

# A hazai nyár természetes felújításának vizsgálata genetikai markerekkel

dr. Benke Attila<sup>1</sup>, Limp Tibor<sup>2</sup> Dr. Cseke Klára<sup>3</sup>, Dr. Borovics Attila<sup>4</sup>



**Immár több évtizedes múltra tekint vissza a genetikai markerek alkalmazása az erdészeti szempontból jelentős fajokkal kapcsolatos kutatásokban. Segítségükkel egyes fajok állományai, populációi vagy akár magtermesztő ültetvényből származó szaporítóanyag-tételek genetikai változatossága, fajok, faj alatti egységek genetikai kapcsolata éppúgy vizsgálható, mint például a morfológiailag nehezen elkülöníthető fajok, hibridek aránya elegyes állományokban. Írásunkban egy egyedszintű azonositást lehetővé tevő módszer gyakorlati alkalmazásának eredményeiről adunk számot a hazai nyár sarjújulat-összetételének vizsgálata kapcsán.**

A sarjújulat-összetétel vizsgálatára a Kisalföldi Erdőgazdaság Zrt. Győri Erdészetiének gazdálkodási területén található Ásványráró 8F erdőrészletben került sor. A cél a felújítás során megjelent 'Villafranca' és szürke nyár gyökérsarjgyedek elegyarányának a meghatározása volt.

## Villafranca vagy szürke nyár?

A korábbi nemesítő jelzése alapján 'I-58/57'-es fehér nyárként is ismert, Olaszországban nemesített 'Villafranca' (*Populus alba* cv. Villafranca) elsősorban gyors növekedése, valamint fás dug-

ványról történő könnyű szaporíthatósága folytán terjed, terjedt el Magyarországon. A fajtát faültetvényekbe, de helyenként díszfaként is telepítik. Ültetvényyszerűen természetve fatermése közepes nyárfa termőhelyeken megközelíti, határtermőhelyeken pedig akár meg is haladhatja a nemes nyárakét. Tekintettel arra, hogy tisztán fehér nyár származású, sarjgyedeinek elkülönítése más fehér nyár vagy fehér nyár jellegű szürke nyár sarjgyedektől morfológiai alapon nehézségekbe ütközhet.

A 2014 elején tarvágással véghasznált anyaállomány fajajösszetétele a hatályos üzemterv szerint a következő volt: fehér fűz 49%, 'Villafranca' 36%, egyéb nemes nyár 10%, szürke nyár 5%. Az erdészet szakembereinek megfigyelése szerint azonban a szürke nyár elegyaránya jóval magasabb volt a véghasználat előtt, mint az üzemtervben szereplő érték (mintegy 30%), melyet a tarvágást követő vegetációs időszak során megjelent gyökérsarjújulat összetétele is igazolni látszott (megfigyelések szerint a zömében *Leuce* nyár alkotta újulatban igen magas volt a szürke nyár egyedeinek az aránya).

Emiatt az erdészet vezetése kezdeményezte az üzemtervi előírás módosítását a felújítási mód tekintetében hazai nyár mesterséges felújításról hazai nyár természetes felújításra. Ahhoz azonban, hogy a hazai nyár újulat-összetétele, vagyis a 'Villafranca' fajta elegyaránya a *Leuce* nyár újulatán belül szabatosan meghatározható legyen, genetikai vizsgálatra volt szükség, amelyet a NAIK Erdészeti Tudományos Intézet végzett el.

## Változatos szakaszok

A genetikai vizsgálatokban alkalmazott módszerek jelentős része a DNS óriásmolekula nagy változatosságot mutató szakaszainak elemzésén, összehasonlításán alapul, azaz a molekula teljes méretéhez képest egészen kicsi, de annál informatívabb DNS-darabokat vizsgál.

A cél az ezen célszekvenciákban meglévő eltérések feltárása, ami végső soron elvezethet egy adott egyed genetikai ujjlenyomatának meghatározásá-

hoz. Az általunk alkalmazott módszer rövid, 2-5 bázispárból álló szekvenciaismétlődéseket vizsgál (a nevét is innen kapta: SSR – *Simple Sequence Repeat*, azaz egyszerű szekvenciaismétlődés), melyek átlagosan 20-40 bázispár hosszúságú szakaszokba tömörülnek a genom nem kódoló régióiban, egyenletes eloszlásúak, és megfelelő változatosságot mutatnak.

Minél több ilyen nagy változatosságú helyet vizsgálunk párhuzamosan, annál nagyobb az elemzés felbontóképessége, annál biztosabban tudjuk az egyedeket, vagyis a vad populáció egyedeit és az egyetlen genotípusból álló fajtát elkülöníteni. A bemutatott vizsgálat során 8 ilyen érzékeny területet (génhelyet) vizsgáltunk egyszerre, ami kellően nagyszámú kombinációs lehetőséget jelentett az egyedek elkülönítéséhez.



1. kép: Ásványráró 8F erdőrészlet a mintavétel időpontjában

## Mintagyűjtés

Az Ásványráró 8F erdőrészletben a mintavétel időpontjában jó minőségű, sűrű, embermagasságot meghaladó méretű, zömében *Leuce* nyár egyedekből álló sarjújulat volt megfigyelhető (1. kép).

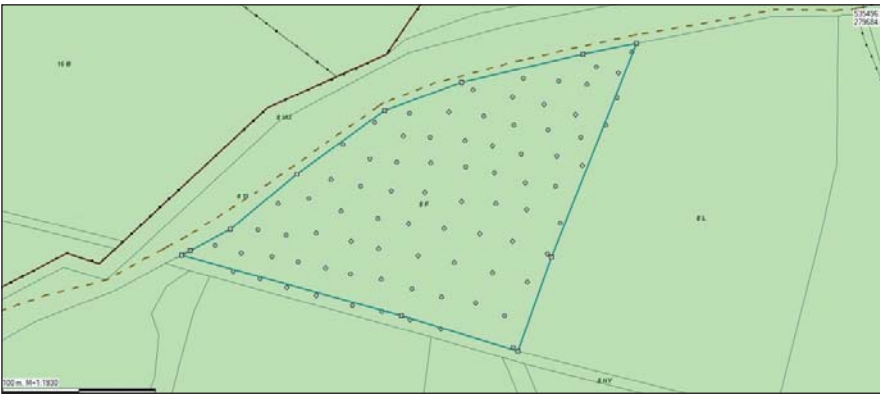
Az erdőrészletben 2015 májusában végezett levélmintagyűjtés alkalmával összesen 80 *Leuce* nyár sarjgyedről gyűjtöttünk növénymintákat (a mintavételi pontokat az 1. ábra szemlélteti). A levelek kiválasztásakor figyelemmel voltunk arra, hogy a genetikai szennyeződések elkerülésére azok károsítástól mentesek legyenek. Referenciaminta céljára a NAIK ERTI Bajti Kísérleti Cse-

<sup>1</sup> tudományos munkatárs, NAIK Erdészeti Tudományos Intézet, Sárospatak

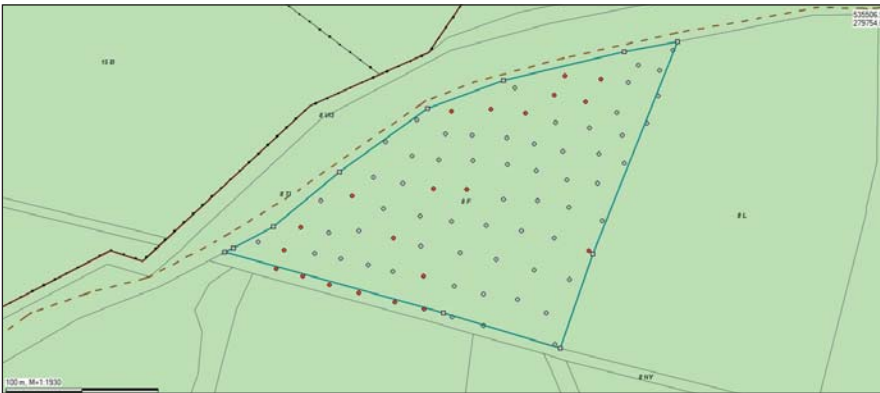
<sup>2</sup> erdészeti igazgató, KAEG Zrt. Győri Erdészeti

<sup>3</sup> tudományos főmunkatárs, NAIK Erdészeti Tudományos Intézet, Sárospatak

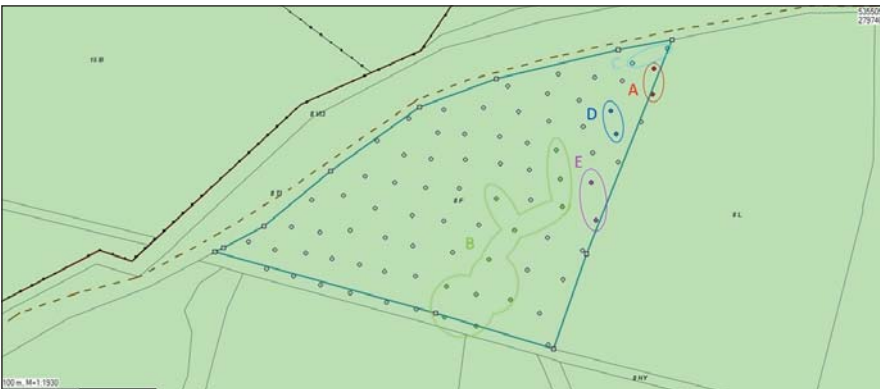
<sup>4</sup> intézetigazgató, NAIK Erdészeti Tudományos Intézet, Sárospatak



1. ábra: Mintavételi pontok az erdőrésztlet területén (a szegélyen található mintavételi pontok az állományon belülrre estek, csupán a helymeghatározás bizonytalansága folytán kerültek a térképen az erdőrésztlet határára kívülre)



2. ábra: *Populus alba* cv. 'Villafranca' egyedek elhelyezkedése az erdőrésztletben



3. ábra: A kísérleti területen azonosított klóncsoportok elhelyezkedése

metekertjében található központi törzsültetvényben gyűjtöttünk 'Villafranca' levélmintát.

### DNS-kivonás és -vizsgálat

A genetikai vizsgálatokat a NAIK ERTI Sárvári Erdészeti Genetikai Laboratóriumában végeztük. A növényi DNS-t a fagyasztva tárolt levelekből a QIAGEN cég Dneasy Plant Mini Kijével vontuk ki. A több lépésből álló kivonási folyamat eredménye mintegy 200 µl nagy tisztaságú DNS-oldat lett, melyet a további felhasználásig hűtve tároltunk. A DNS-oldatból 50 µl-i mennyiséget mínusz 80°C-on tárolunk tovább, hogy megőrizzük az egyedek genetikai állományának további vizsgálatáig.

Az SSR vizsgálatokhoz 8 primert használtunk fel, melyek mindegyike polimorfnek bizonyult a vizsgált növényanyag tekintetében. A felhasznált primerek a következők voltak: WPMS09, WPMS14, WPMS16, WPMS18, WPMS20, valamint PMGC14, PMGC2060 és PMGC2163.

A szelektív genomszorzást PCR reakcióval (*Polimerase Chain Reaction*) végeztük el. A PCR vizsgálatot követően a reakció sikerességét gélelektroforézissel ellenőriztük. A felszaporított fragmentek elválasztása ABI PRIZM™ 3100 Genetic Analyzer készülékkel történt, a keletkezett fragmentek hosszát GeneMapper szoftver segítségével határoztuk meg.

Az egyedenként kapott alléladatokat ezt követően GenALEX 6.5 szoftverrel elemeztük. A program *Multilocus* alkalmazása segítségével meghatároztuk a növénymintában előforduló azonos alléllösszetételű egyedeket.

### Kiértékelés

A vizsgálatok során nyert alléladatok alapján összesen 21 olyan gyökérsarj egyedet azonosítottunk, melyek alléllösszetétele megegyezett a központi törzsültetvényből gyűjtött 'Villafranca' referenciamintáéval. Ezek alapján a 'Villafranca' fajta elegyaránya a felújítási területen a *Leuce* nyár egyedek között 26,25% lett. Az azonosított 'Villafranca' egyedek elhelyezkedését piros színű pontokkal a 2. ábra szemlélteti.

Látható, hogy elsősorban az Ásványráró 8E erdőrésztlettel határos oldalon, valamint az erdőrésztlet északi szélén helyezkednek el a fehérynárfajta egyedek.

Tekintettel a 'Villafranca' egyedek 30% alatti elegyarányára, a Győri Erdészet kezdeményezte az előírt mesterséges hazainyár-felújítás hazai nyár természetes felújításra történő módosítását a Vas Megyei Kormányhivatal Erdőfelügyeleti Osztályán. A kormányhivatal a vizsgálati eredmények alapján engedélyezte az erdőtervi előírás módosítását.

A vizsgálat során a 'Villafranca' fajtán kívül összesen öt olyan genotípust azonosítottunk, melyek egynél több egyedben voltak kimutathatók. Az öt csoportból négy esetben két egyed mutatott azonos alléllösszetételt (A, C, D és E csoportok), míg az ötödik (B) esetben 11 egyed alkotta a sarjcsoportot (természetesen a mintázott egyedeket figyelembe véve; a sarjcsoportok tényleges kiterjedése ennél nagyobb is lehet). A sarjegyedek elhelyezkedését a 3. ábra szemlélteti (az azonos sarjcsoporthoz tartozó egyedeket azonos színnel emeltük ki).

Külön említést érdemel a 11 egyed magába foglaló B sarjcsoport, melynek két legtávolabbi egyedének becsült távolsága 130 méter. A sarjegyedek által lefedett terület Digiterra Explorer 7 programmal becsült kiterjedése 0,4162 hektár.

A begyűjtött 80 minta vizsgálata során összesen 41 egyedi genotípust azonosítottunk. Ennek elsősorban az ökológiai jelentősége nagy, hiszen az erdőrésztletben létrejött természetes *Leuce* nyár sarjállomány genetikai változatosága magasnak tekinthető. 🌳