

Ocena zmienności genetycznej buka przy zastosowaniu markerów izoenzymatycznych i DNA

dr Małgorzata Sułkowska
Zakład Hodowli Lasu i Genetyki Drzew Leśnych
Instytut Badawczy Leśnictwa
M.Sulkowska@ibles.waw.pl

Udział buka zwyczajnego w lasach Polski wynosi 5,1%. Występuje w typowych zbiorowiskach leśnych na południu kraju – w niższych położeniach górskich Karpat i Sudetów oraz na północy – na morenach polodowcowych Pojezierza Pomorskiego (**ryc. 1**). Przez Polskę przebiega północno-wschodnia granica naturalnego zasięgu buka. Wśród czynników krytycznych, które decydują o możliwościach wzrostu gatunku, wymienić należy: siedlisko, źródło pochodzenia nasion, produkcję sadzonek w szkółce, a także sposób prowadzenia zabiegów pielęgnacyjnych.

Obecna struktura genetyczna populacji buka w Polsce ukształtowana została podczas ostatnich kilku tysięcy lat, pod wpływem czynników środowiskowych: na skutek migracji po okresie zlodowacenia,



Ryc. 1. Drzewostan bukowy w Puszczy Bukowej pod Szczecinem (Nadleśnictwo Gryfino, Leśnictwo Glinna).

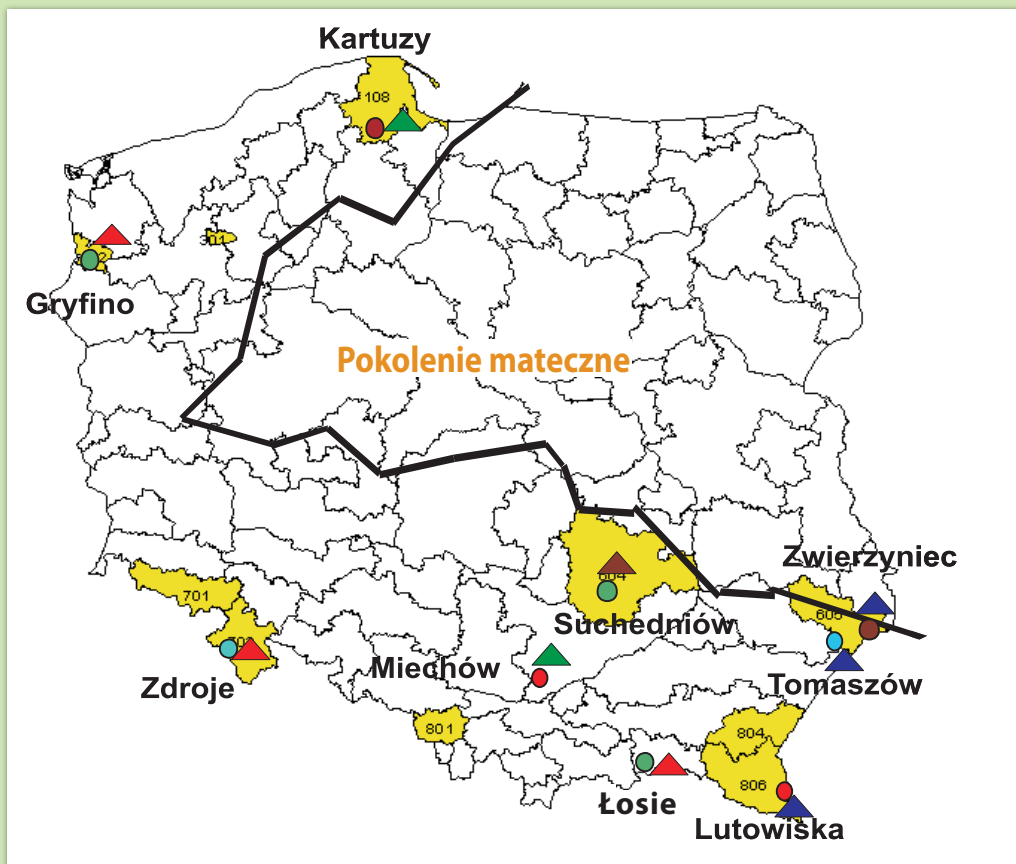
genetycznych (selekcji), a także antropogenicznych. Określenie zmienności i zróżnicowania genetycznego buka stało się wyjątkowo istotne ze względu na zmiany klimatyczne, mogące powodować modyfikację struktury gatunkowej naszych lasów. Jednocześnie mogą też wpłynąć na zmiany optimum ekologicznego tego gatunku.

Prowadzone dotychczas badania zmienności genetycznej buka, oparte były wyłącznie na ocenie wybranych cech pomiarowych i analizach osobników, w zależności od czynników środowiskowych. Nowe metody, wykorzystujące różnego rodzaju mar-

kery biochemiczne, umożliwiają skuteczniejszą ocenę zmienności genetycznej. Większość ważnych gospodarczo cech buka, o których informacja genetyczna zapisana jest w nici DNA, w efekcie współdziałania wielu genów jest trudna do zidentyfikowania. Dodatkowo, na ostateczny obraz danej cechy duży wpływ modyfikujący wywiera środowisko.

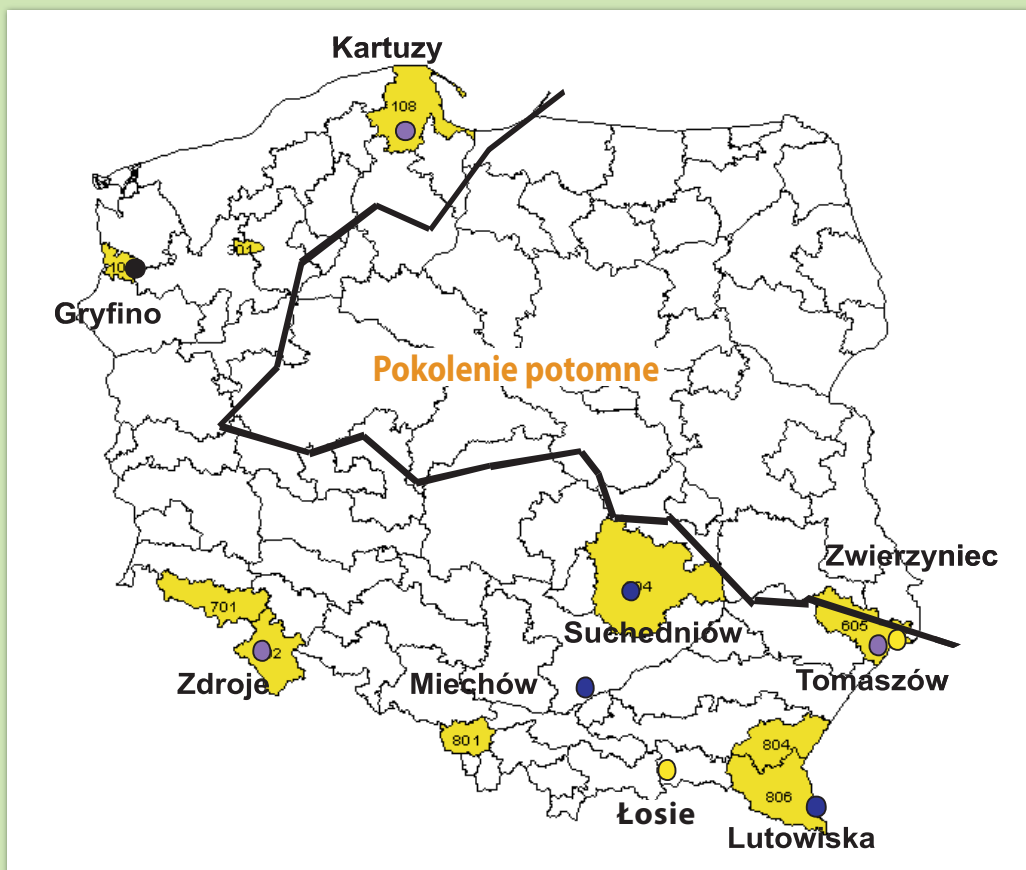
Wstępna ocena zróżnicowania buka w Polsce na podstawie analiz genetycznych (białek enzymatycznych) dotychczas wykazała:

- nieznaczne zubożenie genetyczne populacji buka z północnej Polski w stosunku do populacji południowych,
- stopień zróżnicowania populacji buka w Polsce uniemożliwiający wydzielenie regionów geograficznych o podobnym poziomie zmienności genetycznej,
- mozaikowy charakter zmienności genetycznej gatunku, który wskazuje na jego ekotypowy charakter zróżnicowania.



Ryc. 2. Zmienność geograficzna populacji buka i ich pokoleń potomnych.

Populacje mateczne charakteryzowały się niższymi wartościami badanego parametru genetycznego średniej liczby znalezionych form genów (alleli w locus genowym) przy zastosowaniu markerów białek izoenzymatycznych i DNA - RAPD. Potomstwo nie wykazało cech zubożenia genetycznego, co świadczy o stabilności genetycznej młodego pokolenia.



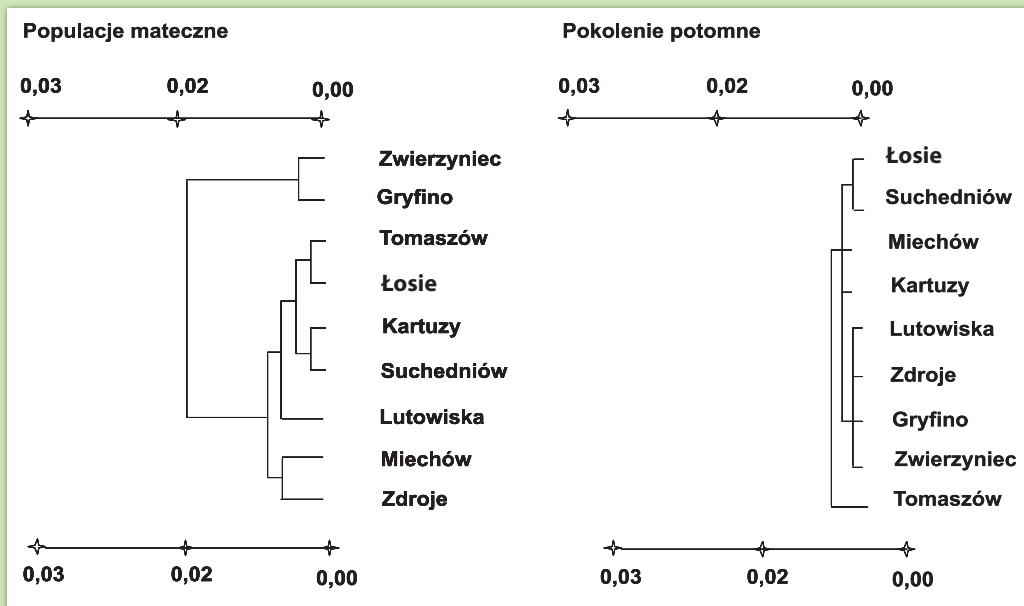
Legenda:

Markery izoenzymatyczne		Markery DNA	
● 1,9	● 2,3	▲ 1,82	
● 2,0	● 2,4	▲ 1,91	
● 2,1	● 2,6	▲ 1,95	
● 2,2	● 2,7	▲ 2,00	

Do dalszych badań różnicowania ekotypowego buka wytypowano 9 drzewostanów wyselekcjonowanych (ryc. 2), obejmujących naturalny zakres zmienności siedlisk: żyzną buczynę pomorską (Gryfino i Kartuzy), żyzną buczynę sudecką (Zdroje), żyzną buczynę karpacką (Lutowiska i Łosie) oraz kwaśną buczynę (Miechów, Tomaszów Lubelski, Zwierzyniec i Suchedniów). Wybrane drzewostany to zwarte kompleksy leśne występujące w regionach pochodzenia, zgodnych z obowiązującą w Polsce Regionalizacją Nasienną.

Ocenę zmienności i różnicowania genetycznego wykonano dla pokolenia rodzicielskiego i jego potomstwa w badanych populacjach, na podstawie analiz białek enzymatycznych (izoenzymy) oraz DNA w oparciu o analizy markerów RAPD.

Markery izoenzymatyczne są to różne strukturalnie formy białka, pełniące te same funkcje w organizmie, różniące się nieznacznie budową chemiczną i ładunkiem elek-



Ryc. 3. Genetyczne zróżnicowanie populacji maciecznych i ich pokolenia potomnego buka – dystans genetyczny – na podstawie częstości występowania alleli.

Odległości genetyczne między pochodzeniami pokolenia potomnego są bardzo małe – praktycznie dendrogram nie wykazuje zróżnicowania genetycznego. Jest to spowodowane wysoką zmiennością genetyczną wewnątrzpopulacyjną badanych pochodzeń, w porównaniu do zmienności między badanymi pochodzeniami buka. Określone dystanse genetyczne nie znajdują odniesienia w stosunku do odległości położenia geograficznego między badanymi populacjami buka.

trycznym cząsteczki. Analizowane są białka posiadające znany sposób dziedziczenia, o których budowie informacja zapisana jest w pojedynczych genach.

Markery RAPD są to losowo namnożone nici DNA, przy zastosowaniu tzw. starterów, to jest odcinków DNA, stymulujących powielanie wybranych jego fragmentów i umożliwiających późniejszą identyfikację zmienności.

Badano dziewięć białek enzymatycznych: L-leucyloaminopeptydazę (Lap 1), transaminazę glutaminianowo-szczawiooctową (Got 2), reduktazę menadionu (MNR), dehydrogenazę jabłczanową (Mdh 1, Mdh 2, Mdh 3), dehydrogenazę szikimianową (SKDH), fosfoglucoizomerazę (Pgi 1) i fosfoglukomutazę (PGM) oraz markery DNA-RAPD przy użyciu pięciu starterów: H02, H12, P06, W09, W11 (firmy Operon). Zmienność genetyczną badanych pochodzeń buka oszacowano na podstawie średniej liczby znalezionych form genów (tj. alleli w locus). W celu zilustrowania zróżnicowania genetycznego między populacjami, sporządzono dendrogram podobieństwa na podstawie obliczonych częstości wystąpienia analizowanych markerów (**ryc. 3**).

Na podstawie analiz izoenzymatycznych i DNA stwierdzono dużą zmienność genetyczną i zróżnicowanie badanych populacji buka oraz ich pokoleń potomnych. Pokolenie rodzicielskie wykazało niższe wartości zmienności i zróżnicowania analizowanych parametrów genetycznych niż pokolenie potomne. Wyniki świadczą o losowym systemie krzyżowania pokolenia rodzicielskiego, który nie prowadzi do zachwiania równowagi genetycznej populacji.