

Parastās priedes (*Pinus sylvestris* L.) plantāciju sēklu kvalitāte un ģenētiskā daudzveidība mainīgos vides apstākļos

Imants Baumanis¹, Ilze Veinberga¹, Linards Ļubinskis¹, Dainis Ruņģis¹,
Āris Jansons^{1*}

Baumanis, I., Veinberga, I., Ļubinskis, L., Ruņģis, D., Jansons, J. (2012). Seed quality and genetic polymorphism in Scots pine seed orchards. *Mežzinātne* 26(59): 74-87.

Kopsavilkums. Darbā vērtētas priežu sēklu kvalitatīvās un ģenētiskās atšķirības trīs dažādās priežu sēklu plantācijās atšķirīgos ražas gados. Divās 23-gadīgās (Dravas, Sāviena) un vienā astoņgadīgā (Norupes) priežu sēklu plantācijā analizēti 18 priežu klonu 2011. gada čiekuri un sēklas. Noteikti un salīdzināti čiekuru vidējie rādītāji, pilngraudaino sēklu skaits čiekurā un 1000 sēklu svars. Skaidrotas klonu pazīmju korelatīvās sakarības starp dažādām plantācijām. Salīdzināts plantāciju un mežaudžu reproduktīvais materiāls.

Ģenētiskās daudzveidības izvērtēšanai ar molekulārās ģenētikas metodēm salīdzināti dažādu gadu sēklu ražas paraugi no Sāvienas (2011., 2006., 1999. g.) un Dravu (2011., 2010. g.) plantācijām.

Čiekuru un sēklas raksturojošo pazīmju absolūtie lielumi dažāda vecuma priežu sēklu plantācijās ar vienādu klonu sastāvu ir atšķirīgi, bet šo rādītāju korelācija starp vienāda vecuma un klonu sastāva plantācijām ir augsta un statistiski būtiska ($r_{0,01} = 0,6-0,8$). Priežu kloni atšķiras pēc pilngraudaino sēklu skaita čiekurā un to svara ($\alpha = 0,001$). Sēklu plantāciju čiekuri ir statistiski būtiski lielāki un tiem ir vairāk un smagākas pilngraudainās sēklas salīdzinājumā ar mežaudžu čiekuriem.

Sēklu plantācijās ar vienādu klonu sastāvu, bet kuras atrodas ģeogrāfiski un klimatiski atšķirīgās vietās, būtiska ģenētiskās daudzveidības samazināšanās nav novērota.

Nozīmīgākie vārdi: priežu sēklu plantācijas, čiekuri, sēklas, heterozigotāte.

•••

Baumanis, I.², Veinberga, I.², Ļubinskis, L.², Ruņģis, D.², Jansons, Ā.^{2*} **Seed quality and genetic polymorphism in Scots pine seed orchards.**

Abstract. The results of tree breeding programs are realised through seed orchards. The reproductive cycle of Scots pine is spread over 3 vegetative seasons. Intensity of flowering is dependent on the formation of the female and male strobili precursors during the first year of the cycle, and meteorological conditions during flowering can significantly affect the seed production in the following year. Significant differences in phenology have been observed

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

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

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

both between populations and within populations (Neimane *et al.*, 2009). Seed production differs between clones, and is dependant on the phenological characteristics of the population.

Seed quality parameters have been determined in individual clones and groups of clones in pine seed orchards (Gailis *et al.*, 1973; Dreimanis, 1974, 1988; Laura, Bērziņa, 1978). Seeds obtained from seed orchards have higher seed weight and germination in comparison to seeds obtained from natural stands. However, no comparisons have been made of cone and seed quality parameters between seed orchards, established with identical clones in various locations within Latvia.

A low number of male strobili is characteristic of newly-established pine seed orchards, which negatively affects seed quality. These parameters improve as the seed orchards mature. Meteorological conditions can also significantly affect seed production and quality. One of the most important parameters which characterizes the adaptive potential of stands is genetic diversity, and studies have indicated that genetic diversity in progeny is not negatively affected if the effective clone number is more than 15-20 (Prescher, 2007). These diversity studies, as well as comparisons of diversity in seeds collected in different years have not been done in Latvia.

The aim of this study was to compare seed quality and genetic diversity parameters of seeds collected from pine seed orchards located in different regions of Latvia, and in different years.

In autumn 2011, seed material was collected from 18 Misa provenance plus tree clones, located in three seed orchards: Sāviena (orchard age 23 years), Dravas (23 years old) and Norupe (8 years old). Cone length and diameter were measured, and full seed number per cone and 1000 seed weight were determined.

48 seeds from each seedlot were germinated and DNA extracted for genetic diversity assessment. Additionally, bulked seed lots were obtained from Sāviena (1999, 2006) and Dravas (2010). DNA extraction was done using a modified CTAB method (Doyle, Doyle, 1990). Genotyping was done with 6 SSR markers: PtTX3107, PtTX4001, PtTX4011, PtTX2146 (Elsik *et al.*, 2000), SPAC11.6, SPAC12.5 (Soranzo *et al.*, 1998). Results were analysed using GenALEx v6.1 (Peakall, Smouse, 2006) and DARwin (Perrier, Jacquemoud-Collet, 2006).

Cone parameters were compared between the two 23 year old pine seed orchards. The largest cones were collected from the Dravas seed orchard: average diameter 24,3 mm (cv 10,3 %) and average length 49,5 mm (cv 10,3 %). Differences in cone diameter between Dravas and Sāviena were small, but significant ($\alpha = 0,01$), while cone length did not differ significantly. Average cone diameter (20,9) and length (40,1) collected from the 8 year old Norupe seed orchard, differed significantly from the Dravas and Sāviena seed orchard.

The number of full seeds per cone also varied significantly between the Dravas (average 22,8) and Sāviena (average 16,5) seed orchards ($\alpha = 0,001$). The meteorological

conditions during pine flowering at the Sāviena seed orchard were predominantly overcast and rainy, inhibiting pollination. In the 8 year old Norupes seed orchard, where male strobili were not fully developed, the average number of full seeds per cone was 14,5, which is significantly less than in the Dravas seed orchard. There was no significant difference in the number of full seeds per cone between the Sāviena and Norupe seed orchard. 1000 seed weight was not significantly different between Dravas and Norupe, but was significantly lower in the Norupe seed orchard (Table 1).

Significant differences in cone and seed parameters were also found between the Misa natural stand and the seed orchards (Table 2), confirming previously obtained results (Zviedre, 1981). Over the past decades, an increase in seed orchard 1000 seed weight has been observed, reaching 9-10 grams in Latvia, which is similar to data from central Turkey (Sivacioğlu, Ayan, 2008). However, in Scandinavia, Scots pine seeds are smaller (6-7 g) (Prescher *et al.*, 2005). These changes could be attributed to seed orchard clone maturation as well as the possible effects of climate change.

Pairwise Nei genetic distance was determined, and a neighbor-joining dendrogram constructed (Figure 2). The seeds collected in 2011 clustered together, and this was confirmed by AMOVA, where 1 % of the genetic polymorphism was found between the seed lots collected in 2011. In comparison, 2% of polymorphism was found between the seed lots collected from Sāviena in 1999, 2006 and 2011, while 3 % of genetic polymorphism was found between the seed lots collected from Dravas in 2010 and 2011.

No large differences in genetic polymorphism parameters were found between the analysed seed lots. The largest differences were in the observed heterozygosity (H_o) values (Table 4), which indicates a higher rate of self-pollination. The highest H_o values were found in the Dravas seed orchard, while the values were lower in the Sāvienas and Norupes seed orchard. This correlates with the number of full seeds per cone found in 2011. The decrease in H_o in the Norupe seed orchard could be attributed to the young age of the seed orchard, while in Sāviena this might be explained by the unfavourable meteorological conditions prevailing during flowering.

Cone and seed size parameters in seed orchards established with identical clones, were similar in the two 23 year old seed orchards, but lower in an 8 year old seed orchard.

Cone and seed size from seed plantation clones increases with ramet age.

In 23 year old seed orchards (Dravas and Sāviena), seed size was similar, but the number of full seeds per cone differed significantly ($\alpha = 0,001$).

Genetic diversity parameters of seeds obtained from seed orchards established with identical clones were similar to each other and between seed collection years.

The most genetically similar seeds were those collected in a single year (2011), from 3 different seed orchards, which were more similar than seed lots collected from the same seed orchards in different years.

The most variable genetic diversity parameter was observed heterozygosity (H_o),

which indicated the level of self-pollination, and which was correlated with the number of full seeds per cone in 2011.

The level of self-pollination in seed orchards can be influenced by a variety of factors, including seed orchard age (Norupe) and meteorological conditions (Sāviēna).

Key words: pine seed orchards, cones, seeds, heterozygosity.

•••

Бауманис, И.³, Вейнберга, И.³, Любинскис, Л.³, Рунгис, Д.³, Янсонс, А.^{3*} **Качество и генетическое разнообразие семян семенных плантаций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в переменных условиях среды.**

Резюме. Оценены качественные и генетические различия семян сосны обыкновенной, собранных в трёх разных семенных плантациях и в разных годах урожайности. В двух 23-летних (Дравас, Савиена) и в одной 8-летней (Норупе) семенной плантациях проанализированы шишки и семена урожая 2011 года у 18 клонов сосны. Определены и сравнены средние показатели шишек, число полнозернистых семян в одной шишке и вес 1000 семян. Установлены коррелятивные связи характеристик клонов между разными плантациями. Сравнен репродуктивный материал, полученный в плантациях и насаждениях.

Для выяснения генетического разнообразия молекулярно-генетическими методами сравнены образцы семян плантаций Савиена (2011., 2006., 1999.) и Драва (2011., 2010.) в разных годах урожайности.

Абсолютные величины, характеризующие признаков шишек и семян в разновозрастных семенных плантациях с одинаковым составом клонов, имеют различия, но эти различия определены генетически, потому что сохраняется высокая корреляция между плантациями старшего возраста ($r_{0,01} = 0,6-0,8$). Размер шишек и семян в семенных плантациях увеличивается с возрастом раметов. В плантациях одного возраста образуется семена одного размера, но число полнозернистых семян в шишке имеет различия ($\alpha = 0,001$). Шишки семенных плантаций и лесных насаждений отличаются существенно ($\alpha = 0,001$): в плантациях Драва и Савиена шишки по размеру больше, в них также больше полнозернистых семян, вес которых 7,9 г, это на 28% выше чем вес у семян насаждений.

Не выявлены существенные различия генетического разнообразия в плантациях с одинаковым составом клонов, которые находятся в разных географических и климатических условиях. Определенная гетерозиготность (Ho), которая показывает вклад самоопыления, коррелирует с количеством полных семян в шишке.

Ключевые слова: семенные плантации сосны, шишки, семена, гетерозиготность.

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

Ievads

Meža selekcijas darba rezultātus mezsaimniecībā realizē, ierīkojot sēklu plantācijas ar atlasītu un pārbaudītu klonu vai hibridu veģetatīvo materiālu, no šīm plantācijām ievāc ģenētiski augstvērtīgas sēklas stādu ražošanai. Pirmās kārtas priežu sēklu plantāciju ierīkošana sākas pirms piecdesmit gadiem, vecākajās no tām sēklas vairs neievāc, bet daļa no tām tiek saglabāta kā klonu arhīvi.

Priedei ģeneratīvais attīstības cikls aptver trīs veģetācijas sezonas (Laura, 1975). Pirmajā gadā vasaras periodā izveidojas sievišķo un vīrišķo strobilu aizmetņi, kas nosaka ziedēšanas intensitāti nākamajā gadā. Meteoroloģiskie apstākļi ziedēšanas laikā var būtiski ietekmēt nākamā gada sēklu ražu. Sievišķo un vīrišķo strobilu ziedēšanas dinamikas novērojumi liecina, ka pastāv nozīmīgas fenoloģiskās atšķirības starp kloniem no dažādām populācijām, kā arī vienas populācijas ietvaros (Neimane *et al.*, 2009). Sēklu iznākums, salīdzinot ar potenciāli iespējamo, dažādiem plantācijas kloniem ir atšķirīgs un zināmā mērā atkarīgs no populācijas klonu ziedēšanas laika novirzēm. Kā agri, tā vēl ziedošajiem kloniem, it sevišķi pašiem agrākajiem un vēlākajiem salīdzinot ar pārējiem kloniem, ir mazāks pilno sēklu iznākums, ko veicina pārējo klonu ziedputekšņu trūkums apaugļošanās laikā (Laura, Bērziņa, 1978). Agri ziedošie kloni biežāk apsalst, nelabvēlīgos meteoroloģiskos apstākļos nepilnīgi apaugļojas, kā rezultātā palielinās tukšo sēklu īpatsvars, kas atstāj negatīvu ietekmi uz nākamā gada ražu.

Līdzšinējie pētījumi par klonu

ziedēšanas intensitāti, sēklu iznākumu un to kvalitāti veikti pirmās kārtas sēklu plantācijās sēklu ražošanas fāzē. Pētījumos izvērtēti atsevišķi kloni vai klonu grupas no dažādām plantācijām, nosakot čiekuru parametrus, sēklu iznākumu un kvalitāti (Gailis *et al.*, 1973; Dreimanis, 1974, 1988; Laura, Bērziņa, 1978). Informācija par sēklu ražām un to kvalitāti pieejama Baltijas sēklu kontroles stacijas vadītājas A. Zviedres pārskatos (Zviedre, 1981; Zviedre, Dzintare, 1982; Звиедре, 1985). Salīdzinātas mežaudžu un sēklu plantāciju sēklas un konstatēts, ka plantāciju sēklām ir vidēji lielāks svars un arī dīgšanas enerģija. Līdz šim nav salīdzināti dažādu Latvijas reģionu vienādu klonu sastāva sēklu plantāciju čiekuri un sēklas.

Jaunās sēklu plantācijās pirmajos ziedēšanas gados raksturīgs ļoti mazs vīrišķo strobilu skaits. Tam ir negatīva ietekme ne tikai uz sēklu ģenētisko kvalitāti (apputeksnēšanās ar mežaudžu putekšņiem), bet arī sēklu iznākumu un fizioloģiskajiem parametriem. Pieaugot plantācijas vecumam un vīrišķās ziedēšanas intensitātei, palielinās arī sēklu raža un pilngraudaino sēklu skaits čiekurā.

Meteoroloģiskie apstākļi var nozīmīgi ietekmēt plantāciju sēklu ražas apjomu un ģenētisko kvalitāti. Tādēļ sagaidāms, ka jau notiekošās un prognozētās klimatiskās izmaiņas var atsaukties uz sēklu ieguvu un plantāciju pēcnācēju ģenētiskajām pazīmēm, tajā skaitā adaptācijas spējām. Viens no nozīmīgiem audzes adaptācijas potenciālu raksturojošiem rādītājiem ir ģenētiskā daudzveidība. Parastās priedes mežaudžu un sēklu plantāciju pēcnācēju ģenētiskās daudzveidības salīdzināšana samērā plaši

veikta Skandināvijas valstīs, kopumā secinot, ka konstatētās atšķirības nav būtiskas, ja efektīvo klonu skaits plantācijā nav mazāks par 15-20 (Prescher, 2007). Taču Latvijā šādi pētījumi nav izdarīti, nav arī analizēta plantāciju pēcnācēju ģenētiskās daudzveidības rādītāju starpgadu mainība.

Ģenētiskās daudzveidības pētījumos samērā plaši lieto selektīvi neitrālus molekulāros marķierus, kas nav saistīti ar fenotipiskajām pazīmēm; mikrosatelītu – SSR (no angl. *Simple sequence repeats*) marķierus. Tie ir informatīvi, uzrāda daudz alēļu, labi atkārtojami, un to ģenotipēšana tehniski ir salīdzinoši vienkārša (Ritland, Ritland, 2000). SSR marķieri izmantoti putekšņu plūsmas noskaidrošanai parastās priedes audzēs (Rodledo-Arnuncio *et al.*, 2004), kā arī ģenētiskās daudzveidības noteikšanai atjaunotās klinškalnu priedes audzēs (Thomas *et al.*, 1999).

Darba mērķis – novērtēt sēklu kvalitatīvās un ģenētiskās atšķirības dažādās sēklu plantācijās un dažādos ražas gados.

Materiāls un metodika

Pētījuma materiāls ievākts 2011. gada rudenī no 18 Mīsas proveniENCES pluskoku kloniem, kas pārstāvēti visās trijās sēklu plantācijās:

- a) Sāviena (Jaunkalsnavas novads), kur 80 Mīsas kloni izvietoti vienkopus atsevišķā plantācijas daļā (blokā);
- b) Dravas (Kuldīgas novads), kur atsevišķā blokā izvietoti 66 Mīsas kloni;
- c) Norupes (Ogres novads), kur visa plantācija sastāv no 64 kloniem (t.sk. 47 Mīsas kloni).

Sāvienas un Dravu plantācijās 23 gadu vecumā no katra klona 4 rametiem vainaga vidusdaļā dažādās pusēs rendomizēti ievākti 30 čiekuri, bet Norupes plantācijā 8 gadu vecumā – 20 čiekuri. Kontrolei Mīsas mežniecības I bonitātes pieaugušā mežaudzē ievākti čiekuru paraugi no 23 kokiem (30 čiekuri no koka).

Uzmērīts čiekuru garums un caurmērs, noteikts vidējais pilngraudaino sēklu skaits vienā čiekurā un 1000 sēklu svars.

Datu apstrādei pielietoti MS Excel datu analīzes rīki, nosakot pazīmju vidējās vērtības un variācijas koeficientus; klonu reprodūktīvo pazīmju atšķirības pa augšanas reģioniem izvērtētas ar dispersijas analīzi. Atlasītajiem kloniem skaidrotas pazīmju korelatīvās sakarības pa sēklu plantācijām.

Ievāktais plantāciju sēklu materiāls izmantots arī ģenētiskās daudzveidības vērtēšanai ar molekulārās ģenētikas metodēm. Ģenētiskās daudzveidības izmaiņu analīzei izmantoti dažādu sēklu ražas gadu – Sāvienas (1999., 2006., 2011. g.) un Dravas (2010., 2011. g.) – priežu sēklu plantāciju vidējie sēklu paraugi.

No katra plantācijas parauga izdiedzētas 48 sēklas, no dīgstiem izdalītas DNS, pielietojot modificētu CTAB metodi (Doyle, Doyle, 1990). Ģenotipēšana veikta ar 6 SSR marķieriem: PtTX3107, PtTX4001, PtTX4011, PtTX2146 (Elsik *et al.*, 2000), SPAC11.6, SPAC12.5 (Soranzo *et al.*, 1998).

Ģenotipēšanas polimerāzes ķēdes reakcijas (PĶR) 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 ar fluorescējošu krāsvielu iezīmēta tiešā un reversā praimerā.

Fragmentu analīze: apvieno pa 1 µl katru PĶR amplificēto fragmentu ar atšķirīgām krāsvielu iezīmēm (6-FAM, HEX, NED), pievieno 0,7 µl GeneScan TM-350 ROX Size Standard un 8 µl Hi-Di TM formamīda. Denaturē termociklera aparātā 95°C temperatūrā 5 minūtes. Strauji atdzesē līdz 0°C temperatūrai. Genotipē ar Applied Biosystems ģenētisko analizatoru 3130XL.

Iegūto genotipu datu analīze veikta ar GenAIEx v6.1 (Peakall, Smouse, 2006) un DARwin (Perrier, Jacquemoud-Collet, 2006) programmām.

Rezultāti un diskusija

Čiekuru un sēkļu analīze

Dīvās 23-gadīgās sēkļu plantācijās, kas atrodas ģeogrāfiski un klimatiski atšķirīgās vietās, salīdzināta 2011. gada čiekuru raža 18 priežu kloniem. Lielākie čiekuru diametri un garumi konstatēti Dravas sēkļu plantācijas

kloniem, kuru vidējais čiekuru diametrs – 24,3 mm, garums – 49,5 mm, variācijas koeficients starp kloniem – 10,3 % (1. tab., 1. att.). Klonu čiekuru diametru atšķirības starp Dravas un Sāvienas plantācijām ir nelielas, bet statistiski būtiskas – $F = 6,4 > F_{0,01}$ (2. tab.), turpretī čiekuru garumu atšķirība nav būtiska.

Norupes 8-gadīgajā sēkļu plantācijā, kur sēkļu ražošanas fāze tikko sākusies, vidējais čiekuru diametrs ir 20,9 mm un garums 40,1 mm, kas būtiski ($F_{0,001}$) atšķiras no vecākajās – Dravas un Sāvienas plantācijās – konstatētā. Šie mērījumi atbilst datiem, kas iegūti no līdzīga vecuma sēkļu plantāciju čiekuriem (Dreimanis, 1974). Tas norāda, ka čiekuru izmēri pieaug līdz ar sēkļu plantācijas vecuma palielināšanos.

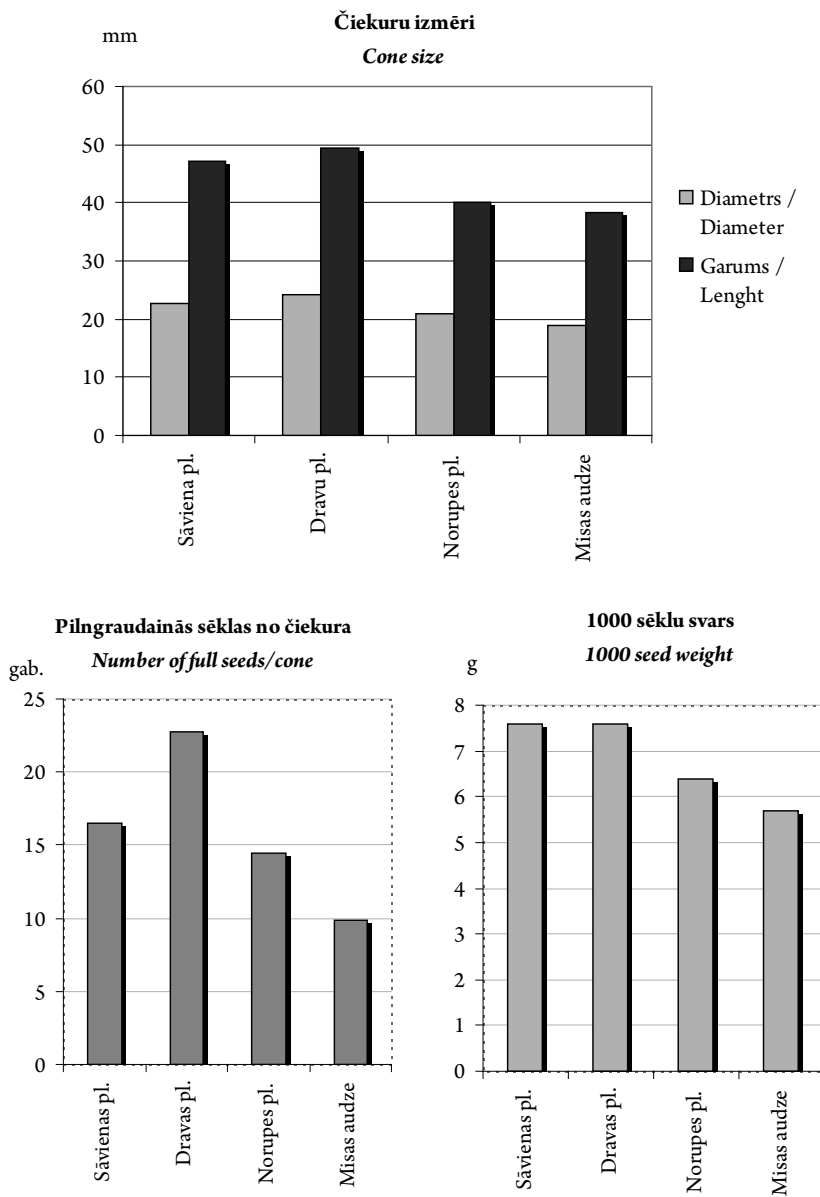
Priežu kloni atšķiras arī pēc tāda būtiski sēkļu ražu ietekmējoša rādītāja kā pilngraudaino sēkļu skaits čiekurā ($F_{0,001}$). Dravas plantācijā pilngraudaino sēkļu skaits čiekurā, atkarībā no klona, svārstās no 13 līdz 33 gab., vidēji čiekurā ir 22 sēklas, ar augstu variācijas koeficientu (31,3 %). Sāvienas

1. tabula / Table 1

Priedes čiekuru vidējie rādītāji un sēkļu raksturojums dažādās plantācijās un mežaudzē
Average pine cone and seed parameters in seed orchards and forest stand

Plantācija Seed orchard	Ve- cums, gadi Age, years	Čiekuri Cones				Pilngraudaino sēkļu skaits čiekurā No. of full seeds per cone		1000 sēkļu svars 1000 seed weight	
		Diametrs Diameter		Garums Length		gab.	cv%	g	cv%
		mm	cv%	mm	cv%				
Dravas pl.	23	24,3	10,3	49,5	10,3	22	31,3	7,8	9,6
Sāvienas pl.	23	22,7	12,1	47,2	13,1	15	41,3	7,9	13,0
Norupes pl.	8	20,9	10,5	40,1	11,8	13	47,2	6,7	14,8
Misas audze	100	19,0	6,2	38,4	7,2	9,9	39,2	5,7	15,8

pl. – sēkļu plantācija / seed orchard; audze – forest stand.



1. attēls. Mīsas klonu čiekuru un sēklu raksturojums (2011. gads).

Figure 1. Cone and seed parameters of the Misa clones (2011).

pl. – sēklu plantācija / seed orchard; audze – forest stand.

Čiekuru un sēklu atšķirības dažādās sēklu plantācijās un mežaudzē
Differences in cone and seed parameters between seed orchards and natural stand

Plantācijas / audzes <i>Seed orchards / stands</i>	Dispersijas <i>Variance</i>			
	Čiekuru diametrs <i>Cone diameter</i>	Čiekuru garums <i>Cone length</i>	Sēklu skaits <i>No. of seeds</i>	1000 sēklu svars <i>1000 seed weight</i>
Sāviena – Dravas	6,4**	3,5	10,3***	0,1
Sāviena – Dravas – Norupes	17,3***	35,1***	8,1***	8,0***
Dravas – Mīsas audze	139***	131,0***	38,3***	45,7***
Sāviena – Mīsas audze	54,5***	63,6***	8,8**	45,5***

Apzīmējumi / Legend: *** $F_{0,001}$; ** $F_{0,01}$; * $F_{0,05}$
 pl. – sēklu plantācija / seed orchard; audze – forest stand.

plantācijā uzskaitītas 5 līdz 25 (vidēji 15) pilngraudainas sēklas čiekurā, ar vēl augstāku variācijas koeficientu (41,3 %). Sāvienas plantācijā priežu ziedēšanas laikā pārsvarā bija apmākušās un lietainas dienas, kas varēja ietekmēt apputeksnēšanos. Līdzīgas sēklu ražas sakarības novērotas arī 1975. gada Skaistkalnes un Olaines plantāciju kloniem ar atšķirīgu ziedēšanas laiku (Dreimanis, 1988.).

Jaunākajā – Norupes plantācijā, kur visi kloni vēl nezied un vīrišķo ziedpumpuru attīstība ir neliela, čiekurā vidēji ir 13 (5-26 gab.) pilngraudainu sēklu. Vidējais 1000 sēklu svars šajā plantācijā ir 6,7 grami, kas ir būtiski mazāks nekā vecākajās sēklu plantācijās, bet variācijas starp kloniem 5,5-9,6 g. Sēklu lielumu vairāk ietekmē klonu rameta vecums un ģenētiskās īpašības, bet mazāk – plantācijas atrašanās vieta. Konstatētas klona čiekuru un sēklu raksturojošo pazīmju absolūto lielumu atšķirības starp ramiem dažāda vecuma plantācijās ($F_{0,001}$), bet klonu vidējo vērtību līmenī starp plantācijām pastāv augsta korelācija (3. tab.).

Sēklu skaitu čiekurā nosaka gan klona ģenētiskie faktori, gan klimatiskie un meteoroloģiskie apstākļi priežu ziedēšanas laikā, kas ietekmē sievišķo strobilu apputeksnēšanos un sēklu attīstību (Дрейманис, 1978; Laura, Bērziņa, 1978; Zviedre, 1981; Sarvas, 1962). Sēklu lielumu raksturo 1000 pilngraudaino sēklu svars. Sēklu lielumu ietekmē klonu ģenētiskie, klimatiskie un edafiskie apstākļi (Dreimanis, 1988; Prescher, 2007).

Vienvecuma Dravas un Sāvienas plantācijas klonu 1000 sēklu vidējais svars būtiski neatšķiras, attiecīgi – 7,8 un 7,9 grami. Turpretī atšķirības starp kloniem ir lielas, un 1000 sēklu svars ir robežās no 6,6 līdz 10,0 gramiem. Jaunākajā, 8-gadīgajā Norupes plantācijā, 1000 sēklu svars ir mazāks – 6,7 grami, kas atbilst agrāk veikto pētījumu datiem (Dreimanis, 1974). Vecākajās plantācijās novērotas nelielas sakarības starp čiekuru parametriem un 1000 sēklu svaru ($r_{0,05} = 0,4-0,6$).

Konstatētas būtiskas atšķirības starp sēklu plantāciju un mežaudzes čiekuru un

3. tabula / Table 3

Čiekuru un sēkļu vidējo paraugu korelatīvās sakarības dažādās plantācijās
Correlation of cone and seed parameters between seed orchards

Plantācija <i>Seed orchard</i>	Norupes	Sāviena
<i>čiekuru diametrs / cone diameter</i>		
Sāviena	0,67**	
Dravas	0,67**	0,62**
<i>čiekuru garums / cone length</i>		
Sāviena	0,67**	
Dravas	0,81**	0,77**
<i>pilngraudaino sēkļu skaits čiekurā / no. of full seeds/cone</i>		
Sāviena	0,71*	
Dravas	0,70*	0,58**
<i>1000 sēkļu svars / 1000 seed weight</i>		
Sāviena	0,49*	
Dravas	0,34	0,69**

Apzīmējumi / Legend: ** – 0,01; * – 0,05;

korelācijas aprēķinātas, izmantojot klonu vidējās vērtības / correlations calculated from clone mean values.

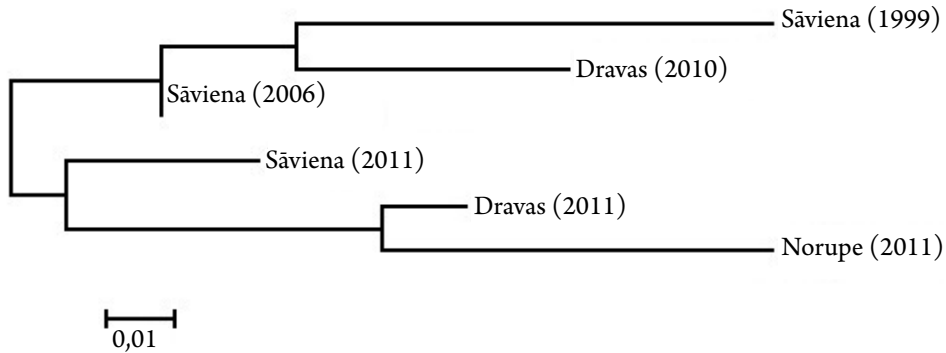
sēkļu paraugiem. Mežaudzes kokiem atšķirīgi ir čiekuru izmēri (2. tab.) – vidējais diametrs 19 mm, garums 38,4 mm, un tie variē robežās no 32,1-42,5. Vidēji vienā čiekurā ir 10 pilngraudainu sēkļu, kas ir ievērojami mazāk nekā plantācijās (Dravās-22; Sāvienā-15 un Norupēs-13). Vidējais 1000 sēkļu svars mežaudzē (ar lielām atšķirībām starp kokiem – 4,3-8,1 g.) – 5,7 gramu, kas ir par 28 % mazāks nekā Sāvienas un Dravas plantācijās. Līdzīgus datus pirms ~30 gadiem publicējuši arī Baltijas sēkļu kontroles stacijas darbinieki (Zviedre, 1981).

Pēdējās desmitgadēs veiktie novērojumi liecina, ka sēkļu svaram plantācijās ir tendence palielināties. Kloniem ar rupjākām sēklām (M238 – Dravās; 248, 226, 249 – Sāvienā un 256 – Norupēs) 1000 sēkļu svars sasniedz pat 9-10 gramus, kāds novērots arī priežu plantācijās Turcijas

vidienē (Sivacioğlu, Ayan, 2008), savukārt Skandināvijas valstīs priežu plantāciju sēklas ir mazākas – Zviedrijas dienvidu daļā (6-7 g) (Prescher *et al.*, 2005). Iemesls šādām norisēm varētu būt novēroto klonu vecuma palielināšanās un iespējamo klimata izmaiņu ietekme.

Plantāciju sēkļu molekulāri ģenētiskā analīze

Noteikti *Nei* ģenētiskie attālumi starp visām plantāciju sēkļu partijām un rezultāti atspoguļoti dendrogrammā (2. att.). Kā redzam, visu plantāciju sēkļu partijas sadalās divās lielākās grupās, kur visas 2011. g. ievāktās sēklas ir ģenētiski radnieciskākas viena otrai. Otro grupu veido citos gados ievāktās sēklas. Šo līdzību apstiprina arī molekulārās dispersijas analīze (AMOVA), ar kuru noteikts ģenētiskās daudzveidības sadalījums starp plantāciju sēkļu partijām un



2. attēls. *Nei* ģenētisko attālumu dendrogramma.

Figure 2. Dendrogram depicting *Nei* genetic distances between the analysed seed lots.

sēklu partiju iekšienē. Tikai 1 % no kopējās ģenētiskās daudzveidības konstatēts starp sēklu partijām, kas ievāktas 2011. gadā. Starp Sāvienas plantācijas sēklām, kuras iegūtas atšķirīgos gados (1999. g., 2006. g. un 2011. g.), konstatēti 2 % no kopējās ģenētiskās daudzveidības. Starp Dravas sēklu partijām, kas ievāktas 2010. un 2011. gadā, konstatēti 3 % no kopējās ģenētiskās daudzveidības. Tas norāda, ka radniecīgākās ir sēklu partijas, kas ievāktas 2011. gadā. Šī ražas gada sēklu partijas no ģeogrāfiski attālām plantācijām ir savstarpēji ģenētiski līdzīgākas nekā vienas plantācijas divu atšķirīgu ražas gadu partijas.

Iegūtie ģenētiskie dati liecina, ka lielas izmaiņas ģenētiskajos daudzveidības rādītājos starp atsevišķām priežu sēklu plantācijām, kā arī starp sēklu ievākšanas gadiem nav konstatētas (4. tab.). Nozīmīgākās atšķirības novērotas starp atrastajām heterozigotātes (Ho) vērtībām. Zemākās Ho vērtības konstatētas Sāvienā 2011. gadā (0,584)

un Norupē 2011. gadā (0,606). Ho vidējā vērtība visās analizētajās sēklu partijās ir 0,640. Zemāka Ho vērtība norāda uz lielāku pašapputes īpatsvaru, un 2011. gada sēklu partijām šis rādītājs korelē ar pilno sēklu skaitu no viena čiekura ($r = 0,71$), kas ir mazāks Sāvienā un Norupē. Sēklu partijām, kas ievāktas citos gados, dati par pilno sēklu skaitu nav pieejami, tomēr tajās Ho ir lielāks nekā Dravās un Norupē 2011. gadā. Dravās 2010. gadā Ho ir augstāks nekā vidējais analizētajā kopā, kas, iespējams, liecina, ka pilno sēklu skaits šajā plantācijā varētu būt lielāks nekā Sāvienā un Norupē 2011. gadā. Norupes plantācijā lielāks pašapputes īpatsvars varētu būt skaidrojams ar plantācijas vecumu, kurā visi kloni vēl nav sākuši ziedēt. Zināms, ka parastās priedes vidējais appukteksnēšanas attālums ir 17-22 m (Robledo-Arnuncio *et al.*, 2004), ja vīrišķo strobilu skaits ir zems, pašappukteksnēšanas īpatsvars pieaug. Vienlaicīgi palielinās arī fona putekšņu appukteksnēto sēklu īpatsvars,

4. tabula / Table 4

Analizēto sēkļu partiju ģenētiskā daudzveidība
Genetic diversity parameters of the analysed seed lots

Sēkļu partija <i>Seed lot</i>	Sāviena (1999)	Sāviena (2006)	Sāviena (2011)	Dravas (2010)	Dravas (2011)	Norupe (2011)	Vidējais <i>Average</i>
Analizēto sēkļu skaits <i>No. of analysed seeds</i>	48	48	49	48	44	47	47,333
Alēļu skaits <i>No. of alleles</i>	13,000	12,667	12,833	13,667	13,500	14,667	13,389
Alēļu skaits ar frekvenci virs 5 % <i>No. of alleles ($f > 5\%$)</i>	6,333	5,667	6,167	5,500	5,167	5,500	5,722
Efektīvo alēļu skaits <i>Effective No. of alleles</i>	6,906	7,358	7,340	7,428	7,443	7,148	7,271
Informācijas indekss <i>Information index</i>	1,999	2,043	2,017	2,061	2,054	2,050	2,037
Unikālo alēļu skaits <i>No. of unique alleles</i>	1,500	0,333	0,833	1,500	0,667	1,333	1,028
Inbrīdīngas koeficients (F) <i>Inbreeding coefficient (F)</i>	0,199	0,192	0,274	0,137	0,128	0,248	0,196
Aprēķinātā heterozigotāte (He) <i>Expected heterozygosity (He)</i>	0,792	0,805	0,805	0,808	0,810	0,807	0,804
Atrastā heterozigotāte (Ho) <i>Observed heterozygosity (Ho)</i>	0,639	0,638	0,584	0,678	0,698	0,606	0,640

ko apliecina konstatētais pieaugušais kopējo alēļu skaits, kas visaugstākais ir Norupes 2011. g. sēkļu partijā. Alēļu skaits, ar frekvenci virs 5 %, Norupes 2011. gada sēkļu partijā ir zem vidējā, kas savukārt norāda uz lielāku reto alēļu īpatsvaru. Zemo Ho vērtību, kā arī pilno sēkļu skaitu Sāvienas 2011. gada sēkļu

partijā, varētu skaidrot ar vides apstākļiem priežu klonu ziedēšanas laikā. Iespējams, ka lietainā laika un līdz ar to ierobežotas putekšņu plūsmas dēļ, Sāvienas 2011. gada sēkļu partijā kopējo alēļu skaits ir zemāks par vidējo.

Secinājumi

Čiekurus un sēklas raksturojošo pazīmju absolūtie lielumi dažāda vecuma priežu sēkļu plantācijās ar vienādu klonu sastāvu ir atšķirīgi, bet vienāda vecuma – līdzīgi ($r_{0,01} = 0,6-0,8$).

Sēkļu plantāciju klonu čiekuru un sēkļu lielumi pieaug, palielinoties rameta vecumam.

Vienvecuma (Dravas un Sāvienas) plantācijās veidojas vienāda lieluma sēklas, bet pilngraudaino sēkļu skaits čiekurā ir atšķirīgs ($\alpha = 0,001$).

Vienāda klonu sastāva sēkļu plantācijās atšķirīgos ražas gados iegūto sēkļu ģenētiskās daudzveidības rādītāji ir līdzīgi.

Ģenētiski līdzvērtīgākās sēkļu partijas ir tās, kas ievāktas vienā ražas gadā (2011. g.) dažādās plantācijās. Tās ir ģenētiski ciešāk saistītas nekā sēkļu partijas, kas ievāktas no vienas

plantācijas dažādos gados.

Vērtējot ģenētiskos parametrus, konstatēts, ka nozīmīgas atšķirības ir novērotajā heterozigotātē (Ho), kas korelē ar pilno sēklu skaitu.

Literatūra

- DiFazio, S. P., Slavov, G. T., Burczyk, J., Leonardi, S., Strauss, S. H.** (2004). Gene flow from tree plantations and implications for transgenic risk assessment. In Walter, C. & Carson, M. (eds) *Plantation Forest Biotechnology for the 21st Century*. Research Signpost, Kerala, India p. 405-422.
- Doyle, J. J., Doyle, J. L.** (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Dreimanis, A.** (1974). Sēklu ražas raksturojums priežu sēklu plantācijās. *Mežsaimniecība un mežrūpniecība*, Nr. 2, 36.-39. lpp.
- Dreimanis, A.** (1988). Priedes klonu sēklu ražas spējas vērtējums dažās sēklu plantācijās. *Mežsaimniecība un mežrūpniecība*, Nr. 1, 3.-6. lpp.
- Elsik, C. G., Minihan, V. T., Hall, S. E., Scarpa, A. M., Williams, C. G.** (2000). Low-copy microsatellite markers for *Pinus taeda* L. *Genome* 43: 550-555.
- Gailis, J., Ronis, E., Smilga, J., Rone, V.** (1973). Latvijas PSR Meža koku sēklu plantācijas. LRZTIPI, Rīga, 68 lpp.
- Laura, M.** (1975). Priedes sēklas attīstības cikls. Priedes klonu ziedēšanas fenoloģisko fāžu noteikšana. – Meža koku sēklu plantāciju apsaimniekošana un klonu ģenētiskā vērtēšana. LRZTIPI, Rīga, 25.-30. lpp.
- Laura, M., Bērziņa, A.** (1978). Čiekuru ražas zudumi un pilno sēklu iznākums priežu sēklu plantācijās. *Mežsaimniecība un mežrūpniecība*, Nr. 4, 3.-6. lpp.
- Neimane, U., Baumanis, I., Veinberga, I., Šķipars, D., Ruņģis, D.** (2009). Parastās priedes populāciju fenoloģisko atšķirību ģenētiskie aspekti. *Mežzinātne* 19(52), 49.-63. lpp.
- Peakall, R., Smouse, P. E.** (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Perrier, X., Jacquemoud-Collet, J. P.** (2006). DARwin software (<http://darwin.cirad.fr/darwin>).
- Prescher, F.** (2007). Seed orchards – genetic consideration on function, management and seed procurement. Doctoral thesis, Faculty of Forest Sciences, Umeå, 180 pp.
- Prescher, F., Lindgren, D., Wennström, U., Almqvist, C., Routsalainen, S., Kroon, J.** (2005). Seed production in Scots pine seed orchards. *Proceedings of the meeting of Nordic forest tree breeders and forest geneticists*, Syktyvkar, 65-72.
- Ritland, C., Ritland, K.** (2000). DNA fragment markers in plants. In: Baker AJ (ed) *Molecular methods in ecology*. Blackwell, Oxford, pp. 208-234.
- Rodlebo-Arnuncio, J. J., Smaouse, P. E., Gil, L., Alia, R.** (2004). Pollen movement under alternative silvicultural practices in native populations of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in central Spain. *Forest Ecology and Management* 197: 245-255.

- Sarvas, R.** (1962). Investigations of flowering and seed crop of *Pinus sylvestris*. Commuciationes Instituti Forestalis Fenniae Nr. 53 (4), 198 pp.
- Sivacioğlu, A., Ayan, S.** (2008). Evaluation of seed production of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) clonal seed orchard with cone analysis method. African Journal of Biotechnology 7(24), 4393-4399.
- Soranzo, N., Provan, J., Powell, W.** (1998). Characterization of microsatellite loci in *Pinus sylvestris* L. Molecular Ecology, 7, 1247-1263.
- Thomas, B. R., Macdonald, S. E., Hicks, M., Adams, D. L., Hodgetts, R. B.** (1999). Effects of reforestation methods on genetic diversity of lodgepole pine: an assessment using microsatellite and randomly amplified polymorphic DNA markers. Theoretical and Applied Genetics 98: 793-801.
- Zviedre, A.** (1981). Sēklu ražas priežu plantācijās. Mežsaimniecība un mežrūpniecība, Nr. 1, 3.-5. lpp.
- Zviedre, A., Dzintare, A.** (1982). Priedes un egles sēklu rupjums atkarībā no dažiem faktoriem. Mežsaimniecība un mežrūpniecība, Nr. 2, 18.-21. lpp.
- Дрейманис, А.** (1978). Генетическая характеристика шишек и семян сосны обыкновенной на семенных плантациях. Повышение продуктивности леса и рациональное использование древесины в Латвийской ССР. Елгава, Труды ЛСХА, выпуск 143, с. 3-8.
- Звиедре, А.** (1985). Производительность лесосеменных плантаций сосны обыкновенной в Латвийской ССР и качество урожая. Семенные плантации в лесном семеноводстве. Рига, Зинатне, с. 52-62.