

MIROŚLAWA KOŁODZIEJCZAK

**UDZIAŁ PULI GENÓW OJCOWSKICH
ŚWIERKA POSPOLITEGO (*PICEA ABIES* (L.) KARST.)
W TWORZENIU NOWEGO POKOLENIA**

*Z Katedry Botaniki
Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu*

ABSTRACT. The genetic structure of the three natural populations of the spruce and their progeny from the Sudety Mts. was described by means of the variability of the four enzymes (GDH, GOT, PGI, SKDH) divided electrophoretically on the starch gel.

The following parameters were figured out by means of statistic methods: the attendance of alleles (p), effective number of alleles (n_e), the percentage of polymorphic loci (P), the expected heterozygosity (H_e), the observed heterozygosity (H_o), the genetic similarity according to Nei (SN), the genetic distance according to Nei (DN), the attendance of genotypes (g), the coefficient of gene flow (Nm), fixation index (F).

The populations were characterized by the huge genetic variability.

The genetic structure of the descendant population is different in relation to the parental populations.

Key words: *Picea abies*, genetic structure, genetic diversity and differentiation, isoenzymes, mating system

Wstęp

Poznanie struktury genetycznej populacji ma fundamentalne znaczenie dla zrozumienia procesów genetycznych, które w niej zachodzą. Procesy te reguluje system kojarzenia, który określając sposoby przekazywania informacji genetycznej z populacji rodzicielskiej do potomnej, jest jednocześnie ważnym czynnikiem determinującym jej genetyczną strukturę (Stern i Roche 1974, Clegg 1980).

System kojarzenia (ang. *mating system*) wpływa na rozkład zmienności genetycznej wewnątrz i między populacjami, determinuje wsobność i efektywną wielkość populacji oraz sposób przestrzennego rozmieszczenia genotypów (Mitton 1992, Epperson 1992).

System kojarzenia w populacjach iglastych drzew leśnych jest zgodny z modelem kojarzenia mieszanego (ang. *mixed-mating model*). Model ten zakłada, że część nasion zawiązanych przez roślinę powstaje w wyniku samozapłodnienia (s), a reszta po zapłodnieniu krzyżowym (t), gdzie $t = 1 - s$ (Shaw i in. 1981, Ritland i El-Kassaby 1985). Pozwala on na obliczenie parametrów systemu kojarzenia zarówno na podstawie zestawu kilku loci jednocześnie (metoda *multilocus*), jak i osobno dla poszczególnych loci (metoda *single-locus*).

Świerk pospolity ma pewne naturalne mechanizmy, zmniejszające możliwość samozapylenia i chowu wsobnego, działające w czasie pylenia i rozwoju zarodków. Należy do nich zjawisko metandrii polegające na tym, iż początek pylenia następuje później niż rozchylanie łusek kwiatów żeńskich tego samego osobnika. W pewnym stopniu metandria jest wspomagana przez ograniczoną pojemność komory pyłkowej.

Badania procesów kojarzenia u drzew iglastych przez wiele lat koncentrowały się głównie na określeniu poziomu samozapłodnienia, co miało duże znaczenie poznawcze i praktyczne. Parametr określający samozapłodnienie jest już znany dla wszystkich ważniejszych gatunków drzew leśnych, także świerka, u którego udział zapyleń własnym pyłkiem ocenia się w granicach 3-10% (Koski 1973, Walles 1967).

Dokładne, kompleksowe zbadanie struktury genetycznej świerka (*Picea abies*) ma przede wszystkim na celu wyróżnienie pul genowych populacji tego gatunku. Poznanie genotypów pomoże objąć ochroną zasoby genowe świerka, które są wynikiem długotrwałego procesu ewolucji (Matras 1996), wiadomo bowiem, że duże zróżnicowanie genetyczne sprzyja adaptacji do zmieniających się warunków środowiska i stwarza szansę przeżycia gatunku.

W Sudetach występuje kilka zasadniczych czynników utrudniających lub wręcz uniemożliwiających utworzenie właściwie funkcjonującej bazy dostarczającej odpowiednią ilość nasion. Należą do nich:

- czynniki biotyczne, abiotyczne i antropogeniczne,
- specyficzne warunki ekologiczne.

Spośród czynników antropogenicznych negatywnie wpływających na prawidłowy rozwój drzewostanów i możliwości pozyskania nasion najgroźniejsze są niewątpliwie przemysłowe zanieczyszczenia powietrza. Do uszczuplenia bazy nasiennej dochodzi także albo bezpośrednio pod wpływem czynników biotycznych – szkodników nasion pojawiających się masowo na obszarach leśnych znajdujących się pod wpływem emisji, lub też pośrednio – przez fizjologiczne osłabienie zdrowotności drzew.

Czynnikiem abiotycznym, który ma największy wpływ na ograniczenie bazy nasiennej, są szkody wywołane przez wiatry. Podłoże geologiczne Sudetów stanowią utwory ubogie w węglan wapnia, których wspólną cechą jest kwaśny odczyn podłoża. Ten specyficzny układ warunków klimatycznych i glebowych, szczególnie w wyższych partiach gór, uniemożliwia odnawianie kompleksów leśnych za pomocą nasion sprowadzanych z innych regionów górskich. Dlatego uważa się, że podstawową bazę nasienną dla Sudetów należy tworzyć na podstawie lokalnych (autochtonicznych) populacji, które pod wpływem długotrwałej selekcji naturalnej dostosowały się do panujących warunków.

Celem pracy było:

- 1) określenie struktury genetycznej wybranych populacji świerka pospolitego (*Picea abies*) z Sudetów na podstawie zmienności izoenzymatycznej,
- 2) ustalenie składu genetycznego potomstwa pojedynczych drzew, dla zobrazowania potencjalnych możliwości naturalnego odnowienia lasu na tym terenie,
- 3) określenie udziału puli genów ojcowskich świerka w tworzeniu nowego pokolenia.

Material i metody

Material roślinny

Material roślinny do badań zebrano z drzew pochodzących z trzech nadleśnictw: Śnieżka, Szklarska Poręba, Jugów.

Nasiona zebrano z wybranych losowo pojedynczych drzew matecznych w celu określenia ich genotypów metodą elektroforezy enzymów. Analizy elektroforetyczne prowadzono na haploidalnej tkance megagametofitów (=endosperm, makrogametofit) nasion oraz diploidalnej tkance zarodków. Komórki megagametofitu mają identyczny genotyp z komórką jajową, ponieważ pochodzą z tej samej haploidalnej megaspory, toteż określając genotyp endospermów, ustala się tym samym genotyp drzewa matecznego (Müller-Starck 1977).

W niniejszej pracy, dla określenia genotypu pojedynczego drzewa, wybierano losowo 10 megagametofitów. Genotypy następnego pokolenia, a więc potencjalny skład genetyczny populacji potomnej ustala się za pomocą analizy tkanki diploidalnych zarodków. Do tego celu z każdego drzewa pobierano 30 zarodków, które poddawano badaniom biochemicznym.

Metody biochemiczne

Techniką, której użyto do badań, jest metoda elektroforetycznego rozdziału białek, w której funkcję molekularnego sita spełnia żel skrobiowy. Elektroforeza uwidacznia różnice w ruchliwości enzymów w polu elektrycznym, które wynikają z różnorodności molekuł białkowych pod względem wielkości ich cząsteczki i ładunku elektrycznego. Stosując specyficzne metody barwień, dobrane dla określonego rodzaju białek enzymatycznych, można wnioskować o zróżnicowaniu na poziomie alleli w wielu loci genowych jednocześnie. Wykorzystane markery enzymatyczne ilustruje tabela 1.

Analizy biochemiczne zostały wykonane w Zakładzie Genetyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Tabela 1

Wykaz analizowanych systemów enzymatycznych
List of the analysed enzymatic systems

Enzym Enzyme	Skrót Abbreviation	Numer katalogowy Catalogue number	Analizowane loci Analysed loci
Dehydrogenaza glutaminianowa Glutamate dehydrogenase	GDH	E.C.1.4.1.3	Gdh – G
Dehydrogenaza szikimowa Shikimic acid dehydrogenase	SKDH	E.C.1.1.1.25	Skdh – A, – B
Izomeraza fosfoglukozowa Phosphoglucose isomerase	PGI	E.C.5.3.1.9	Pgi – P
Transaminaza glutaminianowo- -szczawiooctanowa Glutamate oxalacetate transaminase	GOT	E.C.2.6.1.1	Got – A, – B, – C

Metody statystyczne

Szczegółowej analizy wyników badań dokonano na podstawie następujących parametrów: frekwencja alleli (p), efektywna liczba alleli (n_e), procent loci polimorficznych (P), heterozygotyczność oczekiwana (H_e), heterozygotyczność obserwowana (H_o), podobieństwo genetyczne wg Nei'a (SN), odległość genetyczna wg Nei'a (DN), frekwencja genotypów (g), wskaźnik przepływu genów (N_m), fixation indeks (F).

Analizę statystyczną przeprowadzono w Instytucie Biologii i Ochrony Środowiska Wyższej Szkoły Pedagogicznej w Bydgoszczy.

Wyniki

Zmienność systemów izoenzymowych

W systemie GDH stwierdzono jeden locus G. Locus ten okazał się monomorficzny we wszystkich trzech drzewostanach matecznych, podczas gdy w populacjach potomnych zaobserwowano dwa nowe allele G1 i G3.

Allel G3 wystąpił w potomstwie wszystkich trzech badanych populacji, natomiast allelu G1 nie wykryto w potomstwie populacji z Jugowa (ryc. 1).

Układ enzymatyczny GOT wykazał obecność trzech loci. Locus A, o największej ruchliwości elektroforetycznej, oznaczony jako Got A, okazał się monomorficzny w przypadku wszystkich trzech badanych populacji matecznych. Locus Got B okazał się niezmienny w drzewostanach z Jugowa i Szklarskiej Poręby, natomiast w populacji ze Śnieżki wykryto jedno drzewo mateczne będące heterozygotą B1B2, a pozostałe drzewa sklasyfikowano jako homozygoty B2B2.

Najbardziej zmienny był locus oznaczony jako Got C, w którym stwierdzono obecność trzech alleli. Najrzadszy był allel 3, który wystąpił dwa razy w układzie heterozygotycznym C1C3 w drzewostanie z Jugowa i raz w heterozygotycznym drzewie matecznym C2C3 ze Szklarskiej Poręby. W populacji ze Śnieżki allel C3 nie występował. W systemie GOT populacji potomnych nie stwierdzono żadnych dodatkowych alleli (ryc. 2).

W systemie PGI stwierdzono jeden locus, w którym występowały dwa allele – P1 i P2. W pokoleniu potomnym obserwowano jeden allel P3, który zawsze występował w układzie heterozygotycznym P2P3 (ryc. 3).

W układzie enzymatycznym SKDH zaobserwowano dwie strefy aktywności. Locus Skdh A okazał się monomorficzny, natomiast w locus Skdh B stwierdzono obecność trzech alleli. W locus Skdh B potomstwa obserwowano dwa nowe allele B4 i B5, które miały ruchliwość pośrednią w stosunku do alleli B2 i B3. Obecność tych alleli przejawiała się w genotypach heterozygotycznych B2B4 i B2B5 (ryc. 4).

Obserwacje zymogramów zarodków wykazały, że układy enzymatyczne GOT i PGI mają charakter dimeryczny, natomiast systemy enzymowe GDH i SKDH są monomerycznymi.

Parametry charakteryzujące strukturę genetyczną trzech badanych populacji rodzicielskich przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2

Struktura genetyczna trzech badanych populacji rodzicielskich
The genetic structure of three investigated parental populations

Locus	Gdh G	Got B	Got C	Pgi P	Shdh B	Średnia Average
Allele						
A1	0,000	0,0059	0,4529	0,3235	0,0824	
A2	1,0000	0,9941	0,5294	0,6765	0,8941	
A3	0,0000	0,0000	0,0176	0,0000	0,0235	
H _o	0,0000	0,0118	0,5882	0,5294	0,1882	0,2635
H _{Nei (e)}	0,0000	0,0117	0,5143	0,4377	0,1932	0,2314
F		-0,0059	-0,1439	-0,2095	0,0258	-0,0833
n _e	1,0000	1,0118	2,0587	1,7785	1,2395	1,4177
n _a	1,0000	2,0000	3,0000	2,0000	3,0000	2,2000
G – test		0,0000	2,3849 n.s	3,7567 n.s	1,1205 n.s	
Df		1	3	1	3	

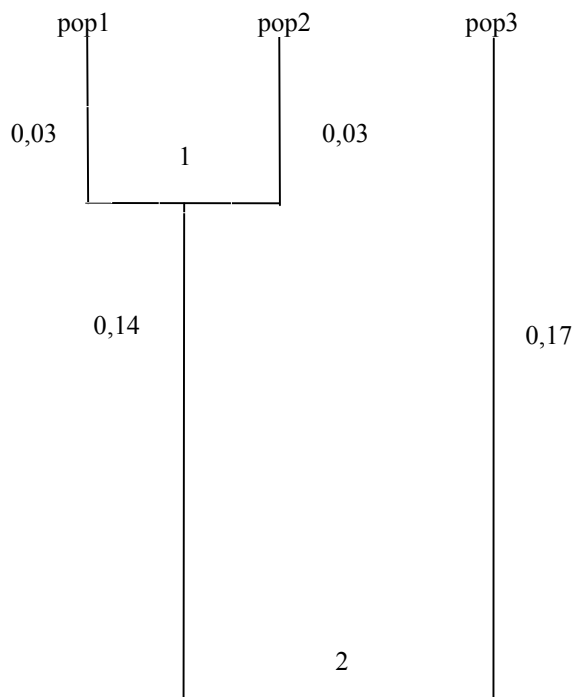
Analizując dendrogram odległości genetycznych wg Nei'a, można zauważyć, iż populacje z Jugowa i ze Szklarskiej Poręby łączą się ze sobą (odległość między nimi jest bardzo niewielka i wynosi DN = 0,03), a wyraźnie odbiega od nich populacja ze Śnieżki, którą od pozostałych dwóch dzieli dystans DN = 0,17 (ryc. 5).

Parametry opisujące strukturę genetyczną populacji potomnych zawarto w tabeli 3.

Dokonując analizy dendrogramu odległości genetycznych wg Nei'a można zauważyć, że populacje potomne (ryc. 6) grupują się odmiennie niż populacje rodzicielskie. Pewne podobieństwo wykazują pokolenia potomne ze Śnieżki i Szklarskiej Poręby, natomiast odbiega od nich populacja potomna z Jugowa (DN = 0,04), co odzwierciedla także ich geograficzne rozmieszczenie.

System kojarzenia na podstawie biochemicznej analizy potomstwa

Porównanie współczynników zapłodnienia krzyżowego obliczonych metodami *single-locus* i *multilocus* pozwala na zaobserwowanie zjawiska kojarzenia krewniaczego (tab. 4). Otrzymane wartości współczynników *ts* i *tm* były podobne, jednak można zauważyć, że wartości współczynnika *ts* dla populacji ze Szklarskiej Poręby i Śnieżki były nieco mniejsze od wartości *tm* tychże populacji. Taki wynik sugeruje, iż wsobność populacji potomnej jest spowodowana nie tylko przez samozapłodnienie, ale również przez kojarzenie się osobników spokrewnionych ze sobą (Shaw i Allard 1982).



Ryc. 5. Dendrogram odległości genetycznych wg Nei'a skonstruowany na podstawie częstości alleli dla populacji rodzicielskich: 1 – Jugów, 2 – Szklarska Poręba, 3 – Śnieżka

Fig. 5. The dendrogram of genetic distances by Nei made on the basis of alleles frequencies for parental populations: 1 – Jugów, 2 – Szklarska Poręba, 3 – Śnieżka

W przypadku populacji pochodzącej z Jugowa mamy sytuację odwrotną, gdyż wartość t_s przewyższa wartość t_m , co wskazuje na częstsze kojarzenie niekrewniacze.

Kompletne zapłodnienie krzyżowe można stwierdzić, gdy $t = 1$, jednak wartość ta jest często zaniżona i wynosi np. 0,976 dla populacji ze Szklarskiej Poręby, choć różnica ta nie jest istotna statystycznie. Na zniżenie parametru t wpływa – jak już wspomniano – kojarzenie się osobników spokrewnionych ze sobą, a także heterogeniczność puli pyłkowej (Lewandowski i in. 1995).

Sporadycznie obserwuje się wartości t większe od jedności (populacja pochodząca z Jugowa i ze Śnieżki). Wartości te, trudne do przyjęcia w sensie biologicznym, są niekiedy statystycznie uzasadnione (Ritland i El-Kassaby 1985). Może to być spowodowane kojarzeniem selektywnie ujemnym, które zachodzi wówczas, gdy osobniki o różniących się znacznie genotypach kojarzą się częściej niż wynikałoby to z założenia stanu panmiksji.

Wartości współczynnika r_p dla Jugowa i Szklarskiej Poręby są duże i wskazują na duże prawdopodobieństwo powstania grupy pełnego rodzeństwa (ok. 20%).

Tabela 3

Struktura genetyczna trzech badanych populacji potomnych
The genetic structure of three investigated progeny populations

Locus	Gdh G	Got B	Got C	Pgi P	Shdh B	Średnia Average
Allele						
A1	0,0014	0,0086	0,4588	0,3365	0,0627	
A2	0,9957	0,9914	0,5255	0,6606	0,9043	
A3	0,0029	0,0000	0,0157	0,0029	0,0190	
A4	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0102	
A5	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0037	
H _o	0,0086	0,0157	0,4875	0,4561	0,1769	0,2289
H _{Nei (e)}	0,0086	0,0171	0,5131	0,4504	0,1778	0,2334
F	-0,0034	0,0830	0,0500	-0,0126	0,0053	0,0245
n _e	1,0087	1,0174	2,0538	1,8195	1,2162	1,4231
n _a	3,0000	2,0000	3,0000	3,0000	5,0000	3,2000
G – test	0,0909 n.s	6,1938 n.s	10,0979 n.s	12,7259*	19,2921*	
df	3	1	3	3	10	

*Parametr istotny na poziomie $p < 0,05$.

*One parameter essential for $p < 0.05$ level.

Tabela 4

Parametry zapłodnienia krzyżowego
Parameters of outcrossing

Populacja Population	tm	ts	tm – ts	rp
Jugów	1,016 (0,040)	1,127 (0,043)	-0,111 (0,046)	0,206 (0,057)
Szklarska Poręba	0,976 (0,044)	0,949 (0,065)	+0,027 (0,027)	0,224 (0,071)
Śnieżka	1,045 (0,039)	1,028 (0,076)	+0,016 (0,058)	0,131 (0,033)

tm – współczynnik zapłodnienia krzyżowego multilocus,

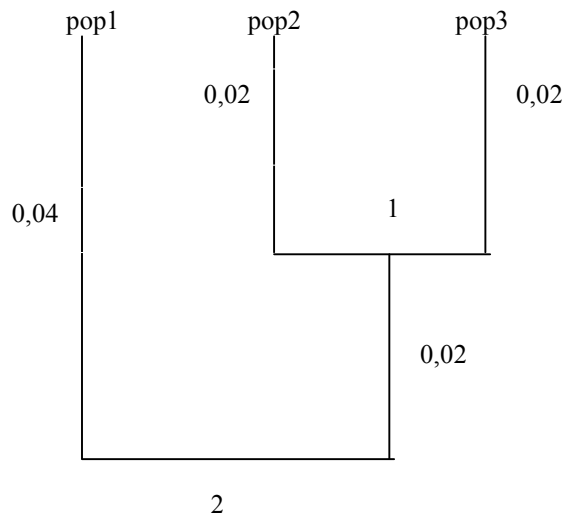
ts – współczynnik zapłodnienia krzyżowego single-locus (średnia najmniejszej wariancji),

rp – współczynnik korelacji puli pyłkowej (ojcostwo) w ramach drzewa matecznego lub inaczey – prawdopodobieństwo, że losowo wybrana para potomstwa danego drzewa matecznego jest pełnym rodzeństwem, czyli ma tego samego ojca. W nawiasach podano wartości odchylenia standardowego.

tm – the average multilocus population outcrossing (o/c) rate,

ts – the average singlelocus population o/c rate (minimum variance),

rp – the correlation of outcrossed paternity within progeny arrays (or the probability that a randomly chosen pair of progeny from the same array are full sibs).



Ryc. 6. Dendrogram odległości genetycznych wg Nei'a skonstruowany na podstawie częstości alleli dla populacji potomnych: 1 – Jugów, 2 – Szklarska Poręba, 3 – Śnieżka
 Fig. 6. The dendrogram of genetic distances by Nei made on the basis of alleles frequencies for progeny populations: 1 – Jugów, 2 – Szklarska Poręba, 3 – Śnieżka

Dyskusja

Poziom zmienności genetycznej stwierdzony dla świerka jest podobny do tego, jaki podaje się dla innych gatunków drzew iglastych o szerokich zasięgach występowania (Ledig 1986, Müller-Starck i in. 1992). Generalnie duży polimorfizm, wynikający z historii gatunku oraz realizowanej strategii życiowej, znajduje swe odbicie w poziomie zmienności białek enzymatycznych mierzonym metodami elektroforezy (Hamrick i in. 1979).

W niniejszej pracy spośród siedmiu zbadanych loci enzymatycznych dwa loci (GotA i SkdhA) były monomorficzne we wszystkich trzech populacjach rodzicielskich pochodzących z Jugowa, Śnieżki i Szklarskiej Poręby oraz w ich potomstwie. Pozostałe pięć loci było mniej lub bardziej polimorficzne. Zdecydowanie najbardziej różnorodny pod względem liczby wykrytych alleli okazał się locus SkdhB – pięć alleli (pokolenie F1). Pozostałe loci prezentowały średni poziom zmienności, a obserwowana liczba alleli wahała się od dwóch do trzech, przy czym locus GdhG wykazał monomorfizm w pokoleniu rodzicielskim.

Na podstawie częstości alleli obliczono średnie wartości parametrów zmienności genetycznej. Średnia liczba alleli na locus dla trzech badanych populacji rodzicielskich wynosi 2,2 (tab. 11), natomiast dla pokolenia potomnego tych populacji wartość ta jest znacznie większa i wynosi 3,2 (tab. 3).

Średni poziom heterozygotyczności w populacjach rodzicielskich był bardzo wysoki i wyniósł $H_0 = 0,264$ i $H_e = 0,231$. Wartości charakteryzujące potomstwo były zbliżone

i wynosiły odpowiednio $H_o = 0,229$ i $H_e = 0,233$. Procent loci polimorficznych w populacjach rodzicielskich z Jugowa i Szklarskiej Poręby wynosił 60% (3 loci), a w populacji ze Śnieżki 80% (4 loci).

Wszystkie trzy badane populacje rodzicielskie cechuje ujemny współczynnik F Wrighta przy średniej $-0,0833$ (tab. 11), co może być spowodowane niewielkim nadmiarem heterozygot. Natomiast średnia wartości współczynnika wsobności dla pokolenia potomnego nieznacznie przekracza 0 ($0,0245$ – tab. 3).

Obie te wartości oscylują jednak wokół zera, co świadczy, że populacje znajdują się w stanie równowagi Hardy'ego-Weinberga.

Parametry genetycznej zmienności przedstawione w niniejszej pracy są stosunkowo wysokie i zbliżone do wyników uzyskanych w pracy **Krzakowej i Korczyka** (1995), szczególnie jeśli chodzi o wartość określającą heterozygotyczność. Cytowani autorzy, uwzględniając 11 polimorficznych loci, stwierdzili bardzo wysoki średni poziom heterozygotyczności ($H_e = 0,253$ i $H_o = 0,237$) w populacji świerka z Puszczy Białowieskiej.

Wyniki uzyskane w prezentowanej pracy są też bardzo bliskie rezultatom badań **Modrzyńskiego i Prus-Głowackiego** (1998) nad izoenzymatyczną zmiennością świerka z południowego i północnego zasięgu występowania tego gatunku w Polsce. Otrzymana przez nich średnia liczba alleli na locus wynosiła 2,3, a współczynnik $H_o = 0,212$.

Badania allozymów świerka pozwoliły stwierdzić wysoki poziom genetycznej zmienności, zgodny z tym, jaki obserwuje się u większości gatunków drzew iglastych (**Lovelles i Hamrick** 1984), jak również małe zróżnicowanie populacyjne; 95% całkowitej zmienności gatunku występuje wewnątrz populacji, a tylko 5% przypada na zmienność między populacjami (**Lagercrantz i Ryman** 1990). Uważa się, że najważniejsze przyczyny małych różnic genetycznych obserwowanych między populacjami większości drzew iglastych, w tym także świerka pospolitego, to rozległe i ciągłe obszary występowania, duże zagęszczenie osobników w populacji, potencjalne zdolności do dalekiego transportu pyłku i nasion oraz dominujący krzyżowy sposób zapyłania (**Hamrick i in.** 1979). Te wpływy utrzymują genetyczną zmienność i funkcjonują jako swoiste czynniki uniemożliwiające zróżnicowanie wśród populacji (**Lagercrantz i Ryman** 1990).

Małe genetyczne zróżnicowanie świerka ma swoje odbicie w małych wartościach dystansów genetycznych Nei 'a między populacjami tego gatunku. **Lagercrantz i Ryman** (1990) stwierdzili, że obliczone przez nich wartości dystansów genetycznych między badanymi 70 populacjami nie przekroczyły nigdy wartości 0,04. Po zanalizowaniu wyników uzyskanych w niniejszej pracy stwierdzono, że równie mała odległość genetyczna występuje pomiędzy populacjami rodzicielskimi z Jugowa i ze Szklarskiej Poręby ($DN = 0,03$), natomiast znacznie odbiega od nich populacja ze Śnieżki, którą od pozostałych dwóch dzieli dystans $DN = 0,17$. Małe wartości tego parametru występują także pomiędzy pokoleniem potomnym badanych populacji. Należy zauważyć, iż potomstwo grupuje się odmiennie niż populacje rodzicielskie, choć dzielące je dystanse są niewielkie. Bardzo zbliżone są do siebie populacje pokoleń potomnych ze Śnieżki i Szklarskiej Poręby ($DN = 0,02$), natomiast nieznacznie odbiega od nich populacja potomna z Jugowa ($DN = 0,04$).

Badanie systemów kojarzenia ma – oprócz walorów poznawczych – pewne znaczenie praktyczne, gdyż pozwala z dużym prawdopodobieństwem oszacować w puli badanych nasion liczbę nasion, które powstały w wyniku samozapłodnienia. Uzyskanie tego rodzaju informacji o posiadanych nasionach jest cenne, gdyż wiele gatunków iglastych

drzew leśnych charakteryzuje się silną depresją wsobną, która w następstwie samozapłodnienia czy kojarzenia krewniaczego prowadzi często do redukcji liczby wytworzonych pełnych nasion oraz zmniejszenia żywotności i wigoru potomstwa (**Koski 1973, Sorensen i Miles 1982, Fowler 1982, Kosiński 1986**).

Obecnie wykorzystywane metody statystyczne pozwalają na jednoczesną analizę wielu loci, niekoniecznie z unikatowymi allelami (**Shaw i in. 1981, Ritland i El-Kassaby 1985**). Jedną z takich metod zastosowano w niniejszej pracy (**Ritland 1996**), w której dokonano oceny poziomu zapłodnienia krzyżowego zarówno za pomocą metody *single-locus*, jak i *multilocus*.

Nie zaobserwowano wyraźnych różnic między współczynnikami *multilocus* i *single-locus*. Należy jednak zauważyć, iż tak jak w większości populacji naturalnych, wartości współczynnika *tm* dla populacji ze Szklarskiej Poręby i ze Śnieżki są nieco większe od wartości *ts* tychże populacji. Jest to wynikiem (jak już powiedziano) nie tylko samozapłodnienia, ale i kojarzenia się osobników spokrewnionych ze sobą. Inna sytuacja panuje w populacji pochodzącej z Jugowa – wartość *ts* przewyższa wartość *tm*, co może wynikać z częstego kojarzenia niekrewniaczego.

Muona i in. (1990) porównywali system kojarzenia w dwóch naturalnych populacjach, pochodzących z Finlandii i słowackich Tatr. Autorzy stwierdzili stosunkowo małe wartości współczynników kojarzenia obcego, odpowiednio $t = 0,83$ oraz $t = 0,74$, co wskazuje na możliwość istnienia w badanych populacjach kilkunastoprocentowego samozapłodnienia. Stosunkowo dużą wartość samozapłodnienia tłumaczy się redukcją efektywnej wielkości populacji, wywołaną słabym i nieregularnym kwitnieniem oraz zbiorem szyszek z dolnych rejonów korony. U drzew iglastych samozapłodnienie jest zazwyczaj większe w dolnej partii korony, co wiąże się z większą ilością gromadzącego się tu własnego pyłku (**Shen i in. 1981, Shaw i Allard 1982, Burczyk i in. 1991**).

Wartości zapłodnienia krzyżowego obliczone metodą *multilocus* dla poszczególnych drzew matecznych badanych populacji znacznie się różniły. Największą wartość współczynnika (1,84) zaobserwowano w populacji pochodzącej ze Szklarskiej Poręby, a najmniejsza wartość (0,33) wystąpiła w populacji ze Śnieżki. Wartości tych współczynników są faktycznie współczynnikami żeńskimi, bowiem mówią, jaka proporcja gamet żeńskich osobnika bierze udział w tym procesie (**Ritland i El-Kassaby 1985**).

Znajomość parametru *tm* dla poszczególnych drzew ma duże znaczenie praktyczne. Znając poziom zapłodnienia krzyżowego poszczególnych drzew, można unikać zbioru szyszek z tych drzew, dla których stwierdzono duże wartości samozapłodnienia (**Shaw i Allard 1982, Neale i Adams 1985**).

Z analizy współczynnika *rp* (tab. 4) wynika, że w tej samej populacji mogą się tworzyć grupy pełnego rodzeństwa. Parametr ten mówi, iż ok. 22% potomstwa drzew matecznych ze Szklarskiej Poręby ma tego samego ojca. W pokoleniu potomnym populacji z Jugowa udział puli genów ojcowskich był bardzo zbliżony, gdyż ok. 20% potomstwa było pełnym rodzeństwem. Potomstwo populacji ze Śnieżki charakteryzowało się największą różnorodnością puli pyłkowej, gdyż tylko ok. 13% generacji potomnej miało wspólnego ojca.

Zaobserwowane w niniejszej pracy tworzące się grupy pełnego rodzeństwa świadczą o tym, iż udział poszczególnych drzew ojcowskich w produkcji potomstwa był niejednakowy. To zróżnicowanie może wynikać ze słabego kwitnienia jednych drzew, a obfitego innych. Może to być istotnym problemem na plantacjach nasiennych, które są tworzone z klonów pochodzących z różnych regionów, a więc mogących różnić się istotnie fenologią.

Istotne jest zdanie sobie sprawy z tego, iż męski sukces kojarzenia może się zmieniać w szerokich granicach. Zależy on przede wszystkim od odległości drzew ojcowskich od drzew matecznych oraz od kierunku ich lokalizacji względem drzew matecznych. Ten ostatni czynnik może świadczyć o pewnej kierunkowości przepływu pyłku w ramach lokalnej populacji, przypuszczalnie na skutek specyficznych warunków pogodowych (wiatru) panujących w okresie pylenia. Ważnym czynnikiem jest również fenologia kwitnienia oraz intensywność produkcji pyłku. Drzewa ojcowskie, które produkują znaczne ilości pyłku oraz pyłą w okresie receptywności kwiatów żeńskich drzew matecznych, mają istotnie większy sukces kojarzenia niż inne osobniki o mniej intensywnym pyleniu i odmiennej fenologii kwitnienia. Należy jednak pamiętać, że istotność poszczególnych czynników może się zmieniać u różnych gatunków oraz między populacjami, a nawet osobnikami.

Wnioski

Badane trzy populacje świerka pospolitego *Picea abies* z Sudetów wykazały zróżnicowanie genetyczne – zarówno pod względem struktury genetycznej, jak i zmienności – którego poziom nie odbiega od skali zmienności innych populacji, wcześniej w Polsce badanych.

Analizowane pokolenia potomne różnią się od pokoleń rodzicielskich (m.in. pod względem liczby alleli w locus, wartości współczynnika F), co ilustrują dendrogramy odległości genetycznych wg Nei'a, z których wynika, że populacje potomne grupują się odmiennie niż populacje rodzicielskie. Oznacza to również, że w przypadku uzyskania szansy naturalnego odnowienia, struktura genetyczna przyszłego lasu różniłaby się od obecnie stwierdzonej.

Porównanie współczynników zapłodnienia krzyżowego obliczonych metodami *single-locus* i *multilocus* pozwala na zaobserwowanie zjawiska kojarzenia krewniaczego.

Wartości współczynnika rp dla Jugowa i Szklarskiej Poręby są duże i wskazują na duże prawdopodobieństwo powstania grupy pełnego rodzeństwa. Parametr ten pokazuje, że ok. 20% rodzeństwa ma tego samego ojca.

Poznanie proporcji sukcesu kojarzenia ma ogromne znaczenie praktyczne dla zachowania puli genowej gatunku i planowania odnowienia powierzchni leśnych.

Literatura

- Burczyk J., Kosiński G., Lewandowski A.** (1991): Mating pattern and empty seed formation in relation to crown level of *Larix decidua* (Mill.) clones. *Silva Fenn.* 25: 201-205.
- Clegg M.T.** (1980): Measuring plant mating systems. *Bio-Science* 30: 184-818.
- Epperson B.K.** (1992): Spatial structure of genetic variation within populations of forest trees. *N. For.* 6: 257-278.
- Fowler D.P.** (1982): Effects of inbreeding in red pine *Pinus resinosa* Ait. IV. Comparison with other Northeastern *Pinus* species. *Silvae Genet.* 14: 76-81.
- Hamrick J.L., Linhart Y.B., Mitton J.B.** (1979): Relationship between life history characteristics and electrophoretically detectable genetics variation in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 10: 173-200.

- Kosiński G.** (1986): Przyczyny powstawania pustych nasion u modrzewia europejskiego (*Larix decidua* Mill.). Arbor. Kórnickie 31: 107-182.
- Koski V.** (1973): On self-pollination, genetic load, and subsequent inbreeding in some conifers. Comm. Inst. For. Fenn. 78: 1-42.
- Krzakowa M., Korczyk A.F.** (1995): Enzymatic diversity of Norway spruce *Picea abies* (L.) Karst. from the Białowieża Forest. Protection of forest ecosystems biodiversity of Białowieża Primeval Forest. Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa: 67-80.
- Lagercrantz U., Ryman N.** (1990): Genetic structure of Norway spruce (*Picea abies*): concordance of morphological and allozymic variation. Evolution 44: 38-53.
- Ledig F.T.** (1986): Heterozygosity, heterosis, and fitness in outbreeding plants. W: Conservation biology: the science scarcity and diversity. Red. M.E. Soule. Sinauer, Sunderland, MA: 77-104.
- Lewandowski A., Burczyk J., Mejnartowicz L.** (1995): Genetic structure of English yew (*Taxus baccata* L.) in the Wierchlas Reserve: implications for genetic conservation. For. Ecol. Manag. 73: 221-227.
- Lovelles M.D., Hamrick J.L.** (1984): Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Ann. Rev. Ecol. Syst. 15: 65-95.
- Matras J.** (1996): Ochrona zasobów genowych świerka pospolitego (*Picea abies* (L.) Karst.) w Polsce. Sylwan 10: 57-71.
- Mitton J.B.** (1992): The dynamic mating systems of conifers. N. For. 6: 197-216.
- Modrzyński J., Prus-Głowacki W.** (1998): Isoenzymatic variability in some of the Polish populations of Norway spruce (*Picea abies*) in the IUFRO-1972 provenance trial. Acta Soc. Bot. Pol. 67, 1: 75-82.
- Muona O., Paule L., Szmidt A.E., Kärkkäinen K.** (1990): Mating system analysis in a central and northern European populations of *Picea abies*. Scand. J. For. Res. 5: 97-102.
- Müller-Starck G.** (1977): Cross-fertilization in a conifer stand inferred from enzyme gene-markers in seeds. Silvae Genet. 26: 223-226.
- Müller-Starck G., Baradat P., Bergmann F.** (1992): Genetic variation within European tree species. N. For. 6: 23-147.
- Neale D.B., Adams W.T.** (1985): The mating system in natural and shelterwood stands Douglas-fir. Theor. Appl. Genet. 71: 201-207.
- Ritland K.** (1996): Multilocus mating system program MLTR. University of Toronto, unpublished (paper planned for Jan. 1997).
- Ritland K., El-Kassaby Y.A.** (1985): The nature of inbreeding in a seed orchard of Douglas-fir as shown by an efficient multilocus model. Theor. Appl. Genet. 71: 375-384.
- Shaw D.V., Allard R.W.** (1982): Estimation of outcrossing rates in Douglas-fir using isozyme markers. Theor. Appl. Genet. 62: 113-120.
- Shaw D.V., Kahler A.L., Allard R.W.** (1981): A multilocus estimator of mating system parameters in plant populations. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 78: 1298-1302.
- Shen H.H., Rudin D., Lindgren D.** (1981): Study of the pollination pattern in a Scots pine seed orchard by means of isozyme analysis. Silvae Genet. 30: 7-15.
- Sorensen F.C., Miles R.S.** (1982): Inbreeding depression in height, height growth, and survival of Douglas-fir, ponderosa pine, and noble fir to 10 years of age. For. Sci. 28: 283-292.
- Stern K., Roche L.** (1974): Genetics of forest ecosystems. Springer, Berlin.
- Wallis B.** (1967): The homozygous and heterozygous effect of an *Aurea* mutation on plastid development in Spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). Stud. For. Succ. 60: 1-20.

PARTICIPATION OF PATERNAL GENES
OF A SPRUCE (*PICEA ABIES* (L.) KARST.)
IN CREATING A NEW GENERATION

S u m m a r y

The level of genetic diversity and the mating system of the spruce (*Picea abies* (L.) Karst) in the Sudety Mts. has been investigated on the basis of the seven allozyme loci.

The investigations are based on the analysis of 75 trees coming from the three populations of Jugów, Śnieżka and Szklarska Poręba as well as their progeny.

The spruce, owing to its self – fertilization and outcrossing, belongs to the species with a mixed – mating system.

Evaluations of the level of outcrossing has been made via the “single-locus” and “multilocus” method. Values of the coefficients for the population from Szklarska Poręba and Śnieżka are a bit higher than the t_s values of the same populations. It results, not only, in self – fertilization but also testifies the existence of the relative mating system. The analysis of genetic parameters, for example, the number of alleles per locus and values of the F coefficient have shown the differences between a parental generation and its progeny presented by dendograms of genetic distances by Nei. It turns out that progeny populations cluster unlike parental ones.

The analysis of the rp coefficient shows that there is a probability of forming groups of full sibs (about 20% of progeny).

The male success of mating can change within broad ranges. It depends, first of all, on the distances of paternal trees from the maternal ones and the direction of their location in relation to maternal trees.

Knowing the factors and the extent to which they can influence the male success of mating is crucial in order to understand the processes of natural reproductions among coniferous species.