wysokim poziomie. W chwili obecnej drzewostany w rejonie północnym nadal chorują (śmiertelność w okresie badań wyniosła 8%), natomiast w rejonie zachodnim w analizowanym drzewostanie Nadleśnictwa Jarocin obumarła już połowa drzew.

11. Znaczne pogorszenie zdrowotności populacji z Jarocina nastąpiło ponownie po roku 2003, który cechował się bardzo suchym i upalnym sezonem wegetatywnym. Stres wodny spowodował zwiększenie liczby drzew chorych z 40% w 2003 do 60% w 2004. W następnym roku (2005) proces chorobowy zaostrzył się i obumarły drzewa źle przystosowane do niedoboru wilgoci w glebie.

Autorzy dziękują mgr inż. Michałowi Zawadzkiemu oraz wszystkim pracownikom nadleśnictw i leśnictw RDLP Olsztyn i Poznań za aktywną pomoc w pozyskaniu materiału badawczego.

LITERATURA

- Belbahri L., Calmin G., Oszako T., Moralejo E., Sanchez-Hernandez E., McLeod A., Descals E., Leffort F. 2006. New *Pythium* species: *Pythium quercum*, *Pythium sterilum*, *Pythium spiculum*. [W:] Alien Invasive Species and International trade (T. Oszako, H.F. Evans eds). Forest Research Institute, Warsaw.
- Corander J., Waldmann P., Sillanpää M. J. 2003. Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. *Genetics*, 163: 367-374.
- Cottrell J. E., Munro R. C., Tabbener H. E., Gillies A. C. M., Forrest G. I., Deans J. D., Lowe A. J. 2002. Distribution of chloroplast DNA variation in British oaks (*Quercus robur* and *Q. petraea*): the influence of postglacial colonization and human management. *For. Ecol. Mgmt.*, 156: 181-195.
- Csaikl U. M., Glaz I., Baliuckas V., Petit R. J., Jensen J. S. 2002. Chloroplast DNA variation of white oak in the Baltic countries and Poland. *For. Ecol. Mgmt.*, 156: 211-222.
- Demesure B., Sodzi N., Petit R. J. 1995. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Mol. Ecol.*, 4: 129-131.
- Dumolin-Lapègue S., Pemonge M. H., Petit R. J. 1997. An enlarged set of consensus primers for the study of organelle DNA in plants. *Mol. Ecol.*, 6: 393-397.
- Finkeldey R., Mátyás G. 2003. Genetic variation of oaks (*Quercus* spp.) in Switzerland. 3. Lack of impact of postglacial recolonization history on nuclear gene loci. *Theor. Appl. Genet.*, 106: 346-352.
- Glaz I. 2000. Genetic cartography of oaks in Poland using PCR-RFLP markers of the chloroplast DNA. *Glas. Šum. Pokuse*, 37: 481-487.
- Hamrick J. L., Godt M. J. W., Sherman-Broyles S. L. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forest*, 6: 95-124.
- Jensen J. S., Gillies A., Csaikl U., Munro R., Madsen S. F., Roulund H., Lowe A. 2002. Chloroplast DNA variation within the Nordic countries. *For. Ecol. Mgmt.*, 156: 167-180.
- Jung T., Blaschke H., Osswald W. 2000. Involvement of phytophthora species in Central European oak decline and the effect of site factors on the disease. *Plant Pathology*, 49: 7006-718.
- Jung T., Cooke D. E. L., Blaschke H., Duncan J. M., Osswald W. 1999. *Phytophthora quercina* sp. Nov., causing root rot of European oaks. *Mycol. Res.*, 1003: 785-798.
- Jung T., Hansen E. M., Winton L., Osswald W., Delatour C. 2002. Three new species of *Phytophthora* from European oak forests. *Mycol. Res.*, 106: 397-411.
- Kelleher C. T., Hodkinson T. R., Kelly D. L., Douglas G. C. 2004. Characterisation of chloroplast haplotypes to reveal the provenance and genetic structure of oaks in Ireland. *For. Ecol. Mgmt.*, 189: 123-131.
- König A. O., Ziegenhagen B., van Dam B. C., Csaikl U. M., Coart E., Degen B., Burg K., de Vries S. M. G., Petit R. J. 2002. Chloroplast DNA variation of oaks in western Central Europe and genetic consequences of human influences. *For. Ecol. Mgmt.*, 156: 147-166
- Lewontin R. C. 1972. The apportionment of human diversity. *Evol. Biol.*, 6: 381-398.
- Magni C. R., Ducouso A., Caron H., Petit R. J., Kremer A. 2005. Chloroplast DNA variation of *Quercus rubra* L. in North America and comparison with other Fagaceae. *Mol. Ecol.*, 14: 513-524.
- Mátyás G., Sperisen C. 2001. Chloroplast DNA polymorphisms provide evidence for postglacial recolonisation of oaks (*Quercus* spp.) across the Swiss Alps. *Theor. Appl. Genet.*, 102: 12-20.
- McCauley D. E. 1995. The use of chloroplast DNA polymorphism in studies of gene flow in plants. *Tree*, 10(5): 198-202.
- Moreau F., Kleinshchmit J. R. G., Kremer A. 1994. Molecular differentiation between *Quercus petraea* and *Q. robur* assessed by random amplified DNA fragments. *For. Gen.*, 1(1): 51-64.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
- Nei M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.

- Nowakowska J., Rakowski K. 2005. Charakterystyka zmienności genetycznej sosny napiwodzkoramuckiej i spalskiej na podstawie analiz mitochondrialnego DNA. *Leś. Prace Bad.*, 2: 73-91.
- Nowakowska J., Gout R., Verbovytska Y., Bieniek J. 2005. Zróżnicowanie genetyczne wybranych pochodzeń sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) z pogranicza polskiego i ukraińskiego na podstawie analizy mitochondrialnego DNA. *Leś. Prace Bad.*, 2: 141-147.
- Nowakowska J. A. 2006. Zastosowanie markerów DNA (RAPD, SSR, PCR-RFLP i STS) w genetyce drzew leśnych, entomologii, fitopatologii i łowiectwie. *Leś. Prace Bad.*, 1: 73-101.
- Olalde M., Herrán A., Espinel S., Goicoechea P. G. 2002. White oaks phylogeography in the Iberian Peninsula. *For. Ecol. Mgmt.*, 156: 89-102.
- Oszako T. 1990. Evolution of the health of oak stands in Poland (1985-1989). *Proceedings of the International Symposium "Oak Decline in Europe"* (ed. Siwecki R., Liese W.) Kórnik, Poland: 49-57
- Oszako T. 2004. Protection of Forests Against Pest Insects and Diseases. European Oak Decline Study Case. Forest Research Institute, Warsaw, 150.
- Petit R. J. 1999. Diversité génétique et histoire des populations d'arbres forestières. *Rozprawa habilitacyjna*. Université de Paris-Sud, France.
- Petit R. J., Brewer S., Bordács S., Burg K., Cheddadi R., Coart E., Cottrell J., Csaikl U. M., van Dam B., Deans J. D., Espinel S., Fineschi S., Finkeldey R., Glaz I., Goicoechea P. G., Jensen J. S., König A. O., Lowe A. J., Madsen S. F., Mátyás G., Munro R. C., Popescu F., Slade D., Tabbener H., Turchini D., de Vries S. G. M., Ziegenhagen B., Beaulieu J. L., Kremer A. 2002b. Identification of refugia and post-glacial colonization routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *For. Ecol. Mgmt.*, 156: 49-74.
- Petit R. J., Csaikl U. M., Bordács S., Burg K., Coart E., Cottrell J., van Dam B., Deans J. D., Dumolin-Lapčgüe S., Fineschi S., Finkeldey R., Gillies A., Glaz I., Goicoechea P. G., Jensen J. S., König A. O., Lowe A. J., Madsen S. F., Mátyás G., Munro R. C., Olalde M., Pemonge M.-H., Popescu F., Slade D., Tabbener H., Turchini D., de Vries S. G. M., Ziegenhagen B., Kremer A. 2002a. Chloroplast DNA variation in European white oaks phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *For. Ecol. Mgmt.*, 156: 5-26.
- Petit R. J., Csaikl U. M., Bordács S., Burg K., Coart E., Cottrell J., van Dam B., Deans J. D., Dumolin-Lapčgüe S., Fineschi S., Finkeldey R., Gillies A., Glaz I., Goicoechea P. G., Jensen J. S., König A. O., Lowe A. J., Madsen S. F., Mátyás G., Munro R. C., Olalde M., Pemonge M.-H., Popescu F., Slade D., Tabbener H., Turchini D., de Vries S. G. M., Ziegenhagen B., Kremer A. 2003. Corrigendum to "Chloroplast DNA variation in European white oaks phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations". *For. Ecol. Mgmt.*, 157: 595-599.
- Petit R. J., Latouche-Hallé C., Pemonge M.-H., Kremer A. 2002c. Chloroplast DNA variation of oaks in France and the influence of forest fragmentation on genetic diversity. *For. Ecol. Mgmt.*, 156: 115-129.
- Petit R. J., Pineau E., Demesure B., Bacilieri R., Ducousso A. 1997. Chloroplast DNA footprints of postglacial recolonization by oaks. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA* 94: 9996-10001.
- Sasim M., Mierkiewicz M. 2005. Susza w 2003. *Gaz. Obserw. IMGW*, 1: 37-38.
- Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bbouvet J. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.*, 17: 1105-1109.
- Tomanek J. 1997. *Botanika leśna*. PWRiL. Warszawa.