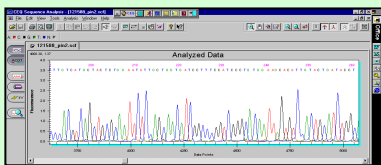




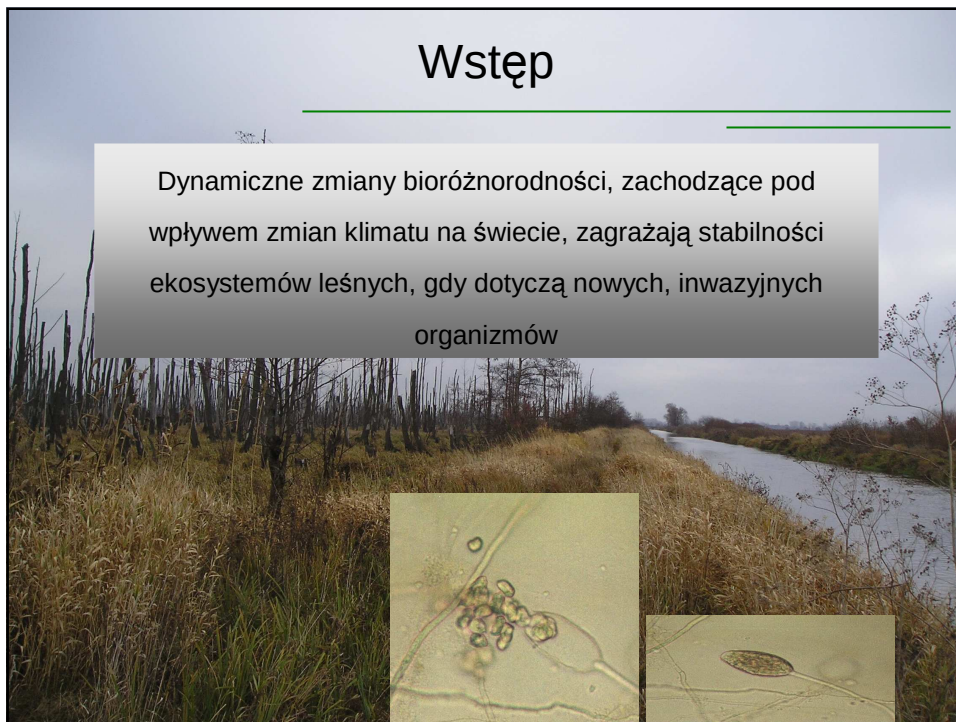
Zróżnicowanie genetyczne drzewostanów i ich wpływ na zdrowotność



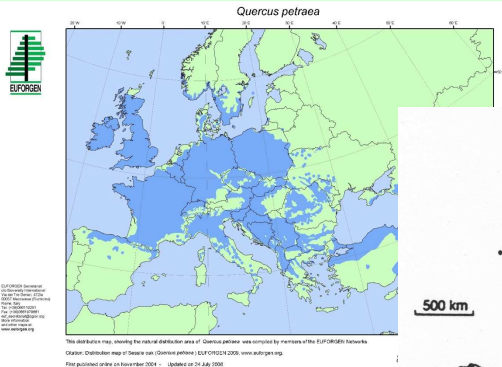
Justyna Nowakowska,
Tomasz Oszako, Katarzyna Gąszczuk
Instytut Badawczy Leśnictwa

Wstęp

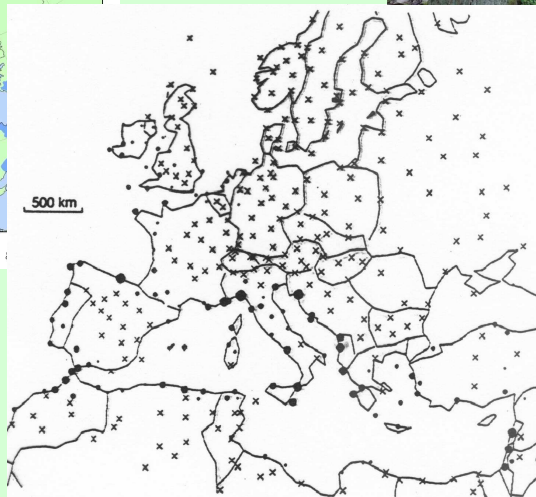
Dynamiczne zmiany bioróżnorodności, zachodzące pod
wpływem zmian klimatu na świecie, zagrażają stabilności
ekosystemów leśnych, gdy dotyczą nowych, inwazyjnych
organizmów



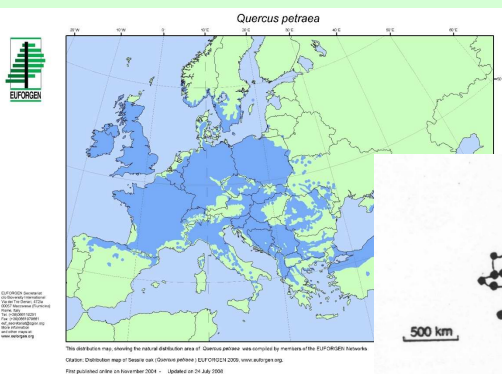
Wstęp



Obecne występowanie
Phytophthora cinnamomi
w Europie wg. Clive
Brassier



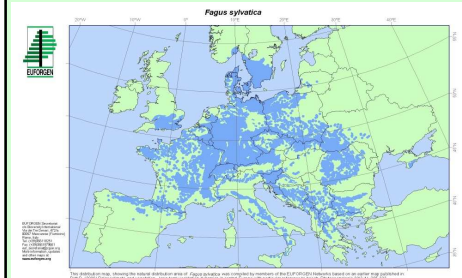
Wstęp



Przewidywany zakres
występowania ***Phytophthora***
cinnamomi w przyszłości, przy
wzroście średniej temp. o +3°C
w Europie (C. Brassier)



***Phytophthora cambivora* i *P. citricola* – patogen obecny
w tkankach pod korą porażonych drzew buka zwyczajnego**



***Phytophthora ramorum* w USA i Europie**

Nagłe zamieranie dębu



Zamieranie modrzewia



Clive Brasier i Joan Webber, Nature 2010



Tereny podmokłe

W poszukiwaniu *Phytophthora* spp.

- Próbkę gleby pobrane z drzewostanu analizowano za pomocą pułapek na liściach różanecznika



0,5 kg zbiorczej próbki gleby
z głębokości 10-15 cm

W poszukiwaniu *Phytophthora* spp.

- próbki wody pobrane ze zbiorników wodnych

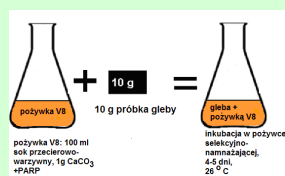


0,5 kg zbiorczej próbki wody

Materiał i Metody



- Analizy laboratoryjne :
Identyfikacja gatunku
Phytophthora na podstawie
standardowych procedur na
pożywkach: PDA oraz
selektywnej

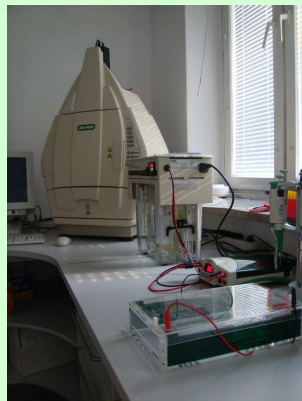


Materiał i Metody

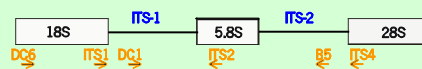


- Molekularna analiza *Phytophthora* za pomocą:

elektroforezy żelowej



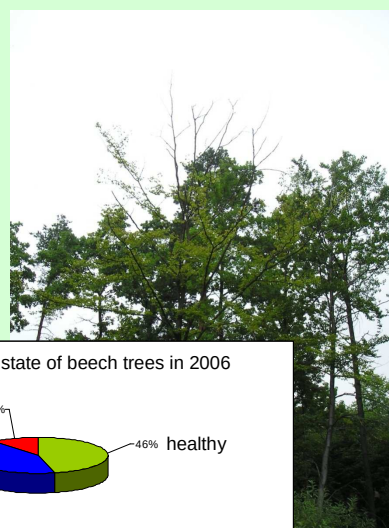
i sekwencjonowania



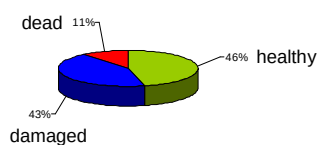
Materiał i Metody



- Obiekt (1):
drzewostan *Fagus sylvatica*
w Nadleśnictwie Siewierz



Health state of beech trees in 2006



Materiał i Metody

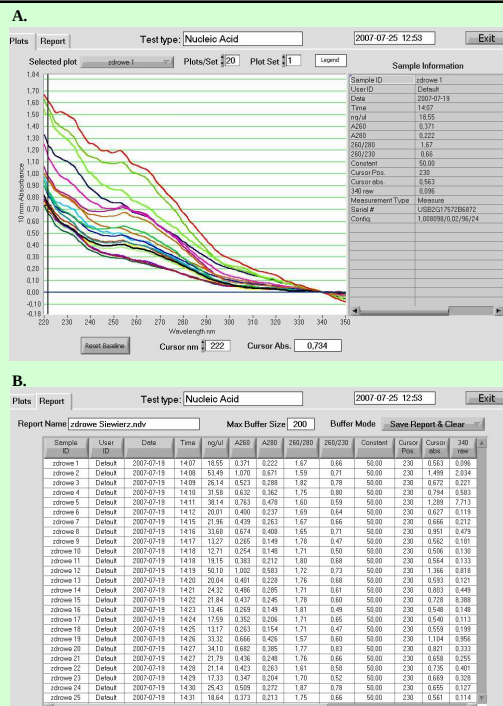


- Molekularna analiza **struktury genetycznej buka i dębu** polegała na chloroplastowych loci mikrosatelitarnych (SSR) i (PCR-RFLP)
- Ekstrakcja DNA za pomocą zestawów 250 Plant Mini Kit (QIAGEN)
- Analizowany materiał: liście zebrane z drzew zdrowych i porażonych
- Amplifikacja PCR (QIAGEN)

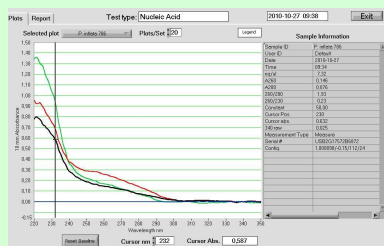


Wyniki

- Ocena ilości i jakości DNA w drzewach **zdrowych**



Phytophthora spp.

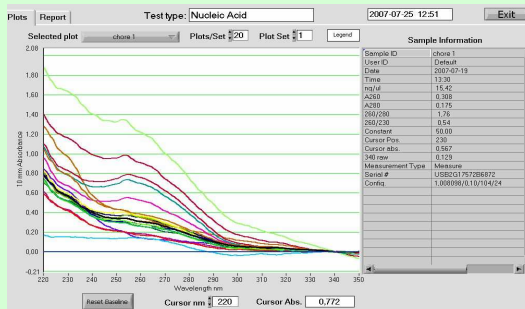


- Ocena ilości i jakości DNA w drzewach chorych



Buk zwyczajny

A.



B.

Sample ID	User ID	Date	Time	ng/ul	A260	A280	260/280	260/230	Constant	Cursor	Cursor	340	Measurement
chose 1	Default	2007-07-19	13:30	15.42	0.308	0.175	1.76	0.54	50.00	230	0.557	0.129	Measure
chose 2	Default	2007-07-19	13:32	8.36	0.167	0.086	1.95	0.40	50.00	230	0.417	0.092	Measure
chose 3	Default	2007-07-19	13:33	12.89	0.258	0.143	1.73	0.56	50.00	230	0.514	0.136	Measure
chose 4	Default	2007-07-19	13:35	13.08	0.382	0.220	1.73	0.49	50.00	230	0.786	0.236	Measure
chose 5	Default	2007-07-19	13:36	14.88	0.202	0.146	1.43	0.55	50.00	230	0.589	0.150	Measure
chose 6	Default	2007-07-19	13:38	34.81	0.696	0.387	1.80	0.89	50.00	230	0.781	0.394	Measure
chose 7	Default	2007-07-19	13:40	14.01	0.200	0.180	1.56	0.49	50.00	230	0.572	0.168	Measure
chose 8	Default	2007-07-19	13:41	26.12	0.522	0.294	1.78	0.78	50.00	230	0.872	0.146	Measure
chose 9	Default	2007-07-19	13:42	37.81	0.756	0.429	1.77	0.91	50.00	230	0.827	0.287	Measure
chose 10	Default	2007-07-19	13:44	12.83	0.258	0.152	1.70	0.56	50.00	230	0.515	0.221	Measure
chose 11	Default	2007-07-19	13:45	18.19	0.364	0.187	1.95	0.62	50.00	230	0.588	0.117	Measure
chose 12	Default	2007-07-19	13:46	17.52	0.350	0.197	1.76	0.64	50.00	230	0.549	0.115	Measure
chose 13	Default	2007-07-19	13:47	15.56	0.311	0.181	1.72	0.56	50.00	230	0.556	0.124	Measure
chose 14	Default	2007-07-19	13:48	17.30	0.346	0.219	1.58	0.36	50.00	230	0.989	0.374	Measure
chose 15	Default	2007-07-19	13:49	6.84	0.137	0.041	3.35	0.91	50.00	230	0.190	0.037	Measure
chose 16	Default	2007-07-19	13:50	6.94	0.138	0.087	1.43	0.22	50.00	230	0.620	0.133	Measure
chose 17	Default	2007-07-19	13:51	60.98	1.718	1.143	1.53	0.76	50.00	230	1.435	1.201	Measure
chose 18	Default	2007-07-19	13:52	45.33	0.907	0.541	1.67	0.78	50.00	230	1.160	0.642	Measure
chose 19	Default	2007-07-19	13:55	17.43	0.349	0.202	1.73	0.60	50.00	230	0.584	0.157	Measure
chose 20	Default	2007-07-19	13:56	8.14	0.183	0.093	1.96	0.43	50.00	230	0.427	0.088	Measure
chose 21	Default	2007-07-19	13:57	32.53	0.651	0.392	1.68	0.65	50.00	230	1.001	0.744	Measure
chose 22	Default	2007-07-19	13:58	21.66	0.433	0.238	1.82	0.79	50.00	230	0.827	0.366	Measure
chose 23	Default	2007-07-19	14:00	18.12	0.362	0.216	1.68	0.64	50.00	230	0.567	0.134	Measure
chose 24	Default	2007-07-19	14:01	23.31	0.426	0.246	1.73	0.60	50.00	230	0.707	0.278	Measure
chose 25	Default	2007-07-19	14:02	17.24	0.345	0.207	1.67	0.59	50.00	230	0.567	0.161	Measure

Wyniki

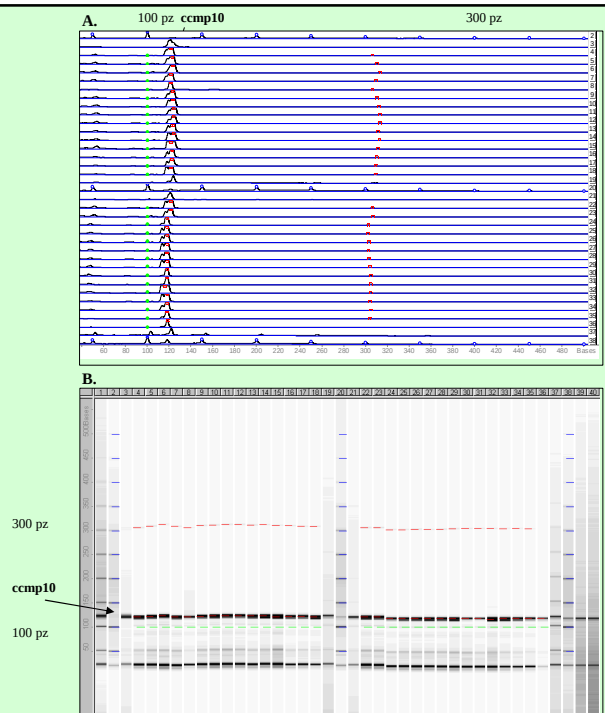
Grzyby i gatunki Oomycetes wyizolowane z porażonych buków; liczba drzew (a) oraz liczba otrzymanych izolatów (b)

Genera / Gatunki	Drobne korzenie chorych drzew		Wysięki soków u podstawy pni		Nekrotyczne plany na pniach		Małe nekrozy tkanek na pniach	
	a	b	a	b	a	b	a	b
<i>Borytis cinerea</i> Pers.	-	-	2	4	1	3	-	-
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	4	7	1	2	2	6	-	-
<i>Cladosporium herbarum</i> Pers. Link	-	-	-	-	-	-	2	5
<i>Fusarium equiseti</i> (Cda) Sacc.	6	11	3	6	1	2	1	3
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.	-	-	-	-	-	-	3	4
<i>Mucor circinelloides</i> van Tieghem	7	6	2	4	-	-	1	2
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	7	15	3	7	2	5	2	5
<i>Periconia pycnospora</i> Freb.	4	9	2	4	-	-	-	-
<i>Phytophthora cambivora</i> (Petri). Buisson	3	11	2	8	-	-	2	7
<i>Phytophthora citricola</i> Sawada	6	19	2	9	-	-	-	-
<i>Torula expansa</i> Pers ex Fries.	5	12	3	9	-	-	-	-

- Profil amplifikacji locus **ccmp10**

Linie 4 – 11:
drzewa zdrowe,

Linie 12 – 18:
drzewa porażone



Wyniki

- Frekwencje haplotypów cpDNA występujących w badanych drzewostanach Nadl. Siewierz

Locus	Allele (pary zasad)	Frekwencje w drzewach:	
		zdrowych	chorych
ccmp4	118	0.067	1.000
	120	0.933	-
ccmp7	147	1.000	1.000
ccmp10	116	-	0.067
	118	-	0.800
	120	0.200	0.133
	122	0.533	-
	124	0.267	-

Wyniki

- Genetyczna charakterystyka haplotypów cpDNA w drzewostanach bukowych

	n_a	n_e	I	Heterozygotyczność (h)
Drzewa zdrowe	2.000	1.557	0.418	0.243**
Drzewa porażone	1.667	1.170	0.209	0.113**
Razem	2.667	2.197	0.697	$G_{ST} = 0.407^{**}$

n_a = obserwowana liczba alleli

** $p < 0.01$

n_e = oczekiwana liczba alleli

h = heterozygotyczność wg Nei (1987)

I = indeks polimorficzności Shannona

Wnioski

- Pnie i korzenie buków były porażone przez patogeny *P. citricola* i *P. cambivora*
oraz grzyby z rodzaju *Armillaria*
- w konsekwencji, korony drzew były silnie uszkodzone



Orlikowski L.B., Oszako T., Szkuta G. 2006.
First record on *Phytophthora* spp. associated
with the decline of European beech stand in
south-west Poland. Phytopathol. Pol. 42: 37-46



Wnioski

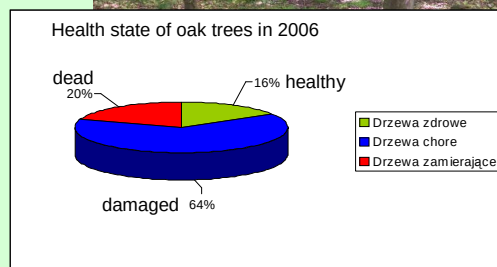
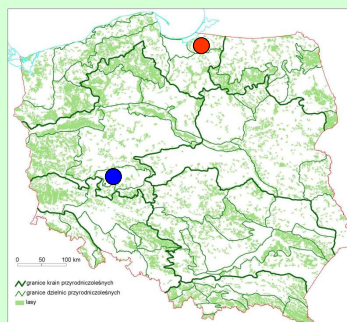
- Buki zdrowe miały inną frekwencję haplotypów cpSSR w porównaniu do drzew porażonych
- Niektóre allele były obecne tylko u drzew zdrowych, a niektóre – tylko u drzew chorych
- Badana grupa buków **zdrowych** była **bardziej heterozygotyczna** ($h=0.429$) niż grupa buków chorych ($h=0.219$)

Nowakowska J.A., Oszako T. 2008. Stan zdrowotny i różnicowanie genetyczne buka zwyczajnego w Nadl. Siewierz na podstawie analiz cpDNA. Sylwan 9: 11-20.

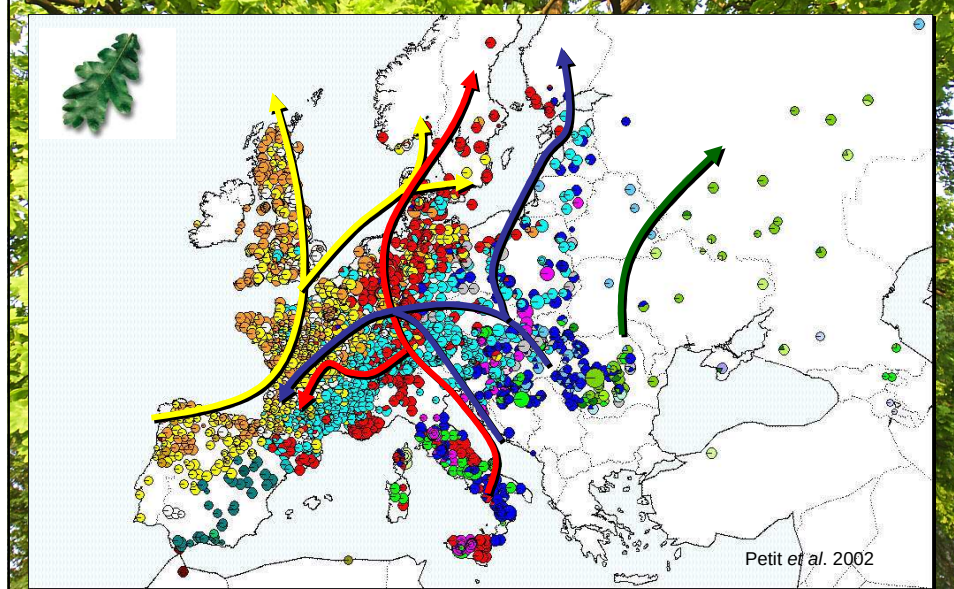
Cel badań



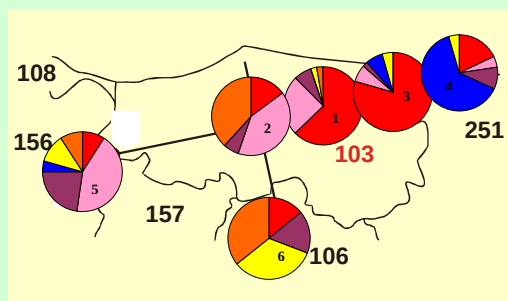
- Obiekt (2):
drzewostan *Quercus robur* w
Nadleśnictwach **Elbląg** i **Krotoszyn**



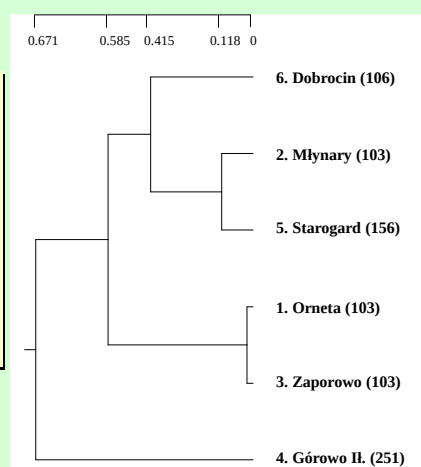
Drogi migracji połodowcowej w Europie:



Frekwencje haplotypów cpDNA w Nadl. Elbląg

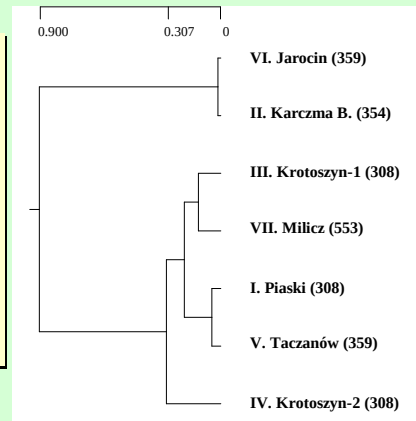
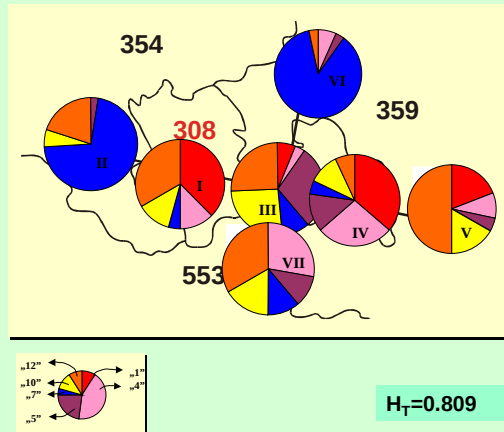


$H_T = 0.785$





Frekwencje haplotypów cpDNA w Nadl. Krotoszyn



Phytophthora – patogen obecny w tkankach pod korą porażonych drzew



P. quercina



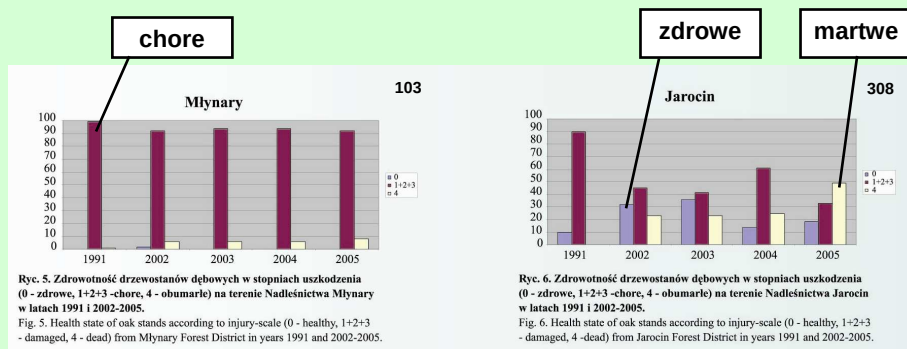
P. cinnamomi

Gatunki *Phytophthora* wyizolowane z badanych drzew dębu

Plant species	<i>P. alni</i>	<i>P. cactorum</i>	<i>P. cambivora</i>	<i>P. citricola</i>	<i>P. citrophthora</i>	<i>P. cinnamomi</i>	<i>P. quercina</i>
<i>Acer campestre</i>	-	+	+	-	-	-	-
<i>Alnus glutinosa</i>	+	+	-	-	-	-	-
<i>Fagus sylvatica</i>	-	-	+	+	-	-	-
<i>Picea excelsa</i>	-	-	-	-	+	-	-
<i>Quercus robur</i>	-	-	-	-	-	+	+



Zmienność genetyczna a zdrowotność drzewostanów w Nadleśnictwach Młynary i Krotoszyn





Wpływ puli
genowej na
zdrowotność

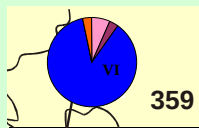
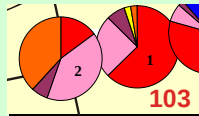


Tabela 1. Frekwencje haplotypów DNA chloroplastowego w badanych drzewostanach dębowych

Table 1. Haplotype frequencies of chloroplast DNA in studied oak populations

Nadleśnictwo Forest District	Region pochodzenia Provenance region	Frekwencja haplotypów / haplotypes frequency						h
		„1”	„4”	„5”	„7”	„10”	„12”	
1. Orneta	103	0,625	0,250	0,075	-	0,025	0,025	0,540
2. Młynary	103	0,149	0,404	0,064	-	-	0,383	0,664
3. Zaporowo	103	0,795	0,068	0,023	0,068	0,045	-	0,355
4. Górowo Il.	251	0,182	0,045	0,090	0,636	0,045	-	0,549
5. Starogard	156	0,091	0,432	0,227	0,045	0,113	0,091	0,730
6. Dobrocin	106	0,143	-	0,166	-	0,333	0,357	0,713
średnia: mean:		0,339	0,217	0,109	0,079	0,096	0,159	$H_T = 0,785$
7. Piaski	354	0,375	0,125	-	0,042	0,125	0,333	0,715
8. Karczma B.	308	-	-	0,028	0,714	0,057	0,200	0,445
9. Krotoszyn-1	308	0,064	0,032	0,290	0,258	0,258	0,258	0,768
10. Krotoszyn-2	308	0,363	0,273	0,136	0,045	0,114	0,068	0,755
11. Taczanów	359	0,190	0,095	0,047	-	0,167	0,500	0,675
12. Jarocin	359	-	0,066	0,033	0,866	-	0,033	0,242
13. Miłecz	553	-	0,277	0,111	0,111	0,167	0,333	0,759
średnia: mean:		0,156	0,120	0,094	0,263	0,125	0,241	$H_T = 0,809$
Razem: All:		0,250	0,170	0,101	0,168	0,110	0,198	$G_{ST} = 0,818$

h – zmienność wewnątrzpopulacyjna, H_T – zmienność genetyczna między populacjami, G_{ST} – współczynnik zmienności genetycznej (Nei 1987)

h – genetic differentiation within a population, H_T – genetic differentiation among populations, G_{ST} – coefficient of genetic differentiation (Nei 1987)

Wnioski



- Sześć haplotypów cpDNA występowało w badanych populacjach dębu: „1”, „4”, „5”, „7”, „10” and „12”
- Drzewostan Młynary wykazywał 90% zniszczeń koron ale tylko 8% śmiertelności drzew i był **bardziej heterozygotyczny** ($h=0.664$) niż drzewostan Jarocin (tylko 40% zniszczeń koron, ale wysoka śmiertelność drzew 49% i niskie $h=0.242$)

Nowakowska J.A., Oszaiko T., Bieniek J., Rakowski K. 2007. Charakterystyka genetyczna PCR-RFLP oraz ocena zdrowotności wybranych populacji dębu elbąskiego i krotoszyńskiego. Leś. Pr. Bad. 3: 33-52.



Wnioski ogólne



- Drzewa zdrowe były o 50% bardziej zróżnicowane genetycznie od drzew zamierających



- Większe zróżnicowanie genetyczne sugeruje lepsze przystosowanie populacji do szkodliwych warunków środowiska



Otwarte pytania

- Aktualne problemy w ochronie lasu:
 - różnorodność biologiczna a zmiany klimatyczne,
 - obce gatunki inwazyjne (*P. quercina*, *P. citricola*, *P. cinnamomi* etc.)
- Strategia ochrony w drzewostanach leśnych powinna uwzględniać:
 - poziom zróżnicowania genetycznego (G_{ST}),
 - naturalne procesy adaptacyjne w dynamicznie zmieniających się warunkach środowiska.





Justyna Nowakowska, dr hab.¹

Tomasz Oszako, dr hab.²

¹Zakład Hodowli i Genetyki Leśnej

²Zakład Ochrony Lasu

Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3
05 090 Raszyn

e-mails: j.nowakowska@ibles.waw.pl

t.oszako@ibles.waw.pl

Dziękuję Państwu za uwagę !