

Nyugat-magyarországi Egyetem
Erdőmérnöki Kar

Doktori (PhD) értekezés tézisei

A *Leuce* szekcióba tartozó hazai nyárok dunántúli
természetes eredetű állományainak populációgenetikai
vizsgálata

Benke Attila

Sopron
2014

Doktori iskola: Roth Gyula Erdészeti és Vadgazdálkodási
Tudományok Doktori Iskola

Doktori iskola vezetője: Prof. Dr. Faragó Sándor

Program: Erdei ökoszisztémák ökológiája és diverzitása

Program vezetője: Prof. Dr. Mátyás Csaba

Témavezető: Prof. Dr. Mátyás Csaba

Bevezetés és témamegjelölés

A hazai nyárok természetes populációinak egyedszáma, köszönhetően elsősorban a nagyobb folyókat érintő szabályozási munkálatoknak, a síkvidéki elterjedési területük jelentős részén preferált nemesnyár természetésnek, valamint esetenként hátrányos szakmai megítélésüknek, az elmúlt évszázadok során jelentősen lecsökkent. A számos értékes természetes erdőtársulásban fő- vagy elegyfajként jelen lévő nyárfajok genetikai diverzitásának felmérése ezért természetvédelmi és nemesítési szempontból is kiemelt fontosságú.

A szerző a fehér nyár és a rezgő nyár főbb dunántúli populációiban természetes eredetű egyedek jelölt ki, melyekről gyűjtött rövidhajtás levelek felhasználásával morfológiai és genetikai vizsgálatokat végzett, a következő kérdések megválaszolására:

- Az elliptikus Fourier leírókon alapuló levélalak elemzés alkalmazása a fehér nyár és a rezgő nyár egyedek elkülönítésére, valamint a hibrid alakok azonosítására?
- Mely populációk rendelkeznek a két faj esetében a legmagasabb genetikai diverzitással?
- Milyen mértékű a két faj dunántúli állományainak populáción belüli és populációk közötti genetikai differenciáltsága?
- Milyen filogenetikai kapcsolat áll fenn az egyes fajok dunántúli populációi között?
- Milyen mértékű szülő fajok felüli introgresszió figyelhető meg a természetben előforduló sűrke nyár egyedek körében?

Alkalmazott módszerek

A levélmorfológiai vizsgálatok elvégzéséhez az elliptikus Fourier leírók alkalmazásán alapuló Shape 1.3 morfometriai programcsomag került alkalmazásra, mellyel 439 mintafa összesen 2095 levélének elemzése történt meg (3-5 levél egyedenként). A programcsomag segítségével számított leírók főkomponens analízise során a levélalak-változatosságot leíró 20 legfontosabb

főkomponens értékeinek átlagával jellemzett egyedek diszkriminancia analízisét, valamint kanonikus analízisét Statistica 6.0 programmal végezte el a szerző.

Az egyes populációk genetikai változatosságának felmérése három molekuláris genetikai módszerrel történt. A sejtmagi DNS változatosság felméréséhez 6 SSR (*Single Sequence Repeat*) és 2 RAPD (*Random Amplified Polimorphic DNA*) primer, a nyárak esetében anyai úton öröklődő kloroplaszt DNS elemzéséhez 4 PCR-RFLP (*Polimerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polimorphism*) primerpár-restríciós endonukleáz kombináció került alkalmazásra. A vizsgálatok során nyert allélmintázatokat GenAlEx 6.5 szoftverrel értékelte a szerző.

Eredmények és megvitatásuk

A levélmorfológiai elemzés során végzett főkomponens analízis alapján az egyedek közötti levéalak varianciára a levélhossz-levélszélesség arányát kifejező főkomponens (PC1) volt a legmarkánsabb hatással (a variancia 68,25 %-ért volt felelős). A fajok elkülönítésére, illetve a hibrid egyedek azonosítására ugyanakkor sem a két legjelentősebb (PC1, PC2), sem a szignifikancia vizsgálat során valamennyi csoport között szignifikáns differenciát mutató főkomponensek (PC2, PC3) nem bizonyultak alkalmasnak. A diszkriminancia analízis keretében elvégzett kanonikus analízis során egyedenként számított kanonikus változó (CV1, CV2) értékükkel kétdimenziós koordináta-rendszerben ábrázolt fehér nyár és rezgő nyár egyedek határozott szegregációt mutattak, azaz egymástól jól elhatárolható halmazba tömörültek. Ez alapján megállapítható, hogy az elliptikus Fourier leírókkal jellemzett levéalak alkalmas a két faj elkülönítésére. A terepi meghatározás során szürke nyárként azonosított egyedek a két faj halmazával részben átfedő, de a fehér nyár irányába tömörülő, köztes elhelyezkedésű pontfelhőt alkottak, ami jól korrelál eredetükkel, valamint a korábbi morfológiai vizsgálatok során tett introgressziós megfigyelésekkel.

A terepi fajbesorolás helyességének ellenőrzése a levélmorfológiai vizsgálatok során végzett diszkriminancia analízis és a mikroszatellit elemzés során nyert allélfrekvencia adatok alapján történt. Ezek alapján összesen 160 fehér nyár, 152 rezgő nyár és 23 szürke nyár egyed kijelölése történt meg a genetikai vizsgálatokra.

A hat markerrel végzett SSR vizsgálatok során megállapított genetikai diverzitás értékeket figyelembe véve a fehér nyárak közül a belső-somogyi, a zselici és a szigetközi, a rezgő nyárak közül a bakonyi, a zselici és a belső-somogyi populációk mutatták a legmagasabb genetikai diverzitást. A két fajra megállapított F és G statisztika értékek ugyanakkor külföldi vizsgálatokkal összevetve is alacsony populációkon belüli és populációk közötti genetikai differenciáltságot mutattak, ami a populációk közötti erőteljes génáramlással magyarázható. A populációk közötti Nei-féle genetikai távolság alapján a Statistica 6.0 programmal szerkesztett *Complete linkage* dendrogram csak részben mutatott kapcsolatot az egyes populációk genetikai és földrajzi távolsága között.

A tesztvizsgálatok során a fajok elkülönítésére alkalmasnak talált két polimorf RAPD primerrel végzett elemzés alkalmával meghatározott genetikai diverzitás és fragment adatok alapján a fehér nyár esetében a belső-somogyi, a drávamenti és a zselici, a rezgő nyár tekintetében pedig a belső-somogyi, a villányi-hegységi, a zselici és a mecseki populációk mutatták a legnagyobb genetikai diverzitást. A Nei-féle genetikai távolság mátrix alapján szerkesztett dendrogram nem mutatott ki kapcsolatot az egyes populációk genetikai és földrajzi távolsága között.

A fehér és rezgő nyár populációk kloroplaszt DNS diverzitását, illetve a fajok filogenetikai jellemzőit PCR-RFLP vizsgálattal elemezte a szerző. A négy kloroplaszt specifikus primerpár-restríciós endonukleáz kombinációban végzett vizsgálat során nyert alléladatok alapján a fehér nyárak között 12, a rezgő nyárak esetében 9 haplotípus volt kimutatható. A haplotípus adatok és a meghatározott genetikai diverziás mutatók alapján a fehér nyárak között a szigetközi, a zselici, a keszthelyi-hegységi és a drávamenti, a rezgő nyárak között a bakonyi és a villányi-hegységi populációk mutatták a legnagyobb diverzitást. Az alléladatokból a Network 4.6.1.2 filogenetikai szoftver segítségével szerkesztett Median-joining

hálózat összetett kapcsolatot mutatott ki a megfigyelt fehér nyár haplotípusok között. Ez alapján, valamint az egyes populációk haplotípus adataiból kiindulva feltételezhető, hogy a Dunántúlt a fehér nyár az utolsó glaciális követően több rekolonizációs irányból, elsősorban a nagyobb folyókat követve, illetve a síkvidéki régiókon keresztül népesítette be. A rezgő nyár esetében markáns tendencia nem volt megállapítható, ugyanakkor a bakonyi, a zselici és a mecseki populációk haplotípus adataiból kiindulva feltételezhető, hogy a dunántúli régió rekolonizálásában az említett térségekben, mint kisebb refugiumokban fennmaradt populációk vettek elsődlegesen részt. A 21 vizsgált szürke nyár egyed közül 11-ben fehér nyár, 10-ben pedig rezgő nyár eredetű kloroplaszt haplotípus volt kimutatható.

A genetikai és levélmorfológiai vizsgálatok során szürke nyárként azonosított egyedek genetikai származását Structure 2.1 szoftverrel elemezte a szerző. Az elemzés elvégzésre került az egyedbesoroláshoz választott két módszer eredményeinek metsző (23 egyed) és közös halmazára (123 egyed) egyaránt. A program a teljes vizsgált mintaszám (437 egyed) alapján két csoport létezését feltételezte, tehát az egyedek allélfrekvencia értékeik alapján a két faj között genetikai értelemben létező köztes diszkrét csoportot nem valószínűsít. Ez alátámasztja a szürke nyár egyedekkel kapcsolatban végzett korábbi kutatások és megfigyelések eredményeit, mely szerint a hibrid szürke nyár egyedek morfológiai és genetikai értelemben is a két alapfaj közötti átmeneti alakoknak tekinthetők. Az egyes egyedek meghatározott csoportokhoz való tartozási valószínűségéből következtetett introgresszálsági foka alapján a vizsgálati eredmények is igazolják azt a megfigyelést, mely szerint a természetben létrejövő első generációs hibrid szürke nyárak elsősorban a fehér nyár szülővel kereszteződnek vissza, ami a fehér nyár szülő felé intergádálódó hibrid raj létrejöttét segíti elő. A Structure 2.1 szoftver segítségével első generációs hibridként azonosított szürke nyár egyedek PCR-RFLP markerezési eredményeinek elemzése során mindkét azonosítási adatsoron magas arányú rezgő nyár eredetű haplotípus került kimutatásra az egyedek között. Ez arra enged következtetni, hogy a természetben közel azonos arányban keletkeznek anyai úton fehér nyár és rezgő

nyár eredetű szürke nyár egyedek (azaz a két kereszteződési irány valószínűsége közel azonos). Az első generációs szürke nyár egyedek rezgő nyár szülővel való visszakereszteződésének, illetve a keletkező rezgő nyár jellegű szürke nyárak fennmaradásának esélyét több tényező akár együttes fellépése is mérsékelheti (citoplazmatikus inkompabilitás, virágzásbiológiai okok, utódpopuláció csökkent növekedési erélye).

Tézisek

1. A vizsgálatok alapján az elliptikus Fourier leírók használatán alapuló levélalak elemzés alkalmas a fehér és a rezgő nyár egyedeinek elkülönítésére.
2. A mikroszatellit vizsgálatok alapján a két faj populációkon belüli és populációk közötti differenciáltsága nagyon csekély, ami jelentős génáramlásra utal az egyes populációk között.
3. A sejtmagi DNS két markerezési eljárással történt elemzése során nem sikerült kapcsolatot kimutatni a két faj egyes populációinak földrajzi és genetikai távolsága között.
4. A kloroplaszt DNS vizsgálata során feltárt haplotípus diverzitás értékek és haplotípus leszármazási viszonyok eltérő filogenetikai utat valószínűsítene a két faj esetében a Dunántúlt érintő posztglaciális rekolonizációjuk tekintetében.
5. A szürke nyárként azonosított egyedek introgresszió vizsgálata során magasabb szintű fehér nyár irányából való introgresszió volt megfigyelhető az egyedekben, ami alátámasztja a korábbi terepi megfigyelések eredményeit, mely szerint a természetben kialakuló első generációs szürke nyárak nagyobb arányban kereszteződnek vissza a fehér nyár szülővel.
6. Az első generációs szürke nyárak között magas arányban azonosított rezgő nyár eredetű kloroplaszt DNS-t hordozó

egyedek alapján feltételezhető, hogy a hibridizációs zónákban közel azonos arányban keletkeznek *alba* × *tremula* és *tremula* × *alba* származású hibridek.

Az eredmények gyakorlati alkalmazhatósága

A fehér nyár és a rezgő nyár dunántúli populációinak genetikai változatossága a természetvédelmi és nemesítési célú génmegőrzés stratégiáját alapozhatja meg, de fontos információkat szolgáltat a szaporítóanyag gazdálkodás szabályozásához is. Magtermesztő plantázsok kialakítása mindkét faj esetében a magas genetikai diverzitást mutató populációk egyedeinek felhasználásával javasolható, lehetőség szerint a Dunántúlt két régióra osztó szaporítási körzetek kialakításával egybekötve (Észak- és Dél-Dunántúl). A genetikai változatosság megőrzése miatt a fehér nyár esetében a szigetközi, a belső-somogyi, a zselici és a drávamenti populációk, a rezgő nyár esetében a bakonyi, a belső-somogyi, a zselici és a mecseki populációk védelme kiemelt jelentőségű.

Doktori (PhD) értekezés témájához kapcsolódó publikációk, poszterek és előadások jegyzéke

Írott publikációk

Benke A., Cseke K., Borovics A. (2009): A szőke nyárak szekciójába tartozó őshonos fafajaink genetikai állományának felmérése a Dunántúlon. Konferencia kiadvány, XV. Növénynevelési Tudományos Napok, Budapest, p. 26-30.

Benke A., Cseke K., Takács R., Kámpel J., Borovics A. (2010): Hagyományos és molekuláris genetikai módszerekkel támogatott nyárnevelés a bioenergetika szolgálatában. Mezőgazdasági Technika, 51: 8-10.

Benke A., Cseke K., Borovics A. (2011): Dunántúli *Leuce* nyár populációk genetikai vizsgálata RAPD és cpDNA markerekkel. Erdészettudományi Közlemények, 1: 83-93.

Cseke K., Benke A., Borovics A. (2011): Nyár genotípusok azonosítása DNS ujjlenyomatuk alapján. Erdészettudományi Közlemények, 1: 107-114.

Benke A., Cseke K. (2011): *Leuce* szekcióba tartozó hazai nyár fajok dunántúli állományainak populációgenetikai vizsgálata RAPD, PCR-RFLP és SSR markerekkel. A Nyugat-magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ Tudományos Közleményei, 18: 41-45.

Benke A., Cseke K., Borovics A. (2013): Őshonos nyárfajok genetikai változatossága a Dunántúlon. Konferencia kiadvány, Alföldi Erdőkért Egyesület Kutatói Nap, Lakitelek, p. 46-50.

Poszterek

Benke A., Cseke K., Csintalan Zs., Borovics A. (2007): Hazai nyárak populációgenetikai és élettani vizsgálata az erdészeti célú

felhasználás fejlesztése céljából. Poszter, XIII. Növénynevelési Tudományos Napok, Budapest, 2007. március 12.

Cseke K., Benke A., Borovics A. (2007): Nyár klónok genetikai azonosítása. Poszter, XIII. Növénynevelési Tudományos Napok, Budapest, 2007. március 12.

Benke A., Cseke K., Borovics A. (2008): Dunántúli fehér és rezgő nyár állományok populációgenetikai vizsgálatának előzetes eredményei. Alföldi Erdőkért Egyesület Kutatói Nap, Szeged, 2008. november 6.

Benke A., Cseke K., Borovics A. (2011): Őshonos nyárak populációgenetikai és növényélettani vizsgálata. Poszter, Az erdők helye a vidékstratégiában – 2011. az erdők nemzetközi éve Konferencia, Budapest, 2011. november 21.

Előadások

Benke A., Cseke K., Borovics A. (2009): A szőke nyárak szekciójába tartozó őshonos fajok genetikai állományának felmérése a Dunántúlon. XV. Növénynevelési Tudományos Napok, Budapest, 2009. március 17.

Benke A., Cseke K., Takács R., Kámpel J., Borovics A. (2010): Hagyományos és molekuláris genetikai módszerekkel támogatott nyárnevelés a bioenergetika szolgálatában. Fenntartható bioenergia termelés – fiatal kutatók a bioenergetikában szakmai konferencia és kiállítás, Gödöllő, 2009. október 29.

Benke A., Cseke K. (2011): Leuce szekcióba tartozó hazai nyár fajok dunántúli állományainak populációgenetikai vizsgálata RAPD, PCR-RFLP és SSR markerekkel. Euroregionális Természettudományi Konferencia, Szombathely, 2011. január 26.

Benke A., Cseke, K. (2011): Molekuláris genetikai markerek alkalmazása hazai nyárak hibridizációs viszonyainak vizsgálatában. XVII. Növénynevelési Tudományos Napok, Budapest, 2011. április 27.

Benke A., Cseke K., Borovics A. (2013): Óshonos nyárfajok genetikai változatossága a Dunántúlon. Alföldi Erdőkért Egyesület Kutatói Nap, Lakitelek, 2013. november 15.