



Andrzej Lewandowski, Weronika B. Żukowska, Andrzej Purcel, Błażej Wójkiewicz

OCENA POZIOMU ZMIENNOŚCI GENETYCZNEJ TOPOLI CZARNEJ *POPULUS NIGRA* L. W WIELKOPOLSKIM PARKU NARODOWYM

Assessment of the genetic variation of black poplar *Populus nigra* L. in Wielkopolska National Park

ABSTRAKT: Na podstawie analizy genetycznej opartej na 14 jądrowych loci mikrosatelitarnego DNA określono poziom zmienności genetycznej topoli czarnej w Wielkopolskim Parku Narodowym. Mimo znacznej redukcji liczby osobników (znaleziono tylko 19 odrębnych genotypów), gatunek wciąż zachowuje wysoki poziom zmienności genetycznej, porównywalny do tego z innych obszarów naszego kraju. Aby ochronić pulę genową topoli czarnej, najlepszym rozwiązaniem będzie wegetatywne rozmnożenie wszystkich 19 odmiennych genetycznie osobników i zgromadzenie ich w archiwum klonów. Ponieważ liczebność populacji w WPN jest niewielka, niezbędne będzie, po odpowiednich analizach genetycznych, wzbogacenie obecnej puli genowej o dodatkowe osobniki, najlepiej z otoczenia Parku.

SŁOWA KLUCZOWE: topola czarna, zmienność genetyczna, pula genowa, mieszańce, archiwum klonów

ABSTRACT: The level of genetic variation of black poplar in Wielkopolska National Park was determined based on the genetic analysis of 14 nuclear microsatellite loci. Despite a significant reduction in the number of individuals (only 19 unique genotypes were found), the species still maintains a high level of genetic variation, comparable to that in other areas of our country. To protect the black poplar gene pool, the best solution will be the vegetative reproduction of all 19 genetically different individuals and collecting them in the clone archive. As the population size of WNP is small, it will be necessary, after appropriate genetic analyzes, to enrich the current gene pool with additional individuals, preferably from the vicinity of the Park.

KEYWORDS: black poplar, genetic variation, gene pool, hybrids, clone archive

Wstęp

Topola czarna *Populus nigra* L. osiąga w Polsce północną granicę zasięgu występowania. Jest jednym z głównych gatunków lasów łęgowych, które wyróżniają się dużą bioróżnorodnością (Bugala 1973). Lasy te, ze względu na swoją produktywność, już od pradziejów były wykorzystywane przez człowieka, co doprowadziło do znacznego zubożenia biologicznego tych terenów. Na przestrzeni

ostatnich dziesięcioleci zaobserwowano drastyczną redukcję zarówno liczby, jak i wielkości populacji topoli czarnej (Boratyński et al. 2001, Danielewicz 2008, Tylkowski 2010). Przyczyniły się do tego postępujące procesy urbanizacyjne, regulacja rzek, a także przekształcanie terenów zalewowych, koniecznych dla naturalnego odnawiania się topoli czarnej, w użytki rolne i leśne, obejmujące także plantacje topoli hybrydowych. W konsekwencji topola czarna jest obecnie gatun-

kiem zagrożonym wyginięciem w wielu krajach Europy (Koskela et al. 2004). Mimo tego zachowała wysoki poziom zmienności genetycznej, przy jednoczesnym istotnym zróżnicowaniu między populacjami rosnącymi w dolinach różnych rzek (Smulders et al. 2008). Nieco wyższy poziom zmienności genetycznej i większą efektywną wielkość populacji zachowały populacje topoli czarnej znad środkowej Wisły, a więc rejonu nadrzecznego stosunkowo najmniej przekształconego przez człowieka (Wójkiewicz et al. 2019, 2021).

W Polsce topola czarna nie podlega ochronie gatunkowej, jednak większość populacji występuje na siedliskach łągowych leżących w granicach obszarów Natura 2000. Nasze obserwacje terenowe wskazują, że niestety obecnie wiele drzew jest w wieku terminalnym, a odnowienia naturalne występują bardzo rzadko, zwłaszcza w rejonach silnie przekształconych, jakimi są doliny Odry i Warty, a także górna i dolna Wisła (Lewandowski i Litkowiec 2017, Wójkiewicz et al. 2019, 2021). Co więcej, pula genu topoli czarnej jest zagrożona dopływem obcych genów od mieszańcowych odmian topoli kanadyjskiej *P. × canadensis* Moench, które mogą krzyżować się z czystymi topolami czarnymi (Wójkiewicz et al. 2019). Ich masowa introdukcja na obszary dolin rzecznych w Polsce w połowie ubiegłego wieku doprowadziła do pojawienia się trudności w odróżnianiu czystych topól czarnych od ich hybrydowych odmian ze względu na duże podobieństwo morfologiczne (Bugala 1973). Topola czarna rozmnaża się także wegetatywnie, zwykle przez odrosty korzeniowe. Rzeczywiste zasoby genowe topoli czarnej są zatem zapewne niższe, niż te szacowane jedynie na podstawie określenia liczebności drzew, ze względu na występowanie potencjalnych osobników hybrydowych i klonów (Smulders et al. 2008). Do innych zagrożeń dla topoli można zaliczyć także uszkodzenia powodowane przez coraz liczniejsze populacje bobrów oraz porażenie gałęzi bakteryjnym rakiem topoli *Xanthomonas populi* (Ridé) Ridé et Ridé (Phillips i Burdekin 1992).

Teren badań

Wielkopolski Park Narodowy (WPN) został utworzony w 1957 roku. Położony jest ok. 15 km na południe od Poznania, zajmując obecnie powierzchnię 7597 ha, a razem z otuliną 15003 ha. Na obszarze WPN dominują ekosystemy leśne o łącznej powierzchni 4597 ha (Plan ochrony WPN 2013d). Lasy reprezentowane są przede wszystkim przez zespół grądu środkowoeuropejskiego, który w Parku najczęściej przyjmuje formy antropogeniczne, wykształcone ze zbiorowisk zastępczych z sosną. Są to wielogatunkowe lasy liściaste z udziałem grabu pospolitego, dębu szypułkowego, dębu bezszypułkowego, klonów (przede wszystkim jawora), lipy drobnolistnej oraz leszczyny pospolitej (Plan ochrony WPN 2013d). Na mniej żyznych glebach rozwinął się zespół środkowoeuropejskiej kwaśnej dąbrowy trzcinnikowej, w postaci lasów liściastych z przewagą dębu bezszypułkowego. Ubogie i suche siedliska zdominowane są przez sosnę zwyczajną, stanowiącą podstawowy składnik kontynentalnego boru mieszanego oraz suboceanicznego boru świeżego. Na najbardziej wilgotnych obszarach Parku rozwijają się m.in. łągi jesionowo-wiązowe *Ficario-Ulmetum minoris*, łągi jesionowo-olszowe *Fraxino-Alnetum*, czy też nadrzeczne łągi topolowe *Populetum albae*. Obecne są tam więc takie gatunki drzew jak: olsza czarna, jesion wyniosły, wiązy oraz topole (Plan ochrony WPN 2013a, 2013d).

Teren Wielkopolskiego Parku Narodowego jest objęty dodatkową ochroną w ramach obszarów Natura 2000 „Ostoja Wielkopolska” (PLH 300010) oraz „Ostoja Rogalińska” (PLB 300017). Przedmiotem ochrony Natura 2000 w Parku są między innymi „łągi wierzbowe, topolowe, olszowe i jesionowe – *Salicetum albo-fragilis*, *Populetum albae*, *Alnenion glutinoso-incanae*, olsy źródliskowe” (kod siedliska 91E0), stanowiące obecnie niewielkie płaty w dolinie Warty i Wirynki o łącznej powierzchni 61,90 ha (Plan ochrony WPN 2013b). Wśród zagrożeń dla tego siedliska wymienia się różne formy degeneracji (neofityzacja, fruticetyzacja), nieodpowiedni reżim hydrologiczny (m.in. brak wylewów) oraz

obecność niewystarczających ilości martwego drewna (Plan ochrony WPN 2013b). Poważnym zagrożeniem dla siedlisk łągowych oraz topoli czarnej jest liczna obecność gatunków inwazyjnych, takich jak np. klon jesionolistny (fot. 1), (Purcel 2009, Plan ochrony WPN 2013c). Klon jesionolistny posiada szereg cech i przystosowań, dzięki którym stanowi konkurencję dla topoli czarnej. Wyróżnia się szybkim wzrostem i bardzo dużą produkcją nasion. Jest odporny na suszę i mróz oraz odznacza się dużą plastycznością fenotypową, ułatwiającą dostosowanie się do zmiennych warunków siedliskowych. W dolinach rzecznych jego diaspory są roznoszone z nurtem wody. W porównaniu z innymi gatunkami drzew klon jesionolistny jest także stosunkowo odporny na zalewy i szybko zasiedla luki powstałe po powodzi (Chmura et al. 2018).

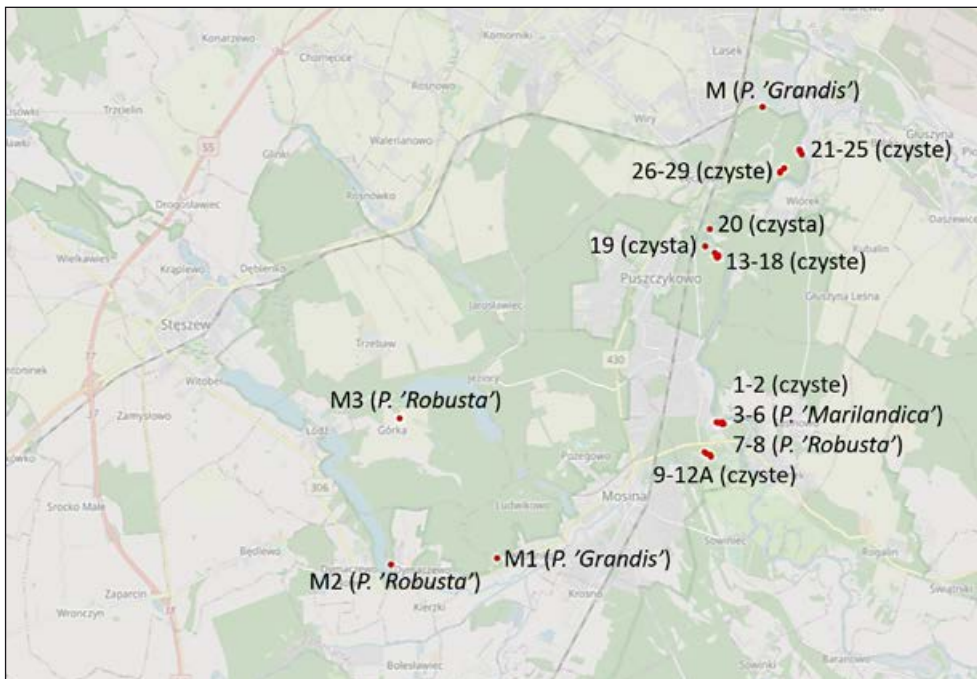
Na terenie najlepiej zachowanych fragmentów lasów łągowych, przylegających do Warty na odcinku ok. 7 km, pozostały już jedynie pojedyncze drzewa lub niewielkie

zgrupowania topoli czarnej. Topole, głównie osobniki mieszańcowe, były również sadzone w połowie ubiegłego wieku wzdłuż dróg znajdujących się obecnie na obszarze WPN.

Celem niniejszej pracy była inwentaryzacja topoli czarnej na terenie WPN oraz oszacowanie poziomu jej zmienności genetycznej przy wykorzystaniu markerów molekularnych. Określono także stopień klonalności populacji oraz potwierdzono czystość gatunkową osobników wybranych do rozmnażania wegetatywnego.

Materiał i metody

Wiosną 2021 roku przeprowadzono prace inwentaryzacyjne. Lokalizację poszczególnych drzew określono za pomocą urządzenia GPS z dokładnością do 1-5 m. Większość przypuszczalnie czystych gatunkowo osobników topoli czarnej, zidentyfikowanych na podstawie cech morfologicznych, zlokalizowano wzdłuż Warty (ryc. 1, fot. 1-2). Latem



Ryc. 1. Lokalizacja badanych drzew. Numery osobników odpowiadają numerom w tabeli 1.

Fig. 1. Location of the studied trees. Numbers of individuals correspond to those in table 1.



Fot. 1. Topole czarne (drzewa nr 11 i 12) górujące nad zwartymi zaroślami klonu jesionolistnego w Uroczysku Niwka, oddz. 26 (fot. A. Purcel, październik 2021).

Photo 1. Black poplars (trees no. 11 and 12) towering over the dense thickets of ash-leaved maple in Uroczysko Niwka, div. 26 (photo by A. Purcel, October 2021).

zebrano z nich liście do analiz genetycznych. Liście zebrano także z kilku osobników będących potencjalnie osobnikami mieszańcowymi, posadzonymi wzdłuż dróg (grupy: M-M3; ryc. 1, fot. 3-4) w celu potwierdzenia ich mieszańcowości.

Całkowite DNA wyizolowano z zamrożonych liści przy zastosowaniu standardowego protokołu CTAB (Dumolin et al. 1995). Wyekstrahowane DNA użyto jako matrycę do amplifikacji 14 jądrowych loci mikrosatelitarnych: WPMS01, WPMS04, WPMS05, WPMS06, WPMS07, WPMS08, WPMS09, WPMS10, WPMS12, WPMS15, WPMS16, WPMS17, WPMS18 i WPMS20 (van der Schoot et al. 2000, Smulders et al. 2001). Primer F w każdej parze starterów był wyznakowany odpowiednim barwnikiem fluorescencyjnym. Stężenie starterów zostało zoptymalizowane tak, aby emitowały one równomierne sygnały fluorescencyjne. Reakcje multiplex PCR przeprowadzono zgodnie

z procedurą opisaną w pracy Wójkiewicz et al. (2019). Znakowane fluorescencyjnie produkty PCR, wraz z wewnętrznym wzorcem wielkości GeneScan™ 500 LIZ™ (Thermo Fisher Scientific, USA), rozdzielono w sekwencjonatorze kapilarnym Applied Biosystems® 3130xl (Thermo Fisher Scientific). Wielkości alleli (długość fragmentów) określono przy użyciu oprogramowania GeneMapper™ 4.0 (Thermo Fisher Scientific). Elektroferogramy sprawdzono również manualnie. Surowe dane zaokrąglono przy użyciu oprogramowania Tandem (Matschiner i Salzburger 2009). Wszystkie zaokrąglenia zostały również sprawdzone manualnie. Genotypy poszczególnych drzew oraz stopień klonalności ustalono zgodnie z metodyką opisaną przez Wójkiewicz et al. (2019). Czystość gatunkowa osobników topoli czarnej określona została z wykorzystaniem trzech typów markerów genetycznych: gatunkowo specyficznego jądrowego markera WIN3, PCR-RFLP



Fot. 2. Topola czarna (drzewo nr 18), obwód ochronny Puszczykowo, oddz. 12g (fot. A. Purcel, wrzesień 2020).

Photo 2. Black poplar (tree no. 18), Puszczykowo protection district, div. 12g (photo by A. Purcel, September 2020).

rejonu trnF–trnFM chloroplastowego DNA trawionego enzymem *RsaI* oraz trzech specyficznych gatunkowo loci mikrosatelitarnych: WPMS01, WPMS12 i WPMS18 (Wójkiewicz et al. 2019).

Po odrzuceniu osobników mieszańcowych i klonalnych, obliczono podstawowe parametry genetyczne opisujące poziom zmienności genetycznej topoli czarnej, takie jak: średnią (N_A) i efektywną liczbę alleli (N_E), heterozygotyczność obserwowaną (H_o) i oczekiwaną (H_e) oraz współczynnik wsobności (F), przy wykorzystaniu programów: FSTAT 2.9.3 (Goudet 2001) oraz GenAlEx 6.5 (Peakall i Smouse 2006). Efektywną wielkość populacji (N_e) oszacowano przy pomocy metody “sibship assignment” (Wang 2009) w programie COLONY 2.0.6.6 (Jones i Wang



Fot. 3. Topola kanadyjska *P. 'Robusta'* z grupy drzew M2, obwód ochronny Górka, oddz. 155i (fot. A. Purcel, styczeń 2022).

Photo 3. Canadian poplar *P. 'Robusta'* from the M2 tree group, Górka protection district, div. 155i (photo by A. Purcel, January 2022).

2010). Parametry ustawiono dla gatunku poligamicznego, dwupiennego, z klonalnością i chowem wsobnym. Wybrano analizę pełnego prawdopodobieństwa (“full-likelihood”), bez początkowego pokrewieństwa, z wysoką precyzją i długim przebiegiem. Błąd genotypowania ustawiono na 1% dla każdego locus, natomiast pozostałe parametry miały wartość domyślną. Aby sprawdzić, czy liczebność populacji topoli czarnej w WPN została ograniczona w wyniku efektu wąskiego gardła, zastosowaliśmy metodę Garzy i Williamsona (2001), obliczając wskaźnik M-Ratio w programie INEst 2.2. (Chybicki i Burczyk 2008). Wybrano dwufazowy model mutacji i parametry rekomendowane przez Peeryego et al. (2012). Symulacja populacji stabilnej demograficznej (M-Ratio^{est}) została obliczona jako



Fot. 4. Topola kanadyjska *P. 'Robusta'* z grupy drzew M3, obwód ochronny Górka, oddz. 125Ab (fot. A. Purcel, styczeń 2022).

Photo 4. Canadian poplar *P. 'Robusta'* from the M3 tree group, Górka protection district, div. 155Ab (photo by A. Purcel, January 2022).

średnia z 10^5 powtórzeń koalescencyjnych. O efekcie wąskiego gardła świadczy niższa wartość M-Ratio od $M\text{-Ratio}^{eq}$, której istotność sprawdziliśmy przy pomocy testu znakowanych rang Wilcoxon (markery traktowane jako niezależne powtórzenia; 10^6 permutacji).

Wyniki i dyskusja

W wyniku prac inwentaryzacyjnych zidentyfikowano 42 potencjalnie czyste gatunkowo topole czarne (fot. 1-2) wraz z kilkoma drzewami będącymi przypuszczalnie osobnikami mieszańcowymi, które rosły w większych skupiskach (M-M3), głównie jako pozostałości zadrzewień przydrożnych i śródpolnych (ryc. 1). Analiza czystości gatunkowej wykazała, że 14 osobników było mieszańcami. Są to odmiany topoli kanadyjskiej *P. × canadensis* Moench: '*Marilandi-*

ca', '*Robusta*' i '*Grandis*'. Wśród nich były wszystkie drzewa, które rosły wzdłuż dróg (grupy M-M3; fot. 3-4). Potwierdziliśmy zatem nasze przypuszczenia o ich mieszańcowości. Sześć drzew mieszańcowych zidentyfikowano jednak także w grupie potencjalnie czystych topól czarnych rosnących nad Wartą (drzewa nr 3-6 *P. 'Marilandica'*; fot. 5 i nr 7-8 *P. 'Robusta'*). Pozostało zatem 28 osobników czystej gatunkowo topoli czarnej, jednak spośród nich 9 genotypów było powtórzonych (były klonami; fot. 6). Ostatecznie zidentyfikowaliśmy więc jedynie 19 drzew czystej topoli czarnej, które miały różne genotypy. W tabeli 1 przedstawiono ich obwoły oraz płeć, określoną na podstawie obserwacji kwiatostanów.

Analiza zmienności markerów mikrosatelitarnych wykazała, że topola czarna w WPN wciąż posiada wysoką zmienność genetyczną (tab. 2). Poziom heterozygotyczności obserwowanej był wysoki i niemal identyczny z



Fot. 5. Topole kanadyjskie *P. `Marilandica`* (drzewa nr 3-6, po prawej) oraz topola czarna (po lewej) w Uroczysku Niwka, oddz. 26 (fot. A. Purcel, październik 2021).

Photo 5. Canadian poplars *P. `Marilandica`* (trees no. 3-6, on the right) and black poplar (on the left) in Uroczysko Niwka, div. 26 (photo by A. Purcel, October 2021).



Fot. 6. Klony topoli czarnej (drzewa nr 1-2) w Uroczysku Niwka, oddz. 23 (fot. A. Purcel, wrzesień 2020).

Photo 6. Black poplar clones (trees no. 1-2) in Uroczysko Niwka, div. 23 (photo by A. Purcel, September 2020).

Tab. 1. Obwody oraz płeć 19 czystych gatunkowo drzew topoli czarnej wybranych do rozmnażania wegetatywnego. Ż – osobnik żeński; M – osobnik męski; „-” – brak kwiatostanów.

Tab. 1. Circumference and sex of 19 species-pure black poplar trees selected for vegetative reproduction. Ż – female individual; M – male individual; „-” – no inflorescences.

Nr drzewa	Obwód [cm]	Płeć
2	399	Ż
9	297	M
10	273	Ż
11	498	Ż
12	250	M
13	200	-
14	281	M
15	334	M
17	252	M
18	403	Ż
19	226	M
20	280	Ż
21	233	M
22	282	Ż
23	285	Ż
24	312	M
26	281	M
28	171	Ż
29	261	-

poziomem heterozygotyczności oczekiwanej ($H_O = 0,702$ vs. $H_E = 0,698$). Średnia liczba alleli na locus wyniosła $N_A = 6,93$, natomiast efektywna liczba alleli była niższa ($N_E = 3,77$) ze względu na fakt, iż wiele alleli miało niską częstość. Badana populacja charakteryzowała się także niskim współczynnikiem wsobności ($F = 0,02$). Poziom zmienności genetycznej topoli czarnej w WPN nie odbiega od zmienności gatunku w innych częściach Polski (Lewandowski i Litkowiec 2017, Wójkiewicz

et al. 2019, 2021). W związku z powyższym wydaje się, że drzewa topoli czarnej w WPN stanowią najprawdopodobniej pozostałość znacznie większej populacji, której liczebność została w przeszłości ograniczona w efekcie wąskiego gardła. Potwierdzeniem tego jest istotnie niższa wartość wskaźnika M-Ratio = 0,609 od $M\text{-Ratio}^{ca} = 0,741$ ($p = 0,015$).

Obawy budzi niska efektywna wielkość populacji topoli czarnej w WPN, która wynosi $N_e = 53$. Jest to wartość zbliżona do średniej odnotowanej dla gatunku w dolinie Odry ($N_e = 43$; Wójkiewicz et al. 2021), natomiast

Tab. 2. Zmienność genetyczna topoli czarnej w WPN w oparciu o analizę 14 loci mikrosatelitarnych. N_A – liczba alleli; N_E – efektywna liczba alleli; H_O – heterozygotyczność obserwowana; H_E – heterozygotyczność oczekiwana; F – wsobność.

Tab. 2. Genetic variation of black poplar from WPN based on the analysis of 14 microsatellite loci. N_A – number of alleles; N_E – effective number of alleles; H_O – observed heterozygosity; H_E – expected heterozygosity; F – inbreeding.

Locus	N_A	N_E	H_O	H_E	F
WPMS01	12	5,12	0,74	0,80	0,11
WPMS04	10	4,48	0,79	0,78	0,01
WPMS05	7	3,10	0,68	0,68	0,02
WPMS06	11	5,78	0,74	0,83	0,14
WPMS07	10	5,01	0,79	0,80	0,04
WPMS08	7	3,68	0,61	0,73	0,19
WPMS09	8	5,55	0,84	0,82	0,00
WPMS10	6	3,86	0,63	0,74	0,17
WPMS12	3	2,03	0,63	0,51	-0,22
WPMS15	3	2,03	0,53	0,51	-0,01
WPMS16	5	2,59	0,74	0,61	-0,18
WPMS17	3	2,21	0,47	0,55	0,16
WPMS18	6	2,76	0,68	0,64	-0,05
WPMS20	6	4,54	0,95	0,78	-0,19
ŚREDNIA	6,93	3,77	0,702	0,698	0,02

znacznie niższa niż dla populacji topoli czarnej w dolinie środkowej Wisły, gdzie średnia $N_e = 203$ (Wójkiewicz et al. 2019). Według zasady 50/500 zaproponowanej przez Franklina (1980), która obecnie stanowi kluczowy wskaźnik w genetyce konserwatorskiej, populacje o $N_e < 50$ są zagrożone wyginięciem w związku z obniżeniem ich dostosowania w wyniku kojarzenia krewniaczego. W konsekwencji prowadzi to do dalszego spadku zmienności genetycznej takich populacji, ich przeżywalności i sukcesu reprodukcyjnego. Dla zabezpieczenia długoterminowego przetrwania populacji ustalono wartość $N_e = 500$. Takie populacje mogą zachować równowagę między dryfem genetycznym a mutacjami, utrzymując w ten sposób swój potencjał ewolucyjny i możliwość dostosowania do zmieniających się warunków środowiska. Topola czarna z WPN jest zatem na granicy stabilności genetycznej. Co więcej stare drzewa stopniowo zamierają, inne są dodatkowo uszkodzane przez bobry. Pojedyncze drzewa lub ich małe grupy rozrzucone są losowo po całym przylegającym do Warty terenie, co nie gwarantuje możliwości swobodnego przepływu genów pomiędzy nimi. Zresztą, w zasadzie, nie ma możliwości naturalnego odnawiania się gatunku z powodu braku odpowiedniego środowiska dla kiełkowania nasion, czyli wolnych od roślinności łąch piaszkowych, naniesionych przez wody powodziowe. Pod tym względem sytuacja uległa drastycznemu pogorszeniu po oddaniu do użytku w roku 1986 zbiornika retencyjnego w Jeziorsku, zbudowanego w celu regulacji przepływów rzeki i nawadniania użytków rolnych, który do minimum ograniczył wiosenne powodzie.

W związku z powyższym, w celu zachowania puli genowej topoli z WPN, najlep-

szym rozwiązaniem będzie rozmnożenie wegetatywne wszystkich 19 odmiennych genetycznie osobników i zgromadzenie ich w archiwum klonów. Ponieważ liczebność populacji w WPN jest niewielka, niezbędne będzie uzupełnienie obecnej puli genowej o dodatkowe osobniki, najlepiej z otoczenia Parku, tak aby ostateczna liczba wyniosła co najmniej 50 drzew, ze stosunkiem płci w przybliżeniu 1:1. Nasze obserwacje terenowe wskazują, że na obszarach nadwarciańskich położonych w otulinie oraz na południe od WPN znajdują się rozproszone stanowiska topoli czarnej, które potencjalnie mogą zasilić grupę osobników z WPN. Jednak wymaga to odpowiednich analiz genetycznych.

Przeprowadzone przez nas działania są kluczowe w aspekcie tworzenia programów ochrony i reintrodukcji topoli czarnej w Polsce oraz mają istotne znaczenie praktyczne. Zidentyfikowane czyste gatunkowo osobniki mogą posłużyć jako źródło nasion oraz materiał do rozmnażania wegetatywnego, który będzie dostępny nie tylko dla Parku, ale i sąsiadujących z Parkiem Nadleśnictw Babki i Konstantynowo, wstępnie zainteresowanych pracami związanymi z reintrodukcją gatunku oraz renaturyzacją obszarów nadwarciańskich.

Podziękowania

Praca została sfinansowana ze środków Funduszu Leśnego w ramach projektu „Ochrona topoli czarnej (*Populus nigra* L.) w Wielkopolskim Parku Narodowym. Etap I – wybór genotypów topoli czarnej na cele restytucji gatunku” oraz z działalności statutowej Instytutu Dendrologii PAN.

LITERATURA

- BORATYŃSKI A., BARTCZAK A., PRZYBYLIŃSKA J., FIGAJ J. 2001. Skuteczność ochrony starych drzew topoli czarnej i białej na przykładzie rezerwatu Wielka Kępa Ostromecka. *Przegl. Przyr.* 12, 3-4: 141-147.
- BUGAŁA W. 1973. Systematyka i zmienność. In: BIAŁOBOK S. (Ed.). *Topole (Populus L.)*. Wyd. PWN, Warszawa-Poznań: 9-136.

- CHMURA D., CHMIEL J., DANIELEWICZ W. 2018. *Acer negundo* L. - Karta informacyjna gatunku. Generalna Dyrekcja Ochrony Środowiska. Dostęp: 24.04.2022. [www.projekty.gdos.gov.pl/igo].
- CHYBICKI I.J., BURCZYK J. 2008. Simultaneous estimation of null alleles and inbreeding coefficients. *J. Hered.* 100: 106-113.
- DANIELEWICZ W. 2008. Ekologiczne uwarunkowania zasięgów drzew i krzewów na aluwialnych obszarach doliny Odry. Wyd. UP, Poznań.
- DUMOLIN S., DEMESURE B., PETIT R.J. 1995. Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theor. Appl. Genet.* 91: 1253-1256.
- FRANKLIN I.R. 1980. Evolutionary change in small populations. In: SOULE M.E., WILCOX B.A. (Eds.). *Conservation Biology: An Evolutionary-Ecological Perspective*. Sinauer, Sunderland, MA: 135-149.
- GARZA J.C., WILLIAMSON E.G. 2001. Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Mol. Ecol.* 10: 305-318.
- GOUDET J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Version 2.9.3.
- JONES O.R., WANG J. 2010. COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Mol. Ecol. Resour.* 10: 551-555.
- KOSKELA J., DE VRIES S.G.M., KAJBA D., VON WÜHLISCH G. 2004. *Populus nigra* Network, report of the seventh (25-27 October 2001, Osijek, Croatia) and eighth meetings (22-24 May 2003, Trepeln, Germany). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- LEWANDOWSKI A., LITKOWIEC M. 2017. Genetic structure of the old black poplar population along the bank of the Vistula River in Poland. *Acta Soc. Bot. Pol.* 86, 1: 3524.
- MATSCHEINER M., SALZBURGER W. 2009. TANDEM: integrating automated allele binning into genetics and genomics workflows. *Bioinformatics* 25: 1982-1983.
- PEAKALL R., SMOUSE P.E. 2006. GenAIEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes.* 6: 288-295.
- PEERY M.Z., KIRBY R., REID B.N., STOELTING R., DOUCET-BÉER E., ROBINSON S., VÁSQUEZ-CARRILLO C., PAULI J.N., PALSBOÛLL P.J. 2012. Reliability of genetic bottleneck tests for detecting recent population declines. *Mol. Ecol.* 21: 3403-3418.
- PHILLIPS D.H., BURDEKIN D.A. 1992. *Diseases of forest and ornamental trees*. The Macmillan Press Ltd, London and Basingstoke, England.
- Plan ochrony Wielkopolskiego Parku Narodowego. 2013a. Operat ekosystemy leśne, część I – część ogólna (projekt). Oprac. Misiorny R., BULiGL Oddział w Poznaniu, Poznań: 1-190.
- Plan ochrony Wielkopolskiego Parku Narodowego. 2013b. Operat siedliska i gatunki obszarów Natura 2000 (projekt). Koordynator operatu Chudzicki M., BULiGL Oddział w Poznaniu, Poznań: 1-242.
- Plan ochrony Wielkopolskiego Parku Narodowego. 2013c. Operat ochrona gatunkowa roślin i zwierząt, część I – flora (projekt). Oprac. Adamski T., BULiGL Oddział w Poznaniu, Poznań: 1-120.
- Plan ochrony Wielkopolskiego Parku Narodowego. 2013d. Operat ekosystemy leśne, część II – opracowanie fitosocjologiczne (projekt). Oprac. Chudzicki M., BULiGL Oddział w Poznaniu, Poznań: 1-166.
- PURCEL A. 2009. Obce gatunki drzew i krzewów w Wielkopolskim Parku Narodowym – ich występowanie i rola w biocenozach Parku. *Morena* 14: 35-191.
- van der SCHOOT J., POSPIŠKOVA M., VOSMAN B., SMULDERS M.J.M. 2000. Development and characterization of microsatellite markers in black poplar (*Populus nigra* L.). *Theor. Appl. Genet.* 101: 317.
- SMULDERS M.J.M., COTTRELL J.E., LEFÈVRE F., VAN DER SCHOOT J., ARENS P., VOSMAN B., TABBENER H.E., GRASSI E., FOSSATI T., CASTIGLIONE S., KRYSUFEK V., FLUCH S., BURG K., VORNAM B., POHL A., GEBHARDT K., ALBA N., AGÜNDEZ D., MAESTRO C., NOTIVOL E., VOLOSANCHUK R., POSPIŠKOVÁ M., BORDÁCS S., BOVENSCHEN J., VAN DAM B.C., KOELEWIJN H.P., HALFMAERTEN D., IVENS B., VAN SLYCKEN J., VANDEN BROECK A., STORME V., BOERJAN W. 2008. Structure of the genetic diversity in black poplar (*Populus nigra* L.) populations across European river systems: consequences for conservation and restoration. *For. Ecol. Manag.* 255: 1388-1399.
- SMULDERS M.J.M., VAN DER SCHOOT J., ARENS P., VOSMAN B. 2001. Trinucleotide repeat microsatellite markers for black poplar (*Populus nigra* L.). *Mol. Ecol. Notes* 1: 188-190.
- TYLKOWSKI T. 2010. Transformation of dendroflora composition in the middle valley of the Warta River. *Acta Sci. Pol.* 9: 117-124.

- WANG J. 2009. A new method for estimating effective population sizes from a single sample of multilocus genotypes. *Mol. Ecol.* 18: 2148-2164.
- WÓJKIEWICZ B., LEWANDOWSKI A., ŻUKOWSKA W.B., LITKOWIEC M., WACHOWIAK W. 2021. Low effective population size and high spatial genetic structure of black poplar populations from the Oder valley in Poland. *Ann. For. Sci.* 78: 37.
- WÓJKIEWICZ B., ŻUKOWSKA W.B., LITKOWIEC M., WACHOWIAK W., LEWANDOWSKI A. 2019. The genetic assessment of the natural regeneration capacities of black poplar populations in the modern river valley landscapes. *For. Ecol. Manag.* 448: 150-159.

Summary

The article describes the results of research aimed at determining the abundance, species purity and genetic variation of black poplar in Wielkopolska National Park. As a result of inventory works in the Park, in spring 2021, potentially pure black poplar specimens were identified, most of which grew along the Warta River, as well as a few trees that were presumably hybrids planted along the roads in WNP. We determined the sex of the trees by observing inflorescences. Molecular markers were used to check the species purity. We calculated the parameters of genetic variation based on the analysis of microsatellite markers. Of the 42 individuals examined, 14 were hybrids, identified as the Canadian poplar cultivars *P. 'Marilandica'*, *P. 'Robusta'* and *P. 'Grandis'*. Clonality analysis showed that nine trees were clones. Ultimately, only 19 unique pure black poplar genotypes remained. The analyzes showed that they are most likely the remains of a much larger population, the size of which has been limited as a result of a bottleneck effect. Despite this, the population of black poplar in WNP is still characterized by high genetic variation and low inbreeding. The values of the calculated parameters were comparable to the results obtained for black poplar populations from other regions of Poland. It is alarming, however, that the black poplar population in WNP has a low effective size ($N_e = 53$). This value is insufficient to maintain long-term genetic stability. Additionally, the gene flow among individuals is hampered due to the distance separating them. Therefore, all 19 trees should be vegetatively propagated and collected in the clone archive. However, it will be necessary to enrich the gene pool with additional individuals, preferably from the vicinity of the Park. After vegetative propagation, these trees can be used in activities related to the reintroduction of the species and restoration of river valleys.

Adresy autorów:

Andrzej Lewandowski, Weronika B. Żukowska, Błażej Wójkiewicz
Instytut Dendrologii PAN
ul. Parkowa 5, 62-035 Kórnik
e-mail: alew@man.poznan.pl, wzukowska@man.poznan.pl, bwojkiew@man.poznan.pl

Andrzej Purcel
Wielkopolski Park Narodowy
Jeziory 62-050 Mosina
e-mail: a.purcel@wielkopolskipn.pl