
Parastās egles (*Picea abies* (L.) Karst.) atjaunošana – sēklu plantāciju pēcnācēju ģenētiskā daudzveidība

Āris Jansons^{1*}, Angelika Voronova-Petrova¹, Dainis Ruņģis¹, Krista
Kānberga-Siliņa¹, Baiba Džeriņa¹

Jansons, Ā., Voronova-Petrova, A., Ruņģis, D., Kānberga-Siliņa, K.,
Džeriņa, B. (2012). Regeneration of Norway spruce (*Picea
abies* (L.) Karst.): genetic diversity of seed orchard progenies.
Mežzinātne 26(59): 61-73.

Kopsavilkums. Parastā egle ir trešā izplatītākā Latvijas meža koku suga, ap 80 % (pēc platības) tās mežaudzes tiek atjaunotas stādot. Sēklu plantācijas nodrošina nedaudz mazāk par pusi no stādu audzēšanai nepieciešamā sēklu daudzuma. Pētījuma mērķis ir novērtēt, vai plantāciju sēklu izmantošana atstāj nozīmīgu ietekmi uz jaunaudžu ģenētisko daudzveidību. Pētījuma materiāls ievākts no nejauši izvēlētiem 514 kokiem divu egles sēklu plantāciju (Remte un Katvari) pēcnācēju stādījumos, kas atrodas MPS Kalsnavas un Auces meža novados. Mežaudzes pārstāv nejauši izvēlēti paraugkoki no rietumu (3 audzes, kopā 139 koki), centrālā (3 audzes, 144 koki) un austrumu (2 audzes, 96 koki) provenienču reģiona. Analīze veikta, izmantojot 6 mikrosatelītu marķieru datus.

Vidējais alēļu skaits lokusā svārstās robežās no 10 (UAPgAG150) līdz 35 (EAC7H07), un nav novērojamas šī rādītāja būtiskas atšķirības starp sēklu plantāciju pēcnācējiem un mežaudzēm. Kopumā plantāciju pēcnācējiem vidējais atrasto alēļu skaits ir nedaudz lielāks, bet efektīvo alēļu skaits nedaudz mazāks nekā mežaudzēm, taču novērotā heterozigotāte abām izvērtētajām kopām neatšķiras (Ho attiecīgi 0,61 un 0,59). Nav konstatētas arī nozīmīgas daudzveidības indeksa (DI) un Šanona daudzveidības indeksa (I) vērtību atšķirības (attiecīgi plantāciju pēcnācējiem DI = 0,92 un I = 2,0; mežaudzēm DI = 0,91 un I = 1,9). Vidējais alēļu, ar īpatsvaru $\geq 5\%$, skaits plantāciju pēcnācējiem ir nedaudz augstāks nekā mežaudzēs, taču atšķirības ir ievērojamas tikai salīdzinājumā ar centrālā un austrumu, bet ne ar rietumu, provenienču reģiona audzēm.

Kopumā varam secināt, ka egles sēklu plantāciju ar 20 un 50 kloniem pēcnācēju izmantošana nesamazina jauno audžu ģenētisko daudzveidību.

Nozīmīgākie vārdi: alēļu skaits, novērotā heterozigotāte, Šanona daudzveidības indekss.

•••

¹ LVMI Silava, Rīgas iela 111, Salaspils, LV-2169, Latvija; *e-pasts: aris.jansons@silava.lv

Jansons, Ā.^{2*}, Voronova-Petrova, A.,², Ruņģis, D.², Kānberga-Siliņa, K.², Džeriņa, B.²
Regeneration of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.): genetic diversity of seed orchard progenies.

Abstract. Norway spruce is the third most widespread tree species in Latvia that occupies 537 thousand ha of forest land. Approximately 80 % of its stands are regenerated using planting; therefore genetic composition of seeds for plant production has a large practical importance. Significant part of the seeds (33-45 %) is obtained from seed orchards with current total area reaching 104 ha. Orchards are established based on phenotypic selections of plus trees predominantly in the region of its location. The aim of the study was to assess the possible influence from the use of seed orchard progenies on genetic diversity of young stands.

Material for the study was collected from progenies of two Norway spruce seed orchards: Remte – located in south-western part of Latvia, consisting of 50 clones, and Katvari – located in north-eastern part of Latvia, consisting of 20 clones. Random selection of 217 (for Remte) and 274 (for Katvari) progenies was done in progeny trials, where average sample of both seed orchards were represented, located in Forest research stations Auce (central part of Latvia) and Kalsnava (eastern part of Latvia) forest districts. Mature forest stands were represented by samples from randomly selected trees (with distance of 100 m) or seedlings from average seed sample of the stand. Stands were randomly chosen to represent western (3 stands, 139 trees in total), central (3 stands, 144 trees) and eastern (2 stands, 96 trees) provenance regions. DNA, extracted from the needles, was analysed with 6 nuclear SSR markers.

Results reveal that mean number of alleles per locus ranges from 10 (UAPgAG150) to 35 (EAC7H07) and no differences in this parameter between forest stands and seed orchard progenies were observed. Total number of alleles found is slightly larger, but number of effective alleles slightly smaller for seed orchard progenies in comparison to forest stands, however observed heterozygosity (H_o) did not differ between the analysed groups ($H_o = 0.61$ and $H_o = 0.59$ respectively). Significant differences were not detected also in values of diversity index (DI) and Shannon's Information Index (I): for the progenies of seed orchards $DI = 0.92$ and $I = 2.0$, for the forest stands $DI = 0.91$ and $I = 1.9$. Number of alleles with high frequency ($\geq 5\%$), that are important for genetic stability of stand, is slightly higher for the progenies of seed orchards than for the forest stands. Differences are more pronounced in comparison with stands from the central and eastern provenance region.

It can be concluded, that the number of clones in seed orchards (20 and 50) is sufficient to avoid possible losses of genetic diversity for seed orchard progenies. Therefore use of seed orchard seeds for seedling production does not decrease the genetic diversity of young Norway spruce stands.

² Latvian State Forest Research Institute "Silava", 111 Riga str., Salaspils, LV-2169, Latvia,

*e-mail: aris.jansons@silava.lv

Key words: number of alleles; observed heterozygosity; Shannon's Information Index.

•••

Янсонс, А.^{3*}, Воронова-Петрова, А.³, Рунгис, Д.³, Канберга-Силиня, К.³, Джериня, Б.³ **Возобновление ели обыкновенной (*Picea abies* (L.) Karst.) – генетическое разнообразие потомков семенных плантаций.**

Резюме. Ель обыкновенная является третьей более распространенной породой лесных деревьев в Латвии, приблизительно 80 % (по площади) насаждений которой возобновляются способом посадки. Удельный вес семян, добытых в семенных плантациях для выращивания саженцев, составляет менее половины от общего количества семенного материала. Цель исследования – оценить насколько значительное влияние на генетическое разнообразие оказывает использование плантационных семян. Материал собран в двух семенных плантациях способом случайного отбора – соответственно 217 и 274 – потомков в посадках, которые расположены в лесных волостях Калснавы и Ауце. Лесонасаждения представляют случайно выбранные пробные деревья из западного (3 насаждения; общее число деревьев – 139), центрального (3 насаждения; 144 деревьев) и восточного (2 насаждения; 96 деревьев) регионов провениенций. Анализ проведен, используя данные 6 микросателлитных маркеров.

Среднее число аллелей в локусе колеблется в пределах от 10 (UAPgAG150) до 35 (EAC7H07) и не обнаружены существенные различия этого показателя между потомками семенных плантаций и лесонасаждений. В общем среднее число найденных аллелей у потомков плантаций более высокое, зато число эффективных аллелей ниже по сравнению с лесонасаждениями, но установленная гетерозиготность у обеих совокупностей различий не имеет (Но соответственно 0,61 и 0,59). Также не обнаружены значительные различия в ценности индекса многообразия (DI) и индекса многообразия Шанона (I) (соответственно у потомков плантаций DI = 0,92 и I = 1,9; у лесонасаждений DI = 0,91 и I = 1,9). Среднее число аллелей, с удельным весом $\geq 5\%$, у потомков плантаций немного выше по сравнению с лесонасаждениями, однако различия являются значительными по сравнению с насаждениями центральных и восточных регионов провениенций.

В общем можно сделать вывод, что использование потомков семенных плантаций ели (с 20 и 50 клонами) не уменьшает генетическое разнообразие молодняков в посадках.

Ключевые слова: число аллелей, гетерозиготность, индекс многообразия Шанона.

³ ЛГИЛ «Силава», ул. Ригас 111, Саласпилс, LV-2169, Латвия; *эл. почта: aris.jansons@silava.lv

Ievads

Parastā egle ir trešā izplatītākā Latvijas koku suga – tās audzes veido 17 % no Latvijas mežiem jeb 537,35 tūkst. ha (MSI dati). Lielāko daļu egļu audžu atjauno stādot: 2011. gadā kopā atjaunoti 6960,2 ha, tajā skaitā stādot – 5775,3 ha (VMD, 2012a), turklāt egle samērā plaši izmantota arī meža ieaudzēšanā – 2011. g. – 2976 ha (VMD, 2012a). Ņemot vērā laika gaitā pieaugošo pieprasījumu pēc egles sēkļu materiāla, tās selekcija uzsākta pagājušā gadsimta sešdesmitajos gados, veicot ražīgu un kvalitatīvu audžu izvēli un augstvērtīgāko koku – t.s. pluskoku – atlasīti šo audžu ietvaros. Kopumā atlasīti un šobrīd ražojošu sēkļu plantāciju ierīkošanai izmantoti ap 400 pluskoki. Papildinot selekcijas darba izejmateriālu, pēdējās desmitgadēs izraudzīti vēl ap 1700 pluskoki un kvalitatīvi mežaudžu koki, kam ierīkotas pēcnācēju pārbaudes. Pluskoki izmantoti sēkļu plantāciju ierīkošanai, kuru kopējā platība, saskaņā ar Meža reprodutīvā materiāla ieguves avotu reģistra datiem, šobrīd ir 103,8 ha (VMD, 2012b). Ņemot vērā eglei raksturīgos neregulāros sēkļu ražas gadus ar būtiski atšķirīgu ražas apjomu (Latvijā līdz 40 kg sēkļu no ha – VMD, 1999), pēdējos gados sēkļu plantāciju sēkļu īpatsvars stādu ražošanā ir mazāks nekā puse no kopējā sēkļu materiāla (2010. g. – 33 % , 2011. g. – 45 %; VMD, 2012c).

Plaša plantāciju sēkļu pielietošana nodrošina iespēju praksē realizēt selekcijas darba mērķi – uzlabot jauno audžu produktivitāti un kvalitāti. Salīdzinot Latvijas rietumu daļas egles sēkļu plantācijas un astoņu

mežaudžu pēcnācējus, konstatēts, ka 30 gadu vecumā sēkļu plantācijas pēcnācēju krāja ir vidēji par 20 % augstāka (Gailis, 2005). Selekcijas procesā, vērtējot ne tikai genotipu produktivitāti un kvalitāti, bet arī noturību pret biotisko un abiotisko faktoru ietekmi, augšanas ritmu, iespējams paaugstināt jauno audžu vitalitāti un adaptāciju dažādām ar klimata izmaiņām saistītām ietekmēm. Priekšnoteikums populācijas piemērošanās spējai ārējo faktoru izmaiņām ir ģenētiskā daudzveidība. Tās saglabāšana ir būtiska arī meža selekcijas procesā, jo (Paul *et al.*, 2000):

1. tiek saglabātas atlasē iespējas pēc pazīmēm, kas pirmajos selekcijas ciklos var nebūt uzskatītas par nozīmīgām (piemēram, izturība pret noteiktu gaisa piesārņojumu);
2. tiek saglabāta jauno mežaudžu spēja labāk pielāgoties ārējās vides izmaiņām.

Tādēļ pētījuma mērķis ir novērtēt, vai sēkļu plantācijas pēcnācēju ģenētiskā daudzveidība ir būtiski atšķirīga no dabiski atjaunojušās audzēs konstatētās.

Metodika

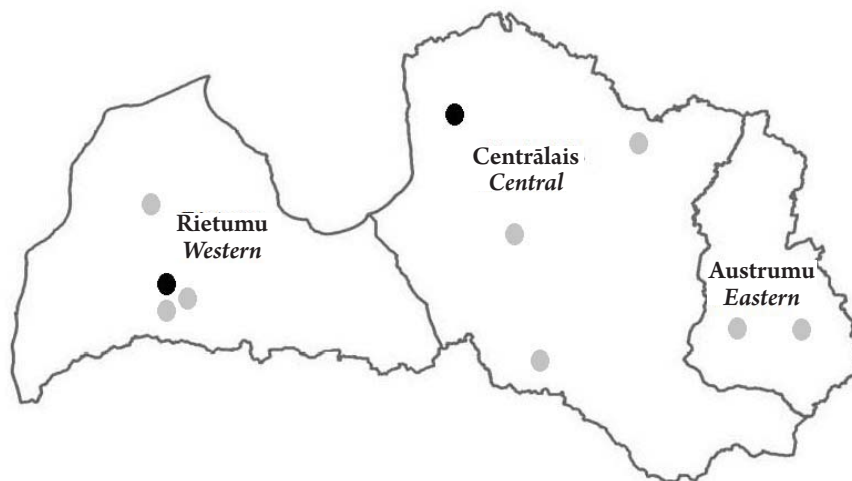
Sēkļu plantācijas pēcnācējus pārstāv vidējie sēkļu paraugi no Remtes (Kurzemes dienvidu daļa) un Katvaru (Vidzemes rietumu daļa) sēkļu plantācijām (attiecīgi 2001. un 1998. ražas gada sēklas), no kuriem izaudzētie stādi izmantoti pēcnācēju pārbaudžu stādījumumu ierīkošanai 2010. gadā. Šajos stādījumos, kas atrodas Meža pētīšanas stacijas Kalsnavas un Auces meža novados, pēc nejaušības principa izvēlēti 217 (Remtes plantācija) un 274 (Katvaru plantācija) koki, no kuriem ievākti skuju paraugi

DNS izdališanai. Remtes plantācijā sēklu ievākšanas laikā ražojošajā daļā (blokā) bija pārstāvēti 50 kloni, kas atbilst Ministru kabineta dokumentā „Noteikumi par meža reprodutīvo materiālu” (Noteikumi par meža..., 2003) definētajām prasībām pirmās kārtas sēklu plantāciju ierīkošanai, Katvaru plantācijas pamatblokā – 20 kloni, kas ir tuvu ieteiktajam jauno sēklu plantāciju ierīkošanai Skandināvijas valstīs (Lindgren & Prescher, 2005).

Ģenētiskās daudzveidības rādītāji sēklu plantāciju pēcnācējiem salīdzināti ar datiem, kas iegūti no pieaugušām egļu mežaudzēm rietumu – Pampāļi (SP), Kursiši (K), Kuldīga (KU), centrālajā – Zaube (ZA), Ape (ZV), Brieži (JB) un austrumu – Ludza (L), Malta (RM) – provenienču reģionā. Katru mežaudzi pārstāv 48 paraugi (Ruņģis *et al.*, 2006), kas iegūti no nejausi izvēlētiem, vidēji 100 m attālumā

augošiem kokiem (Ape, Kursiši), vai nejausi izvēlētiem digstiem no audzes vidējā sēklu parauga (pārējām audzēm).

DNS no egļu skujuām iegūta ar modificētu CTAB metodi (Doyle and Doyle, 1987). Audi sagrauti, izmantojot šķidro slāpekli, ekstrakcijas buferim tika pievienots polivinilpirolidons un beta-merkaptotetanolis, saskaņā ar Porebski *et al.* (1997) aprakstīto metodiku. Ņemot vērā iepriekš iegūtos rezultātus dabisko egļu populāciju ģenētiskās daudzveidības pētījumos (Ruņģis *et al.*, 2006), izvēlēti seši mikrosatelītu marķieri: SpAGC2 (Pfeiffer *et al.*, 1997), UAPgAG150 (Hodgetts *et al.*, 2001), WS0033.A18 (Rungis *et al.*, 2004), PAAC 17 (Scotti *et al.*, 2000), EAC7H07 (Scotti *et al.*, 2002), PaGB3 (Besnard *et al.*, 2003). Polimerāzes ķēdes reakcija veikta 20 µL reakcijas tilpumā šādā sastāvā: 50 ng DNS parauga, 1xTaq buferis (*Fermentas*), 2 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP,



1. attēls. Parastās egles provenienču reģioni un paraugu ievākšanas vietas.

Figure 1. Provenance regions of Norway spruce and locations of sampled stands and seed orchards.

Paskaidrojums / Legend: ● –sēklu plantācijas / seed orchards; ● –mežaudzes / forest stands.

0,2 µM praimera, 0,5 U Taq polimerāzes (*Fermentas*). Reakcijas apstākļi: sākotnējā denaturācija 3 minūtes 95°C; 38 reizes atkārtots cikls ar denaturāciju 20 sek. 95°C, praimeru hibridizāciju 20 sek. 50°C, sintēzi 20 sek. 72°C; beigu elongācija 10 minūtes 72°C. Amplifikācijas produkti atdalīti, izmantojot polimēru POP7-TM (*Applied Biosystems*) un vizualizēti ar ABI Prism 3130x-Avant Genetic Analyzer (*Applied Biosystems*), hromatogrammas analizētas ar GeneMapper v. 4. (*Applied Biosystems*). Paraugi bez datiem izņemti no analīzes. Daudzveidības indekss (DI) aprēķināts pēc formulas (Simpson, 1949):

$$DI = 1 - \sum pg^2, \text{ kur} \quad (1),$$

pg – noteikta genotipa frekvence.

Ģenētisko daudzveidību raksturojošie rādītāji (kā heterozigotāte, alēļu skaits u.c.) un tos raksturojošā statistika aprēķināta ar programmu GenAlEx v. 6.41 (Peakall & Mouse, 2006). To noteikšana veikta vairākas reizes: sākotnēji analizējot atsevišķi katras sēkļu plantācijas (Remte un Katvari) un katra provenienču reģiona (rietumu, centrālais un austrumu) mežaudžu datus un pēc tam integrēti analizējot abu plantāciju un visu mežaudžu datus, lai noskaidrotu dominējošo alēļu frekvenču izmaiņas.

Rezultāti

Pētījuma rezultātiem ir ievērojama praktiska nozīme, jo pirmo reizi Latvijā detalizēti raksturota sēkļu plantāciju pēcnācēju pielietošanas (meža stādīšana) sagaidāmā ietekme uz ģenētisko daudzveidību.

Iegūtie dati liecina, ka izmantotie marķieri ir piemēroti Latvijas egļu paraugu analīzei, jo tos raksturo augsts daudzveidības

indekss (DI), Šanona daudzveidības indekss un laba amplifikācijas kvalitāte, kā arī rezultāti ir salīdzināmi ar iepriekš veikto pētījumu datiem (1. tab.). Vērtējot 514 paraugus no Remtes (271) un Katvaru (243) plantācijām, identificētas 136 alēles. Atrasto alēļu skaits plantācijās svārstās robežās no 10 (UAPgAG150) līdz 33 (EAC7H07), fiksācijas indekss – no 0,042 (PaGB3) līdz 0,423 (WS0033.A18).

Pētījumā izmantotais dabiski atjaunojušos egļu audžu paraugu skaits bija mazāks nekā no sēkļu plantāciju pēcnācējiem iegūtais – kopā 379, tajā skaitā 139 no rietumu, 144 no centrālā un 96 no austrumu provenienču reģiona. Mazākais identificēto alēļu skaits bija lokusiem PaGB3 – 7 un UAPgAG150 – 9, bet lielākais, līdzīgi kā plantāciju pēcnācēju paraugiem, lokusam EAC7H07 – 34 alēles.

Augsta ģenētiskās daudzveidības pakāpe noteikta visās pētījumā iekļautajās grupās. Novērotā heterozigotāte (H_o) variēja no 0,58 līdz 0,66 un bija nedaudz zemāka par šim alēļu skaitam sagaidāmo (H_e) (2. tab.). Molekulārās variācijas analīze (AMOVA) visos gadījumos uzrādīja lielāku variāciju grupas (mežaudzes no noteikta reģiona vai sēkļu plantācijas pēcnācēji) individu starpā, nekā starp pašām grupām. Izmantojot 1000 permutāciju, variācija starp grupām sasniedza tikai 1 %.

Salīdzinot rezultātus starp sēkļu plantāciju pēcnācējiem un mežaudzēm, konstatēts, ka vidējais atrasto alēļu skaits nedaudz lielāks ir plantāciju pēcnācējiem, ko varētu skaidrot ar kopējo paraugu skaita atšķirībām, jo abām vērtētajām kopām novērotā heterozigotāte (H_o) neatšķiras.

1. tabula / Table 1

Egļu genotipu identificēšanai pielietoto mikrosatelītu marķieru raksturojums
Characteristics of microsatellite markers used for identification of spruce genotypes

Mikrosatelītu marķieris SSR marker	Garums, bp Length, bp	DI		I		Na	
		audz. stand	plant. orch.	audz. stand	plant. orch.	audz. stand	plant. orch.
SpAGC2	70-122	0,90	0,90	2,207	1,961	18	22
UAPgAG150	141-161	0,92	0,88	1,368	1,723	9	11
WS0033.A18	160-208	0,94	0,93	1,053	1,269	18	18
PAAC17	117-216	0,92	0,92	2,646	2,590	28	31
EAC7H07	102-188	0,95	0,94	3,166	2,964	35	35
PaGB3	103-133	0,88	0,89	1,435	1,999	10	14

Apzīmējumi / Legend:

Garums, bp – atrasto alēļu garums, bp / Length, bp – Length of identified alleles, bp;

audz. – vidējā vērtība mežaudzēm / stand – mean value for forest stands;

plant. – vidējā vērtība sēkļu plantāciju pēcnācējiem / orch. – mean value for seed orchard progenies;

DI – daudzveidības indekss / Diversity Index;

I – Šanona daudzveidības indekss / Shannon's Information Index;

Na – alēļu skaits / number of alleles.

2. tabula / Table 2

Ģenētiskās daudzveidības rādītāju vidējās vērtības
Mean values of genetic diversity parameters

Parametrs Parameter	Plantācijas Seed orchards		Mežaudzes Forest stands			Plantācijas Seed orchards	Mežaudzes Forest stands
	Remte	Katvari	R	C	A		
Na	19,1	19,5	16,33	17,33	14,67	21,5	19,5
Na ≥ 5 %	4,83	5,0	5,16	4,66	4,66	4,83	4,66
Ne	6,43	6,42	6,86	6,80	6,16	6,53	6,70
I	2,03	2,07	1,90	1,99	1,83	2,0	1,9
He	0,78	0,79	0,72	0,75	0,70	0,78	0,72
Ho	0,58	0,66	0,60	0,62	0,56	0,61	0,59
F	0,26	0,17	0,15	0,16	0,19	0,22	0,16

Apzīmējumi / Legend:

R – rietumu, C – centrālais, A – austrumu provenienču reģions / R – western, C – central, A – eastern provenance region;

Na – alēļu skaits / number of alleles;

Na ≥ 5 % – alēļu ar īpatsvaru ≥ 5 % skaits / number of alleles with frequency ≥ 5 %;

Ne – efektīvo alēļu skaits / number of effective alleles;

I – Šanona daudzveidības indekss / Shannon's Information Index;

He – sagaidāmā heterozigotāte / expected heterozygosity;

Ho – novērotā heterozigotāte / observed heterozygosity;

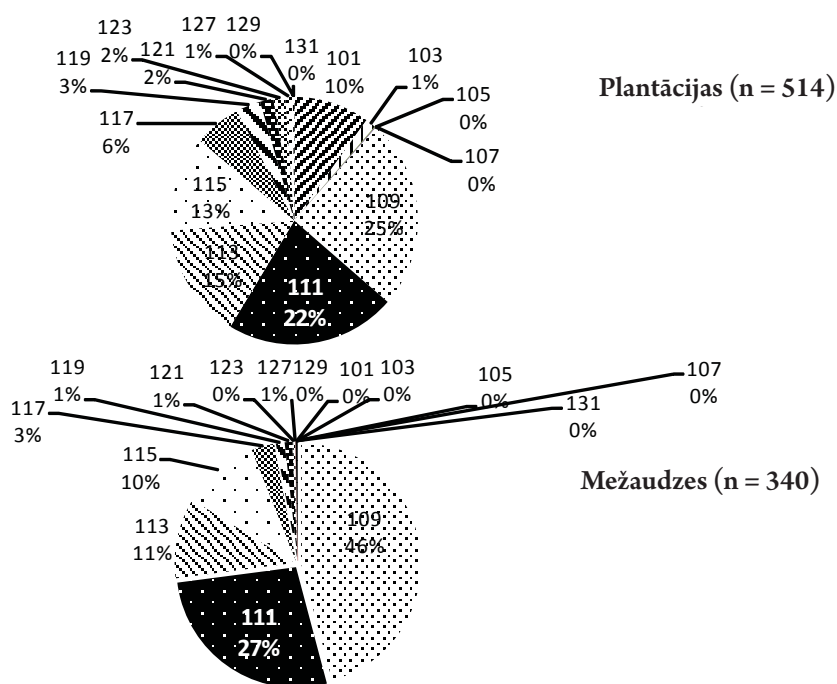
F – fiksācijas indekss / Fixation Index.

Atzīmējams, ka Katvaru plantācijas pēcnācējiem novērotā heterozigotāte ir nedaudz augstāka (2. tab.), arī unikālo alēļu skaits ir lielāks – 3,50 (3. att.) nekā Remtes plantācijas pēcnācējiem – 3,17. Mūsu iegūtie rezultāti atbilst citu pētījumu par dažādām skuju koku sugām datiem. Salīdzinot heterozigotāti mežaudžu un sēkļu plantācijas (134 kloni) pēcnācējiem, *Chaisurisri* un *El-Kassaby* (1994) nekonstatē būtiskas atšķirības. Līdzīgi Schmidting un Hipkins (1998) un Godt *et al.* (2001) secina, ka heterozigotāte mežaudzēm un sēkļu plan-

tācijām ar 28-40 kloniem neatšķiras.

Egļu sēkļu plantāciju pēcnācējiem konstatēts nedaudz palielināts biežāk sastopamo alēļu īpatsvars: rezultāti vienam lokusam atspoguļoti 2. attēlā; šāda tendence novērojama arī citiem lokusiem.

Efektīvo alēļu skaits uzrāda vienmērīgu frekvenču sadalījumu, kas spēj uzturēt doto heterozigotāti (Kimura & Crow, 1964). Mežaudzēm tas ir nedaudz augstāks ($N_e = 6,7$), salīdzinot ar sēkļu plantāciju pēcnācējiem ($N_e = 6,5$). Analizējot alēļu frekvenču sadalījumu, redzam, ka plantāciju



2. attēls. Lokusa PaGB3 alēļu frekvenču sadalījums egļu sēkļu plantāciju pēcnācējiem un dabiskajām mežaudzēm.

Figure 2. Comparison of allele frequencies for locus PaGB3 between spruce natural stands and progenies of seed orchards.

Apzīmējumi / Legend: Plantācijas – sēkļu plantācijas / Seed orchards;

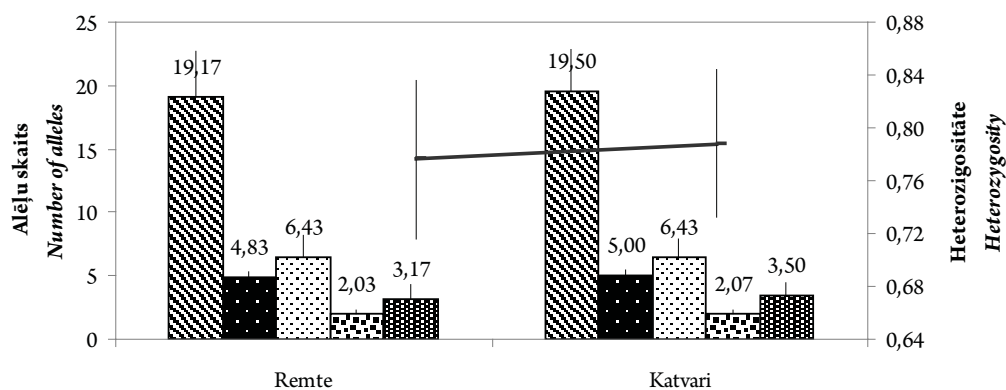
Mežaudzes – mežaudzes / Forest stands.

pēcnācējiem alēļu, ar frekvenci virs 5 %, skaits ir nedaudz paaugstināts, kas, iespējams, ietekmē arī efektīvo alēļu skaitu.

HWE tests starp plantācijas populācijām un audzēm uzrādīja, ka pēc visiem lokusiem šīs populācijas ir *Hardy-Weinberg* līdzsvarā ($p < 0,01$), kas liecina, ka, atlasot egles plantāciju izveidošanai, ģenētiskās daudzveidības sadalījums salīdzinājumā ar mežaudzēm būtiski nav izmainīts.

Citās valstīs veiktās skuju koku sēkļu plantāciju (klonu skaits no 28 līdz 134) paraugu analīzes liecina, ka tajās nav atrodamas atsevišķas, reti pārstāvētās alēles, kas ir mežaudžu paraugos, savukārt sēkļu







plantāciju pēcnācējiem konstatētas dažas tādas alēles, kas nav atrastas mežaudzēm (Chaisurisri & El-Kassaby, 1994; Godt *et al.*, 2001; Schmidting and Hipkins, 1998; Stoehr & El-Kassaby, 1997). Muona un Harju (1989) pētījumos par parasto priedi (plantācijas ar klonu skaitu 18-23) norāda, ka kopējais alēļu skaits plantācijās ir par 2-7 mazāks nekā mežaudzēs, taču sēkļu plantāciju pēcnācēju paaudzē – par 3-7 lielāks. Šo sakarību ietekmē gan dabiski notiekošās mutācijas, gan fona (mežaudžu) putekšņu līdzdalība sēkļu plantāciju apputeksnēšanā, kas priedei un eglei ir ievērojama – pat pieaugušām plantācijām ar



3. attēls. Remtes un Katvaru plantāciju pēcnācēju ģenētiskās daudzveidības rādītāju salīdzinājums.

Figure 3. Comparison of values of genetic diversity parameters between progenies of seed orchards „Remte” and „Katvari”.

Apzīmējumi / Legend:

-  Na – alēļu skaits / number of alleles;
-  Na ≥ 5 % – alēļu ar īpatsvaru ≥ 5 % skaits / number of alleles with frequency ≥ 5 %;
-  Ne – efektīvo alēļu skaits / number of effective alleles;
-  I – Šanona daudzveidības indekss / Shannon's Information Index;
-  No – unikālo alēļu skaits / number of private alleles;
-  He – sagaidāmā heterozigotāte / expected heterozygosity.

augstu ziedēšanas intensitāti tā var sasniegt līdz 40-60 % (Almqvist & Pulkkinen, 2005; Nilsson & Lindgren, 2005).

Veicot sēkļu plantācijas analīzi pēc klonu skaita, konstatēts, ka ievērojama un strauja ģenētiskās daudzveidības samazināšanās sākas tad, ja plantācijas efektīvais klonu skaits ir mazāks par 10 (Kang *et al.*, 2001). Kritēriju, ka plantācijā klonu skaitam jābūt lielākam par 10, kā ģenētiskās daudzveidības aizsardzības garantu izmanto atsevišķu koku sugu sēkļu plantāciju ierīkošanai Dānijā, kā arī Britu Kolumbijā, Kanādā (Stoehr *et al.*, 2004). Latvijā tik maza klonu skaita pielietošana nav notikusi un nav arī paredzēta.

Mūsu pētījuma rezultāti atbilst Wang *et al.* (1991) teorijai, ka situācijā, kad gēnu dreifa negatīvajai ietekmei uz ģenētisko daudzveidību pretdarbojas gan plantācijā izmantotais efektīvais klonu skaits, gan fona putekšņu ietekme, vienīgās izmaiņas ģenētiskās daudzveidības rādītājos var būt saistītas tikai ar reti pārstāvētām alēlēm. Iespēju konstatēt reti (1-5 % gadījumu) sastopamās alēles, kas var būt arī jaunas mutācijas, nosaka tieši ievāktu paraugu skaits (Godt *et al.*, 2001; Muona, Harju, 1989). Jāņem vērā, ka reti pārstāvētās alēles nav nozīmīgas mežaudzes ģenētiskās stabilitātes nodrošināšanā (Libby *et al.*, 1997), bet gan sugas izdzīvošanas stratēģijā. Piemēram,

pieņemot, ka vienam no 1000 kokiem ir noteikta alēle, kas izrādās kritiski svarīga rezistences nodrošināšanā pret kādu jaunu slimību – slimības gadījumā 999 koki aiziet bojā –, tātad mežaudzes faktiski vairs neeksistē, kaut arī 1 koks ir spējis izdzīvot. Šī koncepta ilustrēšanai minēsim praktisku gadījumu, kas pēdējo 30 gadu laikā noticis Eiropā: gobas ļoti lielā to areāla izplatības daļā ietekmēja t.s. „Holandes gobu slimība” (*Ceratocystis ulmi* (Buisman) C. Moreau), kā rezultātā koki nokalta – tika atrasti atsevišķi izdzīvojuši genotipi, kas izrādījās noturīgi pret šo slimību, tādējādi nodrošinot sugas saglabāšanos, taču katra konkrētā gobu mežaudze kļuva nevērtīga (neatkarīgi no plānotā izmantošanas mērķa).

Reti pārstāvētajām alēlēm var būt nozīmīga loma, tādēļ tās saglabā ģenētisko resursu mežaudzēs, uztur selekciju populācijā (kur genotipu skaits ir ievērojami lielāks nekā sēkļu plantācijās) un klonu arhīvos (Yanchuk, 2001). Šo alēļu saglabāšanos (un rašanos – jaunu dabisku mutāciju rezultātā) nodrošina arī dabiskā atjaunošanās kā dabas aizsardzībai atvēlētajās teritorijās, tā arī saimnieciski izmantojamajos mežos, kur platības tiek atstātas dabiskajai atjaunošanai (tai skaitā, piemēram, saglabājot paaugu).

Secinājumi

1. Starp egļu sēkļu plantāciju pēcnācējiem un mežaudzēm nav konstatētas nedz novērotās heterozigotātes (Ho), nedz daudzveidības indeksa (DI) un Šanona daudzveidības indeksa (I) vērtību būtiskas atšķirības (attiecīgi plantāciju pēcnācējiem Ho = 0,61, DI = 0,92 un I = 2,0, mežaudzēm Ho = 0,59, DI = 0,91 un I = 1,9). Tas liecina, ka egles sēkļu plantāciju pēcnācēju izmantošana meža atjaunošanai nemazina jauno audžu ģenētisko daudzveidību.

2. Konstatēts, ka Remtes (50 kloni) un Katvaru (20 kloni) sēklu plantāciju pēcnācēju ģenētiskās daudzveidības rādītājiem nav būtisku atšķirību. Tas liecina, ka no ģenētiskās daudzveidības saglabāšanas viedokļa ir pieļaujama sēklu plantāciju ar 20 kloniem izmantošana.

Pateicība: pētījums veikts LVMI Silava realizētā ESF projekta „Ģenētisko faktoru nozīme adaptētīes spējīgu un pēc koksnes īpašībām kvalitatīvu mežaudžu izveidē” (Nr. ESF 2009/0200/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/146) ietvaros.

Literatūra

- Almqvist, C., Pulkkinen, P. (2005). Improved utilization of the internal pollen production in a *Pinus sylvestris* seed orchard by the use of a mist blower. In: Fedorkov, A. (ed.) Status, monitoring and targets for breeding programs: Proceedings of the Meeting of Nordic Tree Breeders and Forest Geneticists, Syktyvkar, Komi Republic, Russia, September 13-15, 2005, pp. 79-80.
- Besnard, G., Achere, V., Rampant, F. P., Favre, J. M., Jeandrozs, S. (2003). A set of cross-species amplifying microsatellite markers developed from DNA sequence databanks in *Picea* (*Pinaceae*). *Molecular Ecology Notes*, 3, 380-383.
- Chaisurisri, K., El-Kassaby, Y. A. (1994). Genetic diversity in a seed production population vs. natural populations of Sitka Spruce. *Biodiversity and Conservation*, 3, 512-523.
- Doyle, J. J., Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.
- Gailis, A. (2005). Meža reproduktīvā materiāla pārvietošanas ietekme uz mežaudžu produktivitāti un kvalitāti: Meža attīstības fonda projekta pārskats. LVMI Silava, Salaspils, 42 lpp.
- Godt, M. J. W., Hamrick, J. L., Edwards-Burke, M. A., Williams, J. H. (2001). Comparison of genetic diversity in white spruce (*Picea glauca*) and jack pine (*Pinus banksiana*) seed orchards with natural populations. *Canadian Journal of Forest Research*, 31, 943-949.
- Hodgetts, R. B., Aleksiuk, M. A., Brown, A., Clarke, C., Macdonald, E., Nadeem, S., Khasa, D. (2001). Development of microsatellite markers for white spruce (*Picea glauca*) and related species. *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 1252-1258.
- Kang, K. S., Harju, A. M., Lindgren, D., Nikkanen, T., Almqvist, C., Suh, G. U. (2001). Variation in effective number of clones in seed orchards. *New Forests*, 21, 17-33.
- Kimura, M., Crow, J. F. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49, 725-738.
- Libby, W. J., Bridgwater, F., Lantz, C., White, T. (1997). Genetic diversity in commercial forest tree plantations: introductory comments to the 1994 SRIEG meeting papers. *Canadian Journal of Forest Research*, 27, 397-400.
- Lindgren, D., Prescher, F. (2005). Optimal Clone Number for Seed Orchards with Tested

- Clones. *Silvae Genetica*, 54 (2), 80-92.
- Muona, O., Harju, A.** (1989). Effective Population Sizes, Genetic Variability, and Mating Systems in Natural Stands and Seed Orchards of *Pinus sylvestris*. *Silvae Genetica*, 38, 221-228.
- Nilsson, J.-E., Lindgren, D.** (2005). Using seed orchard seed with unknown fathers. In: Fedorkov, A. (ed.) Status, monitoring and targets for breeding programs: Proceedings of the Meeting of Nordic Tree Breeders and Forest Geneticists, Syktyvkar, Komi Republic, Russia, September 13-15, 2005, pp. 57-64.
- Noteikumi par meža reprodūktīvo materiālu (2003). Latvijas Republikas Ministru kabinets, Nr. 648, Rīga, 32 lpp.
- Paul, M., Hinrichs, T., Janssen, A., Schmitt, H. P., Soppa, B., Stephan, B. R., Dörflinger, H.** (2000). Konzept zur Erhaltung and nachhaltigen Nutzung forstlicher Genressourcen in der Bundesrepublik Deutschland. Bestätigt durch die Forstchefkonferenz am 26./27.10.2000. in Augsburg. Neufassung. 66 b.
- Peakall, R., Smouse, P. E.** (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Pfeiffer, A., Olivieri, A. M., Morgante, M.** (1997). Identification and characterization of microsatellites in Norway spruce (*Picea abies* K.). *Genome*, 40, 411-419.
- Porebski, S., Bailey, L. G., Baum, B. R.** (1997). Modification of a CTAB DNA Extraction Protocol for Plants Containing High Polysaccharide and Polyphenol Components. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15, 8-15.
- Rungis, D., Bérubé, Y., Zhang, J., Ralph, S., Ritland, C. E., Ellis, B. E., Douglas, C., Bohlmann, J., Ritland, K.** (2004). Robust simple sequence repeat markers for spruce (*Picea* spp.) from expressed sequence tags. *Theoretical and Applied Genetics*, 109, 1283-1294.
- Ruņģis, D., Veinberga, I., Šķipars, V., Gailis, A.** (2006). Meža koku populāciju ģenētiskās daudzveidības un to izcelsmes noteikšana ar molekulāro marķieru palīdzību: Meža attīstības fonda projekta pārskats. LVMI Silava, Salaspils, 61 lpp.
- Schmidtling, R. C., Hipkins, V.** (1998). Genetic diversity in longleaf pine (*Pinus palustris*): influence of historical and prehistorical events. *Canadian Journal of Forest Research*, 28, 1135-1145.
- Scotti, I., Magni, F., Fink, R., Powell, W., Binelli, G., Hedley, P. E.** (2000). Microsatellite repeats are not randomly distributed within Norway spruce (*Picea abies* K.) expressed sequences. *Genome*, 43, 41-46.
- Scotti, I., Paglia, G. P., Magni, F., Morgante, M.** (2002). Efficient development of dinucleotide microsatellite markers in Norway spruce (*Picea abies* Karst.) through dot-blot selection. *Theoretical and Applied Genetics*, 104, 1035-1041.
- Simpson, E. H.** (1949). Measurement of diversity. *Nature*, 163, 688 p.
- Stoehr, M. U., El-Kassaby, Y. A.** (1997). Levels of genetic diversity at different stages of the

- domestication cycle of interior spruce in British Columbia. *Theoretical and Applied Genetics*, 94, 83-90.
- VMD Meža statistika (2012a). [WWW dokuments] – URL <http://www.vmd.gov.lv/?sadala=762> [izdrukāts 2012. gada 1. novembrī].
- VMD MRMIA reģistra uzturēšana (2012b). [WWW dokuments] – URL <http://www.vmd.gov.lv/?sadala=589> [izdrukāts 2012. gada 1. novembrī].
- VMD Skaitļi un fakti (2012c). [WWW dokuments] – URL <http://www.vmd.gov.lv/?sadala=363> [izdrukāts 2012. gada 1. novembrī].
- Valsts meža dienests. Meža selekcija un ģenētika (1999). et Cetera, Rīga, 14 lpp.
- Wang, X-R., Lindgren, D., Szmidt, A. E., Yazdani, R.** (1991). Pollen Migration Into a Seed Orchard of *Pinus sylvestris* L. and the Methods of its Estimation using Allozyme Markers. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 6, 379-385.
- Yanchuk, A. D.** (2001). A quantitative framework for breeding and conservation of forest tree genetic resources in British Columbia. *Canadian Journal of Forest Research*, 31, 566-576.