

GDK 174.7 *Abies alba* (Mill.) + 168 : (497.12)

## NEKATERE GENETSKE ZNAČILNOSTI JELKE (*ABIES ALBA* MILL.) V SLOVENIJI

Robert BRUS<sup>\*</sup>, Roman LONGAUER<sup>\*\*</sup>

### *Izvešček*

Delo obravnava nekatere populacijskogenetske značilnosti jelke (*Abies alba* Mill.) v Sloveniji. Z analizo 10 encimskih sistemov in 16 izoencimskih lokusov so ocenjene genetska struktura, genetska raznolikost in genetska diferenciranost osmih slovenskih jelovih populacij. Na osnovi teh značilnosti avtorja jelove populacije v Sloveniji primerjata s tistimi iz nekaterih drugih delov Evrope. Preskušeni sta hipotezi o vplivu geografske dolžine in o vplivu reakcije tal na genetsko strukturo jelovih populacij v Sloveniji.

*Ključne besede: jelka, izoencim, genetska struktura, genetska raznolikost, genetska diferenciranost, Slovenija*

## SOME GENETIC PROPERTIES OF SILVER FIR (*ABIES ALBA* MILL.) IN SLOVENIA

### *Abstract*

This paper addresses selected genetic properties of silver fir (*Abies alba* Mill.) populations in Slovenia. Using analyses of 10 enzyme systems and 16 isozyme gene loci, genetic structure, genetic diversity and genetic differentiation of 8 Slovene silver fir populations were estimated. On the basis of these characteristics, Slovene fir populations are compared to silver fir populations from other parts of Europe. Hypotheses tested were the effects of longitude and soil reaction on the genetic structure of silver fir populations in Slovenia.

*Key words: silver fir, isozymes, genetic structure, genetic diversity, genetic differentiation*

---

<sup>\*</sup> Mladi raziskovalec, dipl. ing. gozd., Oddelek za gozdarstvo Biotehniške fakultete, 61000 Ljubljana, Večna pot 83, SLO

<sup>\*\*</sup> ing., Gozdarski raziskovalni inštitut, Raziskovalna postaja Banska Štiavnica, SK-96923, Banska Štiavnica, Slovaška

---

**KAZALO**

<b>1</b>	<b>UVOD</b> .....	<b>47</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL IN METODE</b> .....	<b>48</b>
<b>3</b>	<b>REZULTATI IN RAZPRAVA</b> .....	<b>52</b>
3.1	GENETSKA VARIABILNOST ENCIMSKIH SISTEMOV.....	52
3.2	GENETSKA RAZNOLIKOST.....	57
3.3	GENETSKA DIFERENCIACIJA.....	61
<b>4</b>	<b>SKLEP</b> .....	<b>65</b>
<b>5</b>	<b>POVZETEK</b> .....	<b>66</b>
	<b>SUMMARY</b> .....	<b>69</b>
	<b>VIRI</b> .....	<b>71</b>

## 1 UVOD

Jelka (*Abies alba Mill.*) je drevesna vrsta, razširjena v gozdnih združbah v montanskem pasu srednje, vzhodne in jugovzhodne Evrope. Najdemo jo skoraj povsod v Sloveniji, razen v severovzhodnem delu in na Primorskem. V zahodnem delu slovenskega areala se v dinarskih in predalpskih jelovo-bukovih gozdovih pojavlja v klimakasnih gozdnih združbah, v vzhodnejših predelih pa jo srečujemo v edafsko-mezoklimatskih združbah v številnih različicah (GREGORIČ, KALAN, KOŠIR 1975). Pojavlja se na karbonatnih in nekarbonatnih matičnih podlagah.

Na stabilnost gozda in živih sistemov sploh močno vpliva genetska pestrost. Prav tako kot pestrost drevesnih vrst, torej prisotnost različnih vrst v gozdu, je pomembna tudi genetska pestrost znotraj drevesnih vrst, ki se kaže v obliki krajevnih ras in ekotipov, v obliki genetskih razlik med populacijami iste vrste in kot genetska variabilnost v obliki genetskih razlik med posameznimi osebki v populaciji (ZUPANČIČ 1992). Čeprav jelka v primerjavi z nekaterimi drugimi drevesnimi vrstami na splošno velja za genetsko manj diferencirano, so raziskovalci s provenienčnimi poskusi (KORPEL in sod. 1982, GUNIA 1986, WOLF in sod. 1994) tudi pri njej odkrili geografsko pogojeno diferenciranost. Poskus s pomočjo analize monoterpenov (WOLF 1994), v katerega so vključili 155 jelovih populacij s skoraj vsega njenega areala, je odkril jasne genetske razlike med populacijami iz različnih delov areala. Razlike so predvsem v zadnjih nekaj letih odkrili tudi znotraj relativno majhnih področij, na primer v Avstriji in v Nemčiji (BREITENBACH-DORFER in sod. 1992, SCHROEDER 1989, KONNERT 1994). Izoencimske raziskave so potrdile tudi na osnovi fenotipske variabilnosti in ekofizioloških poskusov postavljeno hipotezo (LARSEN 1986), po kateri naj bi bil eden glavnih razlogov za propadanje jelke premajhna genetska variabilnost in zato nizka stopnja prilagodljivosti populacij na prizadetih območjih. BERGMANN in sodelavci (1990) so s pomočjo izoencimskih markerjev primerjali jelove populacije iz srednje in severovzhodne Evrope s tistimi iz južne Italije in Kalabrije, kjer je jelka bistveno manj prizadeta.

V srednje- in severovzhodnoevropskih populacijah so ugotovili mnogo manjšo genetsko variabilnost.

Čeprav so analize s pomočjo izoencimskih genskih markerjev v svetu že skoraj dve desetletji ustaljen način proučevanja genetskih značilnosti populacij drevesnih vrst, v Sloveniji te tehnike pri populacijskogenetskem proučevanju drevesnih vrst še niso uporabili. Namen raziskave je bil s pomočjo izoencimske analize ugotoviti, kakšna je genetska struktura naših jelovih populacij, kolikšni sta stopnji genetske diferenciranosti in genetske raznolikosti jelke v Sloveniji in kolikšni v primerjavi z diferenciranostjo in raznolikostjo populacij iz nekaterih drugih delov Evrope. Preskusili smo tudi hipotezo o vplivu geografske dolžine in reakcije tal na genetsko strukturo jelovih populacij na tako majhnem prostoru, kot je Slovenija, postavljeno na osnovi kakovosti jelovega semena (BRINAR 1976).

## 2 MATERIAL IN METODE

Analizirali smo 8 naravnih jelovih populacij (preglednica 1) iz vse Slovenije. Izbrali smo 4 populacije iz zahodnega dela areala jelke (Postojna, Hotedršica, Idrija, Rovte) in 4 populacije iz vzhodnega dela areala (Novo mesto, Nazarje, Pohorje, Bohor). Tri populacije (Postojna, Hotedršica, Bohor) rastejo na tleh z manj kisló reakcijo, pet pa na tleh z bolj kisló reakcijo (Novo mesto, Idrija, Rovte, Nazarje, Pohorje). Reakcijo tal smo posredno ocenili na osnovi fitocenološke združbe. Vzorec iz vsake populacije je predstavljaló približno 50 naključno izbranih odraslih dreves iz zgornjega sloja. Drevesa so bila med seboj oddaljena vsaj 30 metrov, tako smo preprečili, da bi bili v vzorcu sorodni osebkí. Z dreves smo pozimi 1993 nabrali dormantne popke. Ti popki so poleg semen edino tkivo, ki omogoča analizo genotipov večjega števila osebkov brez zapletenih ekstrakcijskih postopkov.

## Preglednica 1: Splošni podatki o analiziranih populacijah

Table 1: General characteristics of the populations analyzed

Št. No	Populacija <i>Population</i>	Združba <i>Association</i>	Matična podlaga <i>Parent rock</i>	Ocenjena reakcija tal <i>Estim. soil reaction</i>	Nm.v. <i>Altitude</i> (m)	Osutost <i>Defoli- ation</i> (%)	Geografski položaj v SLO. <i>Aspect in SLO.</i>
1	Novo mesto, Straža	Epimedio-Galio- Abietetum	apnenec, aluvij <i>limestone, alluvium</i>	bolj kislja <i>more acidic</i>	230-270	20	vzhod <i>east</i>
2	Postojna, Vršiči	Abieti-Fagetum dinaricum	apnenec <i>limestone</i>	manj kislja <i>less acidic</i>	920	30	zahod <i>west</i>
3	Hotedršica, Travni Vrh	Abieti-Fagetum dinaricum	apnenec <i>limestone</i>	manj kislja <i>less acidic</i>	600	25	zahod <i>west</i>
4	Idrija, Rupe	Dryopterido- Abietetum	dolomit, peščenjaki <i>dolomite, sandstone</i>	bolj kislja <i>more acidic</i>	500-550	30	zahod <i>west</i>
5	Rovte, Lavrovec	Bazzanio- Abietetum	skrilavci, peščenjaki <i>slate, sandstone</i>	bolj kislja <i>more acidic</i>	700-800	35	zahod <i>west</i>
6	Nazarje, Šm. ob Dreti	Bazzanio- Abietetum	silikatni aluvialni nanosi <i>silicate alluvium</i>	bolj kislja <i>more acidic</i>	400	40	vzhod <i>east</i>
7	Pohorje, Hudi Kot	Dryopterido- Abietetum	črn filoteidni skrilavec <i>black filoteidic slate</i>	bolj kislja <i>more acidic</i>	650-750	50	vzhod <i>east</i>
8	Bohor, Debeli Vrh	Savensi- Fagetum	apnenec <i>limestone</i>	manj kislja <i>less acidic</i>	830-870	20	vzhod <i>east</i>

Osnovni princip ugotavljanja genotipa osebka za posamezne lokuse temelji na dejstvu, da se v organizmu nekateri encimi pojavljajo v več različnih oblikah, ki imajo sicer podobno ali enako katalitično aktivnost, razlikujejo pa se po kemični strukturi in zato po električnem naboju. Ti različni tipi enega encima se imenujejo izoencimi. V električnem polju izoencimi v bazični raztopini, v našem primeru v škrobnem gelu, migrirajo od katode proti anodi, relativna stopnja migracije po določenem času pa je odvisna od električnega naboja izoencima.

Rezultat tega postopka, elektroforeze, je elektroforegram, ki ga dobimo tako, da rezino gela za vsak encimski sistem tretiramo z ustrežno raztopino, v kateri je substrat, ki ga encim v gelu razgradi in tako povzroči določeno barvno reakcijo. Pri diploidnem tkivu, ki smo ga analizirali v naši raziskavi, dobimo v primeru homozigotnosti na elektroforegramu enojen obarvan pas, v primeru heterozigotnosti pa dva pasova, kadar gre za monomer, tri pasove, kadar gre za dimer in pet pasov, kadar proučujemo tetramer. Monomeri, dimeri in tetrameri so beljakovine, v našem primeru encimi, zgrajeni iz enega, dveh oziroma štirih različnih polipeptidnih verig (WENDEL IN WEEDEN 1989). V enostavnem primeru, kadar imamo heterozigoten monomer, predstavljata dva pasova dva različna alela oziroma genotip za obravnavani lokus in s ponavljanjem postopka za vse osebke iz vzorca lahko ocenimo frekvenco alelov in s tem genotipov za lokus v populaciji.

S pomočjo horizontalne elektroforeze na škrobnem gelu smo analizirali 10 encimskih sistemov, kontroliranih z vsaj 16 izoencimskimi lokusi (preglednica 2). Ti lokusi kodirajo encime, udeležene v primarnem metabolizmu.

Vse biokemične analize smo izvedli v laboratoriju Oddelka za gojenje gozdov na Gozdarski fakulteti Tehniške univerze v Zvolnu na Slovaškem. Pri vseh analizah smo se držali postopkov, ki so natančneje opisani v literaturi (CONKLE in sod. 1982, KONNERT 1992). Čeprav je neposredna zveza med izoencimi in geni, ki jih kodirajo, dokazana, je izoencime za genetske raziskave potrebno poprej genetsko analizirati. Za večino lokusov, analiziranih v tej raziskavi, so mendelska segregacijska razmerja testirali KONNERT (1992, *Abies alba*) ali FADY in CONKLE (1992, *Abies borisii-regis*).

Preglednica 2: Analizirani encimski sistemi.

Table 2: Enzyme systems analyzed.

Encimski sistem <i>Enzyme system</i>	E.C. koda <i>E.C. number</i>	Analizirani lokusi <i>Analyzed loci</i>
Akonitaza <i>Aconitase</i>	1.1.1.1	Aco
Alanin aminopeptidaza <i>Alanine aminopeptidase</i>	3.4.11.1	Aap-A
Glutamat dehidrogenaza <i>Glutamate dehydrogenase</i>	1.4.1.3	Gdh
Glutamat oksalacetat transaminaza <i>Glutamate oxalacetate transaminase</i>	2.6.1.1	Got-A Got-B Got-C
Izocitrat dehidrogenaza <i>Isocitrate dehydrogenase</i>	1.1.1.42	ldh-B
Levcin aminopeptidaza <i>Leucine aminopeptidase</i>	3.4.11.1	Lap-A
Malat dehidrogenaza <i>Malate dehydrogenase</i>	1.1.1.37	Mdh-A Mdh-B
Menadion reduktaza <i>Menadion reductase</i>	1.6.99.2	Mnr-A Mnr-B
Peroksidaza <i>Peroxidase</i>	1.11.1.7	Px-A Px-B
6-fosfoglukonat dehidrogenaza <i>6-Phosphogluconate dehydrogenase</i>	1.1.1.44	6Pgd-A 6Pgd-B

Za vsako od 8 populacij smo izračunali frekvenco alelov po posameznih lokusih, povprečno število alelov v populaciji, pričakovano ( $H_0$ ) in opazovano ( $H_e$ ) heterozigotnost in Nei-ovo popravljeno genetično distanco  $D$  (NEI 1978). Osnovne podatke, ki so jih predstavljali s pomočjo elektroforeze ugotovljeni genotipi osebkov za posamezne lokuse, smo obdelali s pomočjo programa za analizo variabilnosti alelov v populacijski genetiki BIOSYS-1, pri nadaljnjih obdelavah smo uporabljali statistični paket STATISTICA in za analizo glavnih koordinat program PRINCOOR.

### 3 REZULTATI IN RAZPRAVA

#### 3.1 GENETSKA VARIABILNOST ENCIMSKIH SISTEMOV

Iz relativnih frekvenc alelov analiziranih lokusov (preglednica 3) je razvidno, da je od 16 analiziranih lokusov kar 15 polimorfnih vsaj v nekaj populacijah. V vseh populacijah je monomorfen samo lokus GDH, kar pomeni, da so bila za ta lokus prav vsa analizirana drevesa monomorfna (homozigoti 22) oziroma da smo na lokusu odkrili samo alel z oznako 2. Visoko stopnjo polimorfnosti v vseh populacijah smo odkrili pri 8 lokusih (ACO, AAP, LAP-A, 6PGD-A, IDH-B, GOT-C, MDH-A, MDH-B).

Značilnosti razlik v povprečnih frekvencah alelov med populacijami in med skupinami populacij smo testirali s pomočjo  $\chi^2$ -testa homogenosti frekvenc v 2 x 2 kontingenčni tabeli oziroma R x C kontingenčni tabeli v primeru lokusov z več kot dvema aleloma (FERET, BERGMANN 1976). Primerjava alelnih frekvenc skupine 4 zahodnih populacij z alelnimi frekvencami skupine 4 vzhodnih populacij je odkrila visoko značilno razliko ( $\alpha=0,01$ ) med povprečno frekvenco alela PX-B<sub>1</sub> v zahodni skupini (0,014) in v vzhodni skupini (0,045) - preglednica 4. Razlika se dobro ujema z ugotovitvijo (LONGAUER 1994), da frekvenca alela PX-B<sub>1</sub> na splošno v Evropi najprej narašča od zahoda proti vzhodu in pozneje po Karpatih proti jugu. Poleg frekvence v Sloveniji (0,029) je frekvenca najnižja na Češkem (0,003) in na Moravskem (0,016), najvišje vrednosti pa doseže v Južnih Karpatih (0,480) in v Apusenih v Romuniji (0,513). Čeprav so tudi znotraj vzhodne skupine populacij razlike med relativnimi frekvencami značilne, naša ugotovitev nakazuje, da je tudi na geografsko tako majhnem prostoru, kot je Slovenija, verjetno prisotna geografsko pogojena genetska variabilnost, na katero opozarja že Brinar z ugotovitvijo, da teža jelovega semena, transpiracijska aktivnost in specifična kapaciteta za vodo od zahoda proti vzhodu padajo (BRINAR 1976).



Preglednica 3: Relativne frekvence alelov analiziranih lokusov (N=število dreves).  
 Table 3: Allelic frequencies of the loci analyzed (N=number of trees).

Lokus Locus	Populacija Population								Skupaj Average
	1	2	3	4	5	6	7	8	
PX-A (N)	38	58	56	55	55	55	51	55	423
1	1,000	0,974	1,000	1,000	1,000	0,973	1,000	1,000	0,993
2	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,027	0,000	0,000	0,007
PX-B (N)	38	58	56	55	55	55	51	55	423
1	0,066	0,009	0,027	0,018	0,000	0,018	0,000	0,100	0,028
2	0,934	0,991	0,973	0,982	1,000	0,982	1,000	0,900	0,972
ACO (N)	38	58	56	55	55	55	51	55	423
1	0,066	0,121	0,089	0,173	0,064	0,073	0,108	0,064	0,096
2	0,013	0,103	0,009	0,000	0,055	0,000	0,000	0,091	0,035
3	0,921	0,776	0,902	0,827	0,882	0,927	0,892	0,845	0,869
AAP (N)	38	49	50	48	46	51	46	52	378
1	0,776	0,531	0,660	0,522	0,576	0,637	0,707	0,598	0,622
2	0,224	0,469	0,340	0,478	0,424	0,363	0,293	0,404	0,378
LAP-A (N)	37	57	55	53	55	54	51	54	416
1	0,081	0,044	0,055	0,075	0,045	0,056	0,069	0,028	0,055
2	0,851	0,930	0,873	0,830	0,909	0,907	0,882	0,852	0,881
3	0,068	0,026	0,073	0,094	0,045	0,037	0,049	0,120	0,064
6PGD-A (N)	35	56	54	52	53	53	51	51	405
1	0,614	0,598	0,611	0,587	0,406	0,726	0,598	0,559	0,586
2	0,386	0,402	0,389	0,413	0,594	0,274	0,402	0,441	0,414
6PGD-B (N)	38	58	56	55	55	55	51	55	423
1	0,974	0,991	1,000	1,000	1,000	0,918	0,971	0,864	0,965
2	0,026	0,009	0,000	0,000	0,000	0,082	0,029	0,136	0,035
IDH-B (N)	37	58	56	55	55	54	51	55	421
1	0,270	0,371	0,241	0,336	0,273	0,259	0,363	0,309	0,304
2	0,730	0,629	0,759	0,664	0,727	0,741	0,637	0,691	0,696
GOT-A (N)	38	58	56	55	55	55	51	55	423
1	0,000	0,000	0,009	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002
2	1,000	1,000	0,991	0,991	1,000	1,000	1,000	1,000	0,998
GOT-B (N)	38	58	56	55	55	55	51	55	423
1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,908	1,000	0,946	0,936	0,964	0,955	0,990	0,945	0,957
3	0,092	0,000	0,054	0,064	0,036	0,045	0,010	0,055	0,043
GOT-C (N)	38	57	56	52	55	54	50	53	415
1	0,158	0,105	0,125	0,115	0,100	0,120	0,180	0,208	0,137
2	0,803	0,842	0,759	0,788	0,836	0,796	0,650	0,698	0,772
3	0,039	0,053	0,116	0,096	0,064	0,083	0,170	0,094	0,090
MDH-A (N)	38	58	56	55	54	55	51	55	422
1	0,039	0,034	0,071	0,091	0,083	0,045	0,078	0,027	0,059
2	0,961	0,966	0,929	0,909	0,917	0,955	0,922	0,973	0,941
MDH-B (N)	34	56	44	50	45	51	46	51	377
1	0,647	0,545	0,545	0,540	0,622	0,627	0,663	0,548	0,588
2	0,353	0,455	0,455	0,460	0,378	0,373	0,337	0,451	0,411
GDH (N)	38	58	56	55	55	55	51	55	423
1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
MNR-A (N)	38	58	56	55	55	55	51	55	423
1	0,000	0,009	0,018	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004
2	1,000	0,991	0,982	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,996
MNR-B (N)	38	58	56	55	55	55	51	55	423
1	0,947	0,966	0,964	0,973	0,973	1,000	0,951	0,982	0,970
2	0,053	0,034	0,036	0,027	0,027	0,000	0,049	0,018	0,030

Preglednica 4:  $\chi^2$  - test homogenosti frekvenc alelov med zahodno in vzhodno skupino populacij ter med populacijami znotraj skupin.

Table 4: *Chi-square test for homogeneity of allelic frequencies between the west and east group and between populations within groups.*

Lokus <i>Locus</i>	Stopinje prostosti <i>Degrees of freedom</i>	Zahod - Vzhod <i>West - East</i>	Med populacijami <i>Between populations</i>
PX-B	1	7,75**	6-8*, 1-7*
AAP	1	7,69**	1-8*, 1-6*
6PGD-A	1	4,70*	5-4**, 5-3**, 5-2**, 6-8**
GOT-C	2	6,77*	1-7**, 1-8*

Na lokusu ACO razlik med zahodno in vzhodno skupino populacij nismo odkrili, relativna frekvenca alela ACO<sub>2</sub> (0,035) pa je izredno nizka in v Evropi proti vzhodu in nato proti jugu pada ter v Južnih Karpatih doseže vrednost 0,309 (LONGAUER 1994).

Na lokusu LAP-A je zanimiv alel LAP-A<sub>3</sub>, katerega relativna frekvenca je v Sloveniji razmeroma visoka (0,063) in višjo vrednost doseže na Češkem (0,08), medtem ko je pri populacijah iz vzhodne Evrope povsod nižja (LONGAUER 1994). Mejnartowicz (1980) ga v svoji raziskavi na Poljskem celo ni odkril. Zanimivo je, da so nekatere raziskave v Avstriji in v Nemčiji (BREITENBACH-DORFER in sod. 1992, BREITENBACH in PINSKER 1990, KONNERT 1993) odkrile precej visoke frekvence alela LAP-A<sub>3</sub>, ki v populacijah na skrajnem vzhodu Avstrije doseže celo 0,34. Alel LAP-A<sub>1</sub> v omenjenih raziskavah ni bil odkrit.

Alel 6PGD-A<sub>1</sub> je v Sloveniji zelo pogost (0,568), njegova pogostnost pa proti vzhodu in nato proti jugu pada (Bolgarija 0,270), proti severu pa raste in doseže v Avstriji vrednost 0,660 (BREITENBACH in PINSKER 1990), v Nemčiji 0,652 v Flensburgu (KONNERT 1991) in od 0,33 do 0,83 v populacijah na Bavarskem (SCHROEDER 1989). V Sloveniji je tudi v tem primeru razlika med vzhodno in

zahodno skupino populacij značilna ( $\alpha=0,05$ ), čeprav spet tudi z značilnimi razlikami znotraj skupin. Zanimivo pa je, da so relativne frekvence alela 6PGD-A<sub>1</sub> v vzhodni skupini višje in ne nižje, kakor bi pričakovali glede na širši trend. Podobno naraščanje frekvence alela 6PGD-A<sub>1</sub> od zahoda proti vzhodu znotraj manjših področij so odkrili tudi v Avstriji (BREITENBACH-DORFER in sod. 1992) in v južni Nemčiji (SCHROEDER 1988). V teh primerih gre morda za vpliv različnih postglacialnih migracijskih poti čez Alpe ali za vpliv selekcije, ki je delovala v tem prostoru.

Čeprav v Evropi zanj niso odkrili značilne kinalne geografske distribucije, določeno razliko med vzhodno in zahodno skupino populacij v Sloveniji kaže tudi pojavljanje alela 6PGD-B<sub>2</sub>, ki smo ga odkrili v vseh vzhodnih in samo v eni zahodni populaciji.

V Sloveniji je povprečna relativna frekvenca alela IDH-B<sub>1</sub> 0,304 in vrednost se dobro ujema s trendom naraščanja frekvence od srednje Evrope proti jugu. Frekvenca je najnižja na Bavarskem, kjer dosega vrednosti okrog 0,20, od tam pa v vse smeri narašča in doseže v Karpatih vrednost 0,71, v Kalabriji 0,78 in v zahodni Avstriji 0,509 (MOLLER 1986, BREITENBACH-DORFER in sod. 1992, LONGAUER 1994).

Lokusa GOT-A in MNR-A sta v večini slovenskih populacij monomorfna in alela GOT-A<sub>1</sub> in MNR-A<sub>1</sub> se z nizko frekvenco pojavljata samo v po dveh populacijah iz zahodne skupine. V primeru alela GOT-A<sub>1</sub> gre morda spet za razliko vzhod - zahod, v primeru alela MNR-A<sub>1</sub> pa gre morda tudi za vpliv tal, saj smo ga v obeh primerih odkrili na manj kislem rastišču.

Tudi alel GOT-C<sub>1</sub> nakazuje določene razlike med vzhodno in zahodno skupino populacij v Sloveniji, saj je razlika v relativnih frekvencah med njima značilna ( $\alpha=0,05$ ), čeprav spet s precejšnjo heterogenostjo znotraj vzhodne skupine. Frekvenca alela od zahoda proti vzhodu narašča, podobno kot v Evropi, kjer iz srednje Evrope raste najprej proti vzhodu in nato proti jugu (MOLLER 1986).

V Sloveniji je zanimiva tudi razmeroma visoka relativna frekvenca alela MDH-A<sub>1</sub> (0,059), ki je višja kot kjerkoli v srednji ali vzhodni Evropi ali v Karpatih, kjer alel celo izgine (LONGAUER 1994). Prisotnost alela samo na nekaterih področjih je morda povezana z različnimi ledenodobnimi zatočišči, iz katerih se je po poledenitvi jelka razširila po Evropi. Zelo podoben je tudi alel MNR-B<sub>2</sub>, ki se pri nas pojavlja z relativno frekvenco 0,03, medtem ko so vrednosti v srednji in vzhodni Evropi precej nižje, na Poljskem, v Ukrajini in v Južnih Karpatih pa alel celo izgine.

Primerjava med skupinama populacij z rastišč z bolj kislo in manj kislo reakcijo je odkrila značilne razlike med skupinama v 2 od skupaj 16 analiziranih lokusih (preglednica 5). Čeprav so pri obeh lokusih tudi značilne razlike med populacijami znotraj skupin, ugotovitev nakazuje določene genetske razlike med populacijami na bolj kislih in manj kislih rastiščih in delno potrjuje ugotovitve, da ima jelovo seme, ki izvira iz sestojev na karbonatnih tleh, večjo težo in boljšo kalivost kot seme, ki izhaja s tal brez apnenca (BRINAR 1976) ter da obstajajo med skupinama tudi razlike v produktivnosti in še nekaterih drugih fizioloških značilnostih (BRINAR 1974). Za bolj zanesljivo potrditev genetskih razlik bi bilo potrebno izvesti obširnejšo raziskavo z več populacijami in z analizo večjega števila lokusov.

Preglednica 5:  $\chi^2$ - test heterogenosti frekvenc alelov med skupinama na bolj kislih in manj kislih rastiščih ter med populacijami znotraj skupin.

Table 5: *Chi-square test for homogeneity of allelic frequencies between the more acidic and less acidic group and between populations within groups.*

Lokus <i>Locus</i>	Stop.prost. <i>Degrees of freedom</i>	Bolj kislo - manj kislo <i>More acidic - Less acidic</i>	Med populacijami <i>Between populations</i>
PX-B	1	5,23*	2-8**, 3-8*
ACO	2	17,44***	2-3**, 4-6*

### 3.2 GENETSKA RAZNOLIKOST

Ko govorimo o genetski raznolikosti (ang. genetic diversity), običajno mislimo na variabilnost osebkov v populaciji, ki jo izražajo frekvence različnih genetskih kategorij znotraj populacije (GREGORIUS 1987). Za ocenitev genetske raznolikosti smo najprej za vse populacije izračunali povprečno število alelov na lokus (preglednica 6) in ugotovili zelo majhne razlike med populacijami, saj so vse vrednosti med 1,8 in 2,0, vrednost 2,1 za vse populacije skupaj pa je zelo podobna vrednostim iz srednje iz vzhodne Evrope. Na splošno je med različnimi rastlinskimi skupinami raznolikost znotraj populacije največja prav pri iglavcih. Pred leti so na osnovi do tedaj raziskanih vrst izračunali (HAMRICK 1989), da imajo iglavci poprečno 2,3 alela na lokus, zelnate dvokaličnice 1,5 in vse rastlinske vrste skupaj v poprečju 1,7 alela na lokus. Naša vrednost, čeprav še vedno relativno visoka, kaže, da je genetska raznolikost pri jelki v primerjavi z drugimi iglavci res nekoliko nižja. Do enakih zaključkov pripelje tudi primerjava odstotka polimorfnihi lokusov in poprečnih heterozigotnosti (preglednica 6) z vrednostmi, ki jih je za različne rastlinske skupine izračunal HAMRICK (1989).

Pogosto uporabljano merilo genetske raznolikosti (variabilnosti) v populaciji je heterozigotnost oziroma delež heterozigotov v populaciji. Mnogi raziskovalci navajajo (HAMRICK 1989, MITTON 1989, LEDIG 1986), da visoka heterozigotnost že pri posameznem osebkju povečuje njegovo odpornost ter sposobnost preživetja in visoka stopnja heterozigotnosti zato pomeni prednost tudi za populacijo. Opazovano heterozigotnost ( $H_0$ ) za vsako populacijo smo izračunali kot povprečje iz deležev heterozigotov za posamezne lokuse v populaciji. Pričakovano heterozigotnost ( $H_e$ ), ki bi jo populacija imela, če bi bila v Hardy-Weinbergovem ravnotežju, smo izračunali kot nepristransko oceno za  $H$  (NEI 1978) po formuli

$$H_e = \sum_{k=1}^r \frac{h_k}{r},$$

kjer je  $h_k$  vrednost  $h$  na  $k$ -tem lokusu,  $r$  pa število lokusov.

Nepristranske ocene heterozigotnosti za posamezne lokuse smo računali po formuli

$$h = \frac{2n(1 - \sum x_i^2)}{2n - 1},$$

kjer je  $n$  število analiziranih osebkov za dani lokus,  $x_i$  pa frekvence alelov na tem lokusu.  $H_e$  smo torej računali iz frekvenc alelov.

Preglednica 6: Povprečno število alelov na lokus, odstotek polimorfnih lokusov ter povprečna opazovana ( $H_o$ ) in povprečna pričakovana ( $H_e$ ) heterozigotnost po populacijah in za vse populacije skupaj.

Table 6: Mean number of alleles per locus, percentage of polymorphic loci, average observed heterozygosity ( $H_o$ ) and average expected heterozygosity ( $H_e$ ) in the populations and for all populations together.

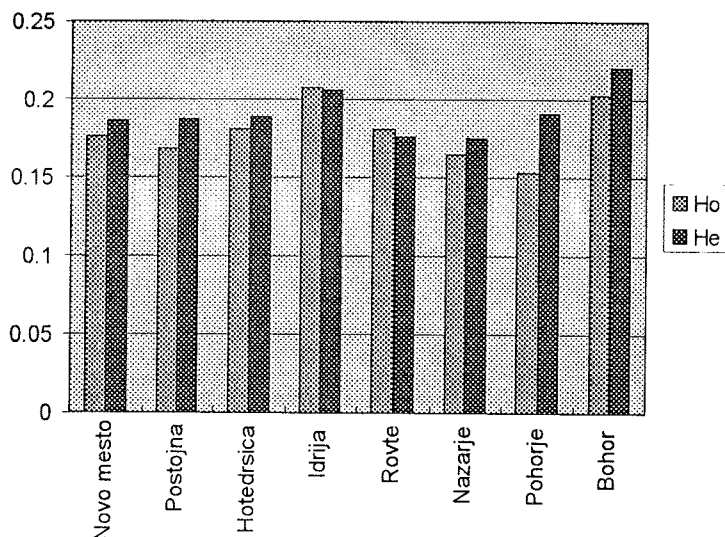
Populacija <i>Population</i>	Povprečno št.alelov na lokus <i>Mean number of alleles per locus</i>	Odstotek polimorfnih lokusov <i>Percentage of polymorphic loci</i>	Povprečna heterozigotnost <i>Average heterozygosity</i>	
			Opazovana ( $H_o$ ) <i>Observed (<math>H_o</math>)</i>	Pričakovana ( $H_e$ ) <i>Expected (<math>H_e</math>)</i>
Novo mesto	1,9	75,0	0,176	0,186
Postojna	2,0	81,3	0,168	0,187
Hotedršica	2,0	81,3	0,181	0,189
Idrija	1,9	75,0	0,208	0,206
Rovte	1,8	62,5	0,181	0,176
Nazarje	1,9	75,0	0,165	0,175
Pohorje	1,8	68,8	0,153	0,192
Bohor	1,9	75,0	0,203	0,221
Skupaj/Total	2,1	93,8	0,180	0,192

Opazovana heterozigotnost  $H_o$  je najnižja na Pohorju (0,153) in najvišja v Idriji (0,208), pri pričakovani homozigotnosti  $H_e$  pa je razlika med najnižjo in najvišjo vrednostjo nekoliko manjša ((Nazarje 0,175, Bohor 0,221) - preglednica 6,

grafikon 1). Največja razlika med opazovano in pričakovano heterozigotnostjo je na Pohorju, kjer je, kot smo že prej ugotovili, tudi odstopanje od Hardy-Weinbergovega ravnotežja največje in kjer je tudi poškodovanost največja. Ne pri opazovani ne pri pričakovani heterozigotnosti nismo odkrili značilnih razlik med skupinama populacij z vzhoda in zahoda ali med skupinama populacij s kislih in bazičnih rastišč.

Rezultati so zanimivi, če jih primerjamo z rezultati raziskave, s katero so proučili genetske značilnosti jelke v srednji in vzhodni Evropi (LONGAUER 1994) in ki so zaradi istih analiziranih lokusov z našimi neposredno primerljivi. Povprečna opazovana heterozigotnost  $H_0$  za vse slovenske populacije skupaj (0,18) je v primerjavi z vrednostmi  $H_0$  iz čeških, slovaških in poljskih populacij (0,150 - 0,167) znatno višja, nižja pa je od vrednosti  $H_0$  iz Ukrajine, Romunije in Bolgarije (0,184 - 0,204). Podobne rezultate da tudi primerjava pričakovanih heterozigotnosti  $H_e$ . Z raziskavo, v katero so vključili 45 jelovih populacij iz vse Evrope (BERGMANN in sod. 1990), so odkrili izrazito odvisnost intenzivnosti propadanja jelke od genetske raznolikosti. Skupina lokusov, analiziranih v naši raziskavi, se od njihove deloma razlikuje in ker vzorca lokusov ne moremo brez omejitev jemati kot naključnega, rezultati obeh raziskav niso neposredno primerljivi. Kljub temu je očitno, da se geografsko pogojeni trend dobro ujema s sušenjem jelke, ki je najbolj prizadeta v severnem delu svojega areala, na Češkem, na Slovaškem in na Poljskem, od koder so tudi prvi poročali o sušenju jelke. Nekoliko manj intenzivno je propadanje jelke pri nas, zelo redko ali skoraj nezaznavno pa je propadanje v Romuniji in v Bolgariji (LARSEN 1986), kjer je heterozigotnost najvišja. Od slovenskih populacij je najbolj prizadeta prav populacija s Pohorja (preglednica 1), pri kateri je heterozigotnost najnižja. Seveda je vprašanje, kje so vzroki za zmanjšano heterozigotnost oziroma zmanjšano raznolikost na splošno. Kot glavne vzroke pogosto navajajo ostre klimatske razmere, ki v srednji Evropi povzročajo selekcijo, genetski drift v refugialnih populacijah, preden so se razširile po Evropi (LARSEN 1986, BERGMANN in sod. 1990), različne stopnje raznolikosti pa so morda tudi posledica različnih migracijskih poti jelke v postglacialu. Vprašanje je seveda tudi, v kolikšni meri je k zmanjšanu raznolikosti prispevalo gospodarjenje, ki je

bilo v zadnjih nekaj sto letih na različnih področjih različno intenzivno in oprto na različna izhodišča.



Grafikon 1: Opazovana heterozigotnost  $H_o$  in pričakovana heterozigotnost  $H_e$  po populacijah.

Graph 1: Observed heterozygosity  $H_o$  and expected heterozygosity  $H_e$  in the populations.

Preskusili smo tudi, v kolikšni meri so analizirane populacije uravnotežene oziroma ali značilno odstopajo od Hardy-Weinbergovega ravnotežja. Pričakovane frekvence genotipov za posamezne lokuse smo preko frekvenc opazovanih alelov izračunali s pomočjo kontingenčnih tabel  $2 \times 2$  oziroma  $3 \times 2$  v primerih, ko smo na lokusu imeli 3 alele. Značilnosti odklonov od Hardy-Weinbergovega ravnotežja smo testirali s  $\chi^2$ -testom. Pri vseh populacijah je odstopanje značilno vsaj v enem lokusu (preglednica 7), pri populaciji iz Novega mesta in z Bohorja v dveh, v populaciji s Pohorja pa celo v štirih lokusih. Najpogostejše je odstopanje v primeru lokusa AAP (5 populacij) in lokusa LAP-A (3 populacije). Zanimivo je, da je pri vseh štirih zahodnih populacijah (Postojna, Hotedrsica, Idrija, Rovte) odstopanje značilno samo v enem lokusu, pri



vzhodnih populacijah pa v Nazarjah v enem, pri drugih pa v dveh ali celo treh lokusih, kar spet nakazuje obstoj določenih geografsko pogojenih genetskih razlik pri jelki v Sloveniji.

Preglednica 7: Lokusi z značilnim odstopanjem od Hardy-Weinbergovega ravnotežja.

*Table 7: Loci with significant deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium.*

Populacija <i>Population</i>	Lokusi <i>Loci</i>
1 Novo mesto	AAP**, LAP-A**
2 Postojna	ACO***
3 Hotedršica	AAP**
4 Idrija	AAP**
5 Rovte	MDH-B*
6 Nazarje	PX-A***
7 Pohorje	AAP**, LAP***, 6PGD-A**, MNR-B**
8 Bohor	AAP**, LAP-A**

### 3.3 GENETSKA DIFERENCIACIJA

Genetsko diferenciranost jelke v Sloveniji smo ocenili s pomočjo genetskih distanc. Za vse pare populacij smo izračunali popravljene genetske distance D (NEI 1978) po formuli :

$$D = -\ln \frac{G_{xy}}{\sqrt{G_x G_y}}, \text{ kjer sta } G_x \text{ in } G_y \text{ povprečji } \frac{(2n_x \sum x_i^2) - 1}{2n_x - 1} \text{ in } \frac{(2n_y \sum y_i^2) - 1}{2n_y - 1}, \text{ izračunani iz } r \text{ analiziranih lokusov, in } G_{xy} = \sum x_i y_i. \text{ } x_i \text{ in } y_i \text{ sta iz vzorcev iz primerjanih populacij X in Y ocenjeni relativni frekvenci i-tega alela, } n_x \text{ in } n_y \text{ pa pomenita število analiziranih osebkov za lokus in sta lahko pri različnih lokusih različna.}$$

$y_i$  sta iz vzorcev iz primerjanih populacij X in Y ocenjeni relativni frekvenci i-tega alela,  $n_x$  in  $n_y$  pa pomenita število analiziranih osebkov za lokus in sta lahko pri različnih lokusih različna.

Iz preglednice 8 je razvidno, da so genetske distance med populacijami relativno nizke, kar je za tako majhen geografski prostor razumljivo. Pri tem moramo opozoriti, da verjetnostne porazdelitve genetskih distanc ne poznamo, zato tudi značilnosti razlik med njimi ne moremo statistično testirati (GÖMÖRY 1992). Toda genetske distance so kljub temu dober kazalec odnosov med populacijami in v našem primeru takoj opazimo, da so genetske distance največje, kadar primerjamo populacijo zahodne skupine s populacijo vzhodne skupine. Genetska distanca je največja (0,007) med populacijama iz Rovt in Nazarij, relativno velika (0,005-0,006) je tudi pri parih Postojna - Novo mesto, Idrija - Novo mesto, Rovte - Novo mesto, Postojna - Pohorje in Rovte - Pohorje. V vseh naštetih primerih je prva populacija iz zahodne, druga pa iz vzhodne skupine. Dodatno dejstvo, da so genetske distance med populacijami znotraj obeh skupin majhne, spet nakazuje določeno stopnjo genetske diferenciacije med populacijami jelke iz vzhodnega in populacijami iz zahodnega dela Slovenije.

Za interpretacijo matrike genetskih distanc  $D$  med analiziranimi populacijami smo uporabili multivariatno analizo - analizo glavnih koordinat (GOWER 1966), v nadaljevanju PCO. Bistvo analize je grafična predstavitev točk, v našem primeru populacij, v dvo- ali trodimenzionalnem prostoru. Število osi v koordinatnem sistemu, v katerem so predstavljene točke, je namreč enako

Preglednica 8: Popravljenе genetske distance  $D$  (NEI 1978) med analiziranimi populacijami jelke v Sloveniji.

Table 8: *Unbiased genetic distances  $D$  (NEI 1978) between silver fir populations in Slovenia.*

Populacija/Population	1	2	3	4	5	6	7	8
1 Novo mesto	-							
2 Postojna	0,006	-						
3 Hotedršica	0,000	0,003	-					
4 Idrija	0,005	0,000	0,001	-				
5 Rovte	0,005	0,003	0,003	0,002	-			
6 Nazarje	0,001	0,004	0,000	0,003	0,007	-		
7 Pohorje	0,001	0,005	0,001	0,003	0,005	0,002	-	
8 Bohor	0,003	0,003	0,001	0,002	0,004	0,003	0,003	-

številu točk, ki je običajno večje od 2 ali 3. V splošnem za  $n$ -točk v  $n$ -prostoru iščemo koordinate, ki morajo biti takšne, da bo  $d(j,k)$ , razdalja med točkama  $j$  in  $k$ , kolikor mogoče enaka  $\delta(j,k)$ , različnosti med populacijama, ki ju predstavljata točki  $j$  in  $k$ . Različnost v našem primeru izraža genetska distanca  $D$ .

Postopek izračunavanja koordinat je naslednji: tvorimo simetrično matriko velikosti  $n \times n$   $\Delta$ , katere elementi so kvadrati različnosti med ploskvami  $\delta(j,k)$ . Nato izračunamo elemente simetrične matrike  $n \times n$   $A$  po formuli

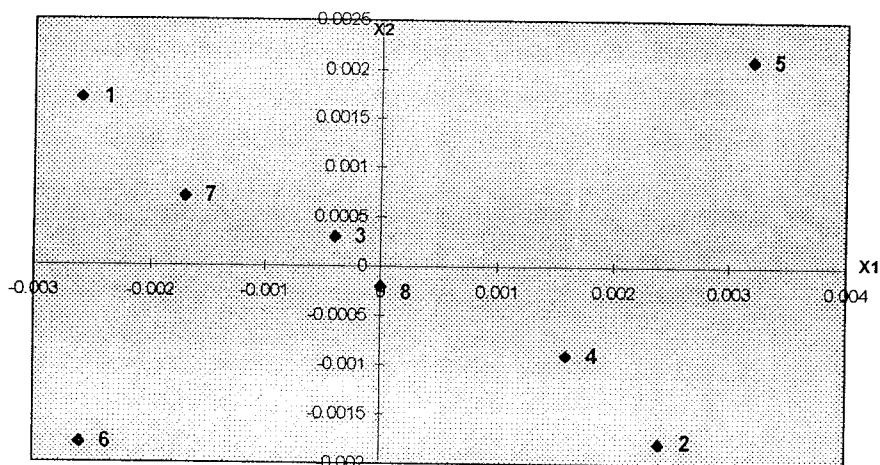
$$a_{jk} = -(1/2)\delta^2(j,k) + (1/2n)\sum_j \delta^2(j,k) + (1/2n)\sum_k \delta^2(j,k) - (1/2n^2)\sum_j \sum_k \delta^2(j,k),$$

kjer je  $\sum_j \delta^2(j,k)$  vsota elementov v  $j$ -ti vrstici matrike  $\Delta$ ,  $\sum_k \delta^2(j,k)$  vsota elementov v  $k$ -tem stolpcu matrike  $\Delta$  in  $\sum_j \sum_k \delta^2(j,k)$  vsota vseh elementov v matriki  $\Delta$ .

Z lastno analizo (Hotelling ali katera druga metoda) matrike  $A$  dobimo lastne vrednosti  $\lambda$  in lastne vektorje  $u^\perp$ . Pri dvodimenzionalni PCO potrebujemo samo prvi dve lastni vrednosti  $\lambda_1$  in  $\lambda_2$  ter lastna vektorja  $u_1^\perp = (u_{11}, u_{12}, \dots, u_{1n})$  in  $u_2^\perp = (u_{21}, u_{22}, \dots, u_{2n})$ . Po formuli  $C = \lambda^{1/2} U$  dobimo matriko  $C$ , v kateri so iskane koordinate.

Iz lastnih vrednosti in lastnih vektorjev smo izračunali koordinate točk in jih predstavili v dvodimenzionalnem koordinatnem sistemu (grafikon 2), v katerem je prikazane 90,85% (63,55 + 27,30) skupne variabilnosti.

Dejanske medtočkovne razdalje, ki smo jih dobili na osnovi PCO, se od željenih medtočkovnih razdalj (genetskih distanc) nekoliko razlikujejo. Razlog za to sta dejstvi, da je točke nemogoče predstaviti natančno s hoteno razdaljo med vsakim parom v kateremkoli realnem prostoru, neglede na to, koliko dimenzij ima ta prostor. V našem primeru ima matrika  $A$  štiri negativne lastne vrednosti, zato je točke tako ali tako nemogoče predstaviti v prostoru z več kot štirimi dimenzijami.



Grafikon 2: Genetska diferenciacija jelke v Sloveniji. Analiza glavnih koordinat je bila izvedena na osnovi Neievih popravljenih genetskih distanc D. Prvi dve osi prikazujeta 90,85% skupne variabilnosti.

Grapf 2: *Genetic differentiation of silver fir in Slovenia. Principal coordinate analysis was based on Nei's unbiased genetic distances. The first two axes display 90.85% of the total variation.*

Drugi del neskladja izvira iz dejstva, da točk nismo predstavili v prostoru s toliko dimenzijami, kot je pozitivnih lastnih vrednosti, torej v štiridimenzionalnem, ampak v dvodimenzionalnem prostoru. Čeprav imamo kar štiri negativne lastne vrednosti, neskladja med genetskimi distancami D in razdaljami med točkami, ki jih lahko izračunamo s pomočjo Pitagorovega izreka, niso prevelika in točke v koordinatnem sistemu vsaj v grobem ponazarjajo dejanske odnose med populacijami.

Čeprav na sliki skupini vzhodnih (1, 6, 7, 8) in zahodnih (2, 3, 4, 5) populacij nista popolnoma ločeni, se vseeno potrjujejo določene razlike oziroma diferenciacija med njima. Pri primerjavi vzhod - zahod se tako prekrivata le

populaciji 3 in 8, na splošno pa vzhodne populacije prevladujejo pretežno na levi in vzhodne na desni polovici koordinatnega sistema. Pri primerjavi bolj kislomanj kislomanj sicer vidimo, da so genetske distance znotraj skupine populacij z manj kislih rastišč relativno majhne, toda znotraj skupine z bolj kislih rastišč so distance med populacijami velike in na njihovi osnovi ne moremo sklepati o razlikah med skupinama.

#### 4 SKLEP

Rezultati raziskave se na splošno dobro ujemajo z genetskimi značilnostmi jelke, ugotovljenimi z drugimi raziskavami po Evropi. Kljub geografsko relativno majhnemu prostoru, ki ga predstavlja Slovenija, smo v primeru kar petih alelov (PX-B<sub>1</sub>, ACO<sub>2</sub>, LAP-A<sub>3</sub>, IDH-B<sub>1</sub>, GOT-C<sub>1</sub>) odkrili dobro ujemanje z značilno geografsko distribucijo v Evropi. V naši raziskavi odkrita distribucija alela 6PGD-A<sub>1</sub> je ravno obratna od pričakovane, vzrokov za to pa je lahko več. Takšno distribucijo je lahko povzročil na primer genetski drift, različne migracijske poti v preteklosti, vnos genov iz drugih področij ali celo vnos genov drugih vrst.

Zanimiva je razmeroma visoka prisotnost nekaterih, drugod po Evropi redkih alelov, kot sta MDH-A<sub>1</sub> in MNR-B<sub>2</sub>. Pojavljanje podobnih alelov nekateri raziskovalci povezujejo z migracijskimi potmi iz različnih ledenodobnih zatočišč. Jugovzhodno obrobje Alp je bilo v vseh obdobjih pleistocena pomembna ločnica vegetacijskih selitvenih tokov in tu je ključ za razumevanje naselitvenih in razvojnih tendenc vegetacije srednje Evrope (ŠERCELJ 1971). Glavna zatočišča za jelko so bila na Apeninskem in na Balkanskem polotoku. Širša analiza podobnih redko pojavljajočih se alelov bi lahko precej pomagala pri ugotavljanju dejanskih migracijskih poti jelke po ledeni dobi. To bi vsekakor tudi prispevalo k razjasnitvi odgovora na vprašanje, ali se je na slovenska tla jelka razširila z Apeninskega ali z Balkanskega polotoka.

Po različnih kazalcih genetske raznolikosti, denimo po številu alelov na lokus ali po odstotku polimorfnih lokusov, so slovenske jelove populacije precej podobne

evropskim. Stopnja heterozigotnosti slovenskih populacij je razmeroma visoka in dejstvo se dobro ujema z geografsko pogojenim trendom sušenja jelke. Stopnja heterozigotnosti je namreč v deželah, kjer je sušenje intenzivnejše kot pri nas, nižja, in v deželah, kjer sušenja skoraj ni, višja kot v Sloveniji.

Ugotovili smo določene razlike med skupinami populacij znotraj Slovenije, za njihovo zanesljivo potrditev pa bi bile potrebne dodatne raziskave, s katerimi bi analizirali večje število lokusov in v katere bi vključili večje število populacij. Nekoliko verjetnejše so razlike v genetski strukturi med populacijami iz vzhodne in zahodne skupine. Na vseh štirih lokusih, kjer so razlike med skupinama značilne, smo sicer vedno odkrili tudi heterogenost znotraj vsaj ene od primerjanih skupin in zelo težko je ugotoviti, kateri dejavniki so to heterogenost povzročili, toda razliko med vzhodno in zahodno skupino delno nakazuje tudi število lokusov z značilnim odstopanjem od Hardy-Weinbergovega ravnotežja (preglednica 7), prisotnost nekaterih redkih alelov samo v zahodni skupini, prav tako pa tudi genetske distance, ki so vedno največje, kadar primerjamo populacijo iz vzhodne s populacijo iz zahodne skupine. Genetsko diferenciacijo med vzhodno in zahodno skupino nakazujejo tudi rezultati analize glavnih koordinat. Nekoliko bolj vprašljiva še vedno ostaja razlika med skupinama populacij bolj kislih in manj kislih rastišč, saj razen značilnih razlik na dveh lokusih, pa še tam s heterogenostjo znotraj skupin, razlik, ki bi potrjevale razlike v genetski strukturi med skupinama, praktično nismo odkrili. Tudi za zanesljivo potrditev te hipoteze bi bilo potrebno analizirati večje število lokusov.

## 5 POVZETEK

V raziskavi smo analizirali genetsko strukturo 8 populacij jelke (*Abies alba Mill.*) iz Slovenije. Vzorec vsake populacije je predstavljalo približno 50 naključno izbranih dreves, s katerih smo za laboratorijsko analizo nabrali dormantne popke. S pomočjo elektroforeze na škrobnem gelu smo analizirali 10 encimskih sistemov, kontroliranih z vsaj 16 izoencimskimi lokusi.

Od 16 analiziranih lokusov smo polimorfizem odkrili pri 15 lokusih, 8 lokusov je polimorfni prav v vseh populacijah. Kljub geografsko majhnemu prostoru, ki ga predstavlja Slovenija, smo pri alelih PX-B<sub>1</sub>, ACO<sub>2</sub>, LAP-A<sub>3</sub>, IDH-B<sub>1</sub> in GOT-C<sub>1</sub> odkrili dobro ujemanje z geografsko distribucijo, značilno za Evropo. Zanimiva je precej visoka relativna frekvenca alela MDH-A<sub>1</sub> (0,059), ki je v Sloveniji višja kot v drugih raziskavah analiziranih populacijah iz srednje ali vzhodne Evrope, v Karpatih pa z dosedanjimi raziskavami sploh ni bil odkrit. Podobno je z alelom MNR-B<sub>2</sub>, ki se pri nas pojavlja z relativno frekvenco 0,03, medtem ko je njegova frekvenca v srednji in vzhodni Evropi precej nižja, na Poljskem, v Ukrajini in v Južnih Karpatih pa ga celo niso odkrili. Pojavljanje podobnih alelov je po mnenju nekaterih raziskovalcev povezano z migracijskimi potmi iz različnih ledenodobnih zatočišč in obsežnejša analiza podobnih alelov z nizko frekvenco bi lahko pripomogla razjasniti vprašanje, ali se v postglacialu jelka v Slovenijo in v del srednje Evrope ponovno naselila iz zatočišč na Balkanskem ali iz zatočišč na Apeninskem polotoku.

Genetsko raznolikost smo ocenjevali s pomočjo več kazalcev. V številu alelov na lokus so razlike med populacijami majhne, saj so vrednosti med 1,8 in 2,0. Vrednost 2,1 alela na lokus za vse populacije skupaj je zelo podobna vrednostim v drugih delih Evrope in se ujema z ugotovitvijo drugih raziskovalcev, da je genetska raznolikost pri jelki nekoliko nižja kot pri drugih iglavcih. Do podobnih zaključkov pripelje tudi odstotek polimorfni lokusov, ki se za posamezne populacije giblje med 62,5% in 81,3%, za vse populacije skupaj pa znaša 93,8%.

Opazovane heterozigotnosti  $H_0$  se gibljejo med 0,153 in 0,203, pričakovane heterozigotnosti  $H_e$  pa med 0,175 in 0,221. Opazovana heterozigotnost  $H_0$  za vse populacije skupaj 0,180 je višja kot pri populacijah iz tistih delov Evrope, kjer je propadanje jelke intenzivnejše, in nižja kot pri populacijah iz predelov, kjer propadanja jelke skoraj ne poznajo. V Sloveniji ima najnižjo opazovano heterozigotnost (0,153) populacija s Pohorja, pri kateri smo ugotovili tudi najvišjo osutost krošnje (50%), kar se prav tako dobro ujema z ugotovljeno odvisnostjo intenzivnosti propadanja od genetske raznolikosti (BERGMANN in sod. 1990).

---

Odstopanje od Hardy-Weinbergovega ravnotežja je največje pri populaciji s Pohorja.

Preskusili smo tudi hipotezo o vplivu geografske dolžine in reakcije tal na genetsko strukturo jelovih populacij na tako majhnem prostoru, kot je Slovenija, postavljeno na osnovi kakovosti jelovega semena (BRINAR 1976).

Več kazalcev kaže na genetske razlike med vzhodno in zahodno skupino populacij. Značilne razlike v frekvencah alelov med skupinama smo odkrili na lokusih PX-B, AAP, 6PGD-A in GOT-C, toda ker smo pri vsakem lokusu odkrili tudi heterogenost znotraj vsaj ene od skupin, razlika s tem ni zanesljivo potrjena. Na razlike sicer kaže tudi prisotnost nekaterih redkih alelov (GOT-A<sub>1</sub>, MNR-A<sub>1</sub>) samo v zahodni skupini, tako kot dejstvo, da imajo populacije iz vzhodne skupine na splošno večje število lokusov z značilnim odsopanjem od Hardy-Weinbergovega ravnotežja. Popravljenе genetske distance (NEI 1978), ki so v skladu z majhnim geografskim prostorom relativno nizke, so najvišje, kadar primerjamo populacijo iz zahodne skupine s populacijo iz vzhodne skupine. Na osnovi genetskih distanc smo izvedli analizo glavnih koordinat in tudi njeni rezultati nakazujejo verjetnost obstoja razlik med vzhodno in zahodno skupino populacij. Še vedno ostaja nejasna razlika med skupinama populacij z bolj kislih in manj kislih rastišč, saj razen značilnih razlik na dveh lokusih, pa še tam s heterogenostjo znotraj skupin, nismo odkrili. Za zanesljivejšo potrditev obeh hipotez bo potrebna raziskava, s katero bomo analizirali večje število populacij in večje število lokusov.



---

## SUMMARY

The genetic structure of 8 silver fir (*Abies alba Mill.*) populations from Slovenia was analyzed. Dormant buds from 50 randomly selected trees comprised the sample of each population. Ten enzyme systems controlled by at least 16 isozyme loci were analyzed using starch gel electrophoresis.

Polymorphism was discovered at 15 loci; however, 8 loci were polymorphic in all populations. Although Slovenia is small in areal extent, an agreement with geographical distribution, typical for Europe, was discovered at loci PX-B<sub>1</sub>, ACO<sub>2</sub>, LAP-A<sub>3</sub>, IDH-B<sub>1</sub> and GOT-C<sub>1</sub>. It is interesting that in Slovenia the frequency of allele MDH-A<sub>1</sub> (0.059) is higher than in populations from central and eastern Europe. In the Carpathians it has not yet been discovered. It is similar for allele MNR-B<sub>2</sub> which appears in Slovenia with the relative frequency 0.03, while its frequency in central and eastern Europe is considerably lower and in Poland, Ukraine and the South Carpathians it has also not yet been discovered. According to some researchers the occurrence of such alleles is connected with migration routes from different glacial refugia. More detailed analyses of similar low-frequency alleles could help answer the question of whether post-glacial silver fir returned to Slovenia and to some parts of central Europe from refugia in the Balkan Peninsula or from refugia in the Apennine Peninsula.

Several measures were used to characterize genetic diversity of analyzed populations. The differences between the populations in the number of alleles per locus are small since the values range between 1.8 and 2.0. The value of 2.1 alleles per locus for all populations together is similar to values obtained from other parts of Europe. The values obtained correspond well with results of other authors and indicate that the genetic diversity of silver fir is a little lower than that of other conifer species. The percentage of polymorphic loci, which ranges in individual populations from 62.5% to 81.3%, and comes to 93.8% in all populations together, leads to a similar conclusion.

The observed heterozygosity  $H_O$  ranges from 0.153 to 0.203 and the expected heterozygosity  $H_E$  from 0.175 to 0.221.  $H_O$  for all Slovenian populations together (0.180) is higher than in silver fir from the north-east of its natural range where it is experiencing strong decline, but lower than in areas where silver fir decline is rare. The lowest observed heterozygosity  $H_O$  (0.153) in Slovenia was found in the Pohorje population which has the highest defoliation (50%). This also agrees well with the theory about lower variation in isozyme loci in areas where silver fir decline is strong (BERGMANN et al. 1990). Deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium is highest in the Pohorje population.

The hypothesis about the influence of longitude and soil reaction on the genetic structure of silver fir populations in Slovenia was also tested. This hypothesis was based on analysis of silver fir seed quality (BRINAR 1976). There are several measures showing genetic differences between the eastern and western populations. Significant differences in allelic frequencies between both groups were found at loci PX-B, AAP, 6PGD-A and GOT-C. Since the heterogeneity within at least one of the groups was found at each locus, the difference is not unambiguously confirmed. The presence of some rare alleles in the west group only, as well as the high number of loci with significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium in the east group, indicate some possible differences. Unbiased genetic distances (NEI 1978), which are relatively low in accordance with the small geographic area comprising Slovenia, are highest when eastern and western populations are compared. On the basis of genetic distances, Principle Coordinate Analyses was carried out. These results also indicate slight differences between the eastern and western groups in the loci studied. However, the existence of a difference between populations from more acidic and less acidic sites remains uncertain because no significant divergence was revealed. The only exceptions were loci PX-B and ACO, but heterogeneity was also found within the groups compared. For more reliable confirmation of both hypotheses further research with a higher number of populations and higher number of loci would be necessary.

---

**VIRI**

- BERGMANN, F., GREGORIUS, H.-R., LARSEN, J.B., 1990. Levels of genetic variation in European silver fir (*Abies alba*). Are they related to the species decline? *Genetica*, 82, s. 1-10.
- BREITENBACH, M., PINSKER, W., 1990. Genetic variation in *Abies alba*. V: *Biochemical markers in the population genetics of forest trees*. Ur.: H.H. Hattemer, S. Fineschi, F. Cannata, M.E. Malvolti. SPB Academic Publishing bv, Haag. s. 223.
- BREITENBACH-DORFER, M., PINSKER, W., HACKER, R., MÜLLER, F., 1992. Clone identification and clinal allozyme variation in populations of *Abies alba* from the Eastern Alps (Austria). *Pl. Syst. Evol.*, 181, s. 109-120.
- BRINAR, M., 1974. Primerjalno testiranje jelovih provenienc glede nekaterih fizioloških značilnosti v zvezi s propadanjem jelke na slovenskem ozemlju. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 12, Ljubjana.
- BRINAR, M., 1976. Kalivost jelovega semena v odvisnosti od provenienčnih rastišč in klime posebno glede na propadanje naše jelke. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 14, s. 155-190.
- CONKLE, M.T., HODGSKISS, P.D., NUNNALLY, L.B., HUNTER, S.C., 1982. Starch gel electrophoresis of conifer seeds: a laboratory manual. USDA Forest Service General Techn. Report, PSW-64, 18 s.
- FADY, B., CONKLE, M.T., 1992. Segregation and linkage of allozymes in seed tissues of the hybrid Greek fir *Abies borisii-regis* MATTF. *Silvae Genetica*, 42(4-5), s. 273-278.
- FERET, P.P., BERGMANN, F., 1976. Gel Electrophoresis of Proteins and Enzymes. V: *Modern Methods in Forest Genetics*. Springer Verlag, Hamburg, s. 49-77.
- FOWLER, J., COHEN, L., 1992. *Practical Statistics for Field Biology*. John Wiley & Sons, Chichester, England, 227 s.
- GÖMÖRY, D., 1992. Effect of stand origin on the genetic diversity of Norway spruce (*Picea abies* Karst.) populations. *Forest Ecology and Management*, 54, s. 215-223.

- GREGORIČ, V., KALAN, J., KOŠIR, Ž., 1975. Geološka in gozdnovegetacijska podoba. V: Gozdovi Slovenije. Uredil Ciril Remic, Ljubljana, Založba Borec, s. 26-62.
- GREGORIUS, H.R., 1987. The relationship between the concepts of genetic diversity and differentiation. *Theor.Appl.Genet.* 74, s. 397-401.
- GUNIA, S., 1986. Proba oceny wartości genetycznej i hodowlanej jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) z Sudetow i Karpat Polskich. (Trials of evaluation of genetic and silvicultural value of silver fir (*Abies alba* Mill.) from the Sudetes and Polish Carpathians on the base of results of provenance studies). *Sylwan* 130(2-3), s. 83-92.
- HAMRICK, J.L., 1989. Isozymes and the Analyses of Genetic Structure in Plant Populations. V: *Isozymes in Plant Biology*. Uredila D.E. Soltis in P.S. Soltis. *Advances in Plant Sciences Series*, Portland, 4, s. 87-105.
- KONNERT, M., 1991. Versuch der Herkunftsbestimmung bei Weißtannenbeständen mit Hilfe der Isoenzymanalyse. *Allgemeine Forstzeitschrift* 46(17), s. 884-885.
- KONNERT, M., 1992. Genetische Untersuchungen in geschädigten Weißtannen Beständen (*Abies alba* Mill.) Südwestdeutschlands. Doktorska disertacija. Gozdarska fakulteta Göttingen, 132 s.
- KONNERT, M., 1994. Die Genetische Variation der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) in Baden-Württemberg. V: Wolf, H., (ur.): *Weißtanne-Herkünfte. Neue Resultate zur Provenienzforschung bei Abies alba Mill.* *Contributions Biologiae Arborum* Vol. 5., Ecomed, s. 79-95.
- KORPEL, Š., PAULE, L., LAFFERS, A., 1982. Genetics and breeding of the silver fir (*Abies alba* Mill.). *Ann.Forest.* 9(5), s. 151-184.
- LARSEN, J.B., 1986. Das Tannensterben: Eine Neue Hypothese zur Klärung des Hintergrundes dieser rätselhaften Komplexkrankheit der Weißtanne (*Abies alba* Mill.). *Forstw.Cbl.*, 105, s. 381-396.
- LARSEN, J.B., QIAN, X.M., SCHOLZ, F., WAGNER, I., 1988. Ecophysiological reactions of different provenances of European silver fir (*Abies alba* Mill.) to SO<sub>2</sub> exposure during winter. *Eur. J. For. Path.*, 18, s. 44-50.

- LEDIG, F.T., 1986. Heterozygosity, heterosis, and fitness in outbreeding plants. V: Conservation biology: the science of scarcity and diversity. Uredil M.E. Soule. Sinauer Associates, Sunderland, MA, s. 77-104.
- LONGAUER, R., 1994. Genetic Differentiation and Diversity of European Silver Fir in Eastern Part of Its Natural Range. Proceedings of the 7<sup>th</sup> Silver Fir Symposium, Altensteig.
- MITTON, J.B., 1989. Physiological and Demographic Variation Associated With Allozyme Variation. V: Isozymes in Plant Biology. Uredila D.E. Soltis in P.S. Soltis. Advances in Plant Sciences Series, Portland, 4, s. 127-145.
- MOLLER, K., 1986. Genetische untersuchungen bei der Tanne mit Hilfe von Enzym-Genmarkern. Allgemeine Forstzeitung, 41(3), s. 60-61.
- NEI, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small numbers of individuals. Genetics, 89, s. 583-590.
- SCHROEDER, S., 1989. Die Weißtanne in Süddeutschland: Genetische Variation, Kline, Korrelationen. Allg.Forst-u.J.-Ztg., 160(5), s. 100-104.
- SNEDECOR, G., W., 1961. Statistical methods. Fifth edition, Iowa USA, The Iowa State University Press, 534 s.
- ŠERCELJ, A., 1971. Postglacialni razvoj gorskih gozdov v severozahodni Jugoslaviji. Razprave XIV, SAZU, Ljubljana.
- WENDEL, J.F., WEEDEN, N.F., 1989. Visualization and Interpretation of Plant Isozymes. V: Isozymes in Plant Biology. Uredila D.E. Soltis in P.S. Soltis. Advances in Plant Sciences Series, Portland, 4, s. 5-45.
- WOLF, H., RUETZ, W.F., FRANKE, A., 1994. Der Süddeutsche Weißtannen-Provenienzversuch: Ergebnisse der Baumschulphase und Anlage der Versuchflächen. V: Wolf, H.(ur.): Weißtannen-Herkünfte. Neue Resultate zur Provenienzforschung bei Abies alba Mill. Contributiones Biologiae Arborum Vol. 5, Ecomed, s. 107-130.
- WOLF, H., 1994. Die variation des Monoterpenmusters im Nadelharz verschiedener Herkünfte der Weißtanne (Abies alba Mill.). V: Wolf, H.(ur.): Weißtannen-Herkünfte. Neue Resultate zur Provenienzforschung bei Abies alba Mill. Contributiones Biologiae Arborum Vol. 5, Ecomed, s. 45-78.

YAZDANI, R., MUONA, O., RUDIN, D., SZMIDT, A.E., 1985. Genetic structure of a *Pinus sylvestris* L. Seed-Tree Stand and Naturally Regenerated Understory. *Forest Sci.*, 31, 2, s. 430-436.

ZUPANČIČ, M., 1992. O genetski diferenciranosti pomembnejših drevesnih vrst v Sloveniji. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 40, s. 73-88.