

Iceland
Liechtenstein
Norway grants



Czy rośliny potrzebują korytarzy ekologicznych?

Dorota Wojnarowicz (KPN)
Tomasz Szymura (Uwr)



*Poprawa stanu łączności ekologicznej jako kluczowe wyzwanie dla ochrony przyrody w parkach narodowych
Jelenia Góra, 6-8 marca 2024*

Oszacowanie poziomu podobieństwa genetycznego pomiędzy populacjami wybranych gatunków roślin łąkowych i wykrycie, na podstawie uzyskanych wyników, barier oraz obszarów dobrej migracji dla gatunków roślin łąkowych. Opracowanie strategii zachowania/polepszenia łączności genetycznej dla roślin łąkowych w Karkonoskim Parku Narodowym i jego otulinie.”

dr hab. Tomasz Szymura prof. Uwr, dr Kamil Konowalik, dr hab. Magdalena Szymura prof. UPWr, dr hab. Jacek Urbaniak prof. UPWr

Problem:

Zanikanie bogatych w gatunki, półnaturalnych łąk



Rosnąca izolacja istniejących płatów



Chów wsobny, spadek możliwości adaptacji do zmian środowiskowych, brak możliwości kolonizacji nowo powstałych łąk

„Różnorodność biologiczna” (bioróżnorodność) oznacza zmienność wśród organizmów żywych pochodzących ze wszystkich źródeł, w tym między innymi: ekosystemów lądowych, morskich i innych wodnych oraz kompleksów ekologicznych, których są częścią; obejmuje to **różnorodność w obrębie gatunku**, pomiędzy gatunkami i ekosystemami.”

International Union for the Conservation of Nature (IUCN)

- Problem zachowania różnorodności genetycznej jest dobrze rozpoznany w leśnictwie i rolnictwie (np. d-stany nasienne, d-stany zachowawcze, rejonizacja nasienna)
- Ochrona różnorodności genetycznej, szczególnie *in situ*, jest słabo rozwinięta w systemie ochronie przyrody (*ale: banki genów*). Proponuje się tworzenie obszarów ochrony genetycznej („**genetic conservation areas**” i „**genetic reserves**”) – ale to wymaga rozpoznania zmienności genetycznej

Gatunki:

- *Agrostis capilaris* L. – mietlica pospolita
- *Cirsium helenioides* L. (Hill)– ostrożeń dwubarwny
- ~~*Polygonum bistorta*~~– *Achillea millefolium* L. – krwawnik pospolity
- *Hypericum maculatum* Crantz– dziurawiec czteroboczny



Mietlica pospolita
Agrostis capilaris
Wiatropylny
Barochoria
Zoochoria
klonalny



Ostrożeń dwubarwny
Cirsium helenioides
Owadopylny
anemochoria
klonalny



Krwawnik popspolity
Achillea millefolium
Owadopylny
Barochoria
zoochoria
klonalny

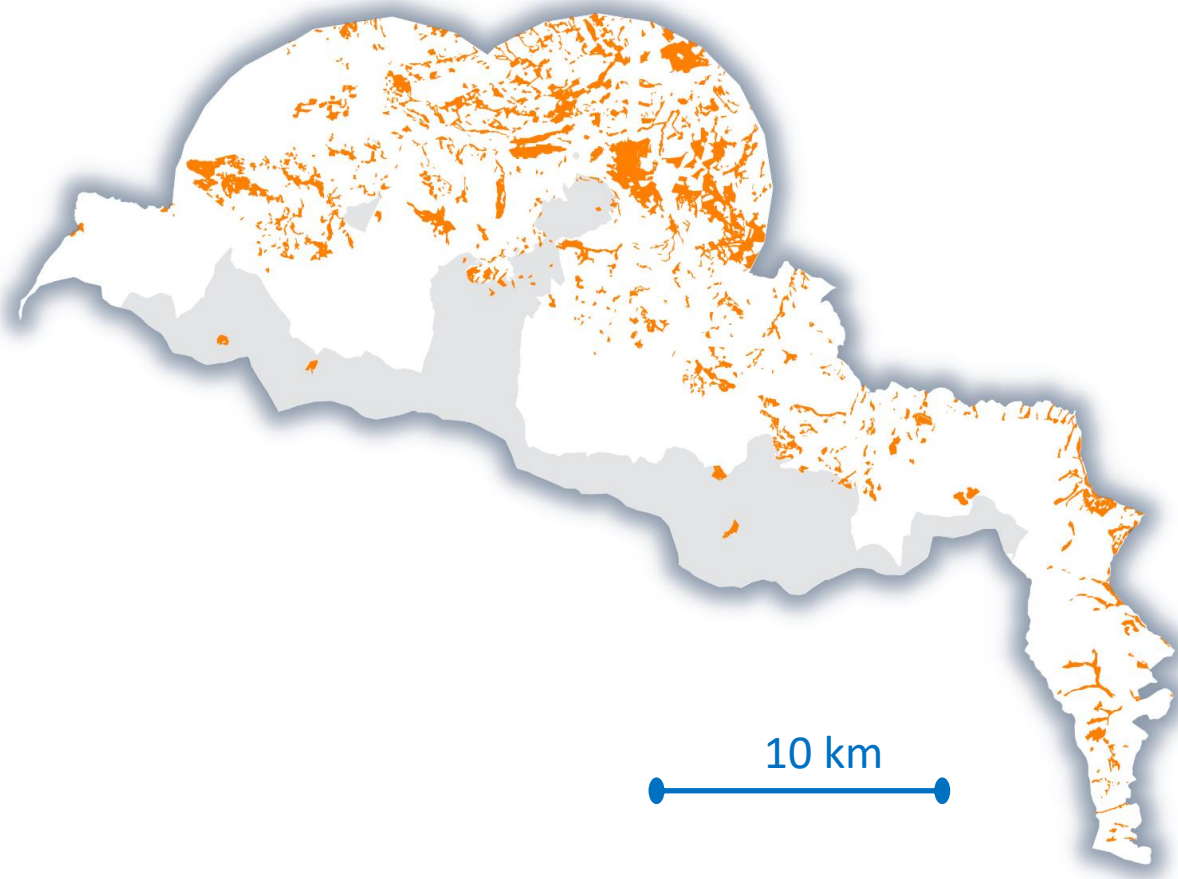


Dziurawiec czteroboczny
Hypericum maculatum
Owadopylny
Barochoria
Zoochoria
klonalny

Założenia

- Duże łąki = duże populacje = duża zmienność genetyczna;
- Izolacja przez dystans – osobniki położone blisko siebie są do siebie podobne genetycznie, osobniki położone daleko – niepodobne;
- Istnieją „subpopulacje” (grupy) osobników bardziej podobnych do siebie. Blisko siebie położone stanowiska tworzą w gruncie rzeczy jedną populację, np. populacja wokół Karpacza, populacja wokół Szklarskiej Poręby, populacja Kowarskiego Grzbietu (zróżnicowanie genetyczne);
- Izolacja przez opór środowiska – różne typy siedlisk są bardziej lub mniej przyjazne do potencjalnych wektorów dyspersji/zapylaczy, np. owady typowe do siedlisk otwartych unikają zacienionych lasów. W efekcie najkrótsze odległości pomiędzy populacjami nie są najłatwiejsze do przepływu genów (analogicznie jak nawigacja samochodowa: najkrótsza droga niekoniecznie jest najszybsza);
- Ale reakcje populacji są opóźnione w czasie (*lag time*) – zmienność genetyczna nie spada ani nie rośnie od razu w reakcji na zmianę otoczenia. **Obserwowany obecnie poziom różnorodności genetycznej wynika z procesów historycznych i historycznej struktury krajobrazu.**

Łąki w okolicach KPN pod koniec XIX w

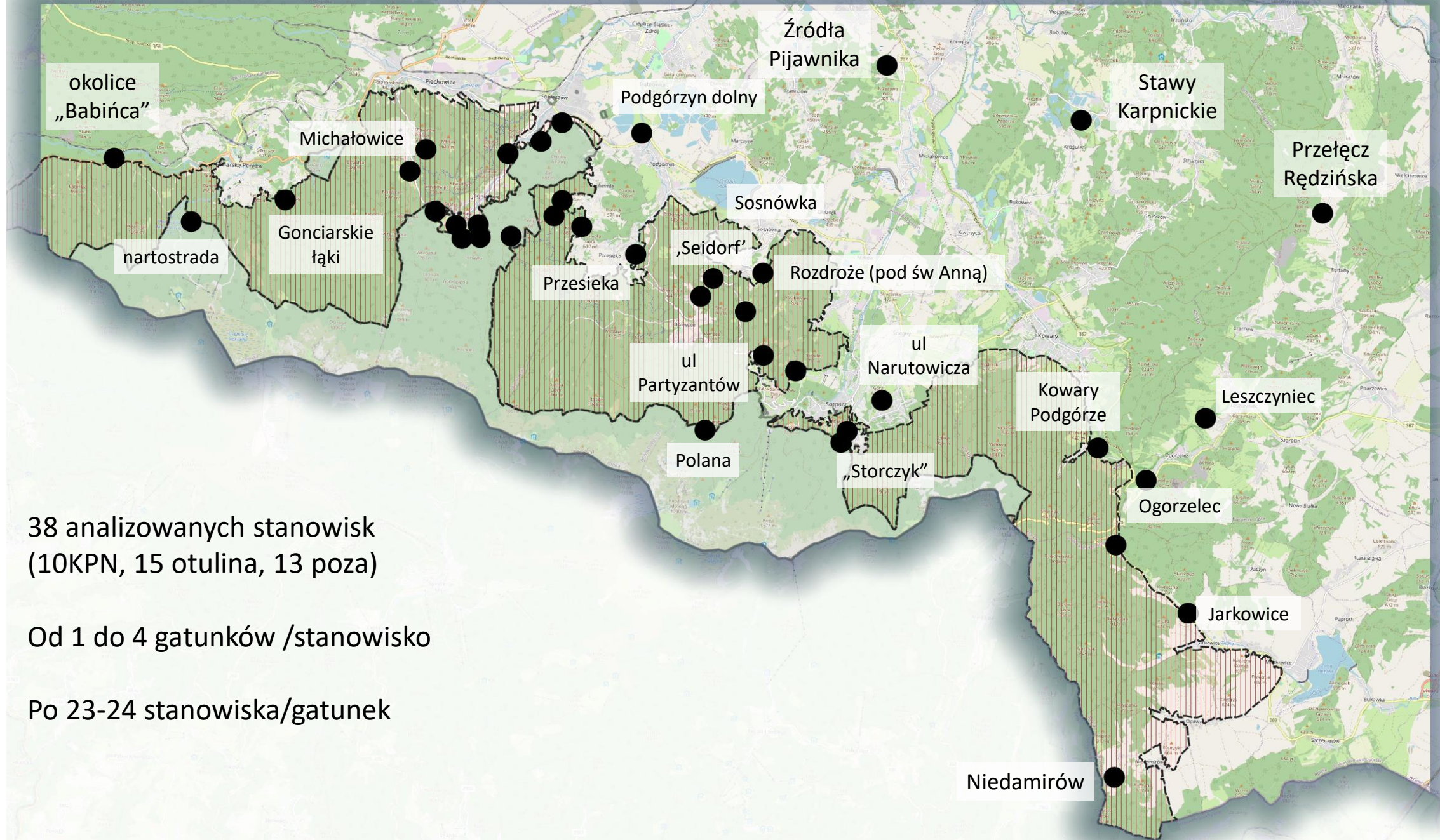


Łąki w okolicach KPN pod koniec XIX i
współcześnie (zielone)



Pytania:

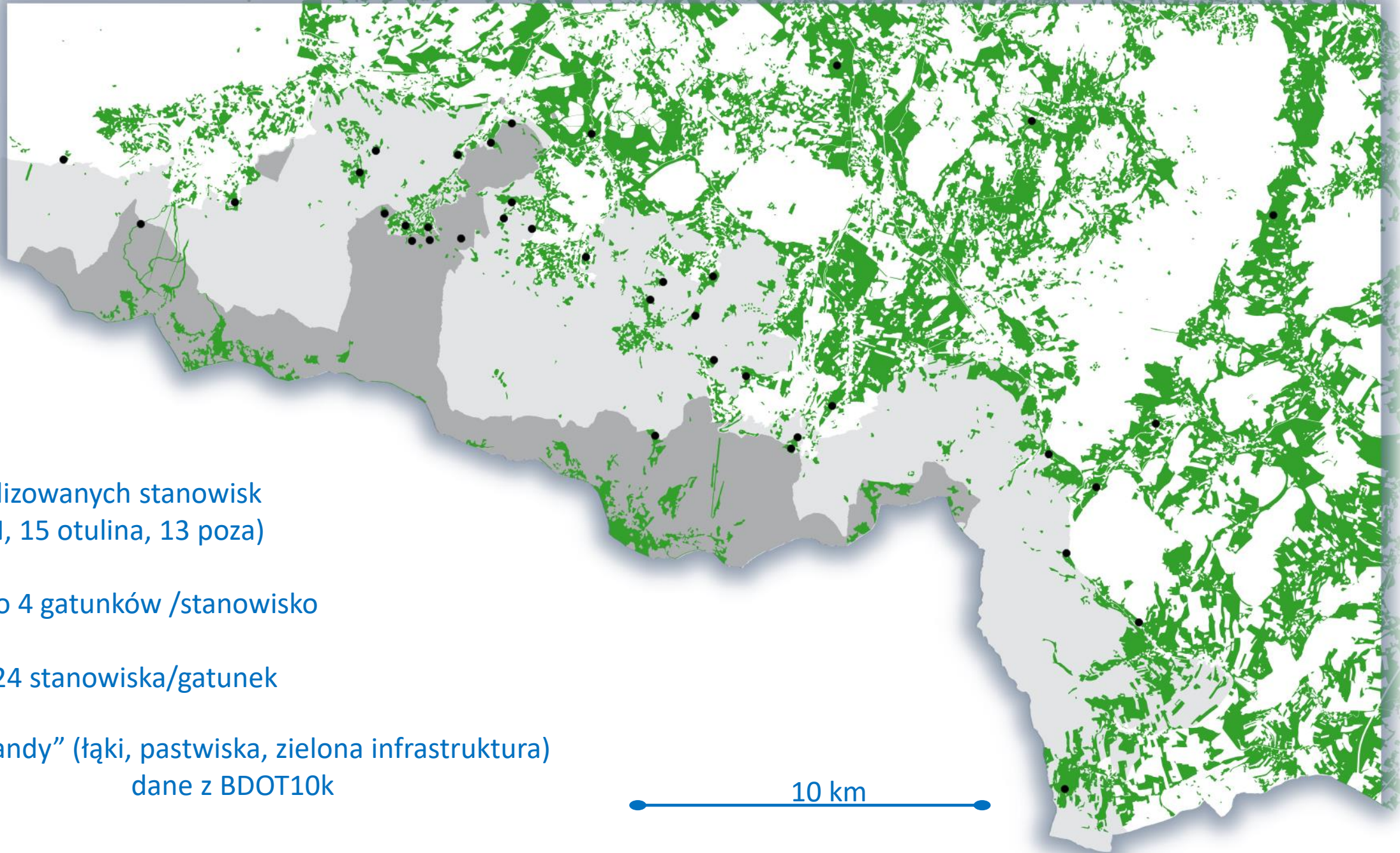
- Które populacje są powiązane z największą różnorodnością genetyczną ?
- Które populacje i ile należy chronić ?
- Zmienność wewnątrz- vs. międzypopulacyjna
Zmienność genetyczna vs. zróżnicowanie genetyczne



38 analizowanych stanowisk
(10KPN, 15 otulina, 13 poza)

Od 1 do 4 gatunków /stanowisko

Po 23-24 stanowiska/gatunek



38 analizowanych stanowisk
(10KPN, 15 otulina, 13 poza)

Od 1 do 4 gatunków /stanowisko

Po 23-24 stanowiska/gatunek

„grasslandy” (łąki, pastwiska, zielona infrastruktura)
dane z BDOT10k

10 km

A scenic view of a mountain village. In the foreground, there is a field of tall grass and wildflowers. In the middle ground, a large, well-maintained green lawn is visible, surrounded by several buildings, including a large wooden structure and a smaller building. The background shows a dense forest of evergreen trees on a hillside, with distant mountains visible under a cloudy sky.

KPN – to nie jest kraj dla
starych łąk



Ekstrakcja DNA – laboratorium UpWr



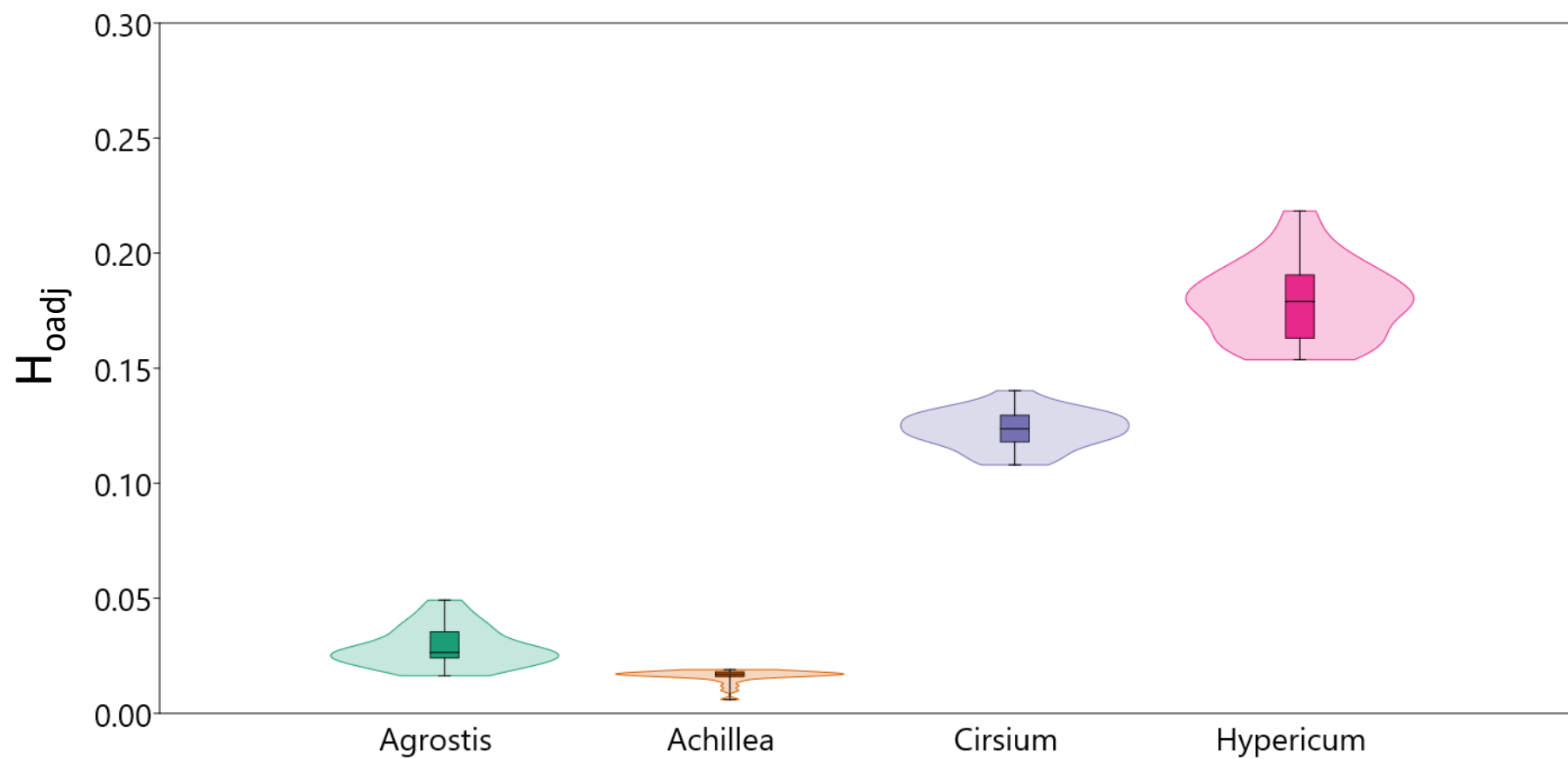
Sekwencjonowanie drugiej generacji

- Diversity Arrays Technology (DArT) - forma reduced representation sequencing (RRS) – analizowane są bardzo liczne fragmenty - małe, ale za to całego genomu.
- W analizie bada się polimorfizm pojedynczego nukleotydu (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) czyli zmienności sekwencji DNA, która polega na zmianie pojedynczego nukleotydu (A, T, C lub G) pomiędzy osobnikami danego gatunku.
- Dane bialleliczne
- W badaniach populacyjnych można ustalić względną częstość występowania danego wariantu związanego z SNP. Stwierdzone przypadki polimorfizmu pojedynczego nukleotydu mogą być stwierdzone w sekwencjach kodujących genów, regionach niekodujących genów lub w regionach międzygenowych.
- analizowano od **3 347** do **147 496** markerów (primerów) SNP.

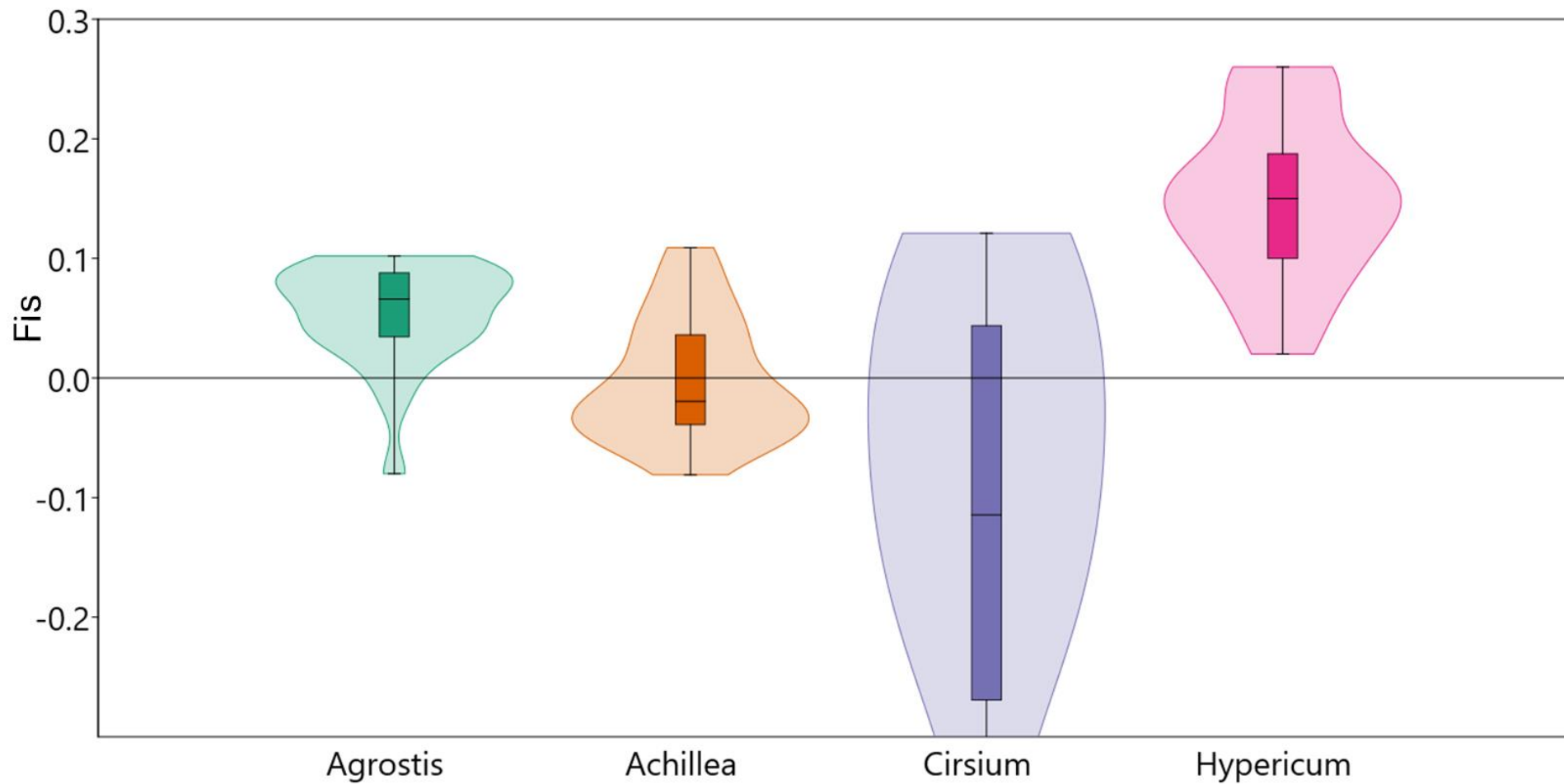
Miary zmienności genetycznej – (prawie) wszystkie okazały się istotnie z sobą skorelowane – wybraliśmy heterozogotyczność obserwowaną skorygowaną o liczbę badanych osobników (heterozygotyczność – frakcja SNP które się różnią pomiędzy osobnikami)

pop	nInd	nLoc	polyLoc	monoLoc	all_NALoc	Ho	HoSD	Ho.adj	Ho.adjSD	He	HeSD	uHe	uHeSD	He.adj	He.adjSD	FIS
2	8	9672	1829	7985	142	0.161	0.363	0.161	0.363	0.083	0.184	0.088	0.196	0.083	0.184	-0.830
3	8	9628	1810	8004	186	0.155	0.355	0.155	0.355	0.080	0.181	0.085	0.194	0.080	0.181	-0.812
5	8	9802	2679	7135	12	0.169	0.346	0.169	0.346	0.097	0.184	0.104	0.197	0.097	0.184	-0.624
9	8	9798	3198	6616	16	0.177	0.295	0.177	0.295	0.128	0.193	0.136	0.206	0.128	0.193	-0.294
10	8	9814	4824	4990	0	0.161	0.215	0.161	0.215	0.157	0.186	0.167	0.198	0.157	0.186	0.040
12	8	9806	3445	6369	8	0.152	0.272	0.152	0.272	0.137	0.195	0.146	0.208	0.137	0.195	-0.045
15	8	9698	1951	7863	116	0.176	0.376	0.176	0.376	0.090	0.191	0.096	0.203	0.090	0.191	-0.827
16	8	9715	1885	7929	99	0.168	0.369	0.168	0.369	0.086	0.186	0.091	0.199	0.086	0.186	-0.834
18	8	9814	4647	5167	0	0.154	0.217	0.154	0.217	0.150	0.185	0.160	0.198	0.150	0.185	0.037
19	8	9814	4825	4989	0	0.155	0.235	0.155	0.235	0.144	0.178	0.154	0.190	0.144	0.178	-0.007
20	8	9814	4768	5046	0	0.171	0.241	0.171	0.241	0.149	0.183	0.159	0.195	0.149	0.183	-0.078
21	6	9814	4680	5134	0	0.160	0.222	0.160	0.222	0.159	0.189	0.173	0.206	0.159	0.189	0.075
22	8	9814	5027	4787	0	0.154	0.206	0.154	0.206	0.158	0.183	0.169	0.196	0.158	0.183	0.089
24	8	9812	4179	5635	2	0.143	0.222	0.143	0.222	0.134	0.181	0.143	0.193	0.134	0.181	0.000
30	8	9813	3246	6568	1	0.149	0.271	0.149	0.271	0.129	0.190	0.138	0.203	0.129	0.190	-0.084
34	8	9806	2714	7100	8	0.167	0.324	0.167	0.324	0.105	0.184	0.113	0.197	0.105	0.184	-0.482
301	8	9813	3297	6517	1	0.148	0.317	0.148	0.317	0.101	0.174	0.108	0.186	0.101	0.174	-0.366
302	8	9795	3133	6681	19	0.167	0.302	0.167	0.302	0.114	0.185	0.122	0.197	0.114	0.185	-0.367
303	8	9805	3152	6662	9	0.146	0.279	0.146	0.279	0.115	0.184	0.123	0.196	0.115	0.184	-0.188
305	8	9814	4472	5342	0	0.142	0.208	0.142	0.208	0.147	0.184	0.157	0.197	0.147	0.184	0.094
306	8	9813	3500	6314	1	0.167	0.309	0.167	0.309	0.119	0.185	0.127	0.197	0.119	0.185	-0.311
307	8	9753	1809	8005	61	0.156	0.349	0.156	0.349	0.083	0.183	0.089	0.195	0.083	0.183	-0.762
308	6	9813	4264	5550	1	0.165	0.244	0.165	0.244	0.147	0.188	0.161	0.205	0.147	0.188	-0.025
310	8	9811	3639	6175	3	0.152	0.265	0.152	0.265	0.127	0.185	0.136	0.197	0.127	0.185	-0.123

Średnia heterozygotyczność obserwowana skorygowana o liczbę osobników w populacjach – zmienność genetyczna w populacjach

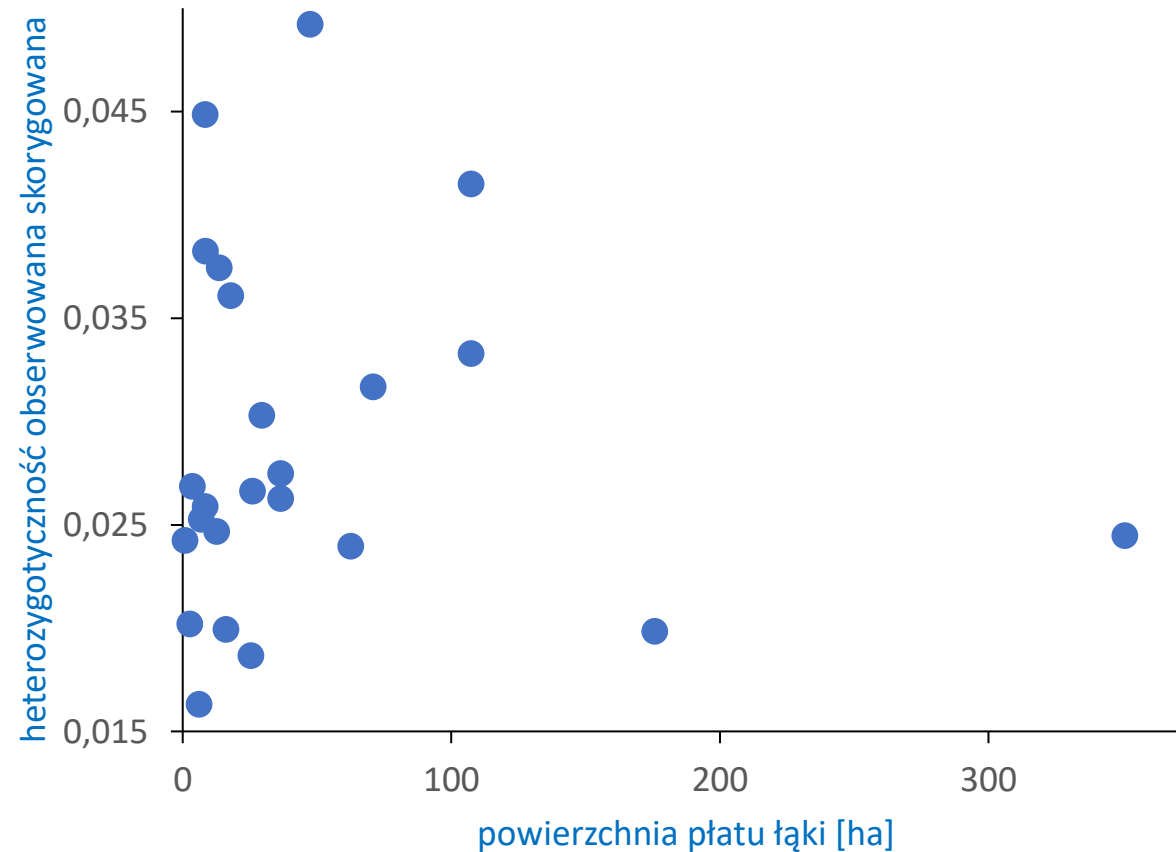


Współczynniki wsobności (chowu wsobnego, inbred)



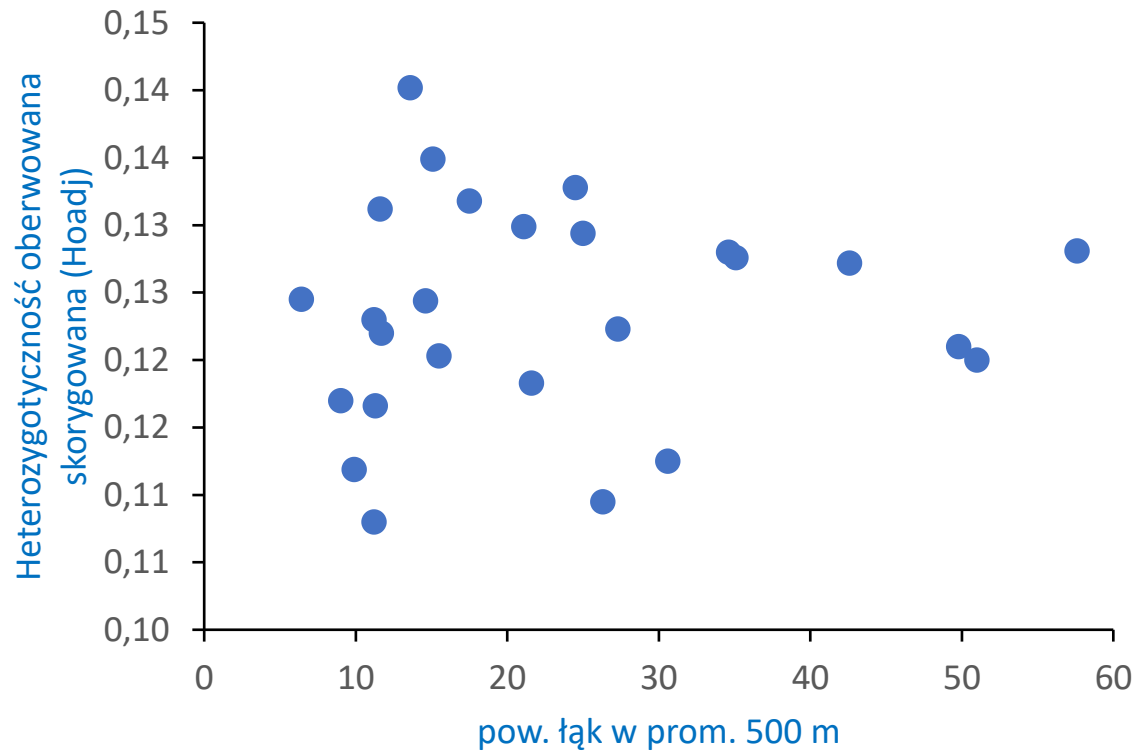
Heterozygotyczność obserwowana (zmienność genetyczna) **nie jest skorelowana** z aktualną wielkością łąki u żadnego gatunku

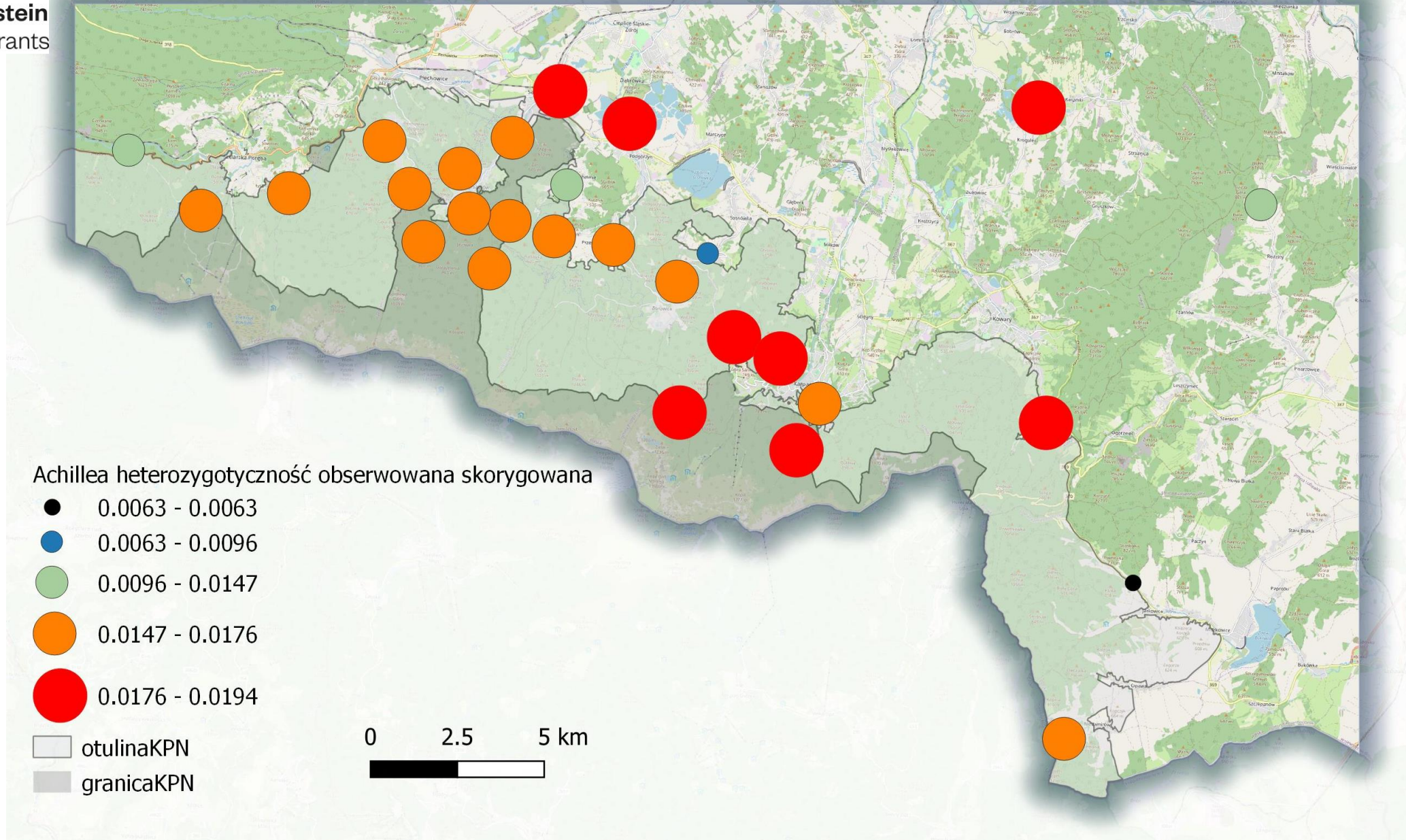
Przykład dla
Agrostis capilaris

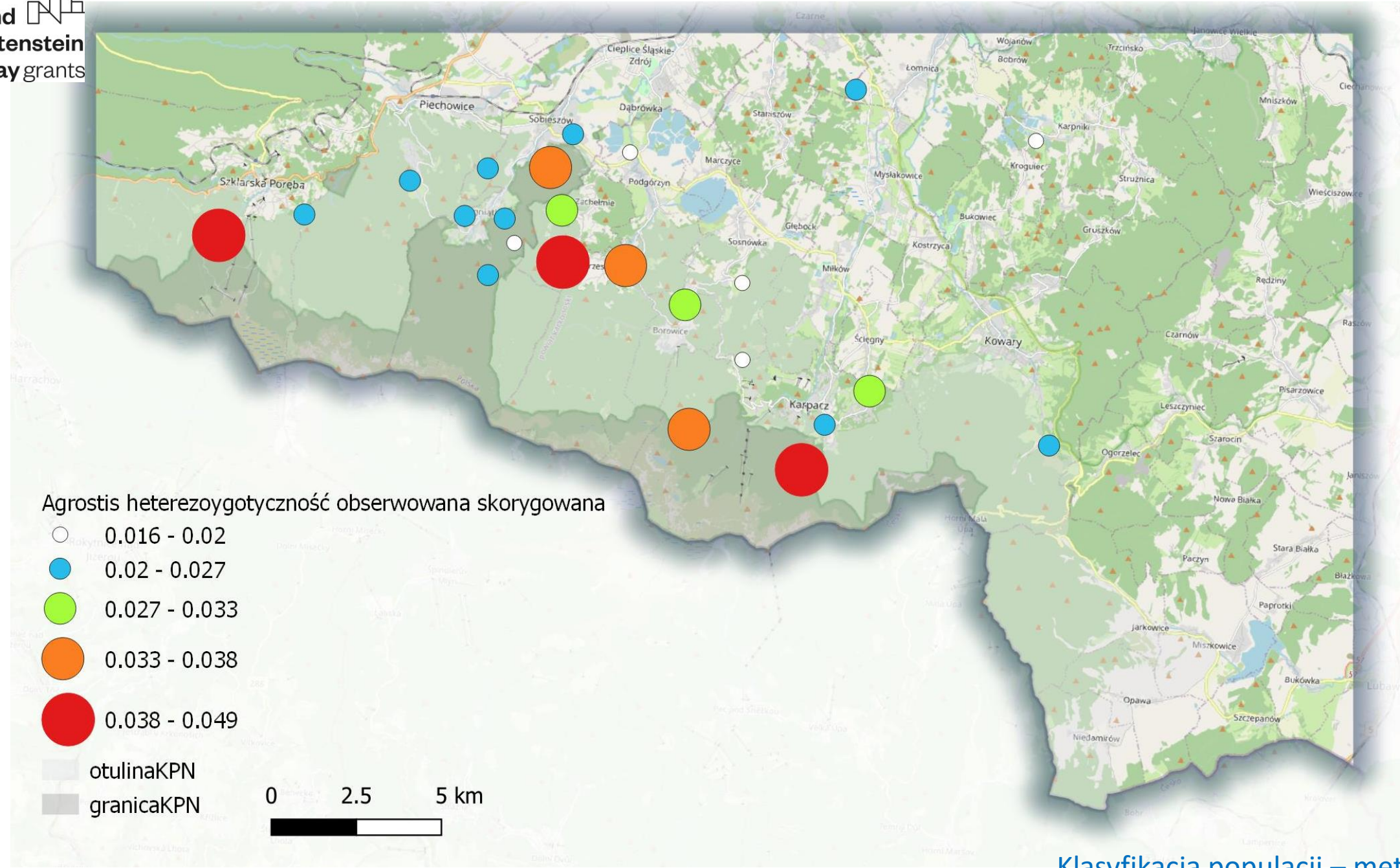


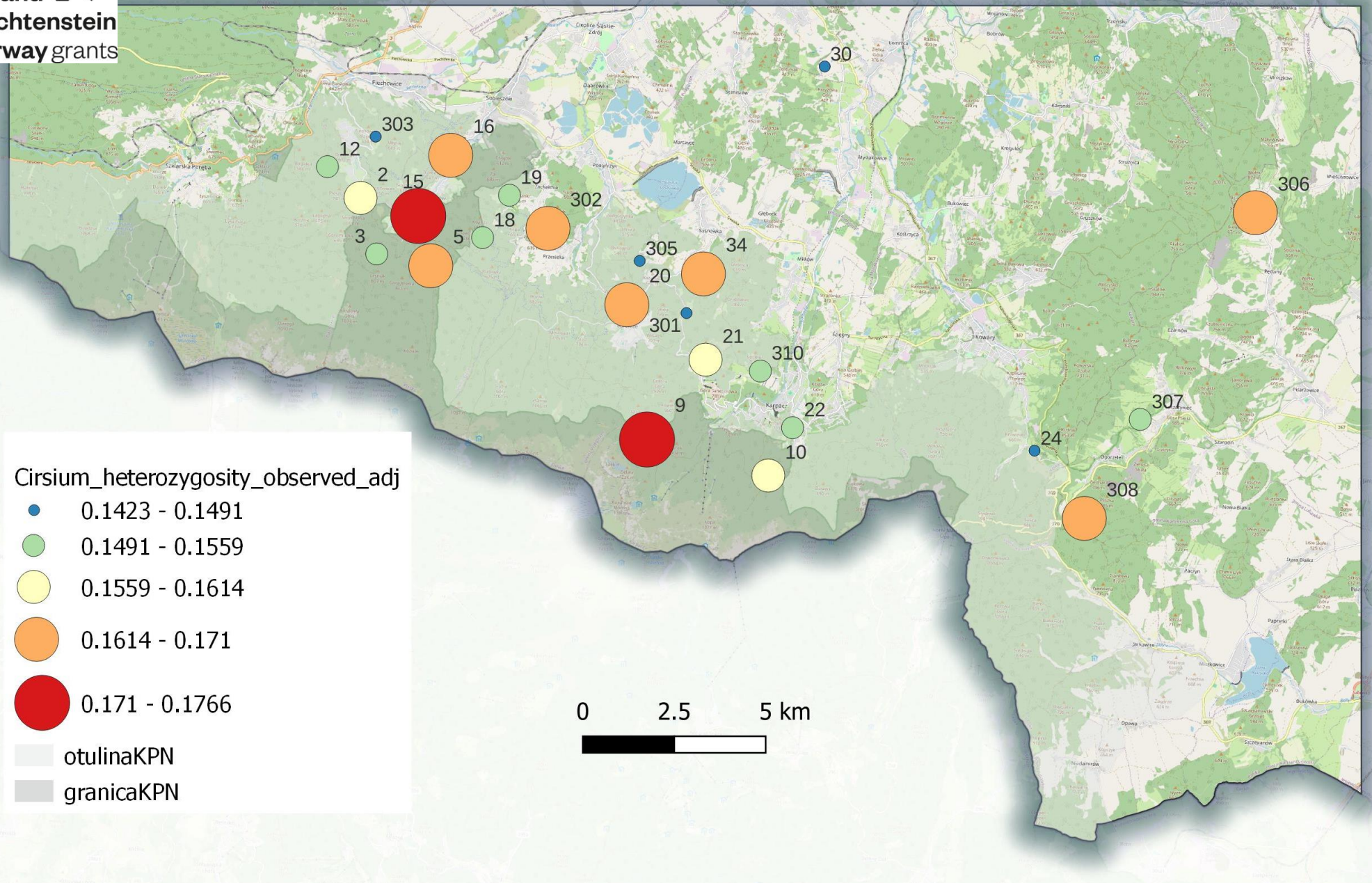
Heterozygotyczność obserwowana (zmienność genetyczna) **nie jest skorelowana** z powierzchnią łąk w promieniu 500 m od centrum populacji, u każdego gatunku

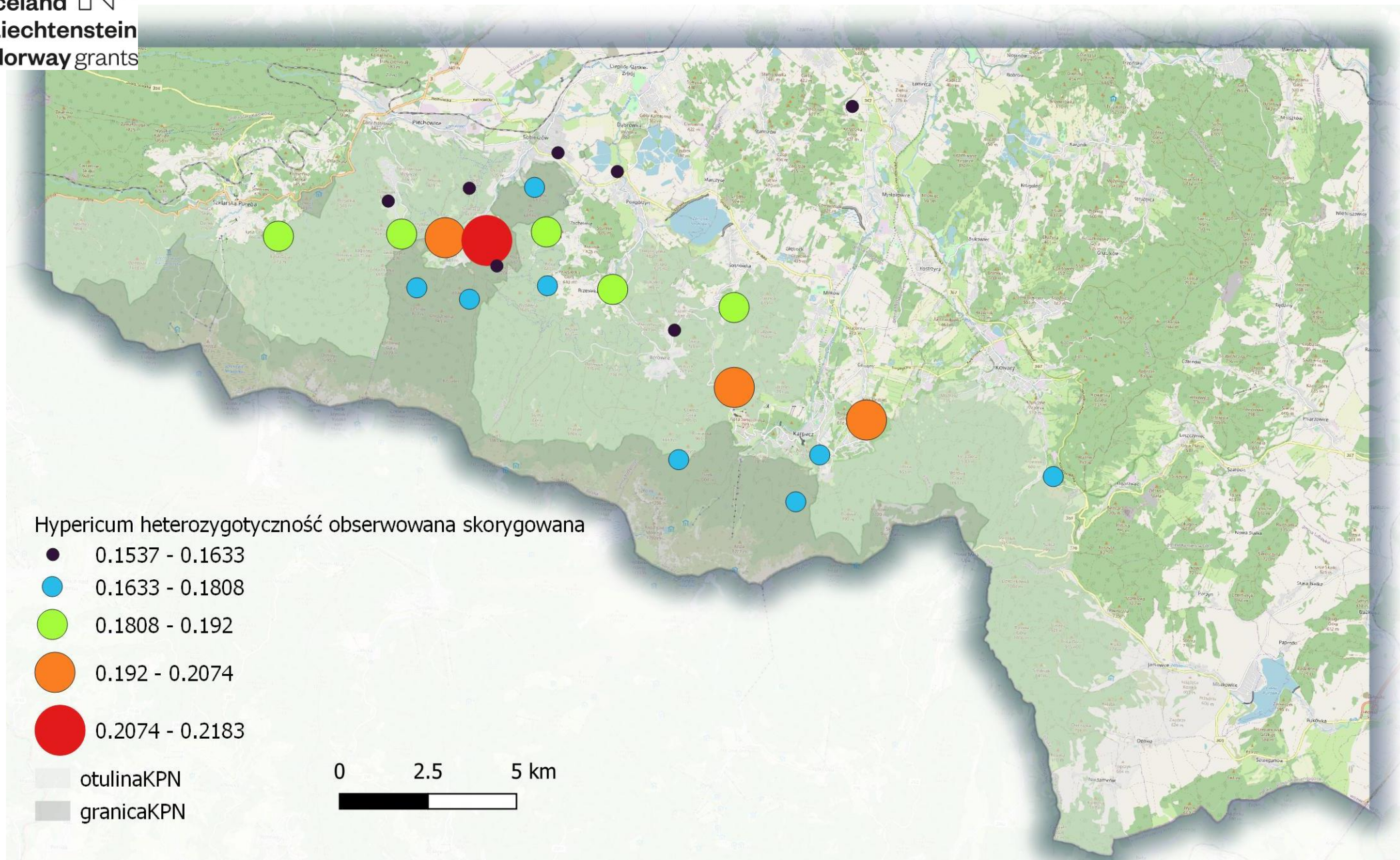
Przykład dla
Cirsium helenioides

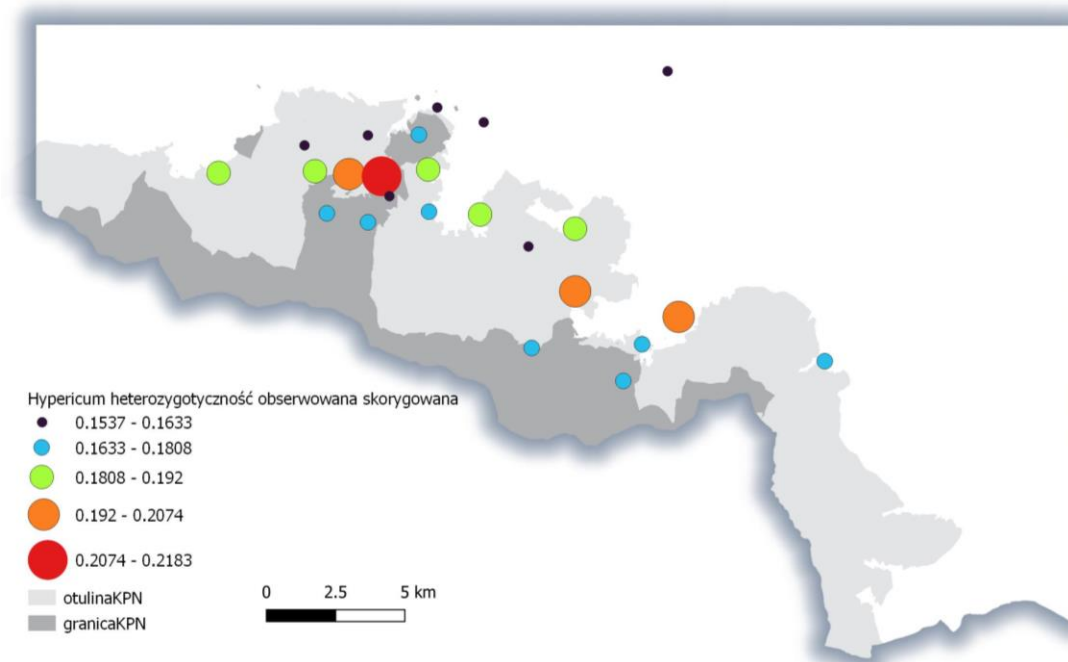
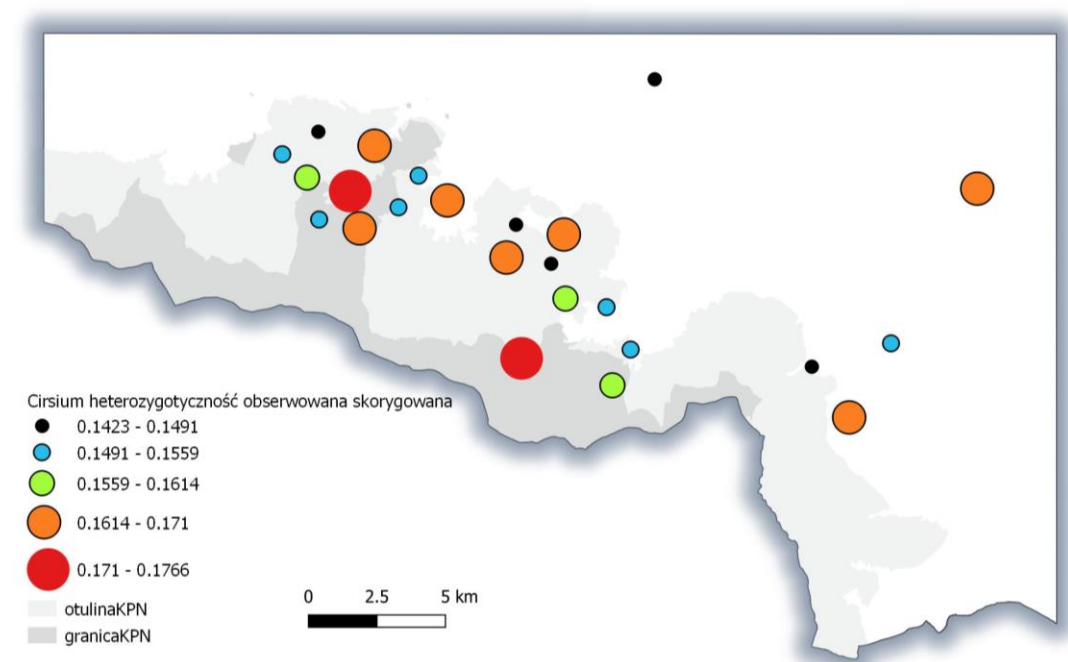
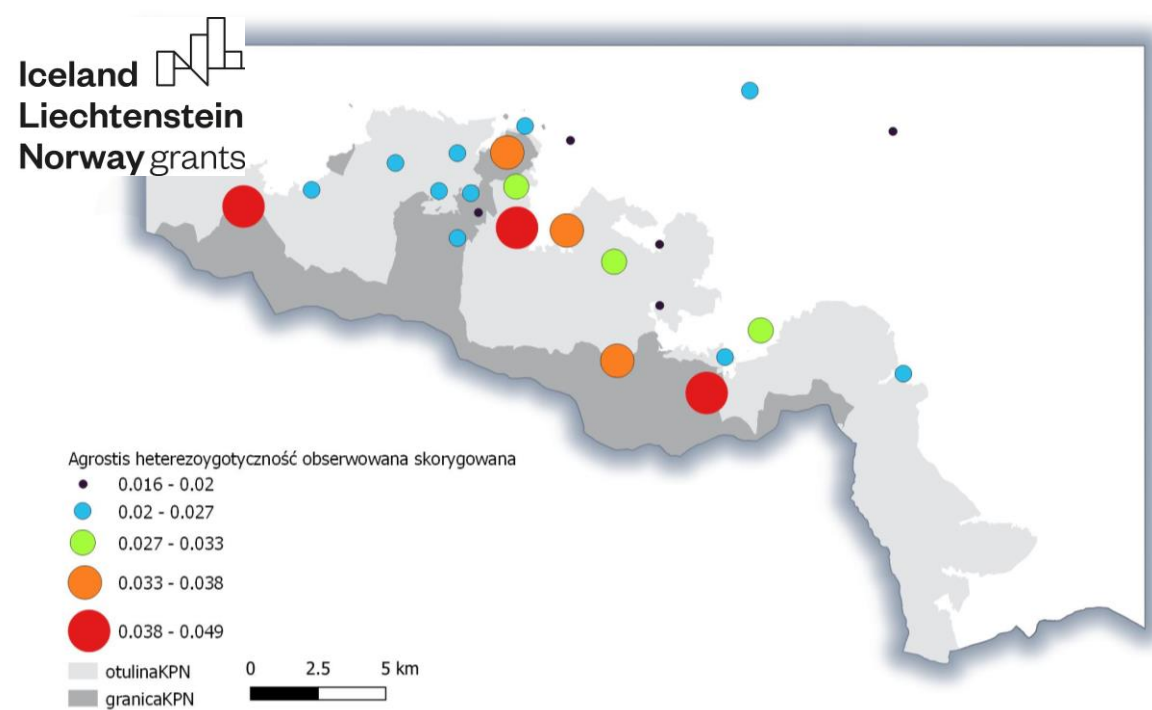




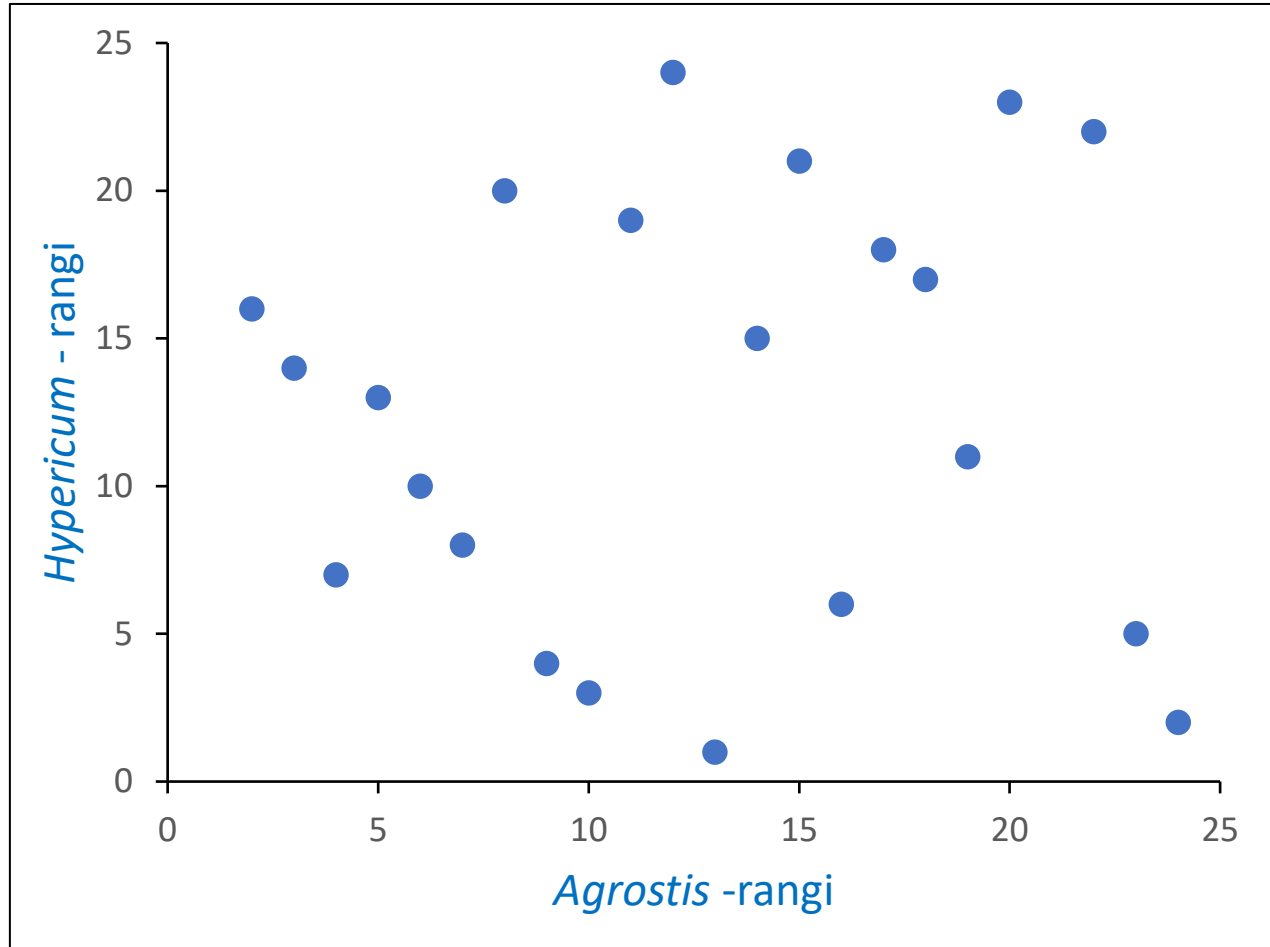




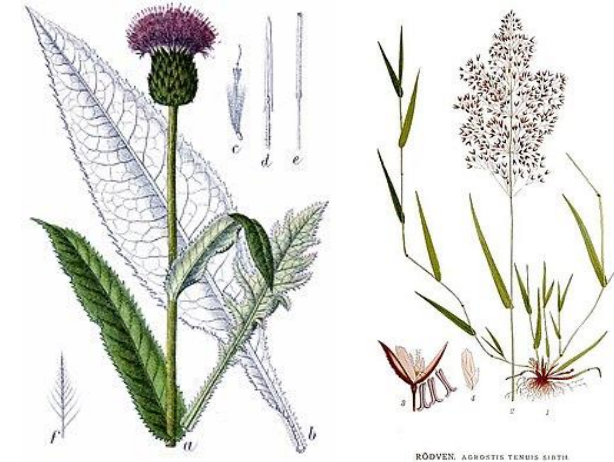




Brak korelacji w poziomie heterozygotyczności pomiędzy poszczególnymi gatunkami. Innymi słowy łąki z wysoką heterozygotycznością jednego gatunku mogą odznaczać się niską heterozygotycznością dla pozostałych gatunków



1-24 – kolejność (porangowanie) populacji z uwagi na jej zmienność: 1 – populacje z najmniejszą H_o , 24 – populacje z największą H_o



Brak korelacji poziomie heterozygotyczności pomiędzy poszczególnymi gatunkami.

Innymi słowy łąki z wysoką heterozygotycznością jednego gatunku mogą odznaczać się niską heterozygotycznością dla pozostałych gatunków

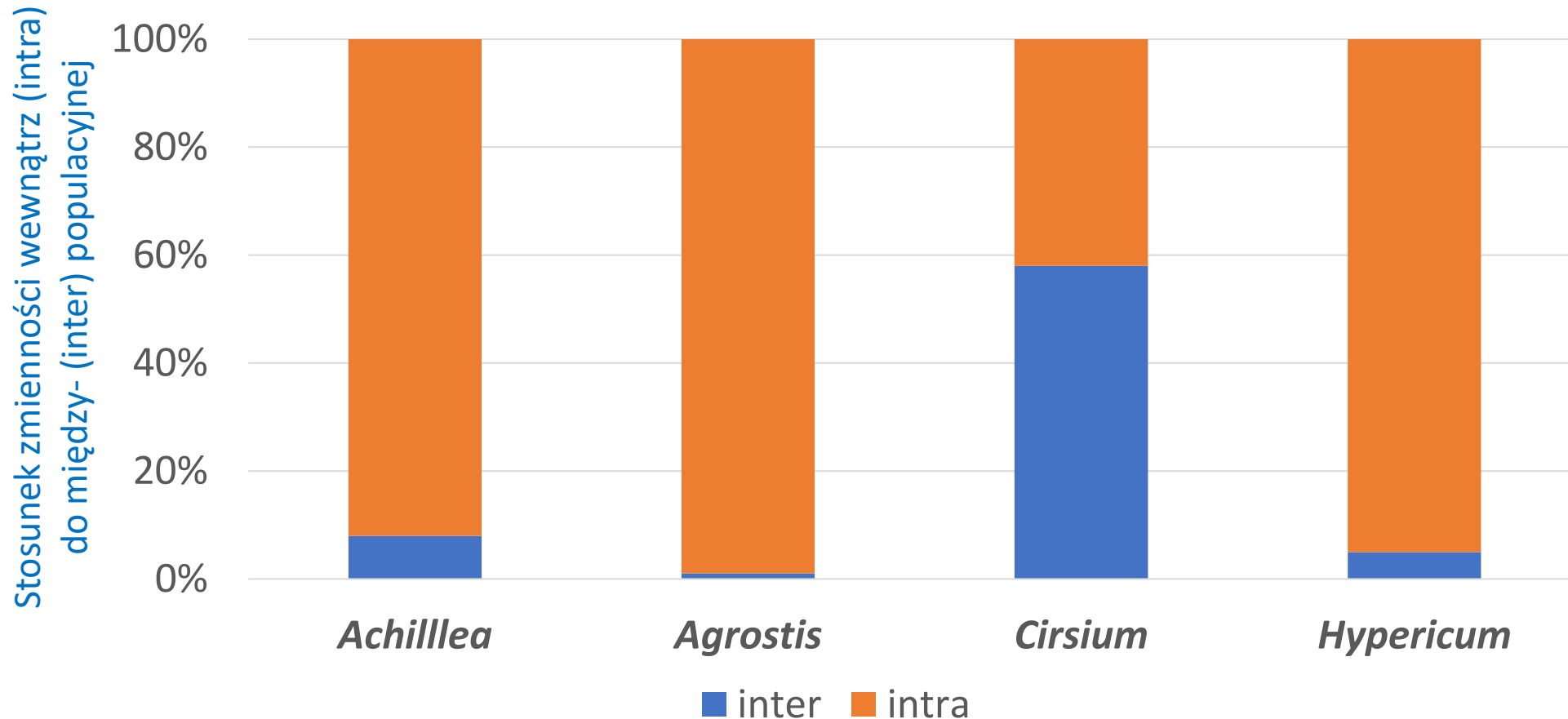
Zmienność wewnątrzpopulacyjna **zmienność genetyczna** (heterozygotyczność)
Zmienność międzypopulacyjna – **zróżnicowanie genetyczne**

Metoda – F_{st} i PCA \approx podobne do analiz ordynacyjnych w przypadku roślin

Zmienność pomiędzy osobnikami i populacjami – efekt izolacji, przepływu genów, dryfu genetycznego (zmienność losowa) i adaptacji

zmienność międzypopulacyjna (niebieska)

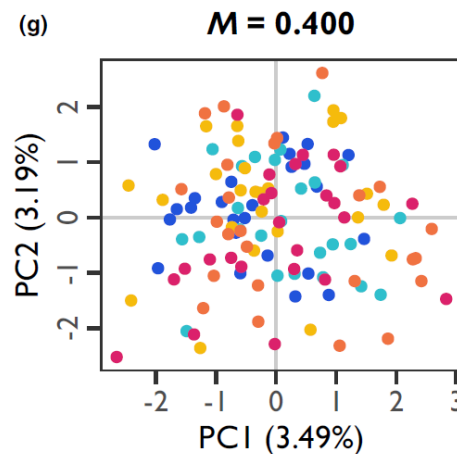
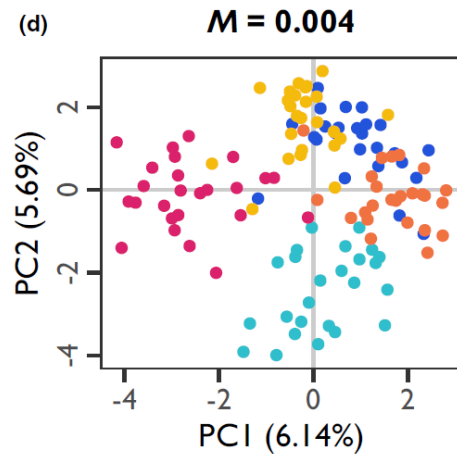
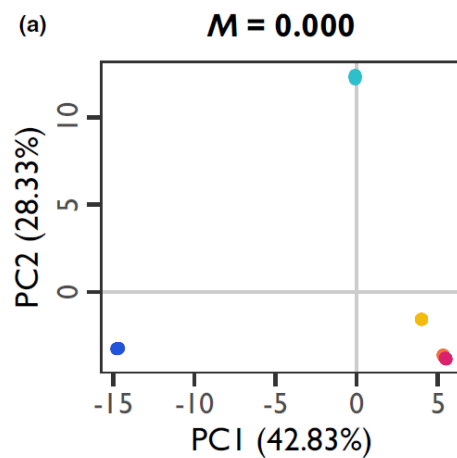
Stosunek zmienności wewnątrz (intra) do między- (inter) populacyjnej –
koreluje z wartością F_{st}



Wyraźnie rozdzielone,
całkowicie izolowane
populacje

Oddzielne populacje, ale
możliwa wymiana
genetyczna pomiędzy nimi

Całkowicie swobodny
przepływ genów, brak
struktury oddzielonych
populacji



Guidelines for standardizing the application of discriminant analysis of principal components to genotype data

Joshua A. Thia

A tak to wyglądałoby na wykresach
ordynacyjnych

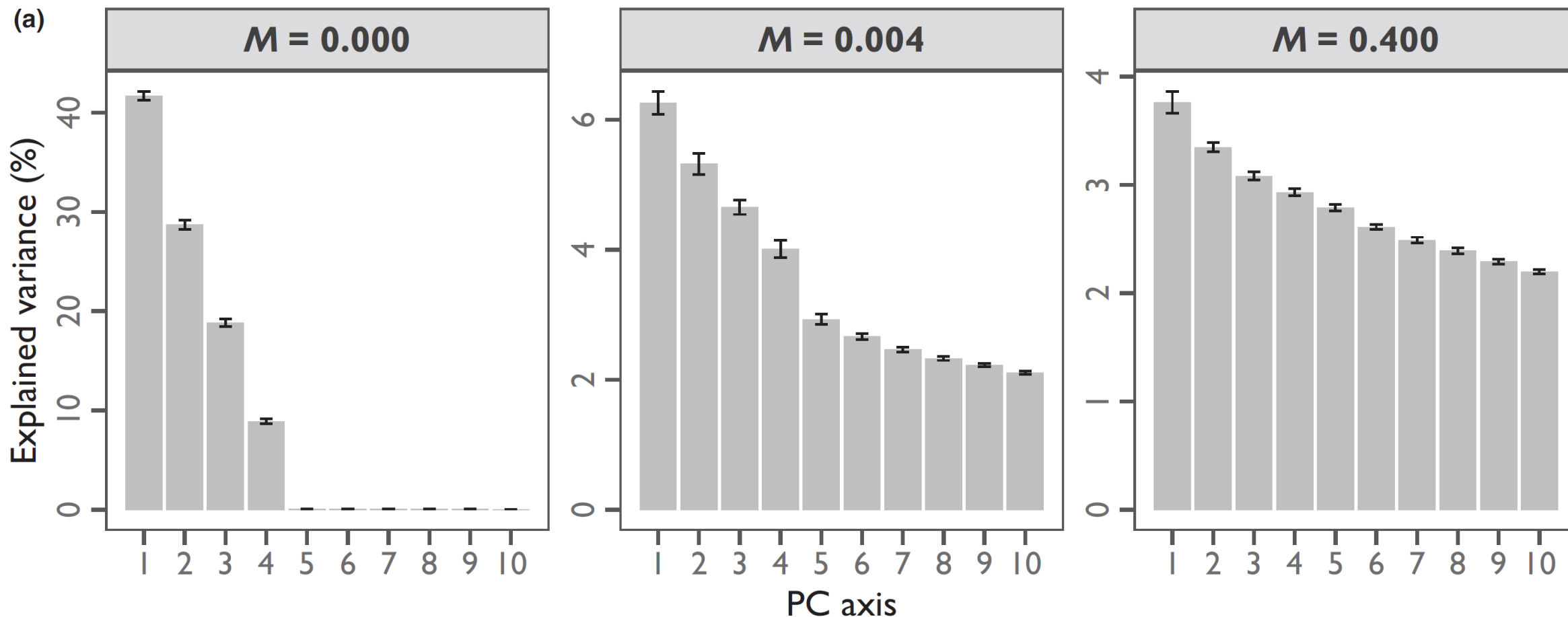
Kropka – pojedynczy osobnik

Kolor – populacja (w sensie genetycznym)

Liczba osobników (punktów) zawsze jest
taka sama, ale się nakładają

Guidelines for standardizing the application of discriminant analysis of principal components to genotype data

Joshua A. Thia

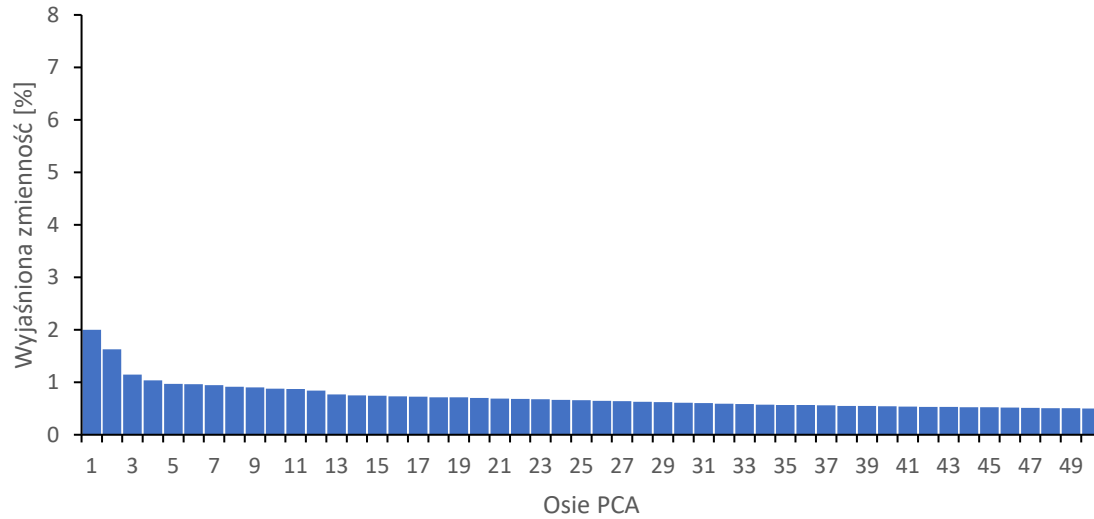


Wyraźnie rozdzielone,
całkowicie izolowane
populacje

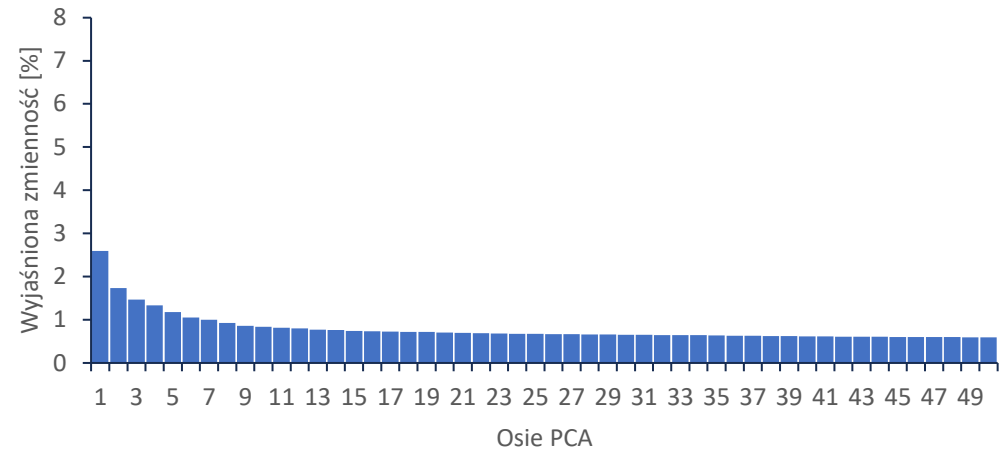
Oddzielne populacje, ale
możliwa wymiana
genetyczna pomiędzy nimi

Całkowicie swobodny przepływ
genów, brak struktury
oddzielonych populacji

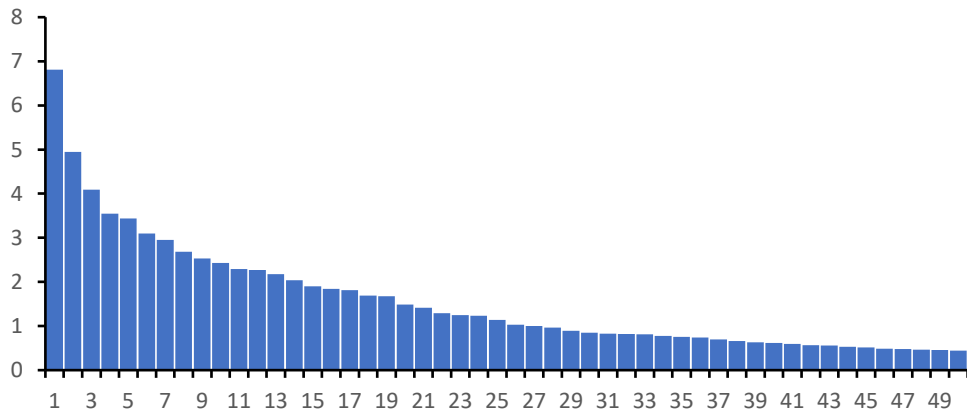
Achillea



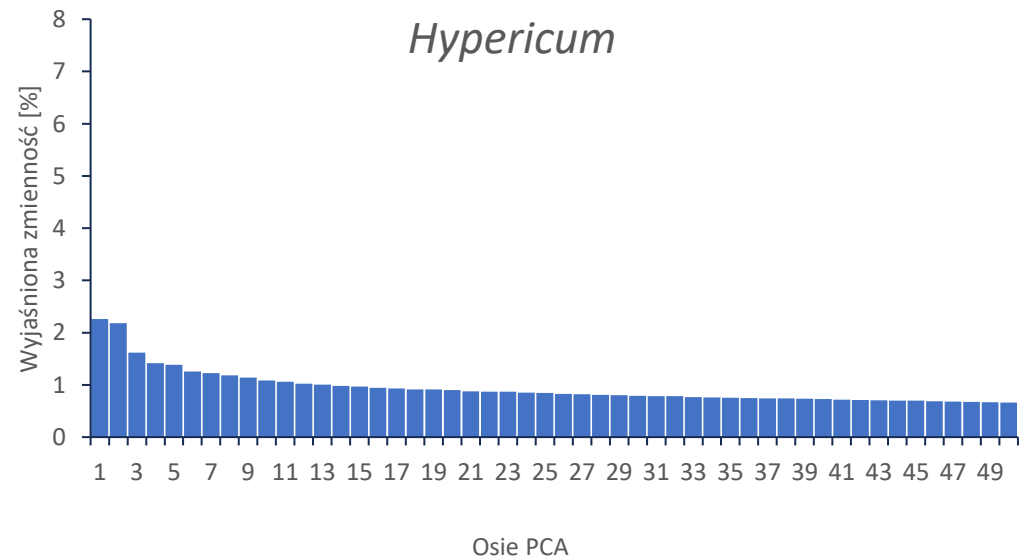
Agrostis



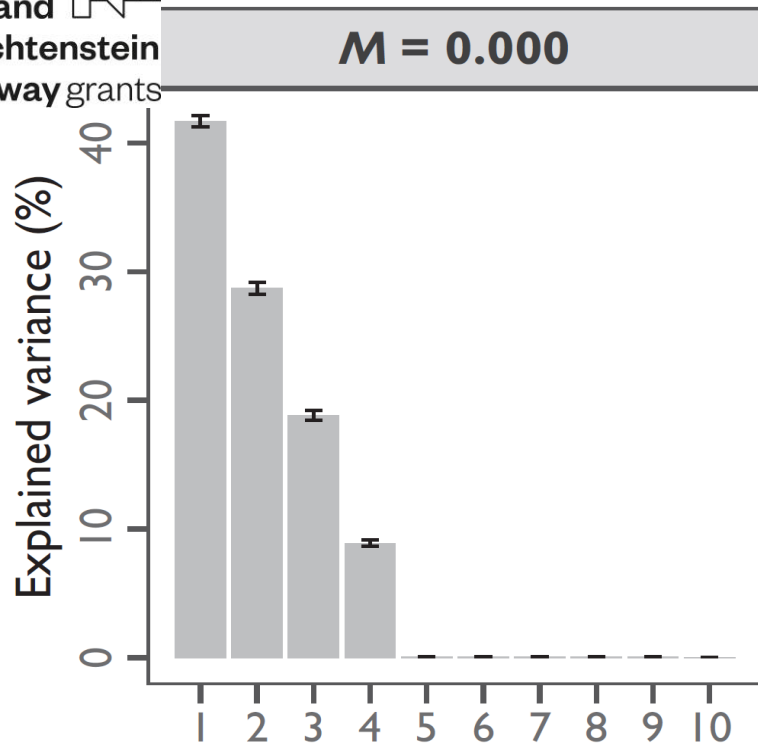
Cirsium



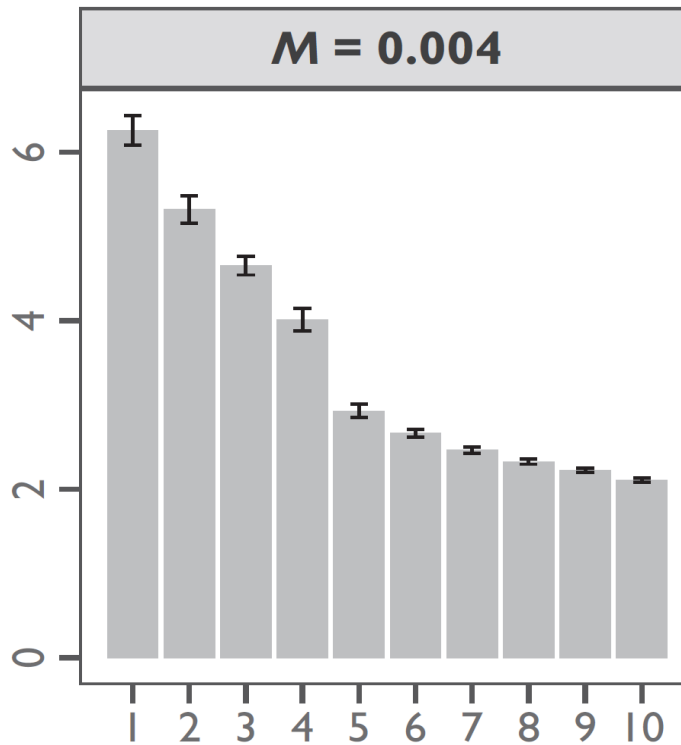
Hypericum



Iceland
Liechtenstein
Norway grants

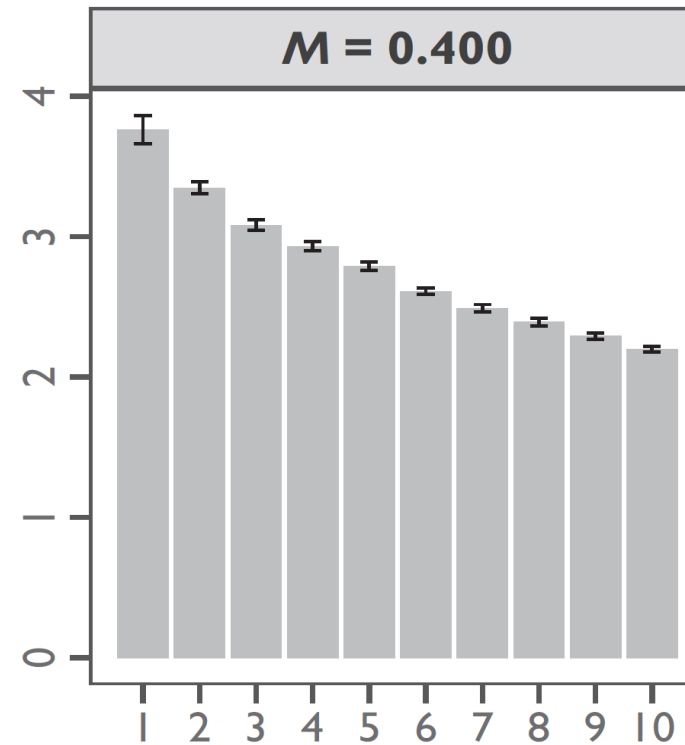



Wyraźnie rozdzielone,
całkowicie izolowane
populacje



Oddzielne populacje, ale
możliwa wymiana genetyczna
pomiędzy nimi

Cirsium

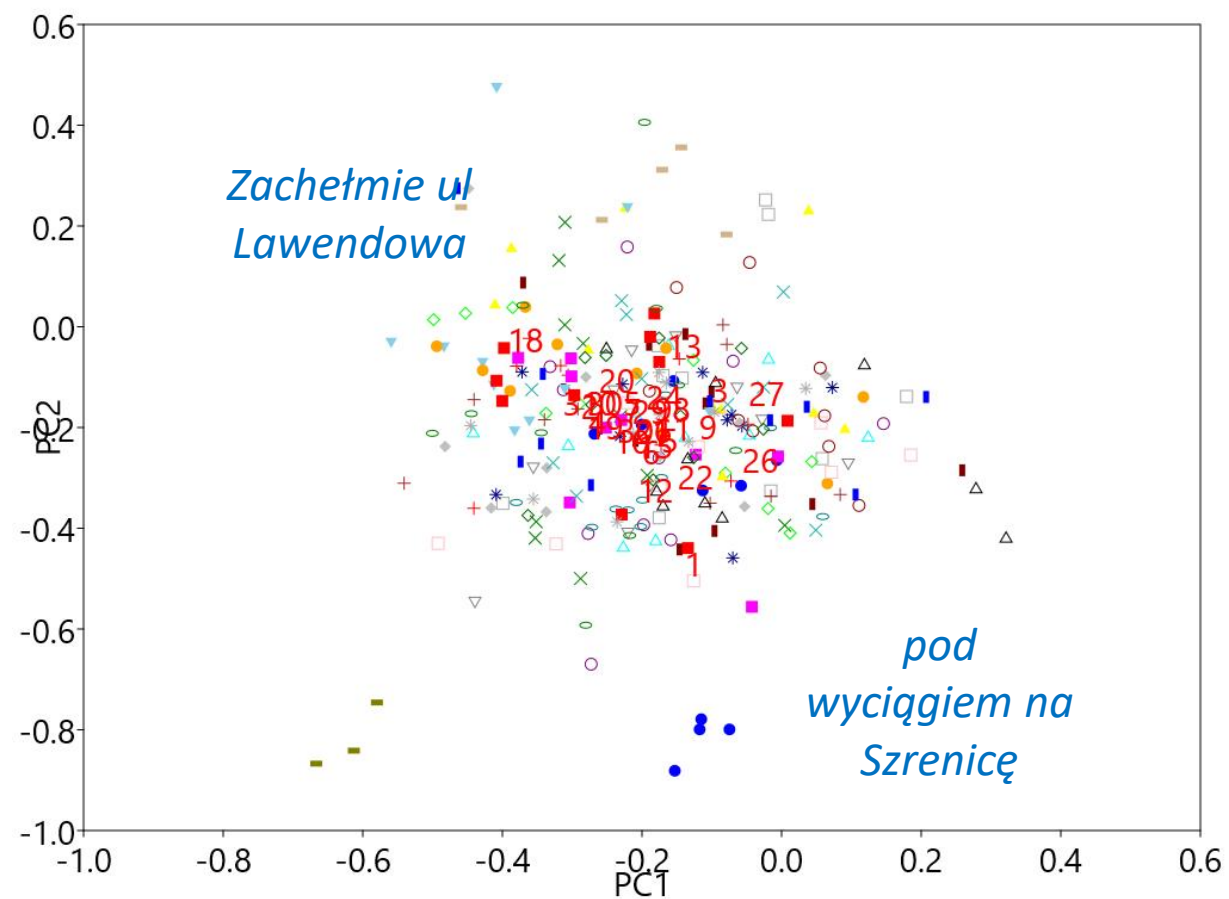
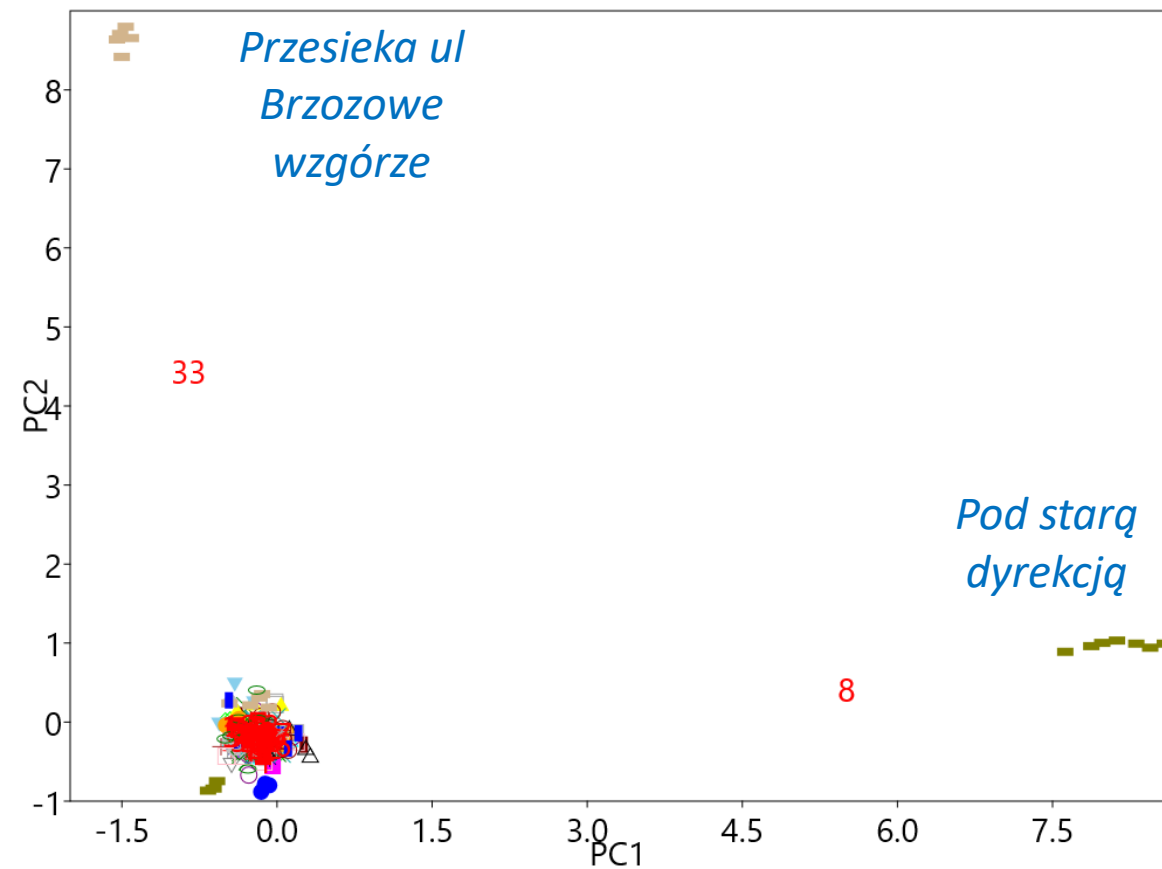


Całkowicie swobodny
przepływ genów, brak
struktury oddzielonych
populacji

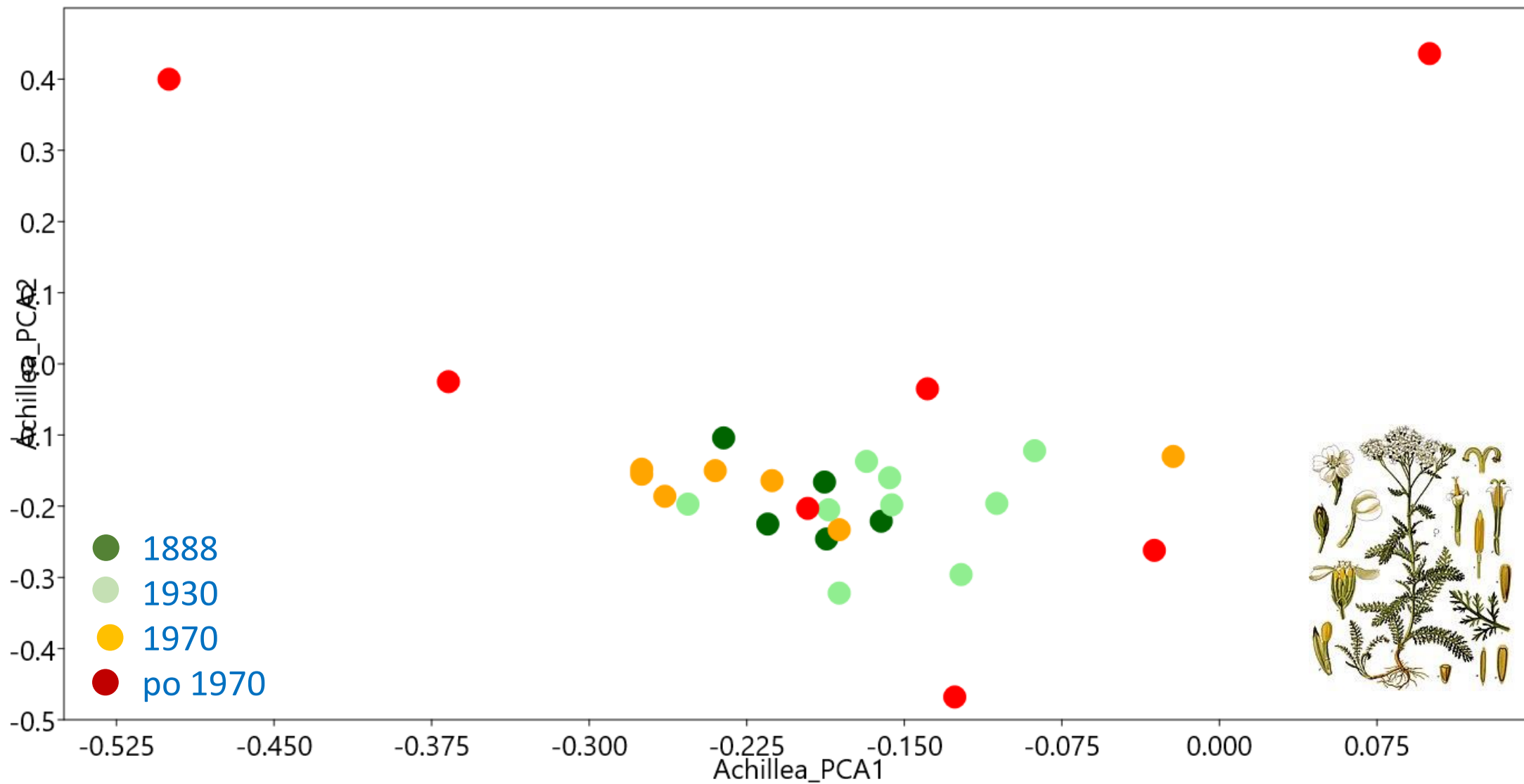
Achillea
Agrostis
Hypericum

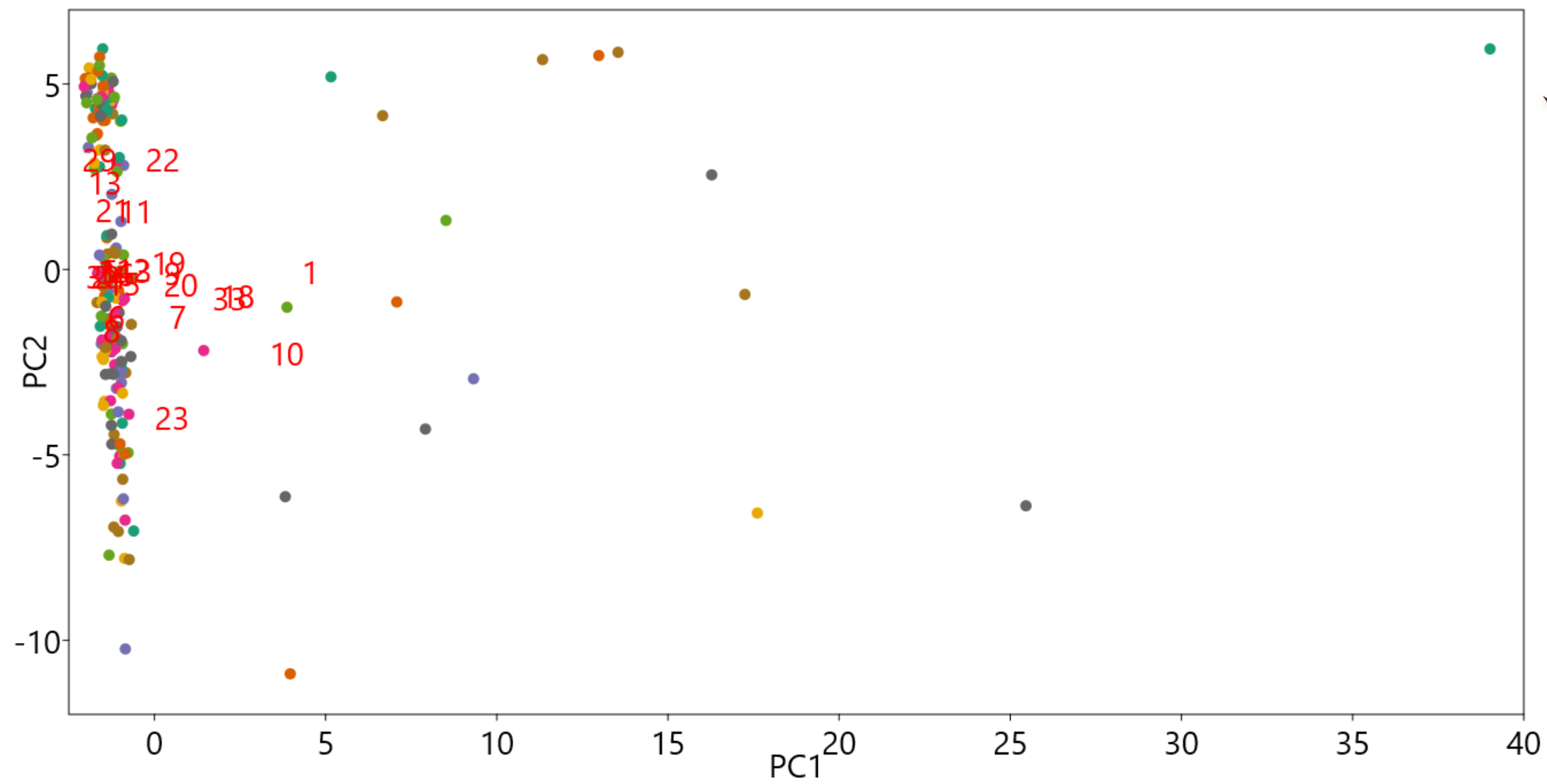
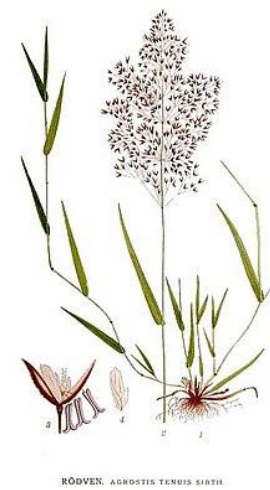


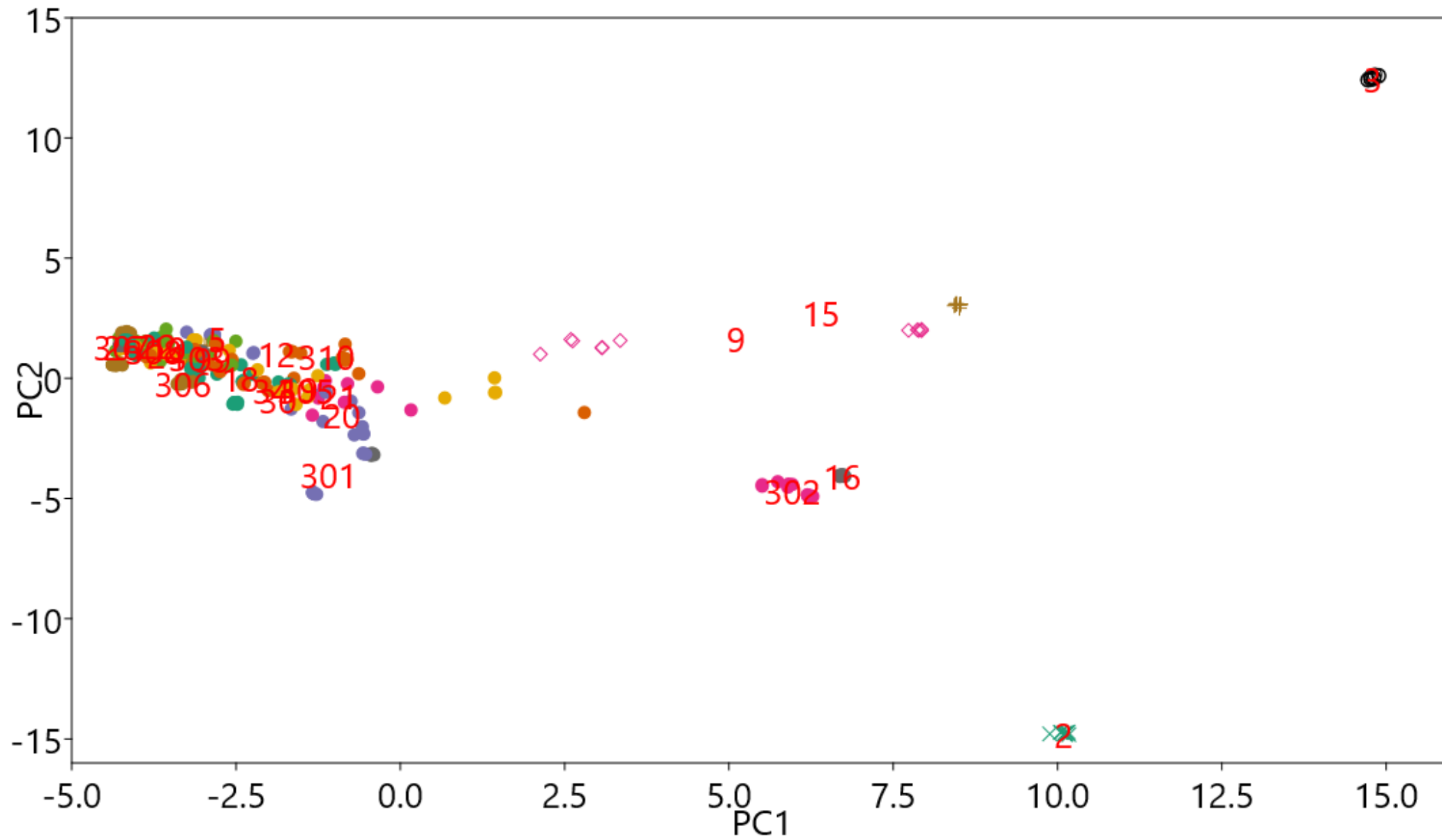
Zróźnicowanie genetyczne

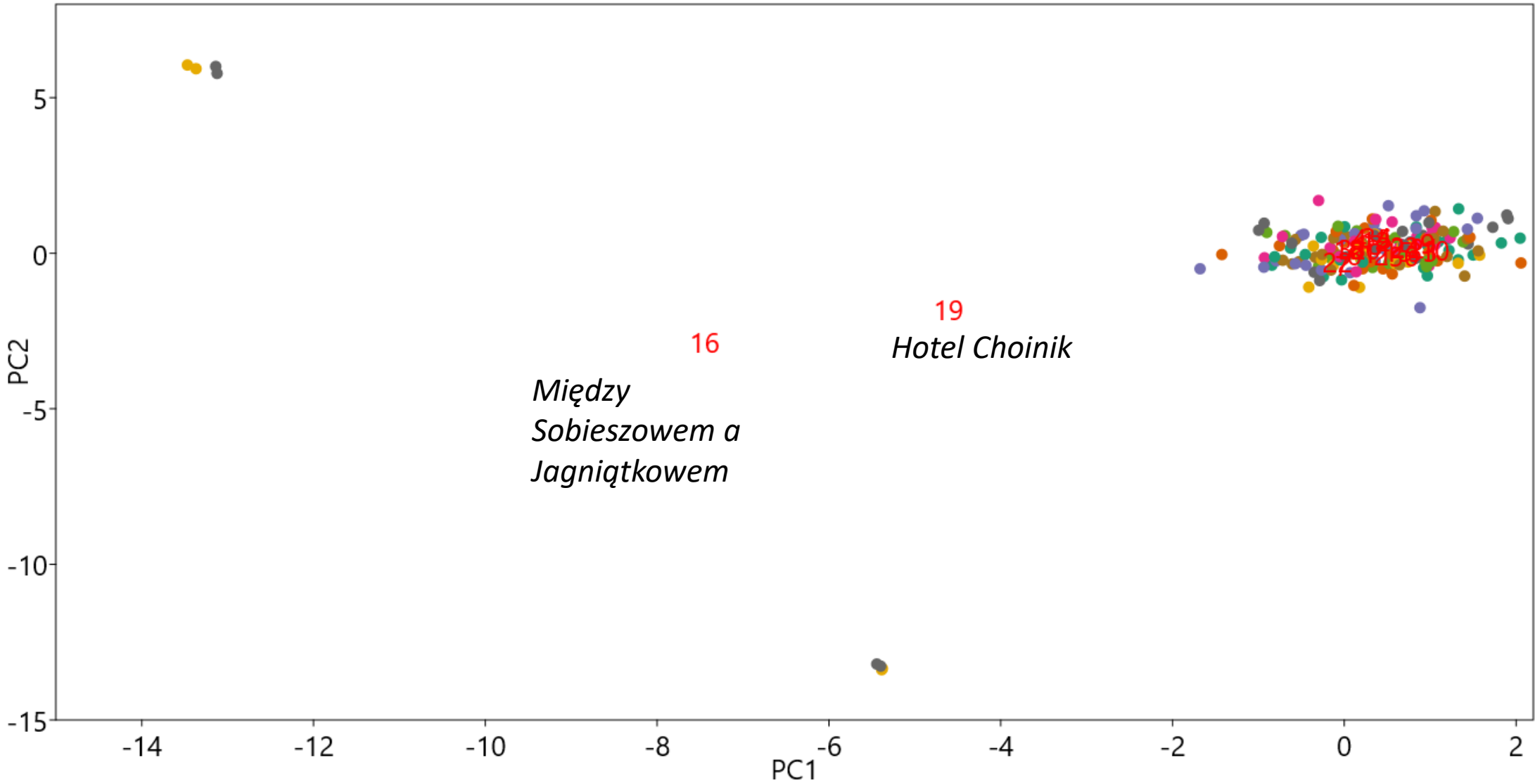


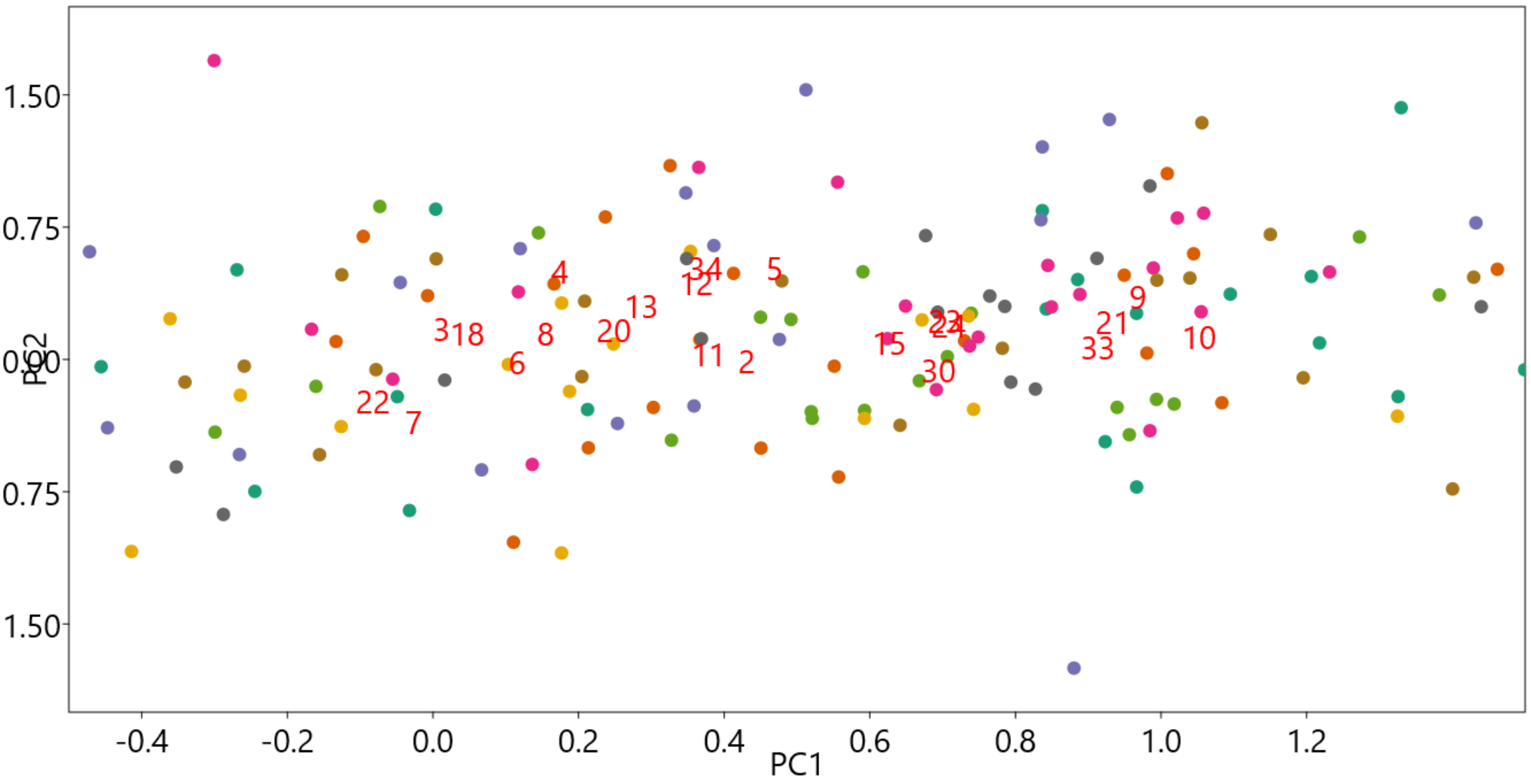
Łaki stare (zielone) vs nowe (czerwone)



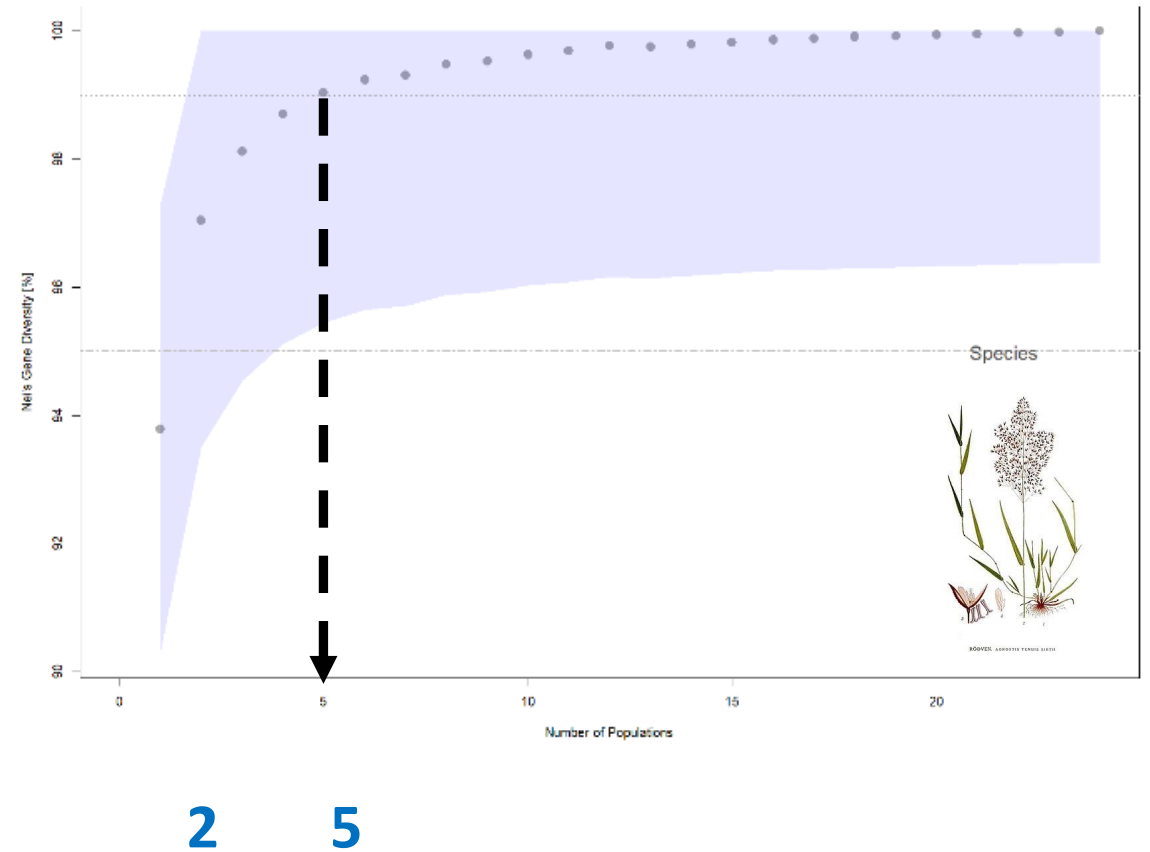
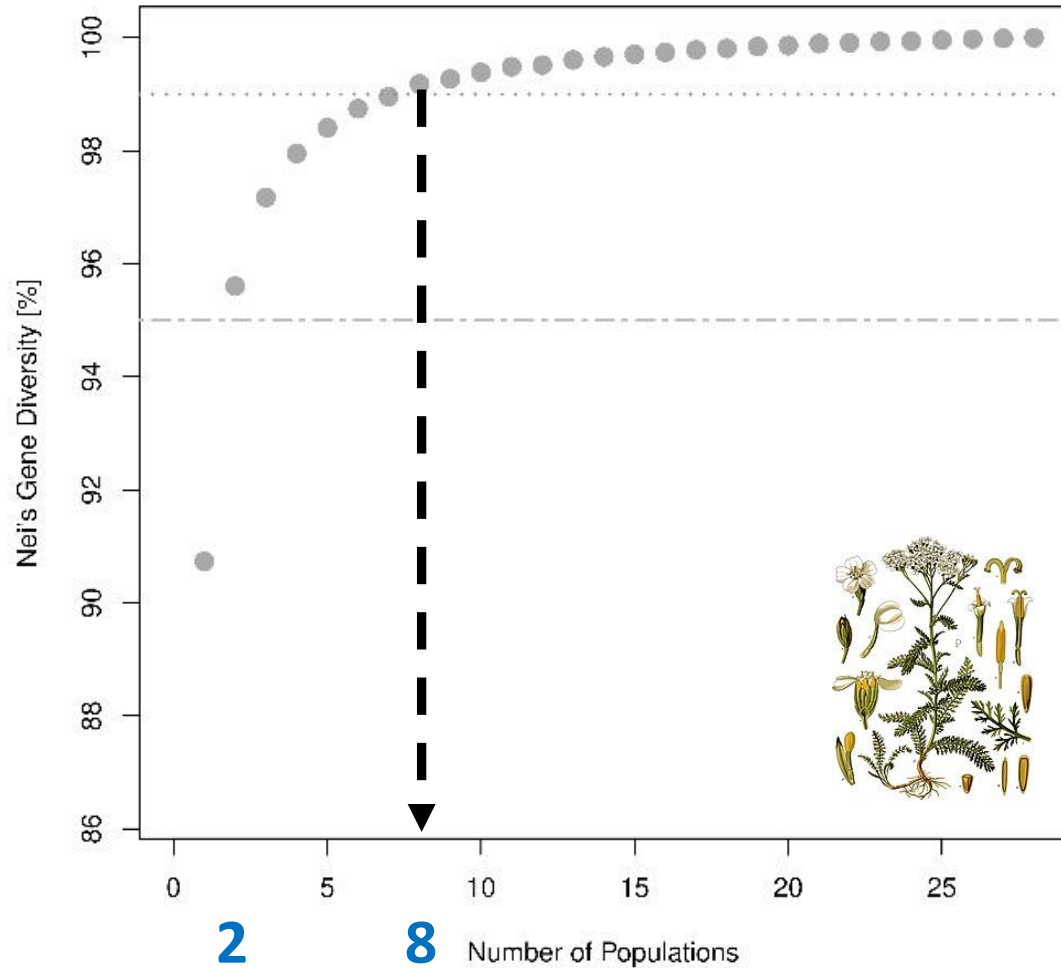


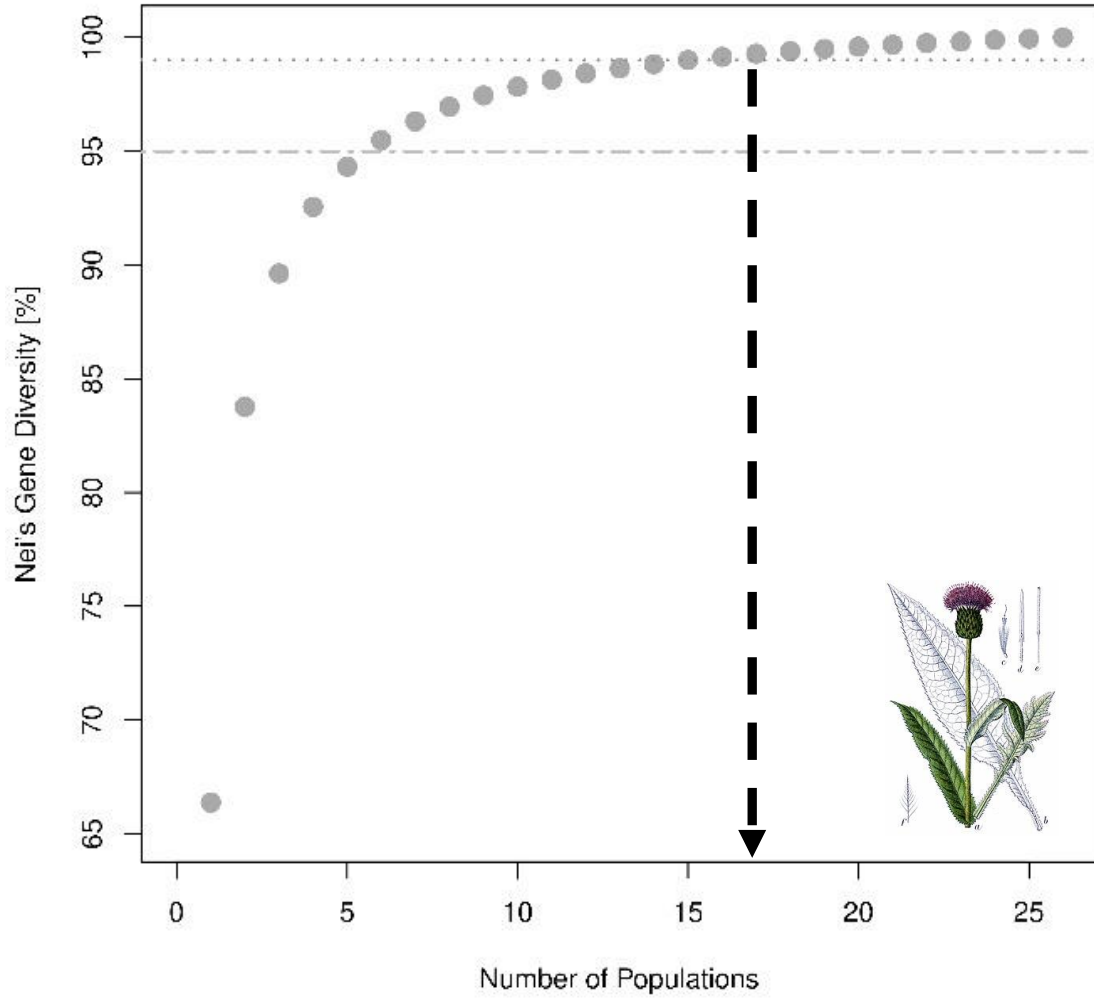






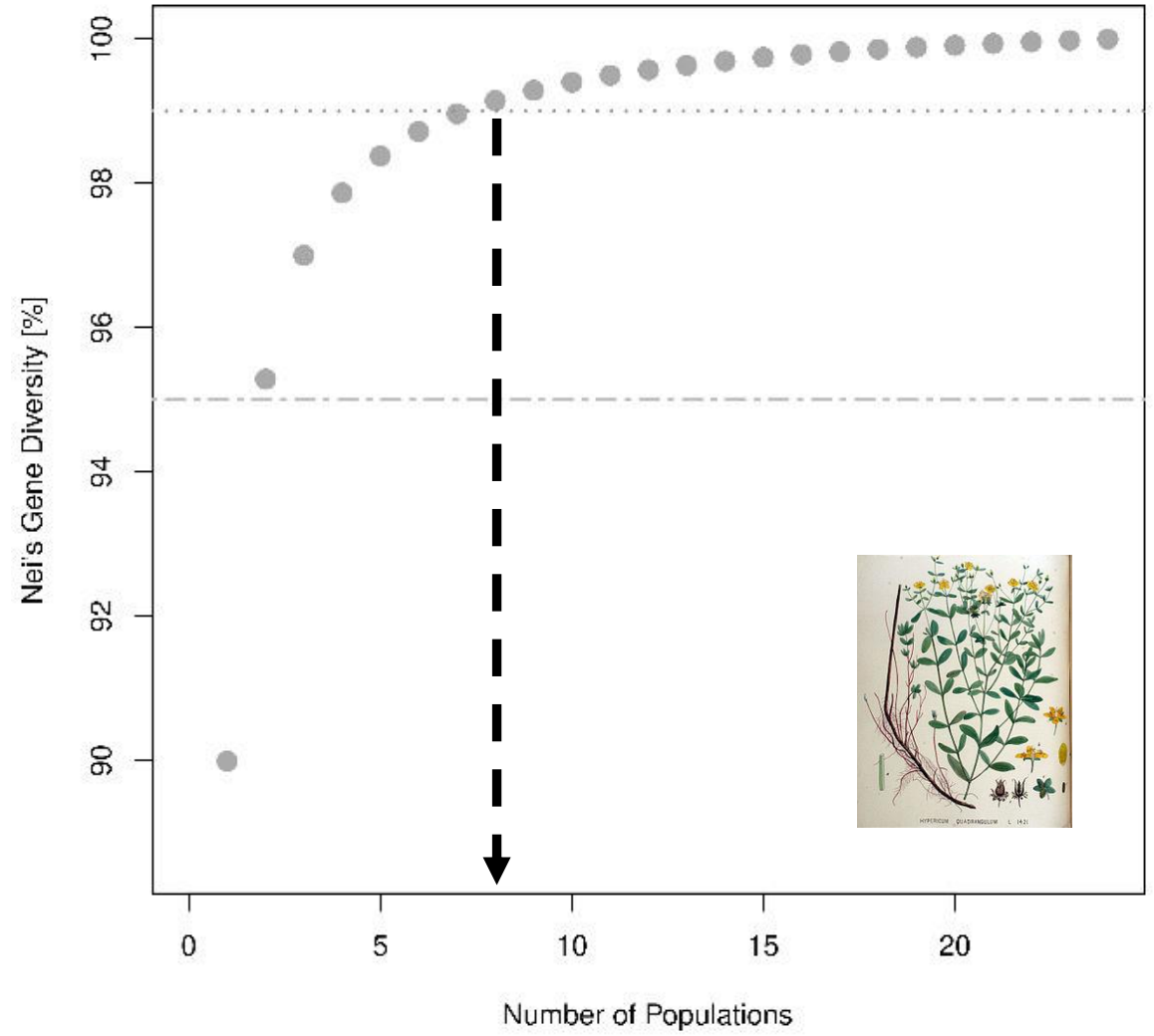
Ile populacji jest potrzebnych do zachowania 95 i 99% zmienności genetycznej ?





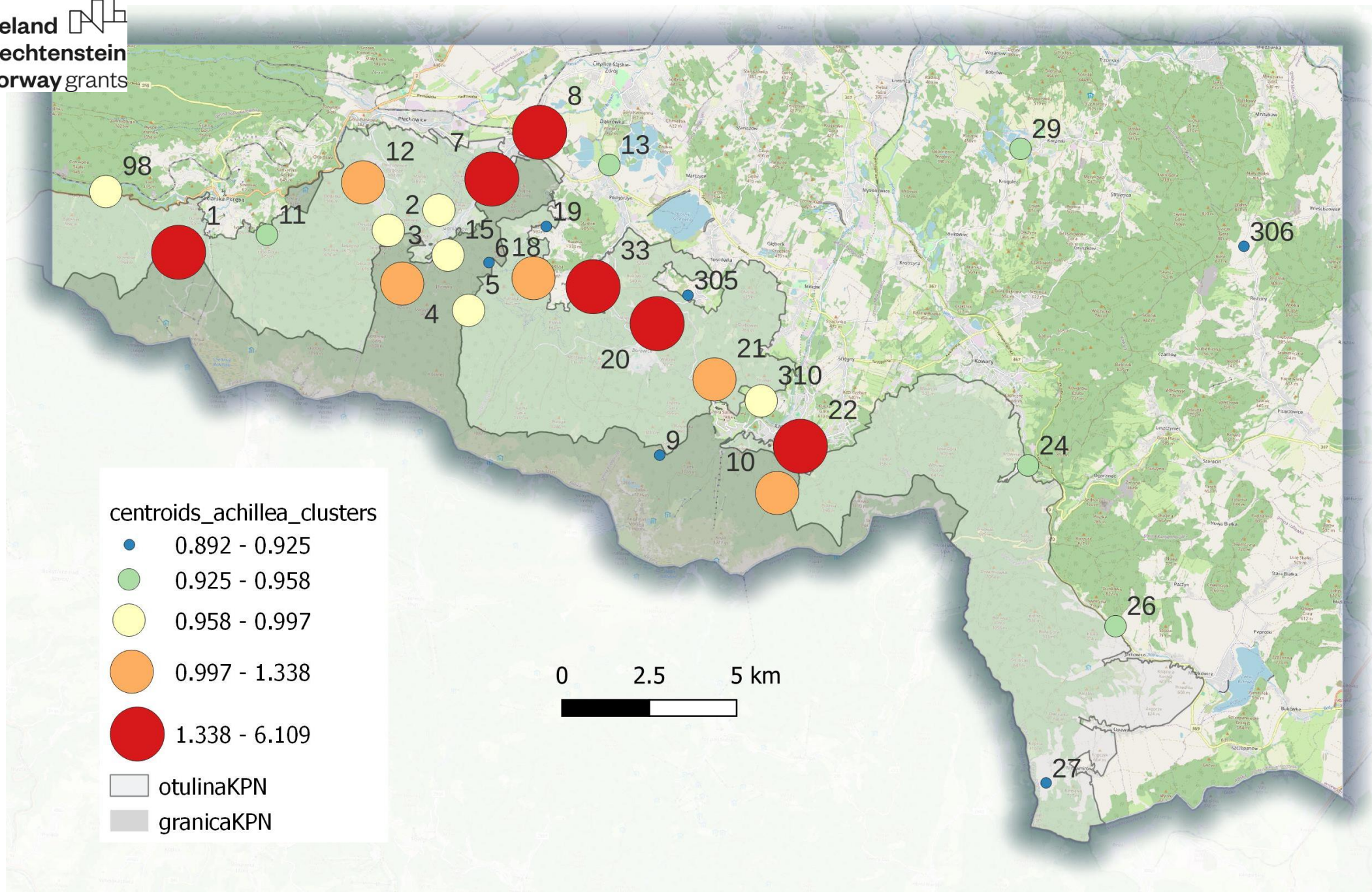
6

17



2

8

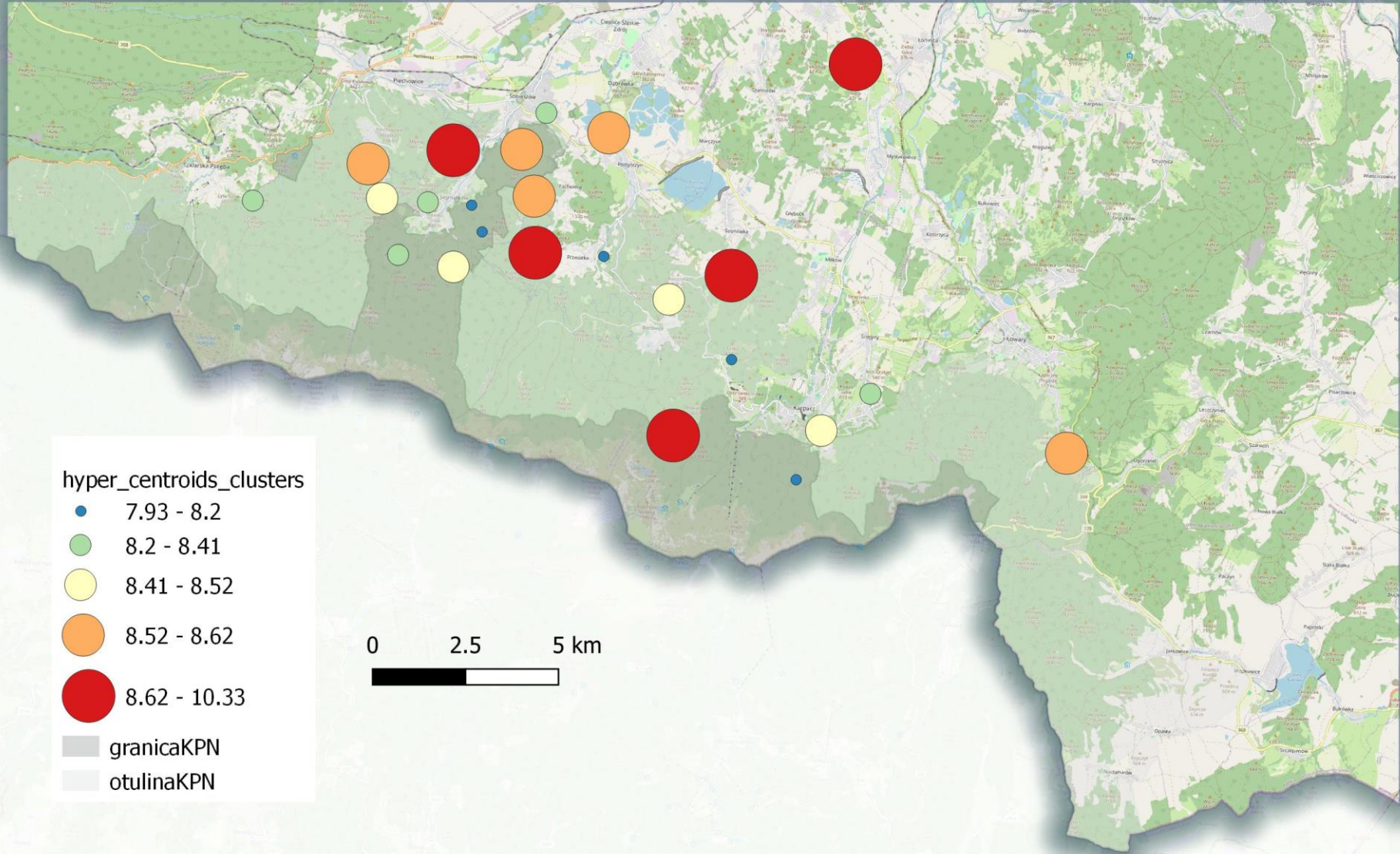


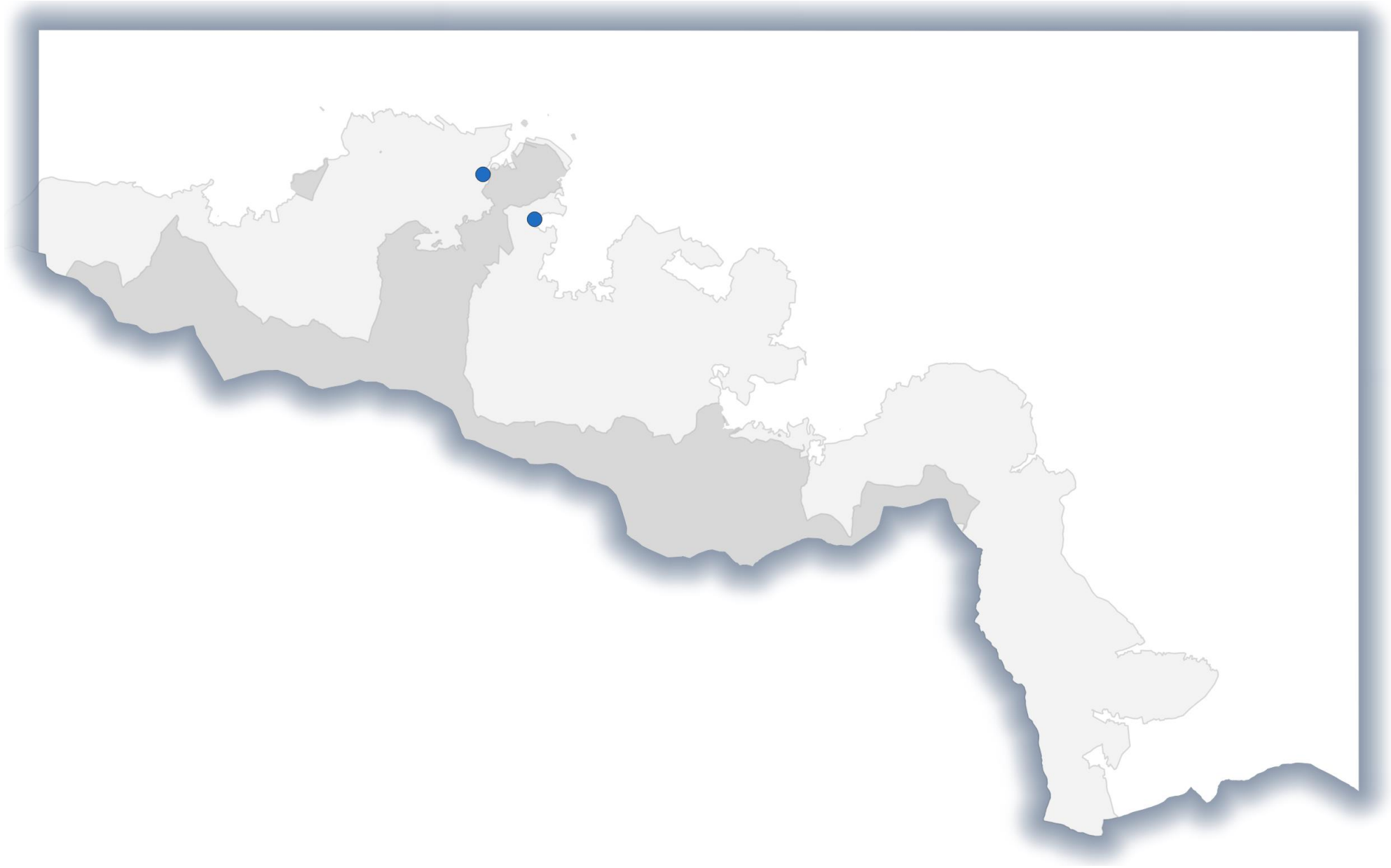
centroids_achillea_clusters

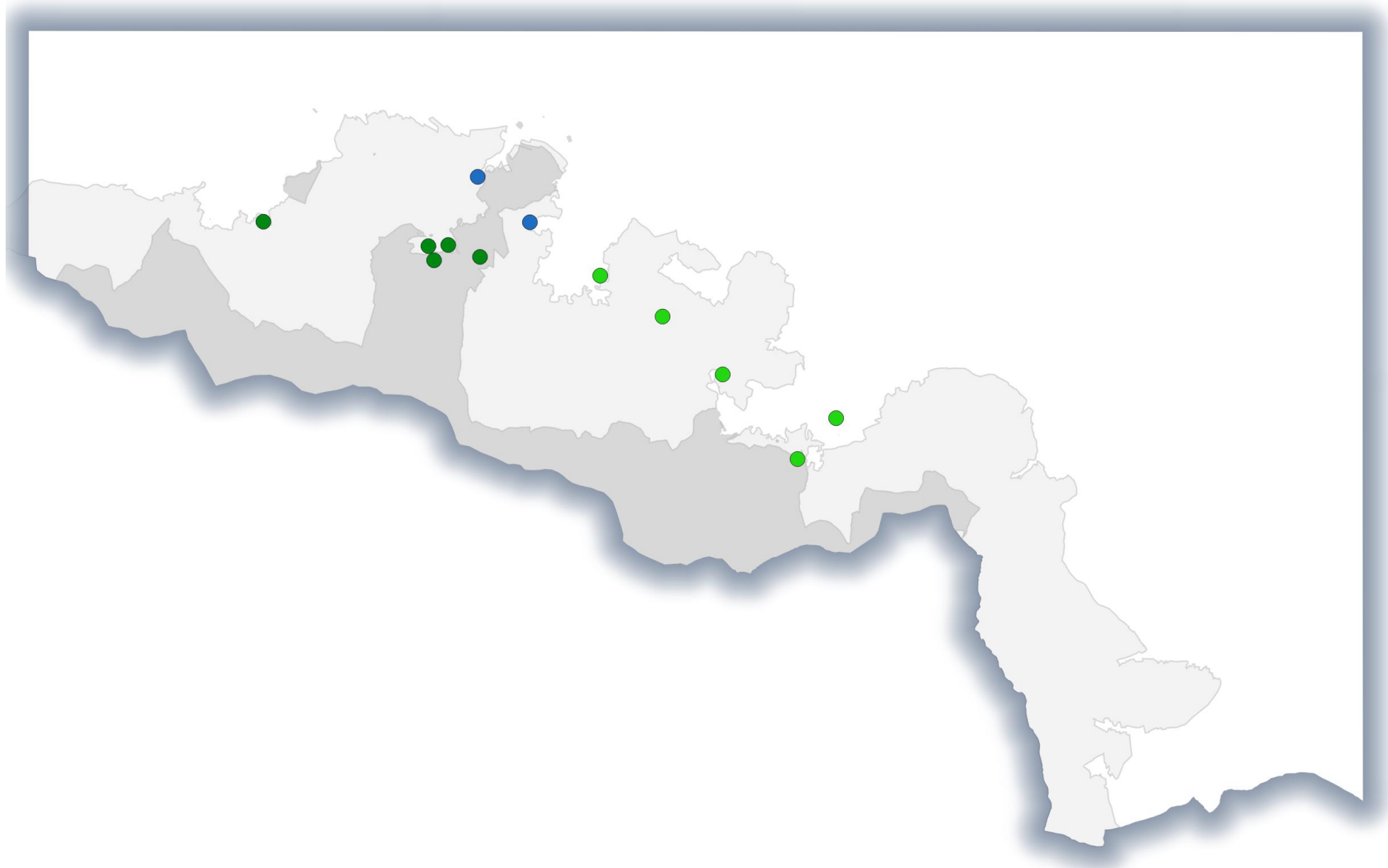
- 0.892 - 0.925
- 0.925 - 0.958
- 0.958 - 0.997
- 0.997 - 1.338
- 1.338 - 6.109

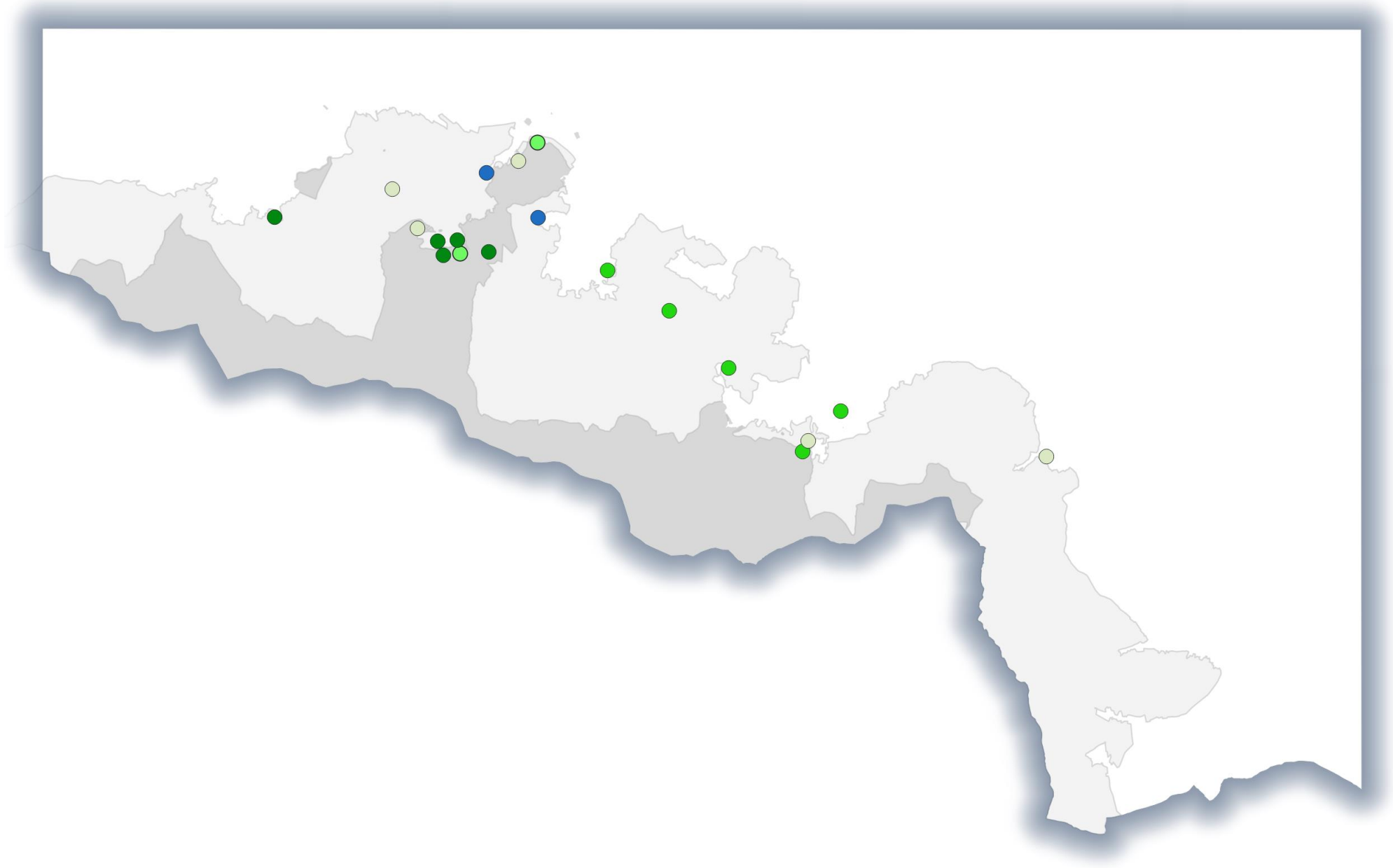
□ otulinaKPN
■ granicaKPN

0 2.5 5 km









Wpływ odległości i przenikalności krajobrazu na izolację osobników/populacji

Zależności pomiędzy odległością w przestrzeni a podobieństwem genetycznym

CORRELATION OF PAIRWISE GENETIC AND GEOGRAPHIC DISTANCE MEASURES:
INFERRING THE RELATIVE INFLUENCES OF GENE FLOW AND DRIFT ON THE
DISTRIBUTION OF GENETIC VARIABILITY

DELBERT W. HUTCHISON^{1,2} AND ALAN R. TEMPLETON³

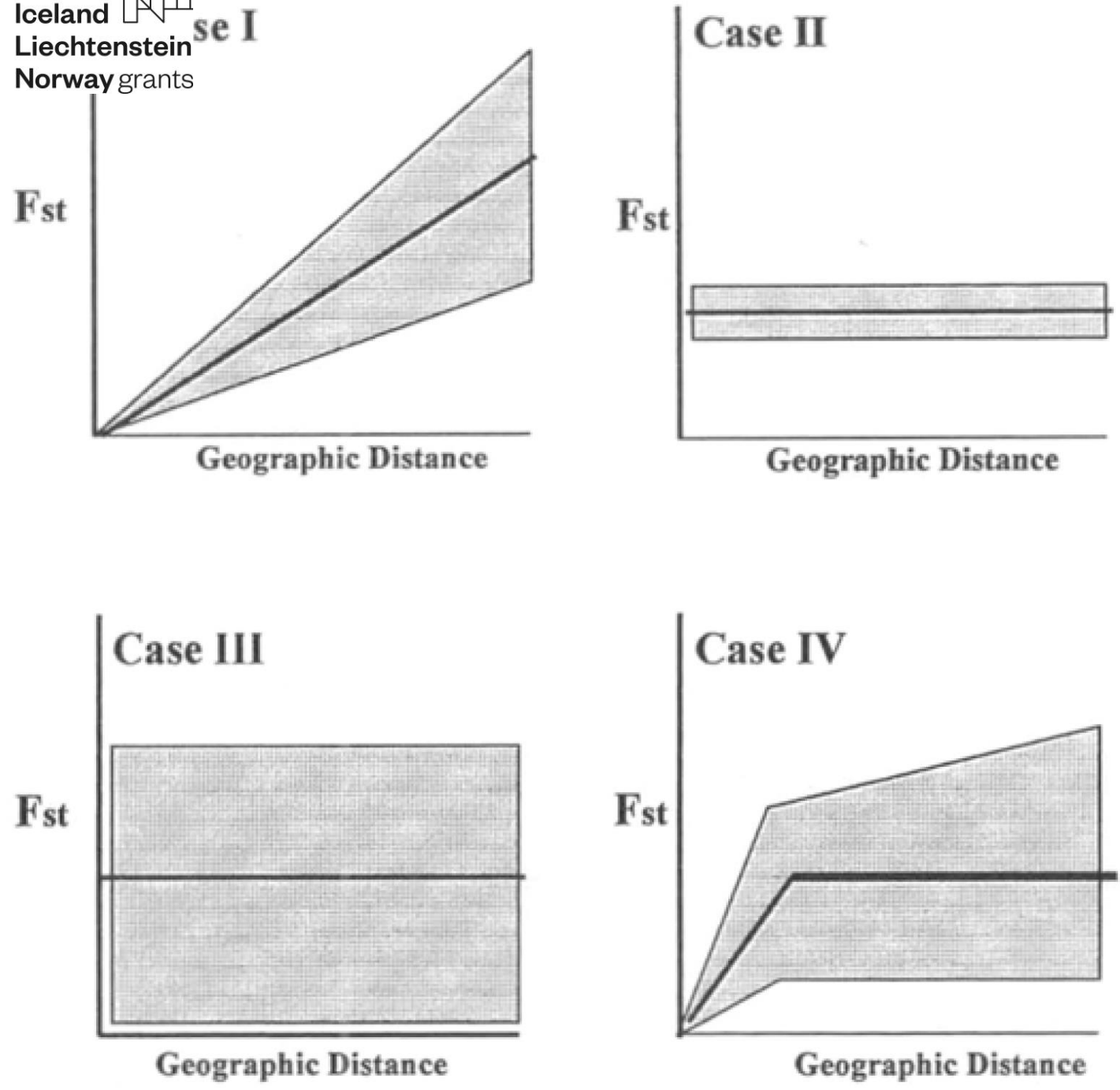
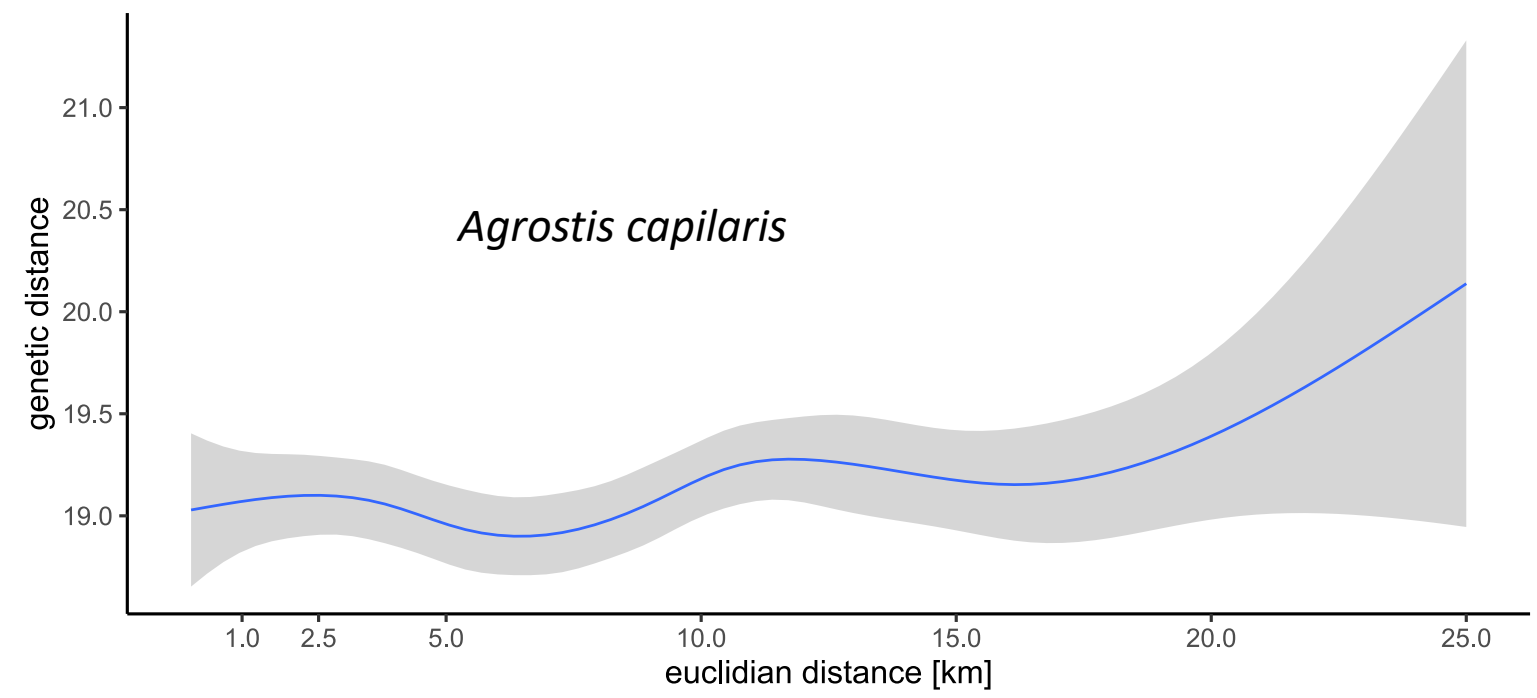
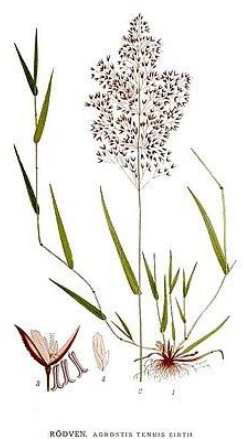
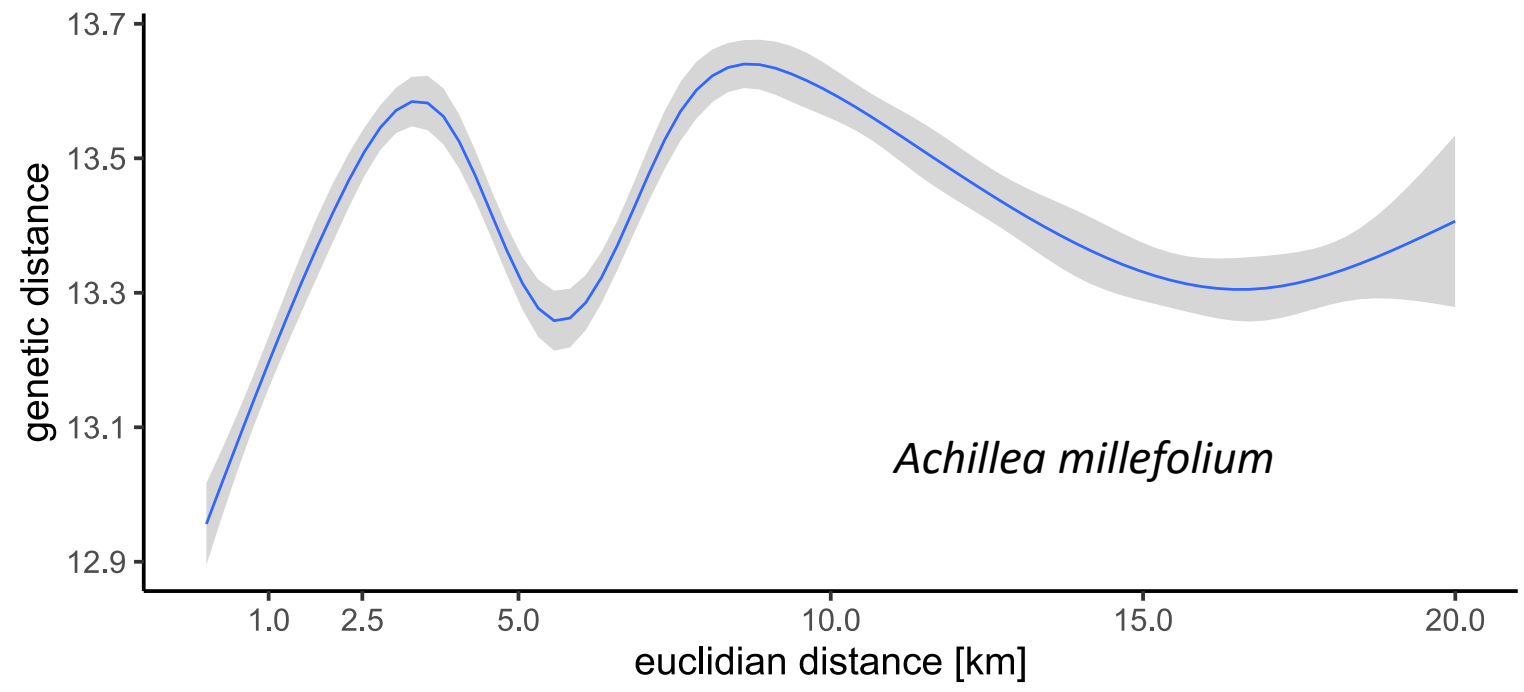
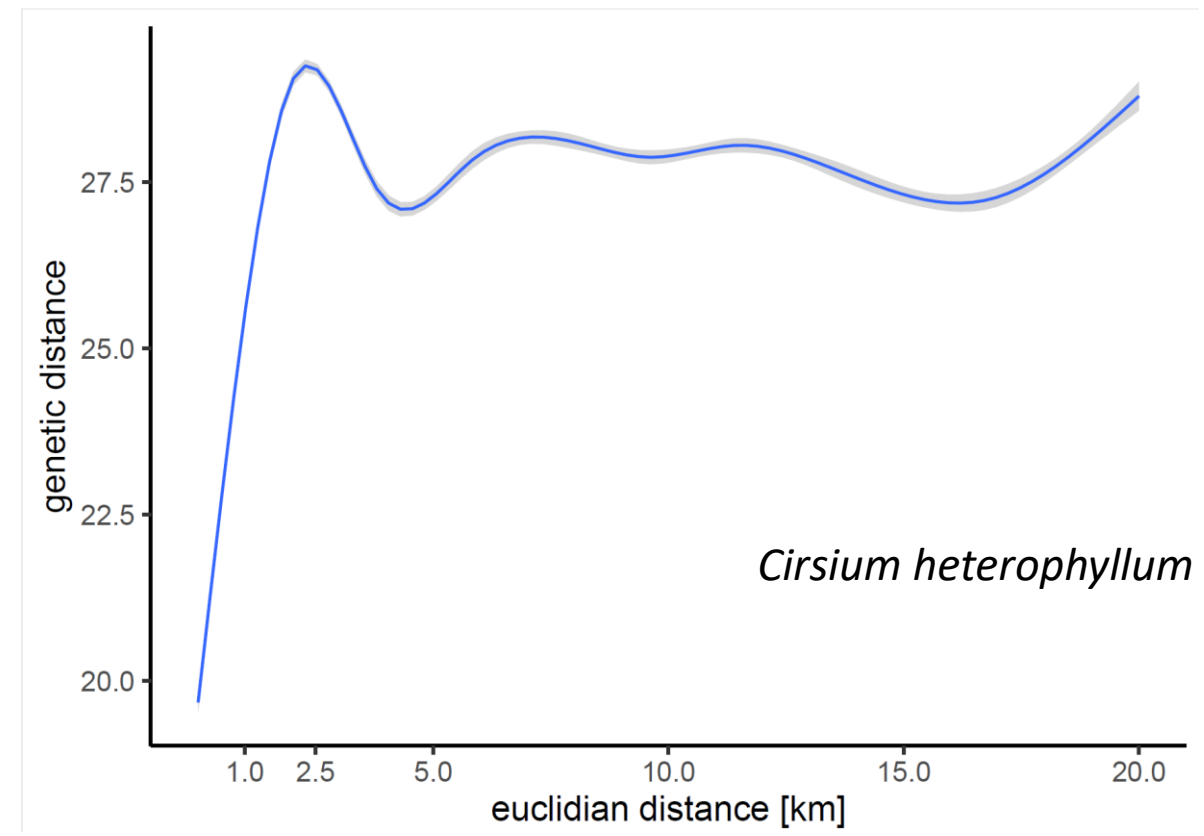
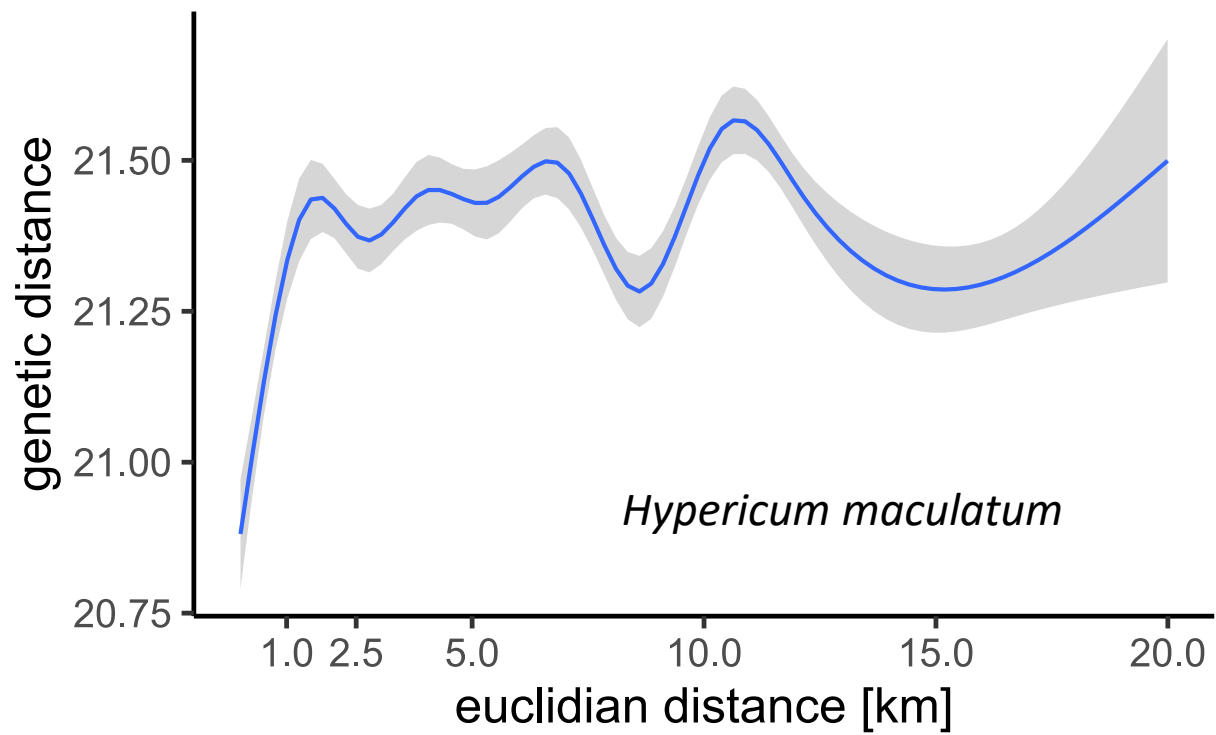
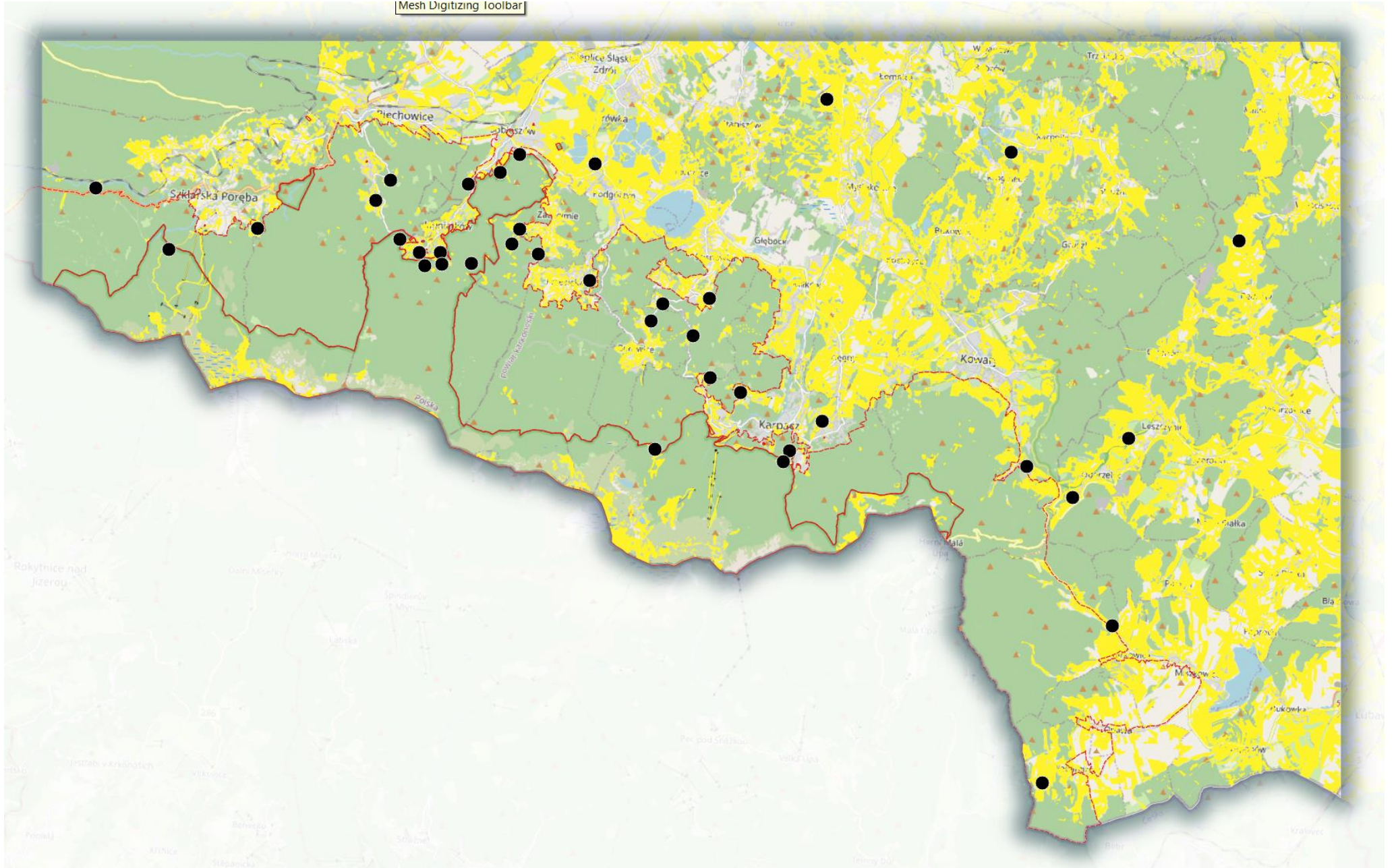


FIG. 1. A graphical representation of the hypothetical relationships between genetic (F_{ST}) and geographic distances for the four cases defined in the text: case I, regional equilibrium between gene flow and drift; case II, lack of regional equilibrium with gene flow much more influential than drift; case III, lack of regional equilibrium with drift much more influential than gene flow; case IV, lack of regional equilibrium where gene flow and drift influence regional population structure differently depending on scale; gene flow more effective at shorter distances of geographic separation and drift more influential at greater distances of geographic separation. Shaded areas indicated approximate degree of scatter expected in the plotted points, and the bold line drawn within the shaded area indicates the approximate relationship between genetic and geographic distances.







LCP (least cost patch) – najłatwiejsza droga migracji

Najłatwiejsza droga, nie zawsze jest najkrótsza (np. nawigacja samochodowa: wybierz **najszybszą** bądź **najkrótszą** trasę)

Założenia

owady zapylające związane z otwartą przestrzenią (np. łaki): lubią łąki i tereny półotwarte. Unikają lasów (ciemno), terenów zurbanizowanych (nie ma co jeść) i pól uprawnych (insektycydy)

Zwierzęta hodowlane (np. krowy) lubią łąki i tereny półotwarte. Unikają lasów (ciemno), terenów zurbanizowanych (nie ma co jeść) i pól uprawnych (insektycydy)

Dzika zwierzyna (np. jelenie) – może przenosić nasiona w żołądkach: lubią lasy, unikają terenów zurbanizowanych (nie ma co jeść) i pól uprawnych (insektycydy)

Dane: DOT10k

To jest metoda ekspercka !

5 kategorii:

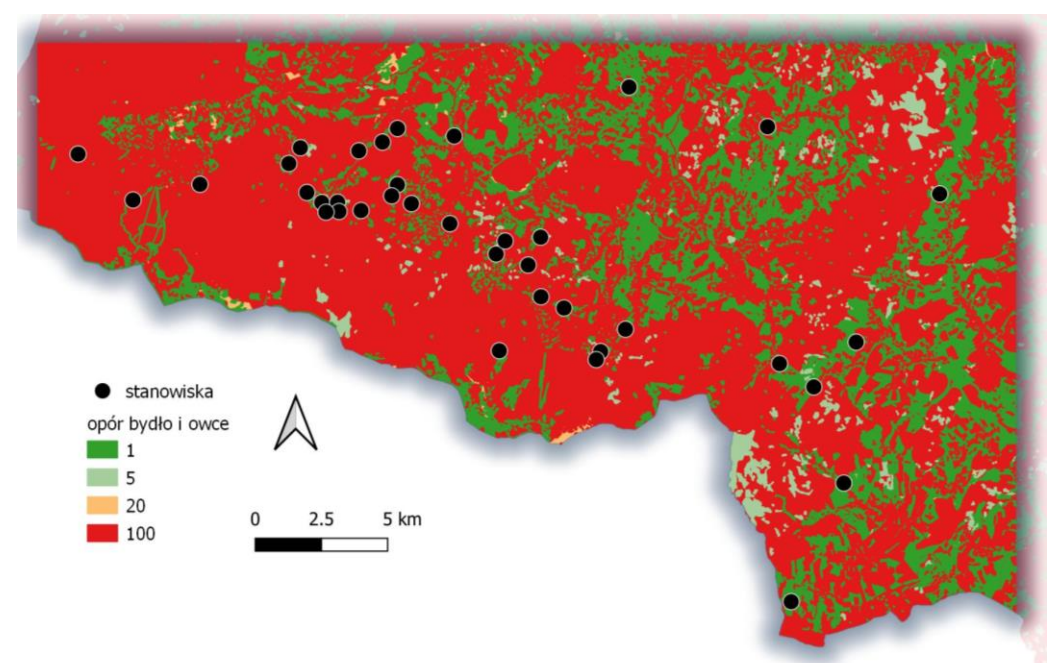
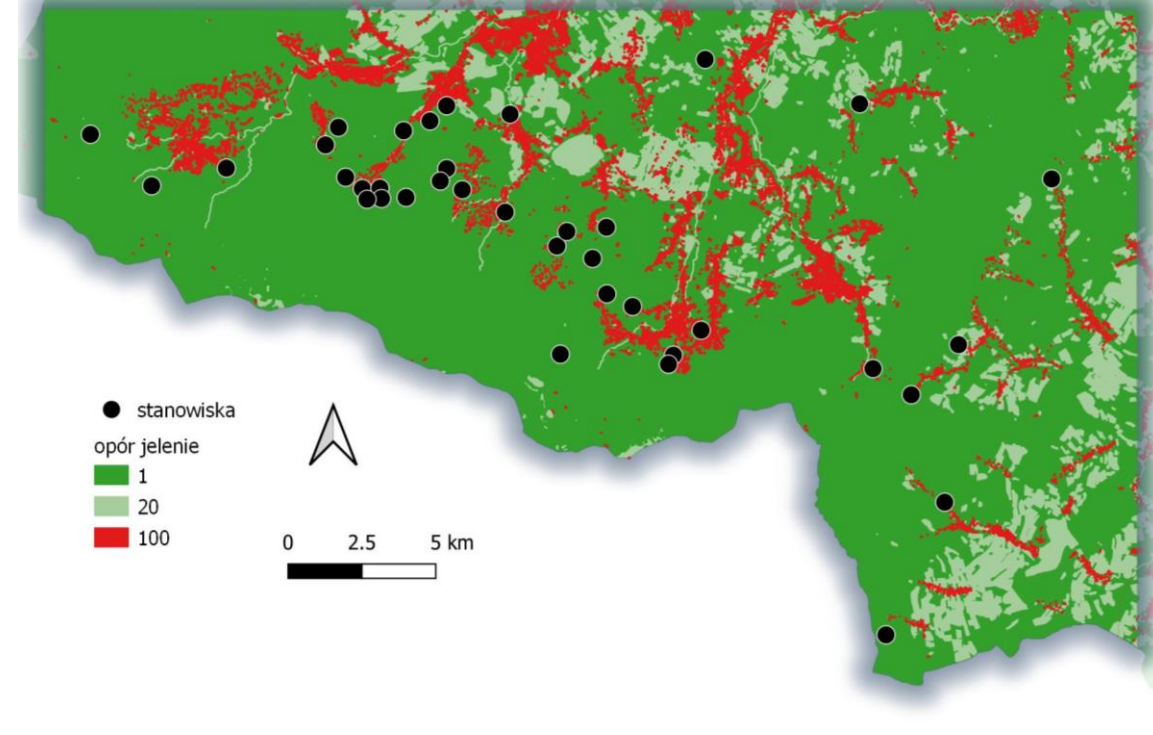
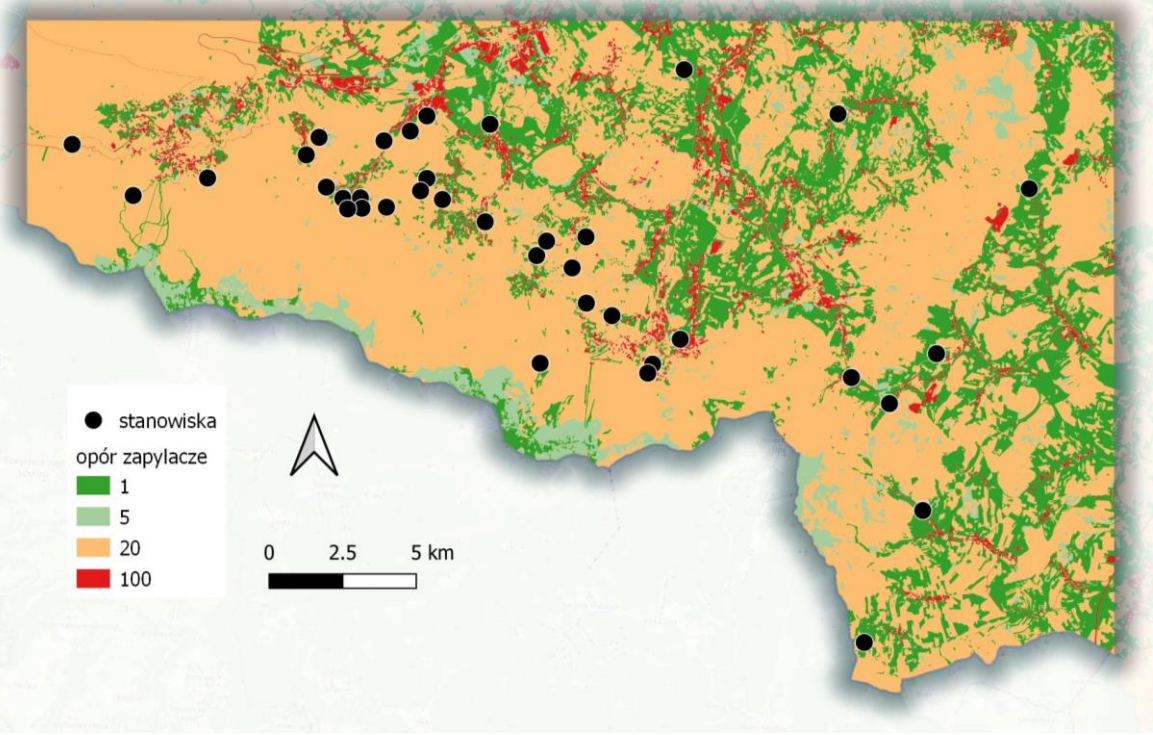
wpływ	Właściwe siedlisko	nie jest źle	niedobrze	wyraźne unikanie
Wartość oporu	1	5	20	100

Np. zapyłaczowi leci się przez las 20 razy gorzej niż nad łąką

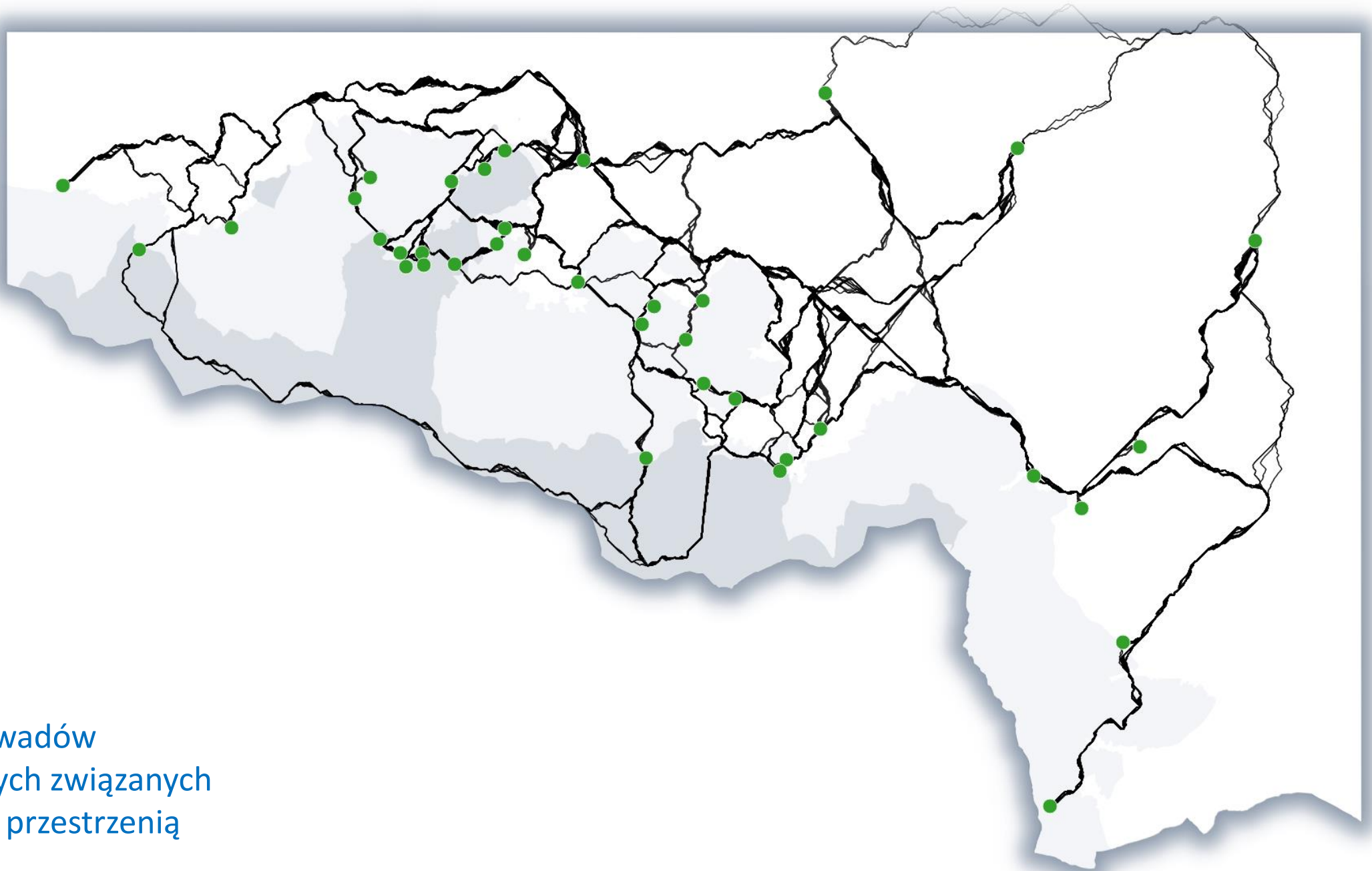
Jeleń czuje się w zabudowie handlowo-usługowej 100 razy gorzej niż w lesie

5 klas całkiem sprawnie działa - uszczegółowianie tego bardziej niewiele zmienia

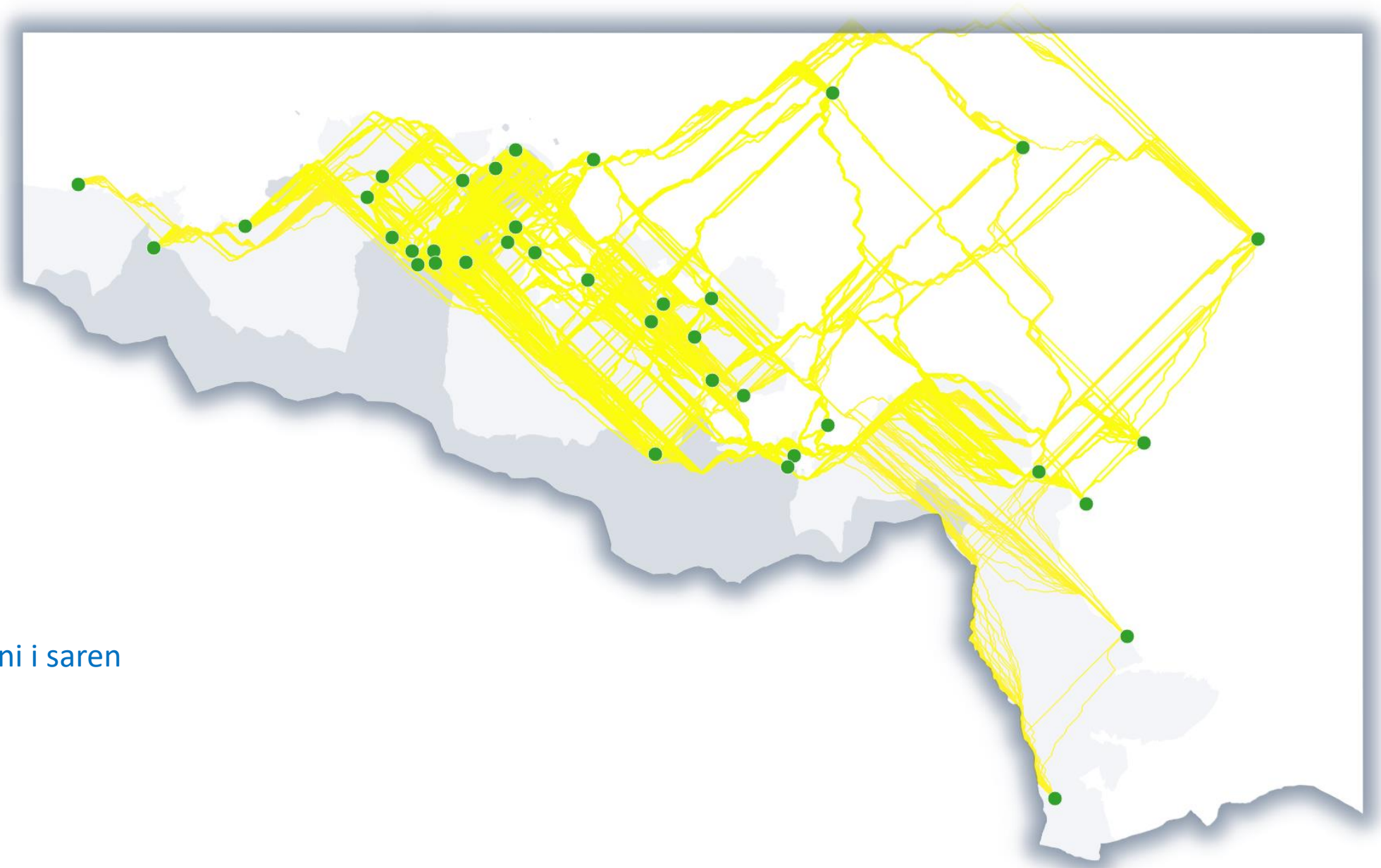
Kod BDOT10k	rodzaj	charakter	opór krajobrazu		
			zapyłacz	bydło	jelenie i sarny
TR01	roślinność trawiasta		1	1	1
LZ02	zagajnik		5	5	1
LZ03	zadrzewienie		5	20	1
RK01	roślinność krzewiasta kosodrzewina		5	100	1
RK02	zarośla krzewow		5	20	1
UT01	ogródki działkowe		5	100	100
UT02	plantacja		5	100	100
UT03	sad		5	100	100
UT05	szkółka roślin ozdobnych		20	100	100
GN01	grunt nieużytkowany piarg, rumowisko skalne		20	20	20
GN02	grunt nieużytkowany teren kamienisty		20	20	20
GN03	grunt nieużytkowany piaszczysty lub żwirowy		20	20	20
GN04	grunt nieużytkowany inny		20	20	20
LZ01	las		20	100	1
TR02	grunt orny		20	100	20
UT04	uprawa trwała szkółka roślin		20	100	100
WP02	wody płynące		20	100	20
WP03	wody stojące		20	100	20
ZB01	zabudowa wielorodzinna	luźna	20	100	100
ZB03	zabudowa przemysłowo -składowa	luźna	20	100	100
ZB05	pozostała zabudowa	luźna	20	100	100
KM01	teren pod drogą kołową		100	100	100
KM02	teren pod torowiskiem		100	100	100
KM04	teren pod drogą lotniskową		100	100	100
NZ01	teren pod urządzeniami technicznymi, budowlami		100	100	100
NZ02	teren przemysłowo-składowy		100	100	100
PL01	plac		100	100	100
SO01	składowisko odpadów komunalnych		100	100	100
SO02	składowisko odpadów przemysłowych		100	100	100
WP01	wody morskie		100	100	100
WZ01	wyrobisko		100	100	20
WZ02	zwałowisko		100	100	20
ZB02	zabudowa jednorodzinna	gęsta	100	100	100
ZB04	zabudowa handlowo-usługowa	gęsta	100	100	100



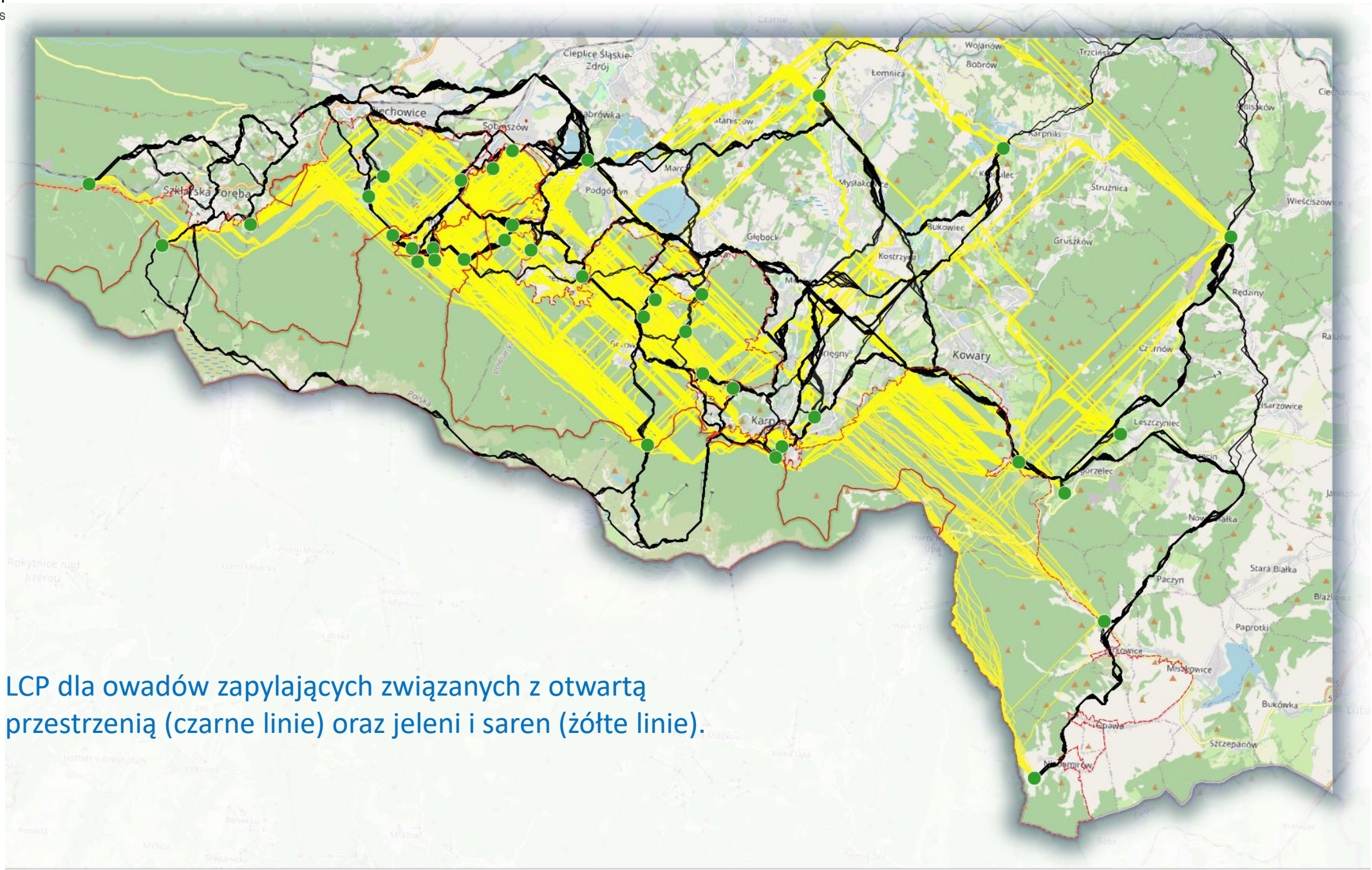
Mapy oporu krajobrazu



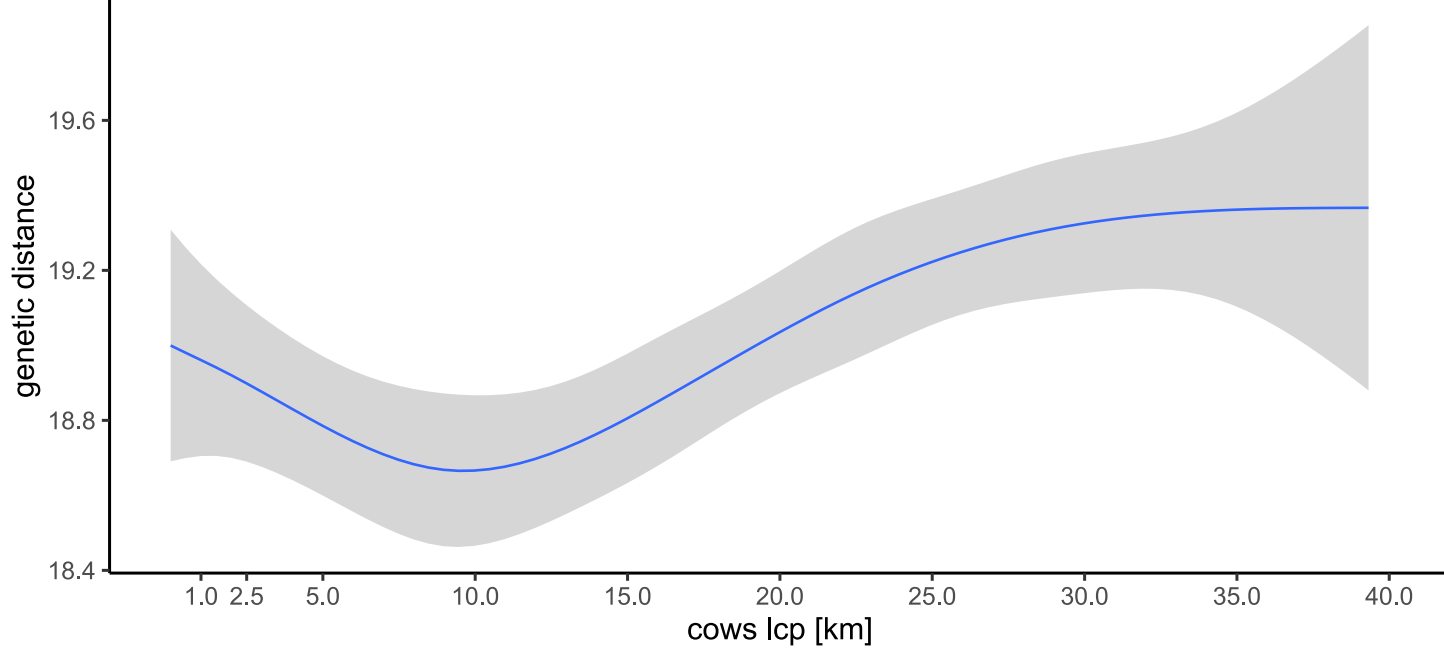
LCP dla owadów
zapylających związanych
z otwartą przestrzenią



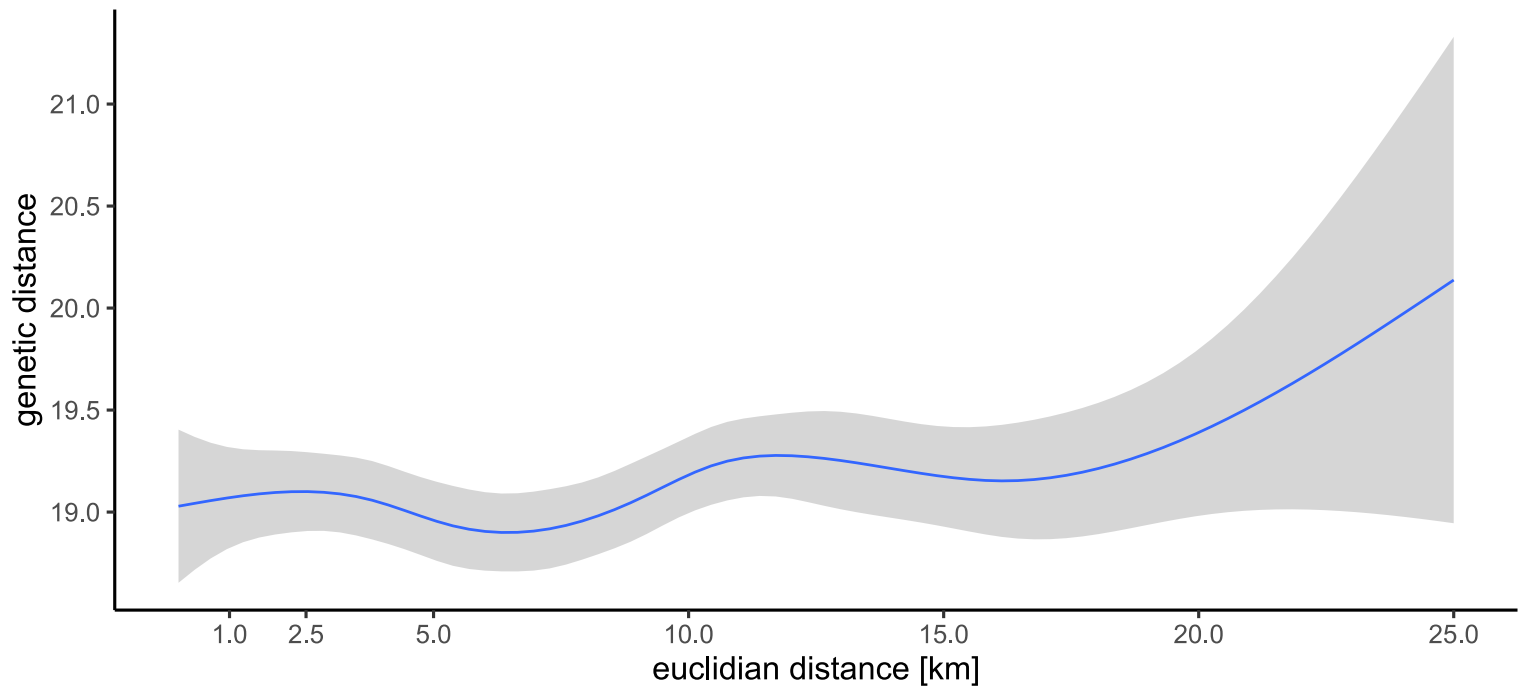
LCP dla jeleni i saren



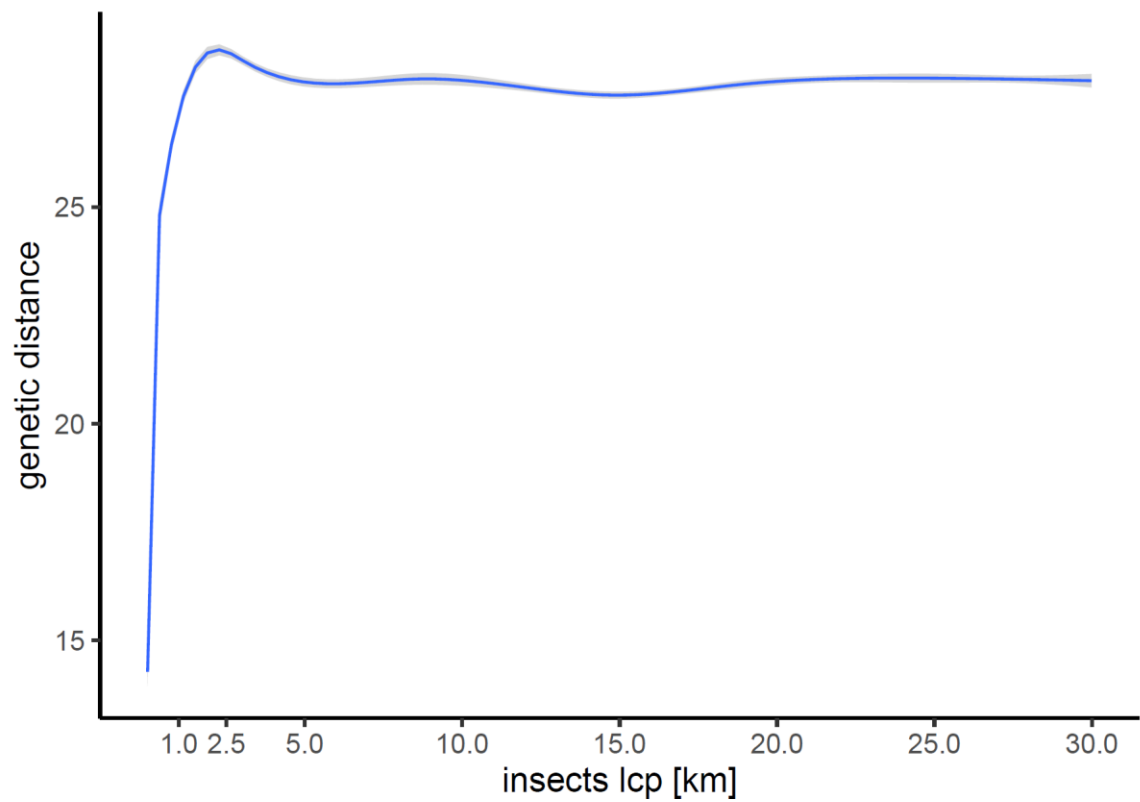
LCP dla owadów zapylających związanych z otwartą przestrzenią (czarne linie) oraz jeleni i saren (żółte linie).



Agrostis capilaris

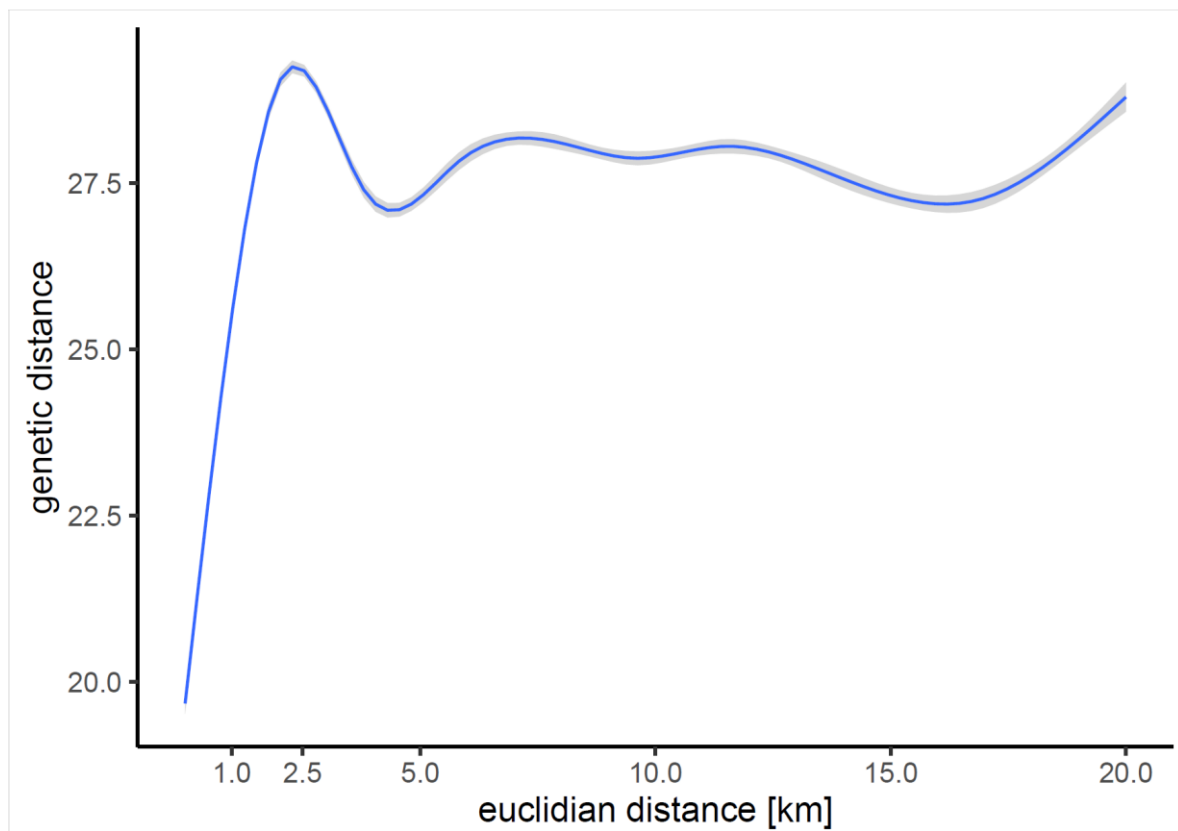


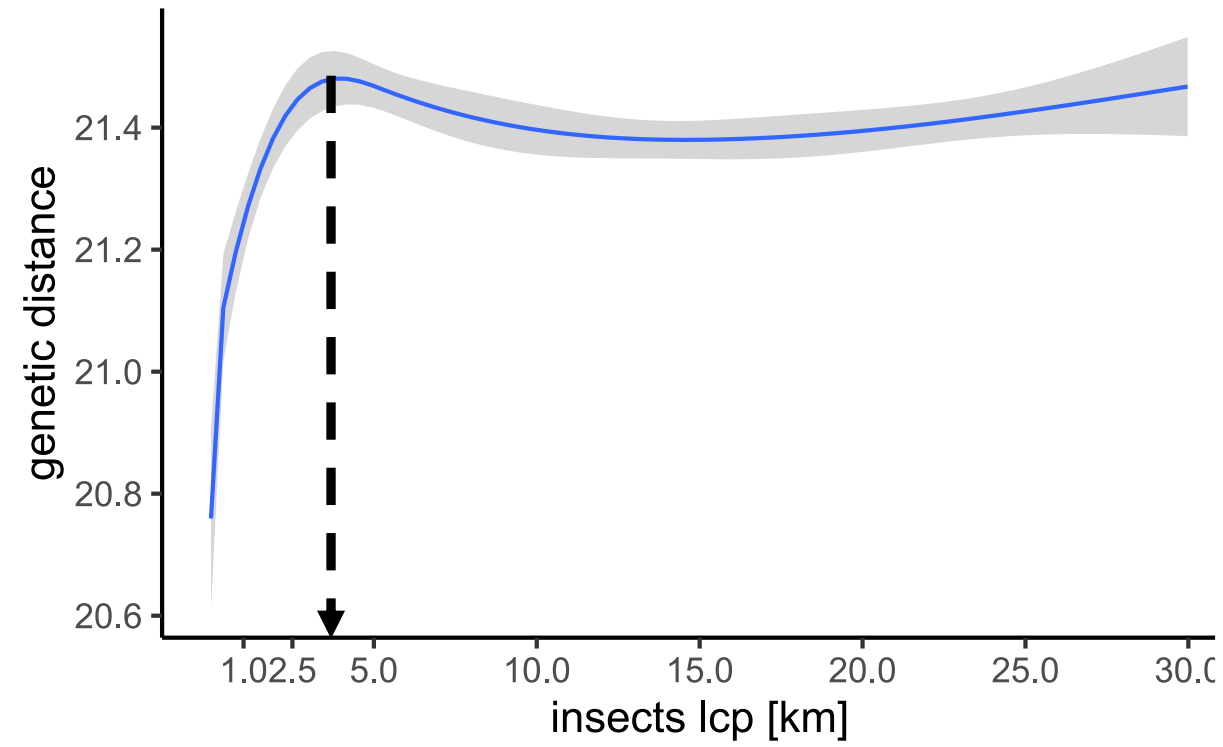
Iceland
Liechtenstein
Norway grants



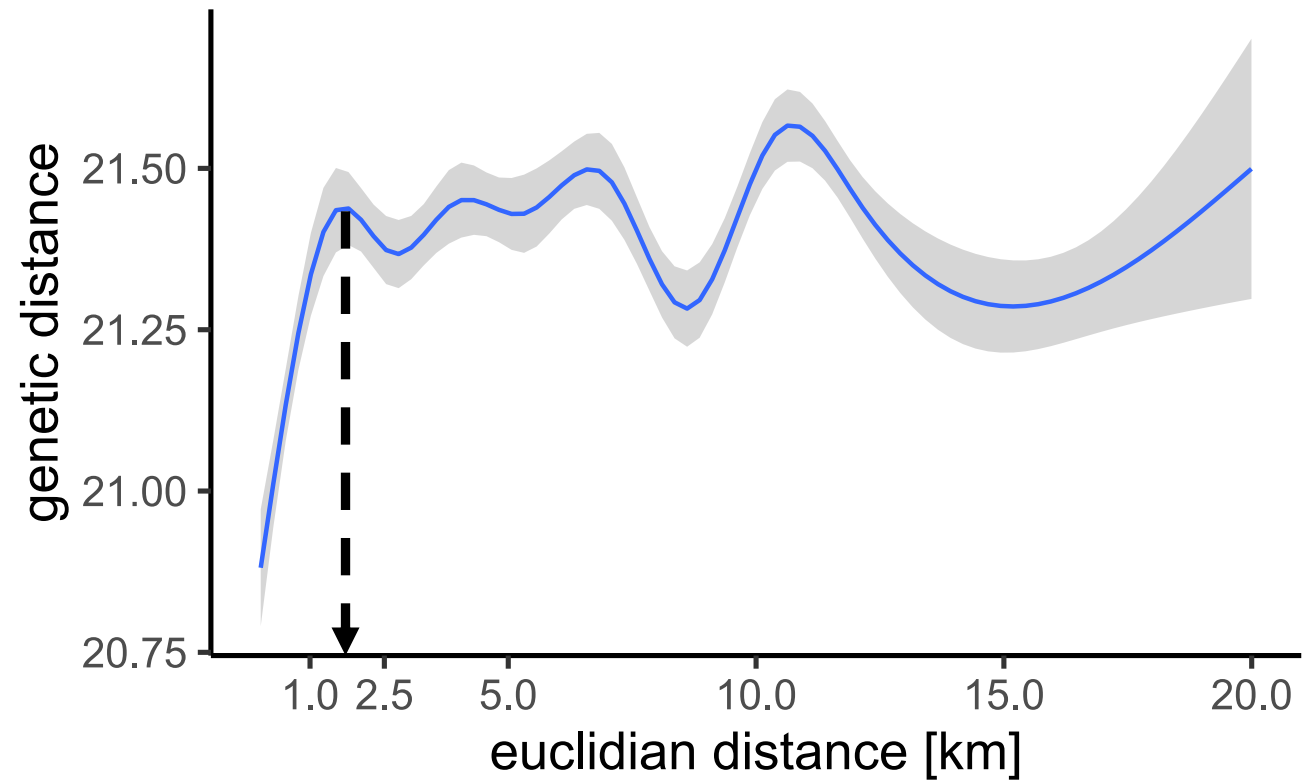
*Cirsium
helenioides*

Iceland
Liechtenstein
Norway grants

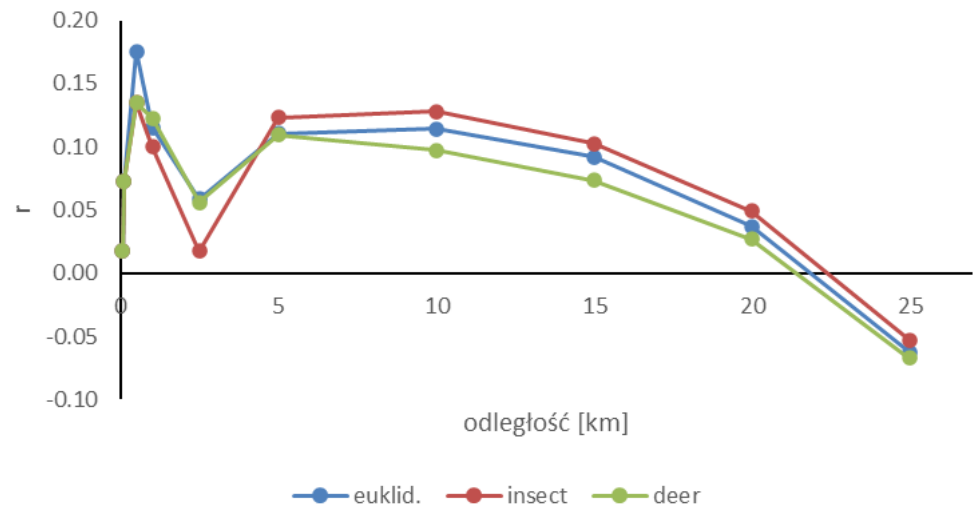




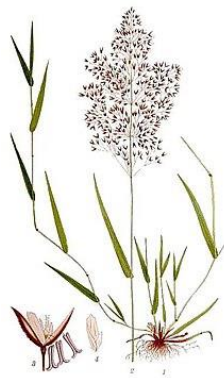
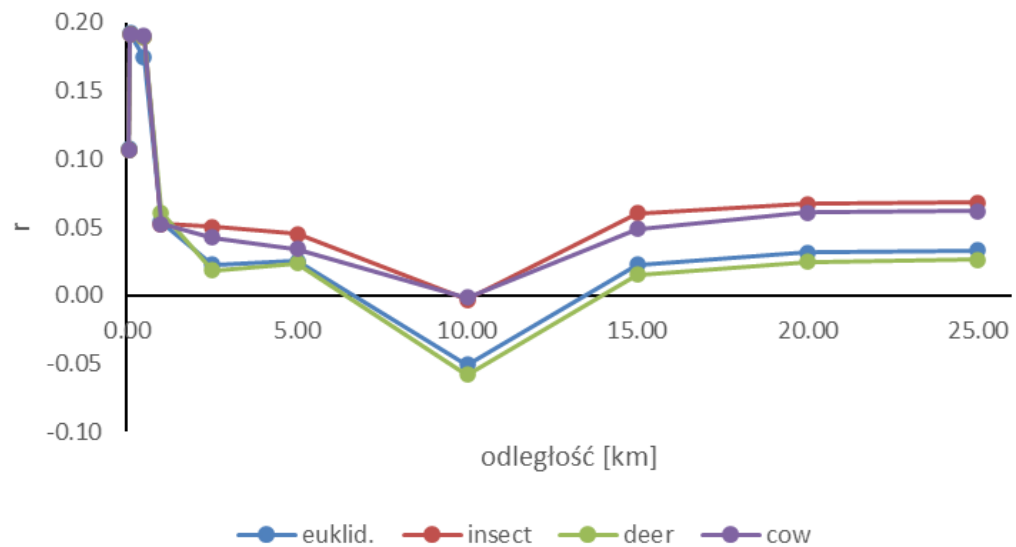
Hypericum maculatum



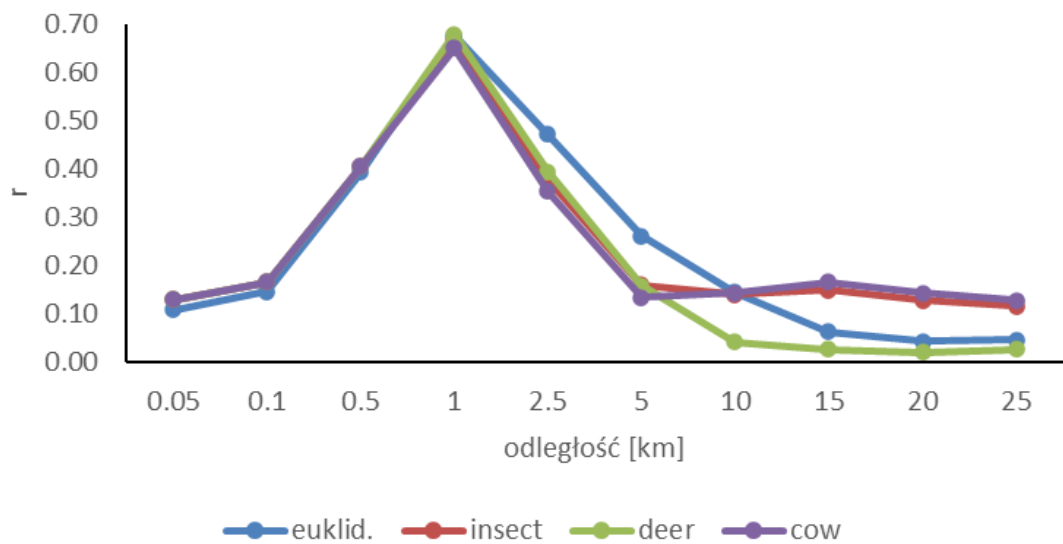
Achillea millefolium



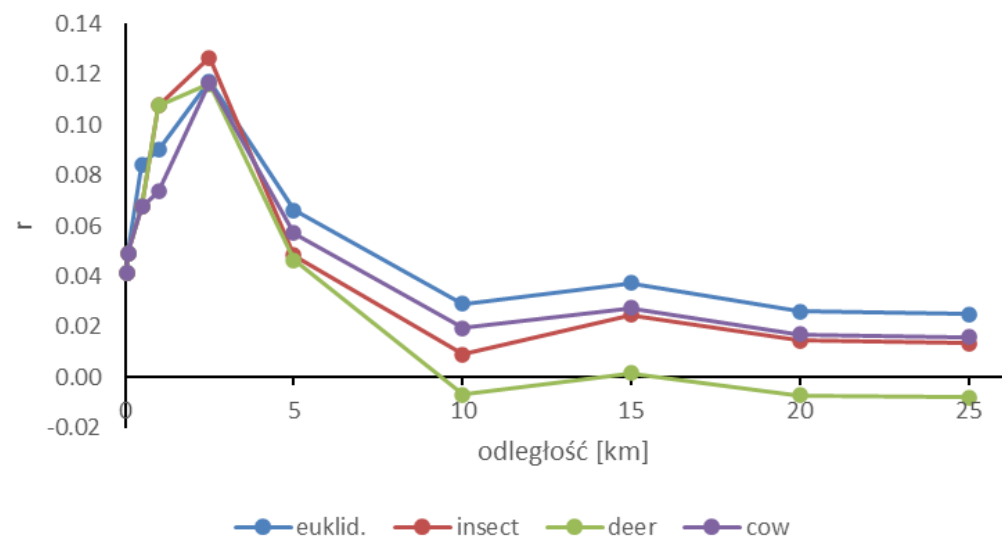
Agrostis capilaris



Cirsium helenioides



Hypericum maculatum



Wyniki są bardzo interesujące – to znaczy niełatwe w interpretacji 😊

dlaczego mała zmienność *Achillea* ?

dlaczego taka różnica pomiędzy *Achillea* i *Hypericum* w efekcie izolacji przez opór środowiska ?

oszacowanie efektu lag-time

Możliwe rozwiązania praktyczne:

- ochrona zmienności genetycznej jako podstawa wprowadzenia jakiejś formy ochrony obszarowej
- Pozyskanie materiału genetycznego z jakichś populacji (w praktyce przesadzanie roślin)
- Tworzenie populacji zachowawczych (analogicznie do d-stanów zachowawczych)
- Tworzenie ,archiwów genetycznych' (analogicznie jak do np. jodły)

Waloryzacja karkonoskich łąk została wykonana w ramach projektu realizowanego przez Karkonoski Park Narodowy pn: *Poprawa stanu łączności ekologicznej w Karkonoskim Parku Narodowym i jego otulinie*, dofinansowanego ze środków otrzymanych od Islandii, Liechtensteinu i Norwegii w ramach funduszy EOG