

## STRESZCZENIE

### **Zmienność genetyczna sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w oparciu o polimorfizm markerów mikrosatelitarnych**

Małgorzata Pałucka

Promotor pracy: prof. dr hab. Jarosław Burczyk

Ekosystemy leśne odgrywają kluczową rolę w zachowaniu różnorodności biologicznej na Ziemi, bowiem jako integralna część jej biosfery zajmują obszar ponad 4 mld ha w czterech głównych strefach klimatycznych: borealnej, umiarkowanej, subtropikalnej i tropikalnej. Lasy stanowią siedlisko dla wielu gatunków roślin i zwierząt. Pełnią niebagatelną rolę w globalnym obiegu węgla, są bogatym źródłem owoców leśnych, grzybów oraz surowca drzewnego, mają wpływ na lokalne warunki klimatyczne. Z drugiej strony, niekorzystne globalne zmiany klimatyczne i intensywna eksploatacja obszarów leśnych przez człowieka, prowadzą do degradacji ekosystemów leśnych.

W związku z tym, dużego znaczenia nabiera wiedza na temat biologii gatunków drzew lasotwórczych, która umożliwiłaby racjonalne zarządzanie zasobami leśnymi, opracowanie planów zagospodarowania lasów oraz podejmowanie świadomych decyzji o tworzeniu obszarów ochrony. Szczególnie istotna w tym względzie wydaje się wiedza na temat zmienności genetycznej, będącej podstawą zdolności adaptacyjnych gatunku oraz możliwości prowadzenia hodowli selekcyjnej.

Sosna zwyczajna (*Pinus sylvestris* L.) jest najważniejszym pod względem ekologicznym i ekonomicznym gatunkiem lasotwórczym w Polsce, występującym na obszarze ponad 6 mln ha. Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była ocena zmienności genetycznej sosny zwyczajnej w Polsce w oparciu o neutralne markery mikrosatelitarne genomu chloroplastowego (cpSSR) oraz genomu jądrowego (nSSR).

Materiałem do badań były igły pozyskane z 2888 drzew matecznych z obszaru całego kraju. Analizy przeprowadzono dla populacji określonych na podstawie podziału geograficznego (6 populacji) i administracyjnego (17 regionalnych dyrekcji Lasów Państwowych). Do badań zmienności genetycznej wykorzystano 9 chloroplastowych loci mikrosatelitarnych (cpSSR): *Pt26081*, *Pt45002*, *Pt36480*, *Pt30204*, *Pt15169*, *Pt71936*, *PCP1289*, *PCP87314*, *PCP102652*, oraz 5 jądrowych loci mikrosatelitarnych (nSSR): *PtTx8446*, *PtTx4001*, *PtTx3032*, *SpAC11.4*, *Ptctg4363*. Wszystkie wybrane do badań loci cpSSR i nSSR okazały się wysoce polimorficzne.

Zestaw dziewięciu loci cpDNA oraz duża liczebność próby (2574 osobniki) umożliwiły zidentyfikowanie łącznie aż 69 alleli, których kombinacje pozwoliły na wyodrębnienie 954 różnych haplotypów. Analiza zmienności genetycznej loci chloroplastowych wykazała

wyraźne różnice pomiędzy populacjami i regionami w wartościach średniej liczby alleli w locus oraz bogactwa allelicznego ( $AR$ ) - co było skorelowane z wielkością próby. Natomiast efektywna liczba alleli w locus ( $A_e$ ), współczynnik Shannona ( $I$ ), różnorodność genetyczna ( $D$ ) – miały podobne wartości niezależnie od tego, czy badania dotyczyły 6 populacji czy 17 regionów rdLP. Analiza zmienności genetycznej w oparciu o haplotypy chloroplastowe wykazała istnienie różnic pomiędzy populacjami w przypadku takich parametrów, jak: liczba haplotypów ( $N_H$ ), liczba prywatnych haplotypów ( $N_{PH}$ ), efektywna liczba haplotypów ( $N_{EH}$ ) czy bogactwo haplotypowe ( $Rh$ ). Parametry te osiągnęły wyższe wartości w populacjach zachodnich (PN-ZACH, ZACH, PD-ZACH) w porównaniu do populacji na wschodzie kraju. Średnia wartość różnorodności genetycznej ( $H_e$ ) wyniosła 0,996 i była wysoka we wszystkich analizowanych populacjach. Z kolei najwyższe parametry zmienności haplotypowej analizowanych 17 regionów zaobserwowano w regionie Białystok ( $Ah=238$ ,  $N_e=166,539$ ,  $Ph=94$ ). Bogactwo haplotypowe miało najwyższą wartość w regionie Zielona Góra ( $Rh=24,608$ ), najniższą w regionie Warszawa ( $Rh=22,407$ ). Podobnie, jak w przypadku sześciu populacji - zróżnicowanie genetyczne ( $H_e$ ) osiągnęło wysokie wartości we wszystkich analizowanych regionach, przyjmując średnią wartość 0,996.

Analizę zmienności genetycznej na podstawie loci jądrowego DNA prowadzono dla 605 osobników sosny zwyczajnej przypisanych do 6 populacji lub 16 regionów (bez rdLP Krosno z uwagi na niewielką liczebność próby). Oszacowana liczba alleli wyniosła aż 147, a wartości średniej liczby alleli w locus, heterozygotyczności oczekiwanej i obserwowanej okazały się znacznie przewyższać wyniki dotychczasowych badań prowadzonych na terenie Polski. Frekwencja alleli zerowych oraz współczynnik wsobności przyjęły niskie wartości ( $null=0,0096$ ;  $F_{IS}=0,0302$ ). Poziom zmienności genetycznej poszczególnych populacji i regionów okazał się wysoki i podobny szczególnie w obrębie dwóch analizowanych parametrów, tj. heterozygotyczności obserwowanej ( $H_o$ ) i oczekiwanej ( $H_e$ ) - w przypadku populacji odpowiednio 0,799 i 0,823, a w przypadku regionów 0,793 i 0,809. Pozostałe parametry jak: liczba alleli ( $A$ ), efektywna liczba alleli ( $A_e$ ), bogactwo alleliczne ( $AR$ ) wykazywały umiarkowaną zmienność, która jednak była skorelowana z wielkością próby. Natomiast różnice genetyczne między populacjami/regionami były niewielkie, chociaż populacja północno-wschodnia oraz region Białystok - wyróżniły się wyższą na tle innych zmiennością genetyczną. We wszystkich badanych populacjach i regionach oszacowano bardzo wysoki poziom efektywnej wielkości populacji.

Wykazano istnienie bardzo niskiego poziomu zróżnicowania genetycznego, niezależnie od przyjętego podziału badanego materiału na 6 dużych populacji ( $F_{ST}=0,0009-0,0030$ ) czy na 17 mniejszych regionów ( $F_{ST}=0,0035-0,0092$ ). Głównym źródłem zmienności genetycznej okazała się zmienność wewnątrz badanych populacji i regionów, natomiast zmienność międzypopulacyjna miała znaczenie marginalne. Analizy głównych współrzędnych (PCoA) nie wskazały na istnienie wyraźnie tworzących się, odrębnych grup populacji czy regionów,

choć warto odnotować, że populacja południowo-wschodnia (PD-WSCH) wyraźnie różniła się od pozostałych.

W niniejszej pracy nie udało się wyodrębnić wyraźnych grup jednorodnych genetycznie (klastrow) zarówno dla markerów chloroplastowych, jak i jądrowych, niezależnie od zastosowanych metod (STRUCTURE oraz DAPC). Wynik ten koresponduje z brakiem istotnego zróżnicowania między populacjami i regionami. Wysokie podobieństwo między polskimi populacjami jest zgodne z wzorcem oczekiwanym dla dużych ciągłych populacji charakteryzujących się stałym intensywnym przepływem genów między populacjami.

Analiza przestrzennej struktury genetycznej została przeprowadzona jedynie dla całości badanego materiału oraz sześciu dużych populacji, ponieważ regiony (rdLP) były zbyt małe, by dokonać wiarygodnej oceny badanych parametrów. Uzyskane wyniki wskazały na istnienie słabej autokorelacji jedynie w najniższych klasach dystansu, czyli tendencję grupowania się osobników podobnych do siebie w małej skali przestrzennej (prawdopodobnie w ramach drzewostanu). Parametr *Sp* opisujący intensywność przestrzennej struktury genetycznej oszacowany dla całego zbioru danych był nieznacznie niższy (0,0013) w przypadku markerów cpSSR, niż w przypadku markerów nSSR (0,0016)

Analizy przeprowadzone na potrzeby niniejszej pracy pozwoliły na weryfikację i uzupełnienie dotychczasowej wiedzy na temat zmienności genetycznej sosny zwyczajnej w Polsce, a duża liczba osobników wykorzystanych do badań oraz szeroki obszar badań (teren całego kraju) z pewnością miały korzystny wpływ na wiarygodność otrzymanych wyników. Sosna zwyczajna na terenie Polski okazała się gatunkiem charakteryzującym się bardzo wysoką zmiennością genetyczną i jednocześnie niewielkim zróżnicowaniem genetycznym między populacjami bądź regionami.

Uzyskane wyniki mają nie tylko znaczenie poznawcze z zakresu genetyki populacyjnej sosny zwyczajnej, ale mogą być wykorzystane praktycznie w codziennej działalności Leśnego Banku Genów Kostrzyca. Uzupełniono i uporządkowano bazę danych dotyczących haplotypów i genotypów drzew matecznych sosny zwyczajnej w kraju, na podstawie której realizowany jest program weryfikacji genetycznej nasion pozyskiwanych z drzew matecznych i deponowanych w LBG Kostrzyca oraz program weryfikacji plantacji nasiennych sosny zwyczajnej. Uzyskane wyniki pozwalają również na wykorzystanie ich w badaniach z zakresu genetyki sądowej w sprawach karnych związanych z nielegalną wycinką, kradzieżą lub dewastacją drzew.

.....  
*Data, podpis*