

KINGA SKRZYSZEWSKA

Możliwości oceny struktury genetycznej jodły pospolitej markerami monoterpenowymi

Assessment of the silver fir genetic structure using monoterpene markers

Abstract. The paper presents the results of the studies concerning the variation in the contents of terpenic compounds (α -pinene, β -pinene, limonene, β -felandrene, camphene and mircene) in the silver fir seeds and needles. The applicability of terpene markers in the selection of firs showing high increments was also demonstrated.

Key words: silver fir, *Abies alba*, monoterpenes, provenance, selection

Wstęp

Ocena zróżnicowania poziomów zawartości wybranych związków monoterpenowych w tkankach kory, igieł i nasion drzew leśnych jest metodą pozwalającą analizować polimorfizm oraz struktury genetyczne populacji cząstkowych różnych gatunków iglastych, m.in. jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.).

Pierwsze badania dotyczące zmienności składu związków monoterpenowych jodły pospolitej znane są z lat sześćdziesiątych [Čermák 1976]. Były one ukierunkowane jedynie na poznanie składu monoterpenów w żywicy zawartej w nasionach. Dopiero w 1988 r. Paule i in. [Paule, Yazdani, Gömöry 1988] opublikowali wyniki względnego zróżnicowania udziału monoterpenów w igłach jodły. Na podstawie porównania 11 proveniencji wykazali, że występuje istotna różnica pomiędzy poszczególnymi badanymi populacjami cząstkowymi tego gatunku, stwierdzając m.in. na podstawie udziału tricyklenu i α -pinenu w igłach, odrębność genetyczną jodły w jej polskim zasięgu występowania.

Kolejne badania zmienności populacyjnej jodły prowadzone przez Wolfa [1992, 1994a, 1994b] objęły szerszy zasięg jej występowania. Porównanie udziałów monoterpenów w jednorocznych igłach 155 proveniencji tego gatunku z całego naturalnego areалу zasiedlenia wykazało istotną geograficzną zmienność zawartości α -pinenu, limonenu i β -felandrenu w igłach badanych drzew. Pochodzenia z Francji, Niemiec, Austrii, Szwajcarii i

północnych Włoch odznaczały się niskimi zawartościami β -pinenu (1,2–7,6%), w porównaniu do populacji ze wschodniego, południowo-wschodniego i południowego (z wyjątkiem Czech) zasięgu występowania, gdzie udział β -pinenu określony został na poziomie 9,3 do 39,0%. W odwrotnej relacji scharakteryzowano procent limonenu. Największe wartości związku stwierdzono u jodły pospolitej w zachodnim obszarze jej występowania, wykazując jednocześnie zmniejszanie się zawartości tego monoterpenu w populacjach wschodnich. Procent zawartości limonenu w igłach jodły proveniencji środkowo- i południowowłoskich okazał się bardzo mały, natomiast udział β -pinenu i limonenu wykazywał wyraźny klin zmienności z zachodu na wschód. Zróżnicowanie geograficzne występowania związków terpenowych u drzew populacji cząstkowych w zasięgu występowania jodły zostało przedstawione szerzej w pracy Skrzyszewskiej [1997].

Biorąc pod uwagę m.in. α -pinen, kamfen, limonen, β -pinen i β -felandren, Wolf [1994a] określił dla jodły 16 wzorców monoterpenu. Do 8 wzorców, tzw. głównych, zaszeregował 90% z 3016 analizowanych jodeł. Na podstawie frekwencji drzew charakteryzujących się określonym typem wzorca monoterpenu w badanych populacjach, Wolf wyodrębnił 5 obszarów występowania jodły o zróżnicowanej strukturze genetycznej (Europa zachodnia, środkowa, wschodnia, południowo-wschodnia oraz Kalabria).

Interesujące w tym zakresie tematycznym były również prace Langa [1994], w których autor opierając się o ocenę udziału związków monoterpenu w tkance korowej, analizował polimorfizm genetyczny 63 proveniencji z różnych regionów występowania jodły, m.in. z Niemiec, Francji, Szwajcarii, Włoch, Austrii, Czechosłowacji, Jugosławii, Rumunii i Bułgarii. Ocena ta pozwoliła na wyznaczenie 13 tzw. chemotypów monoterpenu. Interpretacja średnich zawartości α -pinenu, kamfenu, β -pinenu myrcenu limonenu i β -felandrenu oraz częstości występowania wyodrębnionych przez tego autora chemotypów w badanych proveniencjach umożliwiła wyznaczenie trzech dużych grup genetycznych obejmujących populacje zachodnio-centralnoeuropejskie, wschodnio-centralnoeuropejskie oraz wschodnio-południowo-europejskie wraz z pochodzeniami ze środkowych i południowych Włoch. Zmienność genetyczną jodły w zasięgu występowania tego gatunku na podstawie badań Wolfa i Langa przedstawiono w odrębnej pracy [Sabor, Skrzyszewska 2000].

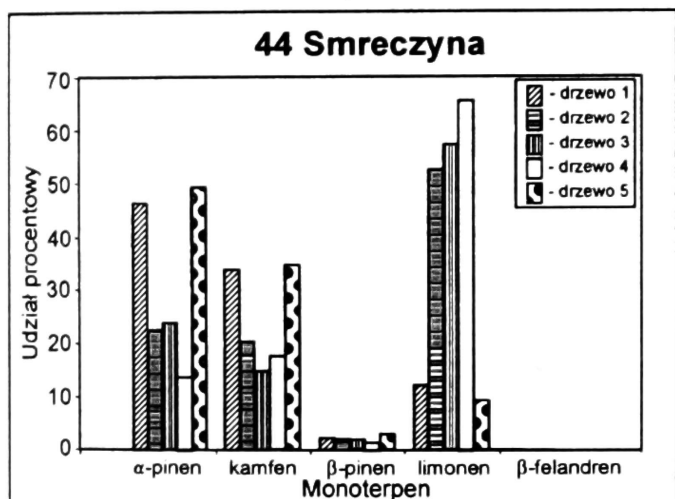
Ocena polimorfizmu jodły pochodzeń doświadczenia Jd PL 86/90

Rozpoczęte w Katedrze Nasiennictwa, Szkółkarstwa i Selekcji Drzew Leśnych Akademii Rolniczej w Krakowie w 1996 r. analizy związków terpenowych w igłach jodły polskich pochodzeń przy wykorzystaniu zmodyfikowanych wzorców Wolfa (ryc. 1) [Skrzyszewska 1997, 1999] wykazały istotne podobieństwo struktur genetycznych populacji cząstkowych tego gatunku z Sudetów i Beskidu Śląskiego w zachodnich Karpatach oraz odrębność jedlin środkowokarpaccy z Gorców i Bieszczadów w porównaniu do proveniencji jodły roztockańskiej.

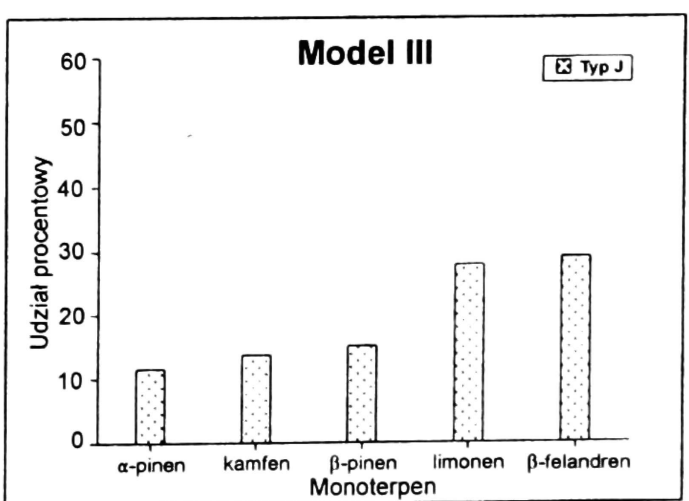
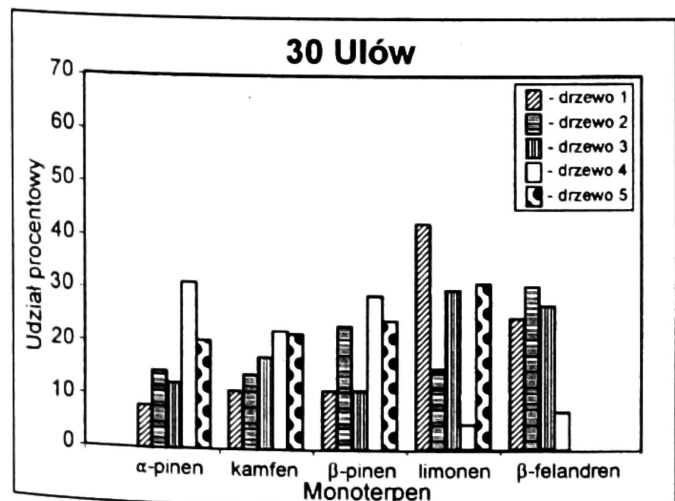
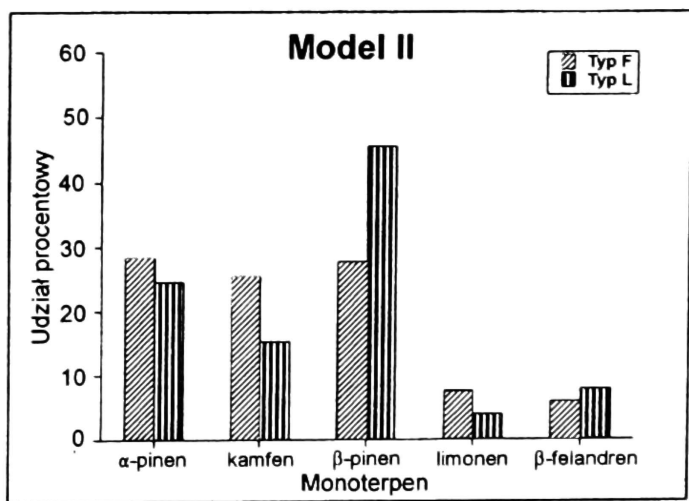
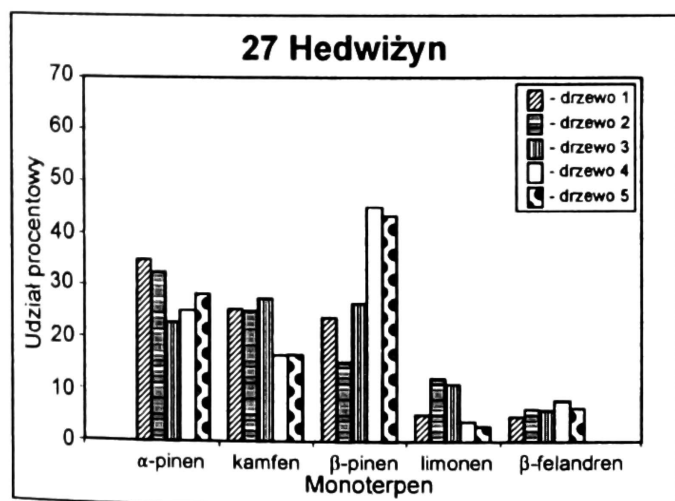
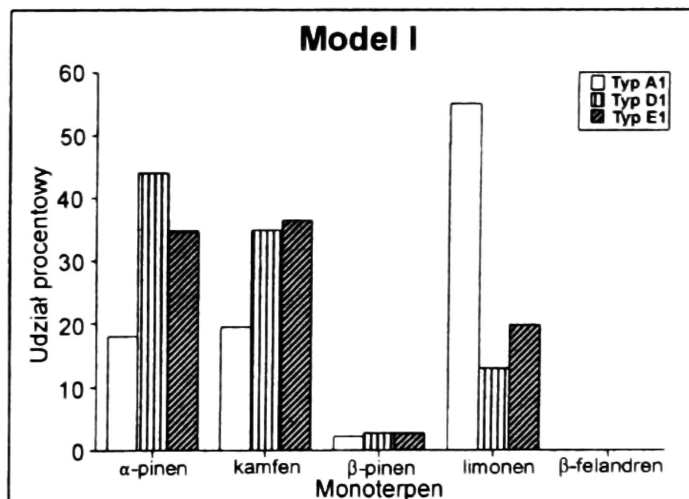
Analizę struktury genetycznej jodły badanych pochodzeń wykonano na podstawie oceny udziału procentowego trzech najbardziej różnicujących populacje jodły monoterpenu, tj. β -pinenu, limonenu i β -felandrenu, będących głównymi składnikami typów wzorców wyróżnionych dla tego gatunku przez Wolfa [1992]. Ocenę wykonano na podstawie trzech

Jd PL 86/90

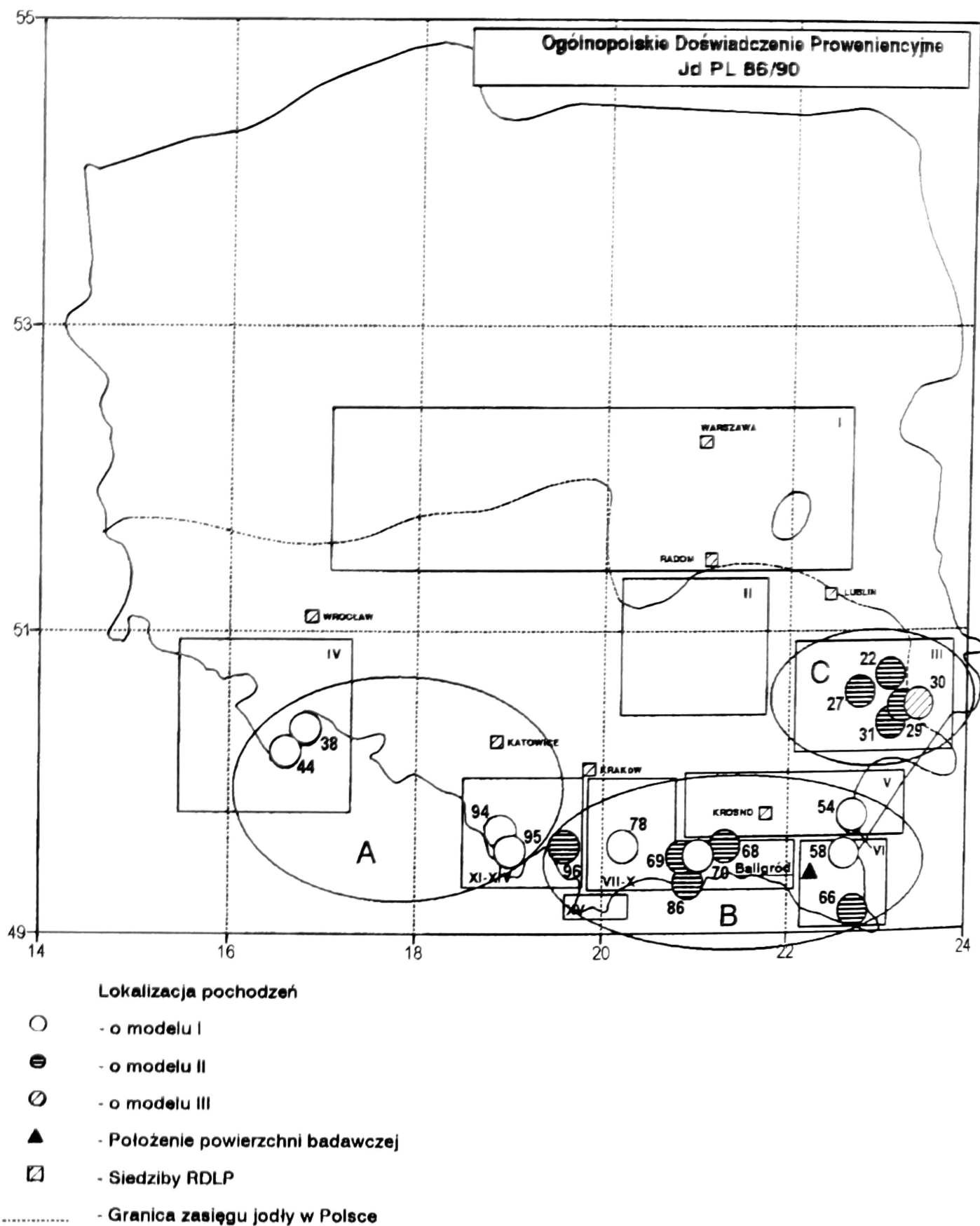
a)



b)



RYC. 1. Średnie procentowe zawartości związków monoterpenowych w wyróżnionych typach wzorców. Powierzchnia badawcza doświadczenia Jd PL 86/90 w Baligrodzie (według Skrzyszewskiej [1997]); a) względne zawartości badanych związków monoterpenowych w jednorocznych igłach drzew próbnych, b) modele I, II i III zawartości związków monoterpenowych w igłach jodły badanych pochodzeń doświadczenia Jd PL 86/90

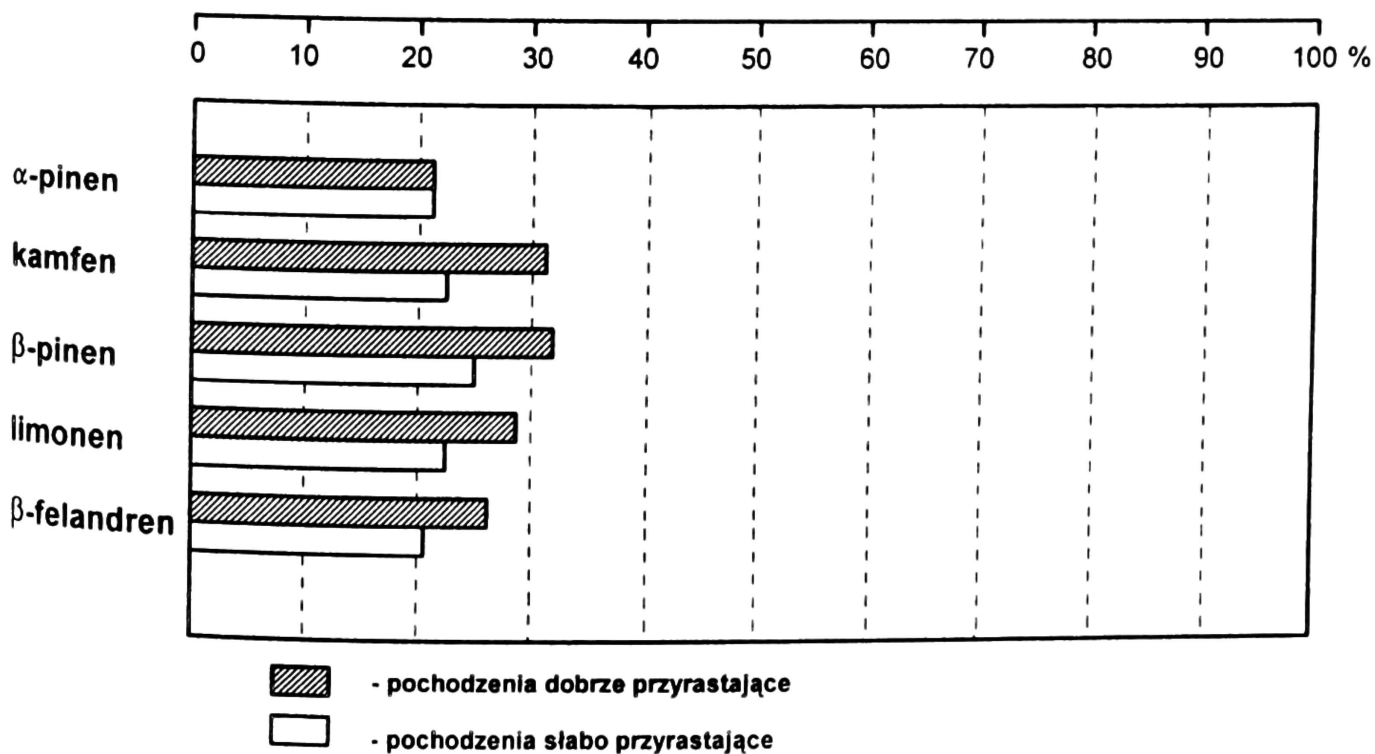


RYC. 2. Zróżnicowanie struktury genetycznej badanej populacji jodły na podstawie wzorców monoterpenowych przyjętych za Wolfem [1992]. Powierzchnia badawcza w Nadleśnictwie Baligród; I-XIV – geograficzne regiony pochodzeniowe według podziału Bałuta [1990], A – Sudety i Karpaty Zachodnie, B – Karpaty środkowe, C – Wyżyna Biłgorajska i Roztocze, 22-96 – numery pochodzeń (według Skrzyszewskiej [1999])

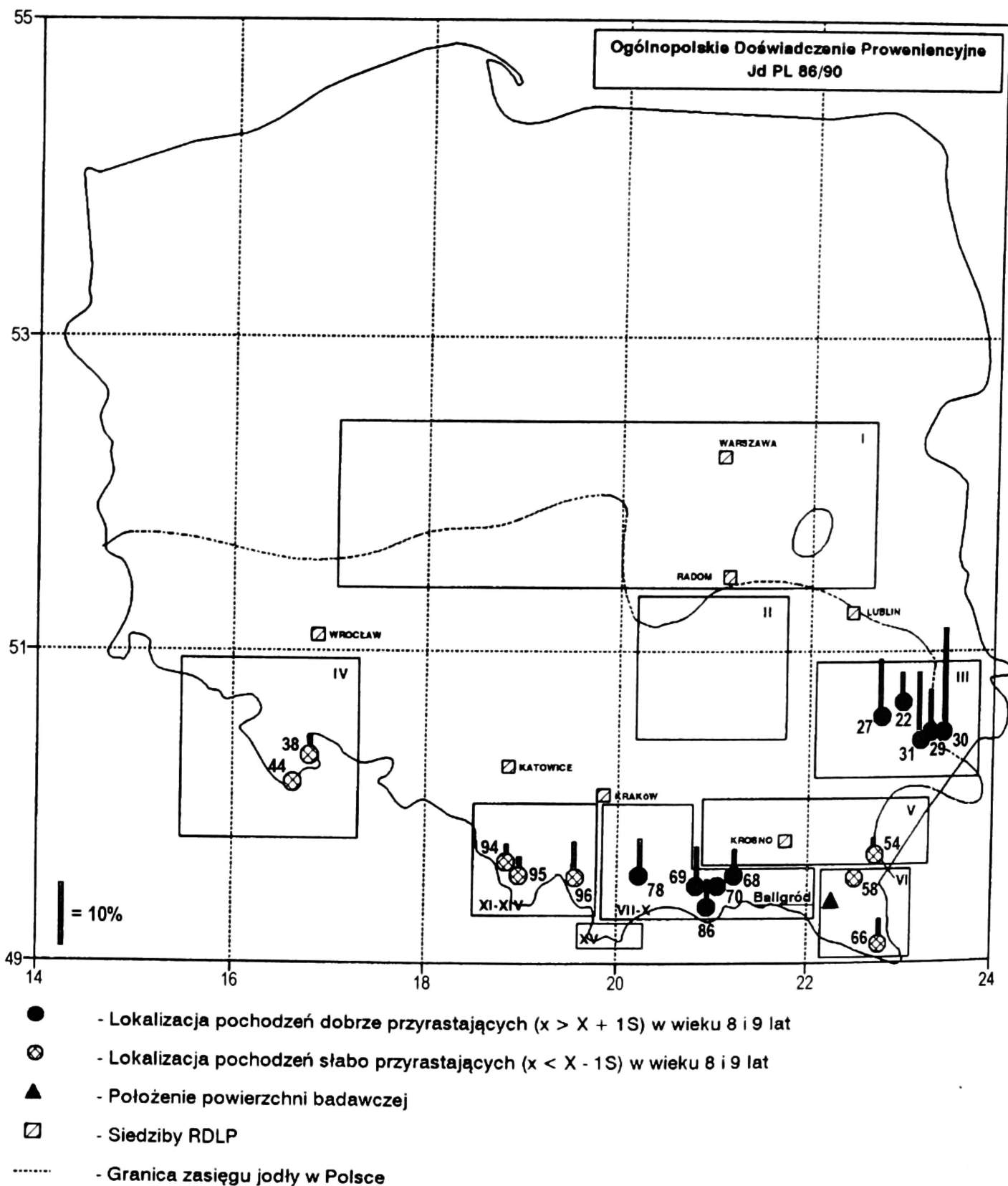
modeli wzorców charakteryzujących się zbliżonym układem zawartości badanych związków. Przyjęto: model I – charakteryzujący się wysokim udziałem limonenu w stosunku do bardzo niskich zawartości β -pinenu (poniżej 3%), przy zróżnicowanym poziomie α -pinenu i kamfenu; model II – odznaczający się wysokim udziałem β -pinenu (powyżej 30%), oraz małym limonenu i β -felandrenu (poniżej 10%) przy poziomach α -pinenu i kamfenu pomiędzy 10 a 25%; model III – charakteryzujący się wyrównanymi udziałami α -pinenu, kamfenu i β -pinenu – w granicach 10–15% oraz prawie dwukrotnie większą i również zbliżoną do siebie zawartością limonenu i β -felandrenu (od 22 do 30%). Na podstawie oceny struktury genetycznej badanej populacji jodły przyjętymi modelami moterpenowymi można stwierdzić, że jodły roztoczańskie charakteryzuje model II i III, ze środkowych Karpat I i II, a populacje tego gatunku z zachodnich Karpat i Sudetów model I (ryc. 1).

Na poziomie pojedynczych proveniencji (doświadczenie Jd PL 86/90) 100% udziałem drzew z modelem I charakteryzowała się m.in. populacja 70 Berest z Beskidu Niskiego i Smreczyna z Sudetów. Przewagą modelu II odznaczały się jodły z 27 Hedwiżyna (Wyżyna Biłgorajska i Roztocze), pochodzenie 86 Powroźnik (Beskid Sąddecki) oraz 96 Policzne (Beskid Śląski) [Skrzyszewska 1997, 1999]. Profile terpenowe jodły wybranych pochodzeń charakterystyczne dla przyjętych modeli (wzorców) I, II i III przedstawia rycina 2.

Dotychczasowa ocena wykazała możliwość zastosowania markerów terpenowych do selekcji dobrze przyrastającej jodły. Porównanie średnich zawartości badanych monoterpenu wykazało znaczną zmienność α -, β -pinenu, kamfenu i limonenu w obu grupach, natomiast zdecydowanie mniejsze β -felandrenu, u jodły słabo przyrastających proveniencji.

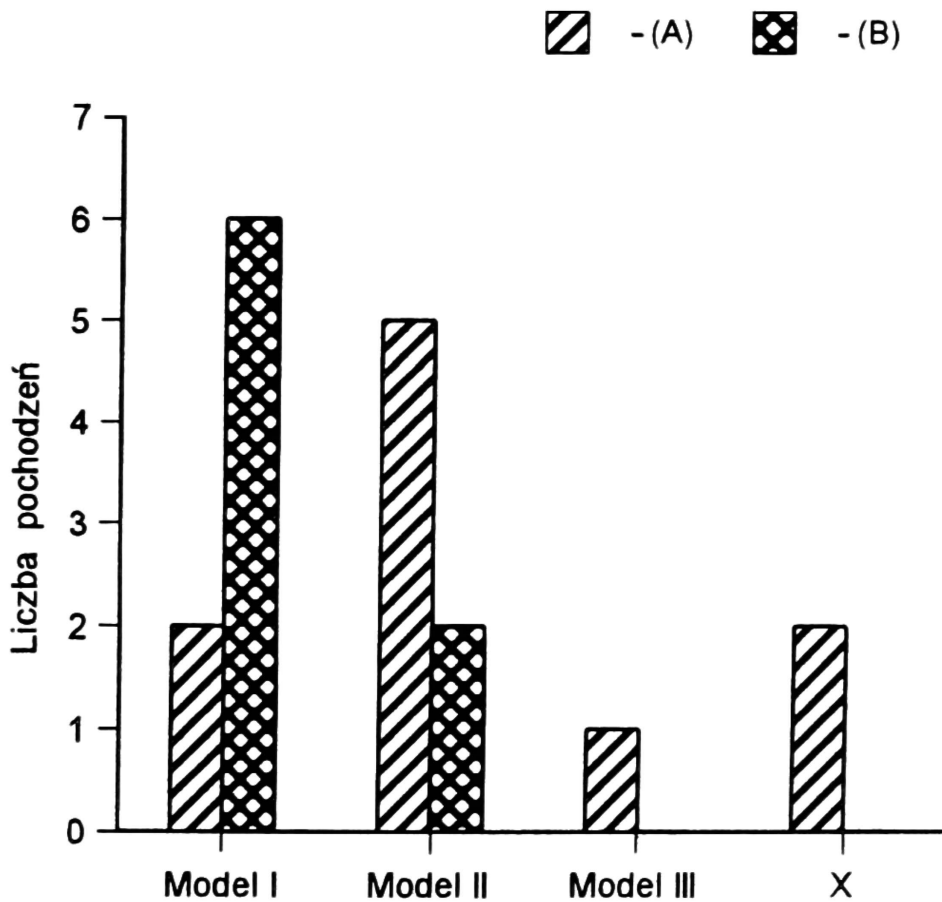


RYC. 3. Udział efektu genotypu (pochodzenia) w zmienności ogólnej (100%) względnej zawartości związków monoterpenu w igłach jodły wybranych grup pochodzeń doświadczenia Jd PL 86/90. Powierzchnia badawcza w Baligrodzie (według Skrzyszewskiej [1997])



RYC. 4. Procentowe udziały β -felandrenu w jednorocznych igłach jodły wybranych grup pochodzeń. Powierzchnia badawcza doświadczenia Jd PL86/90 w Baligródzie (1996 r.) (według Skrzyszewskiej [1997]); I-XIV – regiony pochodzeniowe według podziału Bałuta [1990]

Analiza wariancji i test F Snedecora określiły istotny wpływ pochodzenia (genotypu) na zmienność α -pinenu oraz w mniejszym stopniu kamfenu. Udział efektu genotypu w zmienności ogólnej względnej zawartości badanych związków terpenowych w igłach grup badanych pochodzeń przedstawia rycina 3.



RYC. 5. Różnice struktury genetycznej pochodzeń jodły dobrze i słabo przyrastającej określone na podstawie liczebności występowania pochodzeń z przewagą określonego modelu terpenowego; (A) – pochodzenia dobrze przyrastające, (B) – pochodzenia słabo przyrastające, X – brak przewagi określonego modelu (według Skrzyszewskiej [1999])

Badanie istotności występowania związków monoterpenowych testem sumy rang wykazało istotny statystycznie (dla $\alpha=0,05$) efekt udziału β -felendrenu na zróżnicowanie populacji dobrze i słabo przyrastającej jodły.

Wydaje się zatem, że β -felandren może być ważnym fenotypowym markerem biochemicznym różnicującym pochodzenia w polskim zasięgu występowania pod kątem ich intensywności przyrastania (ryc. 4).

Ocena struktury genetycznej badanych populacji jodły dobrze i słabo przyrastającej przeprowadzona na podstawie porównania frekwencji pochodzeń charakteryzujących się określonym modelem monoterpenowym [Skrzyszewska 1997] wykazała, że w populacji jodły słabo przyrastającej dominował model I, natomiast w dobrze przyrastającej model II i w niewielkim stopniu III. Obecność ostatniego modelu monoterpenowego różnicowała obie grupy przyrostowe (ryc. 5).

Reasumując, na podstawie dotychczasowych wyników badań można potwierdzić możliwość wykorzystania modeli markerów terpenowych opracowanych w Katedrze Nasiennictwa, Szkółkarstwa i Selekcji Drzew Leśnych do oceny struktur genetycznych jodły w polskim zasięgu występowania tego gatunku. Zastosowanie tych modeli markerowych umożliwia również selekcję najwartościowszych populacji, wykazujących dobry przyrost i adaptację w zróżnicowanych warunkach siedliskowych.

Wnioski

- Dotychczasowe badania nad wykorzystaniem markerów terpenowych wskazują na możliwość zastosowania opracowanych modeli (wzorców) w ocenie struktur genetycznych różnych populacji jodły.
- Obecnie można stwierdzić istotne zróżnicowanie genetyczne populacji jodły roztoczańskiej (przewaga występowania drzew z genotypem określonym modelem II i III), środkowokarpackiej (model I i II) oraz zachodnich Karpat i Sudetów (model I).
- Badania struktury wybranych populacji jodły w doświadczeniu Jd PL 86/90 markerami monoterpenowymi wykazują zdecydowaną dominację modelu I oraz brak występowania modelu III w pochodzeniach słabo przyrastających.
- Jodła dobrze przyrastająca charakteryzuje się przewagą genotypu określonego profilem terpenowym o dużej zawartości β -pinenu w igłach oraz proporcjonalnie małej limonenu i β -felandrenu. W tej grupie przyrostowej spotkać można również rzadki typ modelu terpenowego III z wysokim udziałem procentowym limonenu i β -pinenu. Wydaje się, że β -felandren może być istotnym biochemicznym znacznikiem wyróżniającym pochodzenia dobrze przyrastającej jodły, ponieważ jego zawartość w igłach tej grupy jest czterokrotnie większa w porównaniu z jodłą pochodzeń słabo przyrastających.
- Wykazane zróżnicowanie międzyproweniencyjne polskiej jodły w Karpatach i na Roztoczu wskazuje na konieczność podjęcia dalszych badań nad zmiennością monoterpenów u większej liczby drzew, w liczniejszych i bardziej reprezentatywnych grupach pochodzeń, charakteryzujących cały zasięg występowania gatunku w Polsce. Taką populacją jest jodła 424 rodów i 99 pochodzeń Ogólnopolskiego Doświadczenia Proweniencyjnego Jd PL 86/90.

*Katedra Nasiennictwa, Szkółkarstwa i Selekcji Drzew Leśnych
Wydział Leśny, Akademia Rolnicza w Krakowie
ul. 29 Listopada 46, 31-425 Kraków*

Literatura

1. **Bałut S., Kulej M., Sabor J., Skrzyszewska K.** 1990. Określenie zróżnicowania wartości hodowlanej różnych pochodzeń jodły pospolitej z terenu Polski. Okres badawczy 1986-1990. Zakład Nasiennictwa, Szkółkarstwa i Selekcji Drzew Leśnych AR w Krakowie, s. 1-6, maszynopis.
2. **Čermák J.** 1976. Složeni priskyřice a jeho význam u lesních dřevin na příkladě priskyřice ze semen *Abies alba* Mill. Diss. Vysoká škola zemědělská, Brno.
3. **Lang K.J.** 1994. *Abies alba* Mill.: differentiation of provenances and provenance groups by the monoterpene patterns in the cortex resin of twigs. *Biochem. System. a. Ecology*, 22, 1, 53-63.
4. **Paule L., Yazdani R., Gömöry D.** 1988. Monoterpene composition of silver fir (*Abies alba* Mill.) foliar oleoresin. [W:] 5. IUFRO – Tannensympsium. Zvolen, 49-66.

5. Sabor J., Skrzyszewska K. 2000. Rola genetycznych markerów terpenowych w selekcji i taksonomii drzew leśnych. Cz. I. Chemizm i synteza. Zakres zastosowań. Cz. II. Studia struktury genetycznej populacji drzew leśnych. Zał 1. do sprawozdania rocznego w temacie Genetyczna analiza zmienności między i wewnątrzpopulacyjnej jodły pospolitej (*Abies alba*) w świetle potrzeb i zachowania zasobów genowych gatunków drzew leśnych. Katedra Nasiennictwa, Szkółkarstwa i Selekcji Drzew Leśnych, Kraków (maszynopis).
6. Skrzyszewska K. 1997. Analiza zmienności wewnątrzgatunkowej i wartości genetyczno-hodowlanej jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) pochodzeń Ogólnopolskiego Doświadczenia Proweniencyjnego Jd PL 86/90. Rozprawa doktorska. Zakład Nasiennictwa, Szkółkarstwa i Selekcji Drzew Leśnych AR w Krakowie (maszynopis).
7. Skrzyszewska K. 1999: Ocena struktury genetycznej jodły pospolitej markerami monoterpenu na powierzchni porównawczej Jd PL 86/90 w Nadleśnictwie Baligród. Zesz. Nauk. AR w Krakowie, ser. Sesja Naukowa, z. 61, 67-86.
8. Squillace A.E. 1976. Analyses of Monoterpenes of Conifers by Gas-Liquid Chromatography. [W:] Modern Methods in Forest Genetics. Ed. J.P. Miksche. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg New York, 120-157.
9. Wolf H. 1992. Untersuchungen zur genetischen Variation des Monoterpenmusters im Nadelharz der Weisstanne (*Abies alba* Mill.). Forstl. Forschungen, München, 116, ss. 201.
10. Wolf H. 1994a. Das monoterpenmuster im Nadelharz von 155 Herkünften der Weisstanne (*Abies alba* Mill.) aus dem gesamten Verbreitungsgebiet. [W:] 7. IUFRO – Tannensymposium. Altensteig, 105-117.
11. Wolf H. 1994b. Investigations on the genetic variation of the monoterpene patterns in the needle resin of the European silver fir (*Abies alba* Mill.). [W:] Šl'achtenie lesných drevín v meniacich sa podmienkach prostredia, Les. V ýs. Úst. Zvolen, 37-40.

Summary

Assessment of the silver fir genetic structure using monoterpene markers

The paper presents the results of the studies concerning the variation in the contents of terpene compounds (α -pinene, β -pinene, limonene, β -felandrene, camphene and mircene) in the silver fir seeds and needles. The studies were conducted by Paule and others in Slovakia, by Wolf in Germany and Lang in Slovenia.

The results of studies concerning the variation in the contents of terpene compounds (α -pinene, β -pinene, limonene, β -felandrene, camphene) in the silver fir seeds and needles of Polish provenances from the trial JdPL 86/90 were broadly discussed.

The studies showed significant similarities in the genetic structure of partial populations of this species from Sudeten and Beskid Śląski in the western Carpathians and differences between fir provenances of central Carpathians from the Gorce and Bieszczady mountains and fir provenances from Roztocze. The applicability of terpene markers in the selection of firs showing high increments was also demonstrated. The comparison of average contents of monoterpenes indicated a considerable variation in α -pinene, β -pinene. A considerable variation in the average contents of α -pinene, β -pinene, limonene and camphene monoterpenes between the two incremental groups indicated while the average contents of β -felandrene in fir provenances with poor increment was distinctly lower.