

Az európai tiszafa (*Taxus baccata* L.) genetikai vizsgálatai

Az eddig fellelt levél- és hajtásfossziliák alapján a tiszafának (*Taxus baccata* L.) már a terciér geológiai korszakban nagy volt az elterjedési területe Közép-Európában. A pollenanalitikai vizsgálatok alapján az utolsó jégkorszak előtt, mintegy 12 000 évvél ezelőtt, Közép-Európa egyes részein pollenmennyisége elérte a 24%-ot (Heinz-Sommer, 1995). Az elegyes tölgyes- és a bükkorban a tiszafa térfoglalása csökkent, amelyhez a későbbi korszakokban az emberi tevékenység is jelentősen hozzájárult. A 15. század végén Angliában és Skóciában a tiszafa, amely az íjkészítés alapanyaga volt, szinte teljesen kipusztult, ezért Dél-Németországból és a Kárpátok erdeiből exportáltak alapanyagot az angol íjkészítők. Az erdőalakok átalakulása során, amelynek következtében a sarj- és közp-erdők helyén a szálerdők kialakítására törekedtek, még tovább csökkentek a tiszafa-állományok. A tarvágásos üzemmód elterjedése, és különösen a nagy vadlétszám, gyakorlatilag számos vidéken megpecsételte a faj sorsát.

A legelső citológiai vizsgálatokat a *Taxus* nemzetségben Dark (1932) végezte el, megállapítva, hogy az európai tiszafa $2n=24$ kromoszómával rendelkezik. A kromoszómák nagy része metacentrikus (a kromoszóma mindkét karja többé-kevésbé egyenlő hosszúságú), azonban a faj rendelkezik két szubmetacentrikus kromoszómával is (Bialok, 1978). A poliploidia (a szomatikus sejtekben nem kettő, hanem három vagy esetleg több kromoszóma-szerelvény található) nem ismert az európai tiszafánál (Thomas – Polwart, 2003).

A nukleotidsorrend megváltozása előidézi az aminosav sorrendjének, illetve az enzimek megváltozását. Mivel e folyamat összességében az enzim molekulásúlyának megváltozását vonja maga után, így az egyedek közötti különbségeket elektromos térben ki lehet mutatni (elektroforézis). E genetikai

vizsgálat az 1970-es évektől került széleskörűen alkalmazásra az erdei fajok esetében. Az 1990-es évektől kezdve azonban az európai tiszafa izoenzim (azonos funkciójú enzimvariánsok) vizsgálatai kerültek a kutatás homlokterébe, ennek keretében Lewandowski és munkatársai (Lewandowski et al., 1992, 1995) 11 enzim 22 lókuszt elemeztek, és 11 lókusznál tudtak polimorfizmust kimutatni. Egy későbbi vizsgálatukban (más enzimeket vizsgálva) az igen nagy populáción belüli genetikai diverzitást a faj kétlakúságával, a beporzás módjával, a magas életkorával magyarázták. Hertel és Kohlstock (1996), valamint Hertel (1996) elemezték az egyes izoenzimek lokális előfordulását Németország Mecklenburg–Vorpommern tartományában lévő populációkban, és azt állapították meg, hogy egyes lókusztok túlnyomó részben csak a tartomány belsejében, míg mások inkább a tengerparti részekben dominálnak.

A Random Amplified Polymorphism (RAPD) DNA technika kifejlesztése után megindultak az erdei fás növények, többek között a tiszafa-populációk vizsgálata. Collins és munkatársai (Collins et al., 2003) három tiszafafaj és hibridjeik RAPD és cpDNS elemzését végezték el, melynek során főkomponens-analízis segítségével el tudták különíteni az egyes fajokat és hibridjeiket. (Ez jelenleg is alkalmazott módszer a kertészeti változatok elkülönítésében.)

HILFIKER és munkatársai (HILFIKER et al, 2004a, 2004b) voltak az elsők, akik a tiszafa RAPD markerrel történő vizsgálatához többváltozós statisztikai kiértékelést is felhasználtak.

Míg a kodomináns biokémiai és genetikai markerek (izoenzim, RFLP,

mikroszatellit) esetében az egyedek pontos genotípusának meghatározása lehetséges, s így a populáció-paraméterek megfelelő pontossággal becsülhetők, addig a RAPD esetében erős korlátozást jelent a lókusztok dominanciája, s emiatt egyes lókusztokon a minta variációjára növekszik; a genotípus-gyakoriságok, a populáción belüli és a populációk közötti heterozigóta-becslés bizonytalan lesz. Lynch és Miligan (1994) kidolgozta azokat a lépéseket és mintavételi feltételeket, amelyek segítségével a torzítás minimalizálható, így a '90-es évek közepétől lehetőség nyílt a RAPD-technika eredményeinek pontosabb számszerűsítésére.

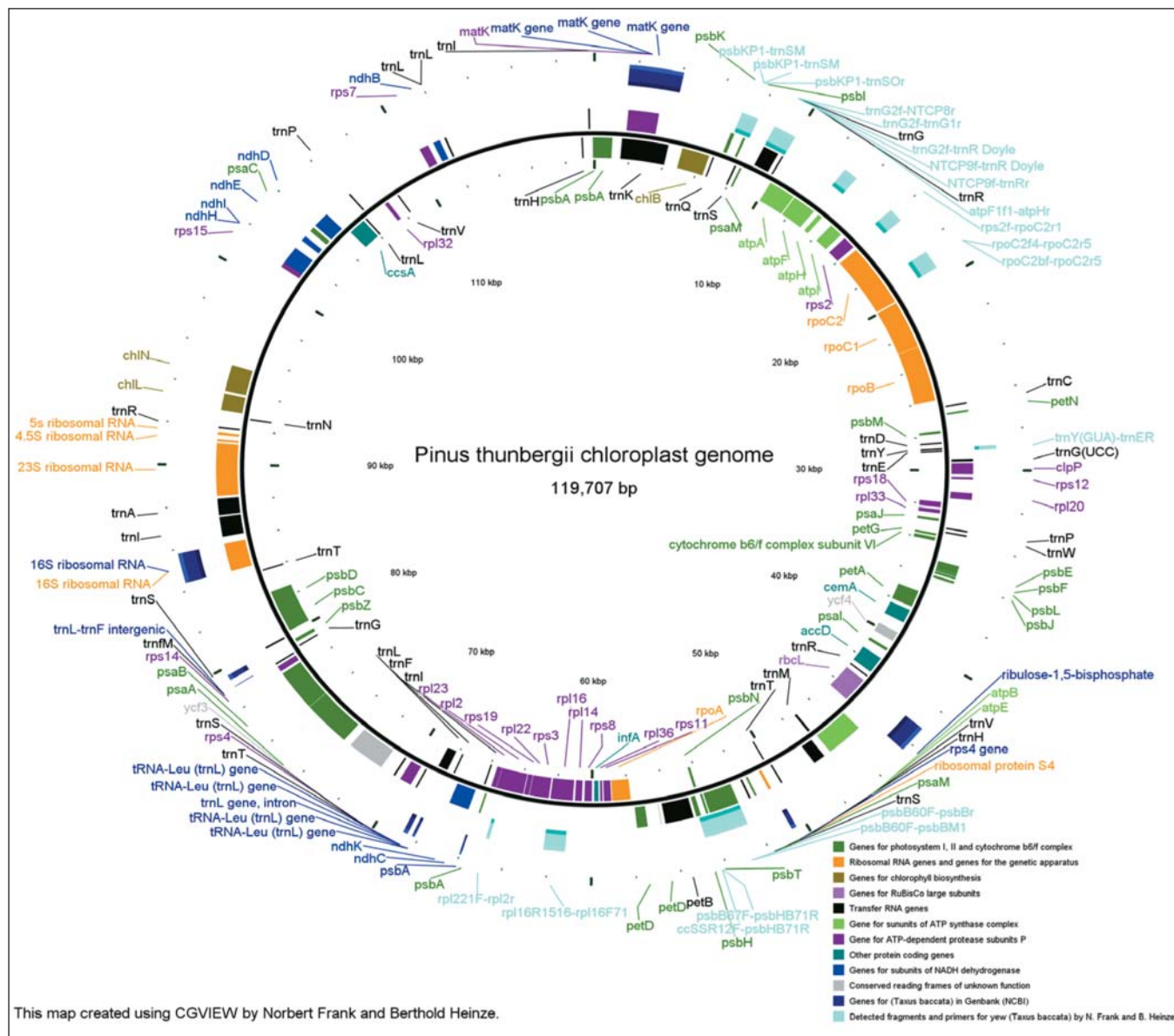
A szentgáli tiszafásból, valamint Németországból kapott tiszafahajtásokból kivont DNS RAPD elemzése alapján kimutattuk, hogy egyes németországi származások jobban hasonlítanak a szentgálihoz, mint a saját országon belülről gyűjtöttekhez. Ez egyrészt magyarázható a statisztikailag kevés mintaszámmal, de emellett azzal is, hogy azonos „refugium területről” származtak az állományok ősei.

A fás szárú növények genetikai vizsgálatában az egyik legelterjedtebb technika az RFLP és a mikroszatellit markerek alkalmazása. Az RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) restrikciós endonukleázokkal emésztik a DNS-t, így, ha egy DNS-fragmentum egy másiktól legalább egy hasítóhelyben különbözik, akkor ez is lehetőséget ad annak kimutatására. Ehhez természetesen ismerni kell azokat az enzimeket, amelyekkel ezt a polimorfizmust ki lehet mutatni. A módszer egyik nagy hátránya, hogy idő-, pénz- és nagyon munkaigényes, ezért a kutatások megkezdése során a más fa-

AZ ÉV FÁJA. Ezer évig is élhet, a rák elleni harcban segít a mérge, sokan azonban dísznövényként ismerik – ez a tiszafa, amelyet az Országos Erdészeti Egyesület tájékoztatása szerint januárban az év fájává választottak. A kitüntetettnek minden évben nagyobb figyelmet szentel az erdészeti szakma és kutatás, bemutatása pedig az erdei iskolai programok és az erdészeti ismeretterjesztés kiemelt témája lesz. Az idei választott a hazai erdőtársulásokban leginkább érdekes színtelként, ritka elegyfaként fordul elő. Mérgező voltára tekintettel korábban ördög- vagy halálfa-ként is emlegették. A történelmi Magyarország területén élő legnagyobb példány átmérője tőben 120 centiméter volt, ennek tuskóját az 1885-ös budapesti kiállításon be is mutatták.

(Magyar Nemzet)

* NyME



1. ábra: A *Pinus thunbergii* és a *Taxus baccata* kloroplasztján lévő gének

jokban már jól működő enzimekkel érdemes a vizsgálatokat megkezdeni. Sajnos a tiszafa esetében még erre is alig van lehetőség, mivel jól működő, genetikai polimorfizmust mutató enzimek – jelenlegi ismereteink szerint – nincsenek. Ezért az NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) adatbázisában lévő fenyőfajok kloroplaszt-szerkezetének felhasználásával megpróbáltuk új, hatékonyan működő enzimeket találni, amelyekkel ez a polimorfizmus detektálható. Ehhez a *Pinus thunbergii* Pal. (syn.: *Pinus thunbergiana*) japán feketefenyő bizonyult a legmegfelelőbbnek. Az enzimek tesztelése után 19 olyan primert sikerült találni, amelyek egyrészt eddig nem szerepeltek a NCBI adatbázisában, másrészt újabb polimorfizmus-kimutatósokra alkalmasak.

Jelenleg az egyik legelterjedtebb vizsgálati módszer a mikroszatellit-

elemzés. Ennek során rövid (5-8 bázispár) olyan DNS-szakaszokat amplifikálnak, amelyek nagy számban fordulnak elő, és jelentős változatosságot mutatnak az adott élőlényben. Ez az eljárás is alkalmas nemcsak a sejtmagi, hanem az organelum-DNS (kloroplaszt, mitokondrium) polimorfizmusának kimutatására. Mivel a mikroszatellit-szakaszok képezik a DNS legváltozatosabb részét, ezért kiválóan alkalmas genotípusok és



rokonági kapcsolatok detektálására. A mikroszatellit vizsgálatok egyes lókuszon heterozigóta-többletet, míg másokon heterozigóta-hiányt mutattak. A megfigyelt heterozigóta-többlet az adott lókuszon azt jelzi, hogy nem egyenlő mértékben járulnak hozzá a párosodó egyedek a hím- és nőivarú gaméták allélgazsághoz. Ezzel szemben a számított heterozigóta-hiány a beltenyésződésre utal.

Mindezen vizsgálatok alapján megerősítést nyert, hogy az izoenzim polimorfizmus „gazdasága” és a cpDNS polimorfizmus hiánya, illetve „alacsony” jelenléte alapján a tiszafa (*Taxus baccata*) genetikai diverzitása nagyon hasonlít az európai erdők egyik domináns kompetitorához, a bükkhöz (*Fagus sylvatica*). Ezen hasonlóságot – több szerző szerint – akár a palacknyak-effektus is okozhatja.