

Porównanie struktury genetycznej naturalnych i introdukowanych populacji *Carlina onopordifolia* (Asteraceae) w Polsce

ELŻBIETA CIEŚLAK i MAGDALENA SZCZEPANIAK

CIEŚLAK, E. AND SZCZEPANIAK, M. 2012. Comparison of the genetic structure of natural and introduced populations of *Carlina onopordifolia* (Asteraceae) in Poland. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica* 19(2): 459–474. PL ISSN 1640-629X.

ABSTRACT: Genetic diversity and population genetic structure of *Carlina onopordifolia* Szafer ex Besser, one of the rarest species of the Polish flora, were studied using AFLPs. All natural and introduced populations (altogether 13) occurring in Poland were analyzed. The obtained results show that all populations are characterized by a very even (and generally low) level of genetic diversity. There was no evidence of any genetic difference between natural and introduced populations. On the other hand, significant genetic differentiation between populations group from the Wyżyna Małopolska upland and populations group from (together) the Wyżyna Lubelska upland, the Polesie Wołyńskie lowland and the Wyżyna Zachodniowołyńska upland was revealed.

KEY WORDS: *Carlina onopordifolia*, endangered species, natural and introduced populations, conservation, genetic diversity, genetic structure, AFLP, Poland

E. Cieślak, Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, ul. Lubicz 46, 31-512 Kraków, Polska; e-mail: e.cieslak@botany.pl

M. Szczepaniak, Instytut Botaniki im. W. Szafera Polska Akademia Nauk, ul. Lubicz 46, 31-512 Kraków, Polska; e-mail: m.szczepaniak@botany.pl

WSTĘP

Carlina onopordifolia Szafer ex Besser (dziewięcisz popłocholistny) (przez MEUSELA i KÄSTNERA (1994) włączony do *Carlina acanthifolia* L. subsp. *utzka* (Hacq.) Meusel & Kästner) należy do grupy najrzadszych gatunków w Polsce. W przyjętym w pracy ujęciu (MIREK i in. 2002; CIEŚLAK & PAUL 2011) jest gatunkiem endemicznym dla Europy Środkowo-Wschodniej i subendemitem Polski. We florze Polski należy do podelementu pontyjskiego (PAWŁOWSKA 1972). Charakteryzuje go niewielki, mocno porozrywany zasięg, rozciągający się od Wyżyny Małopolskiej (Polska) po południowo-wschodnie Podole (Ukraina, Mołdawia) (SZAFER 1923a; ZAVERUHA 1981). Rośnie zwykle na rędzinach węglanowych, wytworzonych z wapieni, w ciepłych i suchych murawach kserotermicznych ze związku *Cirsio-Brachypodium pinnati*, na stokach i zboczach o ekspozycji południowo-zachodniej i południowej. Jest gatunkiem charakterystycznym dla zespołu *Inuletum ensifoliae* (MATUSZKIEWICZ 2005). Na stanowiskach naturalnych w Polsce *C. onopordifolia* występuje

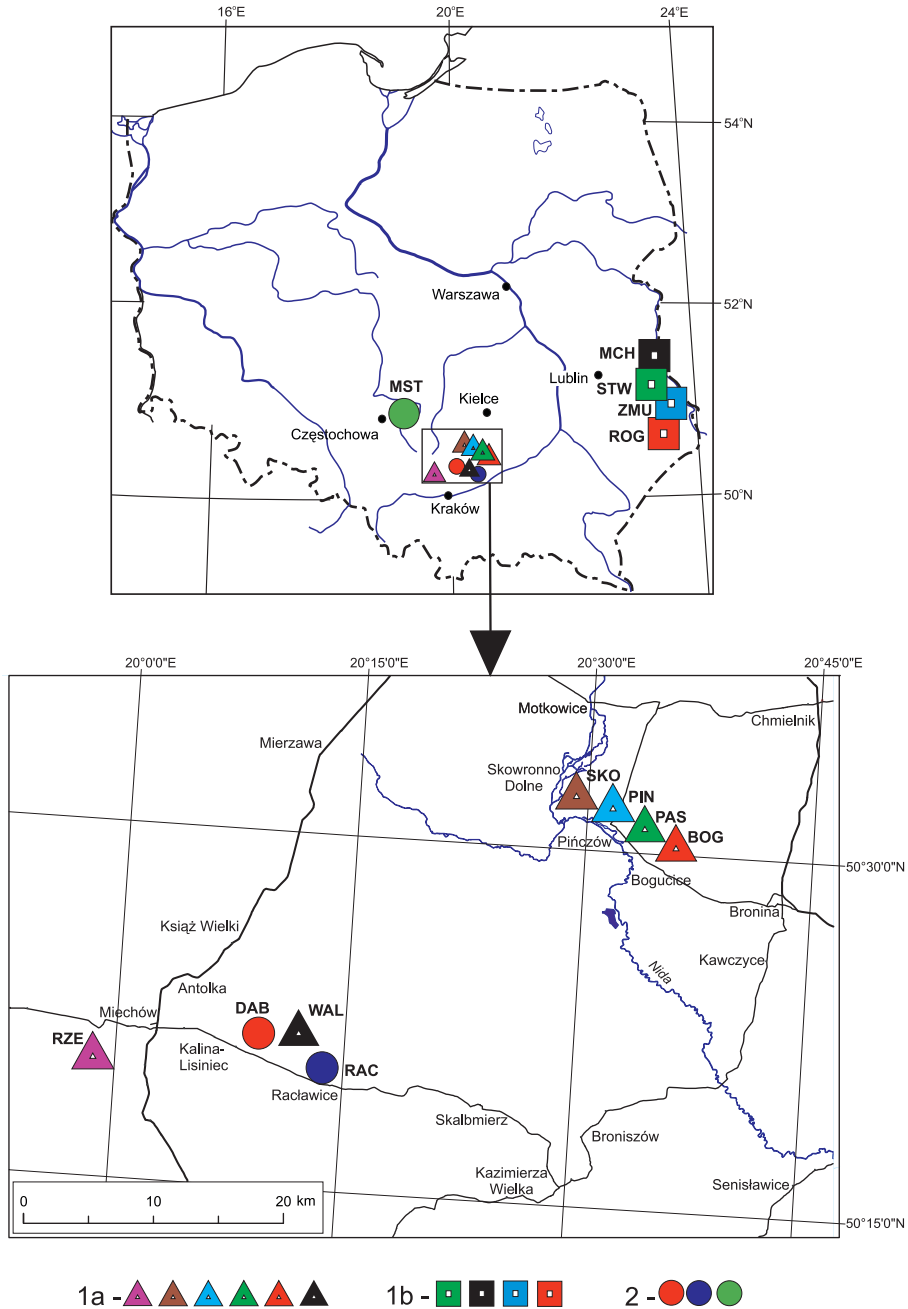
w luźnych skupieniach, a liczebność populacji waha się od kilkunastu (rezerwat „Rogów”) aż do kilkunastu tysięcy osobników (rezerwat „Wały” i jego okolica) (JASIEWICZ 1972; POZNAŃSKA & KAŻMIERCZAKOWA 2001; DENISIUK i in. 2008, 2009).

W Polsce *Carlina onopordifolia* występuje tylko na kilku stanowiskach, które są zgrupowane w jej południowej części. Pierwszego odkrycia tego gatunku (ujętego jako *Carlina acanthifolia* All. var. *spathulata* Łapcz.) na terenach obecnej Polski dokonano w XIX w. na Stawskiej Górze (ŁAPCZYŃSKI 1881, 1882; KARO 1883; obecnie rezerwat „Stawska Góra”, Polesie Wołyńskie). Kolejne stanowiska były odnotowywane już w następnym stuleciu i pochodziły z okolic wsi Skowronno (SZAFER 1923b; rezerwat „Skowronno”, Wyżyna Małopolska), ze wzgórze w pasie pomiędzy Pińczowem i Skowronnem (KAZNOWSKI 1929), ze wzgórze Wały koło Raclawic (JASIEWICZ & PAWŁOWSKI 1956; rezerwat „Wały” i jego najbliższe sąsiedztwo, Wyżyna Małopolska) oraz z okolic Rogowa (FIJAŁKOWSKI 1959; rezerwat „Rogów”, Wyżyna Lubelska). W późniejszym czasie na Wyżynie Małopolskiej odkryto jeszcze stanowiska w okolicach Pasturki i Bogucic (PEŁKA 1997) oraz Rzezuśni (BINKIEWICZ & BINKIEWICZ 2011). W południowo-wschodniej części Polski, w ostatnich latach również odnotowano nowe stanowiska, jedno w okolicach Żmudzi na Polesiu Wołyńskim (CIEŚLAK i in. 2009), a drugie w rezerwacie „Machnowska Góra” na Wyżynie Zachodniowołyńskiej (CWENER i in. 2012).

O ile w przypadku najstarszych stanowisk nie poddaje się w wątpliwość ich naturalnego pochodzenia, to w przypadku ostatnio opisanych (z wyjątkiem Pasturki i Bogucic), niejednokrotnie sami autorzy prac (CIEŚLAK i in. 2009; CWENER i in. 2012) są skłonni uznać, że populacje te mogły być utworzone przez świadome działanie człowieka i pochodzić z wysiewu nasion bądź nawet przesadzania dorosłych roślin pobranych ze stanowisk naturalnych. Wskazywać na to mogą wyraźne ślady prowadzonych w tych miejscach lub najbliższej okolicy prac gospodarskich, związanych np. z nasadzeniami drzew, jak na stanowisku Żmudź (CIEŚLAK i in. 2009). Ze względu jednak na brak wyraźnych dowodów, że ostatnio opisane miejsca występowania założone zostały przez człowieka, wszystkie 10 wyżej wymienionych populacji uznano roboczo za naturalne (Ryc. 1).

Oprócz tych miejsc, *Carlina onopordifolia* występuje w Polsce również na trzech introdukowanych, udokumentowanych w literaturze stanowiskach: dwóch na Wyżynie Miechowskiej – koło Raclawic i w rezerwacie „Dąbie” koło Klonowa (POZNAŃSKA 1988a, 1991a; KAŻMIERCZAKOWA 2003) oraz na Wyżynie Śląsko-Krakowskiej w okolicy Mstowa (WENDA 2003) (Ryc. 1). Podawane było jeszcze jedno introdukowane stanowisko na Garbie Pińczowskim (POZNAŃSKA 1991a), którego obecnie nie udało się zlokalizować w terenie. Biorąc pod uwagę fakt, że dziewięciśń rośnie z natury na Garbie Pińczowskim w wielu miejscach, zabieg podsiewania przeprowadzony przez POZNAŃSKĄ (1991a), według KAŻMIERCZAKOWEJ (2003) należałoby raczej uznać za wzbogacenie populacji naturalnej, a nie za utworzenie nowego stanowiska.

Prace związane z introdukcją *Carlina onopordifolia* na nowe stanowiska w Polsce, zostały zapoczątkowane przez Poznańską, która na podstawie własnych badań i obserwacji uznała ten gatunek za zagrożony i ginący (POZNAŃSKA 1978, 1988a). Według tej autorki, największym zagrożeniem dla omawianego gatunku jest niewielka liczba stanowisk i mała liczebność populacji oraz procesy sukcesyjne zachodzące w siedliskach tego gatunku



Ryc. 1. Rozmieszczenie *Carlina onopordifolia* w Polsce. 1 – populacje naturalne: 1a – Wyżyna Małopolska, 1b – Wyżyna Lubelska, Polesie Wołyńskie, Wyżyna Zachodniowołyńska; 2 – populacje introdukowane. Skróty nazw populacji w tabeli 1

Fig. 1. Distribution of *Carlina onopordifolia* in Poland. 1 – natural populations: 1a – Wyżyna Małopolska upland, 1b – Wyżyna Lubelska upland, Polesie Wołyńskie lowland, Wyżyna Zachodniowołyńska upland; 2 – introduced populations. Abbreviations of population names as in Table 1

(POZNAŃSKA 1978, 1988b, 1989, 1991c). W wyniku zarastania przez krzewy i drzewa dochodzi do zacieniania stanowisk, co niekorzystnie wpływa na wzrost i rozwój siewek dziewięcisiu (POZNAŃSKA 1988c, 1991a). Na obniżenie zdolności konkurencji i przeżycia *C. onopordifolia* wg różnych badaczy mają również wpływ niektóre cechy biologiczne gatunku, tj. niska zdolność do rozsiewania (wbrew temu, co można by wnosić z budowy niełuppek, wyposażonych w lotny puch kielichowy – wysiewają się one głównie blisko okazu macierzystego; POZNAŃSKA 1978, 1986, 1988b), cyklicznie pojawiające się okresy zakwitania w odstępach nawet kilkunastu lat (FIJAŁKOWSKI 1970), późno dojrzewające nasiona (X–XI), wysiewające się i kiełkujące dopiero w następnym roku (DENISIUK i in. 2008), duża specjalizacja w stosunku do siedliska (POZNAŃSKA 1989, 1990, 1991a, b, c), oraz przypuszczalny apomiktyczny sposób rozmnażania (POZNAŃSKA & SPISS 1985). Ze względu na skalę zagrożenia, *C. onopordifolia* jako jeden z pierwszych gatunków został objęty monitoringiem w Polsce. Obecnie monitorowane są populacje zarówno ze stanowisk naturalnych (rezerwy „Wały” i „Skowronno” oraz „Stawska Góra” i „Rogów”), jak i introdukowanych (Raclawice i rezerwat „Dąbie”) (KAŹMIERCZAKOWA 2003; PERZANOWSKA 2010).

Wszystkie populacje *Carlina onopordifolia* założone przez Poznańską w latach 1987–1990 na Wyżynie Miechowskiej oraz populacja z Mstowa powstały z materiału nasiennego pochodzącego z osobników z rezerwatu „Wały” (POZNAŃSKA 1988a; KAŹMIERCZAKOWA 2003; WENDA 2003). Populacja w Raclawicach, w kolejnych trzech latach od wysiania, była wzbogacana przez dosiewanie, natomiast w rezerwacie Dąbie najprawdopodobniej takiego zabiegu nie prowadzono (KAŹMIERCZAKOWA 2003). Po trzech latach od pierwszego wysiania, na stanowiskach introdukowanych na Wyżynie Miechowskiej, niezależnie od prowadzonych zabiegów, odnotowano zaledwie po ok. 30 okazów (z wysianych kilkuset nasion; POZNAŃSKA 1988a, 1991a). Kolejne badania wykazały, że w populacjach tych bardzo słabo lub wcale nie wykształciła się struktura skupiskowa, charakterystyczna dla tego gatunku na stanowiskach naturalnych oraz nie zanotowano w nich osobników rozmnażających się generatywnie (KAŹMIERCZAKOWA 2003). Natomiast w populacji z Mstowa były odnotowane osobniki kwitnące, ale nie stwierdzono ani obecności siewek, ani osobników juwenilnych tego gatunku (WENDA 2003). W sytuacji, kiedy na stanowiskach introdukowanych nie dochodzi do wytworzenia ustabilizowanej populacji tego rzadkiego gatunku powstaje pytanie, w jakim stopniu stanowią one zabezpieczenie struktury genetycznej gatunku.

W ramach prac prowadzonych nad strukturą genetyczną gatunków rzadkich i zagrożonych w Polsce (*Cochlearia polonica* i *C. tatrae* – CIEŚLAK & RONIĘK 2006; CIEŚLAK i in. 2007a, b, 2010; *Galium cracoviense* – CIEŚLAK & SZELĄG 2009, 2010; *Melica ciliata* i *M. transsilvanica* – SZCZEPANIAK & CIEŚLAK 2011) badaniami objęto również *Carlina onopordifolia*. Gatunek ten w „Polskiej czerwonej księdze roślin” (POZNAŃSKA & KAŹMIERCZAKOWA 2001) ma status gatunku narażonego na wyginięcie (VU). Jest on objęty ścisłą ochroną w Polsce. Równocześnie na podstawie prawa międzynarodowego, na mocy Konwencji Berneńskiej i Dyrektywy Siedliskowej gatunek został dodany do Załącznika II Dyrektywy Siedliskowej w ramach Traktatu Akcesyjnego z 2003 r. (KAŹMIERCZAKOWA 2004).

Głównym celem podjętych badań było ustalenie poziomu zmienności genetycznej *Carlina onopordifolia* na wszystkich stanowiskach w Polsce i na tej podstawie porównanie zmienności w populacjach naturalnych i introdukowanych. Szczegółowe cele to: (1) ustalenie

poziomu zmienności genetycznej wewnątrz- i międzypopulacyjnej, (2) ustalenie struktury genetycznej w populacjach naturalnych i introdukowanych oraz (3) porównanie struktury genetycznej pomiędzy tymi grupami populacji.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto wszystkie populacje *Carlina onopordifolia*, które udało się zlokalizować w Polsce. W sumie uwzględniono 13 populacji, w tym 10 naturalnych i 3 introdukowane (Ryc. 1, Tab. 1). Za populacje introdukowane uznano te, których powstanie jest udokumentowane w literaturze. Liczba zbadanych osobników z populacji wynosiła od 6 do 10, w sumie przeanalizowano 111 prób.

Materiał do analiz molekularnych stanowił fragment liścia, który bezpośrednio po zebraniu suszono, umieszczając w plastikowym pojemniku z żelazem krzemionkowym. Tak zabezpieczony materiał przetrzymywano w pojemnikach w temperaturze pokojowej do czasu rozpoczęcia analiz.

Analizy molekularne

Całkowite komórkowe DNA wyizolowano przy użyciu zestawu firmy QIAGEN według procedury podanej przez producenta. Jakość wyizolowanego DNA sprawdzono na 1,5% żelu agarozowym. Analizę molekularną przeprowadzono metodą AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) według protokołu podanego przez VOS' A i in. (1995), z modyfikacjami (RONIKIER i in. 2008). Z grupy 10 par primerów przetestowanych we wstępnych badaniach, do dalszej analizy wybrano trzy pary, przy użyciu których otrzymano wyraźnie rozdzielone i powtarzalne profile prążkowe. Były to: *Eco* AGT–*Mse* CAC, *Eco* AGC–*Mse* CTA i *Eco* ATC–*Mse* CGC.

W celu ustalenia poziomu powtarzalności metody w analizie uwzględniono duplikaty, stanowiące 5% wszystkich analizowanych prób (BONIN i in. 2007). Ostatecznym efektem analizy AFLP był profil kilkunastu fragmentów DNA w zakresie wielkości 50–500 bp, które przeanalizowano programem GENOGRAPHER 3.1 i zapisano w postaci zero-jedynkowej matrycy danych (brak fragmentu/fragment obecny), będącej następnie podstawą analiz statystycznych.

Statystyczna analiza wyników AFLP

Analizę zmienności genetycznej przeprowadzono na poziomie wewnątrz- i międzypopulacyjnym. Poziom polimorfizmu w populacjach został określony na podstawie liczby fragmentów polimorficznych (P%), prążków prywatnych i charakterystycznych (P_p , P_{ch}) zdefiniowanych według CIEŚLAK i in. (2007b) oraz wartości współczynnika zróżnicowania genetycznego Nei'a (H) (NEI 1978), obliczonego przy użyciu programu POPGENE ver. 1.32 (YEH i in. 1997). Podobieństwo genetyczne pomiędzy parami populacji ustalono na podstawie współczynnika podobieństwa genetycznego Nei'a (NEI 1972). Istotność różnic wartości parametrów zmienności genetycznej pomiędzy grupami populacji naturalnych i introdukowanych została oceniona za pomocą nieparametrycznego testu *U* Manna-Whitneya, przy wykorzystaniu pakietu STATISTICA 5.1 (StatSoft, Inc. 1997).

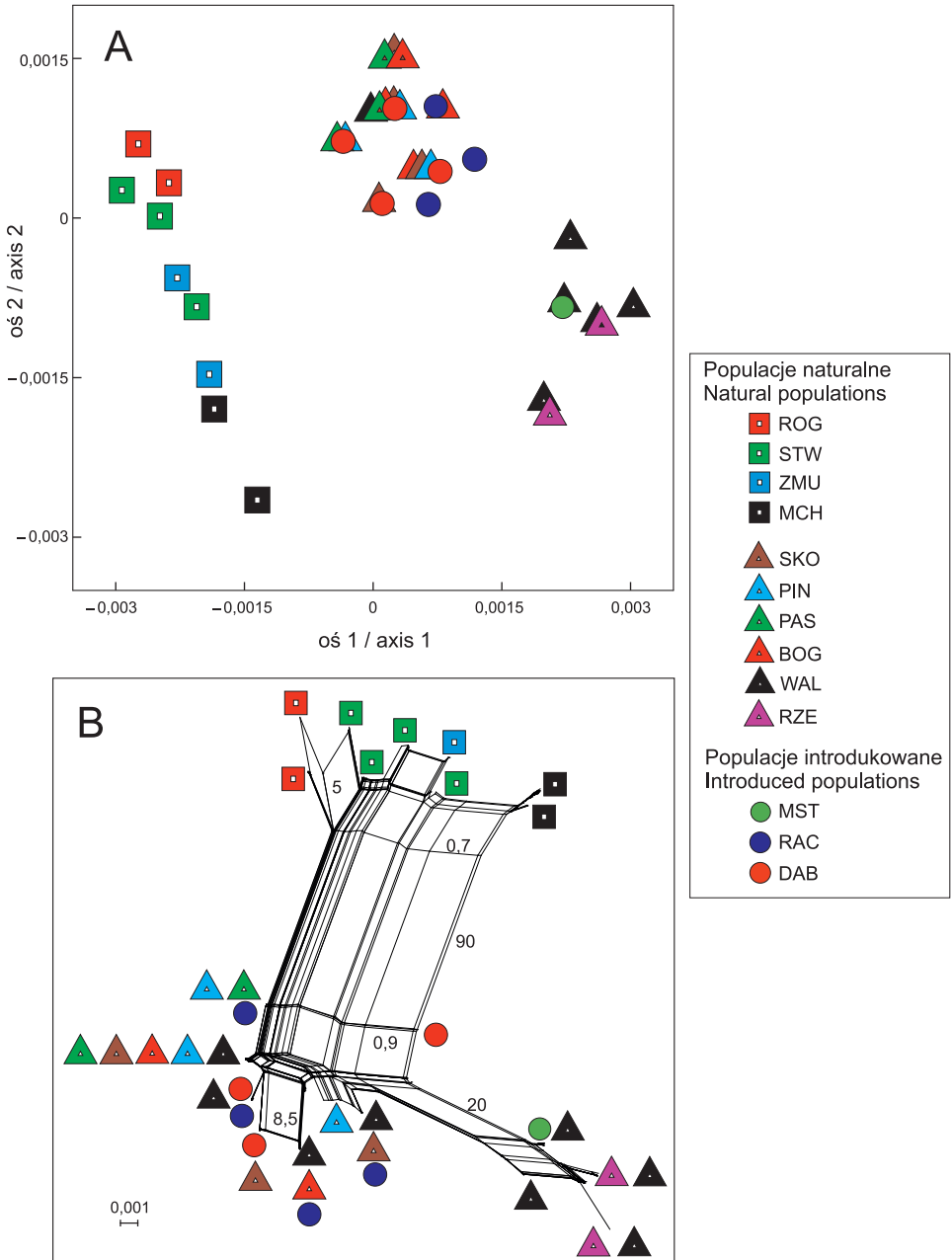
Oszacowanie stopnia zmienności genetycznej wewnątrz- i międzypopulacyjnej przeprowadzono na poziomie populacyjnym oraz w grupach populacji (naturalnych i introdukowanych) i oparto na wynikach analizy wariancji molekularnej (AMOVA), przy zastosowaniu programu ARLEQUIN 3.5.1.2 (EXCOFFIER & LISCHER 2010).

Wzajemne relacje i przestrzenny rozkład badanych okazów przeanalizowano w oparciu o metodę NeighbourNet (przy użyciu programu SplitsTree4; HUSON 1998; HUSON & BRYANT 2006) i analizę głównych współrzędnych (PCoA – Principal Coordinate Analysis, z wykorzystaniem programu FAMD 1.108 beta; SCHLÜTER & HARRIS 2006), w których uwzględniono matrycę odległości genetycznych NEI & LI (1979).

Tabela 1. Lokalizacja badanych populacji *Carlina onopordifolia* w Polsce i parametry zmienności genetycznej. N – liczba osobników w populacjach badanych metodą AFLP, P% – procent prążków polimorficznych, P_p/P_{ch} – liczba prążków prywatnych / liczba prążków charakterystycznych w populacjach, H – współczynnik różnicowania genetycznego Nei'a (Nei 1978), * populacje introdukowane

Table 1. Localities of the studied populations of *Carlina onopordifolia* in Poland and parameters of genetic diversity. N – number of the individuals in populations studied using AFLPs, P% – percentage of polymorphic bands, P_p/P_{ch} – private / diagnostic bands, H – coefficient of Nei's genetic diversity (Nei 1978), * introduced populations

No.	Rejon geograficzny Geographic region	Stanowisko Locality	Skrót Acronym	Współrzędne geogra- ficzne Coordinates	N	P%	P _p /P _{ch}	H
1.	Wyżyna Lubelska (upland)	Rezerwat (reserve) „Rogów”	ROG	N50°48' E23°31'	7	0.39	1/0	0.002 (±0.03)
2.	Polesie Wołyńskie (lowland)	Rezerwat (reserve) „Stawska Góra”	STW	N51°12' E23°24'	10	0.79	2/0	0.003 (±0.04)
3.	Polesie Wołyńskie (lowland)	Żmudź	ZMU	N51°00' E23°40'	6	0.39	1/0	0.002 (±0.03)
4.	Wyżyna Zachodniowojtyńska (upland)	Rezerwat (reserve) „Machnowska Góra”	MCH	N51°22' E23°34'	10	0.39	1/0	0.007 (±0.01)
5.	Wyżyna Małopolska (upland)	Pięczęw	PIN	N50°32' E20°31'	10	0.79	2/0	0.003 (±0.04)
6.	Wyżyna Małopolska (upland)	Rezerwat (reserve) „Wały”	WAL	N50°20' E20°13'	10	0.79	3/0	0.005 (±0.05)
7.	Wyżyna Małopolska (upland)	Rezerwat (reserve) „Skowronno”	SKO	N50°32' E20°29'	10	1.18	3/0	0.005 (±0.05)
8.	Wyżyna Małopolska (upland)	Pasturka	PAS	N50°30' E20°33'	10	0.79	2/0	0.003 (±0.04)
9.	Wyżyna Małopolska (upland)	Bogucice	BOG	N50°30' E20°34'	10	0.79	2/0	0.003 (±0.04)
10.	Wyżyna Małopolska (upland)	Rzezuśnia	RZE	N50°20' E19°59'	6	0.39	1/0	0.002 (±0.03)
11.	Wyżyna Małopolska (upland)	Rezerwat (reserve) „Dąbie”	DAB*	N50°20' E20°10'	7	0.79	2/0	0.003 (±0.04)
12.	Wyżyna Małopolska (upland)	Raclawice	RAC*	N50°19' E20°14'	9	0.79	2/0	0.003 (±0.04)
13.	Wyżyna Śląsko-Krakowska (upland)	Mstów	MST*	N50°50' E19°17'	7	0	3/0	0



Ryc. 2. Analiza głównych współrzędnych (PCoA) oparta na macierzy odległości genetycznych (współczynnik Nei-Li) – diagram rozrzutu 111 osobników *Carlina onopordifolia* względem 1 i 2 osi (2A). Dendrogram odległości genetycznych (współczynnik Nei-Li) 111 osobników *C. onopordifolia*, utworzony z zastosowaniem metody NeighbourNet (2B). Skróty nazw populacji w tabeli 1

Fig. 2. Principal Coordinate Analysis (PCoA) based on the genetic distance matrix (Nei-Li coefficient) – scatter diagram of 111 individuals of *Carlina onopordifolia* with respect to the 1 and 2 axis (2A); NeighbourNet for the AFLP data using Nei & Li distances for 111 individuals of *C. onopordifolia* (2B). Abbreviations of population names as in Table 1

grupy populacji z południowo-wschodniej Polski ($P_p: U=5, p \leq 0,05$). Pozostałe parametry zmienności genetycznej nie różniły się istotnie pomiędzy geograficznymi grupami *C. onopordifolia* ($P\%: U=9,5, p=0,19$; $P_{ch}: U=18, p=1$; $H: U=16,5, p=0,82$).

Na podstawie analizy PCoA (Ryc. 2A) w układzie 1. i 2. osi (odpowiednio wyjaśniających 58,49% i 27,18% całkowitej zmienności genetycznej) wyróżniono dwie grupy: jedną stanowiły osobniki z Wyżyny Małopolskiej i z Mstowa, drugą z Wyżyny Lubelskiej, Polesia Wołyńskiego i Wyżyny Zachodniowołyńskiej. Jednocześnie stwierdzono, że osobniki z populacji naturalnych i introdukowanych, w grupie z Wyżyny Małopolskiej, są podobne genetycznie. Dwie grupy, odpowiadające położeniu geograficznemu populacji, otrzymano również w analizie NeighbourNet (Ryc. 2B). Natomiast dalsze podziały wewnątrz grup wsparte były bardzo niskimi wartościami bootstrapu, maksymalnie osiągającymi 20%. Taki rozkład osobników wskazuje, że zróżnicowanie *Carlina onopordifolia* w Polsce jest skorelowane z położeniem geograficznym populacji.

Analiza wariancji molekularnej (AMOVA), przeprowadzona dla wszystkich badanych populacji, wykazała znacząco wyższą wartość międzypopulacyjnej (88,38%), w stosunku do wewnątrzpopulacyjnej (11,62%) składowej całkowitego zróżnicowania genetycznego, przy $F_{ST}=0,88$ ($p<0,001$). Natomiast w wyniku hierarchicznej AMOVA, z uwzględnieniem podziału na grupy: populacje ze stanowisk introdukowanych vs. z naturalnych, otrzymano ujemną wartość wariancji (-1,08%), co świadczy o braku różnic w strukturze genetycznej pomiędzy tymi grupami ($F_{CT} = -0,01, p>0,4$). W tym przypadku zmienność wewnątrzpopulacyjna wynosiła 18,44%, a między populacjami - 82,60% ($p<0,001$). Przy podziale na grupy z uwzględnieniem położenia geograficznego populacji, zmienność między grupami wynosiła 56,86%, wewnątrz grup - 35,13% i wewnątrz populacji - 8,01%, ($p<0,001$). AMOVA potwierdziła również, że grupy populacji, niezależnie od położenia geograficznego, charakteryzuje porównywalny poziom zmienności wewnątrzpopulacyjnej (Tab. 3).

DYSKUSJA

Badania genetyczne *Carlina onopordifolia* wykazały, że wszystkie populacje z Polski charakteryzuje wyrównany i bardzo niski poziom zmienności wewnątrzpopulacyjnej. Nie stwierdzono żadnych różnic w poziomie zmienności genetycznej między grupą populacji naturalnych a grupą populacji introdukowanych. Odrębność genetyczną odnotowano natomiast między grupą populacji z Wyżyny Małopolskiej i grupą traktowanych wspólnie populacji z Wyżyny Lubelskiej, Polesia Wołyńskiego i Wyżyny Zachodniowołyńskiej, co potwierdza wyniki innych badań (CIEŚLAK msk.). Zróżnicowanie to przejawia się w obecności prążków prywatnych w populacjach z Wyżyny Małopolskiej, natomiast nie dotyczy poziomu zmienności wewnątrzpopulacyjnej (brak różnic istotnych statystycznie). A zatem, przeprowadzona analiza wykazała, że *C. onopordifolia* w Polsce jest gatunkiem, którego zróżnicowanie genetyczne jest skorelowane z położeniem geograficznym.

Poziom zmienności genetycznej odnotowany u *Carlina onopordifolia* koresponduje z danymi, które najczęściej charakteryzują gatunki samopylne, apomiktyczne lub

Tabela 3. Wyniki analizy wariancji molekularnej (AMOVA) na podstawie markerów AFLP, dla wszystkich populacji łącznie i grup populacji *Carlina onopordifolia*, * – $p < 0,001$ **Table 3.** Results of the analysis of molecular variance (AMOVA) based on the AFLP markers for all populations together and for groups of populations of *Carlina onopordifolia*, * – $p < 0.001$

Źródło zmienności Source of variability	d.f.	Suma kwadratów Sum of squares	Poziom wariancji Level of variance	Procent wariancji % of total variance
Wszystkie populacje All populations				
Między populacjami Among populations	12	231,59	2,23	88,38
Wewnątrz populacji Within populations	98	28,77	0,29	11,62
Suma Total	110	260,36	2,53	$F_{ST}=0,88^*$
Populacje naturalne <i>versus</i> introdukowane Natural <i>versus</i> introduced populations				
Między grupami Among groups	1	16,85	-0,03	-1,08
Między populacjami Among populations	11	214,73	2,24	82,60
Wewnątrz populacji Within populations	98	28,77	0,29	18,44
Suma Total	110	260,36	2,51	$F_{ST}=0,81^*$
Wyżyna Małopolska (i Mstów) <i>versus</i> Wyżyna Lubelska, Polesie Wołyńskie, Wyżyna Zachodniowołyńska Wyżyna Małopolska upland (and Mstów) <i>versus</i> Wyżyna Lubelska upland, Polesie Wołyńskie lowland, Wyżyna Zachodniowołyńska upland				
Między grupami Among groups	1	108,18	2,08	56,86
Między populacjami Among populations	11	123,41	1,28	35,13
Wewnątrz populacji Within populations	98	28,77	0,29	8,01
Suma Total	110	260,36	3,66	$F_{ST}=0,91^*$
Wyżyna Lubelska, Polesie Wołyńskie, Wyżyna Zachodniowołyńska Wyżyna Lubelska upland, Polesie Wołyńskie lowland, Wyżyna Zachodniowołyńska upland				
Między populacjami Among populations	3	33,64	1,36	88,56
Wewnątrz populacji Within populations	29	5,09	0,17	11,44
Suma Total	32	38,73	1,53	$F_{ST}=0,88^*$
Wyżyna Małopolska (populacje naturalne i introdukowane) Wyżyna Małopolska upland (natural and introduced populations)				
Między populacjami Among populations	8	89,76	1,26	78,61
Wewnątrz populacji Within populations	69	23,67	0,34	21,39
Suma Total	77	113,44	1,61	$F_{ST}=0,79^*$

rozmnażające się wegetatywnie (NYBOM 2004). Dotychczasowe badania nad biologią *C. onopordifolia* dowiodły, że rozmnaża się tylko przez nasiona i prawdopodobnie jest gatunkiem apomiktycznym (POZNAŃSKA & SPISS 1985). Niski poziom wewnątrzpopulacyjnej zmienności genetycznej, stwierdzony u *C. onopordifolia*, może być konsekwencją występowania u tego gatunku apomiksji. Wykazane zróżnicowanie między grupami populacji z różnych obszarów geograficznych i brak zróżnicowania między populacjami z danego obszaru geograficznego wskazują na występowanie u *C. onopordifolia* lokalnie ograniczonych „apomiktycznych klonów”. Brak różnic w poziomie zmienności genetycznej pomiędzy populacjami naturalnymi i introdukowanymi dowodzi, że powstanie nowych populacji tego gatunku sprowadziło się do „powielenia” danego genotypu, co nie wywarło wpływu na poziom wewnątrzpopulacyjnej zmienności genetycznej w populacjach introdukowanych.

W przypadku niedawno odkrytych populacji (z Rzeżuśni, ze Żmudzi i z Machnowskiej Góry), co do których są wątpliwości, czy są pochodzenia naturalnego, uzyskane wyniki analiz genetycznych nie dały podstaw do ustalenia czy są one naturalne, czy introdukowane. Niemniej jednak, na podstawie wykazanego zróżnicowania genetycznego, skorelowanego z położeniem geograficznym danej populacji, można pośrednio wnioskować, że jeśli nawet populacje te nie są pochodzenia naturalnego, to materiał pobrano z którejś z populacji z tej samej części zasięgu, przez co nie została zaburzona struktura geograficzno-genetyczna *Carlina onopordifolia*.

Niewielki zasięg i wyspowe rozmieszczenie populacji *Carlina onopordifolia*, wskazywane były jako jedno ze źródeł mogących wpływać niekorzystnie na poziom zmienności genetycznej gatunku (POZNAŃSKA 1978). Konsekwencją wyspowego rozmieszczenia jest najczęściej drastyczne zmniejszenie genetycznej zmienności wewnątrzpopulacyjnej i zwiększenie zróżnicowania międzypopulacyjnego gatunków na skutek utrudnionego przepływu genów czy wzmocnienia działania procesów wewnątrzpopulacyjnych, np. dryfu genetycznego lub chowu wsobnego (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH 1987; ELLSTRAND & ELAM 1993; YOUNG i in. 1996; SORK i in. 1999; LIENERT 2004; AGUILAR R. i in. 2008). W przypadku *C. onopordifolia*, stwierdzony bardzo niski poziom zmienności genetycznej i brak zróżnicowania w obrębie grup populacji, jest konsekwencją apomiktycznego (prawdopodobnego) systemu rozmnażania się tego gatunku, a nie wyżej wspomnianych genetycznych procesów wewnątrzpopulacyjnych.

Populacje gatunków o niskim poziomie zmienności genetycznej, często charakteryzujące się wysokim stopniem wsobności (inbredu), są uważane za szczególnie narażone na wyginiecie (BYERS & WALLER 1999; KELLER & WALLER 2002; GONG i in. 2010). Jednym z efektywnych sposobów zapobiegania depresji inbredowej, t.j. zmniejszenia dostosowania potomstwa powstałego w wyniku krzyżowania blisko spokrewnionych osobników na skutek np. zmniejszenia liczebności populacji, jest introdukcja obcych osobników w celu wzmocnienia osłabionych genetycznie populacji. Już poprzednio zwracano uwagę, że *Carlina onopordifolia* jest zagrożona również od strony genetycznej, ze względu na dużą specjalizację gatunku w stosunku do siedliska (POZNAŃSKA & SPISS 1985). Wyniki przeprowadzonych przez nas porównawczych badań genetycznych populacji źródłowych i introdukowanych wskazują, że nie doszło do wystąpienia niepożądanych efektów genetycznych, obniżających możliwości adaptacyjne gatunku.

Dotychczasowe prace dotyczące ochrony gatunku *ex situ*, przez tworzenie nowych jego populacji, nie dały w pełni zadowalających rezultatów. Wieloletnie obserwacje introdukowanych populacji *Carlina onopordifolia* wykazały brak w nich osobników osiągających fazę generatywną, co wskazuje na fakt, że nie dochodzi w nich do wytworzenia pełnej struktury populacyjnej, obserwowanej w populacjach naturalnych. Dlatego dla ochrony *C. onopordifolia* ważne jest przede wszystkim utrzymanie siedlisk, w których gatunek ten występuje naturalnie. Zmiany wynikające z procesu sukcesji krzewów i drzew w murawach, uniemożliwiają kiełkowanie i wzrost siewek *C. onopordifolia* oraz powodują, że gatunek ten nie osiąga stadium generatywnego w tych populacjach.

W przypadku kontynuacji prac związanych z ochroną *Carlina onopordifolia in situ* jak i *ex situ*, ważne jest, w celu zachowania struktury genetycznej gatunku, aby materiał siewny pochodził z tego samego regionu geograficznego, w którym będzie zakładana populacja. Natomiast wybór populacji, z której pozyskiwany miałby być materiał, uwarunkowany jest odpowiednią jej liczebnością. Działanie takie minimalizuje prawdopodobieństwo wystąpienia zarówno depresji outbredowej, czyli redukcji dostosowania w wyniku hybrydyzacji pomiędzy osobnikami pochodzącymi z genetycznie odrębnych populacji, jak i zanikania geograficznych genotypów, dzięki którym powstają lokalne adaptacje (KELLER i in. 2000; QUILICHINI i in. 2001).

W przypadku badanego gatunku ważne mogą okazać się wyniki prowadzonych badań taksonomicznych i filogeograficznych kompleksu *Carlina acanthifolia* (E. CIEŚLAK, mat. niepublikowane), do którego, opierając się na ostatnio przeprowadzonych badaniach, włączono *C. onopordifolia* (MEUSEL & KÄSTNER 1994). Ustalenie statusu taksonomicznego *C. onopordifolia* może również wpłynąć na określenie dodatkowych warunków związanych z pracami ochroniarskimi tego taksonu.

Podziękowania. Autorki składają podziękowania doc. dr hab. Róży Kaźmierczakowej i dr. Wojciechowi Paulowi za twórcze dyskusje oraz cenne uwagi dotyczące manuskryptu. Badania wykonano w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki nr NN 304 300 940 oraz działalności statutowej Instytutu Botaniki PAN. Pozwolenia na zbiór materiału roślinnego wydały Regionalne Dyrekcje Ochrony Środowiska.

LITERATURA

- AGUILAR R., QUESADA M., ASHWORTH L., HERRERIASDIEGO Y. & LOBO J. 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. – *Mol. Ecol.* **17**: 5177–5188.
- BYERS D. L. & WALLER D. M. 1999. Do plant populations purge their genetic load? Effects of population size and mating history on inbreeding depression. – *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **30**: 479–513.
- BONIN A., EHRICH D. & MANEL S. 2007. Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. – *Mol. Ecol.* **16**: 3737–3758.
- BINKIEWICZ B. & BINKIEWICZ K. 2011. Nowe stanowisko *Carlina onopordifolia* (Asteraceae) na Wyżynie Miechowskiej. – *Fragm. Florist. Geobot. Polon.* **18**(1): 165–167.
- CHARLESWORTH D. & CHARLESWORTH B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. – *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **18**: 237–268.

- CIEŚLAK E. msk. Phylogeography of xerothermic species in Central Europe. – Pol. Bot. Stud. Guideb. Ser. (w przygotowaniu do druku).
- CIEŚLAK E., KAŻMIERCZAKOWA R. & RONIEM M. 2010. *Cochlearia polonica* Fröhl. (*Brassicaceae*), a narrow endemic species of southern Poland: history of conservation efforts, overview of current population resources and genetic structure of populations. – Acta Soc. Bot. Pol. **79**(3): 255–261.
- CIEŚLAK E., KORBECKA G. & RONIEM M. 2007a. Genetic structure of the critically endangered endemic *Cochlearia polonica* (*Brassicaceae*): efficiency of the last-chance transplantation. – Bot. J. Linn. Soc. **155**(4): 527–532.
- CIEŚLAK E. & PAUL W. 2011. Typification of *Carlina acanthifolia* var. *spatulata* (*Asteraceae*) and new authorship for *C. onopordifolia*. – Polish Bot. J. **56**(1): 55–60.
- CIEŚLAK E., PAUL W. & CIEŚLAK J. 2009. Nowe stanowisko *Carlina onopordifolia* (*Asteraceae*) na Wyżynie Lubelskiej. – Fragm. Florist. Geobot. Polon. **16**(2): 431–442.
- CIEŚLAK E. & RONIEM M. 2006. Zastosowanie analiz DNA w ustaleniu endemicznego statusu *Cochlearia polonica* i *C. tatrae* (*Brassicaceae*). – Fragm. Florist. Geobot. Polon. **13**(2): 317–325.
- CIEŚLAK E., RONIEM M. & KOCH. M. A. 2007b. Western Ukrainian *Cochlearia* (*Brassicaceae*) – identity of an isolated edge population. – *Taxon* **56**(1): 112–118.
- CIEŚLAK E. & SZELĄG Z. 2009. Genetic diversity of *Galium cracoviense* (*Rubiaceae*) – the Polish endemic plant. – Acta Soc. Bot. Pol. **78**(2): 123–129.
- CIEŚLAK E. & SZELĄG Z. 2010. Genetic diversity of *Galium cracoviense*, *G. oelandicum* and *G. sudeticum* (*Rubiaceae*) – narrow endemic species of *Galium* sect. *Leptogalium* in northeastern Europe. – Acta Soc. Bot. Pol. **79**(4): 269–275.
- CWENER A., KUCHARZYK J., FIEDOR M. & CHMIELEWSKI P. 2012. Nowe stanowisko *Carlina onopordifolia* (*Asteraceae*) koło Tomaszowa Lubelskiego. – Fragm. Florist. Geobot. Polon. **19**(1): 191–193.
- DENISIUŁ Z., CHMURA D. & ADAMSKI P. 2008. Stan izolowanych populacji dziewięcisiu popłocholistnego *Carlina onopordifolia* w Polsce. – Parki nar. Rez. Przyr. **27**(1): 15–32.
- DENISIUŁ Z., CHMURA D. & ADAMSKI P. 2009. Flowering and generative reproduction in isolated populations of endangered species *Carlina onopordifolia* Besser (*Asteraceae*) in Poland. – Pol. J. Ecol. **57**(1): 87–97.
- ELLSTRAND N. C. & ELAM D. R. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. – Ann. Rev. Ecol. Syst. **24**: 217–242.
- EXCOFFIER L. & LISCHER H. E. L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. – Mol. Ecol. Res. **10**: 564–567.
- FIAŁKOWSKI D. 1959. Drugie stanowisko dziewięcisiu popłocholistnego na Wyżynie Lubelskiej. – Chrońmy Przyr. Ojcz. **2**: 16–19.
- FIAŁKOWSKI D. 1970. O cyklicznym zakwitaniu dziewięcisiu popłocholistnego *Carlina onopordifolia* Bess. w rezerwacie Rogów na Lubelszczyźnie. – Chrońmy Przyr. Ojcz. **4**: 61–62.
- GONG W., GU L. & ZHANG D. 2010. Low genetic diversity and high genetic divergence caused by inbreeding and geographical isolation in the populations of endangered species *Loropetalum subcordatum* (*Hamamelidaceae*) endemic to China. – Conserv. Genet. **11**(6): 2281–2288.
- HUSON D. H. 1998. SplitsTree: a program for analyzing and visualizing evolutionary data. – Bioinformatics **14**(10): 68–73.
- HUSON D. H. & BRYANT D. 2006. Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies. – Mol. Biol. Evol. **23**(2): 254–267. SplitsTree4, www.splitsree.org [styczeń 2010].
- JASIEWICZ A. & PAWŁOWSKI B. 1956. Nowe stanowisko *Carlina onopordifolia* Bess. w Polsce. – Fragm. Florist. Geobot. **2**(2): 12–19.

- JASIEWICZ A. 1972. *Carlina* L. – W: B. PAWŁOWSKI & A. JASIEWICZ (red.), Flora polska. Rośliny naczyniowe Polski i ziem ościennych **13**, s. 96–97. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa – Kraków.
- KARO F. 1883. Spis rzadszych krajowych roślin zebranych w latach 1881 i 1882 w okolicach Lublina, oraz pod Stawską górą za Chełmem. – Pam. Fizyjoogr. **3**: 292–317.
- KAZNOWSKI K. 1929. Zabytkowa roślinność wzgórzy pomiędzy Pińczowem i Skowronnem. – Ochr. Przyr. **9**: 33–36.
- KAZMIERCZAKOWA R. 2003. Stan introdukowanych populacji dziewięcisiu popłocholistnego na Wyżynie Miechowskiej. – Chrońmy Przyr. Ojcz. **59**(1): 11–23.
- KAZMIERCZAKOWA R. 2004. *Carlina onopordifolia* Besser, Dziewięcisz popłocholistny. – W: B. SUDNIK-WÓJCIKOWSKA & H. WERBLAN-JAKUBIEC (red.), Gatunki roślin. Poradniki ochrony siedlisk i gatunków Natura 2000 – podręcznik metodyczny. **9**, s. 96–99. Ministerstwo Środowiska, Warszawa.
- KELLER M., KOLLMANN J. & EDWARDS P. J. 2000. Genetic introgression from distant provenances reduces fitness in local weed populations. – J. Appl. Ecol. **37**: 647–659.
- KELLER L.F. & WALLER D. M. 2002. Inbreeding effects in wild populations. – Trends Ecol. Evol. **17**: 230–241.
- LIENERT J. 2004. Habitat fragmentation effects on fitness of plant populations. – J. Nat. Conserv. **12**: 53–72.
- ŁAPCZYŃSKI K. 1881. Wiadomość o trzech roślinach z rodziny złożonych z[n]alezionych w lubelskiem. – Pam. Fizyjoogr. **1**: 200–207.
- ŁAPCZYŃSKI K. 1882. Kąsina akantolistna w odmianie łopatkowatej. – Pam. Fizyjoogr. **2**: 519–521.
- MATUSZKIEWICZ W. 2005. Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski. s. 537. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- MEUSEL H. & KÄSTNER A. 1994. Lebensgeschichte der Gold- and Silberdisteln. Monographie der mediterran-mittleuropäischen Compositen-Gattung *Carlina*. **2**, s. 633. Springer-Verlag Wien New York, Wien.
- MIREK Z., PIEKOŚ-MIRKOWA H., ZAJĄC A. & ZAJĄC M. 2002. Flowering plants and pteridophytes of Poland – a checklist. – W: Z. MIREK (red.), Biodiversity of Poland. **1**, s. 442. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków.
- NEI M. 1972. Genetic distance between populations. – Amer. Naturalist **106**: 283–292.
- NEI M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. – Genetics **89**(3): 583–590.
- NEI M. & LI W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. – Proc. Nat. Acad. Sci. **76**: 5269–5273.
- NYBOM H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. – Mol. Ecol. **13**: 1143–1155.
- PAWŁOWSKA S. 1972. Charakterystyka statystyczna i elementy flory polskiej. – W: W. SZAFAER & K. ZARZYCKI (red.), Szata roślinna Polski. **1**, s. 129–206. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
- PEŁKA A. 1997. Nowe stanowisko dziewięcisiu popłocholistnego *Carlina onopordifolia* na Garbie Pińczowskim. – Chrońmy Przyr. Ojcz. **53**(1): 103–104.
- PERZANOWSKA J. 2010. Dziewięcisz popłocholistny, *Carlina onopordifolia* Besser. – W: J. PERZANOWSKA (red.), Monitoring gatunków roślin. Przewodnik metodyczny. **1**, s. 207–217. GIOŚ, Warszawa.
- POZNAŃSKA Z. 1978. Dziewięcisz popłocholistny *Carlina onopordifolia* i problem jego ochrony w Polsce. – Chrońmy Przyr. Ojcz. **5**: 18–27.
- POZNAŃSKA Z. 1986. Osoblivosti biologii *Carlina onopordifolia* Bess. ex Szafer, Kulcz. et Pawł. – Ukrayins'k. Bot. Zhurn. **43**(5): 87–91.

- POZNAŃSKA Z. 1988a. Pierwsze udane próby podsiewania nasion dziewięcisiu popłocholistnego *Carlina onopordifolia* na nowych stanowiskach. – *Chrońmy Przyr. Ojcz.* **2**: 72–74.
- POZNAŃSKA Z. 1988b. Zagrożenie i możliwości ochrony dziewięcisiu popłocholistnego *Carlina onopordifolia* w Polsce. – *Chrońmy Przyr. Ojcz.* **3**: 16–29.
- POZNAŃSKA Z. 1988c. Germination of seeds of the *Carlina onopordifolia* Besser under various laboratory conditions. – *Fragm. Florist. Geobot.* **33**(1–2): 53–69.
- POZNAŃSKA Z. 1989. Habitat modifications in the germination of seeds and survival of the seedlings of the thistle *Carlina onopordifolia* Besser. – *Fragm. Florist. Geobot.* **34**(1–2): 27–42.
- POZNAŃSKA Z. 1990. Habitat-dependent modifications of reproductions of the *Carlina* thistle *Carlina onopordifolia* Besser. – *Ekol. pol.* **38**(2): 239–256.
- POZNAŃSKA Z. 1991a. Stan populacji dziewięcisiu popłocholistnego *Carlina onopordifolia* w Polsce w 1990 roku. – *Chrońmy Przyr. Ojcz.* **47**(4): 48–53.
- POZNAŃSKA Z. 1991b. *Carlina onopordifolia* Besser – the dynamics of its population in the course of succession of xerothermal swards and the problem of active ecological protection. – *Ochr. Przyr.* **48**: 55–83.
- POZNAŃSKA Z. 1991c. Zmiany zagęszczenia i struktury populacji dziewięcisiu popłocholistnego *Carlina onopordifolia* Besser w procesie sukcesji murawy kserotermicznej oraz problemu jego aktywnej ochrony „in situ”. – *Prądnik. Prace Muz. Szafera* **3**: 161–174.
- POZNAŃSKA Z. & KAŹMIERCZAKOWA R. 2001. *Carlina onopordifolia* Besser, Dziewięciśl popłocholistny. – W: R. KAŹMIERCZAKOWA & K. ZARZYCKI (red.), *Polska czerwona księga roślin. Paprotniki i rośliny kwiatowe*, s. 381. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Instytut Ochrony Przyrody, Polska Akademia Nauk, Kraków.
- POZNAŃSKA Z. & SPISS L. 1985. Preliminary observation on the flowering and seed production of the thistle *Carlina onopordifolia* Besser. – *Acta Soc. Bot. Pol.* **54**(1): 41–51.
- QUILICHINI A., DEBUSSCHE M. & THOMPSON J. D. 2001. Evidence for local outbreeding depression in the Mediterranean island endemic *Anchusa crispa* Viv. (*Boraginaceae*). – *Heredity* **87**: 190–197.
- RONIKIER M., CIEŚLAK E. & KORBECKA G. 2008. High genetic differentiation in the alpine plant *Campanula alpina* Jacq. (*Campanulaceae*): evidence for glacial survival in several Carpathian regions and long-term isolation between the Carpathians and the Alps. – *Mol. Ecol.* **17**: 1763–1775.
- SORK V. L., NASON J., CAMPBELL D. R. & FERNANDEZ J. F. 1999. Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. – *Trends Ecol. Evol.* **14**: 219–224.
- SCHLÜTER P. M. & HARRIS S. A. 2006. Analysis of multilocus fingerprinting data sets containing missing data. – *Mol. Ecol. Notes.* **6**: 569–572. FAMD, <http://www.famd.me.uk/famd.html> [styczeń 2009].
- STATSOFT, Inc. 1997. STATISTICA for Windows. Computer program manual. Tulsa, OK.
- SZAFER W. 1923a. Trzecieorzędowe rośliny górskie na wale scytyjskim w ostoi podolsko-wołyńskiej. – *Acta Soc. Bot. Pol.* **1**(1): 97–119.
- SZAFER W. 1923b. Zapiski florystyczne. – *Acta Soc. Bot. Pol.* **1**(1): 53–59.
- SZCZEPANIAK M. & CIEŚLAK E. 2011. Genetic and morphological differentiation between *Melica ciliata* L. and *M. transilvanica* Schur (*Poaceae*) in Europe reveals the non-presence of *M. ciliata* in the Polish flora. – *Acta Soc. Bot. Pol.* **80**(4): 301–313.
- WENDA H. 2003. Nowe stanowisko storczyka męskiego *Orchis mascula* na Wyżynie Krakowsko-Częstochowskiej. – *Chrońmy Przyr. Ojcz.* **59**(3): 130–133.
- VOS P., HOGERS R., BLEEKER R., REIJANS M., VAN DE LEE T., HORNES M., FRIJTERS A., POT J., PELEMAN J., KUIPER M. & ZABEAU M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. – *Nucl. Acid. Res.* **23**: 4407–4414.

- YEH F. C., YANG R. C., BOYLE T., TIMOTHY B. J., YE Z. H. & MAO J. X. 1997. POPGENE, the userfriendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/index.htm> [styczeń 2002].
- YOUNG A., BOYLE T. & BROWN T. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. – Trends Ecol. Evol. **11**: 413–418.
- ZAVERUHA B. V. 1981. Novì danì do horologìi ta fitocenotičnoì priuročenosti rìdkisnogo reliktovalo vidu *Carlina onopordifolia* Bess. ex Szafer, Kulcz. et Pawł. – Ukrayins'k. Bot. Zhurn. **38**(2): 49–52 i 57.

SUMMARY

The analysis of genetic variation of *Carlina onopordifolia* showed that all Polish populations were characterized by a very evenly distributed and low level of genetic diversity. There was no difference in the level of genetic variation between introduced and natural populations. Demonstrated very low level of genetic variability of species and lack of diversity within populations may be a consequence of the breeding system (apomixis) rather than genetic processes. However, fundamental distinction was found between the Wyżyna Małopolska upland populations and those from the Wyżyna Lubelska upland, the Polesie Wołyńskie lowland and the Wyżyna Zachodniowołyńska upland. In this case, reported differences between groups of populations from separate geographical areas and parallel lack of differences between populations within these areas, indicate presence of locally restricted “apomictic clones” of this species. Because *C. onopordifolia* occurs only at a few natural locations and in the introduced ones the regular demographic structure has not established itself, the key role in the protection of this species plays continuity of work on the *in situ* (and only if necessary *ex situ*) conservation. However, in order to preserve the genetic structure of the species, in the case of activities aimed at an introduction of *C. onopordifolia* into new places, it is important that the seed came from the same geographical region in which the new population is to be established.

Przyjęto do druku: 18.09.2012 r.