Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Wydział Leśny

Rozprawa doktorska

Zmienność genetyczna Jarzębu brekinii (*Sorbus torminalis* [L.] Crantz) w Polsce jako podstawa ochrony zasobów genowych gatunku

(Streszczenie)

Czesław Kozioł

Poznań 2020

Wstęp

Zmienność genetyczna, jako komponent różnorodności biologicznej, odgrywa zasadniczą rolę dla przetrwania gatunków i populacji w zmieniającym się środowisku (Chomicz, 2013). Zachowanie wysokiej zmienności genetycznej na poziomie populacji oraz całego gatunku ma kluczowe znaczenie w kontekście obserwowanych zmian klimatu i fragmentacji siedlisk, spowodowanych głównie działalnością człowieka (Bacles i Jump, 2011; Young i in., 1996). Na zmienność genetyczną wpływ ma wiele czynników biotycznych i abiotycznych, a ich rozpoznanie ma duże znaczenie przy opracowywaniu strategii ochrony, szczególnie gatunków rzadkich i chronionych. Poziom zmienności genetycznej oraz jej rozkład, zarówno w układzie wewnątrz-, jak i międzypopulacyjnym, ma związek z przebiegiem procesów reprodukcyjnych, w tym z charakterystycznym dla gatunku systemem kojarzenia i przepływem genów oraz historią rozwoju zasięgu gatunku.

Gatunki drzewiaste, w szczególności te, które uważane są za gatunki lasotwórcze, charakteryzują się wysoką zmiennością genetyczną wewnątrz populacji i niewielkim zróżnicowaniem między populacjami, w większym stopniu niż inne gatunki roślin. Związane jest to głównie z ich dużą, efektywną wielkością populacji, długowiecznością, krzyżowym zapłodnieniem i wiatropylnością, które pozwalają na efektywny przepływ genów wewnątrz i między populacjami (Hamrick i in., 1992; Petit i Hampe, 2006). Jak wykazują badania proweniencyjne, wysoki poziom zmienności genetycznej gatunków drzew leśnych prowadzi niejednokrotnie do tworzenia się populacji zaadaptowanych do lokalnych warunków środowiskowych, co znajduje odzwierciedlenie w specyficznym rozkładzie zmienności cech ilościowych różnych proweniencji. Procesy lokalnej adaptacji gatunków drzewiastych, z uwagi na długowieczność ich pokoleń oraz istotny wpływ drzew na trwałość ekosystemów leśnych, były częstym przedmiotem badań (Alberto i in., 2013).

Charakterystyka gatunku

Jarząb brekinia (*Sorbus torminalis* [L.] Crantz), zwany także brekinią lub brzękiem, jest jednym z najrzadszych gatunków drzewiastych polskich lasów. Nigdy nie tworzy litych drzewostanów i pełni funkcję cennej domieszki biocenotycznej, wzbogacającej głównie drzewostany rosnące na siedliskach grądowych (Bednorz, 2007, 2010a). Jarząb brekinia osiąga w Polsce swoją północno–wschodnią granicę naturalnego zasięgu występowania i spotykany jest na niezbyt licznych, rozproszonych i pofragmentowanych stanowiskach na Pomorzu, na terenie Wielkopolski, Dolnego i Górnego Śląska oraz w Beskidzie Wyspowym (Bednorz, 2004, 2010a; Browicz i Gostyńska

–Jakuszewska, 1966). Gatunek objęty jest ochroną prawną od roku 1946 i od tej pory wiele jego populacji zostało objętych ochroną rezerwatową, a niektóre znalazły się w granicach parków narodowych (Bednorz, 2004, 2010a; Szeszycki, 2008).

Zróżnicowanie genetyczne *Sorbus torminalis*

Zmienność genetyczna *S. torminalis* została stosunkowo dobrze poznana w skali lokalnej. Badania takie przeprowadzono we Francji, Niemczech, Szwajcarii, Włoszech, Danii (Belletti i in., 2008; Demesure i in., 2000; Hoebee i in., 2006; Oddou – Muratorio i in., 2001; Rasmussen i Kollmann, 2007 i 2008; Riederer i in., 2013). Badania zmienności genetycznej brzęka w Polsce nabierają nowego znaczenia w kontekście istnienia izolacji przestrzennej egzystujących naturalnych populacji, stałego zmniejszania się liczby stanowisk i liczby osobników w populacjach (Bednorz, 2010a, 2010b), a także obserwowanych zmian klimatu. Pomimo wzrostu zainteresowania w ostatnich latach brzękiem w kontekście badań genetycznych i czynnej ochrony gatunku, dotychczasowe badania zmienności genetycznej brekinii w Polsce prowadzone były w oparciu o markery izoenzymowe, niewielką liczbę markerów mikrosatelitarnych lub ograniczoną liczbę populacji (Bednorz i Krzakowa, 2002; Bednorz i in. 2006; Jankowska – Wróblewska i in., 2016a, 2016b; Sułkowska i Wojda, 2015). Niniejsza praca stanowi próbę uzupełnienia wiedzy na temat zmienności genetycznej brekinii na terenie Polski. Głównym celem niniejszej pracy było zbadanie struktury genetycznej oraz zróżnicowania genetycznego między populacjami, a także określenie czynników kształtujących obserwowaną zmienność genetyczną populacji brekinii

Materiał badawczy, metody i wyniki badań

Materiał badawczy, wykorzystany w niniejszej pracy, obejmował łącznie 1401 osobników, pochodzących z 24 populacji *S. torminalis,* zlokalizowanych w całej Polsce, reprezentowanych przez co najmniej 14 genetów. Dla wszystkich osobników określono genotypy na podstawie 13 jądrowych loci mikrosatelitarnych (*Ch01h01, Ch02c09, Mss 4, Sa01, Sa07, Sa14, Ms14H03, Mss1, Mss5, Mss6, Mss9, Mss13, Mss16*). W celu amplifikacji wybranych loci mikrosatelitarnych zastosowano opracowane wcześniej reakcje multipleks –PCR (Jankowska – Wróblewska i in., 2016a).

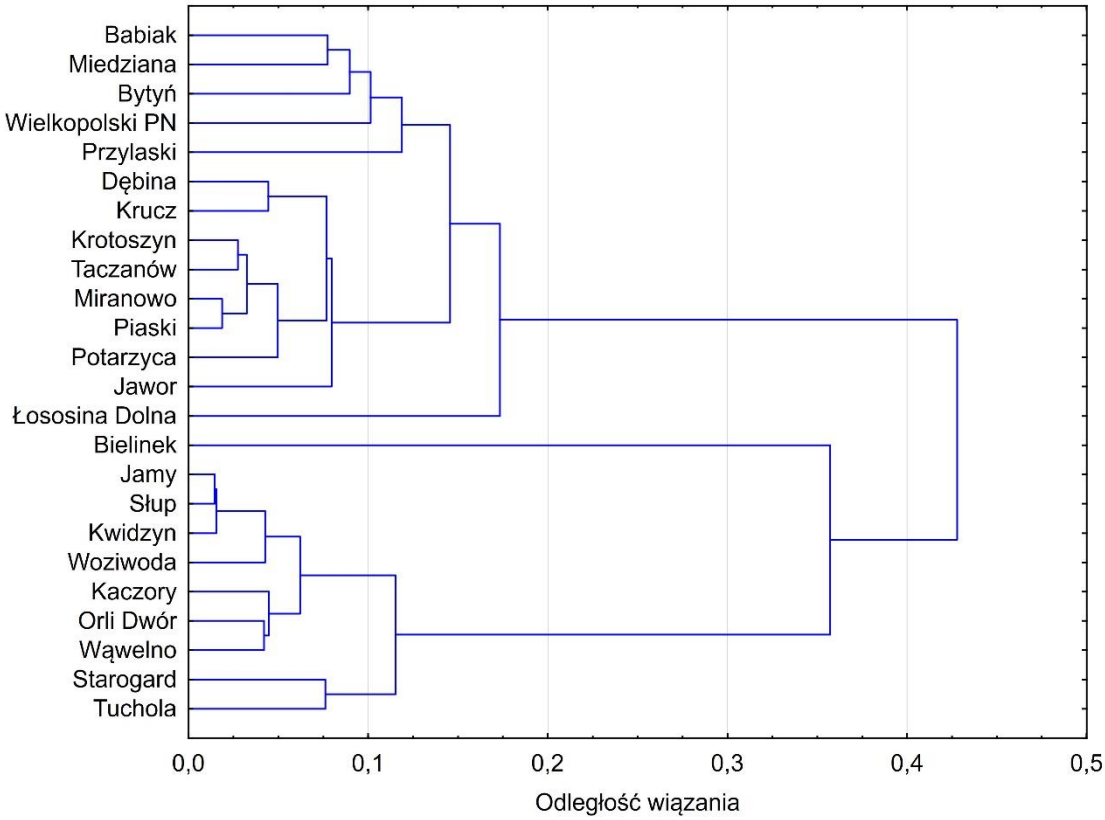
Ogólne wzorce zmienności genetycznej brekinii, określone w oparciu o jądrowe loci mikrosatelitarne, są typowe dla długowiecznych, rozmnażających się krzyżowo i zapylanych przez owady gatunków drzew. Wykazano wysoki polimorfizm badanych loci mikrosatelitarnych.

Bogactwo alleliczne (*AR*) w dużym stopniu odzwierciedlało poziom polimorfizmu, wyrażony liczbą alleli w locus (przy średniej 6,404 (SE±0,942)). Poziom heterozygotyczności poszczególnych loci był powiązany ze stopniem ich polimorfizmu, wyrażonym liczbą alleli. Średni stopień poliformizmu wszystkich loci, określony za pomocą wskaźnika PIC = 79% (*ang. Polymorphism Information Content),* także potwierdził wysoki poliformizm zastosowanych loci. Łącznie we wszystkich loci zidentyfikowano 250 alleli.

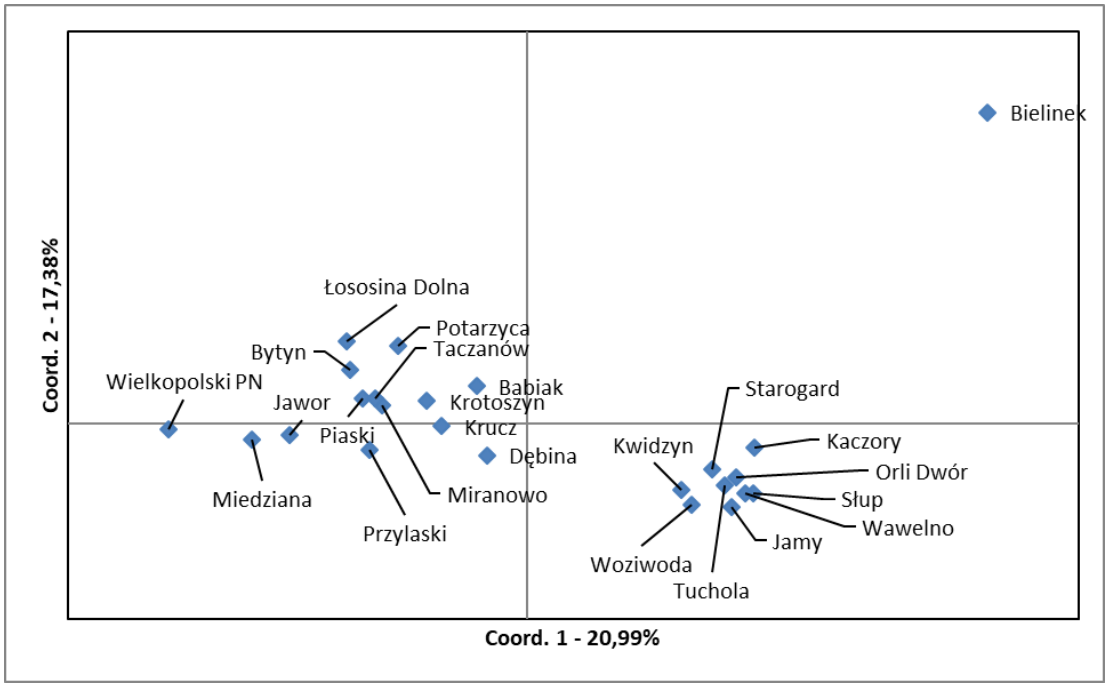
Wykazano wysoki poziom zmienności genetycznej badanych populacji *He* = 0,732; *Ae* = 4,579; *AR* = 5,509. Do grona populacji, wykazujących najwyższe parametry zróżnicowania genetycznego, zaliczyć należy populacje wielkopolskie, tj. Piaski, Krotoszyn, Taczanów, Miranowo oraz Miedziana, Krucz i Jamy. Natomiast najniższe wartości tych parametrów odnotowano dla populacji: Bielinek, Wielkopolski PN oraz Przylaski. Odnotowano niewielki nadmiar heterozygot i brak wsobności u badanego gatunku (*Fis* = –0,033) oraz stosunkowo wysoki poziom zróżnicowania genetycznego między populacjami (F_{ST} = 0,091).

Wysoki poziom zmienności genetycznej większości populacji brekinii w Polsce wydaje się być utrzymywany w wyniku efektywnego przepływu genów między populacjami oraz charakterystycznego *dla S. torminalis* systemu samoniezgodności gametofitowej (Hoebee i in., 2006; Angelone i in., 2007; Jankowska – Wróblewska i in., 2016a).

Kompleksowe analizy struktury genetycznej populacji pozwoliły na dokonanie prób pogrupowania polskich populacji brekinii pod względem ich podobieństwa genetycznego. Wyniki wszystkich analiz pozwalają na wyróżnienie silnej, zwartej przestrzennie grupy populacji pomorskich: Jamy, Kaczory, Orli Dwór, Słup, Starogard, Wąwelno i Woziwoda. Do drugiej grupy zaliczyć należy heterogeniczne populacje północno–wielkopolskie Krucz i Dębina. Do trzeciej grupy przyporządkowano zwartą grupę populacji wielkopolsko–śląskich: Taczanów, Krotoszyn, Piaski, Miranowo, Bytyń, Babiak, Wielkopolski PN, Potarzyca i Jawor. Jednakże w ramach tej grupy populacji należy wyodrębnić populacje, charakteryzujące się wyraźnie odmiennymi wartościami parametrów zmienności genetycznej oraz poziomem zróżnicowania w ramach grupy. Należą do nich populacje Babiak, Bytyń, w mniejszym stopniu Wielkopolski PN, a także Potarzyca. Dla populacji Bytyń, Babiak, Potarzyca, Wielkopolski PN, Przylaski i Miedziana, a także dla skrajnie odmiennych populacji Bielinek i Łososina Dolna należałoby przyjąć odmienny, indywidualny sposób ochrony ich zasobów genowych (Ryc. 1, 2, 3 i 4).

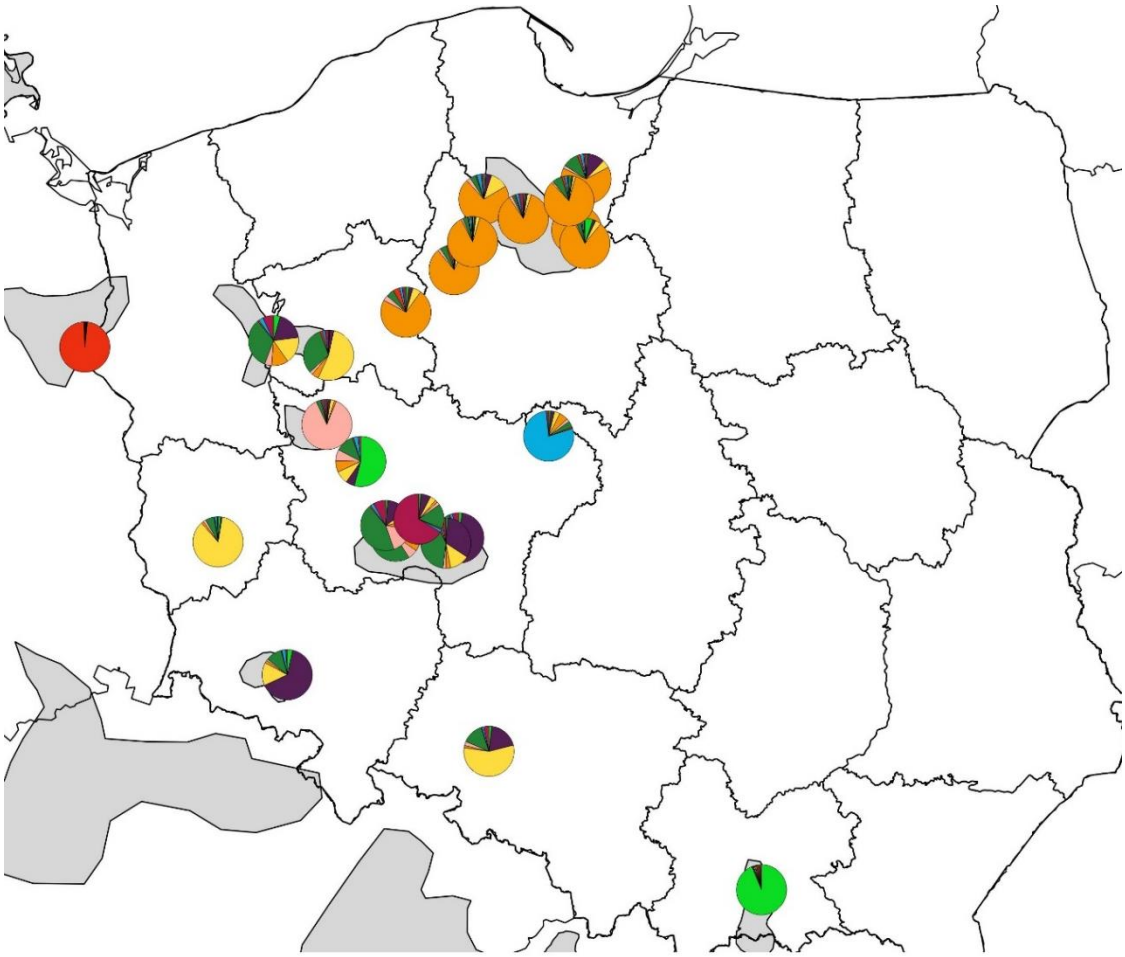


Rycina 1. Wynik aglomeracji populacji w oparciu o macierz odległości współczynników F_{ST} dla par populacji wykonanej za pomocą metody Warda.

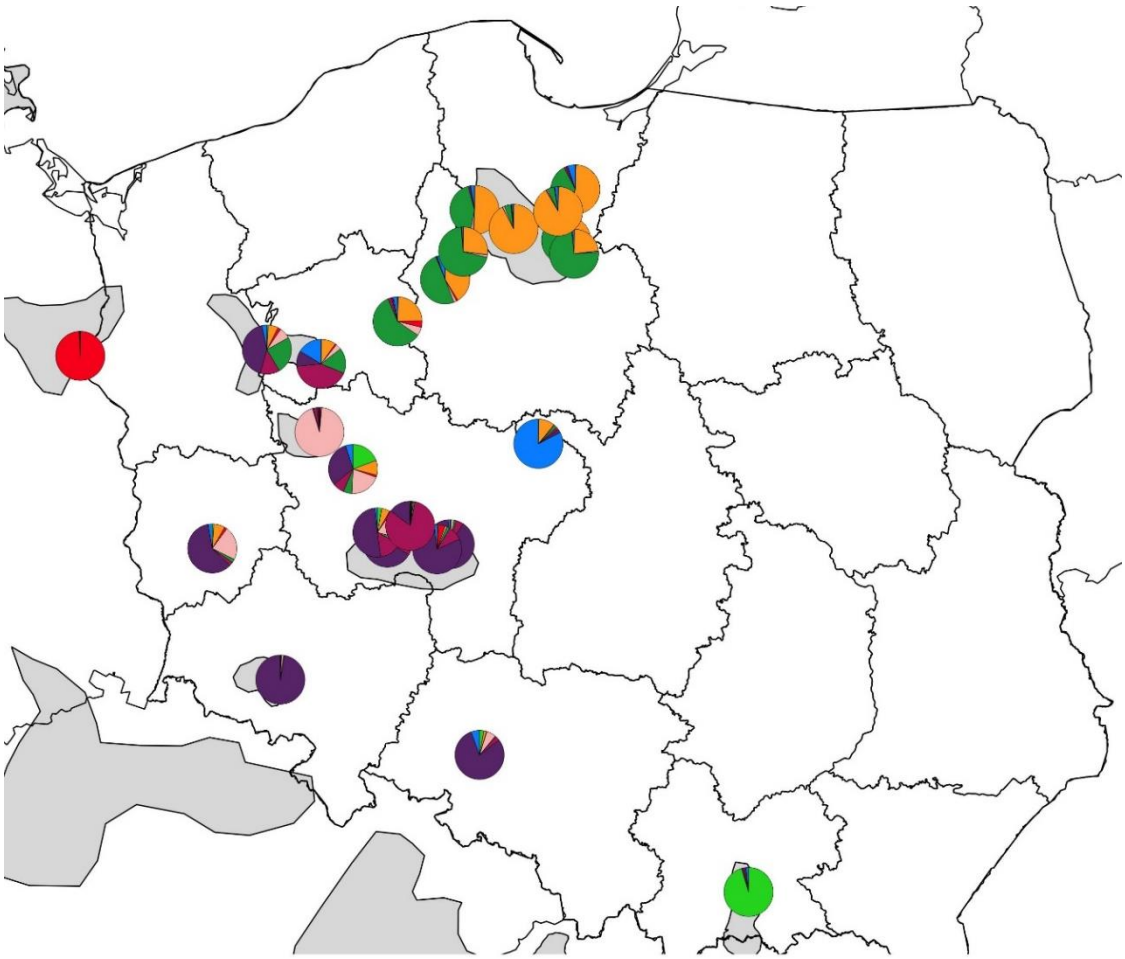


Rycina 2. Wyniki analiz PCoA (*ang. Proncipal Coordinate Analysis*) w oparciu o macierz kowariancji F_{ST} dla danych standaryzowanych, obejmujących wszystkie badane populacje.

Analizy struktury genetycznej, przeprowadzone za pomocą programu STRUCTURE, nieuwzględniające lokalizacji poszczególnych osobników, wykazały, że badane osobniki reprezentują kilka ancestralnych grup genetycznych (9 klastrów). Natomiast analizy przeprowadzone za pomocą programu TESS (uwzględniające lokalizację osobników) dały podobne wyniki, jak te przeprowadzone za pomocą programu STRUCTURE, sugerując nieco mniejszą liczbę klastrów (8).



Rycina 3. Udział klastrów zdefiniowanych przez program STRUCTURE w ramach poszczególnych populacji.



Rycina 4. Udział klastrów zdefiniowanych przez program TESS w ramach poszczególnych populacji.

Nie wykazano, aby zmienność genetyczna populacji peryferyjnych brekinii w Polsce była wyraźnie niższa niż zmienność populacji centralnych w Polsce, ani też w innych krajach europejskich. Liczebność populacji nie miała istotnego wpływu na parametry opisujące różnorodność genetyczną badanych populacji, takie jak *Ae, AR* i *He*. Nie wykazano istotnych korelacji między parametrami genetycznymi badanych populacji oraz współrzędnymi geograficznymi. Jednakże różnorodność genetyczna (*He*) była powiązana z efektywną wielkością populacji. Świadczy to o tym, że dla zachowania zmienności genetycznej niezwykle ważna jest liczba osobników efektywnie uczestniczących w procesach reprodukcyjnych, a nie obserwowana rzeczywista liczba osobników na stanowisku.

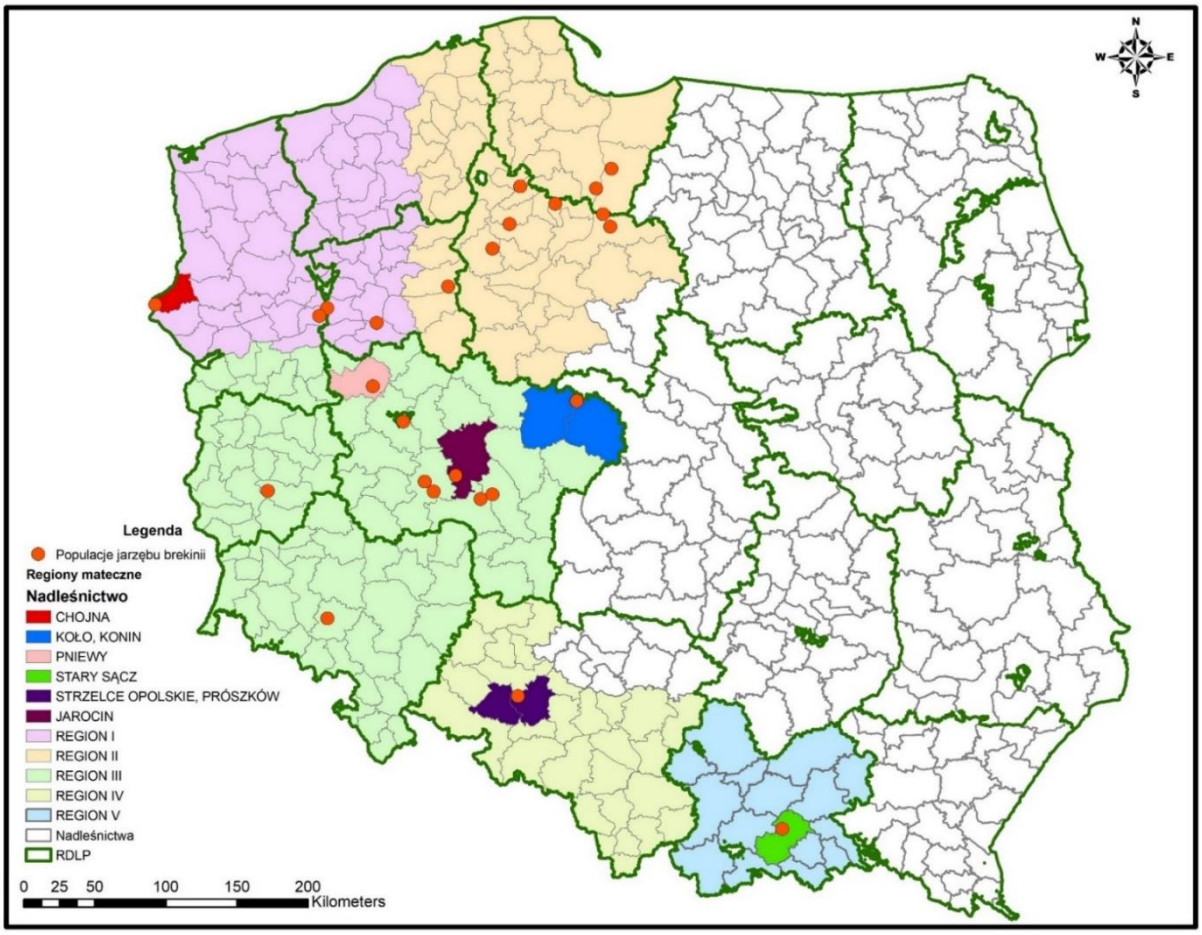
Liczebność wszystkich badanych populacji wahała się od 22 (Przylaski, Woziwoda) do 714 osobników (Krucz), a trzy największe obecnie populacje brzęka w Polsce to populacja Krucz, Piaski i Jawor, liczące odpowiednio ok. 714, 628 i 500 dorosłych osobników (N_{sz} – szacowana wielkość populacji). Efektywna wielkość populacji Ne_{LD} (*ang. effective population size*) wahała się od 5,6 osobników (Przylaski) do 215,8 osobników (Piaski,

Taczanów), podczas gdy średnia dla wszystkich populacji wyniosła 52,69 (SE=11,51). Najniższe oceny efektywnej wielkości populacji odnotowano dla populacji Przylaski, Tuchola, Bielinek, Wielkopolski PN oraz Krucz. Z kolei najwyższe obserwowano w populacjach Piaski, Taczanów, Kwidzyń, Jamy.

Liczba alleli w locus była skorelowana z liczebnością populacji, co jest zgodne z podstawowymi modelami genetyki populacyjnej. Odnotowano wysoce istotną korelację pomiędzy wartościami współczynnika zróżnicowania genetycznego F_{ST}, obliczonymi dla par populacji, a fizyczną odległością między nimi ($r = 0,5264$; $p < 0.0001$; $r^2 = 0,2770$), co potwierdza istnienie izolacji genetycznej, powiązanej z odległością geograficzną między populacjami brekinii w Polsce.

Populacje brekinii, wykazujące stosunkowo wysoki poziom klonalności, głównie te zlokalizowane w północno–wschodniej Polsce (Jankowska–Wróblewska, 2017), nie charakteryzowały się wyraźnie niższymi parametrami zmienności genetycznej od populacji, wykazujących brak klonalności. Populacje z lasów zagospodarowanych wykazują zbliżony poziom zmienności genetycznej względem populacji pochodzących z obszarów chronionych. Analizy zróżnicowania genetycznego, uwzględniające zmienność między populacjami w ramach kategorii, wykazały, że jedynie 0,58% wariancji może być przypisana różnicom wynikającym z tego, czy populacje pochodzą z obszarów chronionych czy z lasów zagospodarowanych. Jednakże populacje z obszarów chronionych bardziej różnią się względem siebie niż populacje z lasów zagospodarowanych. W przypadku populacji, w których odnotowano niskie wartości efektywnej wielkości populacji, a tym samym niskie wartości podstawowych parametrów, opisujących zmienność genetyczną, zaleca się wdrożenie pilnych działań aktywnej ochrony. Do populacji zaliczonych do pilnej czynnej ochrony *in situ* ich zasobów genetycznych zaliczyć należy populacje: Przylaski, Wielkopolski PN, Tuchola, Starogard, a także populacje charakteryzujące się odmiennymi wzorcami zmienności genetycznej tj. Bielinek, Babiak, Bytyń, Potarzyca i Łososina Dolna. Czynniki związane z oddziaływaniem przemysłu na populację Miedziana na Śląsku Opolskim także wskazują na konieczność podjęcia pilnych działań ochrony *ex situ* względem tej populacji.

Na podstawie niniejszych wyników badań genetycznych zaproponowano, dla celów ochrony zasobów genowych *in situ*, utworzenie 5 regionów nasiennych (zachodniopomorski, pomorski, wielkopolsko–śląski, śląski oraz małopolski), a w ramach nich 6 regionów matecznych dla ochrony odmiennych linii genetycznych populacji (Bielinek, Bytyń, Babiak, Potarzyca, Miedziana i Łososina Dolna) (Ryc. 5). Zaproponowano także praktyczne działania ochronne dla zarządców i praktyków leśnych.



Rycina 5. Propozycja regionalizacji nasiennej dla *Sorbus torminalis* w Polsce.

<u>Ważniejsze wyniki i wnioski:</u>

- **Wykazano wysoki poziom zmienności genetycznej badanych populacji.**
- **Zmienność genetyczna polskich populacji brekinii jest porównywalna, a niekiedy nawet większa od zmienności genetycznej populacji centralnych, zlokalizowanych w innych krajach europejskich.**
- **Wysoki poziom zmienności genetycznej większości populacji brekinii wydaje się być utrzymywany w wyniku efektywnego przepływu genów między populacjami oraz charakterystycznego *dla S. torminalis* systemu samoniezgodności gametofitowej.**
- **Poszczególne populacje różnią się między sobą istotnie pod względem poziomu zmienności genetycznej, jednak poziom zmienności genetycznej populacji jest skorelowany głównie z efektywną wielkością populacji.**
- **Stopień klonalności badanych populacji nie ma wpływu na poziom zmienności genetycznej populacji.**

- **Populacje z lasów zagospodarowanych wykazują zbliżony poziom zmienności genetycznej względem populacji pochodzących z obszarów chronionych.**
- **Populacje wykazujące najwyższą zmienność genetyczną to: Piaski, Krotoszyn, Taczanów, Miranowo oraz Miedziana, Krucz i Jamy.**
- **Najniższą zmienność genetyczną odnotowano dla populacji: Bielinek, Wielkopolski PN oraz Przylaski.**
- **Zaobserwowano niewielki nadmiar heterozygot i brak wsobności u badanego gatunku (*Fis* = –0,033), co należy wiązać głównie z obcopylnością i efektywnym przepływem genów.**
- **Wykazano stosunkowo wysoki poziom zróżnicowania między populacjami (F_{ST} = 0,091), przy czym zróżnicowanie to było dodatnio skorelowane z odległością między populacjami.**
- **Populacje brzęka można pogrupować pod względem ich podobieństwa genetycznego i przyporządkować je do 3 głównych grup populacji: pomorskiej, północno – wielkopolskiej i wielkopolsko – śląskiej.**

<u>Zalecenia dla praktyki leśnej:</u>

- **Należy dążyć do zmiany formy ochrony brekinii w Polsce, poszerzając zakres ochrony czynnej.**
- **Należy dążyć do opracowania krajowego programu ochrony zasobów genowych *S. torminalis* w Polsce, uwzględniając odmienność genetyczną poszczególnych grup populacji, jak i pojedynczych populacji.**
- **Dla populacji Bytyń, Babiak, Potarzyca, Wielkopolski PN, Przylaski, Miedziana, a także dla skrajnie odmiennych populacji Bielinek i Łososina Dolna, należałoby przyjąć odmienny, indywidualny sposób ochrony ich zasobów genowych.**
- **Populacje Bielinek, Bytyń, Babiak, Potarzyca, Miedziana i Łososina Dolna powinny podlegać szczególnej ochronie ze względu na ich odmienność genetyczną.**

Literatura:

1. Alberto, F. J., Aitken, S. N., Alía, R., González- Martínez, S. C., Hänninen, H., Kremer, A., & Savolainen, O. (2013). Potential for evolutionary responses to climate change–evidence from tree populations. *Global Change Biology*, *19*(6), 1645–1661.
2. Angelone, S., Hilfiker, K., Holderegger, R., Bergamini, A., & Hoebee, S. E. (2007). Regional population dynamics define the local genetic structure in *Sorbus torminalis*. *Molecular Ecology*, *16*(6), 1291–1301. http://doi.org/10.1111/j.0962–1083.2006.03202.x
3. Bacles, C. F. E., & Jump, A. S. (2011). Taking a tree's perspective on forest fragmentation genetics. *Trends in plant science*, *16*(1), 13–18.
4. Bednorz, L. (2004). Rozmieszczenie i zasoby *Sorbus torminalis* (Rosaceae: Maloideae) w Polsce. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica*, *1*(11), 105–121.
5. Bednorz, L. (2007). The wild service tree *Sorbus torminalis* (L.) Crantz in plant communities of Poland. *Dendrobiology*, *57*(March), 49–54.
6. Bednorz, L. (2010a). Jarząb brekinia *Sorbus torminalis* (L.) Crantz w Polsce. Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań.
7. Bednorz, L. (2010b). Ochrona prawna jarzębu brekinii w Polsce. Chrońmy Przyr. Ojcz, 66 (6), 422–426.
8. Bednorz, L., & Krzakowa, M. (2002). Phosphoglucose isomerase (PGI) polymorphism in *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. *Acta societatis botanicorum Poloniae*, *71*(2), 121–124.
9. Bednorz, L., Myczko, L., & 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.
10. Belletti, P., Monteleone, I., & Ferrazzini, D. (2008). A population genetic study in a scattered forest species, wild service tree [*Sorbus torminalis* (L.) Crantz], using RAPD markers. *European Journal of Forest Research*, *127*(2), 103–114. http://doi.org/10.1007/s10342–007–0187–1.
11. Browicz, K., & Gostyńska–Jakuszewska, M. (1966). Atlas rozmieszczenia drzew i krzewów w Polsce. 5. PWN, Poznań. *Polish with English summary*.
12. Chomicz, E. (2013). Czynniki kształtujące zmienność genetyczną drzew leśnych. *Kosmos*, *4*(62), 597–605.
13. Demesure, B., Le Guerrou, B., Lucchi, G., Prat, D., & Petit, R. J. (2000). Genetic variability of a scattered temperate forest tree: *Sorbus torminalis* L. (Crantz). *Annals of Forest Science*, *57*(1), 63–71. http://doi.org/10.1051/forest:2000101.
14. Hamrick, J. L., Godt, M. J. W., & Sherman–Broyles, S. L. (1992). Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New forests*, *6*(1), 95–124.
15. Hoebee, S. E., Menn, C., Rotach, P., Finkeldey, R., & Holderegger, R. (2006). Spatial genetic structure of *Sorbus torminalis*: The extent of clonal reproduction in natural stands of a rare tree species with a scattered distribution. *Forest Ecology and Management*, *226*(1–3), 1–8. http://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.12.024.

16. Jankowska – Wróblewska S., Meyza K., Sztupecka E., Kubera Ł., Burczyk J. (2016a). Clonal structure and high genetic diversity at peripheral populations of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. *iForest–Biogeosciences and Forestry*, *9*(6), 892.

17. Jankowska – Wróblewska, S., Warmbier, J., & Burczyk, J. (2016b). Spatial genetic structure within populations of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz: comparative analysis of the self–incompatibility locus and nuclear microsatellites. *Acta Biologica Cracoviensia s. Botanica*, *58*(1), 7–17.

18. Jankowska – Wróblewska, S. (2017). Strategie reprodukcyjne Jarzębu brekinii (*Sorbus torminalis* [L.] Crantz). Praca doktorska. UKW w Bydgoszczy.

19. Oddou – Muratorio, S., Aligon, C., Decroocq, S., Plomion, C., Lamant, T., & Mush- Demesure, B. (2001). Microsatellite primers for *Sorbus torminalis* and related species. *Molecular Ecology Notes*, *1*(4), 297–299.

20. Petit, R. J., & Hampe, A. (2006). Some evolutionary consequences of being a tree. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, *37*, 187–214.

21. Rasmussen, K. K., & Kollmann, J. (2007). Genetic diversity, spatial patterns, and growth of root sprouts in a temperate tree at the northern distribution limit. *Ecoscience*, *14*(2), 250–258. http://doi.org/10.2980/11956860(2007)14[250:GDSPAG]2.0.CO;2

22. Rasmussen, K. K., & Kollmann, J. (2008). Low genetic diversity in small peripheral populations of a rare European tree (*Sorbus torminalis*) dominated by clonal reproduction. *Conservation Genetics*, *9*(6), 1533–1539.

23. Riederer H., Fritsch M., Kamp T. (2013). Erfassung und Dokumentation genetischer Ressourcen der Flaum–Eiche (Quercus pubescens), der Elsbeere (*Sorbus torminalis*) und des Speierlings (Sorbus domestica) in Deutschaland. Forstbüro Ostbayern. AZ 114–02.05–20.0074/09–E – Los 1. Untersuchungen zum Elsbeere. https://www.ble.de/SharedDocs/Downloads/DE/Projektfoerderung/BiologischeVielfalt/Abschlussbericht_Elsbeere.pdf?__blob=publicationFile&v=1

24. Sułkowska M., Wojda T. (2015). The wild service tree (Sorbus torminalis (L.) Crantz) progeny–provenance trials in ex–situ conservation. Edited by J. J. Rybczyński & J. T. Puchalski. Monographs of Botanical Gardens, Vol. 2, 65–75.

25. Szeszycki, T. (2008). Jarząb brekinia–Sorbus torminalis: historia, hodowla, ochrona, przyszłość. Soft Vision Mateusz Rajski.

26. Young, A., Boyle, T., & Brown, T. (1996). The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology & Evolution*, *11*(10), 413–418.