Erdészettudományi Közlemények 1. évfolyam 1. szám 2011
107–114 oldal

NYÁR GENOTÍPUSOK AZONOSÍTÁSA DNS UJJLENYOMATUK ALAPJÁN

Cseke Klára, Benke Attila és Borovics Attila
Erdészeti Tudományos Intézet

Kivonat

Kutatásunk célja a nyár genotípusok molekuláris genetikai azonosítását lehetővé tevő módszer tesztelése volt. A kutatáshoz mikroszatellit (SSR) technikát választottunk, amely a növényi genomban nagy számban jelenlévő, ismétlődő szekvencia motívumok vizsgálatán alapul. Az alkalmazott kilenc marker segítségével az egyedek ujjlenyomatszintű azonosítása valósítható meg. Ennek megfelelően a genotípus adatok a fajtákra jellemző azonosító kódként használhatók. A módszert 36, a nyárnemesítés szempontjából fontosabb nyárfajta, fajtajelölt és kísérleti klón példáján mutatjuk be. A módszer alkalmas lehet a jövőben a hazai nemesnyár fajták fajtavédelmében, szaporítóanyag felügyeletében történő alkalmazásra.

Kulcsszavak: nyárfajták, mikroszatellit markerek, genetikai azonosítás, fajtavédelem

IDENTIFICATION OF POPLAR GENOTYPES BASED ON DNA FINGERPRINTING METHOD

Abstract

A molecular genetic method was tested in order to identify poplar genotypes based on their DNA fingerprints. Applying nine microsatellite (SSR) markers the individuals were clearly distinguishable from each other. Therefore, the genetic code resulted from the analysis can be used as an identification code for each individuals. The study presented here comprises the method description by the genetic identification of 36 poplar cultivars and candidate clones. The method is proposed for variety protection and for the official control of reproductive materials as well.

Keywords: poplar cultivars, microsatellite markers, genetic identification, cultivar protection

BEVEZETÉS

A nemesnyár-termesztés egyik sajátossága, hogy kizárólag fajtákkal dolgozik, amelyek vegetatív úton fenntartott és továbbszaporított klónok. Bár a vegetatív továbbszaporítás módja eltérő lehet (dugványozás – *Aigeros* Duby szekcióba tartozó fajok, oltás – *Leuce* Duby szekció fajai esetén), a cél minden esetben ugyanaz: a nemesítői munka során létrehozott, a gyakorlati felhasználás szempontjából meghatározó kiváló fenotípusos jellegeket mutató egyedek genetikai állományának változatlan formában történő továbböröklítése, azaz magának az egyednek a klónozása. Tehát egy adott fajta minden egyede egy adott genotípust képvisel,

Levelező szerző/Correspondence:
Cseke Klára, 9600 Sárvár, Várkerület 30/A., e-mail: csekekl@ertisarvar.hu

vagyis egy egyedre vezethető vissza, azaz a DNS információtartalma e fajtán belül minden egyedben megegyező. Így abban az esetben, ha az adott nemesnyár fajta genetikai mintázata ismert, klónjai laboratóriumi körülmények között is azonosíthatóvá válnak.

A genetikai ujjlenyomat (*genetic fingerprint*) – akárcsak a hagyományos ujjlenyomat – az egyedek azonosítását teszi lehetővé. Ebben az esetben azonban morfológiai jellegek helyett a DNS bizonyos szakaszainak egyedi mintázatát vizsgáljuk.

Az ún. mikroszatellit régiók kódoló funkció nélküli, nem génjellegű DNS szakaszok. Jellegzetesen egy rövid, 1-5 bázispárból álló szekvenciamotívum nagyszámú ismétlődéséből állnak. Erre utal a gyakorlatban elterjedt szinonim elnevezésük is, az SSR (*simple sequence repeat*). Az ismétlődések számában – és így a mikroszatellit régió hosszában – nagy egyedi különbségek lehetnek. Változatosságuknál fogva alkalmasak a genom részletes vizsgálatára, egy adott faj populációgenetikai vagy leszármazástani kutatására, illetve az egyes egyedek azonosítására (Hajósné Novák 1999).

A nyár nemzetség fajaira (*Populus* spp.) számos mikroszatellit markerrégiót azonosítottak (PTR-sorozat *P. tremuloides* genomból [Rahman és mtsai 2000, Rajora és Rahman 2001]; WPMS-sorozat *P. nigra* genomból [van der Shoot és mtsai 2000, Smulders és mtsai 2001]; PMGC-sorozat *P. trichocarpa* genomból [*The International Populus Genome Consortium* http://www.ornl.gov/sci/ipgc/ssr_resource.html]; ORPM-sorozat *P. trichocarpa* genomból [Tuskan és mtsai 2004]), amelyek általában a különböző szekcióba tartozó nyár fajoknál egységesen megtalálhatóak, tehát a *Populus* nemzetségen belül univerzálisan alkalmazhatóak. Ezek után az első, markerrégiókat leíró és tesztelő vizsgálatok után megjelentek a kereskedelmi forgalomban megtalálható fontosabb nyár fajták genetikai azonosítását célzó vizsgálatok. Rajora és Rahman (2003) Kanadában 17 nemes nyár (*Populus* x *euramericana* Guinier) fajtát különített el, amelyhez mindössze négy mikroszatellit marker elegendő volt (PTR-sorozat). Khasa és mtsai (2003) egy kanadai géngyűjteményben 15 kétséges eredetű nyár klón szülőit azonosította be négy mikroszatellit marker (PMGC-sorozat) segítségével. A Fossati és mtsai (2005) által végzett nemesnyár klónazonosítás felhívta a figyelmet a nemesítés és a fajtaminősítés során felbukkanó esetleges hibákra. Vizsgálataikban 66, elsősorban Olaszországban nemesített nyár klón genetikai ujjlenyomatát készített el, hat mikroszatellit marker alkalmazásával (PMGC 14, WPMS 9, 14, 16, 18, 20). A vizsgálatok során olyan fajtákat is találtak, amelyek genetikailag egyetlen klónnak tekintendők, annak ellenére, hogy a DUS vizsgálatot is magában foglaló fajtaelismerés során korábban önálló fajtaként jegyezték be őket. Rathmacher és mtsai (2009) a nyár fajtaazonosítás módszertanára egy standard eljárást dolgoztak ki, hét mikroszatellit marker (PMGC 14, 2163, WPMS 5, 9, 14, 18, 20) alkalmazásával. Eredményeik szerint a jövőben lehetőség nyílhat különböző laboratóriumok eredményeinek összehasonlítására, valamint egy egységes nemzetközi fajtanyilvántartás kialakítására is.

Az Erdészeti Tudományos Intézetben 2007 óta végzünk ujjlenyomat szintű genetikai egyedazonosítást. Különböző nyár fajok (*Populus* spp.) esetében eddig 16 mikroszatellit markert vizsgáltunk, és összesen 94 nyár klón genetikai azonosító kódja áll rendelkezésünkre, ideértve a fajtaszortimentben szereplő összes hazai és a jelentősebb külföldi fajtákat, fajtajelölteket, illetve a nemesítés során előállított ígéretes klónokat.

Ebben a munkában a legfontosabb 36 nyár fajta és fajtajelölt példáján kívánjuk bemutatni a módszerben rejlő lehetőségeket.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Vizsgált növényanyag

Az itt bemutatott vizsgálathoz az ERTI Bajti Csemetekertjében található nyár fajtagyűjteményből választottuk ki az 1. számú táblázatban szereplő növényanyagot. A minták kiválasztásakor természetesen a legfontosabb hazai fajtákra és ígéretes fajtajelöltekre koncentráltunk. A mintasort kiegészítettük olyan külföldön nemesített fajtákkal, amelyeknek szintén nagy a jelentőségük a hazai gazdálkodásban. Annak érdekében,

1. táblázat: *A vizsgálathoz kiválasztott 36 genotípus és azok taxonómiai besorolása*
Table 1: *The 36 genotypes with their taxonomic classification selected for analysis*

Fajtanév, klónazonosító	Taxonómiai besorolás
'Durvakérgű'	*P. deltoides*
Jegenyenyár (kultúrváltozat)	*P. nigra*
'Lovasiskola'	*P. nigra*
'Agathe-F'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Aprólevelű'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'BL'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Blanc du Poitou'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'H-328'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'I-45/51'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'I-154'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'I-214'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'I-273'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Koltay'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Kopecky'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Pannónia'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Rábamenti'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Robusta'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Sudár'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Sv-778'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Sv-871'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Sv-879'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Sv-890'	*P.* x *euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*)
'Adonis'	*P. deltoides* x *P.* x *euramericana*
'S-298-8'	*P. deltoides* x *P.* x *euramericana*
'Triplo'	*P. deltoides* x *P.* x *euramericana*
'Muhle Larsen'	*P. trichocarpa*
'V-24'	*P. trichocarpa*
'Beaupre'	*P.* x *interamericana* (*P. trichocarpa* x *P. deltoides*)
'Unal'	*P.* x *interamericana* (*P. trichocarpa* x *P. deltoides*)
'Raspalje'	*P.* x *interamericana* (*P. trichocarpa* x *P. deltoides*)
'Sv-490'	*P.* x *interamericana* (*P. deltoides* x *P. trichocarpa*)
'Sv-487'	*P.* x *interamericana* (*P. deltoides* x *P. trichocarpa*)
'Kornik-21'	*P. maximowiczii* x *P.* x *berolinensis*
'Meggylevelű'	*P. maximowiczii* x *P. trichocarpa*
'Villafranca'	*P. alba*
'Favorit'	*P. alba* x *P. grandidentata*

hogy ellenőrizhessük az esetleges taxonómiai elkülönülést, a vizsgálatba a nyárnemesítés fontosabb alapfajai közül is vontunk be egyedeket. Így vizsgáltunk két fekete nyár (*Populus nigra* L.) genotípust (jegenyenyár, 'Lovasiskola') és két nyugati balzsamos nyár (*Populus trichocarpa* TORR. et GRAY) genotípust ('Muhle Larsen', 'V-24'). Az amerikai fekete nyárat (*Populus deltoides* MARSCH.) a 'Durvakérgű', a *Leuce* szekciót pedig a 'Villafranca' (*Populus alba* L. cv. Villafranca) és a 'Favorit' (*Populus alba* L. x *Populus grandidentata* MICHX. cv. Favorit) fajták képviselik.

Mikroszatellit analízis

A DNS kivonásához fiatal levélszövetet használtunk, amelyet folyékony nitrogénnel lehűtve, mozsárban porrá őröltünk. Az így feltárt növényi mintából QIAGEN DNS-izoláló készlettel (DNeasy Plant Mini Kit) nyertük ki a DNS-t. A kivont DNS-koncentrációját agaróz gélelektroforézis (0,5%-os) során ellenőriztük.

A vizsgálathoz 9 mikroszatellit markerrégiót alkalmaztunk, amelyeket korábbi publikációk alapján választottunk ki (Fossati és mtsai 2005; Rathmacher és mtsai 2009). A WPMS-sorozatból (van der Shoot és mtsai 2000; Smulders és mtsai 2001) hat marker származott, amelyek a következők voltak: WPMS 5, 9, 14, 16, 18, 20. A PCR reakció összeállításakor a szakirodalomban közölt információkat követtük. Három további marker a *Populus trichocarpa* genomból leírt PMGC-sorozatból került ki (PMGC 14, 2163, 2060), a PCR reakció összeállításához szükséges információk a The International Populus Genome Consortium hivatalos weboldalán megtalálhatók (http://www.ornl.gov/sci/ipgc/ssr_resource.htm).

A mikroszatellit fragmentumok pontos méretét (fragmentanalízis) ABI Prism 310-es genetikai analizátorral határoztuk meg. A lézeres detektálásra C-mátrixot (DS-34) alkalmaztunk, 6-FAM, TET, HEX fluoreszcens jelölésekkel és TAMRA-500 belső méretstandarddal. A fragmentumhosszak lekódolását a GeneMapper szoftverrel végeztük.

Statisztikai értékelés

A fragmentanalízis során nyert mikroszatellitek hosszának adatsorát, vagyis a markerek allélösszetételét és az egyes egyedek genotípusát a GenAlEx 6.4 (Peakall és Smouse 2006) populációgenetikai szoftver segítségével elemeztük.

Az alkalmazott kilenc mikroszatellit marker felbontóképességét, így alkalmasságát az egyedszintű azonosításra egy statisztikai mutató segítségével ellenőriztük. Az azonos genotípus valószínűség-mutató (P_{ID}) annak a valószínűségét adja meg, hogy az adott mintasorból véletlenszerűen kiemelt bármely két, egymással genetikailag nem azonos egyed allélösszetétele megegyezik (Weising és mtsai 2005). Értéke, amely 0 és 1 között változhat, minél közelebb áll a 0-hoz, annál megbízhatóbb az egyedazonosításra alkalmazott markerek köre (így értelemszerűen annál kisebb a valószínűsége, hogy eltérő klónok esetében azonos allélösszetételt állapítunk meg).

Ezt követően ellenőriztük, hogy minden vizsgált minta egyedi genotípuskóddal rendelkezik-e. Összefoglaltuk a vizsgált markerek főbb statisztikai mutatóit: a megfigyelt allélszámot (N_a), a gyakorisági értékekkel súlyozott effektív allélszámot (N_e), valamint az allélgyakorisági értékekből származtatott mutatókat, mint a Shannon Információs Indexet (I), a várt heterozigóciát (H_e), a megfigyelt heterozigóciát (H_o), valamint az előző két mutatóból levezethető fixációs indexet (F). Ez a populációgenetikai kutatásokban gyakran alkalmazott index ún. nullallélok jelenlétét jelezheti, amelyek olyan allélkieséseket jelentenek, amelyek egy mutáció hatására meghiúsuló amplifikációból erednek (Weising és mtsai 2005).

A GenAlEx 6.4 program segítségével kiszámítottuk a minták genetikai távolságát, páronkénti összehasonlításban. A genetikai távolságok alapján dendrogramot szerkesztettünk, amelyen az egyedeket genetikai rokonságuk alapján csoportokba rendeztük, és ezzel az egymáshoz viszonyított rokonsági-leszármazási kap-

csolatukat szemléltettük. A klónok csoportosítása a klaszteranalízis UPGMA eljárásával készült (Podani 1997). A dendrogram szerkesztéséhez a Statistica 6.0 (StatSoft. Inc. 2001) programot használtuk.

EREDMÉNYEK

Az alkalmazott kilenc mikroszatellit markerrel sikerült egyedileg azonosítanunk a vizsgálatba vont legfontosabb hazai és külföldi nyár fajtákat, fajtajelölteket, illetve kísérleti klónokat. A markerek kombinációjából nyert azonos genotípus valószínűség-mutató értéke nullához közelített (P_{ID} = 2,3x10^{-13}). Ez alapján kijelenthető, hogy ilyen markerszám mellett a téves genotípus-azonosítás valószínűsége elhanyagolható.

A 2. táblázatban a jelen tanulmányhoz kiválasztott kilenc mikroszatellit marker főbb statisztikai mutatóit foglaltuk össze, a 36 vizsgálatba vont genotípus elemzése alapján.

2. táblázat: *A 36 vizsgálatba vont nyár genotípus azonosítására kiválasztott kilenc mikroszatellit marker főbb statisztikai adatai*
Table 2: *Main statistic parameters of the selected 9 microsatellite markers based on the analysis of 36 poplar genotypes*

	PMGC 2163	PMGC 2060	PMGC 14	WPMS 9	WPMS 20	WPMS 16	WPMS 18	WPMS 14	WPMS 5
N	36	32	34	33	34	36	35	36	36
N_a	18	13	14	15	10	13	11	17	23
N_e	5,226	4,613	7,114	8,475	3,959	5,355	5,052	7,043	13,787
I	2,184	1,966	2,240	2,374	1,722	2,027	1,954	2,355	2,852
H_o	0,889	0,875	0,941	0,242	0,735	0,861	0,771	0,861	0,944
H_e	0,809	0,783	0,859	0,882	0,747	0,813	0,802	0,858	0,927
F	-0,099	-0,117	-0,095	0,725	0,016	-0,059	0,038	-0,004	-0,018

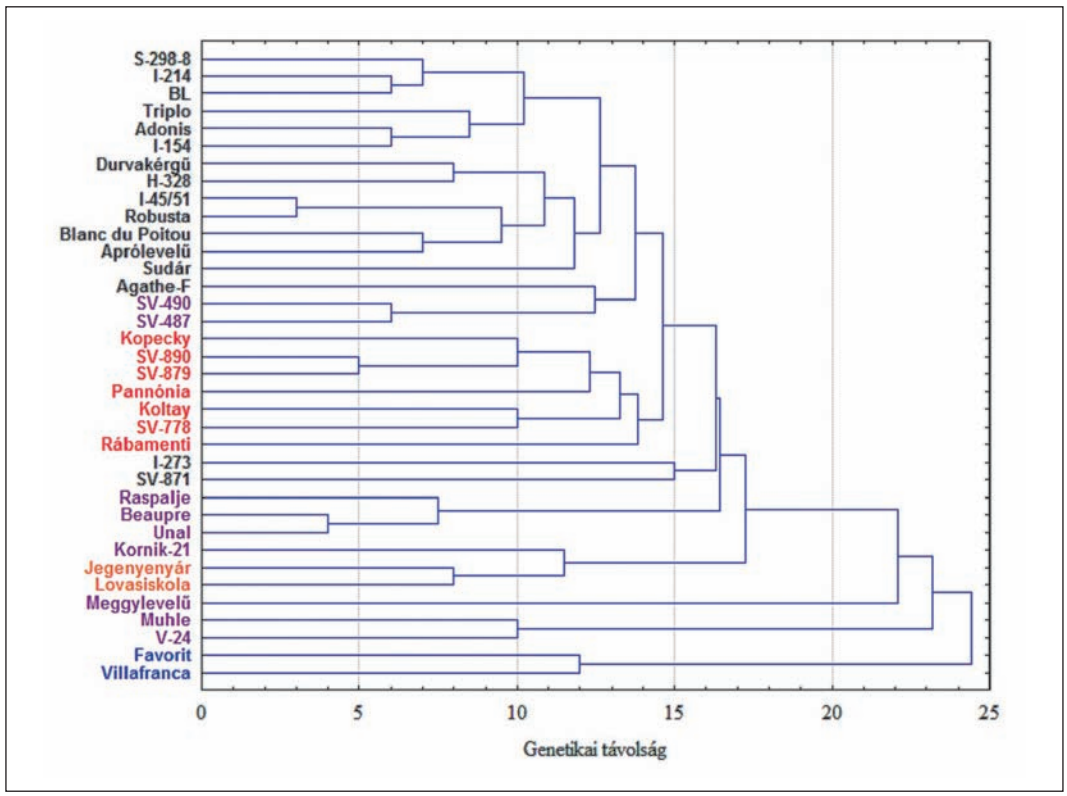
A statisztikai adatok alapján megállapítható, hogy a leginformatívabb marker a WPMS 5-ös volt, 23 különböző alléllal, a legmagasabb effektív allélszámmal (N_e=13,787) és magas heterozigóta aránnyal (H_o=0,944). A legkevesebb allélt a WPMS 20-as és WPMS 18-as markereknél kaptuk, ahol 10 illetve 11 különféle hosszváltozatot mértünk. Ez az érték azonban még így is meglehetősen nagy változatosságot jelent a 36 egyedből álló mintasornál. A WPMS 9-es marker esetében a várthoz képest igen alacsony heterozigóciát tapasztaltunk (H_o=0,242), tehát a minták többsége homozigóta genotípussal rendelkezett. A kiemelkedően magas, pozitív fixációs érték (F=0,725) szintén ezt jelzi. Ez nagy valószínűséggel mutáció következtében kialakult nullalélok jelenlétére hívja fel a figyelmet.

Az *1. számú ábrán* a vizsgálatba vont 36 nyár genotípus kapcsolatát ábrázoltuk, a genetikai távolság mátrix alapján szerkesztett dendrogramon.

A dendrogram több nagyobb ágra bomlik, amelyeken belül a genetikailag hasonlóságot mutató klónok további kisebb csoportjait különíthetjük el.

A felső főágon (a 'Raspalje' fajta „felett") található valamennyi euramerikai nemesnyár hibrid, köztük külön alcsoportot képeznek az ERTI Sárvári Kísérleti Állomásán nemesített fajták és fajtajelöltek ('Kopecky', 'Pannónia', 'Koltay', 'Rábamenti', illetve 'SV-890' és 'SV-879' testvérklónok, 'Sv-778', piros színnel kiemelve). Szintén a diagram felső felén, más csoportoktól jól elkülönülten jelennek meg a *P. deltoides* anyai és *P. trichocarpa* apai szülőkkel rendelkező sárvári fajtajelöltek ('Sv-487' és 'Sv-490' testvérklónok, lila színnel jelölve). Érdekesség, hogy a reciprok keresztezésből származó *P.* x *interamericana* Brockh. hibridek ('Raspalje', 'Beaupre', 'Unal', szintén lila színnel jelölve) a diagram alsó felén alkotnak különálló csoportot. A módszer hatékonyságát mutatja, hogy az egy keresztezési kombinációból származó klónok egymás mellett vagy

egymáshoz nagyon közel helyezkednek el, azaz a közeli rokonság jól kimutatható ('Sv-487' – 'Sv-490', 'Sv-879' – 'Sv-890', 'Pannónia' – 'Kopecky'). Ugyancsak érdekesség, hogy a triploid fajták ('Adonis', 'Triplo', 'S-298-8') szintén közeli rokonságot mutatnak, így a dendrogramon egymáshoz közel helyezkednek el.



1. ábra: *A vizsgálatba vont 36 nyár genotípus egymáshoz viszonyított helyzete a genetikai távolságuk alapján szerkesztett UPGMA dendrogramon* (Podani 1997) *ábrázolva*

Fig. 1: *Genetic dendrogram of the analysed 36 poplar genotypes based on their genetic distances*

Az alsó főágon a taxonómiailag élesebben elkülönülő csoportok találhatók. Mint látható, a fehér nyárak (*Leuce*) szekciójába tartozó fajták ('Villafranca', 'Favorit', kék színnel jelölve) a dendrogram alsó részén, teljesen külön ágon jelennek meg. Szintén külön csoportot alkot a két *P. trichocarpa* egyed is ('Muhle Larsen', 'V-24', lila színnel jelölve). A 'Meggylevelű' fajta ezektől távolabb, külön ágon található. Az európai fekete nyárak (jegenyenyár, 'Lovasiskola', narancssárga színnel) az euramerikai nyáraktól jól elkülöníthető ágra kerültek, távolabbi rokonságot mutatva velük, mint például az interamerikai hibridek. Érdekességként kiemeljük a 'Kornik-21' fajtajelölt dendrogramon elfoglalt helyzetét. Annak ellenére, hogy ezt a nemesnyár klónt *P. maximowiczii* HENRY x *P.* x *berolinensis* DIPPEL (*P. laurifolia* LEDEB x *P. nigra* L. cv. Italica) hibridként jelentették be állami elismerésre, a fekete nyárakkal mutat a dendrogram szerint közelebbi rokonságot – megjelenésében is sokkal inkább mutat *P. nigra* jegyeket. Gergácz (2000) *Populus pyramidalis* és *Populus* x *berolinensis* hibridként említi, azaz anyai szülőként egy oszlopos alakú, nőivarú fekete nyárat nevez meg. A fenti vizsgálatokból ugyan messzemenő taxonómiai következtetéseket nem lehet levonni, de arra mindenképpen alkalmasnak tűnik, hogy a bizonytalan származású fajták, fajtajelöltek ellenőrzésének lehetőségére rámutatasson.

ÖSSZEFOGLALÁS

Ebben a tanulmányban 36 kiválasztott nyár genotípus – államilag elismert fajta, fajtajelölt és kísérleti klón – példáján mutattuk be a genetikai ujjlenyomat segítségével történő egyedazonosítás lehetőségét. A vizsgálathoz 9 mikroszatellit markert alkalmaztunk, amelyek nagy allélváltozatosságuk révén megfelelő felbontóképességgel rendelkeznek az egyedazonosítás szintű elkülönítéshez. Ennek megfelelően a vizsgálatba vont 36 nyár genotípus egyedileg azonosítható volt. Ezt szemlélteti a vizsgálati eredményekből szerkesztett dendrogram is, a közeli rokonságban álló genotípusok közötti alacsony genetikai távolsággal, illetve a jól elhatárolható, főbb taxonómiai csoportokkal.

A mikroszatellit markerek alkalmazásának – a nyár genetikai markerezésében és fajtaazonosításában – szakmai jelentősége számos területen tetten érhető. A nemesítők a keresztezések megtervezéshez használhatják, hiszen a távoli genotípusok kiválasztásával nagyobb valószínűséggel érhetnek el heterózisos utódokat. A fajtafenntartás szempontjából is kimagasló jelentősége lehet az eredményeknek, hiszen gyakran olyan fajtákat vonnak termesztésbe, melyek egymástól csak több morfológiai bélyeg együttes értékelése alapján különböztethetők meg, illetve esetenként (azonos keresztezési kombinációból való származás, közös vagy közeli rokon apai vagy anyai szülő) a fajtahatározás fenotípus alapján nagy biztonsággal el sem végezhető. A DNS ujjlenyomat ugyanakkor megfelelő eszköznek tűnik az illegális fajtahasználat kiszűrésére. A nem jogszerű használatból fakadó vitás esetekben az egyedazonosításra alkalmas genetikai vizsgálat bizonyító tényezőként használható fel.

A szaporítóanyag-felügyelet számára ugyancsak fontos lehet a genetikai markerekre alapozott fajtaazonosítás. A szaporítóanyag-bázisok, erdészeti vagy energetikai nyárültetvények nem körültekintő, illetve jogszerűtlen telepítése (nem a bejelentett vagy előírt fajta felhasználása) során kialakult vitás esetek tisztázása esetenként csak genetikai vizsgálatokkal lehetséges. A törzsültetvények, központi anyatelepek, üzemi anyatelepek fontos bázisai a fajtafenntartásnak, szaporítóanyag-gazdálkodásnak. Az ilyen ültetvények telepítése, fenntartása során előforduló esetleges fajtakeveredés az általunk alkalmazott módszerrel feltárható, így a hibák javíthatók az ültetvények felszámolása és költséges újratelepítése nélkül.

A szaporítóanyag előállítása során előforduló tévedések, vitás kérdések tehát éppúgy tisztázhatók ezzel a gyors laboratóriumi módszerrel, mint egy esetleges illegális fajtahasználat kérdése vagy egy fajta származására vonatkozó kétely anélkül, hogy a fajtákra jellemző egyedi határozóbélyegek megjelenésére akár éveket kelljen várnunk.

FELHASZNÁLT IRODALOM

Fossati, T.; Zapelli, I.; Bisoffi, S.; Micheletti, A.; Vietto, L.; Sala F. and Castiglione, S. 2005: Genetic relationship and clonal identity in a collection of commercially relevant cultivars assessed by AFLP and SSR. Tree Genetics & Genomes. 1: 11–19.

Gergácz J. 2000: Helyzetkép a magyar erdészeti növénynemesítésről. Magkutatás, termesztés, kereskedelem, XIV. (1): 7–11.

Hajósné Novák M. (szerk.) 1999: Genetikai variabilitás a növénynemesítésben. Mezőgazda Kiadó. Budapest. p. 49.

Khasa, D.P.; Nadeem, S.; Thomas, B.; Robertson, A. and Bousquet, J. 2003: Application of SSR markers for parentage analysis of *Populus* clones. Forest Genetics 10(4): 273–281.

Peakall, R. and Smouse, P.E. 2006: GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6: 288–295.

Podani J. 1997: Bevezetés a többváltozós biológiai adatfeltárás rejtelmeibe. Scientia Kiadó. Budapest. p. 145.

Rahman, M.H.; Dayananda, S. and Rajora, O.P. 2000: Microsatellite DNA markers in Populus tremuloides. Genome 43: 293–297.

Rajora, O.P. and Rahman, M.H. 2001: Microsatellite DNA markers and their usefulness in poplars and conservation of microsatellite DNA loci in Salicaceae. *in* Müller-Starck G. and Shubert R. (eds.) 2001: Genetic Response of Forest Systems to Changing Environmental Conditions. Vol. 70 (For. Sci.). 105–115.

Rajora, O.P. and Rahman, M.H. 2003: Microsatellite DNA and RAPD fingerprinting, identification and genetic relationship of hybrid poplar (*Populus x canadensis*) cultivars. Theoretical and Applied Genetics. 106: 470–477.

Rathmacher, G.; Niggemann, M.; Wypukol, H.; Gebhardt, K.; Ziegenhagen, B. and Bialozyt, R. 2009: Alleleic ladder and reference genotypes for a rigorous standardization of poplar microsatellite data. Trees. 23: 573–583.

van der Schoot, J.; Pospiskova, M.; Vosman, B. and Smulders, M.J.M. 2000: Development and characterization of microsatellite markers in black poplar (*Populus nigra* L.). Thoeretical Applied Genetics. 101 (1–2): 317–322.

Smulders, M.J.M.; van Der Schoot, J.; Arens, P. and Vosman, B. 2001: Trinucleotide repeat microsatellite markers for black poplar (*Populus nigra* L.). Molecular Ecology Notes 1(3): 188–190.

StatSoft, Inc. 2001: STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104, phone: (918) 749-1119, fax: (918) 749–2217, email: info@statsoft.com, WEB: http://www.statsoft.com

Tuskan, G.A.; Gunter, L.E.; Yang, Z.K., Yin, T.M., Sewel, M.M. and DiFazio, S.P. 2004: Characterization of Microsatellites Revealed by Genomic Sequencing of *Populus trichocarpa*. Canadian Journal of Forest Research. 34(1): 85–93.

Weising, K.; Nybom, H.; Wolff, K. and Kahl, G. 2005: DNA Fingerprinting in Plants Principles, Methods and Applications. CRS Press. p. 42, 217.

The International Populus Genome Consortium: http://www.ornl.gov/sci/ipgc/ssr_resource.html (2011-05-13)

Érkezett: 2011. május 17.
Közlésre elfogadva: 2011. szeptember 1.