



LIFE13 ENV/SI/000148



Laboratorijske metode pri identifikaciji izvora in pestrosti gozdnega reprodukcijskega materiala

Marko BAJC, Marjana WESTERGREN, Hojka KRAIGHER

LIFEGENMON Delavnica o gozdnem semenarstvu

Poljčane, 8. november 2018



GOZDARSKI INŠTITUT SLOVENIJE
SLOVENIAN FORESTRY INSTITUTE



BAYERISCHES AMT
FÜR FORSTLICHE SAAT-
UND PFLANZENZUCHT



ARISTOTLE
UNIVERSITY OF
THESSALONIKI



HELLENIC REPUBLIC
DECENTRALIZED ADMINISTRATION OF MACEDONIA & THRACE
GENERAL DIRECTORATE OF FORESTS & RURAL AFFAIRS



ZAVOD za GOZDOVE
SLOVENIJE
Slovenia Forest Service



REPUBLIC OF SLOVENIA
MINISTRY OF THE ENVIRONMENT
AND SPATIAL PLANNING

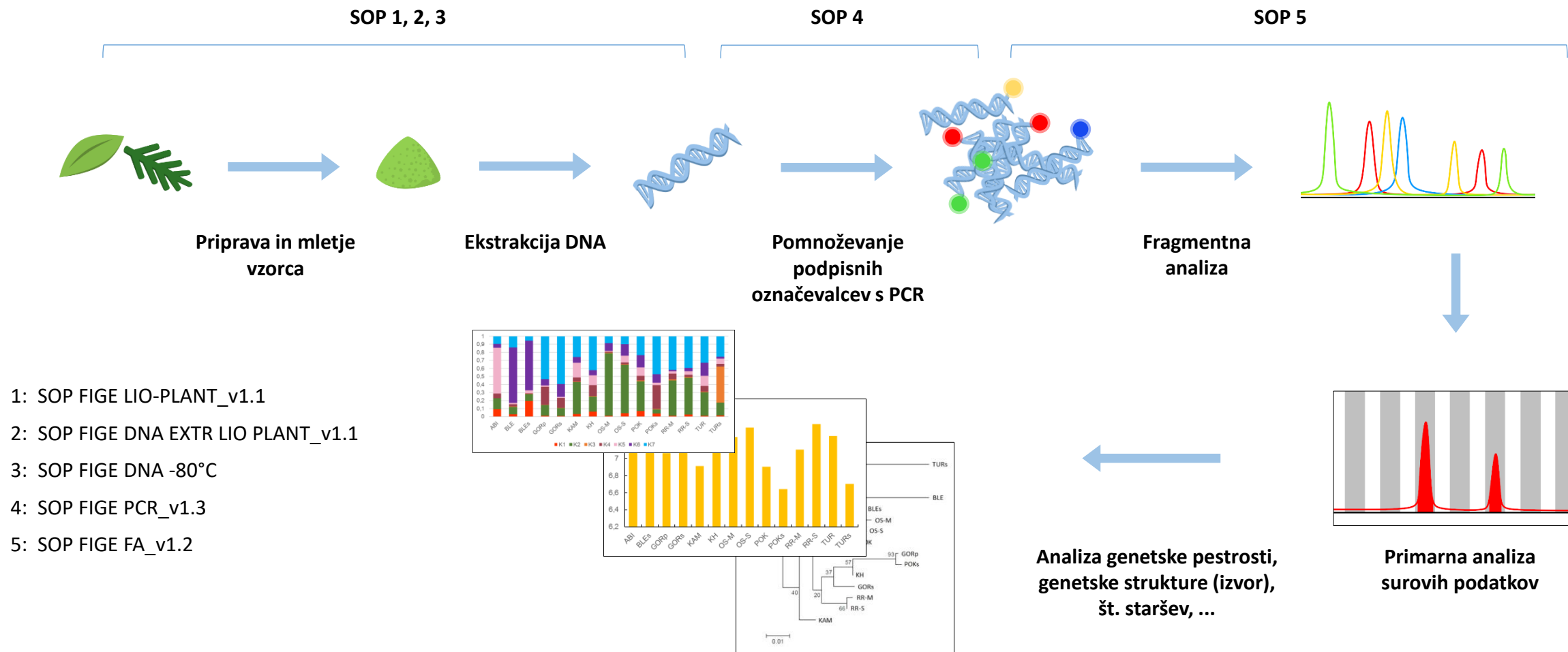
Molekularne metode za analizo GRM

- Temeljijo na analizi ti. **PODPISNIH GENETSKIH OZNAČEVALCEV** materiala, ki vsebujejo dovolj informacij za zaznavo preiskovane las
- **PODPISNI GENETSKI OZNAČEVALCI** = Molekularni prstni odtisi
- V Lab. Za Gozdno Genetiko analiziramo ti. **mikrosatelitne označevalceve** za posamezno drevesno vrsto; npr. 16 za bukev, 17 za jelko, 17 za topole.
- Analize izbranih podpisnih označevalcev omogočajo:
 - Identifikacijo in ločevanje med vrstami, posamezniki / hibridi / kloni
 - Identifikacijo izvora GRM (provenienca, sestoj); primerjava GRM z referenčnim materialom iz navedenega semenskega objekta.
 - Ugotavljanje genetske pestrosti GRM (heterozigotnost, indeks parjenja v sorodstvu, idr.)
 - Ugotavljanje starševstva in števila starševskih dreves

Verjetnost, da bi na osnovi analize 16 mikrosatelitnih markerjev, ki jih uporabljamo za bukev, dva različna osebka napačno identificirali kot isti osebek je **1:1.000.000** !



Shematski prikaz molekularnih analiz GRM



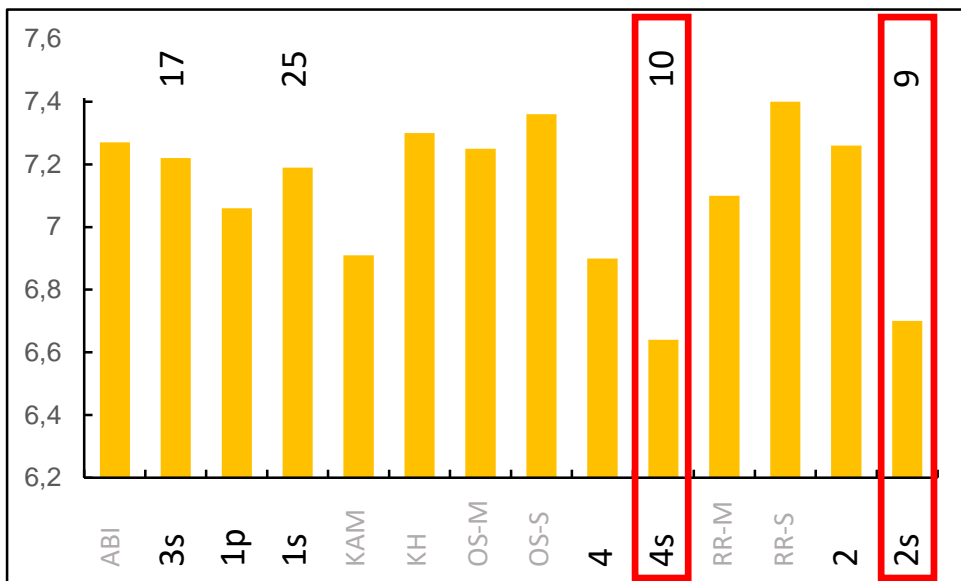
Primer iz prakse: Analiza izvora in genetske pestrosti GRM bukve v 2016

- V letu 2016 smo na GIS prejeli vzorce semena bukve (*F. sylvatica*) iz štirih (4) različnih registriranih GSO za ugotavljanje ustreznosti nabranega GRM (izdaja certifikata).
- Vzorce smo za potrebe predstavitve označili z 1, 2, 3 in 4.
- V Laboratoriju za gozdno genetiko smo izvedli molekularne analize genetske pestrosti, izvora GRM glede na referenčni material iz s strani nabiralca/drevesnice navedenih GSO, analizo št. starševskih dreves.
- V analizo je bil vključen tudi referenčen material iz petih (5) drugih naravnih sestojev.
- Analize so bile izvedene v skladu z veljavnimi SOPi.



Ugotovitve

I) Analiza genetske pestrosti

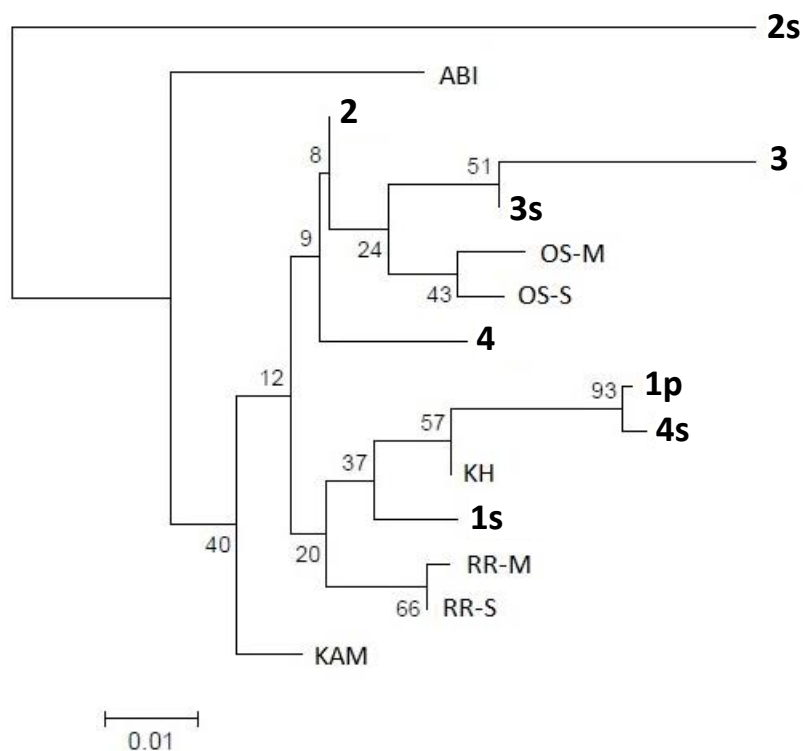


Genetska pestrost izražena kot "pestrost alelov", ki je standardizirana na najmanjše število alelov v na vzorec v celotni analizi, tj. 60.

- Najmanjšo genetsko pestrost sta izkazovala vzorca 2s in 4s.
- Med velikostjo vzorca in genetsko pestrostjo je obstajala statistično značilna ($p = 0,014$) in zmerne pozitivna korelacija ($r = 0,638$).
- Z večjega števila dreves kot nabiramo seme, večji del naravne genetske pestrosti bomo pri nabiranju zajeli in jo posledično s sadnjo sadik vzgojenih iz tega semena tudi ponovno vnesli v gozd !

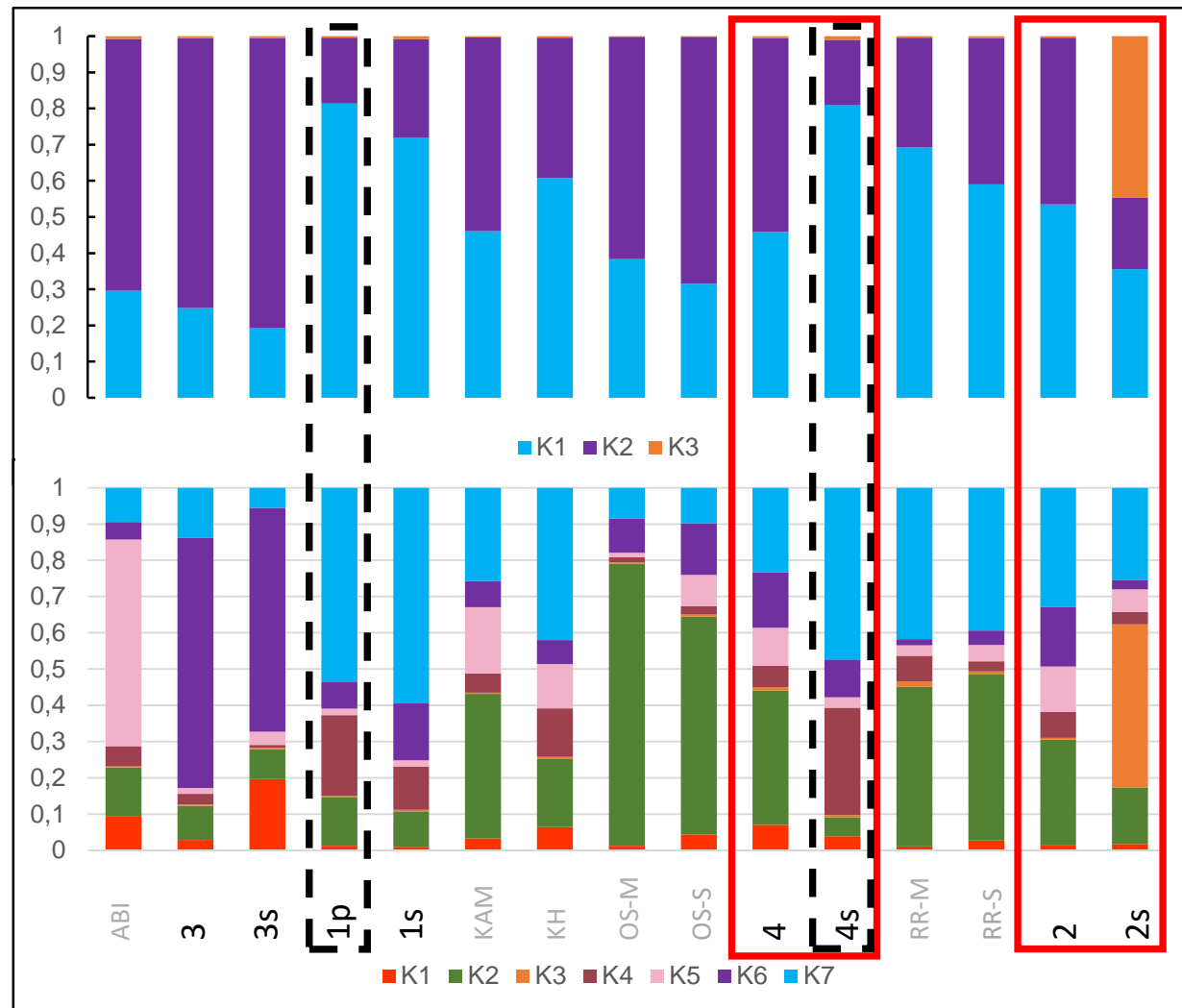


II) Analiza izvora GRM (na osnovi analize genetske strukture)



Zgoraj: Filogenetsko drevo rekonstruirano z algoritmom NJ na podlagi popravljene standardne genetske razdalje D_{ST} .

Desno: Grupiranje osebkov na osnovi Bayes-ove verjetnosti dobljeno s programom Structure za najverjetnejše število genetskih skupin $K = 3$ (zgoraj) in $K = 7$ (spodaj).



Analiza izvora GRM (na osnovi analize genetske strukture)

- Seme iz vzorca 2s **ne izvira iz iste lokacije** kot referenčni material nabran na GSO 2.
- Vzorec **2s se nedvoumno razlikuje tudi od vseh ostalih analiziranih vzorcev iz Slovenije.** Obstaja možnost, da GRM iz vzorca 2s ne izhaja iz Slovenije ali pa gre za kakšno parkovno varieteto bukve.
- Vzorca **4 (referenčni material iz GSO 4) in 4s najverjetneje ne izhajata iz iste populacije.**
- Za vzorca **4s (seme s posameznih semenjakov) in 1p (partija semena) z vsemi metodami in veliko stopnjo zaupanja pri filogenetskih drevesih (81 - 93%) ugotavljamo, da prihajata iz istega sestoja.**

WESTERGREN, Marjana, BAJC, Marko, FINŽGAR, Domen, BOŽIČ, Gregor, KRAIGHER, Hojka. Identifikacija izvora gozdnega reprodukcijskega materiala bukve s pomočjo molekularnih metod = Identification of forest reproductive material origin of European beech using molecular methods. *Gozdarski vestnik : Slovenska strokovna revija za gozdarstvo*, ISSN 0017-2723. [Tiskana izd.], 2017, letn. 75, št. 7/8, str. 328-343, ilustr. [COBISS.SI-ID [4858278](#)]



Druge aplikacije molekularnih analiz GRM

- Identifikacija in ločevanje osebkov/klonov, vrst in medvrstnih hibridov velikega in poljskega jesena.
- Identifikacija in ločevanje osebkov/klonov, vrst in medvrstnih hibridov črnega topola (*P. nigra*) in tujerodnih topolov (*P. deltoides*, *P. trichocarpa*, *P. koreana*, *P. maximowiczii*).
- Ugotavljanje izvora (provenience) duglazije (*Pseudotsuga menziesii*).

V razvoju:

- Iskanje genetskih markerjev za identifikacijo osebkov jesenov, ki so odporni na jesenov ožig (projekt ReFocus).





HVALA ZA POZORNOST !

