

EGY ELEGYES TÖLGYES TAXONÓMIAI ÉS GENETIKAI SZERKEZETÉNEK ELEMZÉSE

Cseke Klára¹, Bordács Sándor² és Borovics Attila¹

¹Erdészeti Tudományos Intézet

²Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal

Kivonat

A vizsgálat célja egy tölgyfajokban (*Quercus* spp.) gazdag elegyes állomány genetikai szerkezetének feltárása egyedazonosításra alkalmas DNS mikroszatellit markerek alkalmazásával. A területen kijelölt időskorú állomány minden egyedét mintáztuk, majd numerikus taxonómiai mérések alkalmazásával meghatároztuk a faji helyzetüket. Az állományban két újulatfoltot felvételeztünk a szülői és az utódnemzedék genetikai sajátosságainak összehasonlítása céljából. Vizsgálatainkkal az összes idős egyed 9%-ánál tudtunk azonos genotípussal jellemezhető csoportokat meghatározni, ami tükrözi a területen hosszú ideje folyó sarjzartatás hatásait. Az utódok között szintén nagy számban azonosítottunk klónokat, ami gyökérsarjak útján létrejövő, vegetatív szaporodást jelez az állományban. Az újulat genetikai mintázatában nem találtunk számottevő eltérést az időskorú állományhoz képest, az allélgyakoriság értékekből származtatott mutatók magas genetikai diverzitást jeleztek. Az első újulatfolt egyedei képezte csoport a kocsányos tölgyekkel mutatott hasonlóságot, míg a második újulatfolt inkább a molyhos tölgyekre hasonlított a genetikai jellemzőik alapján.

Kulcsszavak: *Quercus* spp., DNS mikroszatellit markerek, genetikai változatosság, sarj, újulatfolt

TAXONOMIC AND GENETIC STUDY OF A MIXED OAK STAND

Abstract

A genetic study was performed in order to analyse the taxonomic and genetic composition of a mixed oak stand rich in different oak species (*Quercus* spp.). Microsatellite DNS markers were applied which are suitable for identification purpose. All the adult trees were sampled on the study plot and their taxonomic classification was accomplished by numerical taxonomy. Moreover two juvenile clumps were sampled with the aim of comparing the genetic pattern of the adult and juvenile generations. Based on the results of the genetic analysis, 9% of the adult trees had clonal origin referring to the long-term coppice management on the stand. Furthermore, clones were also discovered among the individuals of the juvenile clumps indicating vegetative propagation by root shoots. The genetic structure of the adult and juvenile groups were similar with high diversity indices. The two juvenile clumps showed different affinity with the pedunculate oak and pubescence oak species respectively based on the comparison of genetic patterns.

Keywords: *Quercus* spp., DNA microsatellite markers, genetic diversity, coppice, juvenile clump

BEVEZETÉS

A molekuláris genetika módszereinek egyre nagyobb szerep jutott a növényekkel foglalkozó vizsgálatokban az elmúlt két évtizedben, így alkalmazásuk ma már rutinszerűnek tekinthető az erdei fafajok kutatásában is (Weising és mtsai 2005). A különböző DNS markerek különböző szinten nyújtanak információt a genetikai változatosságról. Egyes markerek a taxonómiai kutatásban segítenek, mások a különböző populációk, részpopulációk közötti, illetve a populációkon belüli változatosság felmérésére, az elkülönülés mértékének megadására nyújtanak lehetőséget. Az egyedek közötti variabilitás vizsgálatára ma már olyan DNS markerek állnak rendelkezésünkre, amelyek megfelelő felbontóképességük révén az egyedi eltérések kimutatására is alkalmasak, tehát „genetikai ujjlenyomat” készíthető általuk (*genetic fingerprinting*). Az egyik leggyakrabban alkalmazott módszer az ún. mikroszatellit markerezés. Ezek a más néven SSR (simple sequence repeats) vagy STR (simple tandem repeats) szekvenciáknak hívott régiók a DNS különböző pontjain, elsősorban előforduló, ismeretlen funkciójú szakaszok. Jellemzően egy rövid, 1–5 bázispárból álló motívum nagyszámú ismétlődéséből állnak. Az ismétlődések hossza egyenként nagy változatosságot mutat (Weising és mtsai 2005).

Az erdészeti kutatásban alkalmazva a módszer lehetőséget nyújt az állományok genetikai szerkezetének, az állományok közötti beporzási viszonyoknak jobb megismerésére. A mikroszatellit markerek alkalmazásával elért első jelentős erdészeti eredményt Dow és Ashley (1996) közölte. Egy amerikai tölgyfaj, a *Quercus macrocarpa* egyik, nagyobb erdőtümböktől távol eső, szigetszerűen elhelyezkedő 5 ha-os állományában vizsgálták a szülő- és utódegyedek közötti rokonsági kapcsolatokat. Az állományon kívülről érkező pollen magas (kb. 50%) aránya mellett azt is kimutatták, hogy az utópopuláción belül 4 anyafa biztosította az utódok mintegy 80%-át. Az európai fehér tölgyek alakkörét érintő vizsgálatok között elsőként Streiff és mtsai (1999) alkalmazták ugyanezen markereket, és kocsányos illetve kocsánytalan tölgy állományban mérték a két faj között előforduló hibridizációs eseményeket. A vizsgálat eredményei alapján, az előzetes várakozásokkal ellentétben, csak kismértékű introgressziót tapasztaltak. Gugerli és mtsai (2007) ugyanezen két faj között vizsgálták egy esetleges hibridzóna kialakulását egy intenzíven mintázott erdőrésztletben, szintén mikroszatellit markereket alkalmazva. Eredményeik szerint a hibrid egyedek előfordulása ritka volt az időskorú állományban. Curtu és mtsai (2006) egy a Keleti-Kárpátokban található, vegyes taxonómiai összetételű tölgyállomány genetikai szerkezetét tárta fel mikroszatellit markerekkel. További vizsgálataik során (Curtu és mtsai 2007) sikerült hibrid egyedeket is azonosítaniuk a genetikai mintázatuk összevetésével a *Q. robur* és *Q. frainetto*, illetve a *Q. pubescens* és *Q. frainetto* fajok között.

Az egyedazonosításra alkalmas DNS-motívumok segítségével az állományban előforduló sarj eredetű, azonos genotípussal jellemezhető egyedek is kimutathatók. A kocsányos és kocsánytalan tölgyek esetében a spontán vegetatív szaporodási forma nem gyakori. Ugyanakkor a sarjzatatás, a legeltetés vagy a vad általi rágás, sőt a szélöntés vagy tűzkár is kiválthatja a tő- és gyökérsarjak képzését. A szakirodalomban – az előzőekben ismertetett, fajok közötti beporzást valamint a génáramlást feltáró kutatások mellett – viszonylag ritkán találkozhatunk a sarjzatatásnak, sarjképződésnek a tölgyesek genetikai szerkezetére gyakorolt hatásának elemzésével. Kivételként említendő két Hollandiában végzett kutatás (Copini és mtsai 2005, Bakker és mtsai 2001), amelyek a több évszázados sarjzatatás és legeltetés hatására kialakult kocsányos és kocsánytalan tölgyállomány nagy kiterjedésű sarjcsoportjainak genetikai jellemzőit írta le. Mindkét publikáció kiterjedt sarjeredetű klóncsoportokról számolt be, amelyeken belül az egyedek egymástól akár 10 méterre helyezkedtek el. Egyes esetekben megfigyelték a különböző sarjcsoportok „összenövését” is, amikor a különböző eredetű sarjak egy kisebb területen vegyesen jelentek meg.

Vizsgálatainkat egy tölgygenetikával foglalkozó nemzetközi projekt („OAKFLOW QLK5-2000-00960; 2001–2005”) keretében kialakított, finomléptékű genetikai elemzésekre lehetőséget adó mintaterületen végeztük. Tanulmányunk a következő kérdésekre keresi a választ: 1. Milyen taxonómiai eloszlást mutat az

elegyes tölgyes? 2. Alkalmazható-e a mikroszatellit markerezés a tölgyegyedek és -fajok azonosítására? 3. Mennyire hasonlít az újulat és a szülők genetikai szerkezete?

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgált növényanyag és a numerikus taxonómiai besorolás

A kijelölt mintaterület közel 4 hektár nagyságú, Sopron és Fertőrákos között, a Szárhalmi-erdő Kecse-hegyi kilátója alatt terül el (Fertőrákos 11/A). A területen 380 idős egyedet jelöltünk ki. Ezeket sorszámoztunk, majd meghatároztuk földrajzi koordinátáikat. A térképi alapadatokat taxonómiai, fenológiai és genetikai adatokkal egészítettük ki, amelyekből adatbázist hoztunk létre ArcMap 9.0 térinformatikai szoftver segítségével. A genetikai vizsgálatokhoz mind a 380 fáról gyűjtöttünk levélmintát. Az utódnemzedék vizsgálatához két újulatfolt 37 és 38 csemetéjét mintáztunk meg.

Minden vizsgálatba vont időskorú egyed esetében numerikus taxonómiai határozást végeztünk, amely a levél alak tulajdonságait, illetve a szőrözöttségének mértékét veszi alapul, és a különböző szűken értelmezett tölgyfajok pontos taxonómiai besorolása mellett lehetőséget nyújt a hibrid egyedek azonosítására is (Borovics 2000). A vizsgálatához egyedenként minimum 5 levelet gyűjtöttünk, lehetőség szerint a korona délkeleti, fénynek kitett alsó harmadából. Az alkalmazott módszerről és határozófüggvényekről részletes információ a *Quercologist* internetes határozóprogram oldalán érhető el (<http://ngt-erdeszet.emk.nyme.hu/quercologist/default.htm>).

Mikroszatellit elemzés

A DNS extrakcióhoz fiatal levélszövetet használtunk, a kivonást QIAGEN extrakciós készlettel (Dneasy Plant Mini Kit) végeztük. A PCR reakció segítségével a következő négy mikroszatellit markert vizsgáltuk: ZAG 1/5, ZAG 9, ZAG 104 (Steinkellner és mtsai 1997) és MSQ 13 (Dow és mtsai 1995). A PCR reakció körülményeinek beállításakor az irodalmi leírást követtük. A mikroszatellit fragmentumok pontos méretének meghatározása (fragmentanalízis) ABI Prism 310-es genetikai analizátorral történt. A fragmentumhosszak kódolását a GeneMapper szoftver segítségével végeztük.

Statistikai értékelés

A fragmentanalízis során nyert nyers mikroszatellit hossz adatsort, vagyis az egyes egyedek genotípusát a GenAEx 6.4 (Peakall és Smouse 2006) populációgenetikai szoftver segítségével elemeztük, a következő mutatók vizsgálatával:

Az azonos genotípust valószínűség (P_{ID}) mutató segítségével ellenőriztük, hogy az alkalmazott négy mikroszatellit marker megfelelő felbontóképességgel rendelkezik-e az egyedi szintű azonosításhoz. A P_{ID} mutató annak a valószínűségét adja meg, hogy az adott mintasorból véletlenszerűen kiemelt két egyed azonos genotípussal rendelkezik (Weising és mtsai 2005). Értéke 0 és 1 között alakul. Minél közelebb áll a 0-hoz, annál megbízhatóbb az egyedazonosításra alkalmazott markerek köre, illetve annál kisebb a valószínűsége a véletlenszerűen megjelenő azonos genotípusoknak.

A két nemzedék allélszerkezetének összevetésére vizsgáltuk az allélok lokuszonkénti átlagos számát (N_a), valamint a gyakorisági értékekkel súlyozott effektív allélszámot (N_e). A genetikai diverzitás értékelésére a következő, az allélgyakoriság értékekből származtatott mutatókat számítottuk: Shannon-index (I), várt heterozigócia (H_e), megfigyelt heterozigócia (H_o), amely a heterozigóták tényleges számát jelenti osztva a



mintaszámmal, fixációs index (F) (Weir 1996). A populációgenetikai elemzéseket két szempont szerint is elvégeztük. Egyfelől elemeztük a területen található összes egyed (N) genetikai mintázatát, függetlenül a kialakult klón csoportok előfordulásától. Összehasonlítóképpen ugyanezen diverzitási mutatókat megvizsgáltuk kizárólag az egyedi genotípusok (G) figyelembevételével – tehát az ismétlődő genotípusok kihagyásával –, így szemlélítve azt az esetleges genetikai következményt, amelyet a sarjztatás okozta klón csoportok kialakulása eredményezhet. A G/N hányadossal kifejeztük az egyes csoportokban a vegetatív szaporodás mértékét, arányát (Weising és mtsai 2005).

A molekuláris variancia analízissel (AMOVA) a genetikai változatosság megoszlását vizsgáltuk az összehasonlítás alapját képező csoportokon belül és a csoportok között, jelen esetben a három fő tölgyfajcsoportra (kocsányos tölgy, kocsánytalan tölgyek és molyhos tölgyek) jellemző egyedi genetikai sajátosságok összehasonlítása érdekében. Az elemzésből nyert F_{st} értékkel a csoportok közötti differenciáltság mértékét adhatjuk meg (Weir 1996).

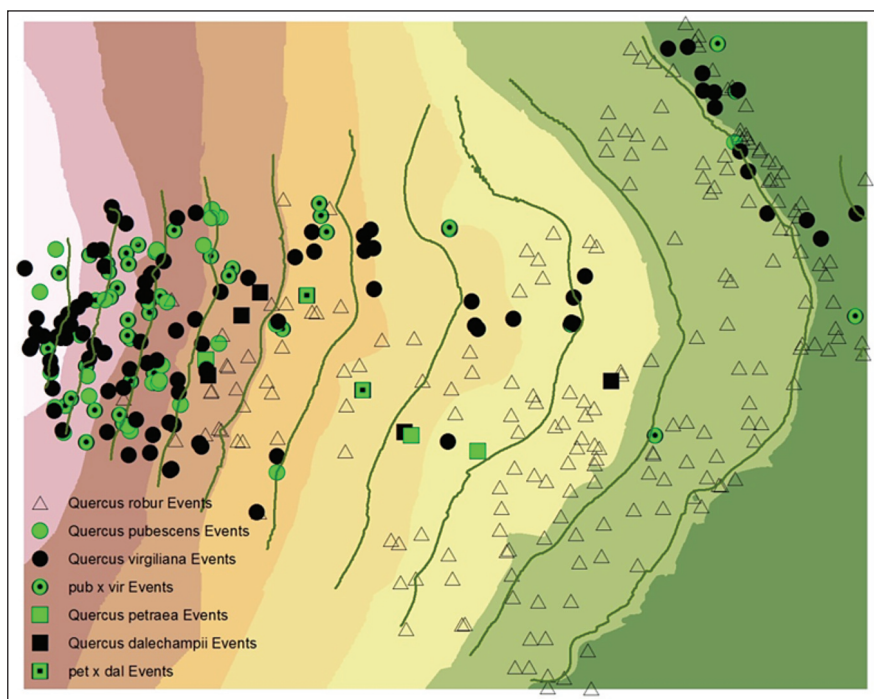
A területen felvételezett két újulatfolt egyedei és az időskorú állomány három fő taxonómiai csoportba sorolt egyedei között számítottuk a Nei-féle genetikai távolságot is (Nei 1978). A csoportok egymáshoz viszonyított helyzetét ezután egy dendrogramon (UPGMA szerkesztési elv alapján) grafikusán is ábrázoltuk (Podani 1997).

EREDMÉNYEK

Taxonómiai összetétel

A vizsgált tölgyegyedek taxonómiai megoszlása a következőképpen alakult a numerikus taxonómiai elemzés alapján: A vizsgálatba vont 378 egyed 53%-a, 200 egyed kocsányos tölgy (*Qu. robur* L.). Az állomány másik hangsúlyos részét a molyhos tölgyek képezték 43%-os részaránnyal. Ebből 29 egyed szűken értelmezett molyhos tölgy (*Qu. pubescens* Willd.), 98 egyed olasz tölgy (*Qu. virgiliana* Ten.), valamint 41 hibrid jellegű egyed volt. A vizsgált területen a kocsánytalan tölgyek alakköre mindösszesen 10 példánnyal volt képviselve. Ebben a csoportban dominált a szárazságtűrőbb dárdás karéjú kocsánytalan tölgy (*Qu. dalechampii* Ten.), illetve a *Qu. petraea* × *dalechampii* hibrid. Az atlantikusabb, kiegyenlítettebb klímát kedvelő szűken értelmezett kocsánytalan tölgy (*Qu. petraea* (Matt.) Liebl.) mindössze két egyed volt (Mátyás 1967).

A vizsgált terület jellegzetessége a néhány száz méteren belül jelentkező jelentős termőhelyi különbség, amely a térszintemelkedésből és a száraz-üde termőhelyi átmenetből adódik. A termőhelyi viszonyok karakteres különbségei jól visszatükröződnek a fajok elterjedésében is. Az üdebb völgyi helyzetben dominálnak a kocsányos tölgy egyedek, illetve a patakmeder közelébe, az állományszegélybe lehúzó molyhos tölgyek a mezofil termőhelyi viszonyokhoz alkalmazkodott olasz tölgy egyedek közül kerülnek ki. A szárazabb, naposabb kitettségű dombtetőn pedig túlnyomóan a szűken értelmezett molyhos tölgy egyedek csoportjai jelennek meg. A kocsánytalan tölgy fajcsoport egyedei – csertölgyekkel (*Q. cerris* L.) elegyedve – a kocsányos és molyhos tölgyek közé ékelődtek. Az 1. ábrán a fajok térbeli eloszlását mutatjuk be, amely során az ökológiai gradienssel való összefüggés is jól nyomon követhető. Itt érdemes megjegyezni, hogy a csertölgy nem képezte a jelen kutatás tárgyát tekintve, hogy az európai nemes tölgyektől taxonómiai és genetikailag is jól elkülöníthető, azokkal nem kereszteződik. Ugyanakkor a jövőben érdemes lesz figyelmet szentelni az állományban betöltött szerepére, az esetleges klimatikus és termőhelyi változások szempontjából, az állományszerkezetre és fajösszetételre gyakorolt hatásaira. Bár a kocsánytalan tölgy egyedek feltűnően alacsony egyedszáma a mintaterületen felvetheti annak a gondolatát, hogy a cserelelverseny miatt szorult ki az állományból, azonban csupán a mintaterületen végzett megfigyelések alapján ez a konklúzió egyértelműen nem vonható le.



1. ábra: A vizsgált fajok eloszlása és az ökológiai gradienssel való összefüggésük a területen
 Figure 1: Distribution of taxons and the ecological gradient on the study plot.

Az egyedek azonosítása genetikai ujjlenyomatuk alapján

A nulla közeli P_{ID} mutató ($P_{ID} = 1,1 \times 10^{-7}$) bizonyítja, hogy a klóncsoportok egyedei valóban azonos genotípusúak, az alkalmazott négy mikroszatellit marker mintázata megfelelő változatosságot eredményezett az egyszintű azonosításhoz.

A vizsgált 380 egyedből 12 kocsányos tölgy és 14 molyhos tölgy klónpár képezte csoportot azonosítottunk. A molyhos tölgyek esetében további 4 esetben hármás klóncsoportot is találtunk. A fentiek alapján tehát az összes idős példány 9%-ánál tudunk azonos genotípussal jellemezhető csoportokat meghatározni, ami tükrözi a területen hosszú ideje folyó sarjzartás hatásait. A klónok minden esetben egymás közvetlen közelében helyezkedtek el, több esetben a terepen is megfigyelhető volt a csokros növekedés, ami a tuskóról való újrasarjadást jelzi. Két molyhos tölgy pár esetében volt megfigyelhető a klónok távolabbi elhelyezkedése (6,8 illetve 7,9 m-re), ami gyökérsarjak megjelenésére utal. További két kocsányos tölgy és két molyhos tölgy pár esetében a távolság 2 és 3 m között alakult, ami szintén gyökérsarjakról való vegetatív terjedést valószínűsít.

Összességében elmondható, hogy a molyhos tölgyek csoportjánál gyakoribb és változatosabb (hármás tőrsarjak, gyökérsarjak) volt a vegetatív szaporodási, illetve fennmaradási stratégia.

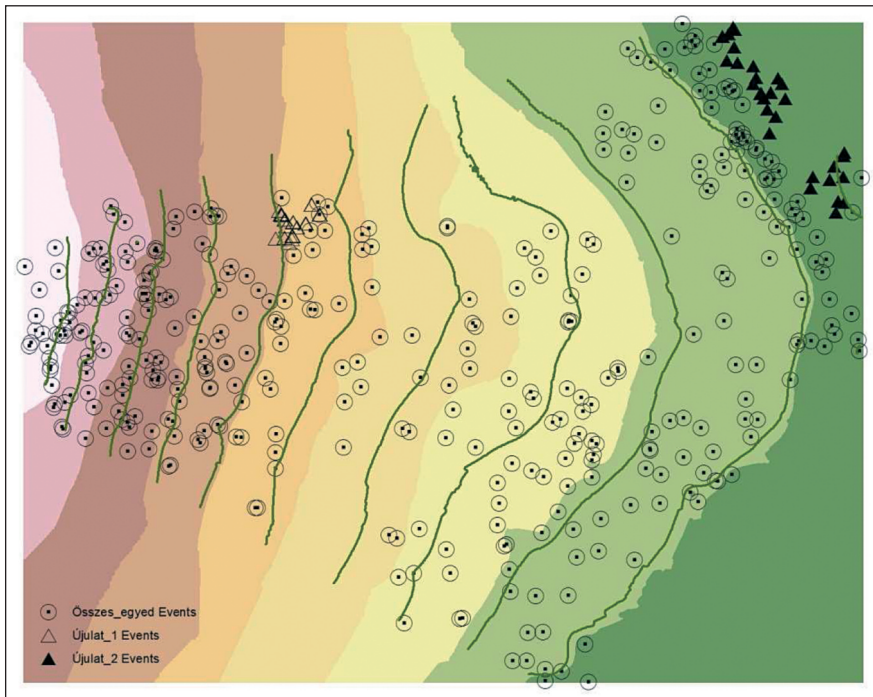
A fajok genetikai elkülönülése

A vizsgált egyedek alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a tölgyfajok genetikai szerkezetükben (allélösszetétel, allélgyakoriság) nem különböztek élesen, vagyis nem lehet őket genetikai jellemzők alapján élesen szétválasztani. Ez egybevág az eddigi megfigyelésekkel, mely szerint az európai fehér tölgyek (*Quercus* vagy *Lepidobalanus* alnemzetség fajai) földtörténeti viszonylatban csak viszonylag későn váltak szét. Azt is mondhatjuk,

hogy a vizsgált alakkörben jelenleg is zajlik a fajképződési, elkülönülési folyamat, amely együtt jár a fajok közötti folyamatos géncserével, kölcsönös beporzással (Petit és mtsai 2002, Scotti-Saintagne és mtsai 2004). Ebből következően a további populációgenetikai elemzéseket a tágan értelmezett (sensu lato) tölgyfajokra vonatkoztatva végeztük el. A három fő európai fehér tölgy alakkör (*Qu. robur*, *Qu. petraea* s.l., *Qu. pubescens* s.l.) genetikai differenciáltságát is megvizsgáltuk a rendelkezésünkre álló minták alapján. A varianciaanalízis során nyert F_{st} értékek kifejezik a teljes genetikai változatosságnak a csoportok közötti változatosságból eredő hányadát, és így utalnak az elkülönültség mértékére. A teljes és klónokkal korrigált adatsoron elvégzett számítások meglepő módon csaknem ugyanazt az eredményt hozták. A vizsgált mintáink alapján a kocsányos tölgy és molyhos tölgyek között 0,076 értéket kaptunk (függetlenül a klónok figyelembevételétől), ami összehasonlítva egy, a Keleti-Kárpátokban végzett hasonló finomléptékű vizsgálat 0,113 eredményével (Curtu és mtsai 2006), nem utal markáns izolációra. A kocsányos tölgy és kocsánytalan tölgyek esetében egészen csekély genetikai differenciáltságot tapasztaltunk (0,037), összevetve a már említett vizsgálat 0,096-os értékével. Ugyanakkor a kocsánytalan tölgyek és molyhos tölgyek közötti genetikai differenciáltság magasabb (0,083, illetve a klónokkal korrigált adatsor esetében 0,085), szemben Curtu és mtsai (2006) által mért 0,045-ös értékkel. A területen talált kocsánytalan tölgyek tehát alacsony mintaszámuk ellenére is mutatnak egyedi genetikai sajátosságokat a másik két tölgy csoporttal összehasonlítva.

Az újulat genetikai szerkezetének összehasonlítása a szülői nemzedékkel

A kijelölt területen két újulatfoltot vizsgáltunk (2. ábra, az 1. újulatfolt \triangle jellel, a 2. újulatfolt \blacktriangle jellel jelölve). Az újulat egyedeinek genetikai azonosítása során a P_{ID} érték $2,3 \times 10^{-7}$ volt, ami alapján az egyező genotípussal rendelkező egyedekről kimondható, hogy klón eredetűek.



2. ábra: A vizsgált két újulatfolt elhelyezkedése az állományban
 Figure 2: Location of the two analysed juvenile clumps in the adult stand
 (Key: \circ adult trees, \triangle juvenile clump No.1, \blacktriangle juvenile clump No. 2)

Az 1. újulatfolt 37 egyede viszonylag kis területen sűrűn helyezkedett el. Meglepő módon viszonylag nagy számú azonos genotípusú sarját azonosítottunk be. A 37 egyedből hat klónpárt, további két esetben három egyedből álló, és egy esetben négy egyedből álló sarjcsoportot is találtunk. A fennmaradó 15 egyed egymástól elkülönülő, önálló genotípussal rendelkezett, tehát esetükben nagyobb a magról való szaporodás lehetősége. Az egyes sarjcsoportok egyedei minden esetben egymás közvetlen közelében csoportosultak.

A 2. újulatfolt az állomány alsó határán, mélyebb fekvésű területen volt. Kiterjedését tekintve nagyobb, mint az első, és két kisebb csoportra osztható. Összesen 38 egyedet felvételeztünk, amelyek közül csak öt darab két egyedből álló sarjpart sikerült azonosítanunk.

A fentiekből levonható az a következtetés, hogy a természetes újulatot nem csupán a generatív szaporodásból származó magoncok képezhetik, hanem a helyi, jól alkalmazkodott egyedek gyökérsarjai is jelen lehetnek. Azokat az időskorú egyedeket azonban, amelyekről a gyökérsarjak származhattak, a vizsgálati területen nem találtuk meg. Ennek két oka lehet: 1. kitermelték az egyedet, amely ezt követően képzett gyökérsarjakat; 2. a mintázott területen kívüli példány sarjait azonosítottuk. Ez utóbbit valószínűsíti, hogy mindkét újulatfolt a terület szélén helyezkedett el.

Az 1. és 2. táblázatban a szülők és az újulat képezte két részpopuláció főbb genetikai jellemzőit hasonlítottuk össze, először a tényleges populációt alkotó összes egyedet figyelembe véve (N), majd az ismétlődő genotípusok kihagyásával korrigált adatsoron (G). Ezzel az összehasonlítással a klónok jelenlétéből fakadó esetleges különbséget kívántuk bemutatni. A kétféle számítási módszer összevetésekor látható, hogy nincs drámai eltolódás a sarjak megjelenésével, az állomány egyensúlyi helyzetben van. Erre utalnak a fixációs index (F) 0 körüli értékei is, szintén jelezve a közel egyensúlyi állapotot. Ez az egyébként minden csoportban magas értékekkel megjelenő megfigyelt és a várt heterozigócia (H_o , H_e) adatok hasonlóságából ered. Az újulat és a szülői csoportok összehasonlításakor egyedül a megfigyelt allélszámban (N_a) tapasztalhatunk jelentősebb eltéréseket, ez azonban a mintaszámok egyenlőtlenségével, jelentős eltéréseivel magyarázható. Ezt támasztja alá az is, hogy a gyakorisággal súlyozott effektív allélszám (N_e) esetében az eltérés már alig volt kimutatható. A két újulatfolt genetikai szerkezetét összevetve látható, hogy az allélgyakoriságon alapuló diverzitási indexekben nincs szembeutó különbség.

Az egyedi genotípusok és a tényleges egyedszám aránya (G/N) megmutatja az egyes csoportokra jellemző, elkülöníthető genotípusok arányát, és utal a klónok különböző arányú jelenlétére (a 2. táblázat utolsó oszlopa). Értéke a kocsánytalan tölgy esetében 1, mivel az idős állományban ennél a fajnál nem találtunk azonos genotípusból álló sarjcsoportot. Ezzel szemben a molyhos tölgyek esetében kapott 0,881 érték közel 12%-os klónjelenlétre utal. Az 1. újulatfolt esetében számított 0,649 érték jelzi a sarjképződés 30%-ot meghaladó arányát.

1. táblázat: A szülői csoportok és a vizsgált újulatfoltok genetikai szerkezetének főbb adatai és diverzitási mutatói

Table 1: The main genetic parameters and diversity indices of the adult stand in comparison with the juvenile group

	N	N_a	N_e	I	H_o	H_e	F
Szülők/Parents (<i>Qu. petraea</i> s.l.)	10	9,250	6,950	1,996	0,900	0,829	-0,081
Szülők/Parents (<i>Qu. robur</i>)	200	24,250	8,653	2,368	0,833	0,856	0,027
Szülők/Parents (<i>Qu. pubescens</i> s.l.)	168	28,000	9,584	2,566	0,872	0,881	0,010
Újulatfolt 1./Juvenile clump 1	37	14,000	7,429	2,168	0,811	0,834	0,021
Újulatfolt 2./ Juvenile clump 2	38	14,000	7,164	2,215	0,908	0,859	-0,057

(a négy vizsgált mikroszatellit lokusz értékeinek átlaga), ahol N: egyedszám, N_a : tényleges allélszám, N_e : effektív allélszám, I: Shannon-index, H_o : megfigyelt heterozigócia, H_e : várt heterozigócia, F: fixációs index

(mean across the four microsatellit loci analysed), where N: sample size, N_a : number of alleles, N_e : number of effective alleles, I: Shannon's information index, H_o : observed heterozygosity, H_e : expected heterozygosity, F: fixation index

2. táblázat: A szülői csoportok és a vizsgált újulatfoltok genetikai szerkezetének főbb adatai és diverzitási mutatói
Table 2: The main genetic parameters and diversity indices of the parent groups in comparison with the two juvenile clumps

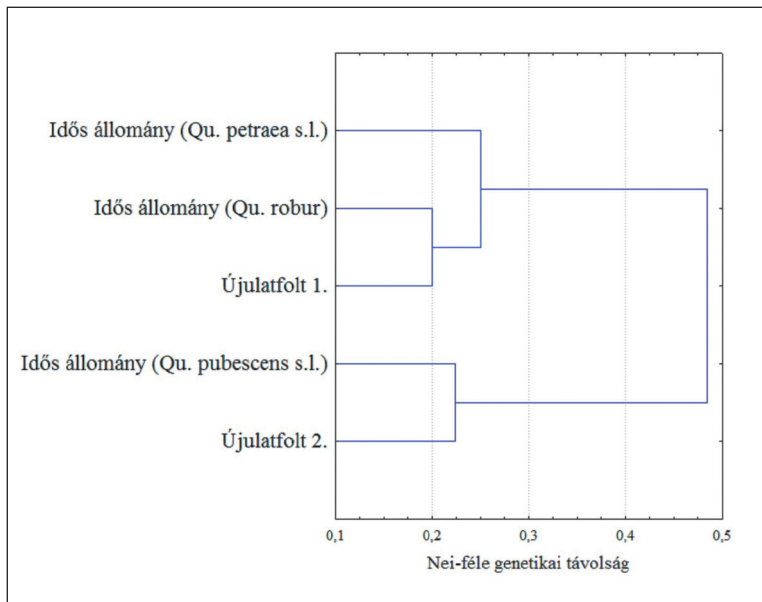
	G	N _a	N _e	I	H _o	H _e	F	G/N
Szülők/Parents (<i>Qu. petraea</i> s.l.)	10	9,250	6,950	1,996	0,900	0,829	-0,081	1,000
Szülők/Parents (<i>Qu. robur</i>)	186	23,750	8,672	2,360	0,832	0,855	0,027	0,930
Szülők/Parents (<i>Qu. pubescens</i> s.l.)	148	28,000	9,708	2,565	0,875	0,880	0,006	0,881
Újulatfolt 1./Juvenile clump 1	24	14,000	7,916	2,229	0,833	0,842	0,006	0,649
Újulatfolt 2./ Juvenile clump 2	33	14,000	7,420	2,243	0,909	0,863	-0,054	0,868

(a négy vizsgált mikroszatellit lokusz értékeinek átlaga) klónok nélkül, ahol G: egyedi genotípusok száma, Na: tényleges allélszám, Ne: effektív allélszám, I: Shannon-index, Ho: megfigyelt heterozigócia, He: várt heterozigócia, F: fixációs index, G/N: egyedi genotípusok aránya

(mean across the four microsatellit loci analysed) without clones, where G: number of identical genotypes, Na: number of alleles, Ne: number of effective alleles, I: Shannon's information index, Ho: observed heterozygosity, He: expected heterozygosity, F: fixation index, G/N: proportion of unique genotypes

A két vizsgált újulatfolt, valamint az állomány három tölgyfajba sorolt időskorú egyedei között számított genetikai távolság (Nei 1978) és UPGMA dendrogram szerkesztési eljárás alapján az öt csoport közötti genetikai kapcsolatot ábráztuk (3. sz. ábra). Az ábrán látható, hogy az 1. újulatfolt egyedei a kocsányos tölgy csoporttal mutatnak nagyobb hasonlóságot, míg a 2. újulatfolt egyértelműen inkább a molyhos tölgyekhez áll közelebb.

Az idős állományban, illetve az újulatban egyaránt megjelenő sarjak egyértelműen jelzik, hogy nem csupán a mesterséges, emberi hatásra bekövetkezett vegetatív felújulás zajlott az állományban, hanem



3. ábra: A két vizsgált újulatfolt és a különböző taxonómiai csoportok egymáshoz viszonyított helyzete a Nei-féle genetikai távolságuk alapján (UPGMA dendrogram)

Figure 3: The genetic relationship between the taxonomic groups and the two analysed juvenile clumps based on the Nei's genetic distance matrix (UPGMA dendrogram), where Idős állomány denotes adult stand and Újulatfolt denotes juvenile clump

természetes szaporodási stratégiaként is jelen van mindhárom tölgy fajcsoport esetében. Ezen kívül az újulatnál számba kell venni a vad okozta újrasarjadás lehetőségét is.

KÖVETKEZTETÉSEK

Vizsgálataink során egy Sopron határában található, európai fehér tölgy fajokban és hibridekben igen gazdag erdőrészet taxonómiai és genetikai jellemzőit vizsgáltuk térinformatikai lehetőségeket is felhasználva. A területen kocsánytalan tölgyek (*Q. petraea*, *Q. dalechampii*), molyhos tölgyek (*Q. pubescens*, *Q. virgiliana*) és kocsányos tölgy (*Q. robur*) egyedek is előfordultak. A csertölgy (*Q. cerris*) jelenlétét is megfigyeltük, de a további vizsgálatból kizártuk amiatt, hogy nem képez szaporodási közösséget a nemes tölgyekkel, így genetikailag is élesen elválik azoktól. A területen jelentős számban azonosítottunk köztes morfológiát mutató, feltételezhetően hibrid eredetű egyedeket is. Az egyedek taxonómiai besorolásával és elhelyezkedésük térbeli ábrázolásával összefüggés mutatható ki a fajok eltérő ökológiai igényére vonatkozóan.

Az alkalmazott mikroszatellit markerezési módszer, az egyedekre jellemző DNS-motívumok vizsgálata alapján, lehetőséget nyújtott az egyes fák genetikai azonosítására. Az azonos genotípussal jellemezhető egyedek viszonylag magas aránya (9%) jelzi a hosszú ideje folyó sarjzartatás következményeit az állományban. Összehasonlítva ugyanakkor más sarjerdőkben végzett, hasonló vizsgálatok eredményeivel (Bakker és mtsai 2001, Copini és mtsai 2005), az általunk kapott 9%-os sarjárány nem jelez drámai változást az állomány genetikai szerkezetében.

A vizsgálat egyik érdekes eredménye volt a mindkét újulatoltban megtalálható sarjeredetű fiatal egyedek magas aránya (35% és 13%). Ez a tény egyértelműen jelzi, hogy a területen nem csupán a generatív reprodukció, hanem a vegetatív szaporodás is szerepet kap. Feltételezhető, hogy a gyökérsarjak révén a helyi viszonyokhoz jól alkalmazkodott időskorú egyedek foglalják el a nekik alkalmas mikrotermőhelyeket.

Az újulat genetikai sajátosságai nem mutatnak éles különbséget az időskorú állományhoz viszonyítva. A tényleges allélszám ugyan alacsonyabb az újulat esetében, azonban az effektív allélszámban ez a különbség már kiegyenlítődik. A kiemelkedően magas heterozigócia értékek, valamint az allélgyakoriságokból származtatott Shannon-index magas genetikai diverzitásra utalnak a természetes újulatban. A vizsgálatban elemeztük a különböző tölgyfajok genetikai elkülönülésének mértékét is. Ugyan nem találtunk markáns elkülönülést a csoportok genetikai távolsága (Nei 1978), illetve a csoportok közötti genetikai változatosság arányában (F_{ST} értékek), azonban a két újulatoltba tartozó egyedeket így is sikerült valamely faji csoporthoz sorolni a genetikai mintázatok alapján. Mindezek alapján elmondható, hogy az 1. újulatolt a kocsányos tölgyek alakköréhez hasonlított jobban, számos sarjjellegű egyeddel, a 2. újulatolt viszont inkább a molyhos tölgyekhez állt közelebb. Ez részben az elhelyezkedésükből is következtethető.

Összefoglalásképpen elmondható, hogy az újulatban is kimutatott jelentős „klónhatás” alig befolyásolta a genetikai szerkezetet. Jól alkalmazkodott, értékes állományokban, génmegőrzést szolgáló in situ génrezervátumokban a természetes úton megjelenő generatív utódnemzedékek létrejöttét és fennmaradását segítő beavatkozások mellett a sarjzartatásnak is lehet létjogosultsága. Vizsgálati eredményeink rámutatnak, hogy a hosszú ideje folytatott sarjzartatás hatására gazdasági szempontból leromlott erdőállományok is hordozhatnak magas genetikai értékeket.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnénk kifejezni köszönetünket a terepi munkában való részvételükért kollégáinknak, Páli Lászlónak és Takács Rolandnak, valamint a laboratóriumi vizsgálatok kivitelezéséért Kanizsai Andrásnénak.

A kutatást az OTKA T 46940 és az OAKFLOW QLK5-2000-00960 számú pályázatok finanszírozásával végeztük.

FELHASZNÁLT IRODALOM

- Bakker, E.G.; Van Dam, B.C.; Van Eck, H.J. and Jacobsen, E. 2001: The description of clones in ancient woodland of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl. with microsatellites and AFLP. in: Bakker E.G. (edit.) 2001: Towards molecular tools for management of oak forests. Alterra Green World Research. Wageningen. p. 34–43.
- Borovics A. 2000: Keresztezési kísérletek és taxonómiai vizsgálatok az őshonos tölgyek hazai alakkörében. PhD értekezés (NYME EMK).
- Copini P.; Buiteveld J.; den Ouden J. and Sass-Klaassen U.G.W 2005: Clusters of *Quercus robur* and *Q. petraea* at the Veluwe (The Netherlands). Centre for Genetic Resources Report 1. CGN/DLO Foundation. Wageningen. p. 19.
- Curtu A.L.; Gailing O.; Leinemann L. and Finkeldey R. 2006: Genetic Variation and Differentiation Within a Natural Community of Five Oak Species (*Quercus* spp.). *Plant Biology* 9. p. 116–126.
- Curtu A.L.; Gailing O. and Finkeldey R. 2007: Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community. *BMC Evolutionary Biology* 2007, 7: 218
- Dow B.D.; Ashley M.V. and Hove H.F. 1995: Characterization of highly variable (GA/CT)*n* microsatellites in the bur oak *Quercus macrocarpa*. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 137–141.
- Dow, B.D. and Ashley, M.V. 1996: Microsatellite analysis of seed dispersal and parentage of saplings in bur oak, *Quercus macrocarpa*. *Molecular Ecology* 5: 615–627
- Gugerli F.; Walser J.-C.; Dounavi K.; Holderegger R.; Finkeldey R. 2007: Coincidence of Small-scale Spatial Discontinuities in Leaf Morphology and Nuclear Microsatellite Variation of *Quercus petraea* and *Qu. robur* in a Mixed Forest. *Annals of Botany* 99: 713–722.
- Mátyás V. 1967: A tölgyek dendrológiai ismertetése in: Keresztesi B. (szerk.) 1967: A tölgyek. Akadémiai Kiadó. Budapest. pp. 51–71.
- Nei M. 1978: Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583–590.
- Oakflow Final Report 2004: OAKFLOW: Intra and interspecific gene flow in oaks as mechanisms promoting diversity and adaptive potential. EU-programme: 5. Frame Research Programme 1.1.5 Sustainable agriculture, fisheries and forestry. EU project number: QLK5-2000-00960
- Peakall R. and Smouse P.E. 2006: GenA1Ex 6.4: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6: 288–295.
- Petit R.J.; Brewer S.; Bordács S.; Burg K.; Cheddadi R.; Coart E.; Cottrell J.; Csaiik U.M.; van Dam B.; Deans J.D.; Espinel S.; Fineschi S.; Finkeldey R.; Glaz I.; Goicoechea P.G.; Jensen J.S.; König A.O.; Lowe A.J.; Madsen S.F.; Mátyás G.; Munro R.C.; Popescu F.; Slade D.; Tabbener H.; de Vries S.G.M.; Ziegenhagen B.; Beaulieu J.L.; Kremer A. 2002: Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management* 156: 5–26.
- Podani J. 1997: Bevezetés a többváltozós biológiai adatfeldtárás rejtelmeibe. Scientia Kiadó. Budapest. p. 145.
- Scotti-Saintagne, C.; Mariette, S.; Porth, I.; Goicoechea, P.G.; T. Barreneche, T.; Bodenes, C.; Burg, K. and A. Kremer, A. 2004: Genome scanning for interspecific differentiation between two closely related oak species (*Quercus robur* L. and *Qu. petraea* (Matt.) Liebl.). *Genetics*. 168: 1615–1626.
- Steinkellner, H.; Fluch, S.; Turetschek, E.; Lexer, C.; Steiff, R.; Kremer, A.; Burg, K and Gloessl, J. 1997: Identification and characterization of (GA/CT)*n* microsatellite loci from *Quercus petraea*. *Plant Molecular Biology* 33, 1093–1096.
- Streiff, R.; Ducouso, A.; Lexer, C.; Steinkellner, H.; Gloessl, J. and Kremer A. 1999: Pollen dispersal inferred from paternity analysis in a mixed oak stand of *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *Molecular Ecology* 8: 831–842.
- Weir B.S. 1996: Genetic Data Analysis II. Sinauer Associates Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts. p.166.

- Weising K.; Nybom H.; Wolff K. and Kahl G. 2005: DNA Fingerprinting in Plants Principles, Methods and Applications. CRC Press, Boca Raton. p. 9, 43, 217–218.
- ArcMap 9.0 Software. <http://www.esri.com> (2011-05-13)
- GeneMapper 4.0 Software. <http://www.appliedbiosystems.com> (2011-05-13)
- Quercologist. Határozóprogram a Kárpát-medence tölgyfajainak meghatározásához. <http://ngt-erdeszt.emk.nyme.hu/quercologist/default.htm> (2011-05-13)

Érkezett: 2011. május 17.

Közlésre elfogadva: 2011. szeptember 1.



Albínó tölgymagonc

A természet halálos kimenetelű játéka. Spontán mutáció következtében teljes klorofilhiányos (ezért életképtelen) tölgymagonc megjelenése a bogdásai plantázs utódgenerációjában. A magonc a sziklevelekben tárolt tápanyagok felélése után elpusztult. Ritka jelenség, esetünkben 1400 egyed közül ez volt az egyetlen, amely a vad típustól bármilyen formában eltért. A dísznövény kertészek számára az ilyen rendellenesség egy-egy új fajta előállításának kiindulópontja lehet, ami rendszerint csak vegetatív úton (oltás, dugványozás) tartható fenn.

Fotó: Borovics Attila