Nauka Przyroda Technologie

2013
Tom 7
Zeszyt 3
#30

ISSN 1897-7820 http://www.npt.up-poznan.net

Dział: Leśnictwo
Copyright ©Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

LESZEK BEDNORZ[1], ŁUKASZ MYCZKO[2], ILONA WYSAKOWSKA[1]

[1]Katedra Botaniki
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
[2]Instytut Zoologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

ZRÓŻNICOWANIE GENETYCZNE POPULACJI JARZĘBU BREKINII (*SORBUS TORMINALIS* (L.) CRANTZ) W NADLEŚNICTWIE KRZYŻ

GENETIC DIVERSITY OF WILD SERVICE TREE (*SORBUS TORMINALIS* (L.) CRANTZ) POPULATION FROM THE FOREST DISTRICT KRZYŻ

Streszczenie. W pracy przedstawiono wyniki badań nad zróżnicowaniem genetycznym populacji jarzębu brekinii w Nadleśnictwie Krzyż w kontekście jej wykorzystania w programie ochrony i restytucji tego gatunku realizowanym przez Regionalną Dyrekcję Lasów Państwowych w Pile w latach 2010-2013. Dwadzieścia drzew brekinii rosnących na terenie Leśnictwa Dębina poddano badaniom elektroforetycznym, analizując zmienność sześciu loci enzymatycznych; pięć loci (MDH-B, ME-A, 6PGD-B, ADH-B, PGM-A) okazało się polimorficznych, a tylko jeden locus (PGM-B) był monomorficzny. Poziom zróżnicowania i struktura genetyczna analizowanej populacji jarzębu brekinii uzasadnia celowość włączenia jej do programu *ex situ* jako źródła materiału rozmnożeniowego.

Słowa kluczowe: drzewa, *Sorbus torminalis*, zmienność genetyczna, zasoby genowe, ochrona *ex situ*

Wstęp

Jarząb brekinia (*Sorbus torminalis* (L.) Crantz) jest jednym z najrzadszych przedstawicieli rodzimej dendroflory, podlegającym w Polsce ścisłej ochronie gatunkowej od 1946 roku. Brekinia jest typowym gatunkiem leśnym, występującym jako domieszka w lasach liściastych i mieszanych zachodniej i południowej Polski (BEDNORZ 2010). Od lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku leśnicy włączyli się aktywniej w działania

związane z ochroną tego gatunku w Polsce, chociaż początkowo miały one charakter lokalny. Badania naukowe nad jarzębem brekinią w naszym kraju prowadzone w ostatniej dekadzie, w tym badania zróżnicowania i struktury genetycznej rodzimych populacji (BEDNORZ i IN. 2006), pozwoliły na opracowanie wytycznych programu ochrony zasobów genowych tego gatunku w Polsce (BEDNORZ 2007, 2009). W Regionalnej Dyrekcji Lasów Państwowych w Pile opracowano program ochrony i restytucji jarzębu brekinii na lata 2010-2013, który obejmuje działania z zakresu ochrony *in situ* i *ex situ* (ZWIERZYŃSKI i BEDNORZ 2012). Działania *ex situ* zakładają wprowadzanie na nowe stanowiska – na terenie 19 nadleśnictw – sadzonek brekinii wyprodukowanych z nasion pochodzących z nadleśnictw: Kaczory i Krucz. Na terenie tych nadleśnictw występują bardzo liczne populacje brekinii, o znacznym polimorfizmie genetycznym (BEDNORZ i IN. 2006, BEDNORZ 2010). Do programu *ex situ* postanowiono włączyć w 2011 roku również Nadleśnictwo Krzyż, na którego terenie ma być wprowadzana brekinia pochodząca z lokalnej populacji. Populacja jarzębu brekinii występująca na terenie Leśnictwa Dębina w Nadleśnictwie Krzyż jest niewielka i liczy około 20 drzew, z których większość kwitnie i owocuje.

Celem niniejszej pracy było określenie zróżnicowania i struktury genetycznej lokalnej populacji jarzębu brekinii pod kątem zasadności włączenia jej do programu *ex situ* jako źródła materiału rozmnożeniowego.

Materiał i metody

Materiał roślinny do badań genetycznych pobrano z 20 drzew rosnących na terenie Leśnictwa Dębina w Nadleśnictwie Krzyż. Z każdego drzewa pozyskano trzy pąki spoczynkowe. Pąki homogenizowano w buforze tris-HCl o pH 7,5 (WENDEL i WEEDEN 1989). Ekstrakty przechowywano w temperaturze –80°C do czasu analiz. Enzymy rozdzielano na 12-procentowym żelu skrobiowym z zastosowaniem dwóch roztworów buforowych: buforu elektrodowego tris-kwas cytrynowy o pH 7,0 i buforu żelowego tris-histydyna o pH 7,0 (ASHTON i BRADEN 1961, CONKLE i IN. 1982, WENDEL i WEEDEN 1989). Przeanalizowano zmienność pięciu następujących systemów enzymatycznych: MDH, E.C. 1.1.1.37 (dehydrogenaza jabłczanowa, jeden locus: MDH-B), ME, E.C. 1.1.1.40 (enzym jabłczanowy, jeden locus: ME-A), 6PGD, E.C. 1.1.1.44 (dehydrogenaza 6-fosfoglukonowa, jeden locus: 6PGD-B), ADH, E.C. 1.1.1.1 (dehydrogenaza alkoholowa, jeden locus: ADH-B), PGM, E.C. 5.4.2.2 (fosfoglukomutaza, dwa loci: PGM-A, PGM-B). Allele numerowano od najszybszego do najwolniejszego. Zastosowano standardowo używany skład mieszanin barwiących z drobnymi modyfikacjami (ROTHE 1994).

Poziom zmienności genetycznej i zróżnicowania genetycznego określono z użyciem programu komputerowego POPGENE 1.32 (YEH i IN. 1999). Obliczono następujące parametry genetyczne: P – procent polimorficznych loci na poziomie 99%, N_a – liczba alleli na locus, N_e – efektywna liczba alleli na locus, H_o – heterozygotyczność obserwowana, H_e – heterozygotyczność oczekiwana. Obliczono również współczynnik wsobności F_{IS} (deficyt heterozygot) (WRIGHT 1965) oraz zastosowano test chi-kwadrat dla zbadania istotnych odchyleń od równowagi Hardy-Weinberga.

Wyniki

Z sześciu analizowanych loci izoenzymatycznych pięć (MDH-B, ME-A, 6PGD-B, ADH-B, PGM-A) okazało się polimorficznych (tab. 1, 2), a tylko jeden locus (PGM-B) był monomorficzny. Liczba alleli na locus dla polimorficznych loci wynosiła od 2 do 4, średnio 2,6 (tab. 3). Największą liczbę alleli odnotowano dla ME-A. Ten locus charakteryzował się też największą efektywną liczbą alleli – 2,540. Średnia heterozygotyczność obserwowana i oczekiwana wynosiły odpowiednio: 0,360 i 0,401. Wartość współczynnika F_{IS} wynosiła od –0,212 (MDH-B) do 0,375 (PGM-A) i była dodatnia dla trzech, a ujemna dla dwóch loci. Test chi-kwadrat nie wykazał ($p > 0,01$) istotnych odchyleń od równowagi Hardy-Weinberga dla żadnego z analizowanych loci.

Tabela 1. Częstość alleli w badanej populacji
Table 1. Allele frequencies in the studied population

Allel Allele	Locus				
	MDH-B	ME-A	6PGD-B	ADH-B	PGM-A
1	0,45	0,42	0,03	0,30	0,20
2	0,55	0,03	0,97	0,05	0,80
3	–	0,10	–	0,65	–
4	–	0,45	–	–	–

Tabela 2. Częstość genotypów w badanej populacji
Table 2. Genotype frequencies in the studied population

Genotyp Genotype	Locus				
	MDH-B	ME-A	6PGD-B	ADH-B	PGM-A
11	0,15	0,15	0,00	0,15	0,10
12	0,60	0,05	0,05	0,05	0,20
13	–	0,05	–	0,35	–
14	–	0,45	–	–	–
22	0,35	0,00	0,95	0,00	0,70
23	–	0,00	–	0,05	–
24	–	0,00	–	–	–
33	–	0,05	–	0,50	–
34	–	0,05	–	–	–
44	–	0,20	–	–	–

Tabela 3. Wskaźniki zróżnicowania genetycznego na locus w badanej populacji
Table 3. Genetic diversity estimates per locus in the studied population

Locus	N_a	N_e	H_o	H_e	F_{IS}
MDH-B	2	1,980	0,600	0,508	–0,212
ME-A	4	2,540	0,600	0,622	0,010
6PGD-B	2	1,051	0,050	0,050	–0,026
ADH-B	3	1,942	0,350	0,497	0,278
PGM-A	2	1,471	0,200	0,328	0,375
Średnia – Mean	2,6	1,797	0,360	0,401	–
SD	0,894	0,563	0,243	0,223	–

N_a – liczba alleli na locus, N_e – efektywna liczba alleli, H_o – heterozygotyczność obserwowana, H_e – heterozygotyczność oczekiwana, F_{IS} – niedobór heterozygot.

N_a – number of alleles per locus, N_e – effective number of alleles, H_o – observed heterozygosity, H_e – expected heterozygosity, F_{IS} – heterozygote deficit.

Dyskusja

Wartości obliczonych parametrów genetycznych wskazały, że różnorodność genetyczna populacji brekinii występującej na terenie Nadleśnictwa Krzyż jest dość znaczna pomimo jej niewielkiej liczebności. Jednocześnie porównanie wartości parametrów genetycznych (N_e i H_e) analizowanych loci populacji z Krzyża z badanymi wcześniej wartościami parametrów dwudziestu populacji brekinii z terenu Polski wskazuje, że są one mniejsze w przypadku badanej populacji niż uśrednione wartości dla pozostałych polskich populacji tego gatunku (BEDNORZ i IN. 2006). Analizując strukturę genetyczną badanej populacji, należy zwrócić uwagę na monomorfizm loci PGM-B (brak allela 1) oraz występowanie allela ME 4, dość rzadkiego w polskich populacjach (BEDNORZ i IN. 2006). Pod względem podobieństwa genetycznego populacja z Krzyża wyraźnie nawiązuje do populacji z Pomorza, a w szczególności do populacji z rezerwatu Brzęki im. Z. Czubińskiego w Borach Tucholskich oraz populacji z Puszczy Bukowej pod Szczecinem. Przytoczone powyżej argumenty wskazują na przydatność populacji *S. torminalis* z Nadleśnictwa Krzyż do jej włączenia do realizowanego przez Regionalną Dyrekcję Lasów Państwowych w Pile programu ochrony *ex situ* i restytucji jarzębu brekinii na lata 2010-2013 (ZWIERZYŃSKI i BEDNORZ 2012).

Literatura

ASHTON G.C., BRADEN A.W.H., 1961. Serum β-globulin polymorphism in mice. Aust. J. Biol. Sci. 14: 248-254.

BEDNORZ L., 2007. Conservation of genetic resources of *Sorbus torminalis* in Poland. Dendrobiology 58: 3-7.

BEDNORZ L., 2009. Jak chronić jarząb brekinię (*Sorbus torminalis*) w polskich lasach? Sylwan 153, 5: 354-360.

BEDNORZ L., 2010. Jarząb brekinia *Sorbus torminalis* (L.) Crantz w Polsce. Bogucki Wyd. Nauk., Poznań.

BEDNORZ L., MYCZKO Ł., KOSIŃSKI P., 2006. Genetic variability and structure of the wild service tree (*Sorbus torminalis* (L.) Crantz) in Poland. Silvae Genetica 55, 4-5: 197-202.

CONKLE M.T., HODGSKISS P.D., NUNNA L.B., HUNTER S.C., 1982. Starch gel electrophoresis of conifer seeds: a laboratory manual. U.S. Dep. Agric. For. Serv. Pac. Southwest For. Range Exp. Stn. Gen. Tech. Rep. PSW-64.

ROTHE G.M., 1994. Electrophoresis of enzymes. Springer, Berlin.

WENDEL J.F., WEEDEN N.F., 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. W: Isozymes in plant biology. Red. D.E. Soltis, P.S. Soltis. Dioscorides Press, Oregon: 5-45.

WRIGHT S., 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. Evolution 19: 395-420.

YEH F.C., YANG R.C., BOYLE T., 1999. POPGENE version 1.31 Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta, Edmonton.

ZWIERZYŃSKI J., BEDNORZ L., 2012. Regional Programme of Conservation and Restitution of *Sorbus torminalis* in the territory of The Regional Directorate of the State Forests in Piła in 2010-2013. Nauka Przyr. Technol. 6, 3, #42.

GENETIC DIVERSITY OF WILD SERVICE TREE (*SORBUS TORMINALIS* (L.) CRANTZ) POPULATION FROM THE FOREST DISTRICT KRZYŻ

Summary. The paper presents the results of the study on genetic diversity of wild service tree population from the Forest District Krzyż, in a context of its use in the programme of conservation and restitution of *Sorbus torminalis* in the territory of the Regional Directorate of the State Forests in Piła in 2010-2013. Twenty *S. torminalis* trees growing in the Forestry Dębina were sampled (dormant buds) and investigated by utilizing isozyme markers; five loci (MDH-B, ME-A, 6PGD-B, ADH-B, PGM-A) proved to be polymorphic and only one (PGM-B) was monomorphic. The level of diversity and the genetic structure of the investigated population of *S. torminalis* justified an appropriateness of its including into the programme *ex situ* as the source of reproduction material.

Key words: trees, *Sorbus torminalis*, genetic diversity, gene resources, conservation *ex situ*

Adres do korespondencji – Corresponding address:
Leszek Bednorz, Katedra Botaniki, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 71 C, 60-625 Poznań, Poland, e-mail: lbednorz@up.poznan.pl

Zaakceptowano do opublikowania – Accepted for publication:
13.05.2013

Do cytowania – For citation:
*Bednorz L., Myczko Ł., Wysakowska I., 2013. Zróżnicowanie genetyczne populacji jarzębu brekinii (*Sorbus torminalis *(L.) Crantz) w Nadleśnictwie Krzyż. Nauka Przyr. Technol. 7, 3, #30.*