

Katarzyna Masternak¹✉, Monika Zielińska¹, Janusz Sabor¹

Polimorfizm izoenzymów i wzrost wybranych pochodzeń świerka pospolitego [*Picea abies* (L.) Karst.] doświadczenia IPTNS-IUFRO 1964/68 w Krynicy

Isoenzyme polymorphism and growth of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] provenances on the IPTNS-IUFRO 1964/68 experimental site in Krynica

Abstract. To test the relationship between the genetic structure and growth parameters of thirty Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] provenances growing on the IPTNS-IUFRO 1964/68 experimental plot in Krynica, the height and diameter at breast height (DBH) of 45-year-old spruce trees were measured. There was a significant effect of origin on both parameters, and correlation coefficients calculated for the relationship between growth characteristics and altitude of mother stands were negative and gave $r = -0.16$ for height and $r = -0.15$ for diameter at breast height. The parameters indicating the genetic diversity of thirty Norway spruce provenances, including the mean number of alleles per locus, effective number of alleles per locus and observed heterozygosity, were similar to the values obtained for the whole range of Norway spruce across Europe and were equal to 1.41, 1.16 and 0.115, respectively. There were no differences between the genetic variation of spruce provenances from the IPTNS-IUFRO 1964/68 experimental plot in Krynica and the areas from which seeds were obtained. There was a significant negative relationship between heterozygosity and altitude of mother stands ($r = -0.33$).

Key words: genetic variability, isozyme markers, growth characteristics

1. Wstęp i cel

Świerk pospolity [*Picea abies* (L.) Karst.] jest gatunkiem, który zwłaszcza na północno-wschodnim obszarze kontynentu oraz w wysokich terenach górskich ma istotne znaczenie lasotwórcze. Zmienność warunków bytowania oraz migracja z refugium przyczyniły się do powstania dużego zróżnicowania wewnątrzgatunkowego świerka, wskutek czego uważany jest za najbardziej zmienny wśród gatunków iglastych (Sułkowska 1995). Ocenę tej zmienności umożliwiają liczne doświadczenia proveniencyjne (Giertych 1977), które w ostatnich latach uzupełniane są poprzez zastosowanie technik biologii molekularnej i markerów biochemicznych (Heinze et al. 1996; Polak-Berecka 2001). Prace koncentrują się również na poszukiwaniu zależności pomiędzy cechami

hodowlanymi a strukturą genetyczną, określoną na podstawie polimorfizmu białek enzymatycznych oraz kwasu nukleinowego (Liesebach 1994; Markussen et al. 2004). Pozytywne efekty badań oznaczają, że możliwe jest zastosowanie testów wczesnych z użyciem metod molekularnych w celu weryfikacji leśnego materiału rozmnożeniowego, co umożliwi wprowadzenie do upraw wyselekcjonowanego materiału szkółkarskiego. W efekcie prowadzi to do skrócenia samego czasu selekcji, a także do poprawy jakości i stabilności przyszłych drzewostanów.

Celem pracy jest ocena cech wzrostowych wybranych pochodzeń świerka pospolitego objętych doświadczeniem IPTNS-IUFRO 1964/68 w Krynicy oraz próba ustalenia, czy zaobserwowane różnice we wzroście są

¹ Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie, Wydział Leśny, Katedra Nasiennictwa, Szkółkarstwa i Selekcji Drzew Leśnych, Al. 29 Listopada 46, 31–425 Kraków; * Fax 0048 126625128, e-mail: katarzyna105a@interia.pl

Tabela 1. Charakterystyka populacji cząstkowych świerka pospolitego międzynarodowego doświadczenia IPTNS-IUFRO 1964/68 w Krynicy objętych badaniami (Bałut i Sabor 2001, 2002)

Table 1. Characteristics of Norway spruce partial populations in the IPTNS-IUFRO 1964/68 international experiment in Krynica under survey (Bałut and Sabor 2001, 2002)

Numer wg IUFRO Number acc. to IUFRO	Nazwa pochodzenia Name of origin	Region Krutzscha Krutzscha Region	Kolekcja nasion* Collection of seeds*	Wysokość n.p.m. [m] Altitude a.s.l. [m]	Współrzędne geograficzne [°] Geographical coordinates [°]	
					szerokość latitude	długość longitude
0111	Bricalovic	75-Belarus	4	160	53,3	28,7
0146	Puszcza Białowieska	70-Białowieża Forest; Poland	4	130	52,6	23,6
0174	Wisła, 54A	63-Beskid Śląski, Beskid Żywiecki; Poland	3	615	49,7	18,9
0326	Knyszyn	69-Augustów Lakeland, Podlasie; Poland	4	150	53,3	22,9
0340	Cimpeni, XV Valea Mare 24	58-Bihor Mts, Transylvania; Romania	2	1260	46,3	23,0
0351	Ukmerges	71-Vilnius Lakeland, Lithuania; Belarus Lakeland, Belarus	6	73	55,3	24,7
0388	Cimpeni, XV Valea Mare 23B	58-Bihor Mts, Transylvania; Romania	2	1375	46,3	23,0
0405	Geschwomrieser Bergwald/Saalfelden, 49	28-Tyrol-Salzburg; Austria	5	1450	47,3	12,8
0417	Stanz-Kindtal-Allerheiligen	32-Styria (N-E) 1; Austria	6	750	47,5	15,5
0439	Dorna Cindreni, II Rosia, 50A	59-East Carpathians; Romania	2	975	47,4	25,4
0441	Deutschlandsberg	33-Styria (S-E); Austria	6	700	46,8	15,2
0447	Borki Knieja	68-Masurian Lakeland; Poland	2	160	54,1	22,1
0451	Seewiesen, Seereith	32-Styria (N-E) 1; Austria	3	875	47,6	15,3
0472	Isny	24-Swabian-Bawarian Upland (Swabia); Germany	4	850	47,7	10,1
0487	Cucureasa, 65	59-East Carpathians; Romania	1	1260	47,3	25,0
0700	Cosna, Cucureasa 4A	59-East Carpathians; Romania	2	1025	47,3	25,2
0719	Cavagnago	15-West (Lapontine) Alps; Switzerland	1	1180	46,4	8,9
0735	Knittelfeld	32-Styria (N-E) 1; Austria	6	1300	47,2	14,8
0749	Cucureasa, 65	59-East Carpathians; Romania	1	1410	47,3	25,0
0761	Liembergwald/Zell Am See, 59	28-Tyrol-Salzburg; Austria	5	875	47,3	12,8
0765	Stuebing/Gamskogel	32-Styria (N-E) 1; Austria	6	640	47,3	15,6
0807	Pronegsk	77-Russia 1	4	75	62,0	34,0
0834	Molvotitsk	76-East Russia (Valdai Hills); Russia	4	200	57,5	32,5
0841	Ignalino	71-Vilnius Lakeland, Belarus Lakeland; Lithuania, Belarus	6	185	55,3	26,2
0856	Roslavi	78-Russia 2 (Central Russian Upland, Smolensk-Moscow Heights)	4	270	54,0	33,0
0917	Mikaszówka	69-Augustów Lakeland, Podlasie; Poland	4	120	53,9	23,4
0922	Cucureasa, 65	59-East Carpathians; Romania	1	1100	47,3	25,0
0925	Tarnawa	60-East Beskids (Tarnawa); Poland	2	700	49,1	22,8
0986	Foelz, Mayerberg	32-Styria (N-E) 1; Austria	3	950	47,5	15,2
1147	Mogilevskaja Oblast	75-Belarus	6	150	53,7	30,0

* Nasiona zebrano z: 1 – jednego drzewa, 2 – przynajmniej z dziesięciu różnych drzew, 3 – z pojedynczego drzewostanu, 4 – z kilku drzewostanów, 5 – z drzewostanów uznanych przez lokalną administrację leśną, 6 – z terenu jednego nadleśnictwa, 7 – ze szwedzkich prób proveniencyjnych

* Seeds were collected from: 1 – a single tree, 2 – minimum ten different trees, 3 – an individual stand, 4 – several stands, 5 – stands approved by the local forestry administration, 6 – territory of a single Forest District, 7 – Sweden provenance trials

związane ze strukturą genetyczną określoną na podstawie polimorfizmu białek izoenzymowych.

2. Materiał i metodyka

Materiał

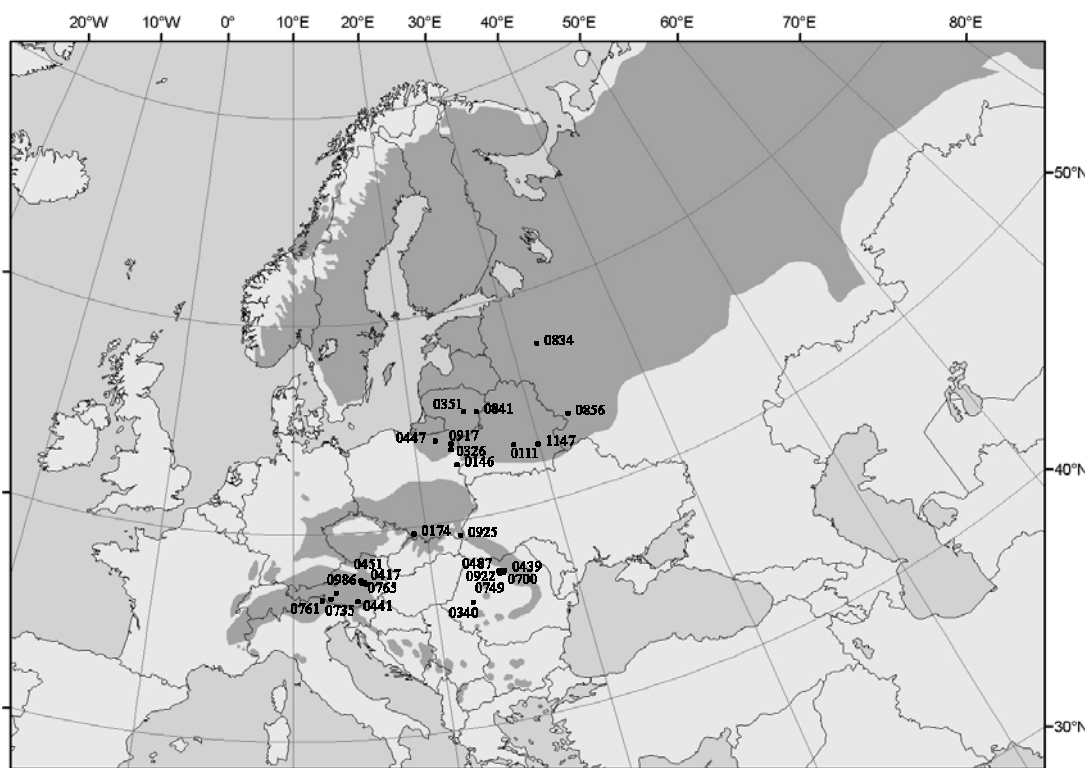
Badaniami objęto trzydzieści pochodzeń świerka pospolitego doświadczenia IPTNS-IUFRO 1964/68 w Krynicy, pochodzących z regionów zaliczonych przez Giertycha (1977) do regionów występowania populacji świerka o wzroście bardzo dobrym (Karpaty Wschodnie, Zachodnie i Południowe, Sudety oraz północno-wschodni region występowania gatunku), przeciętnym (Nizina Wschodnioeuropejska) oraz słabym (Alpy). Potomstwo poszczególnych proveniencji różniło się pod względem liczebności populacji macierzystej, z której zebrano nasiona: z jednego drzewa – kolekcja 1, przynajmniej z dziesięciu różnych drzew – kolekcja 2, z pojedynczego drzewostanu – kolekcja 3, z kilku drzewostanów – kolekcja 4, z drzewostanów uznanych przez lokalną administrację leśną – kolekcja 5, z terenu jednego nadleśnictwa – kolekcja 6, oraz ze szwedzkich prób proveniencyjnych – kolekcja 7 (Sabor 1977). Każde

analizowane pochodzenie reprezentowane było przez 10 drzew powierzchni doświadczalnej. Charakterystykę badanych proveniencji przedstawia tabela 1, a ich rozmieszczenie geograficzne rycina 1. Lokalizację, warunki przyrodnicze powierzchni badawczej oraz metodykę doświadczenia IPTNS-IUFRO 1964/68 zawarto w pracach Bałuta i Sabora (2001, 2002).

Polimorfizm izoenzymów

Analizę izoenzymową wykonano na materiale biologicznym (pąki w stanie spoczynku) pobranym w listopadzie 2008 roku. Strukturę genetyczną populacji określono na podstawie siedmiu izoenzymów kodowanych w jedenastu loci (tab. 2). Rozdział białek na poszczególne frakcje przeprowadzono za pomocą elektroforezy na żelu skrobiowym (Conkle et al. 1992). Interpretację otrzymanych zymogramów wykonano za pomocą wzorców opracowanych przez Könnert i Maurera (1995).

Na podstawie analizy jedenastu loci izoenzymów określono częstość poszczególnych alleli, średnią liczbę alleli w locus oraz heterozygotyczność obserwowaną (Bergmann, Gregorius 1979; Winter et al. 2004).



Rycina 1. Lokalizacja drzewostanów macierzystych trzydziestu pochodzeń świerka pospolitego testowanych w doświadczeniu IPTNS-IUFRO 1964/68 w Krynicy (Skrøppa 2003, zmodyfikowane)

Figure 1. Location of mother stands of thirty Norway spruce provenances in the IPTNS-IUFRO 1964/68 experiment in Krynica (Skrøppa 2003, after modification)

Tabela 2. Analizowane systemy izoenzymowe

Table 2. Analysed isoenzyme systems

Nazwa enzymu Enzyme name	Liczba analizowanych loci Number of analyzed loci
Dehydrogenaza glutaminowoszczawioctanowa [Got, E.C. 2.6.1.1] Glutamate-oxaloacetate-transaminase [Got, E.C. 2.6.1.1]	3
Dehydrogenaza glutaminianowa [Gdh, E.C. 1.4.1.2] Glutamate dehydrogenase [Gdh, E.C. 1.4.1.2]	1
Dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa [E.C. 1.1.1.49] Glucose-6-phosphate dehydrogenase [E.C. 1.1.1.49]	1
Dehydrogenaza izocytrynianowa [Idh, E.C. 1.1.1.42] Isocitrate dehydrogenase [Idh, E.C. 1.1.1.42]	1
Dehydrogenaza jablczanowa [Mdh, E.C. 1.1.1.37] Malate dehydrogenase [MDH E.C.]	3
Dehydrogenaza szikimianowa [Shdh, E.C. 1.1.1.25] Shikimate dehydrogenase [Shdh, E.C. 1.1.1.25]	1
Aminopeptydaza leucynowa [Lap, E.C. 3.4.11.1] Leucine aminopeptidase [Lap, E.C. 3.4.11.1]	1
Izomeraza fosfoglukonianowa [Pgi, E.C. 5.3.1.9] Phospho-glucose isomerase [Pgi, E.C. 5.3.1.9]	1

Heterogeniczność rozkładu wariantów allelicznych w badanych proveniencjach świerka wyrażono za pomocą parametru efektywnej liczby alleli w locus obliczonego według wzoru (Bergmann, Gregorius 1979):

$$N_e = \frac{1}{\left(\sum p_i\right)^2}$$

gdzie:

N_e – efektywna liczba alleli w locus,

p_i^2 – frekwencja allelu i w locus k .

Heterozygotyczność oczekiwaną przy założeniu panmiksji określono zgodnie ze wzorem opisanym przez Nei'a i Roychoundry'ego (1974):

$$H_e = 1 - \left(\sum j \cdot p_i^2\right)$$

gdzie:

H_e – heterozygotyczność oczekiwana,

p_i^2 – frekwencja allelu i w locus k .

Na podstawie indeksu wsobności według Wrighta (1987) oszacowano heterozygotyczność analizowanych populacji według wzoru:

$$W = 1 - \frac{H_{ob}}{H_e}, \text{ gdzie:}$$

W – indeks wsobności Wrighta,

H_{ob} – heterozygotyczność obserwowana,

H_e – heterozygotyczność oczekiwana.

Współczynnik dystansu genetycznego (D) obliczono zgodnie ze wzorem podanym przez Nei'a (1972):

$$D = -\log_e I, \quad \frac{J_{xy}}{\sqrt{J_x J_y}}$$

gdzie:

D – dystans genetyczny,

J_x – średnia frekwencja wszystkich loci w populacji X ,

J_y – średnia frekwencja wszystkich loci w populacji Y ,

J_{xy} – średnia frekwencja wszystkich loci w populacjach X i Y .

Rozkład zróżnicowania genetycznego trzydziestu proveniencji świerka pospolitego ustalono za pomocą statystyki F . Określono zmienność międzypopulacyjną F_{st} , a także poziom odchylenia od stanu równowagi Hardy'ego-Weinberga dla poszczególnych subpopulacji F_{is} oraz dla całej grupy analizowanych osobników F_{it} (Nei 1972). Różnice w częstości alleli pomiędzy populacjami ustalono za pomocą testu G (Nei 1972).

Na podstawie współczynnika dystansu genetycznego określono podobieństwo genetyczne pomiędzy analizowanymi proveniencjami oraz wykonano dendrogram oparty na grupowaniu metodą średnich połączeń UPGMA (Sneath, Sokal 1973, str. 230–234).

Parametry zmienności genetycznej obliczono za pomocą programu PopGene ver. 1.3 (Yeh et al. 1999). Przy testowaniu statystycznej istotności różnic w częstości alleli pomiędzy subpopulacjami korzystano z programu GenePop ver. 3.3. (Raymond, Rousset 1995).

Analiza cech wzrostowych

Przeanalizowano wysokość i pierśnicę trzydziestu populacji świerka w wieku 45 lat na powierzchni badawczej w Krynicy. Parametry wzrostowe drzew scharakteryzowano średnią arytmetyczną i współczynnikiem zmienności. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę

wariancji, a za pomocą testu Tukeya wyodrębniono grupy populacji jednorodnych. Określono współczynniki korelacji Pearsona pomiędzy cechami wzrostowymi populacji potomnych a wysokością n.p.m. drzewostanów macierzystych oraz typem kolekcji nasion, z których założono doświadczenie. Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą pakietu Excel 2000 oraz programu komputerowego Statistica ver. 8,0 (StatSoft Inc. 2006).

Korelacja parametrów wzrostowych ze strukturą genetyczną

Określono współczynniki korelacji pomiędzy cechami wzrostowymi a typem kolekcji nasion, wysokością nad poziomem morza drzewostanów macierzystych i udziałem loci genów izoenzymowych o największym polimorfizmie (*Got-C*, *Pgi-B*). Grupy jednorodne wyodrębnione za pomocą testu Tukeya przeanalizowano pod kątem wartości heterozygotyczności obserwowanej. Określono współczynniki korelacji Pearsona pomiędzy heterozygotycznością drzew a wysokością nad poziomem morza drzewostanów macierzystych oraz typem kolekcji nasion, z których założono doświadczenie.

3. Wyniki

Analiza parametrów zmienności genetycznej

Na podstawie analizy siedmiu enzymów kodowanych w jedenastu loci wykazano, iż największą zmiennością charakteryzowały się locus C transaminazy glutaminowo-szczawiooctanowej oraz locus B fosfoglukomutazy. Loci *Got-A*, *Got-B* oraz *Mdh-A* były monomorficzne, a loci *Idh-B*, *Lap-B*, *Mdh-B*, *Mdh-C*

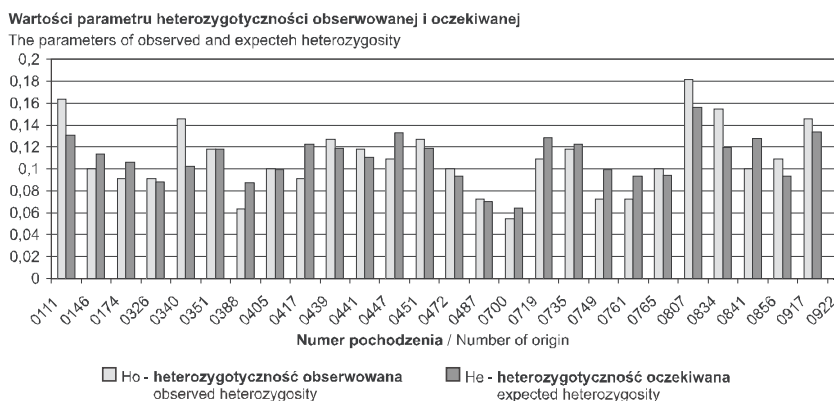
oraz *Shdh-A* wykazywały niewielki polimorfizm. Zmienność locus *Gdh-A* obserwowano jedynie w przypadku pochodzeń z północno-wschodniego zasięgu występowania gatunku.

Udział loci polimorficznych wynosił od 18,18% dla proveniencji Cosna, Cucureasa 4A, do 54,55% dla pochodzenia Mikaszówka. Średnia oraz efektywna liczba alleli w locus wynosiła odpowiednio od 1,18 i 0,19 do 1,64 i 1,30. Wartości obu parametrów były najbardziej podobne w przypadku pochodzenia Tarna-wa, co świadczy o najkorzystniejszym rozkładzie częstości alleli w tej populacji. Indeks wsobności Wrighta przyjmował wartości od $-0,417$ (pochodzenie Cimpeni, XV Valea Mare 24) do $0,275$ (Cimpeni, XV Valea Mare 23B, Cucureasa 65). Średnia wartość parametru dla wszystkich analizowanych proveniencji wyniosła $-0,016$, wskazując na niewielką przewagę heterozygot w puli analizowanych osobników (tab. 3).

Najniższą heterozygotycznością obserwowaną i oczekiwaną charakteryzowało się pochodzenie Cosna, Cucureasa 4A, najwyższą zaś proveniencje Pronegsk i Mikaszówka. Proveniencja Ukmerges, Paschlik Revier znalazła się w stanie równowagi Hardy'ego-Weinberga, o czym świadczą identyczne wartości parametrów heterozygotyczności obserwowanej i oczekiwanej (ryc. 2).

Parametr F_{st} osiągnął średnią wartość $0,077$, co wskazuje, że prawie 8% całkowitej zmienności przypada na różnicowanie międzypopulacyjne. Ponadto wykazano statystycznie istotne różnice w częstości alleli dla trzech z jedenastu analizowanych loci (tab. 4).

Średni dystans genetyczny według Nei'a (1972) pomiędzy pochodzeniami objętymi analizą wyniósł $0,012$. Dendrogram obrazujący odległość genetyczną pomiędzy trzydziestoma proveniencjami świerka przedstawiono na rycinie 3.



Rycina 2. Heterozygotyczność obserwowana i oczekiwana trzydziestu pochodzeń świerka w doświadczeniu IPTNS-IUFRO 1964/68 w Krynicy

Figure 2. Observed and expected heterozygosity of thirty Norway spruce provenances in the IPTNS-IUFRO 1964/68 experiment in Krynica

Tabela 3. Średnie wartości cech wzrostowych oraz parametrów zmienności genetycznej populacji cząstkowych doświadczenia IPTNS-IUFRO 1964/68 w Krynicy objętych badaniami

Table 3. Mean values of growth characteristics and parameters of genetic variability of partial populations in the IPTNS-IUFRO 1964/68 experiment in Krynica under survey

Numer według IUFRO Number acc. to IUFRO	Nazwa pochodzenia Name of origin	Wysokość	Pierśnica	Termin pędzenia wiosennego* Beginning of bud development*	Średnia liczba alleli Mean number of alleles	Efektywna liczba alleli Effective number of alleles	Współczynnik wsobności Wrighta Wright's fixation index
		Height	Diameter at breast height				
		m	m				
0111	Bricalovic	19,8	24,7	P	1,55	1,23	-0,25
0146	Puszcza Białowieska	19,6	26,0	P	1,45	1,18	0,12
0174	Wisła, 54A	17,8	21,0	Ś	1,45	1,17	0,15
0326	Knyszyn	18,4	22,9	P	1,27	1,16	-0,03
0340	Cimpeni, XV Valea Mare 24	17,5	20,5	P	1,27	1,19	-0,42
0351	Ukmerges	18,7	23,6	P	1,45	1,20	0,00
0388	Cimpeni, XV Valea Mare 23B	17,3	20,8	Ś	1,36	1,14	0,27
0405	Geschwomrieser Bergwald/Saalfelden, 49	15,3	16,2	Ś	1,36	0,19	-0,01
0417	Stanz-Kindtal-Allerheiligen	17,1	19,2	W	1,45	1,22	0,26
0439	Dorna Cindreani, II Rosia, 50A	18,4	21,4	P	1,36	1,19	-0,07
0441	Deutschlandsberg	15,9	18,6	W	1,36	1,18	-0,07
0447	Borki Knieja	18,6	21,8	P	1,36	1,24	0,18
0451	Seewiesen, Seereith	14,6	15,6	W	1,36	1,19	-0,07
0472	Isny	15,6	17,7	Ś	1,45	1,14	-0,07
0487	Cucureasa, 65	17,8	19,7	P	1,27	1,11	-0,04
0700	Cosna, Cucureasa 4A	16,9	20,5	P	1,18	1,11	0,16
0719	Cavagnago	14,1	18,3	Ś	1,55	1,23	0,15
0735	Knittelfeld	17,0	20,0	W	1,55	1,19	0,04
0749	Cucureasa, 65	17,8	21,0	P	1,36	1,15	0,27
0761	Liembergwald/Zell Am See, 59	16,4	20,8	W	1,55	1,15	0,22
0765	Stuebing/Gamskogel	15,1	17,8	W	1,27	1,16	-0,06
0807	Pronegsk	13,9	15,5	Ś	1,55	1,30	-0,17
0834	Molvotitsk	17,0	18,8	P	1,45	1,19	-0,29
0841	Ignalino	15,6	17,5	P	1,45	1,22	0,22
0856	Roslavi	18,4	19,9	P	1,36	1,15	-0,17
0917	Mikaszowka	18,5	21,2	P	1,64	1,22	-0,09
0922	Cucureasa, 65	18,7	22,2	P	1,45	1,27	-0,18
0925	Tarnawa	17,6	20,3	P	1,27	1,21	-0,21
0986	Foelz, Mayerberg	17,3	18,2	W	1,36	1,22	-0,23
0147	Mogilevskoje Oblast	17,9	22,7	P	1,45	1,20	-0,09
-	średnia / mean	17,2	20,1	-	1,41	1,16	-0,02

* P – późny, Ś – średni, W – wczesny

P – late, Ś – medium, W – early

Ocena cech wzrostowych

Najwyższą wysokość w wieku 45 lat osiągnęły świerki proveniencji 0111 – Bricalovic, a najniższą proveniencji 0807 – Pronegsk. Podobne wyniki otrzymano w przypadku analizy pierśnicy. Testowane w doświadczeniu potomstwo populacji rosnących na wysokości zbliżonej do wysokości powierzchni badawczej w Kry-

nicy (700–900 m n.p.m.) cechuje się niskimi wartościami parametrów wzrostowych. Najwyższą wysokość w wieku 45 lat osiągają świerki nizinne, których drzewostany macierzyste rosną na wysokości 100–400 m n.p.m. (tab. 3).

Analiza wariancji wykazała istotny na poziomie równym $p=0,05$ wpływ pochodzenia na wysokość oraz pierśnicę świerków w wieku 45 lat (tab. 5, 6). Stwier-

Tabela 4. Statystyki F potomstwa testowanego w doświadczeniu IPTNS-IUFRO 1964/68 w Krynicy
Table 4. F -statistic for the tested progeny in the IPTNS-IUFRO 1964/68 experiment in Krynica

Locus	F_{is}	F_{it}	F_{st}	P
<i>Gdh-A</i>	-0,661	0,0941	0,1503	<0,00001
<i>Got-A</i>	-	-	0,0000	-
<i>Got-B</i>	-	-	0,0000	-
<i>Got-C</i>	0,0638	0,1480	0,0899	0,00018
<i>Idh-B</i>	-0,0526	-0,0025	0,0476	0,99999
<i>Lap-B</i>	-0,0539	0,0288	0,0785	0,00057
<i>Mdh-A</i>	-	-	0,0000	-
<i>Mdh-B</i>	-0,0526	-0,0067	0,0436	0,99999
<i>Mdh-C</i>	0,1020	0,1758	0,0822	0,00853
<i>Pgi-A</i>	0,1111	-0,0598	0,0462	0,10997
<i>Skdh-A</i>	-0,1189	-0,0243	0,0845	0,00472
Średnia	-0,0246	0,0540	0,0767	-

F_{is} – odchylenie wartości heterozygotyczności obserwowanej od oczekiwanej wewnątrz subpopulacji
deviation of the observed heterozygosity values from the expected ones within the subpopulation

F_{it} – odchylenie wartości heterozygotyczności obserwowanej od oczekiwanej w całej populacji
deviation of the observed heterozygosity values from the expected ones within the whole population

F_{st} – zmienność międzypopulacyjna (odchylenie wartości całkowitej heterozygotyczności oczekiwanej od heterozygotyczności oczekiwanej dla poszczególnych subpopulacji)
population variability (deviation of the whole expected heterozygosity from the expected heterozygosity for partial populations)

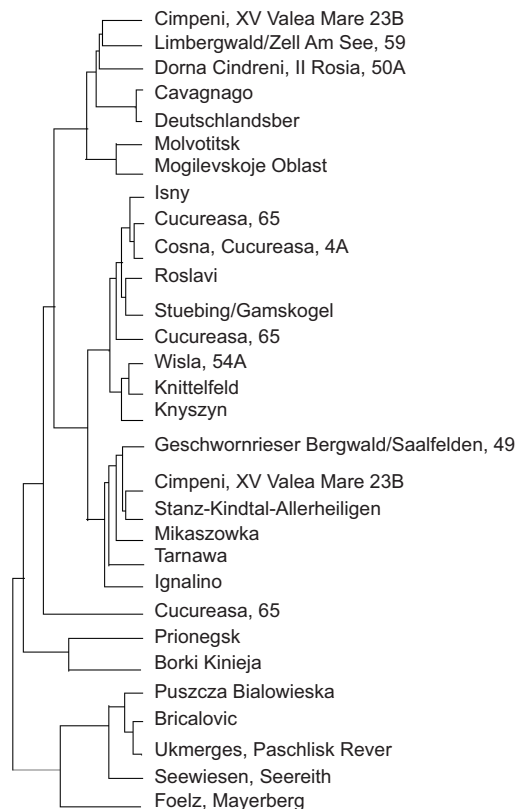
P – prawdopodobieństwo zróżnicowania częstości alleli pomiędzy subpopulacjami (test G)
probability of differentiation of allele frequencies between subpopulations (G -test)

Tabela 5. Analiza wariancji wysokości badanych pochodzeń

Table 5. Analysis of variance of the height of the tested provenances

Źródło zmienności Source of variance	Suma kwadratów Sum of squares	Stopnie swobody Degrees of freedom	Średni kwadrat Mean square	Test F F -test	Wartość p P -value
Pochodzenie Origin	676,01	29	23,31	3,04	<0,0001
Błąd Error	2070,33	270	7,67	-	-

dzono istotną korelację parametrów wzrostowych z wysokością nad poziomem morza drzewostanów macierzystych, z których pozyskano nasiona. Współczynniki



Rycina 3. Dendrogram wykonany na podstawie dystansu genetycznego według Nei'a (1972)

Figure 3. Dendrogram constructed on the basis of genetic distance according to Nei (1972)

Tabela 6. Analiza wariancji pierśnicy badanych pochodzeń

Table 6. Analysis of variance of diameter at breast height of the tested provenances

Źródło zmienności Source of variance	Suma kwadratów Sum of squares	Stopnie swobody Degrees of freedom	Średni kwadrat Mean square	Test F F -test	Wartość p P -value
Pochodzenie Origin	1838,6	29	63,4	2,557	<0,0001
Błąd Error	6695,7	270	24,8	-	-

korelacji Pearsona pomiędzy wysokością oraz pierśnicą trzydziestu populacji świerka a wysokością n.p.m. drzewostanów macierzystych, na poziomie istotności równym 0,05, osiągnęły odpowiednio wartości $-0,18$ oraz $-0,15$. Korelacja parametrów wzrostowych z typem kolekcji nasion, z których założono doświadczenie, była statystycznie nieistotna.

Korelacja cech wzrostowych ze strukturą genetyczną

Współczynnik korelacji Pearsona pomiędzy heterozygotycznością potomstwa testowanego w doświadczeniu a wysokością n.p.m. drzewostanów macierzystych, z których pozyskano nasiona był statystycznie nieistotny. Nie wykazano również istotnej zależności cech wzrostowych z udziałem polimorficznych loci (*Got-C*, *Pgi-B*) ani z heterozygotycznością analizowanych populacji.

4. Dyskusja

W strukturze genetycznej pochodzeń nizinnych i górskich, w przeciwieństwie do wyników badań Lewandowskiego i Burczyka (2002), wykazano istotne różnice. Potwierdza to wyniki Bergmanna i Gregoriusa (1979), postulujących, iż adaptacja do warunków górskich jest skorelowana z zawężeniem puli genowej. Podobną opinię wysuwa Polak-Berecka (2000) wskazując, iż procesy selekcyjne w powiązaniu z adaptacją mogą wpływać na strukturę genetyczną populacji świerka, jednak na obecnym etapie badań nie można wskazać, jaki jest kierunek możliwych zmian.

Nie udokumentowano różnic w strukturze genetycznej proveniencji doświadczenia IPTNS-IUFRO 1964/68 w zależności od lokalizacji drzewostanu, z którego pozyskano nasiona do jego założenia. Na podobne rezultaty wskazują analizy świerków w wieku 25 lat, wyhodowanych z nasion różnych typów kolekcji, charakteryzujących się podobnym współczynnikiem zmienności średniej wysokości populacji cząstkowych, co jak twierdzi Bałut (1991), może być efektem jednakowego zróżnicowania podłoża dziedzicznego wzrostu. Brak różnicy w strukturze genetycznej populacji drzew otrzymanych z różnych typów kolekcji nasion potwierdzają badania Giertycha (2002) i Skróppy (1994), z których wynika, iż selekcja sztuczna nie wpływa na poziom zmienności genetycznej populacji świerków. Poznanie wpływu selekcji na strukturę genetyczną populacji wymaga jednak dalszych badań opartych na możliwie jak największej liczbie osobników.

Zmienność genetyczna, tzn. średnia liczba alleli w locus i heterozygotyczność obserwowana, określona dla trzydziestu populacji cząstkowych świerka pospolitego ($N_a=1,41$, $H_o=0,115$) jest zbliżona do zmienności drzew w całym zasięgu występowania gatunku określonej przez Langercrantz i Rymana (1992) ($N_a=1,58$, $H_o=0,115$), a wyraźnie niższe niż zmienność określona przez Bergmanna i Gregoriusa (1979) ($N_a=2,14-3,14$, $H_o=0,36-0,45$). Z kolei zmienność genetyczna sześciu polskich proveniencji świerka (0146, 0174, 0326, 0447, 0917, 0925) jest mniejsza od zmienności opisanej

dotychczas w literaturze (Lewandowski et al. 1997; Lewandowski, Burczyk 2002) oraz od zmienności drzewostanów rasy istebniańskiej, stanowiących w Polsce standard bazy nasiennej (Polak-Berecka 2001; Polak-Berecka, Perchlicka 2007). Różnice otrzymanych wyników mogą być efektem zastosowania odmiennego materiału oraz różnego zestawu badanych systemów enzymatycznych. Mniejsza zmienność genetyczna może także wynikać z analizy niewielkiej liczby polimorficznych loci, bowiem w przeprowadzonej pracy zbadano osiem systemów enzymatycznych, w których polimorficzność wahała się od 18,18% do 54,55%.

Analiza struktury genetycznej populacji karpackich i alpejskich wskazuje na ich małą zmienność, podczas gdy dotychczas opisana w literaturze heterozygotyczność obserwowana drzewostanów naturalnych z Karpat i Alp wynosi od 0,144 do 0,165 (Giannini et al. 1991; Longauer et al. 2004; Prus-Głowacki et al. 2007; Korshikov et al. 2008). W analizowanej pracy zmienność proveniencji karpackich wyniosła 0,105, a w przypadku alpejskich – 0,110.

Stosunkowo wysoka wartość współczynnika zróżnicowania międzypopulacyjnego (F_{st}) potwierdza wcześniejsze badania przeprowadzone przez Lediga (1986) dla gatunków iglastych, który ustalił, że 90% zmienności przypada na różnice wewnątrz populacji.

Średni współczynnik dystansu genetycznego (D), analizowanych proveniencji świerka pospolitego wynosi 0,012 i jest niższy od wartości otrzymanych dla populacji ze Szwecji (0,084), Białorusi (0,081), Rosji (0,073) oraz Ukrainy (0,077) (Krutovskii, Bergmann 1995), wyższy zaś od współczynnika oszacowanego dla proveniencji z całego zasięgu występowania gatunku (0,007) (Langercrantz, Ryman 1990). Wartość parametru D jest natomiast zgodna z wynikami uzyskanymi dla populacji ze Słowacji (0,016) (Paule et al. 1990) czy Hiszpanii (0,019) (Giannini et al. 1991).

W przeciwieństwie do wyników Modrzyńskiego i Prusa-Głowackiego (1998) nie wykazano odrębności struktury genetycznej populacji świerka północno-wschodniego od pochodzeń z południowego zasięgu występowania gatunku. Na istnienie odmiennych refugiów wskazuje natomiast rozkład częstości alleli w locus *Gdh-A*. Podczas gdy frekwencja najczęstszego allelu dla pochodzeń północno-wschodnich wyniosła 0,87, w przypadku populacji cząstkowych z południowego zasięgu występowania gatunku parametr osiągnął wartość 0,98. Na podobne rezultaty wskazują prace Gömöry'ego (1992), Lewandowskiego i Burczyka (2002) oraz Krutovskii'ego i Bergmanna (1995), z których wynika, iż ten locus charakteryzuje się wysokim polimorfizmem w północno-wschodniej części Europy.

Wyniki prezentowane w pracy potwierdzają zakres zróżnicowania świerka pospolitego pod względem

wzrostu, który był jednym z elementów wyróżnienia przez Giertycha (1977) trzynastu regionów występowania gatunku.

Do grupy proveniencji o najwyższej wysokości oraz pierśnicy zaliczono wszystkie analizowane populacje z terenu Polski. Proveniencje 0174 – Wisła 54A, oraz 0326 – Knyszyn, zarówno w wieku 10, jak i 45 lat, charakteryzowały się wysokimi parametrami wzrostu na wszystkich powierzchniach doświadczenia IPTNS-IUFRO 1964/68, z wyjątkiem północnoskandynawskich (podobnie jak Istebna). Proveniencje 0146 – Puszcza Białowiecka, 0447 – Borki Knieja oraz 0917 – Mikaszówka, które w wieku do 10 lat charakteryzowały się niską wysokością, wykazywały tendencję do poprawy dynamiki wzrostowej i w wieku 45 lat należały do grupy najwyższych populacji w warunkach powierzchni doświadczałnej IPTNS-IUFRO 1964/68 w Krynicy (Giertych 1978).

Wykazano ujemną korelację pomiędzy wysokością nad poziomem morza drzewostanów macierzystych a cechami wzrostowymi analizowanych drzew potomnych, co jest zgodne z pracami Oleksyna (1998), Giertycha (1977) i Kocięckiego (1977). Podobne rezultaty uzyskuje się również w komorach wegetacyjnych. Holzer i wsp. (1963), po 16 tygodniach prowadzenia doświadczenia w warunkach fotoperiodu 16/8, odnotowali 5–10% przyrost wysokości części nadziemnej w przypadku świerków pochodzących z wysokich połozień, oraz 20% przyrost w przypadku populacji nizinnych. Przyrost masy wynosił odpowiednio 40–55% oraz 70–75%. Z kolei Bałut (1991) wykazał, iż w wieku 25 lat najwyższą wysokość osiągają świerki, których drzewostany macierzyste rosną w strefie wysokościowej 600–900 m n.p.m., czyli zbliżonej do miejsca lokalizacji powierzchni badawczej w Krynicy. Pochodzenia leżące zarówno niżej, jak i wyżej tej strefy wraz z wiekiem obniżały swoje tempo wzrostu.

Odmienność uzyskanych wyników może być efektem niewielkiego stopnia reprezentatywności materiału wykorzystywanego do analiz, zwłaszcza gdy dotyczy to charakterystyki gatunku w całym jego zasięgu występowania.

Nie stwierdzono istotnej statystycznie korelacji cech wzrostowych z heterozygotycznością grup jednorodnych wyodrębnionych na podstawie analizy wpływu pochodzenia na wysokość i pierśnicę. W dotychczasowych badaniach zależność cech wzrostowych od polimorfizmu genetycznego wykazano jedynie dla *Casuarina cunninghamiana*, natomiast nie znaleziono związku wymienionych cech w przypadku m.in. *Pinus ponderosa* i *Pinus contorta* (Bush, Smouse 1992). Można przypuszczać, iż obserwowane różnice we wzroście są związane z różnym stopniem heterozygotyczności populacji drzew, określonej m.in. na podstawie analizy izoenzymów. Jednak, jak podaje Polak-Berecka (2006),

taka korelacja dotyczy jedynie tych loci, które kodują enzymy biorące udział w ważnych dla organizmu przemianach metabolicznych. Wzrost roślin jest bowiem zjawiskiem kompleksowym, za który odpowiada szereg procesów metabolicznych, m.in. biosynteza kwasów nukleinowych, białek strukturalnych i enzymatycznych, regulacja poziomu regulatorów wzrostu, właściwości membran, synteza polisacharydów, fenoli czy procesy energetyczne i osmotyczne (Kopcewicz et al. 1992). Dotychczas nie odkryto markerów związanych z przekazywaniem cech świerka ważnych pod względem gospodarczym, w tym wzrostowych. Potrzebne są dalsze badania z tego zakresu, których efekty mogą być istotne dla hodowli selekcyjnej świerka pospolitego. Według Sabora (1992) świadoma selekcja powinna uwzględniać zarówno zwiększenie produkcji masy drzewnej oraz odporności na niekorzystne warunki środowiskowe, jak i zachowanie istniejącej zmienności genetycznej. Łączenie doświadczeń proveniencyjnych z analizą markerów molekularnych i biochemicznych daje szansę prowadzenia świadomej selekcji oraz hodowli populacji najbardziej wartościowych, plastycznych, posiadających korzystne wartości genetyczno-hodowlane oraz warunkujących stabilność i trwałość przyszłych drzewostanów.

Podziękowania

Autorzy składają serdeczne podziękowania panu mgr inż. Maciejowi Kobakowi za zbiór materiału do analiz izoenzymowych oraz pomoc w pomiarach terenowych.

Literatura

- Bałut S. 1991. Ocena bazy nasiennej głównych gatunków drzew leśnych w lasach Karpat i Sudetów na tle selektywnego doboru najlepszych pochodzeń. w: Zagospodarowanie lasów górskich. Synteza wyników badań naukowych przeprowadzonych w latach 1986–1990 w programie CPBR 10.20. Kraków. Wydawnictwo Akademii Rolniczej: 100-107.
- Bałut S., Sabor J. 2001. Inventory provenance test of Norway Spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] IPTNS-IUFRO 1964/68 in Krynica. Part I. Description of the experimental area. Test material. Kraków. Wydawnictwo Akademii Rolniczej. ISBN 8386524596.
- Bałut S., Sabor J. 2002. Inventory provenance test of Norway Spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] IPTNS-IUFRO 1964/68 in Krynica. Part II. Test results of 1968–1984. Geographical variability of traits in the whole range of the species. Kraków. Wydawnictwo Akademii Rolniczej. ISBN 838652460.

- Bergmann F., Gregorius H.R. 1979. Comparison of the genetic diversities of various populations of Norway spruce (*Picea abies*). *Proceedings of the Conference on Biochemical Genetics of Forest Trees* (red. F. Rudin) Umeå: 99–107.
- Bush R.M., Smouse P.E. 1992. Evidence for adaptive significance of allozymes in forest trees. w: *Population Genetics of Forest Trees* (red. W. T. Adams, S. H. Strauss, D. L. Copes, A. R. Griffin). Kluwer Academic Publisher. Dordrecht: 179–192. ISBN 0792318579.
- Conkle M. T., Paul D. H., Nunnely L. B., Hunter S. C. 1982. Starch Gel Electrophoresis of Conifer Seeds: a laboratory manual. Technical Paper PSW-64. Pacific Southwest Forest and Range Experiment Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture: Berkeley, California.
- Giannini R., Morgante M., Vendramin G. G. 1991. Allozyme variation in Italian populations of *Picea abies* (L.) Karst. *Silvae Genetica*, 40: 160–166.
- Giertych M. 1977. Genetyka. w: Świerk pospolity. *Picea abies* (L.) Karst. Nasze Drzewa Leśne. Warszawa – Poznań, PWN: 232–261.
- Giertych M. 1978. Plastyczność polskich ras świerka [*Picea abies* (L.) Karst.] w świetle międzynarodowego doświadczenia IUFRO z lat 1964–68. *Arboretum Kórnickie*, 23: 185–206.
- Giertych M. 2002. Troska o bioróżnorodność. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej im. H. Kołłątaja w Krakowie*, 394: 289–301.
- Gömöry D. 1992. Effect of stand origin on the genetic diversity of Norway spruce (*Picea abies* Karst.) populations. *Forest Ecology and Management*, 54: 215–223.
- Heinze B., Westcott R., Schmidt J., Glössl J. 1996. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to detect genetic variation in Norway spruce. *New Forests*, 11 (2): 173–184.
- Holzer K. 1963. Physiological investigations on *Picea abies* (L.) Karst. in view of genetics. *Proceedings of the World Consultation on Forest Genetics and Tree Improvement*, 2: 5/3.
- Kocięcki S. 1977. Zmienność. w: Świerk pospolity. *Picea abies* (L.) Karst. Nasze Drzewa Leśne. Warszawa – Poznań, PWN: 37–62.
- Könnert M., Maurer W., 1995. Isozymic Investigations on Norway Spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] and European Silver Fir (*Abies alba* Mill.). A Practical Guide to Separation Methods and Zymogram Evaluation. [From the German Federal–State working Group “Conservation of Forest Gene Resources”]. Bayerische Landesanstalt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht Teisendorf.
- Kopcewicz J., Tretyn A., Cymerski M. 1992. Fitochrom i morfogeneza roślin. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Korshikov I. I., Privalikhin S. N., Makogon I. V., Lisnichuk A. N. 2008. Features of the Population and Genetic Structure of Norway Spruce [*Picea abies* (L.) Karst] from the Ukrainian Carpathian Mountains and Polesie. *Cytology and Genetics*, 42 (6): 378–383.
- Krutovskii K.V., Bergmann F. 1995. Introgressive hybridization and phylogenetic relationship between Norway, *Picea abies* (L.) Karst., and Siberian, *P. obovata* Ledeb., spruce species studied by isozyme loci. *Heredity*, 74 (5): 464–480.
- Liesebach M. 1994. Untersuchungen an ausgewählten Herkünften des internationalen Fichtenprovenienzversuchs 1964/68 über den Zusammenhang zwischen Isoenzym-Merkmalen und morphologischen, phänologischen sowie Wachstums-Merkmalen. Diss., Universität Hamburg, ss. 210.
- Langercrantz 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. Heterosigosity, heterosis and fitness in outbreeding plants. w: *Conservation biology: the science of scarcity and diversity* (red. M. E. Saule). Sinauer Associates, Sunderland MA: 77–104.
- Lewandowski A., Burczyk J., Chałupka W. 1997. Preliminary results on allozyme diversity and differentiation on Norway Spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] in Poland based on plus tree investigations. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 66 (2) 197–200.
- Lewandowski A., Burczyk J. 2002. Allozyme variation of *Picea abies* in Poland. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 17: 487–494.
- Longauer R., Gömöry D., Paule L., Blada I., Popescu F., Manokowska B. et al. 2004. Genetic effects of air pollution on forest tree species of the Carpathian Mountains. *Environmental Pollution*, 130: 85–92.
- Markussen T., Tusch A., Stephan B. R., Fladung M. 2004. Identification of Molecular Markers for Selected Wood Properties of Norway Spruce *Picea abies* L. (Karst.) I. Wood Density. *Silvae Genetica*, 53: 45–50.
- 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 Societatis Botanicorum Poloniae*, 67: 75–82.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106: 283–292.
- Nei M., Roychoudry A. K. 1974. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*, 76: 379–390.
- Oleksyn J. 1998. Wymiana gazowa i gospodarka wodna. w: *Biologia świerka pospolitego [Picea abies (L.) Karst.]*. Poznań, Bogucki Wydawnictwo Naukowe: 105–126.
- Paule L., Szmida A. E., Yazdani R. 1990. Isozyme polymorphism of Norway spruce (*Picea abies* Karst.) in Slovakia. I. Genetic structure of adjacent populations. *Acta Facultatis Zvolen*, 32: 57–70.
- Polak-Berecka M. 2000. Rola zmienności genetycznej drzewostanów w programie zachowania leśnych zasobów genowych. *Sylvan*, 1: 53–58.
- Polak-Berecka M. 2001. Określenie struktury genetycznej wybranych populacji świerka pospolitego z terenu Karpat metodą markerów izoenzymowych. Katedra Nasiennictwa, Szkółkarstwa i Selekcji Drzew Leśnych. Rozprawa doktorska (maszynopis).
- Polak-Berecka M. 2006. Określanie poziomu zmienności genetycznej w populacji drzew metodą markerów izoenzymowych. w: *Elementy genetyki i hodowli selekcyjnej drzew leśnych* (red. J. Sabor) Warszawa. 63–74; ISBN 8388478214.
- Polak-Berecka M., Perchlicka I. 2007. Polimorfizm izoenzymowy i zmienność genetyczna wybranych pochodzeń

- cząstkowych świerka rasy istebniańskiej. *Sylwan*, 10: 47–53.
- Raymond M., Rousset F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86: 248–249.
- Prus-Głowacki W., Goździk S. 1995. Genetic structure of *Picea abies* trees tolerant and sensitive to industrial pollution. *Silvae Genetica*, 44(2/3): 62–65.
- Prus-Głowacki W., Bielewicz A., Modrzyński A. 2007. Struktura genetyczna populacji świerka (*Picea abies*) z dolnego i górnego regla Karpat i Sudetów. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej im. H. Kollątaja w Krakowie*, 439: 43–55.
- Sabor J. 1977. Pędzenie wiosenne świerka pospolitego [*Picea abies* (L.) Karst.] proweniencji objętych doświadczeniem IPTNS-IUFRO 1964/68 na powierzchni doświadczalnej LZD Krynica w cyklu przyrostowym 1975 roku. Katedra Nasiennictwa, Szkółkarstwa i Selekcji Drzew Leśnych. Rozprawa doktorska (maszynopis).
- Sabor J. 1992. Cel, zadania i praktyka realizacji selekcji drzew leśnych w górskich terenach Polski. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej im. H. Kollątaja w Krakowie*, 36: 85–94.
- Skroppa T. 1994. Impact of tree improvement on genetic structure and diversity of planted forests. *Silva Fennica*, 28 (4): 265–274.
- Sneath P. H. A., Sokal R. R. 1973. Numerical Taxonomy: the principles and practice of numerical classification. San Francisco, W.H. Freeman & Co, ss. 588; ISBN 9780716706977.
- Skroppa T. 2003. EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for Norway spruce (*Picea abies*). Rome, Italy, International Plant Genetic Resources Institute.
- Sułkowska M. 1995. Ocena zmienności genetycznej drzew leśnych na podstawie analiz izoenzymatycznych. *Sylwan*, 6: 23–29.
- Tomanek J. 1980. Botanika leśna. Warszawa, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne.
- Wright S. 1987. Evolution and the Genetics of Populations. Vol. 4. Variability within and among natural populations. Chicago, The University of Chicago Press.
- Winter P.C., Hickey G.I., Fletcher H.L. 2004. Genetyka. Krótkie wykłady. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN: 141-301; ISBN: 8301142596.
- Yeh F. C., Yang R., Boyle T. 1999. Popgene version 1,31. Microsoft Window – based for population genetic analysis.