

Intensīvi izretināto jaunaudzžu ģenētiskās savdabības briestaudžu vecumā

D. Ruņģis¹, I. Veinberga¹, P. Zālītis^{1}*

Ruņģis, D., Veinberga, I., Zālītis, P. (2009). Genetic analysis of intensively thinned young stands at pre-mature age. *Mežzinātne / Forest Science* 19(52): 64-81.

Kopsavilkums: Izretinātajās jaunaudzēs līdz 15 m augstumam audzes krāja visbiežāk ir nedaudz mazāka par neretināto audžu krāju. Tālākā augšanas gaitā krājas rādītāji pakāpeniski izlidzinās, un audzēs, kas augstākas par 20 m, jaunībā izretināto audžu krājas signifikanti pārsniedz neretināto audžu krāju. Vienlaicīgi izpaužas arī atšķirības starp izretināto audžu krājām a/s "Latvijas valsts meži" dažādās mežsaimniecībās. Analīzes rezultāti liecina, ka krājas atšķirības vienāda augstuma audzēs nav skaidrojamas ar augšanas apstākļu (sausieņu meži, kūdreņi, āreņi) nesakritību. Saglabājas hipotēze, ka agrā jaunībā izretināto audžu krājas atšķirības (valdaudzes koku skaits un ar to saistītais šķērslaukums) nosaka šo audžu ģenētiskās savdabības.

Hipotēzes pārbaudei priežu un egļu mežos 2008. gada vasarā izvēlētas pavisam 12 audzes, no kurām 6 raksturo īpaši produktīvas un otras 6 savukārt mazāk produktīvas meža ekosistēmas ar 25-30 m augstām kokaudzēm.

Ikvienas audzes ģenētisko savdabību analīzei ievākti paraugi no 50 valdaudzes kokiem, izslēdzot trešās Krafra klases tievākos kokus. Tādējādi gan ražīgākās, gan mazāk ražīgās priežu audzes kopumā raksturotas ar 150 kokiem, kam fiksēti caurmēri. Statistiskie aprēķini liecina, ka ražīgāko audžu vidējais caurmērs $D=36,2$ cm; mazāk ražīgo – $D=28,1$ cm. Līdzīgi svārstās arī audžu vidējie augstumi – 28,4 m un 27,2 m. Statistiskās atšķirības ir signifikantas, taču nav pārsteidzoši lielas. Ražību galvenokārt ietekmē valdaudzes koku skaits (627 gab. ha^{-1} un 511 gab. ha^{-1}) un šķērslaukums G ($68 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$ un $32 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$). No šiem parametriem izriet audžu vidējās krājas neparedzētās atšķirības – $860 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ un $392 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, kas rosina analizēt audžu ģenētiskās savdabības, meklējot to lomu valdaudzes koku skaita un šķērslaukuma īpatnējā noturībā laika gaitā.

Līdzīgi kā priežu mežos ģenētiskai analīzei nodoti 300 koku paraugi no 6 egļu nogabaliem – pa 150 paraugiem no ražīgām un mazāk ražīgām audzēm. Aprēķini liecina, ka ražīgajās audzēs valdaudzes koku vidējais caurmērs $D=25,3$ cm, bet mazāk ražīgajās audzēs valdaudzes koku vidējais caurmērs ir signifikanti lielāks – $D=32,3$ cm. Ražīgajās audzēs valdaudzes koki ir nedaudz slaidāki, un to vidējais augstums $H=27,2$ m, bet mazāk ražīgās audzēs $H=26,9$ m. Neraugoties uz palielinātu stumbru slaidumu un mazāku vidējo caurmēru, ražīgākajās audzēs ir saglabāties aptuveni 2,5 reizes lielāks koku skaits nekā mazāk ražīgās – $1107 \text{ gab. ha}^{-1}$ un 435 gab. ha^{-1} . Tieši valdaudzes koku skaits nodrošina lielāku šķērslaukumu $G - 59 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$ un

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

35 m²ha⁻¹, kā arī lielāku vidējo krāju – 764 m³ha⁻¹ un 450 m³ha⁻¹. Tāpat kā priežu mežos, arī egļu mežos uzdevums ir analizēt ģenētiskās savdabības ražībā atšķirīgajās audzēs.

Ģenētiskā savdabība šajās ražībā (valdaudzes koku skaits, šķērslaukums un koksnes krāja) atšķirīgajās priežu un egļu audzēs analizēta, izmantojot hloroplastu DNS mikrosatelītu marķierus, kas uzrāda mazāku ģenētisko daudzveidību populāciju ietvaros, toties sniedz vairāk informācijas par starppopulāciju ģenētiskajām atšķirībām.

Materiāls DNS izdalīšanai ievākts ar Preslera urbi apm. 2–5 cm dziļumā zem koka kambija slāņa.

Egļu audžu ģenētiskā analīze veikta ar pieciem praimeriem. Analizējamās egļu audzes sadalītas divās populācijās – ražīgās un mazāk ražīgās, un fiksētas ar katru praimeru atrastās alēles un to frekvences.

Izvērtējot populāciju vidējos datus ar GenAlEx6,1 programmu, iegūti galvenie populācijas ģenētisko daudzveidību raksturojošie parametri, kas liecina, ka ražīgākās populācijas (R) ģenētiskā daudzveidība ir nedaudz zemāka nekā mazāk ražīgās (mR).

Veicot AMOVA (molekulārās variācijas analīze) konstatēts, ka 90% ģenētiskās variācijas atrodas abu populāciju iekšienē un 10% starp populācijām. Sadalot šos atsevišķo audžu ģenētiskos attālumus pēc galvenajām koordinātēm, noskaidrots, ka ražīgās un mazāk ražīgās audzes sadalās atsevišķās grupās, turklāt tās ir nedaudz atšķirīgas arī savstarpēji.

Ģenētiskie attālumi sagrupēti dendrogrammā, izmantojot UPGMA metodiku, un rāda, ka mazāk ražīgās un ražīgākās populācijas veido atsevišķus klāsterus. Lietderīgi atzīmēt, ka objektu grupējums klāsterī, kas formāli izveidots pēc marķieru rādītājiem, pilnā mērā sakrīt ar objektu ranžējumu pēc kokaudzes krājas, t.i., ar ļoti svarīgu informāciju, kas netika izmantota, veidojot klāsteri.

Tāpat kā egļu audzēs, arī ražīgākās priežu populācijās (R) ģenētiskā daudzveidība ir tomēr nedaudz zemāka nekā mazāk ražīgās (mR).

Veicot AMOVA (molekulārās variācijas analīze) atrasts, ka 98% ģenētiskās variācijas atrodas abu populāciju iekšienē un tikai 2% starp populācijām. Sadalot atsevišķo audžu ģenētiskos attālumus pēc galvenajām koordinātēm, noskaidrots, ka ražīgās un mazāk ražīgās priežu audzes izteikti nesadalās atsevišķās grupās.

Ģenētiskie attālumi sagrupēti dendrogrammā, izmantojot UPGMA metodiku, un rāda, ka klāsterus veido jauktas populācijas – populācijas ar līdzīgiem ģenētiskajiem attālumiem ir visai atšķirīgas kokaudžu ražības aspektā.

Nozīmīgākie vārdi: sastāva kopšanas cirte, kokaudzes ražība, ģenētiskā daudzveidība.

...

Ruņģis, D., Veinberga, I., Zālītis, P., LSFRI „Silava”. **Genetic analysis of intensively thinned young stands at pre-mature age.**

Abstract: Recently, as a result of a better understanding about the development of forest stands, and due to a sharp reduction in the proportion of overgrown young stands, it is necessary to significantly modify the current regulations governing commercial thinning activities. Data

from repeated measurement of sample plots show that leaving 1500-2000 trees per hectare during early pre-commercial thinning, does not influence the dominant stand tree number up to 18-20 m in height, and that all remaining trees continue to be productive. In these types of stands, the basal area of the dominant stand considerably surpasses the 1985 thinning regulations governing the size of the remaining basal area. Therefore the use of these regulations when planning commercial thinning in these pre-thinned young stands would be incorrect.

However, even in appropriately managed stands, an intermediate stand develops, and considerations about the usefulness of removing this are primarily economic. Currently, there is insufficient data available to predict when these intermediate stands will develop, what the parameters of the trees found in these intermediate stands are, and what is the most efficient commercial thinning regime for modernly managed forest stands.

Starting thinning from below in 30-40 year old spruce stands, every removed tree must have commercial value. Therefore the advantageousness of pre-commercial thinning is determined by projected stand parameters – average diameter, average height, tree number and calculated yield.

The yield of thinned young stands up to 15 m height is often slightly lower than of unmanaged stands. During further growth, the yield indices gradually equalise, and in stands over 20 m in height, the yield of thinned stands significantly surpasses that of unmanaged stands. Yield differences have been noted between thinned stands of similar height in different a/s “Latvijas valsts meži” (Latvian State Forests) forestries, which cannot be explained by differences in growth habitat. It may be possible that these yield differences (number of dominant stand trees and their basal area) are a result of genetic differences between these stands.

To test this hypothesis, six pine and six spruce stands were analysed in the summer of 2008. All stands were 25-30 m high, and for each species three stands were exceptionally high yielding, while three were lower yielding. For each stand, 50 individuals were sampled from the dominant stand, ignoring trees of Kraft class 3 and below. The diameters and heights of these 300 individuals from both high yielding and lower yielding stands were determined.

For the pine stands, the average tree diameter in high yielding stands was 36,2 cm; in lower yielding stands – 28,1 cm. Average heights were 28,4 m in the high yielding stands, and 27,2 m in the lower yielding stands. These differences are statistically significant, although not surprisingly large. The yield differences were mainly influenced by dominant stand tree number (627 ind.ha⁻¹ vs 511 ind.ha⁻¹) and basal area G (68 m²ha⁻¹ vs. 32 m²ha⁻¹). Consequently, the average yield of these more productive and less productive stands showed a remarkable difference: 860 m³ha⁻¹ vs. 392 m³ha⁻¹, which led to the genetic analysis of these stands, to determine if genetic parameters may account for these yield differences.

In the analysed spruce stands, the average tree diameter in high yielding stands was 25,3 cm; however, in lower yielding stands, the diameter was significantly higher – 32,3 cm. Average heights were 27,2 m in the high yielding stands, and 26,9 m in the lower yielding stands. Dominant stand tree number was 2,5 times higher in the more productive stands: 1107 ind.ha⁻¹

vs 435 ind.ha⁻¹, which influences the basal area G (59 m²ha⁻¹ vs. 35 m²ha⁻¹) and the the average yield: 764 m³ha⁻¹ vs. 450 m³ha⁻¹. Genetic analysis was undertaken of these stands to determine if any genetic basis for these differences could be identified.

Genetic analysis was undertaken using chloroplast SSR markers. Chloroplasts are paternally inherited in conifers, and the chloroplast genome does not undergo recombination, and therefore these markers are expected to show lower levels of polymorphism within populations, while uncovering higher levels of population differentiation.

Wood samples for DNA extraction were obtained using a Presler drill from approximately 2-5 cm beneath the cambium.

Analysis of the spruce stands was done using five chloroplast markers. The sampled stands were divided into two populations – more productive (R) and less productive (mR) stands. Mean genetic diversity parameters obtained from these two populations show that genetic diversity in the more productive (R) stands is lower than in the less productive stands (mR). Analysis of molecular variance (AMOVA) calculations showed that 90% of genetic variation was found within populations, and 10% between populations. Analysis of Nei's genetic distances between individual stands shows that the more productive stands cluster separately from the less productive stands.

Analysis of the pine stands was done using three chloroplast primers. The mean genetic diversity parameters obtained show that genetic diversity in the more productive (R) stands is lower than in the less productive stands (mR), however this difference is less pronounced than between the spruce populations. AMOVA analysis showed much lower population differentiation (98% within populations, 2% between populations), and analysis of Nei's genetic distances between individual stands did not reveal clustering according to yield, as was found for the spruce stands.

In conclusion, a larger amount of genetic differentiation and differences in polymorphism were found in the spruce stands analysed. This may be due to the fact that the spruce stands were analysed with five chloroplast markers, while the pine stands were analysed with only three. Additionally, due to improvements in the DNA extraction methods, the quality of the DNA was higher for spruce, which allowed for analysis of larger numbers of individuals with more chloroplast markers. However, the yield analysis for spruce revealed a larger discrepancy between yield and tree numbers per hectare. Further analysis of additional stands, utilising a larger number of markers is required, in order to determine any genetic component in the yield differences between intensively thinned young pine and spruce stands.

Key words: pre-commercial thinning, stands productivity, genetic variation.

...

Руңгис Д., Вейнберга И., Залитис П., ЛГИАН «Силава». **Своеобразие продуктивности интенсивно прореженных молодняков.**

Резюме: Данные повторного измерения параметров древостоя на постоянных пробных площадях свидетельствуют о том, что небольшое число деревьев

(1500-2000 шт.га⁻¹), оставленных при рубке осветления, не меняется и подчиненный ярус не образуется до достижения 18-20 м по высоте господствующего яруса. При такой высоте запас древесины в древостоях прореженных молодняков существенно превышает запас древесины господствующего яруса в древостоях, где не проводилось интенсивное прореживание.

Изучая продуктивность 421 прореженного насаждения, выявились существенные различия между параметрами древостоев (число деревьев господствующего яруса, площадь поперечного сечения, запас древесины) при одинаковой высоте древостоя, но произрастающих в различных лесхозах государства. Различия продуктивности не объясняются разными условиями роста: леса на суходоле, осушенные леса на торфяных или гидроморфных минеральных почвах. Сохраняется гипотеза, что различия определяются генетическими особенностями насаждений.

Генетическое своеобразие насаждений изучено путем анализа структуры молекулярных маркеров в древесине всего 600 деревьев сосны и ели – по 300 деревьев в более продуктивном и менее продуктивном лесах.

В более продуктивных сосновых лесах средняя высота древостоя $H=28,4$ м, а в менее продуктивных $H=27,2$ м; средний диаметр $D=36,2$ см и $28,1$ см, число деревьев 627 шт.га⁻¹ и 511 шт.га⁻¹; поперечное сечение $G=68$ м²га⁻¹ и 32 м²га⁻¹; запас древесины $V=860$ м³га⁻¹ и 392 м³га⁻¹. Генетические параметры свидетельствуют, что генетическое многообразие в более продуктивных насаждениях немного ниже, чем в менее продуктивных насаждениях. Генетическая разновидность очень высокая (98%) внутри отдельных популяций; между популяциями только 2%.

В еловых лесах более продуктивные и менее продуктивные насаждения характеризуются следующими параметрами: средняя высота $H=27,2$ м и $26,9$ м; средний диаметр $D=25,3$ см и $32,3$ см, число деревьев 1107 шт.га⁻¹ и 435 шт.га⁻¹; поперечное сечение $G=59$ м²га⁻¹ и 35 м²га⁻¹; запас древесины $V=764$ м³га⁻¹ и 450 м³га⁻¹. Подобно сосновым насаждениям генетическое многообразие ниже в более продуктивных еловых лесах. Генетическая разновидность на 90% образуется внутри популяции и на 10% между популяциями. Таким образом путем изучения генетического многообразия в насаждениях приспевающего возраста, в которых в молодом возрасте проведено интенсивное осветление, территориальные различия относительно продуктивности древостоя лишь частично объясняются генетическим своеобразием.

Ключевые слова: осветление, продуктивность насаждения, генетическое многообразие.

Ievads

Krājas kopšanas cirtes intensitāti reglamentē atstājamās valdaudzes stumbru šķērslaukums, kura skaitliskās vērtības fiksētas 1985. gadā apstiprinātajos Papildinātajos norādījumos par kopšanas cirtēm. Norādījumos iekļautie atstājamās un tād arī izcērtamās kokaudzes daļas parametri aprēķināti, izmērot tolaik dominējošās audzes, kas veidojušās no pārbiezinātām jaunaudzēm (vismaz 10000 kociņu uz 1 ha). Pirmā un intensīvākā krājas kopšanas cirte tika plānota 30-40 gadus vecās audzēs, kur valdaudzes augstums ir aptuveni 15 m, izcērtot 50-70 m³ sikkoksnes no hektāra, ar atkārtojumu pēc 20 gadiem un iecerēto audzes krāju cērtamā vecumā aptuveni 300 m³ha⁻¹.

Pēdējos gados, labāk izprotot kokaudzes veidošanās likumsakarības un mežos krasi samazinoties pārbiezināto jaunaudžu īpatsvaram, izvirzās nepieciešamība būtiski koriģēt Papildinātajos norādījumos fiksētos atstājamās un līdz ar to arī izcērtamās audzes daļas parametrus. Mūsu rīcībā esošo parauglaukumu atkārtotās pārmērīšanas dati liecina, ka, agrīnajās sastāva kopšanas cirtēs atstājot 1500-2000 kociņu uz vienu hektāru, valdaudzes kociņu skaits audzē nemainās līdz 18-20 m augstumam, un visi atstātie koki intensīvi ražo. Šādās audzēs valdaudzes faktiskais šķērslaukums krietni pārsniedz 1985. gada Norādījumos fiksētos atstājamās daļas lielumus, un to ievērošana, plānojot krājas kopšanas cirtes sākotnēji retās (izretinātās) jaunaudzēs, vērtējama kā mežsaimnieciska kļūda.

Visi līdzšinējie jaunaudžu augšanas gaitas pētījumi, kas balstīti uz jaunaudzes

parametru atkārtotu pārmērīšanu ilgākā laika periodā, liecina, ka iepriekš minētā biežuma jaunaudžu veidošana un audzēšana ir rupja kļūda, ko apstiprina šādas atziņas:

1) jo retākas ir skuju koku kultūras, jo lielāka ir nobriedušu audžu krāja (Vyskot, 1978; Богачев, 1985; Юодвалькис, Озолинчюс, 1987; Капев, 1998; Zeide, 2004; Zālītis, 2006). Lietderīgi atzīmēt, ka vairumā gadījumu autori par retām uzskata kultūras ar sākotnējo kociņu skaitu 5000 gab.ha⁻¹; par biežām – 20000 gab.ha⁻¹. Kociņu skaita samazināšana līdz 5000 gab.ha⁻¹ neiezīmē būtisku briestaudzes krājas pieaugumu, un nevar apgalvot, ka šāds kultūru biežums būtu zemākā praksē pieļaujamā robeža.

2) Koku skaits kā audzes augstuma funkcija realizējas vienīgi pārbiezinātās audzēs, kur norisinās asa konkurence starp atsevišķiem kociņiem (Кайрюкштитс, Юодвалькис, 1976; Abetz, 1981; Рябоконь, 1991; Zālītis, Libiete, 2008). Ja sākotnējais kociņu skaits nepārsniedz 3000 gab.ha⁻¹, tad 18 gadu laikā līdz 8 m augstumam saglabājas visas ieaugušās eglītes un 30 gadus vecās audzēs valdaudzi veido 72% no dzīvajiem kokiem, bet ja sākotnējais kociņu skaits sasniedz 20000 gab.ha⁻¹, pēc 30 gadiem valdaudzē ieskaitāms tikai 31% no dzīvajiem kokiem.

3) Retākās kultūrās koki ir augstāki, resnāki un ar labāk veidotu vainagu, mazāk cieš no sakņu trapes; apakšējo zaru nokalšana un nolūšana retās kultūrās notiek biežākām kultūrām līdzīgā režīmā (Brünig, Heuveldop, 1976; Vyskot, 1978; Рябоконь, 1991; Zālītis T., Zālītis P., 2007). Retākās egļu kultūrās kociņu rindstarpās ilgstoši saglabājas labas lakstaugu un pameža krūmu ganības meža zvēriem, kamēr pārbiezinātās jaunaudzes veido

nedzīvus biezokņus bez pameža un zemsedzes (Kalchreuter, 1977).

Materiāls un metodika

Izretinātajās jaunaudzēs līdz 15 m augstumam audzes krāja visbiežāk ir nedaudz mazāka par neretināto audžu krāju (Zālītis, Libiete, 2008). Tālākā augšanas gaitā krājas pakāpeniski izlīdzinās un audzēs, kas augstākas par 20 m, jaunībā izretināto audžu krājas signifikanti pārsniedz neretināto audžu krāju. Vienlaicīgi izpaužas arī krājas atšķirības starp izretināto audžu krājām a/s LVM dažādās mežsaimniecībās. Analīzes rezultāti liecina, ka krājas atšķirības vienāda augstuma audzēs nav skaidrojamas ar augšanas apstākļu (sausieņu meži, kūdreņi, āreņi) nesakritību. Saglabājas hipotēze, ka agrā jaunībā izretināto audžu krājas atšķirības (valdaudzes koku skaits un ar to saistītais šķērslaukums) saistītas ar šo audžu ģenētiskajām savdabībām.

Hipotēzes pārbaudei priežu un egļu mežos 2008. gada vasarā izvēlētas pavisam 12 audzes, no kurām 6 raksturo īpaši produktīvas, savukārt otras 6 – mazāk produktīvas meža ekosistēmas ar 25-30 m augstām kokaudzēm.

Augstražīgas **priežu** audzes izvēlētas Zemgales MS (Z) Klīves (R1) un Līvberzes (R2) meža iecirkņos, kā arī Ziemeļkurzemes MS (ZK) Ventirbes (R3) iecirknī. Izvēlēto audžu krāja svārstās $693 \text{ m}^3\text{ha}^{-1}$ – $965 \text{ m}^3\text{ha}^{-1}$ robežās. Mazāk ražīgas no izretinātajām jaunaudzēm izaugušās audzes pārstāv Dienvidlatgales MS (DL) Nīcgales (mR3), Sēlpils (mR1) un Sīlenes (mR2) meža iecirkņus ar krājām $355 \text{ m}^3\text{ha}^{-1}$ – $453 \text{ m}^3\text{ha}^{-1}$ robežās.

Īpaši augstražīgas **egļu** audzes izvēlētas Austrumvidzemes MS (AV) Pededzes (R1), Sikšņu (R2) un Strenču (R3) meža iecirkņos

ar krāju $656 \text{ m}^3\text{ha}^{-1}$ – $851 \text{ m}^3\text{ha}^{-1}$ robežās. Mazāk ražīgas raksturo Ziemeļkurzemes MS (ZK) Vanemas (mR1, mR2, mR3) iecirkņa trīs audzes ar krāju $280 \text{ m}^3\text{ha}^{-1}$ – $542 \text{ m}^3\text{ha}^{-1}$.

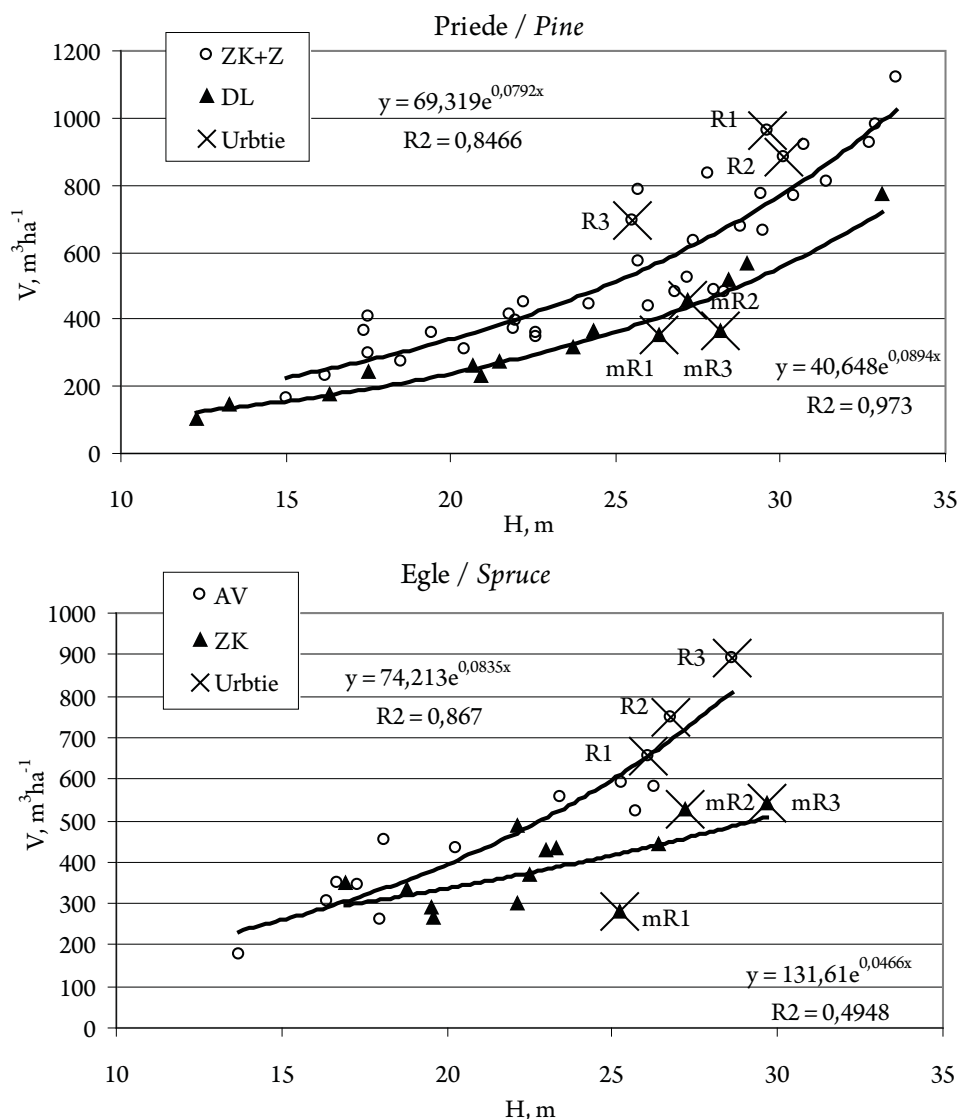
Lietderīgi atzīmēt, ka minētajās audžu paraugkopās (populācijās) krājas atšķirības neparādās tikai 25-30 m augstās audzēs, bet raksturo visu augšanas gaitu (1. att.).

Ikvienas audzes ģenētisko savdabību analīzei mežā ievākti paraugi no 50 valdaudzes kokiem, izņemot trešās Krafta klases tievākos kokus. Tādējādi gan ražīgākās, gan mazāk ražīgas priežu audzes kopumā raksturo 150 koki ar fiksētiem stumbru caurmēriem. Statistiskie aprēķini liecina, ka ražīgāko audžu vidējais caurmērs $D=36,2 \text{ cm}$; mazāk ražīgo $D=28,1 \text{ cm}$. Līdzīgi svārstās arī audžu vidējie augstumi: 28,4 m un 27,2 m. Statistiskās atšķirības ir signifikantas, taču nav īpaši lielas. Ražību galvenokārt ietekmē valdaudzes koku skaits (627 gab.ha^{-1} un 511 gab.ha^{-1}) un šķērslaukums G ($68 \text{ m}^2\text{ha}^{-1}$ un $32 \text{ m}^2\text{ha}^{-1}$). No šiem parametriem izriet audžu vidējās krājas neparedzētās atšķirības: $860 \text{ m}^3\text{ha}^{-1}$ un $392 \text{ m}^3\text{ha}^{-1}$, kas rosina analizēt audžu ģenētiskās savdabības, meklējot to lomu valdaudzes koku skaita un šķērslaukuma īpatnējā noturībā laika gaitā.

Līdzīgi kā priežu mežos ģenētiski analizēti 300 koku paraugi no 6 egļu nogabaliem – pa 150 paraugiem no ražīgām un mazāk ražīgām audzēm. Aprēķini liecina, ka ražīgajās audzēs valdaudzes koku vidējais caurmērs $D=25,3 \text{ cm}$, bet mazāk ražīgajās valdaudzes koku vidējais caurmērs ir signifikanti lielāks – $D=32,3 \text{ cm}$. Ražīgajās audzēs valdaudzes koki ir nedaudz slaidāki, un to vidējais augstums $H=27,2 \text{ m}$, bet mazāk ražīgās audzēs $H=26,9 \text{ m}$. Neraugoties

uz palielinātu slaidumu un mazāku vidējo caurmēru, ražīgākajās audzēs saglabājies aptuveni 2,5 reizes lielāks koku skaits nekā mazāk ražīgajās: 1107 gab.ha⁻¹ un 435 gab.ha⁻¹. Tieši valdaudzes koku skaits nodrošina lielāku

šķērslaukumu G – 59 m²ha⁻¹ un 35 m²ha⁻¹, kā arī lielāku vidējo krāju – 764 m³ha⁻¹ un 450 m³ha⁻¹. Tāpat kā priežu mežos, arī egļu mežos uzdevums ir analizēt šo ražībā atšķirīgo audžu ģenētiskās savdabības.



1. attēls. Jaunībā izretināto priežu un egļu audžu krāja V kā vidējā augstuma H funkcija.

Figure 1. Pre-commercial thinned pine and spruce stand yield V as a function of height H.

Ģenētiskā savdabība šajās ražībā atšķirīgajās priežu un egļu audzēs analizēta, izmantojot hloroplastu DNS mikrosatelītu marķierus. Skujkokos hloroplasti tiek pārmantoti nākamajā paaudzē tikai caur putekšņiem, un tā uzrāda mazāku ģenētisko daudzveidību populāciju ietvaros, toties sniedz vairāk informācijas par starppopulāciju ģenētiskajām atšķirībām.

1. DNS izdalīšana

Materiāls DNS izdalīšanai ievākts ar Preslera urbi apmēram 2 – 5 cm dziļumā zem koka kambija slāņa.

1.a DNS izdalīšana no priedes koksnes

Paraugu tūlīt pēc ievākšanas ievieto 70% etanola šķīdumā un iztur apmēram 24 stundas. Etanola slāni atdala, paraugu nosusina un mehāniski sasmalcina. Apm. 200 mg pievieno 400 ml lizējošā šķīduma no DNS izdalīšanas komplekta („Fermentas”, Lietuva). Inkubē 1 stundu 65°C temperatūrā. Pievieno 350 µl atdzesētu 5M nātrija acetāta šķīdumu, samaisa un inkubē ledus vannā 0°C temperatūrā vienu stundu. Centrifugē 20 min. ar 13000 apgr./min. Atdalasupernantu, kosajaucar 650 µl hloroforma un centrifugē 20 min. ar 13000 apgr./min. Atdala supernantu un pie tā – DNS izgulsnēšanai – pievieno 500 µl izopropilspirta. Iztur -20°C temperatūrā 12 stundas. Centrifugē 15 min. ar 1500 apgr./min, nolej supernantu un iegūtās DNS nogulsnes mazgā ar 1 ml 70% etanolu. Centrifugējot atdala etanola slāni, iegūto DNS preparātu izžāvē istabas temperatūrā un izšķīdina 50 µl TE bufera.

1.b. DNS izdalīšana no egles koksnes

Paraugu homogenizēšana

Apm. 200 mg koksnes parauga sasmalcināja (aptuveni 1×5×3 mm) un ievietoja 2 ml stobriņā ar apaļu dibenu. Katrā

stobriņā ievietoja vienu nerūsējoša tērauda lodīti ar diametru 5 mm, stobriņus ielika lodīšu dzirnavas adapteros, kurus izturēja šķidrā slāpekli 2 minūtes, tad tos ievietoja lodīšu dzirnavās “MM-400” (Retch, Vācija) un kratīja 30 Hz frekvencē 2 min. Adapterus atkārtoti ievietoja uz 2 minūtēm šķidrā slāpekli un vēlreiz veica smalcināšanu lodīšu dzirnavās.

Gan egļu, gan priežu paraugu DNS iegūšanai izmantots firmas „Fermentas” (Lietuva) komplekts DNS izdalīšanai ar neredz modificētu protokolu:

- pie lizējošā šķīduma labākai ogļhidrātu atdalīšanai tika pievienots Polividons 25 (Merck) (0,04 g/1 ml);
- ekstrakciju veica ar hloroforma-izoamilspirta maisījumu (24:1).

Gan egļu, gan priežu paraugu DNS koncentrācija noteikta spektrofotometriski.

2. Genotipēšana

Egļu un priežu paraugu genotipēšanai izmantoti šādi mikrosatelītu praimeru pāri: (1. tabula). Praimeri Pt71936, Pt26081 un Pt63718 atrodami Vedramin et al, (1996). Praimeri CP30277, PCP45071 un PCP71987 atrodami Provan et al, (1999).

2.1. Genotipēšanas polimerāzes ķēdes reakcijas (PĶR) apstākļi

Izmantots šāds PĶR reakcijas režīms: 95°C 5 min, 38 cikli 95°C 30 sek, 55°C 30 sek, 72°C 30 sek; 72°C 10 min.

PĶR reakcijas maisījums: kopējais tilpums 20 µl, kas satur 50 ng izejas DNS, 1xPCR buferšķīduma, 2mM MgCl₂, 0,2mM dNTP mix, 0,5U Taq polymerase (Fermentas), 0,2 µl tiešā un reversā praimera.

2.2. Fragmentu analīze

Apvieno pa 1 µl, katru PCR amplificēto fragmentu ar atšķirīgām krāsvielu iezīmēm

Hloroplastu praimeru sekvences
Chloroplast primer sequences

Praimeris Primer	Sekvence Sequence
Pt71936 _F	5'-[FAM]- TTC ATT GGA AAT ACA CTA GCC C
Pt71936 _R	5'- AAA ACC GTA CAT GAG ATT CCC
Pt26081 _F	5'- [HEX]- CCC GTA TCC AGA TAT ACT TCC A
Pt26081 _R	5'- TGG TTT GAT TCA TTC GTT CAT
Pt63718 _F	5'- [NED]- CAC AAA AGG ATT TTT TTT CAG TG
Pt63718 _R	5'- CGA CGT GAG TAA GAA TGG TTG
PCP30277 _F	5'- [NED]- TGT TGA TGT CGT AGC GGA AG
PCP30277 _R	5'- AGT AAA TGA ATC ACT TCC CCC
PCP45071 _F	5'- [FAM]- ACT GGT CTG ATC GAC CCA AT
PCP45071 _R	5'- TTC TAC ACT TGC GGA AAC CC
PCP71987 _F	5'- [HEX]- TCT TTG CAA GAA GGA TGG CT
PCP71987 _R	5'- GGG GAG TAA TCC GTG GAA TT

(6-FAM, HEX, NED), pievieno 0,7µl GeneScan TM-350 ROX Size Standard un 8µl Hi-Di TM formamīda. Denaturē termociklera aparātā 95°C temperatūrā 5 minūtes.

Strauji atdzesē līdz 0°C.

Genotipē ar Applied Biosystems ģenētisko analizatoru 3130XL.

3. Ģenētiskā analīze

Veikta ar GenAEx v6.1 programmu (Peakall and Smouse, 2006).

Rezultāti un diskusija

1. Dažādas ražības egļu audžu ģenētiskā analīze

Egļu audžu ģenētiskā analīze veikta ar 6 hloroplastu praimeriem (1. tabula), diemžēl, ar praimeru PCP45071 neizdevās iegūt identificējamus amplifikācijas fragmentus. Tādēļ analīzei izmantoti tikai pieci praimeru.

Analizējamās egļu audzes sadalīja divās populācijās – ražīgās (R) un mazāk

1. tabula, Table 1

ražīgās (mR), un ar katru praimeru atrastās alēles un to frekvences parādītas 2. tabulā. Kopumā atrastas 28 alēles; tās visas ir polimorfas.

Uzskatāmāk tas parādīts 2. attēlā. Kā redzams, atrasto alēļu frekvences ražīgajās un mazāk ražīgajās populācijās ir atšķirīgas.

Izvērtējot populāciju vidējos datus ar GenAEx v6.1 programmu, iegūti galvenie populācijas ģenētisko daudzveidību

raksturojošie parametri, kas parādīti 3. tabulā. Šajā tabulā apkopoti piecu marķieru vidējie rādītāji.

Kā redzams no 3. tabulas, visi parametri liecina par to, ka ražīgākās populācijas (R) ģenētiskā daudzveidība ir nedaudz zemāka nekā mazāk ražīgās (mR).

Vidējais alēļu skaits (Na) ražīgākajā populācijā ir mazāks, mazākas ir arī to frekvences un alēļu skaits, kas sastopamas populācijā ar frekvenci virs 5%. Šajā populācijā ir mazāk efektīvo alēļu (Ne) un arī zemāks informācijas indekss (I).

Mazāk ražīgajā populācijā atrastas piecas unikālas alēles (Pt71936, 143bp, $f=0,007$; Pt63718, 92bp, $f=0,009$; Pt63718, 93bp, $f=0,009$; Pt63718, 96bp, $f=0,009$; PCP30277, 132bp, $f=0,009$), tomēr to frekvences ir ļoti zemas un populāciju neraksturo.

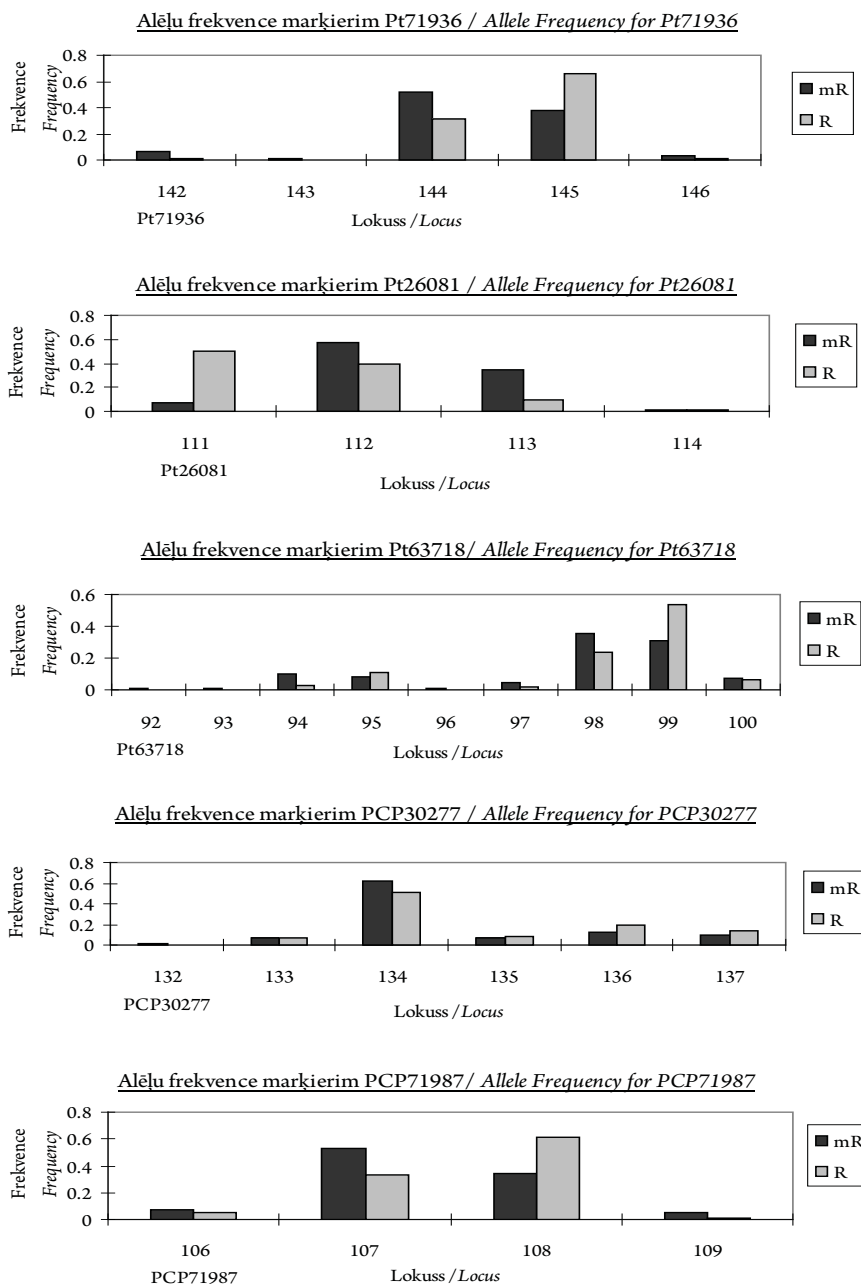
Veicot AMOVA (molekulārās variācijas analīze) konstatēts, ka 90% ģenētiskās variā-

2. tabula, Table 2

Alēļu frekvences mazāk ražīgās (mR) un ražīgākās (R) egļu audzēs
Allele frequencies in less productive (mR) and more productive (R) spruce stands

Lokuss <i>Locus</i>	Alēle <i>Allele</i>	mR	R
Pt71936	N	143	133
	142	0,063	0,015
	143	0,007	0,000
	144	0,521	0,316
	145	0,380	0,662
	146	0,028	0,008
Pt26081	N	128	133
	111	0,070	0,504
	112	0,578	0,399
	113	0,344	0,090
	114	0,008	0,008
Pt63718	N	109	63
	92	0,009	0,000
	93	0,009	0,000
	94	0,101	0,032
	95	0,083	0,111
	96	0,009	0,000
	97	0,046	0,016
	98	0,358	0,238
	99	0,312	0,540
	100	0,073	0,063
PCP30277	N	107	110
	132	0,009	0,000
	133	0,065	0,073
	134	0,626	0,509
	135	0,065	0,082
	136	0,131	0,200
	137	0,103	0,136
PCP71987	N	142	127
	106	0,077	0,047
	107	0,528	0,331
	108	0,338	0,614
	109	0,056	0,008

N – analizēto individu skaits /number of individuals analysed.



2. attēls. Alēļu frekvences mazāk ražīgās (mR) un ražīgākās (R) egļu audzēs.
 Figure 2. Allele frequencies in less productive (mR) and more productive (R) spruce stands.

3. tabula, Table 3

Egles populāciju raksturojošie ģenētiskie parametri
Genetic diversity parameters for analysed spruce populations

Vidējās vērtības / Mean values				
Populācija / Population	mR	s _k	R	s _k
Alēļu skaits / No. of alleles	5,600	0,927	4,600	0,400
Alēļu skaits >5% / No. of alleles >5%	4,000	0,447	3,200	0,583
Efektīvo alēļu skaits / No. of effective alleles	2,676	0,334	2,410	0,216
Informācijas indekss / Information index	1,163	0,126	1,030	0,117
Unikālu alēļu skaits / No. of unique alleles	1,000	0,548	0,000	0,000

s_k – standartklūda / standard error

cijas atrodas abu populāciju iekšienē un 10% starp populācijām ($P < 0,001$) (3. att.).

Visi šie dati uzrāda nelielu ģenētisko atšķirību starp populācijām, tomēr tā ir lielāka nekā ar kodola DNS marķieriem atrastā (nepublicēti rezultāti).

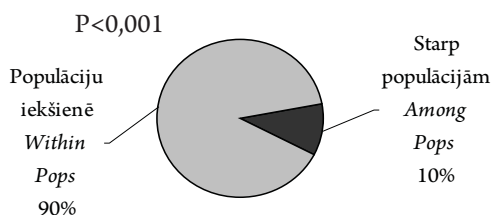
Šo populāciju atšķiršanas iespēju dziļākai izpētei tās sadalīja populācijas veidojošās audzēs mR1, mR2, mR3, R1, R2, R3.

Šo populāciju veidojošo audžu

savstarpējie Nei ģenētiskie attālumi parāditi 4. tabulā.

Ģenētiskie attālumi sagrupēti dendrogrammā, izmantojot UPGMA metodiku (4. attēls); tajā redzams, ka mazāk ražīgās un ražīgākās populācijas veido atsevišķus klāsterus, kur mR1 un R1 ir atšķirīgāki no pārējām audzēm klāsterī.

Lietderīgi atzīmēt, ka objektu grupējums klāsterī, kas formāli izveidots no marķieru rādītājiem, pilnā mērā sakrīt ar



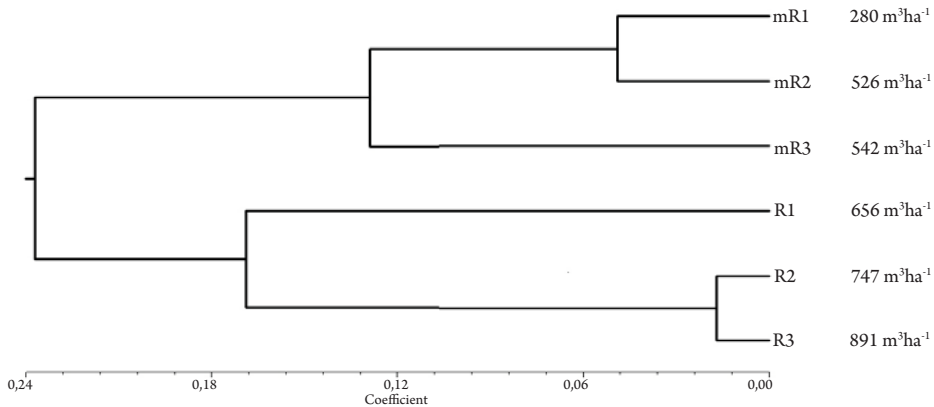
3. attēls. Molekulārās variācijas sadalījums egles mR un R populācijām.

Figure 3. AMOVA (Analysis of Molecular Variance) for spruce mR and R populations.

4. tabula, Table 4

Nei ģenētiskie attālumi starp izanalizētām egļu audzēm
Nei's genetic distance between sampled spruce stands

mR1	mR2	mR3	R1	R2	R3	
0,000						mR1
0,049	0,000					mR2
0,168	0,090	0,000				mR3
0,214	0,252	0,174	0,000			R1
0,209	0,265	0,323	0,159	0,000		R2
0,173	0,225	0,300	0,179	0,017	0,000	R3



4. attēls. UPGMA dendrogramma, izmantojot Nei ģenētiskos attālumus starp analizētajām egļu audzēm.

Figure 4. UPGMA dendrogram of Nei's genetic distance between sampled spruce stands.

objektu ranžējumu pēc kokaudzes krājas, t.i., ar ļoti svarīgu informāciju, kas netika izmantota, veidojot klāsteri.

2. Dažādas ražības priežu audžu ģenētiskā analīze

Priežu audžu ģenētiskā analīze veikta analogi egļu audžu analīzei. Identificēšanai noderīgus amplificētos fragmentus ar marķieriem PCP30277, PCP45071 un PCP71987 iegūt neizdevās, tādēļ ģenētiskajai analīzei izmantoti Pt71936, Pt26081 un Pt63718 marķieri.

Ar katru praimeru atrastās alēles un to frekvences redzamas 5. tabulā. Kopumā atrastas 13 alēles; tās visas ir polimorfas.

Uzskatāmāk tas parādīts 5. attēlā. Kā redzams, atrasto alēļu frekvences ražīgajā un mazāk ražīgajās populācijās ir neredzami atšķirīgas.

Izvērtējot populāciju vidējos datus ar GenAlEx v6.1 programmu, iegūti galvenie populācijas ģenētisko daudzveidību raksturojošie parametri, kas redzami 6. tabulā.

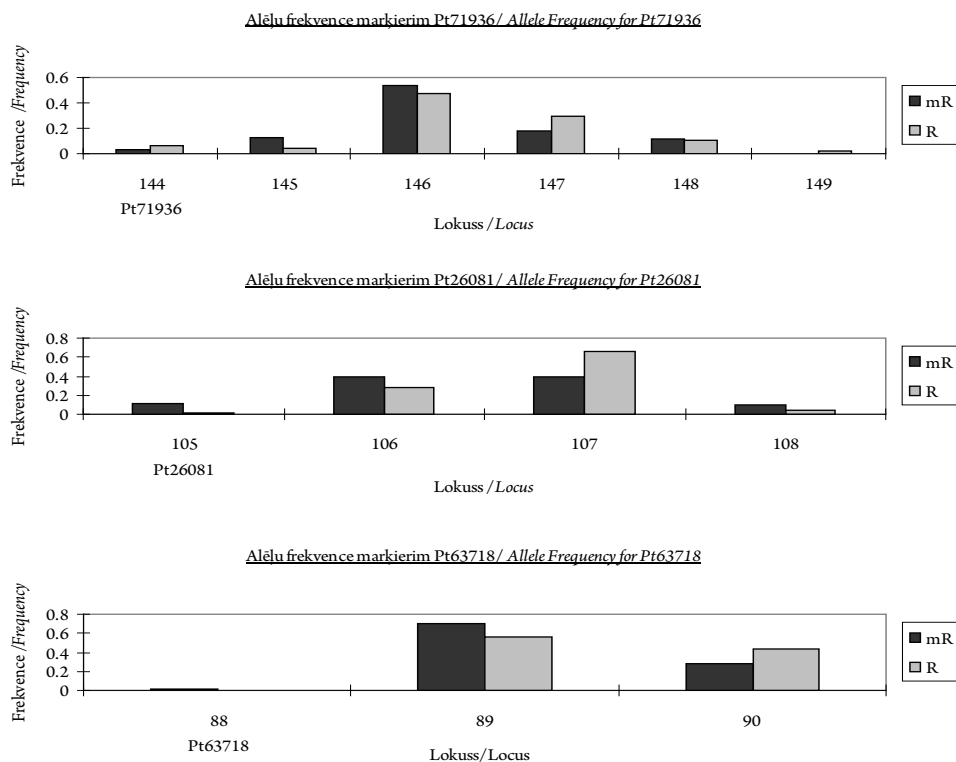
Šajā tabulā apkopoti trīs marķieru vidējie rādītāji.

5. tabula, Table 5

Alēļu frekvences mazāk ražīgās (mR) un ražīgākās (R) priežu audzēs
Allele frequencies in less productive (mR) and more productive (R) pine stands

Lokuss Locus	Alēle Allele	mR	R
Pt71936	N	84	109
	144	0,036	0,064
	145	0,131	0,046
	146	0,536	0,477
	147	0,179	0,294
	148	0,119	0,101
	149	0,000	0,018
Pt26081	N	90	112
	105	0,111	0,018
	106	0,389	0,277
	107	0,400	0,661
	108	0,100	0,045
Pt63718	N	95	123
	88	0,021	0,000
	89	0,695	0,561
	90	0,284	0,439

N – analizēto indivīdu skaits /number of individuals analysed.



5. attēls. Alēļu frekvences mazāk ražīgās (mR) un ražīgākās (R) priežu audzēs.

Figure 5. Allele frequencies in less productive (mR) and more productive (R) pine stands.

6. tabula, Table 6

Priežu populāciju raksturojošie ģenētiskie parametri
Genetic diversity parameters for analysed pine populations

Vidējās vērtības / Mean values				
Populācija / Population	mR	s_k	R	s_k
Alēļu skaits / No. of alleles	4,000	0,577	4,000	1,155
Alēļu skaits >5% / No. of alleles >5%	3,333	0,667	2,667	0,667
Efektīvo alēļu skaits / No. of effective alleles	2,539	0,385	2,312	0,357
Informācijas indekss / Information index	1,060	0,185	0,954	0,196
Unikālu alēļu skaits / No. of unique alleles	0,333	0,333	0,333	0,333

s_k – standartkļūda / standard error

Kā redzams no 6. tabulas, kaut gan vidējais alēļu skaits (N_a) abās populācijās ir vienāds, pārējie parametri liecina par to, ka ražīgākās populācijas (R) ģenētiskā daudzveidība ir tomēr nedaudz zemāka nekā mazāk ražīgās (mR).

Mazāk ražīgajā populācijā atrasta tikai viena unikāla alēle ar zemu frekvenci (cph3, 88bp, $f=0,021$). Līdzīgi ražīgā populācijā atrasta viena unikāla alēle ar zemu frekvenci (cph1, 149bp, $f=0,018$).

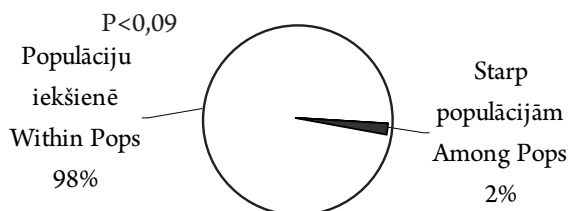
Veicot AMOVA (molekulārās variācijas analīze), konstatēts, ka 98% ģenētiskās variā-

cijas atrodas abu populāciju iekšienē un tikai 2% starp populācijām ($P<0,09$) (6. attēls).

Šo populāciju atšķiršanas iespēju dziļākai izpētei, tās sadalītas to veidojošās audzēs mR1, mR2, mR3, R1, R2, R3.

Šo populāciju veidojošo audžu savstarpējie ģenētiskie attālumi Nei 1976 parādīti 7. tabulā.

Ģenētiskie attālumi sagrupēti dendrogrammā, izmantojot UPGMA metodiku (7. attēls); tajā redzams, ka klāsterus veido jauktas populācijas.



6. attēls. Molekulārās variācijas sadalījums priedes mR un R populācijām.

Figure 6. AMOVA (Analysis of Molecular Variance) for pine mR and R populations.

7. tabula, Table 7

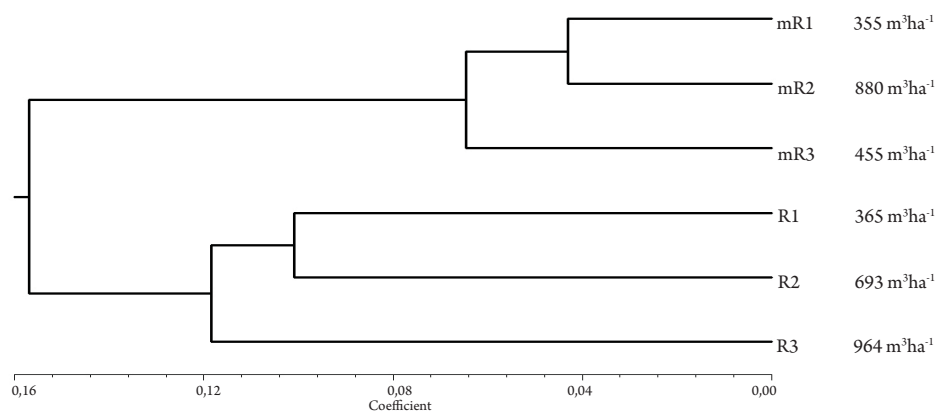
Nei ģenētiskie attālumi starp izanalizētajām priežu audzēm

Nei's genetic distance between sampled pine stands

mR1	mR2	mR3	R1	R2	R3	
0,000						mR1
0,059	0,000					mR2
0,073	0,148	0,000				mR3
0,126	0,227	0,113	0,000			R1
0,043	0,070	0,098	0,054	0,000		R2
0,222	0,269	0,101	0,124	0,195	0,000	R3

Secinājumi

1. Kokaudzēs, kas veidojušās no intensīvi izretinātām jaunaudzēm, koksnes krāja signifikanti pārsniedz neretināto audžu krāju. Vienlaicīgi izpaužas arī atšķirības starp izretināto audžu krājām a/s LVM dažādās mežsaimniecībās. Krājas atšķirības vienāda augstuma audzēs nav skaidrojamas ar augšanas apstākļu nesakritību.



7. attēls. UPGMA dendrogramma, izmantojot Nei ģenētiskos attālumus starp analizētajām priežu audzēm.

Figure 7. UPGMA dendrogram of Nei's genetic distance between sampled pine stands.

2. Skuju koku populācijās, kuru ražība ir atšķirīga, ģenētiskā daudzveidība nedaudz mazāka ir ražīgākajām populācijām.
3. Egļu populācijās šī atšķirība ir lielāka nekā priežu populācijās, kas korelē arī ar ražības rādītājiem.
4. No koksnes izdalītā DNS kvalitāte ir atkarīga no izdalīšanas metodes. Par to liecina tas, ka, izmantojot egļu koksnes DNS, bija iespējams iegūt genotipēšanai noderīgus amplificētus fragmentus ar lielāku indivīdu skaitu un 5 praimeriem.
5. Egļu populācijā, izmantojot trīs kopējos marķierus, atrastas 18 alēles, priežu populācijā – 13, kas nenorāda uz mazāku priedes populācijas ģenētisko daudzveidību, jo analizējamo populāciju lielums nebija vienāds.
6. Egļu populācija ģenētiski dalās divos klāstros, kuri sakrīt ar atrasto audžu ražības pakāpi.
7. Priežu populācijā atrasta mazāka ģenētiskā diferenciācija starp ražīgām un mazāk ražīgām audzēm, un tās arī nesadalījās klāstros.

Turpmākajā darbā būtu paplašināms izmantojamo molekulāro marķieru skaits, kā arī genotipējams lielāks indivīdu skaits katrā audzē, lai panāktu augstāku ģenētiskās savdabības izšķirtspēju. Iegūto rezultātu padziļinātas pārbaudes nodrošināšanai pētījumā vajadzētu iekļaut arī vairāk audžu.

Literatūra

- Abetz, P. (Red.) (1981). Der europäische Stammzahlversuch in Fichte. IUFRO, Freiburg, S. 307.
- Brünig, E.F., Heuvelodop, J. (1976). Zum Thema: Umweltgerechter Waldbau. Allg. Forstzeitschrift, No 23: S. 475-479.

- Kalchreuter, H.** (1977). Die Sache mit der Jagd: pro und kontra. BLW Verlagsgesellschaft, München, Bern, Wien, 255 S.
- Peakall, R., Smouse P.E.** (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6: p. 288-295.
- Provan, J., Soranzo, N., Wilson, N.J., Goldstein D.B, Powell, W.** (1999). A Low Mutation Rate For Chloroplast Microsatellites. *Genetics* 153: p. 943–947.
- Vendramin, G.G., Lelli, L., Rossi, P., Morgante, M.** (1996). A set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in Pinaceae. *Molecular Ecology* 5: p. 595–598
- Vyskot, M.** (1978). International research of the density of spruce populations. *Acta univ. Agr.*, No 1-4: p. 47-72.
- Zālītis, P., Libiete, Z.** (2008). Kopšanas ciršu režīms egļu jaunaudzēs. *LLU Raksti*, Nr. 20(315): 38.-45. lpp.
- Zālītis, P.** (2006). Mežkopības priekšnosacījumi. Rīga, izdevniecība "et cetera", 219 lpp.
- Zālītis, P., Zālītis, T.** (2007). Growth of Young Stands of Silver Birch (*Betula pendula* Roth.) Depending on Pre-Commercial Thinning Intensity. *Baltic Forestry*, Vol. 13, No 1: p. 61-67.
- Zeide, B.** (2004). Optimal stand density: *J. Forest Res.* -34. No 4: p. 846-854.
- Богачев, А.В.** (1985). Обоснование эталонов полноты еловых, сосновых и лиственных насаждений. *Лесное х-во*, No 4: с. 47-50.
- Кайрюкшис, Л., Юодвалькис, А.** (1976). Оптимальный способ выращивания еловых молодняков. *Вильнюс*, 12 с.
- Карев, Г.П., Скоморовский, Ю.И.** (1998). Модель роста однородных древостоев. *Лесоведение*, No 6: с. 71-79.
- Рябоконь, А.П.** (1991). Тридцатилетний опыт выращивания культур сосны с различными схемами размещения. *Лесоведение*, No 5: с. 3-13.
- Юодвалькис, А., Озолинчюс, Р.** (1987). Лесоводственно-биологические аспекты оптимизации первоначальной густоты сосновых насаждений. *Лесное х-во*, No 9: с. 20-22.