

MICHAŁ MAGNUSZEWSKI, JUSTYNA A. NOWAKOWSKA, MICHAŁ ZASADA,
ALMAZBEK OROZUMBEKOV

Charakterystyka genetyczna świerka Schrenka (*Picea schrenkiana*) w gradiencie wysokościowym i geograficznym gór Tien-Szan w Kirgistanie*

Genetic characteristic of Schrenk spruce (*Picea schrenkiana*) in the altitudal and geographical gradient in Kyrgyz part of Tien-Shan mountains

ABSTRACT

Magnuszewski M., Nowakowska J. A., Zasada M., Orozumbekov A. 2014. Charakterystyka genetyczna świerka Schrenka (*Picea schrenkiana*) w gradiencie wysokościowym i geograficznym gór Tien-Szan w Kirgistanie. Sylwan 158 (5): 361-369.

The study showed the genetic structure of nine Schrenk spruce stands, which represented altitude and geographical variants in the Tien-Shan mountains in Kyrgyzstan. Comparison between genetic structure of stands was based on frequencies of nuclear microsatellite (SSR) alleles occurring in three DNA loci. The total genetic differentiation of Schrenk spruce populations was low ($F_{ST}=0.0651$). Eight main groups of populations were distinguished in the dendrogram defined by Nei's genetic distances based on microsatellite markers.

KEY WORDS

SSR markers, genetic differentiation, genetic distance, *Picea schrenkiana*

ADDRESSES

Michał Magnuszewski ⁽¹⁾ – e-mail: Michal.Magnuszewski@wl.sggw.pl

Justyna A. Nowakowska ⁽²⁾ – e-mail: J.Nowakowska@ibles.waw.pl

Michał Zasada ⁽¹⁾ – e-mail: Michal.Zasada@wl.sggw.pl

Almazbek Orozumbekov ⁽³⁾

⁽¹⁾ Samodzielna Pracownia Dendrometrii i Nauki o Produkcyjności Lasu; SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159; 02-776 Warszawa

⁽²⁾ Zakład Hodowli Lasu i Genetyki Drzew Leśnych; Instytut Badawczy Leśnictwa; Sękocin Stary; ul. Braci Leśnej 3; 05-090 Raszyn

⁽³⁾ Kirgiski Narodowy Uniwersytet Rolniczy; Mederova 68; 720005 Biszkek; Kirgistan

Wstęp

Świerk Schrenka (*Picea schrenkiana*) i świerk pospolity (*P. abies* (L.) Karst) są gatunkami blisko spokrewnionymi, o czym świadczy fakt, że krzyżują się na granicy zasięgów występowania [Bykow 1985]. Świerk pospolity jest dobrze znany i opisany przez Boratyńskiego [1998], natomiast mniej znany jest świerk Schrenka, będący jednym z głównych gatunków iglastych tworzących lasy na terytorium gór Tien-Szan [Berezejuk 1953; Grisa i in. 2008]. Góry Tien-Szan to system górski w Azji środkowej na pograniczu Kazachstanu, Kirgistanu i Chin. Kirgistan jest krajem położonym

*Pamięci przedwcześnie zmarłego Almaza Anarbekowicza Orozumbekowa (09.05.1971-03.04.2014), bez którego zaangażowania, pracowitości i otwartości na naukę niniejsze badania nie odbyłyby się.

Praca została sfinansowana z programu wymiany studentów Erasmus-Mundus External Cooperation Window Asia Lot 9 oraz z grantu wewnętrznego Wydziału Leśnego Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

w Centralnej Azji, sąsiadującym od północy i północnego zachodu z Kazachstanem, a od wschodu i południowego wschodu z Chinami. Ponad 90% powierzchni kraju stanowią góry o wysokości od 800 do 7000 m n.p.m., co powoduje duże zróżnicowanie warunków klimatycznych. Dlatego też Kirgistan został podzielony na 7 regionów klimatyczno-leśnych, na terenie których występują określone gatunki roślin [Gan 1970; Grisa i in. 2008].

W kirgiskim paśmie gór Tien-Szan świerk Schrenka zajmuje wraz z jodłą Siemionowa (*Abies siemionovii* L.) około 10% powierzchni. W znaczącym udziale gatunek ten występuje w północnych regionach leśnych: Issyk-Kul VII (29% udziału gatunkowego), Chui-Kemin VI (20%) i wewnętrznym Tien-Szan VIII (26%). W południowej części republiki świerk Schrenka występuje w III regionie leśnym Fergano-Czatkal w dużo mniejszym udziale niż w pozostałych regionach (około 4%). Rośnie on tu głównie w Rezerwacie Biosfery Sary-Chelek oraz w leśnych gospodarstwach Arkit i Avletim [Gan 1970; Grisa i in. 2008]. Drzewostany świerkowe na terytorium kirgiskiego Tien-Szanu są bardzo rozdrobnione, co wynika z ukształtowania terenu. Ponadto występują głównie w postaci pasów, smug i grup [Berezjuk 1953].

Morfologia szyszek i igieł świerka z różnych części Tien-Szanu jest odmienna [Orlow 1989]. Może to wskazywać na zróżnicowanie genetyczne populacji świerka Schrenka na terenie Kirgistanu [Bykow 1985; Orlow 1989]. Biorąc pod uwagę różne cechy morfologiczne drzew w populacji świerka Schrenka, wyróżniono następujące podgatunki, odmiany i formy: *Picea schrenkiana* var. *erythrocarpa* (Bykow 1950), *P. schrenkiana* var. *chlorocarpa* (Bykow 1950), [*P. schrenkiana* var. *griseocortica* (Federov 1960), *Cortex griseus*], [*P. schrenkiana* var. *rubricortica* (Federov 1960), *Cortex rubrus*], *P. schrenkiana* F. et M. var. *prostrata*, *P. schrenkiana* f. *crinata* (Beresin, Grigorjev 1972), *P. schrenkiana* f. *plana* (Beresin, Grigorjev 1972), *P. schrenkiana* f. *clinalis longifolia* (Bykow 1950), *P. schrenkiana* f. (*clinalis*) *brevifolia* (Bykow 1950), *P. schrenkiana* lus. nat. *pyramidalis* (Matveev 1945), *P. schrenkiana* subsp. *saurica* m.

Według Bykowa [1985] świerk Schrenka jest gatunkiem silnie polimorficznym i łatwo krzyżuje się z innymi gatunkami świerków. Bykow [1985] i Orlow [1989] twierdzą, że gatunek ten w swoim zasięgu geograficznym styka się z trzema innymi gatunkami świerków: himalajskim (*P. smithiana* (Wall.) Boiss), rosnącym w Himalajach od Nepalu do wschodniego Afganistanu z wyjątkiem dalekiej północy oraz północnego wschodu, pospolitym (*P. abies* (L.) Karst.), występującym na południu Altaju z areałem od północno-wschodniej części Europy do Pirenejów, oraz syberyjskim (*P. obovata*), występującym na znacznych obszarach azjatyckich w Kazachstanie, na Syberii, w Mongolii oraz w Chinach. Na styku z innymi gatunkami świerka mogą tworzyć się formy pośrednie (krzyżówki), uznawane za podgatunki. Są to: *P. schrenkiana* subsp. *tianschanica* (Rupr.) B. Bykow (1950) – krzyżówka świerka himalajskiego (*P. morinda* Link. subsp. *tianschanica* Beresin 1970) (*P. smithiana*) (*P. tianschanica* Rupr. 1869) i świerka Schrenka (*P. schrenkiana*), *P. schrenkiana* subsp. *saurica* – krzyżówka świerka Schrenka (*P. schrenkiana*) i świerka syberyjskiego (*P. obovata*), *P. abies* var. *medioxima* Nyl. – krzyżówka świerka syberyjskiego (*P. obovata*) i świerka pospolitego (*P. abies*). Poszczególne podgatunki charakteryzują się zróżnicowanym rozmieszczeniem na terytorium Tien-Szanu. Biorąc pod uwagę zmienność fenologiczną, morfologiczną i ekologiczną, Bykow [1989] podaje, że charakteryzują się one dużym spektrum dostosowań do warunków ekologicznych panujących na terytorium Tien-Szanu, co ma duże znaczenie dla trwałości lasu i możliwości odnawiania lasu w przyszłości.

W związku z dużą liczbą odmian, podgatunków i form świerka Schrenka, celem niniejszej pracy było zbadanie zmienności i genetycznego zróżnicowania populacji tego gatunku występującego w poszczególnych częściach Kirgistanu na podstawie analizy jądrowego DNA.

Material i metody

ZBIÓR MATERIAŁU BADAWCZEGO. Do badań wybrano 9 populacji świerka Schrenka pochodzących z kirgiskiej części gór Tien-Szan. Wybór powierzchni badawczych dostosowano do naturalnego występowania drzewostanów świerkowych, uwzględniając podział Kirgistanu na regiony leśne oraz zróżnicowanie wysokościowe. Powierzchnie badawcze zlokalizowane zostały w czterech regionach leśnych, w których badany gatunek ma największy udział powierzchniowy: Issyk-Kul VII (powierzchnia Karakol 2500), Chui-Kemin VI (powierzchnie Chui-Kemin 2300, Aktuz 2300 i Aktuz 2700), Wewnętrzny Tien-Shan VIII (powierzchnie Naryn 2300 i Naryn 2900) oraz Fergano-Czatkal III (powierzchnie Sary-Chelek 1400, Sary-Chelek 1600 i Sary-Chelek 1900). W lokowaniu powierzchni badawczych uwzględniono naturalne wysokościowe występowanie drzewostanów. Wysokość występowania lasów kształtowała się w zależności od wysokości gór i warunków atmosferycznych panujących w danym regionie. Powierzchnie badawcze położone były na wysokości od 1400 m n.p.m. w regionie III Fergano-Czatkal do 2900 m n.p.m. w regionie VIII Wewnętrzny Tien-Shan (tab. 1).

Materiał badawczy do analiz DNA stanowiły fragmenty tkanki twórczej (kambium) wraz z korą i drewnem, pobierane z bocznej części pnia na wysokości pierśnicy u drzew żywych za pomocą świdra Presslera. Liczba prób była dostosowana do liczby drzew na poszczególnych powierzchniach badawczych. Kształtowała się ona od 6 na powierzchni Sary-Chelek 1900 do 29 na powierzchni Naryn 2900. Łącznie pobrano 166 próbek. Badania DNA przeprowadzono w Zakładzie Hodowli Lasu i Genetyki Drzew Leśnych w Instytucie Badawczym Leśnictwa w Sękocinie Starym.

ANALIZY POLIMORFIZMU DNA. DNA genomowe każdego osobnika izolowano z około 100 mg drewna i kambium, rozdrobnionych przy użyciu młynki w ciekłym azocie. Izolację wykonano za pomocą komercyjnego zestawu do izolacji całkowitego DNA z materiału roślinnego DNeasy Plant 250-Mini Kit (Qiagen), zgodnie z procedurą podaną przez producenta (DNeasy Plant Handbook, Qiagen). Zmienność genetyczną badanych populacji świerka Schrenka oszacowano na podstawie analizy polimorfizmu 3 sekwencji mikrosatelitarnych (SSR – ang. Simple Sequences Repeats) DNA jądrowego, przy zastosowaniu trzech loci: SPAC1, SPAC1-H8, SpAG-D1.

Sekwencje SSR amplifikowano w reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR – ang. Polymerase Chain Reaction) według zmodyfikowanej procedury Pfeiffera i in. [1997] oraz Yazdani i in. [2003],

Tabela 1.

Charakterystyka powierzchni badawczych
Study plots characteristics

Region leśny	N	E	Powierzchnia badawcza	Wysokość n.p.m.	Liczba pobranych prób
Środkowy Tien-Szan (VIII)	41°23'479"	076°11'532"	Naryn 2900	2900	29
Środkowy Tien-Szan (VIII)	41°24'705"	076°11'213"	Naryn 2300	2300	19
Chui-Kemin (VI)	42°53'578"	076°09'802"	Aktuz 2300	2300	16
Chui-Kemin (VI)	42°54'005"	076°12'260"	Aktuz 2700	2700	20
Chui-Kemin (VI)	42°51'297"	076°37'380"	Chui-Kemin 2300	2300	20
Issyk-Kull (VII)	42°24'057"	078°28'078"	Karakol 2500	2500	20
Fergano-Czatkal (III)	41°47'669"	071°56'915"	Sary-Chelek 1400	1400	14
Fergano-Czatkal (III)	41°79'444"	071°95'312"	Sary-Chelek 1600	1600	22
Fergano-Czatkal (III)	41°87'117"	071°97'060"	Sary-Chelek 1900	1900	6

przeprowadzając osobną reakcję PCR dla każdego locus, tj. SpAC1, SpAC1-H8 i SpAG-D1. Amplifikację DNA prowadzono w 25 µl następującej mieszaniny reakcyjnej (Qiagen): 1× stężony bufor PCR, 1× Q-Solution, 2mM MgCl₂, 200 µM dNTP Mix, 0,15 µM (dla locus SpAG-D1) lub 0,24 µM (dla locus SPAC1-H8) startera wiodącego, 0,135 µM (dla locus SpAG-D1) lub 0,216 µM (dla locus SPAC1-H8) znakowanego fluorescencyjnie startera wstecznego, 0,03 U Taq polimerazy i 50 ng matrycy DNA. Całość inkubowano w termocyklerze PTC-200™ (MJ Research, Inc.) zaprogramowanym na wstępne podgrzewanie prób przez 5 min w temp. 95°C, 40 cykli amplifikacji DNA według schematu: 45 s w 94°C, 45 s w 56°C (dla locus SpAG-D1) lub 60°C (dla locus SPAC1-H8), 45 s w 72°C, końcowe wydłużanie powielonych fragmentów DNA przez 10 min w 72°C.

Po zakończeniu reakcji jakość powielonych fragmentów mikrosatelitarnego DNA oceniono na podstawie migracji elektroforetycznej produktów PCR w 1,5% żelu agarozowym barwionym bromkiem etydyny. Elektroforezę prowadzono w buforze TBE przy napięciu 80 V przez 1 godzinę. Wizualizację żeli w świetle UV wykonano w systemie Bio-Rad Gel Doc™ 2000 (Bio-Rad Laboratories, USA).

W celu określenia wielkości otrzymanych fragmentów DNA na podstawie genotypowania produkty PCR zostały rozdzielone elektroforetycznie w 7% żelu akrylamidowym w automatycznym sekwenatorze CEQ™8000 (Beckman-Coulter®, Fullerton, USA). Allel oznacza tutaj wariant wielkości powielonego fragmentu DNA mikrosatelitarnego w danym locus (SpAC1, SpAC1-H8 i SpAG-D1), wyrażony w parach zasad (pz). Próbkę DNA przygotowano poprzez dodanie wyznacznika masy DNA Size Standard Kit 400 Genome Lab™ oraz roztworu SLS (Sample Loading Solution) według zaleceń producenta Beckman-Coulter®. Genotypowanie przeprowadzono metodą multipleks, tzn. badając w sekwenatorze jednocześnie wszystkie trzy loci, dzięki zastosowaniu różnych znaczników fluorescencyjnych dla każdej pary starterów [Nowakowska 2009]. Wyznaczone fragmenty DNA były automatycznie denaturowane i rozdzielane metodą elektroforezy kapilarnej, a ich wielkość odczytano za pomocą oprogramowania CEQ™ 8000 Series Genetic Analysis System Software v 9.0 (Beckman-Coulter®, USA). Na podstawie danych otrzymanych w wyniku genotypowania DNA, dla każdego locus określono liczbę oraz częstość występowania (frekwencję) poszczególnych wariantów mikrosatelitarnego DNA. Zmienność genetyczną populacji świerka Schrenka na terenie Kirgistanu oraz heterozygotyczność poszczególnych populacji scharakteryzowano, stosując następujące parametry: obserwowaną liczbę alleli na locus N_a , oczekiwaną liczbę alleli na locus N_e , indeks Shannona I , heterozygotyczność obserwowaną H_o i oczekiwaną H_e , heterozygotyczność według Nei'a [1978], dzięki algorytmom obliczeniowym w programie PopGen 1.31 [Yeh i in. 1999]. Zróznicowanie genetyczne pomiędzy drzewostanami w ramach gatunku oszacowano za pomocą współczynnika utrwalenia (fiksacji) F_{ST} , współczynnika wsobności F_{IS} i współczynnika heterozygotyczności F_{IT} . Określona również została wielkość przepływu genów N_m pomiędzy populacją rodzicielską i populacją potomną [Yeh i in. 1999]. Podobieństwo genetyczne pomiędzy drzewostanami wyrażono za pomocą dystansu genetycznego DN . Parametry N_m i DN obliczono w programie PopGen 1.31, stosując estymację nieobciążoną według Nei'a [1987].

Wyniki

Przeprowadzone analizy wskazują na wysoki poziom zmienności genetycznej świerka Schrenka. Na podstawie reakcji PCR otrzymano szereg produktów (fragmentów DNA) o różnej wielkości: dla locus SpAG2 od 57 do 122 par zasad (pz), dla startera locus SpAC1H8 od 91 do 200 pz, a dla locus SpAGD1 – od 114 do 253 pz.

Tabela 2.

Współczynniki zmienności genetycznej dla badanych populacji świerka Schrenka z podziałem na powierzchnie badawcze i zasroswane loci
Genetic variability coefficients for analysed Shrenk spruce populations with regard to study sites and applied loci

	Locus H8				Locus DI				Locus CI						
	N	Na	Ne	He	N	Na	Ne	He	N	Na	Ne	He			
Naryn 2900	44	17	11,524	0,545	0,934	56	20	13,754	0,893	0,944	56	14	6,672	1,000	0,865
Sary-Chelek 1600	42	8	5,281	1,000	0,830	42	18	11,164	0,952	0,932	40	12	6,956	1,000	0,878
Sary-Chelek 1400	28	8	4,612	1,000	0,812	28	12	8,909	1,000	0,920	28	12	7,840	1,000	0,904
Aktuz 2300	32	9	5,069	1,000	0,828	32	16	10,666	0,937	0,935	32	10	3,507	0,875	0,738
Karakol 2500	40	9	5,031	1,000	0,822	40	13	7,339	1,000	0,886	40	15	9,091	0,950	0,913
Chui-Kemin 2300	40	8	4,4209	1,000	0,794	40	12	8,510	0,900	0,905	38	9	4,541	1,000	0,801
Naryn 2300	36	8	4,438	1,000	0,797	36	16	11,782	0,944	0,941	34	9	4,898	1,000	0,820
Aktuz 2700	38	11	6,224	1,000	0,862	38	14	10,776	1,000	0,932	38	7	3,180	1,000	0,704
Sary-Chelek 1900	12	9	8,000	1,000	0,954	12	8	4,500	0,833	0,848	12	7	4,800	1,000	0,864
Średnia	312	23	7,386	0,936	0,867	324	39	17,847	0,944	0,947	318	21	7,555	0,981	0,870

N – liczba alleli w locus, Na – obserwowana liczba alleli w locus, Ne – oczekiwana liczba alleli w locus, Ho – heterozygotyczność obserwowana, He – heterozygotyczność oczekiwana; N – number of alleles in locus, Na – observed number of alleles in locus, Ne – expected number of alleles in locus, Ho – observed heterozygosity, He – expected heterozygosity

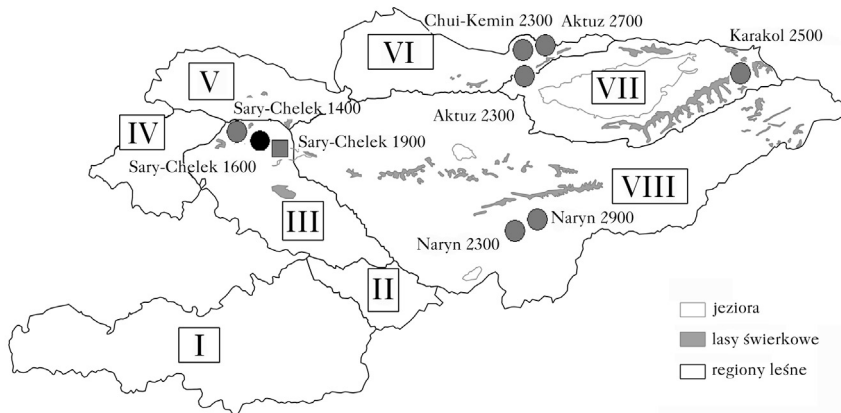
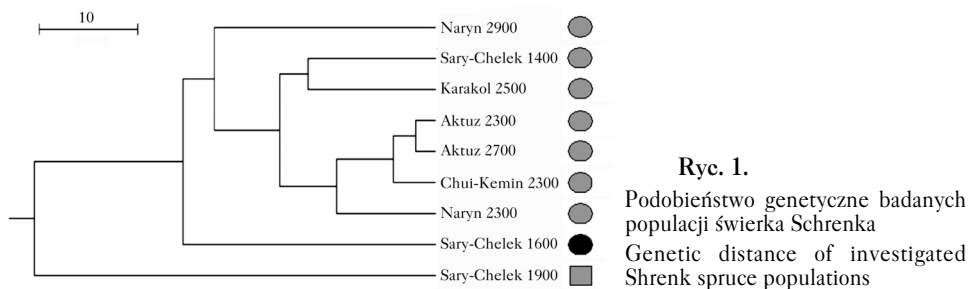
Suma alleli w poszczególnych loci kształtowała się następująco: w locus SpACI-H8 – 312 alleli, w locus SpAG-DI – 324 alleli oraz w locus SpAC1 – 318 alleli. Średnia liczba alleli dla wszystkich trzech loci wyniosła 318. Największa liczba alleli w poszczególnych loci występowała w populacji Naryn 2900: od 56 (SpAG-DI, SpAC1) do 44 (SpACI-H8), natomiast najniższą liczbą alleli charakteryzowała się populacja Sary-Chelek 1900, gdzie dla wszystkich trzech loci SpACI-H8, SpAG-DI, SpAC1 ich liczba wyniosła 12. Dość niską liczbę alleli miała również populacja Sary-Chelek 1400, gdzie dla wszystkich loci ich liczba wyniosła 28, a dla pozostałych populacji liczba alleli wyniosła ponad 30 (tab. 2).

Analizując dendrogram dystansu genetycznego (ryc. 1), można zaobserwować, iż populacja świerka Populacja świerka Schrenka podzielona została na 3 grupy: pierwszą – składającą się z siedmiu podgrup (Naryn 2900, Sary-Chelek 1400, Karakol 2500, Aktuz 2300, Aktuz 2700, Chui-Kemin 2300, Naryn 2300), drugą – zawierającą jedną populację (Sary-Chelek 1600) oraz trzecią – zawierającą populację Sary-Chelek 1900. Największy dystans genetyczny ($DN=0,548$) występował pomiędzy populacjami Sary-Chelek 1900 i Aktuz 2300. Znacznym dystansem genetycznym charakteryzowały się również populacje pochodzące z Sary-Chelek 1900 i Karakol 2500, gdzie wartość DN wyniosła 0,5485. Interesujące jest, iż dwie populacje pochodzące z III regionu leśnego z Rezerwatu Przyrody Sary-Chelek, występujące na zróżnicowanych wysokościach (Sary-Chelek 1400 i Sary-Chelek 1900), charakteryzowały się znacznym dystansem genetycznym mimo bliskiej odległości. Stwierdzono również, że pomiędzy populacjami występującymi w wyższych położeniach n.p.m. dystans genetyczny jest większy niż pomiędzy populacjami z niższych położeń. Populacje z północy kraju (Chui-Kemin oraz Issyk-Kull)

mają niską wartość dystansu genetycznego. Populacja z niższych położeń ze środkowej części Kirgistanu (Naryn) jest zbliżona do populacji z niższych położeń w północnej części Chui-Kemin. Populacja z Naryn 2900 miała mały dystans genetyczny nie tylko względem populacji Naryn 2300, która była jej geograficznie najbliższa, ale i względem populacji Aktuz 2700 z północnego regionu leśnego (VI). Jednocześnie DN był większy niż odnotowany w populacji z południa (Sary-Chelek 1600 i Sary-Chelek 1400). Populacja Naryn 2300 ma mały dystans genetyczny do wszystkich populacji, a najmniejszy – do populacji Chui-Kemin 2300, przy czym większa odległość genetyczna istnieje pomiędzy populacjami z północy i najwyższej wysokości (Sary-Chelek 1900) niż z niższych powierzchni (ryc. 2). Wartość współczynnika przepływu genów między populacjami N_m wyniosła 3,5927.

Dyskusja

Kirgistan, w związku z występowaniem w poszczególnych jego regionach gór Tien-Szan o różnej wysokości, charakteryzuje się zróżnicowanym ukształtowaniem terenu i odmiennymi warunkami klimatycznymi [Grisa i in. 2008]. W warunkach naturalnych świerka Schenka rośnie na stromych zboczach północnej wystawy. Są to tereny położone w wyższych partiach gór i trudno dostępne. Nie występuje on natomiast w niższych położeniach, ze względu na panujące tam niekorzystne dla wzrostu tego gatunku warunki atmosferyczne [Ratkowski 1952]. Takie rozmieszczenie



Ryc. 2.

Rozmieszczenie populacji o zbliżonej strukturze genetycznej na tle regionów przyrodniczo-leśnych Kirgistanu

Distribution of populations with similar genetic structure against forest and natural regions of Kirgizstan
Kirgizstan: I – Turkestan-Alaj; II – kemin, Kemin-Alaj; III – Fergano-Czatka; IV – Czatkan; V – Talas; VI – Chui-Kemin; VII – Issyk-Kul; VIII – Wewnętrzny Tien-Szan -Naryn

zostało wykształcone w sposób naturalny. W Polsce przerwane występowanie dotyczy świerka pospolitego. Wyodrębnia się zasięg południowy i północno-wschodni [Jaworski 1995], natomiast w części środkowej kraju jego występowanie jest rozproszone. Świerk rośnie tu w odizolowaniu od pozostałych drzewostanów. W badanych regionach leśnych w Kirgistanie świerk Schrenka występuje w zróżnicowanych warunkach wysokościowych oraz w różnych formach zmieszania o nieregularnej postaci, w formie pasów, smug i grup. Potwierdzeniem tego, że takie rozdrobnienie świerka Schrenka wpływa na tworzenie się subpopulacji i ich wysoką zmienność, są średnie wartości współczynników zmienności genetycznej.

Wartości współczynnika $HS=0,8360$ dla wszystkich drzewostanów oraz $HT=0,8920$ oznaczają wysoką heterozygotyczność. Współczynnik $FST=0,0651$ świadczy o umiarkowanym zróżnicowaniu genetycznym międzypopulacyjnym świerka Schrenka na terenie Kirgistanu. Natomiast niższa wartość współczynnika FST od wartości współczynnika zmienności wewnątrzpopulacyjnej ($HT=0,8920$) świadczy o tym, że badane stanowiska świerka Schrenka są bardziej zróżnicowane w obrębach poszczególnych drzewostanów niż pomiędzy nimi, dlatego zróżnicowanie genetyczne pomiędzy poszczególnymi pochodzeniami świerka z Kirgistanu nie jest wysokie i wynosi 6,5%.

O dużym utrwaleniu alleli w badanych loci DNA jądrowego wewnątrz populacji świadczą też ujemne wartości współczynników $FIT=-0,0691$ i $FIS=-0,1435$. Analiza współczynników zmienności genetycznej w locus SPAC1-H8 (tab. 2) pokazuje, że najbardziej zróżnicowana jest populacja Naryn 2900 oraz Sary-Chelek 1900. Najmniejszą zmiennością charakteryzuje się populacja z Chui-Kemin 2300 oraz Naryn 2300. W locus SpAG-D1 największą zmiennością charakteryzuje się populacja Naryn 2900 oraz Naryn 2300, a najniższą populacja z Sary-Chelek 1900 oraz Karakol 2500. W locus SPAC1 największą zmiennością charakteryzuje się populacja Karakol 2500 oraz Sary-Chelek 1400, natomiast najniższą Aktuz 2700 oraz Aktuz 2300. Wartość współczynnika Nm wyniosła 3,5927, co świadczy o dużym przepływie genów między populacjami.

Wcześniejsze badania prowadzone na terenie Tien-Szanu przez Bykowa [1985], który brał pod uwagę formę igieł oraz szyszek i dokonał podziału świerka Schrenka na podgatunki, wskazują na wysokie zróżnicowanie gatunku. Prezentowane w niniejszej pracy wyniki pokazują jednak, że zmienność w obrębie całej populacji nie jest wysoka, natomiast występuje duża zmienność w poszczególnych drzewostanach, co może potwierdzać badania Bykowa [1985] i uzasadniać różnice w budowie morfologicznej i fenologii. Również w przypadku świerka pospolitego Boratyński i in. [1998] wymieniają kilkanaście odmian, które występują w areale jego geograficznego zasięgu. Według Boratyńskiego świerk pospolity jest gatunkiem wykazującym dużą zmienność (geograficzną, ekologiczną, morfologiczną i fizjologiczną), której nie spotyka się u żadnego innego gatunku w tym regionie. Występuje wiele odmian geograficznych i form różniących się między sobą wielkością, kształtem i zabarwieniem szyszek, a szczególnie łusek nasiennych.

Badania nad zmiennością genetyczną świerka pospolitego na terenie Polski na podstawie analizy polimorfizmu sekwencji jądrowego DNA mikrosatelitarnego (SSR) prowadziła Nowakowska [2009]. Analizując dwadzieścia około stuletnich drzewostanów świerka pospolitego z podziałem na zasięgi północno-wschodni, południowy oraz pas bezświerkowy, wymienia ona wartości parametrów zmienności genetycznej dla poszczególnych populacji: z północnego wschodu ($HS=0,925$, $HT=0,851$, $FST=0,087$), z południa ($HS=0,922$, $HT=0,851$, $FST=0,085$) oraz populacji z środkowej Polski, czyli tzw. pasa bezświerkowego ($HS=0,928$, $HT=0,851$, $FST=0,039$). Średnie wartości zróżnicowania genetycznego dla tych populacji świerka pospolitego wyniosły $HS=0,933$, $HT=0,851$ i $FST=0,088$ [Nowakowska 2010].

O dużym podobieństwie gatunków świadczyć może również fakt, że do analizy zmienności genetycznej świerka Schrenka zostały użyte te same markery, które wykorzystano w przypadku

świerka pospolitego. Porównując badane grupy świerków, można zauważyć, że świerk Schrenka charakteryzuje się średnio niższymi współczynnikami zmienności genetycznej ($HS=0,8360$, $HT=0,8920$, $FST=0,0651$) niż świerk pospolity ($HS=0,933$, $HT=0,851$, $FST=0,088$), natomiast wartościami najbardziej zbliżonymi do współczynników z dysjunkcji Niżu Polskiego ($HS=0,928$, $HT=0,851$, $FST=0,039$), gdzie świerk występuje w dużej izolacji w porównaniu z populacjami z południa i północnego wschodu [Nowakowska 2009].

W prawie wszystkich populacjach świerka Schrenka dystans genetyczny pokrył się z rozkładem geograficznym, gdyż największe dystanse występowały pomiędzy drzewostanami, które są od siebie najbardziej oddalone. Wyjątek stanowią populację z powierzchni Naryn oraz Sary-Chelek, które geograficznie były położone najbliżej siebie, a występowały między nimi znaczne dystanse genetyczne. W badaniach prowadzonych przez Nowakowską [2010] nie stwierdzono żadnej korelacji przestrzennej między występowaniem genotypów a położeniem geograficznym populacji świerka pospolitego pochodzącego z Polski. W populacji świerka pospolitego genotypy w badanych populacjach były oddalone średnio o $DN=0,496$. Zaobserwowany brak regionalizacji wśród zbliżonych genetycznie populacji świerka pospolitego na podstawie markerów SSR prawdopodobnie wskazuje na połączenie dwóch puli genowych świerka z zasięgu południowego i północnego Europy na terenie Niżu Polskiego.

Wnioski

- ✦ Zróżnicowanie genetyczne populacji świerka Schrenka z Kirgistanu określonego na podstawie mikrosatelitarnych loci DNA jądrowego jest niskie ($FST=0,0651$). Wszystkie badane pochodzenia są bardziej zróżnicowane w obrębie drzewostanów niż między nimi.
- ✦ W porównaniu ze świerkiem pospolitym świerk Schrenka wykazuje niższą zmienność genetyczną, porównywalną do świerka pospolitego pochodzącego z centralnej części Polski.
- ✦ Populacje świerka pospolitego oraz świerka Schrenka charakteryzują się bliskim pokrewieństwem, gdyż krzyżują się w miejscach wspólnego występowania, w związku z tym do badań zmienności genetycznej DNA jądrowego użyto tych samych markerów.
- ✦ Świerk Schrenka dzieli się na 3 grupy. W ramach pierwszej można wydzielić 7 drzewostanów (podgrup), dwie pozostałe stanowią pojedyncze podgrupy.

Podziękowania

Autorzy składają podziękowania Paniom Jolancie Bieniek oraz Małgorzacie Borys z Instytutu Badawczego Leśnictwa za pomoc w analizach laboratoryjnych.

Literatura

- Berezjuk I. E. 1953. Shema lesnyh zon Kazahstana. Lesnoe hozajstwo 11/63: 41-43.
- Boratyński A., Bugała W. 1998. Biologia świerka pospolitego, Polska Akademia Nauk Instytut Dendrologii, Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań.
- Bykov B. A., 1985. Yeliovyie lesa Tien-Shana. Akademia Nauk Kazahskoj SSSR, Instytut Botaniki. Izdatelstwo Nauka Kazahskoj SSSR, Alma-Ata.
- Gan P. A. 1970. Lesa SSSR v pyati tomah. Tom 5: Lesa Kazahstana, sredneaziatskiykh respublik i yugo vostoka evropeyskoy chasti SSSR.
- Grisa E., Venglovsky B., Sarymsakov Z., Carraro G. 2008. Forest typology in the Kyrgyz Republic. Practice oriented document for field assessment and sustainable management of forest stands. Bishkek.
- Jaworski A. 1995. Charakterystyka hodowlana drzew leśnych. Kraków. 26-37.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 23: 341-369.
- Nei M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York.
- Nowakowska J. A. 2009. Mitochondrial and nuclear DNA differentiation of Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) populations in Poland. Dendrobiologia 61: 119-129.

- Nowakowska J. A. 2010. Zmienność genetyczna sosny zwyczajnej i świerka pospolitego na podstawie markerów DNA jądrowego i mitochondrialnego. Polska Akademia Umiejętności. Prace Komisji Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAU 13: 37-53.
- Orlow W. P. 1989. Kultury yeli Tien-shanskoj. Akademia Nauk Kirgijkskoj SSSR, Instytut Biologii, Otdel Lesa. Frunze.
- Pfeiffer A., Olivieri A. M., Morgante M. 1997. Identification and characterization of microsatellites in Norway spruce (*Picea abies* K.). Genome 40: 411-419.
- Ratkowski C P. 1952. Lesa yeli Tien – shanskoj i ih wostanowlenie. Lesnoe hoziajstwo, Ministerstwo lesnowo hoziajstwa SSSR. Moskwa 9 (48): 52-55.
- Sambrook J., Russell D. W. 2001. Molecular Cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, USA. Vol. 1 i 2.
- Slatkin M., Barton N. H. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. Evolution 43: 1349-1368.
- Yazdani R., Scotti I., Jansson G., Plomion C., Mathur G. 2003. Inheritance and diversity of simple sequence repeat (SSR) microsatellite markers in various families of *Picea abies*. Hereditas 138: 219-227.
- Yeh F. C., Yang R., Boyle T. 1999. POPGENE v.1.31, Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/>.

SUMMARY

Genetic characteristic of Schrenk spruce (*Picea schrenkiana*) in the altitudinal and geographical gradient in Kyrgyz part of Tien-Shan mountains

In the Tien-Shan mountains Schrenk spruce (*Picea schrenkiana* Fisch Mey) is one of the main forest-forming coniferous species. In the Kirgiz part of Tien-Shan mountains Schrenk spruce together with Semenov fir (*Abies siemionovii* L.) occupies together about 10% of the area. All these forests are valuable areas of the UNESCO Biosphere Reserve. The major share of spruce occupies northern regions of the Kirgizstan forest regions: Issyk-Kul VII (29%), Chui-Kemin VI (20%), internal Tien-Shan VIII (26%) and in the southern part of the Fergana region III – Chatkal (4%) (fig. 2). Spruce forests in the Kirgiz Tien-Shan are highly fragmented, forming mainly stripes and groups. Schrenk spruce is an important water and soil protecting species and equally valuable in terms of non-production functions to be performed. Due to the large number of Schrenk spruce ecotypes, the aim of this study was to investigate the genetic variability and population differentiation in this species, occurring in different parts of Kirgizstan, on the basis of the analysis of nuclear DNA. The analyzes indicated a high level of Schrenk spruce genetic variability: high heterozygosity (HS=0.8360, HT=0.8920), moderate genetic differentiation between stands (FST=0.0651). Analyzing the genetic distance dendrogram (fig. 1) it can be seen that the population of Schrenk spruce has been divided into two groups. In nearly all Schrenk spruce populations, genetic distance follows the geographical distribution, as the greatest distance are observed between forest stands that are the most distant from each other. Exceptions are Naryn and Sary-Chelek stands that were geographically closest to each other with the biggest genetic distances. The comparison of Schrenk spruce with *Picea abies* (L.) Karst from Poland showed that Schrenk spruce has a lower average coefficients of genetic variation (HS=0.8360, HT=0.8920, FST=0.0651 vs. HS=0.933, HT=0.851, FST=0.088).