

WYKORZYSTANIE METOD AUTOKORELACJI PRZESTRZENNEJ W BADANIACH ZMIENNOŚCI GENETYCZNEJ I MODELOWANIU PROCESÓW DEMOGRAFICZNYCH POPULACJI ROŚLIN

Applications of spatial autocorrelation methods to studies of genetic variation and modelling of demographic processes in plant populations

Igor CHYBICKI, Jarosław BURCZYK

Summary. The spatial pattern of genetic variation is an important feature of plant populations. Spatial genetic structure reflects the effects of mating system and gene flow or action of various forms of selection. Knowledge on the relationships between spatial structure and ecological factors may improve our understanding of population genetics and evolutionary processes in plant species. One useful method for the assessment of spatial genetic patterns is spatial autocorrelation analysis. This method tests whether the observed genetic variation deviate from random spatial distribution. This article presents statistical methods of spatial autocorrelation and investigates its usefulness for studying natural plant populations. We review some theoretical and experimental results which lead us to the conclusions that autocorrelation analysis has a sufficient statistical power for its applications in plant population genetics. General relationship between genetic models, as Isolation-By-Distance, and autocorrelation analyses is well known, mainly due to simulation studies. They indicate, that combination of limited seed and pollen dispersal results in consanguineous mating of neighbouring individuals and makes genetic variation non-randomly distributed, which reveals in family clumping. The spatial autocorrelation is capable to detect such patches of uniform genotypes. These methods allow us to infer about the size of genetically homogeneous patches directly from correlogram (eg. Fig 1.), which is the set of spatial indices, calculated as a function of distance between individuals or groups. Results of autocorrelation analyses of a wide variety of plant populations provide inferences that genes are not randomly distributed. In most they are clumped into homogeneous substructures, especially in herbal plants (Tab. 2).

Key words: spatial genetic structure, spatial autocorrelation, plant populations, gene dispersion

Mgr Igor Chybicki, dr hab. Jarosław Burczyk, Akademia Bydgoska im. Kazimierza Wielkiego, Instytut Biologii i Ochrony Środowiska, Zakład Genetyki, ul. Chodkiewicza 30, 85–064 Bydgoszcz, e-mail: igorchy@ab-byd.edu.pl

WSTĘP

Relacje między strukturą przestrzenną populacji a występowaniem zasobów środowiska są powszechnie znane i stanowią częsty aspekt badań ekologii roślin. Wiadomo, że gradientowy układ czynników środowiskowych może prowadzić do stopniowych zmian w strukturze przestrzennej, natomiast wszelkie nieciągłości mikrosiedliska mogą być przyczyną nielosowego

rozmieszczenia osobników [25, 36]. Jeżeli pojedynczy osobnik rozpatrywany jest jako specyficzny zestaw genów (genotyp), rozważania wchodzą w obszar zainteresowań genetyki populacyjnej. Dostosowanie osobnika do określonych warunków siedliskowych można wyrazić wówczas jako wartość przystosowawczą danego genotypu. Jeśli jest ona zróżnicowana względem siedliska, rozkład genów w przestrzeni będzie zdeterminowany przez rozmieszczenie za-

sobów środowiska [31, 35, 52]. Należy jednak pamiętać, że poza doborem naturalnym istnieją inne procesy, takie jak migracja, dryf genetyczny [40], które oddziałując na pojedyncze osobniki i populacje, również wpływają na strukturę genetyczną gatunku.

Zależność między zmiennością genetyczną a środowiskiem szczególnie łatwo można sobie uzmysłowić w przypadku zasięgu geograficznego gatunku, gdy dobór naturalny utrzymuje względnie stałą i unikalną jakość genetyczną, odpowiednią dla danego regionu [5]. Tym niemniej, podobna zmienność może istnieć również w skali mikroregionu. W obrębie populacji jednego gatunku mogą bowiem występować nielosowe układy przestrzenne osobników o swoistych genotypach [46], podobnie jak specyficzna struktura przestrzenna flory na dnie lasu, powstała wskutek zmieniających się czynników środowiskowych [36]. Wzorzec rozmieszczenia genotypów określany jest terminem przestrzennej struktury genetycznej [15]. Według innej definicji, przestrzenna struktura genetyczna jest to zależność między podobieństwem genetycznym poszczególnych osobników a fizyczną odległością między nimi [2].

Mimo że czynniki środowiskowe mogą stanowić siłę regulującą przestrzenny wzorzec zmienności genetycznej, podstawowe znaczenie przypisuje się procesom dyspersji genów [12, 62, 65]. W świecie roślin rozprzestrzenianie genów odbywa się głównie poprzez nasiona oraz pyłek, dlatego zakres dyspersji roślin decyduje o tym, jak daleko od źródła znajdują się geny tworzące nowe pokolenia. Jeżeli rozkład dyspersji nasion i pyłku jest „płaski”, tj. o dużej wariancji, wpływ dyspersji na wzorzec rozmieszczenia genów będzie trudny do przewidzenia. Przy braku dostatecznej presji selekcyjnej – zarówno ze strony środowiska, jak i konkurencji, można przypuszczać, że rozkład przestrzenny genów będzie losowy [65]. Z drugiej strony, ograniczona dyspersja sprawia, że struktura przestrzenna – zarówno w sensie ekologicznym, jak i genetycznym może przybrać nielosowy charakter.

Analiza przestrzennej struktury genetycznej stanowiła do niedawna margines badań genetyki populacyjnej roślin, ustępując pola innym za-

gadnieniom. Jednakże w ostatnich latach nastąpił wzrost zainteresowania tym aspektem zmienności genetycznej. Stało się tak głównie dzięki opracowaniu odpowiednich metod statystycznych [8, 60, 63] i rozwinięciu klasycznych teorii struktury przestrzennej w oparciu o nowe techniki badawcze – symulacje komputerowe.

Celem niniejszego artykułu jest przybliżenie metod analizy przestrzennej struktury genetycznej, podsumowanie wyników badań ostatnich lat oraz ocena ich przydatności w modelowaniu i analizach zmienności genetycznej populacji roślin.

TEORIA IZOLACJI PRZESTRZENNEJ

Z punktu widzenia genetyki populacyjnej można generalnie wyróżnić dwa wzorce rozmieszczenia genów, tj. losowy oraz nielosowy. Wiemy jednak, że faktycznie istnieje wiele typów przestrzennej struktury, znanych choćby z podręczników ekologii, dlatego takie uproszczenie wymaga kilku słów komentarza. Mówiąc o strukturze losowej, mamy na myśli sytuację, gdy wzorzec rozmieszczenia genów nie jest zdeteterminowany przez żadne siły porządkujące. W praktyce o losowym rozmieszczeniu mówimy również, gdy przyczyny decydujące o takim rozkładzie są nieuchwytnie [25].

Badania nad rolą przestrzennej struktury genetycznej w procesach populacyjnych zapoczątkował w pierwszej połowie dwudziestego wieku Seweall Wright teorią izolacji przestrzennej (ang. isolation by distance) [74] oraz niezależnie Gustave Malécot, którego wkład w analizę tego problemu pozostawał do niedawna niedoceniony [19, 51]. Zgodnie z teorią Wrighta, izolacja przestrzenna to stan, kiedy populacja podzielona jest na izolowane podjednostki przestrzenne, tzw. sąsiedztwa (ang. neighbourhoods), w obrębie których krzyżowanie osobników jest swobodne, natomiast wymiana genów między sąsiedztwami jest albo ograniczona albo nie zachodzi w ogóle [75]. Skutkiem istnienia izolacji przestrzennej jest ograniczenie puli genowej do względnie małej grupy osobników. Potomstwo powstałe w pierwszym pokoleniu, tak jak ich rodzice, rozwija się i reprodukuje jedynie w ra-

Tabela 1. Krzyżowanie dwóch osobników heterozygotyczne o różnych allelach, tj. A_1A_2 i A_3A_4 , w pierwszym pokoleniu (F_1) spowoduje powstanie w równych proporcjach osobników o genotypach: A_1A_3 , A_1A_4 , A_2A_3 oraz A_2A_4 . W wyniku wzajemnego losowego kojarzenia osobników F_1 , 1/4 pokolenia F_2 będzie homozygotami (wg [66]).

Table 1. Crossing two individuals carrying different alleles, i.e. A_1A_2 and A_3A_4 , we have equal proportions of individuals with genotypes: A_1A_3 , A_1A_4 , A_2A_3 and A_2A_4 . 1/4 of F_2 generation will be homozygous as a result of random mating of individuals of F_1 , (after [66]).

F_1	A_1A_3	A_1A_4	A_2A_3	A_2A_4
A_1A_3	1/2*	1/4	1/4	0
A_1A_4	1/4	1/2	0	1/4
A_2A_3	1/4	0	1/2	1/4
A_2A_4	0	1/4	1/4	1/2

* proporcja homozygot powstałych ze skojarzenia odpowiednich osobników

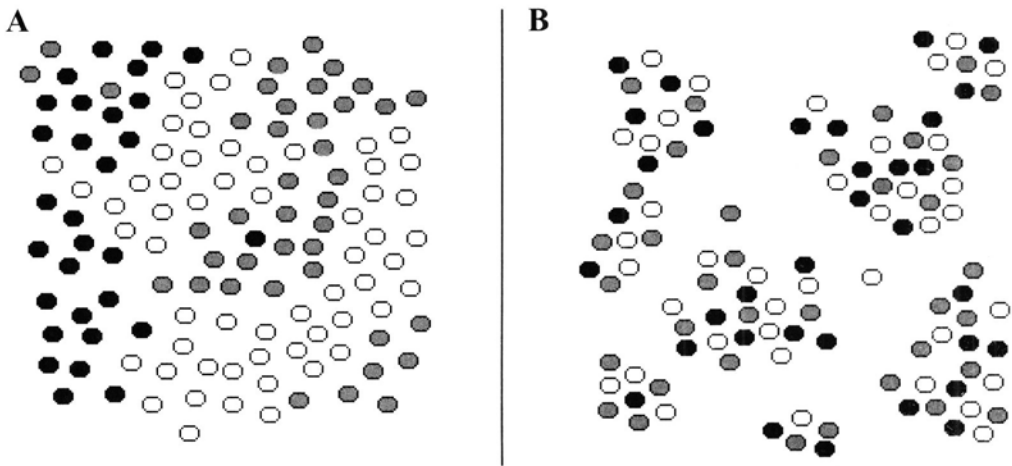
* proportion of homozygotes produced by corresponding individuals

mach sąsiedztwa, co wraz z upływem pokoleń zwiększa prawdopodobieństwo, że część osobników będzie posiadała wspólnych przodków. Oczywiście, im liczebność sąsiedztwa jest mniejsza, tym większa jest szansa powstania spokrewnionych osobników. Przykład zamieszczony powyżej przedstawia sytuację, gdy kojarzenie zachodzi jedynie wśród osobników należących do jednego sąsiedztwa. Jeżeli jedynym źródłem gamet w kolejnym pokoleniu będzie potomstwo powstałe w ramach sąsiedztwa (F_1), wówczas w pokoleniu F_2 co czwarty osobnik będzie homozygotą (Tabela 1). Taki stan izolacji przestrzennej utrzymujący się przez wiele pokoleń, prowadzi do wzrostu homozygotyczności (tzw. utrwalenia alleli – ang. fixation) w ramach każdego sąsiedztwa, a tym samym w całej populacji [74]. Jednocześnie, brak przepływu genów między sąsiedztwami może przyczynić się do utworzenia mozaikowej struktury genetycznej wewnątrz populacji, której elementami będą homozygotyczne skupiska osobników [14].

Model przedstawiony powyżej łatwo daje się zastosować dla populacji o rozmieszczeniu skupiskowym, kiedy grupy roślinności mogą stanowić odrębne obszary sąsiedztwa. Tym niemniej warto podkreślić, że model izolacji przestrzennej równie dobrze pasuje do populacji o rozmieszczeniu ciągłym. Jeżeli izolacja przestrzenna jest rozumiana jako efekt ograniczonej dyspersji genów, a w rzeczywistości – pyłku i nasion, można stwierdzić, że sposób rozmieszczenia osobników ma dla modelu drugorzędne

znaczenie. W naturze każdy osobnik może kojarzyć się z pewną liczbą osobników, ograniczoną możliwościami rozprzestrzeniania pyłku, wskutek czego nawet w ciągłej populacji możliwe jest istnienie obszarów sąsiedztwa [15]. Oczywiście jako jednostki przestrzenne, są one nie do uchwycenia, bowiem dla każdego osobnika sąsiedztwo ma indywidualne granice.

Stwierdziliśmy, że istnienie izolacji przestrzennej w populacji o rozmieszczeniu skupiskowym może prowadzić do znacznego wzrostu homozygotyczności w ramach płatów (obszarów sąsiedztwa). To, czy płaty będą się różnić między sobą zależy właściwie od przypadku, ponieważ czynniki wpływające na zróżnicowanie struktury genetycznej między płatami są znikome albo wręcz nie istnieją. W przypadku populacji ciągłej rozkład przestrzenny genów również powinien być ciągły. Aby zbadać konsekwencje ograniczonej dyspersji genów w populacji o rozmieszczeniu równomiernym wykorzystano metodę symulacji Monte Carlo [13, 16, 61, 62, 65]. Badania wykazały, że w symulowanych populacjach, w sytuacji gdy osobniki matedyczne zdolne są kojarzyć się jedynie z najbliższymi położonymi partnerami, a potomstwo może osiedlać się nie dalej niż źródło gamety męskiej, skupianie się genów w homozygotyczne płaty następuje w okresie ok. 30 do 50 pokoleń. Po tym czasie struktura przestrzenna osiąga tzw. fazę *quasi*-stabilną, kiedy ani rozmieszczenie genów, ani wielkości płatów nie ulegają większym zmianom [13, 62, 65].



Ryc. 1. Struktura przestrzenna populacji a rozkład zmienności genetycznej. A – równomierne rozmieszczenie osobników i skupiskowe rozmieszczenie genotypów; B – skupiskowe rozmieszczenie osobników i losowe rozmieszczenie genotypów.

Fig. 1. Spatial structure of a population and the distribution of genetic variation. A – uniform distribution of individuals and patchy distribution of genotypes; B – clustered distribution of individuals and random distribution of genotypes.

W związku z powyższym można stwierdzić, że formowanie się skupisk genów może zachodzić bez tworzenia zwartych grup osobników [46] i odwrotnie, tam gdzie istnieją wyspy, nie musi występować izolacja przestrzenna w sensie genetycznym (Ryc. 1). Oczywiście, można się spodziewać, że jeżeli osobniki mają tendencję do tworzenia skupień, w warunkach izolacji przestrzennej tendencja ta będzie raczej wzmacniać niż osłabiać skupianie się genów [11]. Wynika to z faktu, że często źródłem takiej struktury rozmieszczenia osobników w populacjach są te same czynniki, które wpływają na skupianie się genów, tj. ograniczona dyspersja nasion i pyłku lub mozaikowa natura siedliska [36].

PODSTAWY ANALIZY AUTOKORELACJI PRZESTRZENNEJ

Załóżmy, że osobniki pewnej hipotetycznej populacji rozmieszczone są tak jak punkty na prostej (tj. w jednym wymiarze). Każdy z osobników charakteryzuje się daną barwą kwiatów. Wyobraźmy sobie, że w ułożeniu kolorów zachodzi taka prawidłowość, że każdy z nich po-

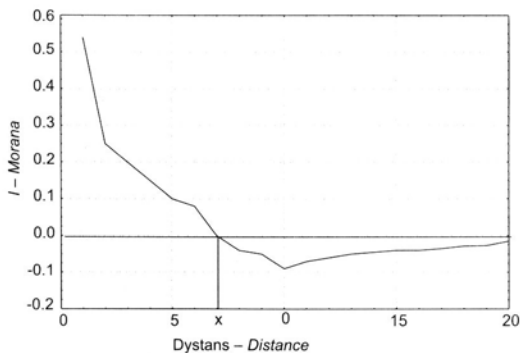
wtarza się cyklicznie w stałym odstępnie. W takim układzie występowanie w danym miejscu osobnika o kwiatach czerwonych zależy od odległości między tym osobnikiem a najbliższym osobnikiem o takich samych kwiatach. W języku matematyki powiedzielibyśmy wówczas, że zbiór elementów (kolorów) jest skorelowany ze sobą samym, przesuniętym o pewną wartość [4, 53]. Innymi słowy, zdefiniowalibyśmy pojęcie autokorelacji, a rozszerzając nasz przykład do dwóch wymiarów moglibyśmy mówić o autokorelacji przestrzennej. Zatem mierząc autokorelację przestrzenną badamy, czy istnieje jakieś uporządkowanie w rozmieszczeniu wartości danej zmiennej w przestrzeni [42].

Podstawową statystyką autokorelacji, wykorzystywaną w badaniach genetyki populacyjnej jest współczynnik I Morana [50]. Idea analizy I Morana jest stosunkowo prosta w przypadku populacji, w ramach której można wyodrębnić grupy osobników (płaty roślin). W każdym z płatów dany allel występuje z pewną częstością. Porównując frekwencję allelu w sąsiadujących płatach, uzyskujemy wartość autokorelacji, mierzoną osobno dla każdego z alleli według równania:

$$I = \frac{n \sum_i \sum_j w_{ij} (q_i - \bar{q})(q_j - \bar{q})}{W \sum_i (q_i - \bar{q})^2}$$

gdzie: n – liczba płatów; q_i oraz q_j – frekwencja allelu w płacie i -tym oraz j -tym; \bar{q} – średnia frekwencja allelu w całej populacji; W – podwójna liczba par płatów. Wyrażenie $w_{ij} = 1$, gdy para płatów i, j sąsiaduje ze sobą, w przeciwnym razie $w_{ij} = 0$ [63]. Współczynnik I Morana przyjmuje wartości ujemne ($-1 \leq I < 0$), gdy sąsiadujące powierzchnie znacznie różnią się częstością alleli, a dodatnie ($0 < I \leq +1$), gdy płaty o podobnych częstościach alleli wykazują wyraźną tendencję do grupowania się. Statystyka I Morana ma rozkład normalny, ze średnią $\mu_1 = -1/(n-1)$, która dla nieskończonej licznej próby wynosi zero. Po oszacowaniu wartości wariancji¹ μ_2 , można obliczyć poziom istotności autokorelacji. Wartość bezwzględna zmiennej standaryzowanej $Z = (I - \mu_1) / \sqrt{\mu_2}$ większa niż 1,96 oznacza, że autokorelacja obserwowana istotnie odbiega od wartości oczekiwanej na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ [63].

Dokładne zmapowanie powierzchni próbnej daje możliwość pomiaru wzajemnych odległości między wszystkimi płatami. Uszeregowane wartości odległości można wtedy podzielić według ustalonych przedziałów na klasy, gdzie każda z $n(n-1)/2$ wartości odległości, przy liczbie n płatów, będzie przynależać do odpowiedniej klasy. Wartości współczynnika autokorelacji obliczone dla danej klasy odległości odzwierciedlają sumaryczne podobieństwo płatów leżących w odległości charakterystycznej dla tej klasy. Na podstawie współczynnika autokorelacji otrzymanego dla kolejnych klas dystansu można utworzyć wykres, tzw. korelogram, opisujący dynamikę zmian autokorelacji w zależności od odległości między płatami (Ryc. 2) [63]. W badaniach opartych na modelu izolacji



Ryc. 2. Korelogram teoretycznej populacji będącej w stanie izolacji przestrzennej (wg [62], zmienione). Objasnienia w tekście.

Fig. 2. Correlogram of a theoretical population in the state of isolation by distance (after [62], modified). Explanation in text.

przestrzennej największe znaczenie ma wartość współczynnika autokorelacji w pierwszych klasach dystansu, ponieważ na tej podstawie można stwierdzić, czy w ramach populacji istnieje tendencja do grupowania się osobników podobnych genetycznie [22]. Kiedy autokorelacja w pierwszej klasie jest dodatnia, istotny jest również punkt, w którym krzywa korelogramu przecina oś odległości, tzn. kiedy współczynnik autokorelacji osiąga zero. Punkt ten, nazywany punktem przecięcia (ang. x -intercept) [63, 65], wyznacza wielkość najkrótszego boku genetycznie jednorodnych płatów [63].

Powyższe podejście do analizy przestrzennej struktury genetycznej niesie ze sobą dwa problemy metodologiczne. Po pierwsze, nie wszystkie populacje mają na tyle skupiskowe rozmieszczenie osobników, aby dało się bez wątpliwości wyznaczyć granice jednostek przestrzennych. Gdy osobniki rozmieszczone są równomiernie, stajemy przed koniecznością podzielenia powierzchni badawczej na wirtualne płaty. Pojawia się dylemat jak tego dokonać, aby nie zniekształcić informacji o rozkładzie zmienności. Po drugie, można zauważyć, że analiza autokorelacji na podstawie płatów nie wnosi żadnej informacji o relacjach przestrzennych między pojedynczymi

¹ Z uwagi na rozbudowane podstawy statystyczne nie zamieszczono odpowiednich wzorów, które odnaleźć można w pracach [8] oraz [62].

osobnikami [17]. Nie możemy przecież *a priori* wykluczyć, że autokorelacja przestrzenna w najmniejszej – osobniczej skali jest nieobecna lub uznać ją za nieistotną.

Obecnie w badaniach genetycznych stosuje się modyfikację statystyki *I* Morana zaproponowaną przez Dewey'a i Heywooda [10]. Metoda ta opiera się na porównaniach ekwiwalencji alleli w genotypie między osobnikami, nie zaś częstości alleli w poszczególnych płatach. Ekwiwalencja jest to liczba kopii danego allelu w diploidalnym genotypie podzielona przez dwa. Zatem w przypadku analizy autokorelacji allelu *A* jego wartość ekwiwalencji w genotypie *AA* wynosi $(1+1)/2 = 1$, dla heterozygoty *Aa* $(1+0)/2 = 0,5$, natomiast dla homozygoty nie zawierającej allelu *A* $(0+0)/2 = 0$.

W przypadku selektywnie neutralnych markerów genetycznych, dziedziczonych zgodnie z regułami Mendla (np. powszechnie stosowanych izoenzymów oraz mikrosatelitów), informacja niesiona przez pojedynczy locus może podlegać modyfikacjom na skutek działania czynników losowych, szczególnie prawdopodobnych przy mało licznej próbie [59]. Jednocześnie analiza większej liczby loci (tzw. metoda multilocus) w znacznym stopniu niweluje wpływ procesów stochastycznych i zwiększa szansę uchwycenia rzeczywistej zmienności genetycznej [76, 60]. Jednym ze sposobów jest obliczenie średniej wartości współczynnika autokorelacji dla wszystkich analizowanych loci. Niemniej jednak, w przypadku loci z allelami wielokrotnymi trudno obliczyć średnią wartość *I* dla całego locus. Należy bowiem pamiętać, że liczba niezależnych wartości współczynnika *I* jest zawsze o jeden mniejsza niż liczba alleli w locus [73]. Średnia dla locus powinna być zatem pochodną zmniejszonej o jeden liczby współczynników autokorelacji; problem jednak w tym, którą wartość odrzucić? Najczęściej odrzuca się wartość *I* dla allelu o najmniejszej częstości [7, 30, 43, 48, 49, 68, 72, 73], ale i takie podejście może nie być słuszne. Uważa się bowiem, że wartości autokorelacji alleli o niskiej frekwencji mogą być wyraźnym sygnałem istnienia procesów mikroewolucyjnych [18]. Efektywniejszą metodą multilocus jest mało jeszcze

popularna metoda zaproponowana przez Smouse'a i Peakalla [60], będąca wielowymiarową odmianą współczynnika *I* Morana. Polega ona na przekształceniu ekwiwalencji na wartość dystansu genetycznego między osobnikami. Dystans genetyczny staje się podstawą oceny kowariancji genetycznej w kolejnych klasach odległości. Z uwagi na to, że nie jest znany rozkład współczynnika autokorelacji uzyskanego metodą Smouse'a i Peakalla, do oceny istotności stosuje się testy nieparametryczne oparte na metodzie Monte Carlo. Polegają one na wielokrotnej (np. 1000 razy) randomizacji położenia osobników względem siebie, co pozwala na ocenę wartości oczekiwanej (średniej) oraz wartości progowych przedziału ufności [39].

Na koniec opisu metod statystycznych warto choć w kilku słowach wspomnieć o innej metodzie oceny autokorelacji przestrzennej – analizie liczby połączeń (ang. join-count). Nazwa metody sygnalizuje istotę analizy, czyli badanie liczby par osobników podobnych oraz niepodobnych w kolejnych klasach odległości [8, 63]. Upraszczając, jeżeli w danej klasie odległości liczba par osobników podobnych, tj. o takich samych genotypach, jest większa niż się oczekuje, oznacza to dodatnią autokorelację przestrzenną tego genotypu (w tej klasie odległości). Problem natury metodologicznej wynika z faktu, że możliwa liczba genotypów (*g*) rośnie bardzo szybko ze wzrostem liczby alleli (*a*), tj. $g = a(a + 1)/2$, co powoduje, że liczba możliwych par genotyp-genotyp (*p*) bardzo szybko staje się niewygodnie duża: $p = g(g + 1)/2$. Stąd metoda join-count jest praktyczna jedynie w przypadku, gdy liczba alleli, a tym samym liczba genotypów jest niewielka. Tym niemniej, metoda ta bardzo precyzyjnie opisuje przestrzenną strukturę genetyczną, ukazując badaczom, które z genotypów są autoskorelowane [16, 17, 24].

AUTOKORELACJA PRZESTRZENNA ZMIENNOŚCI GENETYCZNEJ

Wielu autorów zgodnie podkreśla fakt, że analiza autokorelacji przestrzennej za pomocą współczynnika *I* Morana jest bardzo czułą metodą statystyczną, która rejestruje najmniejsze

Tabela 2. Średnie wartości *I* Morana dla poszczególnych gatunkówTable 2. Average values of Moran's *I* for particular species

Gatunek Species	<i>I</i> Morana ¹ Moran's <i>I</i> ;	Źródło Source
Rośliny zielne i krzewinki:		
<i>Calluna vulgaris</i>	0,15	[48]
<i>Cryptotaenia canadensis</i>	0,49	[72]
<i>Delphinium nuttallianum</i>	0,20	[73]
<i>Ipomopsis aggregata</i>	0,10	[7]
<i>Osmorhiza claytonii</i>	0,34	[72]
<i>Plantago coronopus</i>	0,42	[33]
<i>Sanicula odorata</i> ;	0,29	[72]
Średnia	0,28	
Drzewa i krzewy		
<i>Acer saccharum</i>	0,10	[27]
<i>Acer saccharum</i>	0,02	[77]
<i>Helicteres brevispira</i>	0,28	[26]
<i>Camellia japonica</i>	0,06	[68]
<i>Fagus sylvatica</i>	0,20	[49]
<i>Gleditsia triacanthos</i>	0,09	[57]
<i>Maclura pomifera</i>	0,07	[57]
<i>Picea abies</i>	0,05	[28]
<i>Picea mariana</i>	0,01	[37]
<i>Pinus strobus</i> ;	0,06	[22]
<i>Quercus macrocarpa</i>	0,06	[29]
<i>Quercus petrea</i>	0,022	[67]
<i>Quercus petrea</i>	0,043	[67]
<i>Quercus robur</i>	0,02 ²	[67]
<i>Quercus robur</i>	0,01 ³	[67]
Średnia	0,07	[67]

¹ Średnia *I* Morana dla wszystkich analizowanych loci, dla pierwszej klasy dystansu,

² wyniki otrzymane dla loci izoenzymowych,

³ wyniki otrzymane dla loci mikrosatelitarnych,

¹ average Moran's *I* for all analysed loci, for the first distance class,

² results obtained for isozyme loci,

³ results obtained for microsatellite loci

choćby odchylenia od losowego rozmieszczenia cech [14, 15, 37, 64]. Znajomość sposobu rozmieszczenia alleli i genotypów w przestrzeni ma znaczenie podstawowe i może być wykorzystana w modelowaniu wewnątrzpopulacyjnych procesów genetycznych [20, 70]. Zignorowanie istnienia skupiskowej struktury genetycznej może prowadzić do mylnych wniosków analizy systemu kojarzenia [20]. Wzrost wsobności populacji potomnej może być efektem nie tylko nadmiernego samozapłodnienia, ale również koja-

zenia się najbliższych, genetycznie spokrewnionych osobników wykazujących tzw. strukturę rodową [6].

Głównym motywem badań wykorzystujących analizę autokorelacji przestrzennej jest istnienie przesłanek, że rozmieszczenie genów może być inne niż losowe. Skala tych prac jest bardzo różna, tym niemniej dominują analizy pojedynczych populacji. Wyniki dotychczasowych badań pozwalają stwierdzić, że skupianie się podobnych genetycznie osobników jest pra-

wpodobnie cechą dość powszechną, szczególnie u roślin zielnych (Tabela 2). Nie jest to bynajmniej zaskoczeniem, ponieważ wśród małych roślin skala wszelkich procesów dyspersji genów jest często mniejsza, niż w przypadku gatunków drzewiastych [72]. Wiele roślin zielnych to gatunki owadopylne, a taki sposób rozprzestrzeniania pyłku sprzyja niezbyt rozległej dyspersji [44, 46]. Niektórzy badacze uważają (patrz przegląd w: [69]), że na skutek behawioru owadów największy odsetek zapyleń zachodzi między sąsiadującymi osobnikami. W populacjach ostróżki (*Delphinium nuttallianum*) Waser [71] obserwował, że trzmiele zapylające ten gatunek odwiedzają kwiaty odległe od siebie nie więcej niż 1,5 m, a często znacznie bliższe. Wiadomo również, że niektóre owady zapamiętują obszar, z którego zbierają nektar i powracają tam wielokrotnie [69]. W wielu przypadkach obszar ten stanowi jedynie fragment łąki, a nawet jeden mały płat roślinności. Tym niemniej, nie oznacza to, że w populacjach roślin zielnych nie występuje również daleka dyspersja genów. Chociaż większość pyłku w populacji *D. nuttallianum* jest przenoszona pomiędzy najbliższymi sąsiadami, z całkowitej liczby zapyleń ok. 5 % zachodzi między osobnikami znacznie odległymi, nawet do 400 m. Zjawisko to może tłumaczyć brak zdecydowanie skupiskowej natury rozmieszczenia alleli w populacjach niektórych gatunków zielnych (np. *Ipomopsis aggregata*, Tabela 1).

Powszechny jest jednak pogląd, że daleki transport, a co za tym idzie – intensywny przepływ genów między populacjami jest domeną przede wszystkim dużych roślin, takich jak drzewa [14]. Dotyczy to szczególnie gatunków wiatropylnych, których pyłek może pokonywać imponujące wręcz odległości. Zdolne do kielkowania ziarna pyłku brzozy i sosny wyłapywano w Szwecji u wybrzeży Bałtyku, mimo iż tamtejsze populacje jeszcze nie pyliły [34, 45]. Zdaniem autorów prawdopodobne źródło pyłku mieściło się ok. 400 do 600 km na południe od miejsca przeznaczenia! Tak duży potencjał przepływu genów u drzew wiatropylnych sprawia, że nawet jeśli tylko niewielki procent pyłku jednego osobnika migruje na dalekie odległości,

wielkość ta w skali całej populacji staje się dostatecznie duża, aby zapewnić daleki ogólny przepływ genów i utrzymywać wysoką zmienność wewnątrz populacji [1]. Pozostaje pytanie, czy geny wędrujące na tak duże odległości będą potrafiły utrzymać się w nowym, obcym dla siebie siedlisku? Jest prawdopodobne, że nosiciele „obcych” genów będą wykazywali niższe dostosowanie do lokalnych warunków niż potomstwo populacji lokalnych [41]. W takim przypadku, jeśli tylko istnieje silna konkurencja między osobnikami, nowe geny nie zostaną w populacji utrwalone [47]. Ważną przesłanką, sugerującą intensywny przepływ genów u wielu gatunków drzew jest niewielki stopień zróżnicowania genetycznego między populacjami [46, 48]. Biorąc pod uwagę duże możliwości migracji pyłku, można tylko przypuszczać, że jeżeli nielosowe rozmieszczenie genów będzie obecne w populacji drzew wiatropylnych, głównych przyczyn takiego stanu rzeczy należy szukać przede wszystkim w sposobie rozsiewania nasion oraz w procesach doboru naturalnego [29, 37]. Nasiona wielu drzew, choćby przedstawicieli rodziny *Fagaceae*, nie wykazują specjalnych przystosowań do rozprzestrzeniania i niejednokrotnie kielkują w niedalekiej odległości od osobnika matecznego. Pamiętając, że nasiona tego samego drzewa (pół-rodzeństwo) niosą wiele wspólnych genów, możemy przypuszczać, że taki sposób rozsiewania może spowodować agregację przestrzenną jednakowych alleli. Jeżeli jednak przepływ genów poprzez pyłek będzie intensywny, autokorelacja genów będzie raczej niewielka. Niska autokorelacja przestrzenna w stadium siewek, w powiązaniu z konkurencją międzyosobniczą może sprawić, że nielosowa struktura przestrzenna zaniknie wraz ze spadkiem zagęszczenia populacji [14]. Zmniejszenie autokorelacji przestrzennej alleli wraz z wiekiem populacji obserwowano u tropikalnego drzewa *Cecropia obtusifolia* [21]. Mimo że wśród siewek istniała silna tendencja skupiskowa genotypów, brak było podobnej struktury w populacji osobników dojrzałych.

Metoda autokorelacji ma również swoje ograniczenia. Procesy dyspersji genów powinny oddziaływać jednakowo na wszystkie *loci* pod

warunkiem, że loci te nie podlegają wpływom doboru naturalnego [65]. Izoenzymy i mikro-satelity, wykorzystywane często w badaniach autokorelacji, generalnie uważane są za markery neutralne pod względem selekcyjnym. Tym niemniej, we wszystkich niemalże doniesieniach można dostrzec, że autokorelacje nie są jednako- kowe dla wszystkich loci, wskazując niekiedy na przeciwstawne tendencje w rozmieszczeniu genów w populacji (np. w populacji wrzosu (*Calluna vulgaris*) [48], klonu cukrowego (*Acer saccharum*) [77], czy sosny wydumowej (*Pinus contorta*) [20]). Różnice takie mogą wynikać z losowej natury procesów dyspersji i kojarzenia, czyli tzw. zmienności stochastycznej [59]. Zdajemy sobie sprawę, że im mniejsza będzie próba, tym większe pole działania dla czynników losowych, takich jak zmienność rekombinacyjna lub wynikająca z niezależnej segregacji [15], i tym większe może być odchylenie wyników próby od rzeczywistej tendencji. Być może, przyczyną niejednorodnego rozmieszczenia alleli między loci jest zróżnicowane oddziaływanie siedliska na poszczególne izoenzymy. Istnieje wiele przykładów zależności między czynnikami środowiska a występowaniem określonych genotypów izoenzymatycznych [3, 55].

Jak wspomniano, struktura przestrzenna populacji stabilizuje się w okresie ok. 30–50 pokoleń [13, 62, 65], a im populacja młodsza, tym większe są wahania autokorelacji przestrzennej genów. Dlatego, być może, wyniki dotyczące populacji drzew, szczególnie tych o znaczeniu gospodarczym, mogą obejmować strukturę niestabilizowaną, co mogłoby tłumaczyć nie tylko zmienność w obrębie badanych loci, ale również niską ogólną wartość współczynnika autokorelacji. Niestety, nie są znane autorom doniesienia dotyczące wielopokoleniowych badań populacji naturalnych. Wyjątek wśród populacji roślin drzewiastych stanowi gatunek *Atherosperma moschatum* (*Monimiaceae*), u którego obserwowano znaczną tendencję skupiskową jednakowych genotypów² [58]. Drzewo to jest owadopylne, zatem dyspersja pyłku jest raczej ograniczona, a owoce (pestkowce) w większości kieł-

kują bezpośrednio pod drzewem macierzystym, mimo iż są przystosowane do dalekiego rozprzestrzeniania. Fakt skupiania się osobników podobnych genetycznie jest łatwo wytłumaczalny, tym bardziej, że *A. moschatum* wykazuje również zdolność do rozmnażania wegetatywnego.

PODSUMOWANIE

Analiza przestrzennej struktury genetycznej stała się trwałym elementem opisu zmienności genetycznej populacji roślin, tym bardziej, że w chwili obecnej genetycy dysponują odpowiednimi narzędziami statystycznymi, tj. metodami autokorelacji przestrzennej. Dotychczasowe badania wykazują, że rozkład zmienności genetycznej u roślin jest nielosowy, zdeterminowany głównie przez zakres dyspersji pyłku i nasion. Przestrzenna struktura genetyczna kryje jednak jeszcze wiele niewiadomych. Niejednokrotnie trudno ustalić jednoznacznie przyczyny takiego czy innego rozmieszczenia genów. Być może istnieją pewne błędy w samej metodyce badań nad mechanizmami rozprzestrzeniania genów w populacji. Stosowane dotychczas markery izoenzymowe nie są wolne od wad. Notuje się bowiem przypadki sprzężeń między loci [9], kwestionowana jest również neutralność wobec selekcji niektórych systemów enzymatycznych [56]. Jest także prawdopodobne, że natura procesów wewnątrzpopulacyjnych jest na tyle złożona i zmienna w czasie, że badając jedynie drobny wycinek populacji, trudno jest uchwycić rzeczywistość istniejące prawidłowości.

Z drugiej strony warto podkreślić, że analiza autokorelacji przestrzennej jest jedyną metodą mierzącą przestrzenną strukturę genetyczną *sensu stricto*, bez odwoływania się do jakichkolwiek założeń i właściwości badanej zmienności, a szczególnie do stopnia pokrewieństwa między osobnikami. Dzięki wieloletnim badaniom teoretyków [2, 5, 13, 16, 17, 18, 23, 24, 32, 54, 59, 61, 62, 65] znane są relacje między autokorelacją przestrzenną zmienności genetycznej a potencjalnymi czynnikami ją determinującymi.

² Wyniki nie przytoczone w tabeli z uwagi na odmienną metodę autokorelacji – join-count

Większość procesów ekologicznych związanych jest ze zmiennością w przestrzeni i czasie [38]. Analiza przestrzennej autokorelacji zmienności genetycznej wiąże ze sobą procesy genetyczne i demograficzne zachodzące na poziomie populacji. Choć nie wskazuje przyczyn nielosowego rozmieszczenia genów, stanowi ważny element struktury genetycznej, który musi być brany pod uwagę w dyskusji na temat ochrony zasobów genowych populacji naturalnych.

LITERATURA

- [1] ADAMS W. T. 1992. Gene dispersal within forest tree populations. *New Forest* **6**: 217–240.
- [2] BARBUJANI G. 1987. Autocorrelation of gene frequencies under isolation by distance. *Genetics* **117**: 777–782.
- [3] BERGMANN F., GREGORIUS H.-R., SCHOLZ F. 1989. Isoenzymes, indicators of environmental impact on plants or environmentally stable gene markers? W: F. SCHOLZ, GREGORIUS H.-R., D. RUDIN (red.), *Genetic effect of air pollution in forest tree populations*. Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg.
- [4] BOCQUET-APPEL J.-P., BACRO J.-N. 1993. Isolation by distance, trend surface analysis and spatial autocorrelation. *Human Biology* **65**: 11–27.
- [5] BOCQUET-APPEL J.-P., SOKAL R. R. 1989. Spatial autocorrelation analysis of trend residuals in biological data. *Syst. Zool.* **38**: 333–341.
- [6] BURCZYK J. 1998. Systemy kojarzenia drzew iglastych. Wydawnictwo uczelniane WSP, Bydgoszcz.
- [7] CAMPBELL D. R., DOOLEY J. L. 1992. The spatial scale of genetic differentiation in a hummingbird-pollinated plant: comparison with models of isolation by distance. *Am. Nat.* **139**: 735–748.
- [8] CLIFF A. D., ORD J. K. 1981. Spatial processes: Models and applications. Pion Ltd., London.
- [9] CONKLE, M. T. 1981. Isozyme variation and linkage in six conifer species. Proceedings of the symposium on isozymes of North American forest trees and forest insects. *USDA For. Serv. Gen. Tech. Rep.* **48**: 11–17.
- [10] DEWEY S. E., HEYWOOD J. S. 1988. Spatial genetic structure in a population of *Psychotria nervosa*. I. Distribution of genotypes. *Evolution* **42**: 834–838.
- [11] DOLIGEZ A., BARIL C., JOLY H. I. 1998. Fine-spatial genetic structure with nonuniform distribution of individuals. *Genetics* **148**: 905–919.
- [12] ENNOS R. A. 1994. Estimating the relative rates of pollen and seed migration among plant populations. *Heredity* **72**: 250–259.
- [13] EPPERSON B. K. 1990. Spatial autocorrelation of genotypes under directional selection. *Genetics* **124**: 757–771.
- [14] EPPERSON B. K. 1992. Spatial structure of genetic variation within populations of forest trees. *New Forests* **6**: 257–278.
- [15] EPPERSON B. K. 1993. Recent advances in correlation studies of spatial patterns of genetic variation. *Evol. Biol.* **27**: 95–155.
- [16] EPPERSON B. K. 1995. Spatial distributions of genotypes under isolation by distance. *Genetics* **140**: 1431–1440.
- [17] EPPERSON B. K. 1995. Spatial structure of two-locus genotypes under isolation by distance. *Genetics* **140**: 365–375.
- [18] EPPERSON B. K. 1995. Fine-scale spatial structure: correlations for individual genotypes differ from those for local gene frequencies. *Evolution* **49**: 1022–1026.
- [19] EPPERSON B. K. 1999. Gustave Malécot, 1911–1998: Population genetics Founding Father. *Genetics* **152**: 477–484.
- [20] EPPERSON B. K., ALLARD R. W. 1989. Spatial autocorrelation analysis of the distribution of genotypes within populations of lodgepole pine. *Genetics* **121**: 369–377.
- [21] EPPERSON B. K., ALVAREZ-BUYLLA E. A. 1997. Limited seed dispersal and genetic structure in life stages of *Cecropia obtusifolia*. *Evolution* **51**: 275–282.
- [22] EPPERSON B. K., CHUNG M. G. 2001. Spatial genetic structure of allozyme polymorphism within populations of *Pinus strobus* (Pinaceae). *Am. J. Bot.* **88**: 1006–1010.
- [23] EPPERSON B. K., LI T.-Q. 1996. Measurement of genetic structure within populations using Moran's spatial autocorrelation statistics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 10528–10532.
- [24] EPPERSON B. K., LI T.-Q. 1997. Gene dispersal and genetic structure. *Evolution* **51**: 672–681.
- [25] FALIŃSKA K. 1997. Ekologia roślin. Podstawy teoretyczne, populacja, zbiorowisko, procesy. PWN, Warszawa.
- [26] FRANCESCINELLI E. V., KESSELI R. 1999. Population structure and gene flow of the Brazilian shrub *Helicteres brevispira*. *Heredity* **82**: 355–363.
- [27] GEBUREK T. 1993. Are genes randomly distributed over space in mature populations of Sugar Maple (*Acer saccharum* Marsh.)? *Ann. Bot.* **71**: 217–222.
- [28] GEBUREK T. 1998. Genetic variation of norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) populations in Austria. I. Digenic disequilibrium and microspatial patterns derived from allozymes. *Forest Genetics* **5**: 221–230.
- [29] GEBUREK T., TRIPP-KNOWLES P. 1994. Genetic architecture in bur oak, *Quercus macrocarpa* (Fagaceae), inferred by means of spatial autocorrelation analysis. *Pl. Syst. Evol.* **189**: 63–74.
- [30] GEHRING J. L., DELPH L. F. 1999. Fine-scale genetic structure and clinal variation in *Silene acaulis* despite high gene flow. *Heredity* **82**: 628–637.
- [31] HAMRICK J. L., ALLARD R. W. 1972. Microgeographical variation in allozyme frequencies in *Avena barbata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **69**: 2100–2104.
- [32] HARDY O. J., VEKEMANS X. 1999. Isolation by distance in a continuous population: reconclination analysis between spatial autocorrelation analysis and population Genetics models. *Heredity* **83**: 145–154.
- [33] HEYWOOD J. S. 1991. Spatial analysis of genetic variation in plant populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **22**: 335–355.

- [34] HJELMROOS M. 1990. Evidence of long-distance transport of *Betula* pollen. *Grana* **30**: 215–228.
- [35] JONES D. A., WILKINS D. A. 1977. Zmienność i przystosowanie roślin. PWN, Warszawa.
- [36] KERSHAW K. A. 1978. Ilościowa i dynamiczna ekologia roślin. PWN, Warszawa.
- [37] KNOWLES P. 1991. Spatial genetic structure within two natural stands of black spruce (*Picea mariana* (Mill.) B. S.P.). *Silvae genetica* **40**: 13–19.
- [38] KOENIG W. D. 1999. Spatial autocorrelation of ecological phenomena. *Trends in Ecology & Evolution* **14**: 22–26.
- [39] KORONACKI J., MIELNICZUK J. 2001. Statystyka dla studentów kierunków technicznych i przyrodniczych. WNT, Warszawa.
- [40] KRZANOWSKA H., ŁOMNICKI A., RAFIŃSKI J. 1982. Wprowadzenie do genetyki populacji. PWN, Warszawa.
- [41] LEDIG F. T. 1986. Heterozygosity, heterosis, and fitness in outbreeding plants. W: M. E. SOULE (red.), *Conservation biology: the science of scarcity and diversity*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- [42] LEGENDRE P. 1993. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? *Ecology* **74**: 1659–1673.
- [43] LEONARDI S., MENOZZI P. 1996. Spatial structure of genetic variability in natural stands of *Fagus sylvatica* L. (beech) in Italy. *Heredity* **77**: 359–368.
- [44] LEVIN D. A., KERSTER H. W. 1974. Gene flow in seed plants. W: T. DOBZHANSKY, M. T. HECHT, W. C. STEERE (red.), *Evolutionary Biology* **7**. Plenum Press, New York, s. 139–220.
- [45] LINDGREN D., PAULE L., XIHUAN S., YAZDANI R., SEGERSTRÖM U., WALLIN J.-E., LEJDEBRO M. 1995. Can viable pollen carry Scots pine genes over long distances? *Grana* **34**: 64–69.
- [46] LOVELESS M. D., HAMRICK J. L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **15**: 65–95.
- [47] ŁOMNICKI A. 1997. Dobór, dryf i inne czynniki kształtujące częstości genów. W: H. KRZANOWSKA, A. ŁOMNICKI (red.), *Zarys mechanizmów ewolucji*. PWN, Warszawa.
- [48] MAHY G., VEKEMANS X., JACQUEMART A.-L. 1999. Patterns of allozymic variation within *Calluna vulgaris* populations at seed bank and adult stages. *Heredity* **82**: 432–440.
- [49] MERZEAU D., COMPS B., THIÉBAUT B., CUGUEN J., LE TOUZEY J. 1994. Genetic structure of natural stands of *Fagus sylvatica* L. (beech). *Heredity* **72**: 269–277.
- [50] MORAN P. A. P. 1948. The interpretation of statistical maps. *J. R. Stat. Soc.* **10**: 243–251.
- [51] NAGYLAKI T. 1989. Gustave Malécot and the transition from classical to modern population genetics. *Genetics* **122**: 253–268.
- [52] NAMKOONG G., KOSHY M. P., AITKEN S. 2000. Selection. W: A. YOUNG, D. BOSCHER, T. BOYLE (red.), *Forest conservation genetics*. CISRO Publishing, Collingwood.
- [53] NORCLIFFE G. B. 1986. Statystyka dla geografów. PWN, Warszawa.
- [54] OHSAWA R., FURUYA N., UKAI Y. 1993. Effect of spatially restricted pollen flow on spatial genetic structure of an animal-pollinated allogamous plant population. *Heredity* **71**: 64–73.
- [55] PRUS-GŁOWACKI W., GODZIK S. 1995. Genetic structure of *Picea abies* trees tolerant and sensitive to industrial pollution. *Silvae Genetica*, **44**: 62–65.
- [56] RAYBOULD A. F., MOGG, R. J., CLARKE R. T. 1996. The genetic structure of *Beta vulgaris* ssp. *maritima* (sea beet) populations: RFLPs and isozymes show different patterns of gene flow. *Heredity* **77**: 245–250.
- [57] SCHNABEL A., LAUSHMAN R. H., HAMRICK J. L. 1991. Comparative genetic structure of two cooccurring tree species, *Maclura pomifera* (Moraceae) and *Gleditsia triacanthos* (Leguminosae). *Heredity* **67**: 357–364.
- [58] SHAPCOTT A. 1995. The spatial genetic structure in natural populations of the Australian temperate rainforest tree *Atherosperma moschatum* (Labill.) (Monimaniaceae). *Heredity* **74**: 28–38.
- [59] SLATKIN M., ARTER H. E. 1991. Spatial autocorrelation methods in population genetics. *Am. Nat.* **138**: 499–517.
- [60] SMOUSE P. E., PEAKALL R. 1999. Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity* **82**: 561–573.
- [61] SOKAL R. R., JACQUEZ G. M. 1991. Testing inferences about microevolutionary processes by means of spatial autocorrelation analysis. *Evolution* **45**: 152–168.
- [62] SOKAL R. R., JACQUEZ G. M., WOOTEN M. C. 1989. Spatial autocorrelation analysis of migration and selection. *Genetics* **121**: 845–855.
- [63] SOKAL R. R., ODEN N. L. 1978. Spatial autocorrelation in biology I: Methodology. *Biol. J. Linn. Soc.* **10**: 199–228.
- [64] SOKAL R. R., ODEN N. L. 1991. Spatial autocorrelation analysis as an inferential tool in population genetics. *Am. Nat.* **138**: 518–521.
- [65] SOKAL R. R., WARTENBERG D. E. 1983. A test of spatial autocorrelation analysis using an isolation-by-distance model. *Genetics* **105**: 219–237.
- [66] SPIESS E. B. 1989. Genes in populations. John Wiley and Sons, Inc.
- [67] STREIFF R., LABBE T., BACILIERI R., STEINKELLNER H., GŁOSSL J., KREMER A. 1998. Within-population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. assessed with isozymes and microsatellites. *Mol. Ecol.* **7**: 317–328.
- [68] UENO S., TOMARU N., YOSHIMARU H., MANABE T., YAMAMOTO S. 2000. Genetic structure of *Camellia japonica* L. in an old-growth evergreen forest, Tsushima, Japan. *Mol. Ecol.* **9**: 647–656.
- [69] WADDINGTON K. D. 1983. Foraging behavior of pollinators, w: L. REAL (red.), *Pollination Biology*. Academic Press.
- [70] WAGNER D. B., SUN Z.-X., GOVINDARAJU D. R., DANCİK B. P. 1991. Spatial patterns of chloroplast DNA and cone morphology variation within populations of a *Pinus banksiana*-*Pinus contorta* sympatric region. *Am. Nat.* **138**: 156–170.
- [71] WASER N. M. 1988. Comparative pollen and dye transfer by natural pollinators of *Delphinium nelsonii*. *Functional Ecology* **2**: 41–48.

- [72] WILLIAMS Ch. F. 1994. Genetic consequences of seed dispersal in three sympatric forest herbs. II. Microspatial genetic structure within populations. *Evolution* **48**: 1959–1972.
- [73] WILLIAMS Ch. F., WASER N. M. 1999. Spatial genetic structure of *Delphinium nuttallianum* populations: inferences about gene flow. *Heredity* **83**:541–550.
- [74] WRIGHT S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* **28**: 114–138.
- [75] WRIGHT S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* **15**: 323–354.
- [76] YEH F. 2000. Population genetics. W: A. YOUNG, D. BOSHIER, T. BOYLE (red.), *Forest conservation genetics*. CISRO Publishing, Collingwood.
- [77] YOUNG A. G., MERRIAM H. G. 1994. Effect of forest fragmentation on the spatial genetic structure of *Acer saccharum* Marsh. (sugar maple) populations. *Heredity* **72**: 201–208.