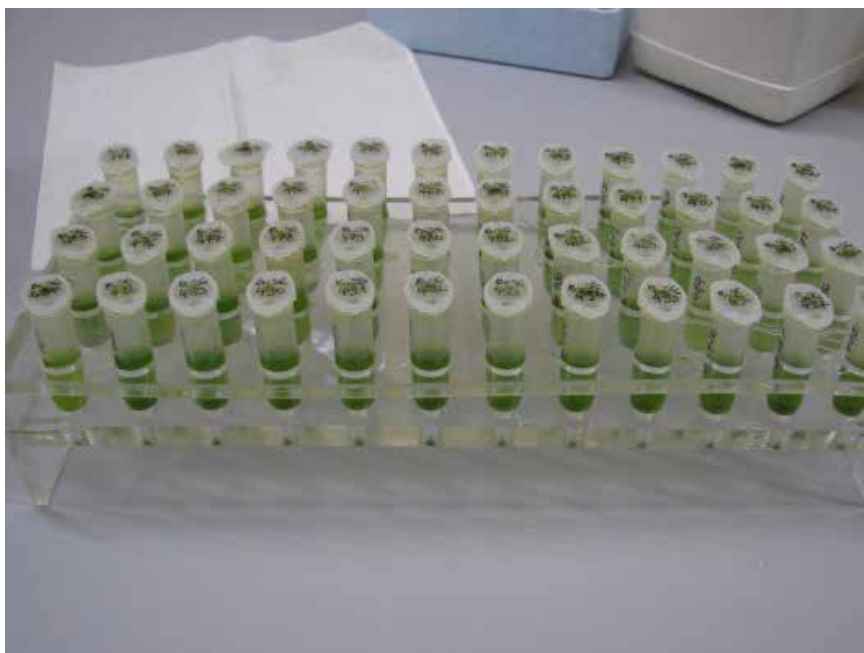


SZÁSZ-LEN ANNA-MÁRIA

## **DNS-VIZSGÁLATOK ERDEI FAFAJOKON ÉS AZOK ALKALMAZÁSI LEHETŐSÉGEI A GYAKORLATBAN**

Az erdei fafajokon végzett DNS-vizsgálatok az erdészeti genetika tárgyát képezik, és országosan igen kevés szakember foglalkozik még manapság is vele. Szűk értelemben vett erdészeti genetikáról akkor beszélhetünk, ha az erdőkön belüli genetikai sokféleséget molekuláris szinten DNS-vizsgálatok segítségével tanulmányozzuk. Ugyanakkor Romániában adottak a körülmények a kiterjedt vizsgálatok végzésére, hiszen az Országos Statisztikai Hivatal legfrissebb, 2015-ös felmérése szerint hazánk területének 27,5%-a tartozik az erdőalapba, és 6,39 millió hektárt borít erdő (INS, 2015).

Ahhoz, hogy ennek a módszernek a fontosságát megértsük, először is tudnunk kell, hogy minden egyes fának egy erdőn belül egyedi DNS-mintázata van, amely csak rá jellemző, nem változik meg, vagyis a fa egész élete alatt örök, és a fa minden egyes sejtjének a sejtmagjában kódolva van. A DNS-kivonás lényege abban áll, hogy speciális kémiai kivonási módszer segítségével a faszövetből vagy a rügyekből, levelekből kivonjuk a tiszta DNS-t (1. ábra). A fák esetében fontos odafigyelni, hogy élő növényi szövetet gyűjtsünk be, hiszen ezen szövetekből számíthatunk magas és jó minőségű DNS-re. Ezt a néhány nanogramnyi DNS-t később primerek (ejtsd: prájmer) segítségével tanulmányozzuk (2. ábra). Amit kiemelten fontos tudni a primerekről, hogy faj-, illetve génuszspecifikusak. Ez azt jelenti, hogy a lucfenyőre tervezett primerekkel nem tanulmányozhatjuk például a bükkfát és a tölgyfát vagy fordítva. A DNS-elemzés következő lépése, hogy a primerek segítségével tanulmányozott szekvenciákat (DNS-részletek) egy úgynevezett genetikai analízátor segítségével értelmezzük és azonosítjuk. Természetesen manapság már a genetikusok segítségére vannak a különböző genetikai szoftverek, amelyek nélkül a 21. századi erdészeti genetika elképzelhetetlen.



**1. ábra: A DNS-kivonás köztes folyamata a különböző faegyedekről származó levélmintákból (saját kép)**



**2. ábra: A DNS-minták előkészítése a további vizsgálatokhoz (saját kép)**

Az erdészeti genetikai módszerek kiemelt fontosságúak, és számtalan alkalmazási területük is létezik már. Kulcsfontosságú a fák DNS-ének elemzése az erdészeti genetikai kutatásokban, ahol a fákat nemcsak egyedi szinten tanulmányozzák, hanem az egész erdőrészetet, ahonnan származnak. Ezért egy adott erdőrészetből több egyedet vizsgálnak, és a kapott eredményeket is együtt értelmezik, hiszen ez tükrözi egy adott populáció genetikai változatosságát. A kapott genetikai információ pedig referenciaként szolgál országos és nemzetközi erdészeti kutatásokban, ahol értékelhetővé válik a hazai erdők genetikai diverzitása, a populációkon belüli és a populációk közötti genetikai távolság, a beltenyésztés mértéke és még sok érdekes dolog.

Az erdészeti gyakorlatban a genetikai módszereket az alap kutatáson kívül az erdészeti növények nemesítésében, az erdészeti szaporítóanyag ellenőrzésében, az erdei magtermesztő ültetvények tervezésében, a génmegőrzést szolgáló erdőrezervátumok kiválasztásában is széleskörűen alkalmazzák. Az erdészeti DNS-vizsgálatok legújabb alkalmazási területe a törvényszéki eljárások gyakorlata. Mivel minden faegyed egyedi genetikai mintázattal rendelkezik, az eltulajdonított famintából kapott DNS-kód egyedi ujjlenyomatként akár törvényszéki bizonyítékként szolgálhat az illegális fakitermelés bizonyítására és megakadályozására. A DNS-vizsgálat nagy előnye, hogy még az eltulajdonított faanyag feldolgozott formája is nyomon követhető vele, legyen szó bútortermékről vagy tűzifáról (Lowe és Cross, 2011).

Romániában erdészeti kutatásokkal főként az országban létező hét erdészeti egyetemen foglalkoznak, de kimondottan erdészeti genetikai vizsgálat csak néhány egyetemi központban lehetséges, mint például Brassó és Kolozsvár. Az erdészeti genetikai módszerek szélesebb körű alkalmazásának lehetőségét elsősorban a nagyon drága és speciális berendezések, valamint a szakemberek hiánya is jelentős mértékben nehezíti. Tehát az erdészeti genetikai labor létesítésének igen magas költségén kívül a mindennapi rutinvizsgálatok elvégzéséhez szükséges vegyszerek magas ára is jelentős korlátozó tényező, hiszen néhány mililiternyi vegyszer is akár több száz eurós kiadást jelent, olyan feltétel mellett, hogy egy minta vizsgálatához a folyamat elejétől a végéig húsznál is több vegyszer szükséges (3. ábra).



**3. ábra: Szükséges vegyszerek és eszközök (saját kép)**

Általános külföldi tapasztalat alapján elmondható, hogy a hazai erdészeti genetikai kutatás még kezdetleges jellegű, és csak néhány hazai szakember foglalkozik a fontosabb erdészeti fajokkal, mint a lucfenyő (Teodosiu és Konnert, 2005; Teodosiu, 2009; Șofletea és mtsai., 2009; Magyarai és mtsai., 2011; Teodosiu, 2011), a kocsányos és kocsánytalan tölgy fajkomplexum (Șofletea és Curtu, 2009; Curtu és mtsai., 2007, 2011ab), a vörös fenyő, vagy ahogy Gyergyóban ismerik: lárics fenyő (Mihai és Teodosiu, 2009) valamint a bükk (Ioniță, 2009; Ciocârlan, 2014; Szász-Len és mtsai, 2015a,b). Ezzel ellentétben Nyugat-Európában már 1979-ben elkezdték tanulmányozni a bükk genetikai mintázatát, a fenyőkét még ennél is korábban. Ezekben az országokban a mára már felhalmozódott nagy mennyiségű szakmai tudásnak és a kiépült erdészeti genetikai kutatóközpontoknak köszönhetően sokkal előrelátóbban tudnak erdőgazdálkodást végezni, és felismerték annak a jelentőségét is, hogy a genetikai változatosság növeli az erdők alkalmazkodóképességét az éghajlatváltozáshoz. Habár a fák egyes generációira hosszú életidő jellemző, a megváltozott környezeti feltételekhez meglehetősen gyorsan tudnak alkalmazkodni megfelelő feltételek

mellett. Ez azzal magyarázható, hogy ugyanazon fafajon belül nagyon magas a genetikai változatosság a faegyedek között, és ezért mindig lesz olyan faegyed, mely képes lesz túlélni extrém körülmények között is (Petit és Hampe, 2004). Ez a rugalmasság akkor kerül előtérbe, mikor például egy súlyos aszály miatt az erdőt alkotó fák 90%-a elpusztul, a megmaradó 10% már olyan utódokat fog hozni, melyek hordozzák génkészletükben az extrém száraz időszakokhoz való alkalmazkodás képességét. Extrém éghajlati körülmények között azon erdők túlélési esélye lecsökken, ahol az erdőt alkotó fák génkészlete nagyon hasonló vagy egyforma (például: klón nyárfaültetvények).

A fák genetikai diverzitása fontos az egész erdei ökoszisztéma számára. A fákat „alapító fajok”-nak is nevezik, mivel olyan szerepet töltenek be az erdei ökoszisztémák létrehozásában, amit semmilyen más élőlény nem képes betölteni helyettük. Másképp mondva: nem beszélhetünk erdőről fák nélkül. Ha a fő fafajok genetikai sokfélesége elvész, akkor egyéb, a fákhoz specifikusan kapcsolódó élőlények is veszélybe kerülnek, mint például rovar- és gombafajok. Így a teljes erdei ökoszisztéma is eltűnhet, beleértve az ott élő állat- és növényfajokat is.

Ugyanakkor a teljes folyamatot összességében szemlélve az erdőtől a kivont DNS-ig saját tapasztalatból is elmondható, hogy folyamatos odafigyelést igényel, hiszen nem veszélytelen folyamat. Maga a mintagyűjtés sem egyszerű, hiszen esetenként 35-40 méteres fákról kell gyűjteni meredek hegyoldalon, nem beszélve a DNS-kivonás során a laboratóriumban használt vegyszerek egy részéről, melyeknek használata egészségügyi kockázattal is járhat a DNS-kivonást végző személyre nézve. A terepi mintagyűjtést követően gondoskodni kell a minták megfelelő tárolásáról, ha nem kezdődik meg azonnal a DNS-kivonás. Ebben az esetben a mintákat vagy szárítják, vagy fagyasztva tárolják a DNS-kivonás kezdetéig. A DNS kivonását és annak elemzését követően az adatokat genetikai adatbázisban tárolják.

Romániára nézve az országos kiterjedésű genetikai elemzések igen ritkák. Épp ezért is választottam doktori dolgozatom témájaként a bükk genetikai variabilitásának kutatását a Kárpátokban. Ennek érdekében a mintavételi pontok kiterjedtek az egész romániai Kárpátokra a Radnai-havasoktól (Óradna, Beszterce-Naszód megye) egészen a Domogled hegységig (Herkulesfürdő,

Krassó-Szörény megye), felölelve 10 természetes bükkerdő állományát. Ezt a kiterjedt mintavételezést az indokolta, hogy a romániai Kárpátokban a bükk 2125 millió hektárt foglal el (INS, 2015). Jelenleg a bükk szerepe egyre inkább felértékelődik, mivel fája helyettesítheti az egzotikus fafajokat a fafeldolgozás során. A múltban főként tűzifaként értékesítették a bükkállományokat, és a fanemesítési kísérleteknek sem volt tárgya Romániában. Ezek az előzmények igen érdekes és értékes fajjá teszik a bükköt a kutatás számára. A székelyföldi mintállomány Szovátnál található. Már az előzetes eredmények azt mutatják, hogy a vizsgált bükkösök között nincsenek nagy különbségek a genetikai sokféleségben, így a genetikai távolságok a mintaállományok között csekélyek. Ezek az eredmények Romániára nézve és nemzetközi szinten is egyediek, mivel ez volt az első átfogó országos genetikai vizsgálat a bükk esetében, az erdészeti genetikában ma elérhető legmodernebb módszerekkel. A kutatás során közel 1000 bükkfáról gyűjtöttem mintát, melyeket Németországban, a Bajor Erdészeti Kutatóintézetben elemeztem és értékeltem ki a Német Környezetvédelmi Minisztérium doktori ösztöndíjasaként.

A jövő genetikai kihívásait tekintve Gyergyó területe kiemelt fontosságú szereppel bír, hiszen a Keleti-Kárpátokon belül a Gyergyói-medence együtt a Csíki-medencével önálló származási körzetként van számontartva, ami a vidék erdeinek egyediségét mutatja. Hargita megye területén 35 erdészeti génrezervátum van kijelölve, és ezek 708 hektáron terülnek el. Ezeket az erdőrezervátumokat a következő erdőalkotó fafajok génállományának védelmében jelölték ki: lucfenyő, jegenyefenyő, bükk, lárícs, erdei fenyő és a Kaliforniából betelepített duglászfenyő. A Gyergyói-medencében a fő erdőalkotó fafajok a lucfenyő, jegenyefenyő és az európai bükk, valamint kísérő fafajként megjelenik a hegyi juhar, vörös fenyő, a hamvas és a mézgás éger, valamint a molyhos és a közönséges nyír. A romániai erdészeti kutatás kihívása, hogy ezeket az erdészeti génrezervátumokat értékelje és felmérje.

## Szómagyarázat

DNS – a dezoxiribonukleinsav (DNS), olyan összetett molekula, amely a genetikai információ tárolásában és továbbításban játszik szerepet

erdészeti génrezervátum – referenciapopulációként szolgáló természetes és/vagy mesterséges erdőállomány, ahol a cél egy adott fafaj génkészletének hosszú távú megőrzése, rendszerint egy kiterjedt erdőségből álló védőzóna veszi körül

genetikai analízátor – azon eszköz, mely segítségével megtörténik a különböző nagyságú DNS-részletek azonosítása az előkészített mintákból

genetikai sokféleség – az élőlények genetikai diverzitása (változatossága), amely molekuláris módszerekkel mutatható ki

genetikai távolság – egy olyan becsült számérték, amely kifejezi a különböző populációk, ill. erdőállományok között a genetikai variációk mennyiségében meglévő különbséget

primer (ejtsd: prájmer) – olyan rövid DNS-szakaszok, amelyek kiválasztják és kapcsolódnak a vizsgált minta DNS-ben a tanulmányozni kívánt DNS-részlethez

## Válogatott szakirodalom

Ciocîrlan, E., 2014, Structura genetică în populații marginale de fag (*Fagus sylvatica* L.) din România – evaluări cu markeri moleculari, Universitatea Transilvania, Braşov – teză de doctorat.

Curtu, A. L., Gailing, O., Leinemann, L., Finkeldey, R. (2007). Genetic variation and differentiation within a natural community of five oak species (*Quercus* spp.). *Plant Biology*, 9(01), 116–126.

Curtu, A. L., Sofletea, N., Toader, A. V., Enescu, M. C. (2011a). Leaf morphological and genetic differentiation between *Quercus robur* L. and its closest relative, the drought-tolerant *Quercus pedunculiflora* K. Koch. *Annals of forest science*, 68(7), 1163–1172.

Curtu, L. A., Moldovan, I. C., enescu, M. C., Craciunesc, I., Sofletea, N. (2011b). Genetic Differentiation between *Quercus frainetto* Ten. and *Q. pubescens* Willd. in Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(1), 275.

Ioniță, L., 2009, Evaluarea diversității intra și interpopulaționale cu ajutorul markerilor genetici: Fagul (*Fagus sylvatica*). In: Mihai G. (ed.): Surse de semințe testate pentru principalele specii de arbori forestieri din România. Ed. Silvică 2009: 184–190.

INS, 2015, Statistica activităților din silvicultură, p. 6.

Magyari, E. K., Major, Á., Bálint, M., Nédli, J., Braun, M., Rácz, I., & Parducci, L., 2011, Population dynamics and genetic changes of *Picea abies*

in the South Carpathians revealed by pollen and ancient DNA analyses. *BMC evolutionary biology*, 11(1), 1.

Mihai, G., Teodosiu, M., 2009, Genetic diversity and breeding of larch (*Larix decidua* Mill.) in Romania. *Annals of Forest Research*, 52(1), 5.

Șofletea, N., Curtu, A.L., 2009, Evaluarea diversității intra și interpopulaționale cu ajutorul markerilor genetici: Stejarul (*Quercus robur* L.) In: Mihai G. (ed.): Surse de semințe testate pentru principalele specii de arbori forestieri din România. Ed. Silvică 2009: 193–201. 219.

Șofletea, N., Curtu, L.A., Toader, A.V., Pricopie, I., Radu, R.Ghe., 2009: Utilizarea analizelor de izoenzime în genetica forestieră: un studiu de caz pentru molidul din Munții Poiana Ruscă. *Revista Pădurilor* 5: 17–24. 220.

Szász-Len A.-M., Rebreaan F. A., Truța A., Holonec L., Pamfil D., 2015a, Comparing DNA extraction methods from European Beech leaves from different provenance regions in Romania, The 14th International Symposium Prospects for the 3rd Millennium Agriculture, Cluj-Napoca, 24–26 September 2015.

Szász-Len A.-M., Truța A., Holonec L., Pamfil D., 2015b, DNA extraction and quantification from trunk cambium of European beech (*Fagus sylvatica* L.) from different provenance regions in Romania, The 14th International Symposium Prospects for the 3rd Millennium Agriculture, Cluj-Napoca, Romania, 24–26 September 2015.

Teodosiu, M., 2009, Evaluarea diversității intra și interpopulaționale cu ajutorul markerilor genetici: Molidul (*Picea abies* L. Karst). In: Mihai G. (ed.): Surse de semințe testate pentru principalele specii de arbori forestieri din România. Ed. Silvică 2009: 184–190, 221.

Teodosiu, M., 2011, Cercetări privind variabilitatea genetică în arboretele de molid din Obcinile Bucovinei, Universitatea Transilvania, Brașov – teză de doctorat.

Teodosiu, M., Konnert, M., 2005, Studiul variabilității genetice în regenerări naturale și artificiale de molid. *Revista Pădurilor* 2: 3–12.

Lowe, A. J., Cross, H. B. (2011). The Application of DNA methods to Timber Tracking and Origin Verification. *IAWA Journal*, 32(2), 251–262.

Petit, R. J., Duminil, J., Fineschi, S., Hampe, A., Salvini, D., Vendramin, G. G. (2005). Invited review: comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. *Molecular Ecology*, 14(3), 689–701.



## **Analize genetice a supraspeciilor forestiere și posibilități de aplicație practică**

Studiile genetice asupra speciilor forestiere fac obiectul geneticii forestiere. Pe lângă cercetările de bază, analizele genetice se aplică în practica forestieră în ameliorarea plantelor forestiere, în controlul materialelor forestiere de reproducere, în testarea arboretelor surse de semințe și în conservarea resurselor genetice forestiere. Procesul include multe etape intermediare de la eșantionare până la efectuarea analizelor genetice. Studiul genetic al pădurilor din bazinul Gheorgheni reprezintă o provocare pentru viitor.

## **Genetic analysis of woodland species and possible practical applications**

Genetic studies on forest species are the subject of forestry genetics. In addition to basic research, forestry genetics analyses in practice forest plant breeding, controlling reproductive material, testing the seed source stands and conservation of genetic resources. The process requires several intermediate steps from sampling to genetic analysis. The genetic study of the Gheorgheni basin forests is an interesting challenge for the future.