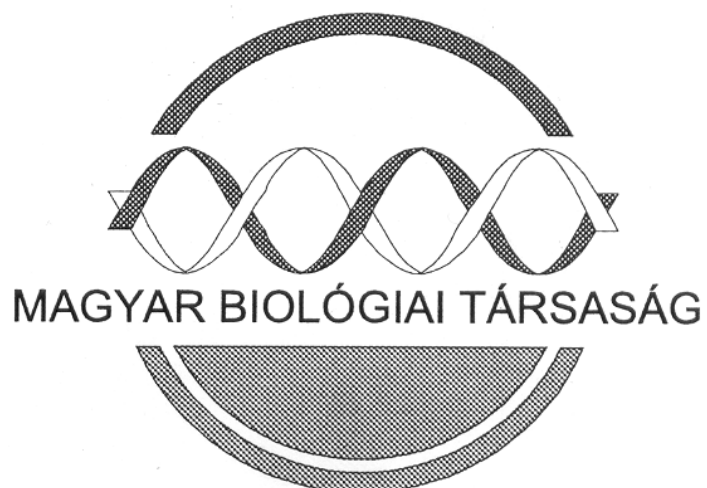




III. Kárpát-medencei Biológiai Szimpózium

2003. október 28-30

Előadások összefoglalói

MAGYAR MEZŐGAZDASÁGI MÚZEUM
(1146. Budapest, Vajdahunyadvár)

Szerkesztette:

Penksza Károly, Korsós Zoltán, Pap Ildikó

Technikai szerkesztő:

Borbás Miklósné

Védnök

Környezetvédelmi és Vízügyi Minisztérium

ISBN 963 8012 98 6

A kiadvány a Budapest Reflex Blue Nyomda Kft-ben készült

A hagymaburok (*Liparis loeselii*) hazai populációi az európai állományok tükrében

ILLYÉS ZOLTÁN - SZEGŐ DÓRA - RUDNÓY SZABOLCS

ELTE Növényélettani Tanszék, 1117 Budapest Pázmány Péter sétány 1/C

Bevezetés

A hagymaburok (*Liparis loeselii* (L.) Rich) ritka, fokozottan védett lápi orchideánk. Elterjedése cirkumboreális, európai és északamerikai élőhelyein egyaránt visszaszorulóban van. Hazánk a faj déli elterjedési határán fekszik. Jelenleg három hazai elfordulása ismert, melyek közül a kis-tómalmi lápréten kis egyedszámban fordul elő, további két helyen pedig százas nagyságrendű állományt alkot: Soroksári-Duna, Velencei-tó (Dinnyés). A velencei-tavi madárrezervátum úszólápjain első ízben Balogh Márton talált rá 1969-ben, később még a tó mintegy tizenöt további úszólápján regisztrálta elfordulását. Az 1980-as évek közepétől 2000-ig *L. loeselii* egyedek észlelése nem történt. A tó 1990-es évek elején bekövetkezett részleges kiszáradása, és ennek következményeként bekövetkező úszólápi tőzegmineralizálódás szinte teljesen kizárja annak lehetőségét, hogy a *L. loeselii*-populáció túlélhette ezt a krízist. 2000-ben a növény újra előkerült (Vackova et al. 2002), 2001-ben pedig több száz töves populációját fedezték fel (Balogh et al. 2002).

A faj hideg mikroklimájú meszes, tőzeges és állandó vízellátottságú láprétekhez kötődik. Magyarországon azonban többnyire úszólápok biztosítják a faj számára ezen speciális életfeltételeket, ezért az úszólápok ökológiájának ismerete fontos a faj védelme szempontjából (Balogh 1983, 2000, 2001a, 2001b).

Tenyésztés és aktív védelem

A populációk kis száma és az ezeken belüli alacsony egyedszám miatt a faj aktív védelemre szorul. Ennek megvalósítása egy ex situ, vagyis élőhelyen kívüli tenyésztet létrehozásával érhető el. Az orchideák generatív szaporítására két módszer ismert, az aszimbiotikus és a szimbiotikus növénynevelés (Bratek 2000, Bratek et al. 2001). Az aszimbiotikus módszer során a szimbionta gombapartner nélkül neveljük föl a növényeket. A szimbiotikus szaporítás során a növényt és szimbionta gombapartnerét közös kultúrába visszük, melyhez előbb izolálnunk kell a szimbionta gombát (Vértényi és Bratek 1996).

A hagymaburok mikroszaporítása folyamatban van (Illyés Z. 2003), a visszaültetés szempontjából azonban fontos a magforrásul szolgáló hazai és

egyéb populációk genetikai változatosságának feltárása. Mivel a - feltételezhetően autogám (Catling 1980) - faj morfológiai variabilitása kicsi, ezért genetikai markerek alkalmazása válik szükségessé. A lepellevelek alakja, a magház éleinnek száma, a murvalevek nagysága és a levelek formája szerint tesznek különbséget ritkán megjelenő formái között (Soó R. 1973). Ugyanakkor feltűnő nagyfokú különbözősége néhány morfológiai bélyegben a többi mérsékelt övi orchideától, így az álgumó (pseudobulbus) jelenléte, mely kifejezetten a trópusi orchideákra jellemző tápanyagraktározó szerv. A jelenség értelmezéséhez ismernünk kell a nemzetség fajainak elterjedését, ugyanis a kb. 300 fajt számláló *Liparis* nemzetségben mindössze két mérsékelt övi fajt ismerünk, ez a hagymaburok és északamerikai rokona, a főleg erdőkben előforduló *L. liliifolia*. A nemzetség többi faja pedig szubtrópusi, trópusi fánlakó, vagy talajlakó orchidea. Ezen szoros trópusi rokonság a már említett morfológiai bélyegeken túl a növény mikroszaporítási kísérleteiben is megmutatkozott és fontos szerepe lehet az aktív védelmét célzó rokonsági viszonyainak tisztázásában is.

Anyag és módszer

A hagyományos morfológiai alapú rendszerezés mellett ma már egyre nagyobb teret nyernek a molekuláris információra épülő módszerek, mint például a PCR reakcióban sokszorosított DNS szakaszok szekvenálása (Mitchell et al. 1995). A következő DNS szakaszokat vizsgáltuk: sejtmagi ITS (nrITS), kloroplasztisz ITS (cpITS) és a szintén a plasztiszban lokalizált *ycf3/trnS* spacer régió. A nukleáris ITS régiót leggyakrabban fajszerű azonosításra használják, de ismert kismértékű fazon belüli variabilitása is (Baldwin et al. 1995). A plasztisz ITS és az *ycf3/trnS* szakaszok irodalma jóval behatároltabb, de ismereteink szerint a sejtmagi ITS-éhez hasonló variabilitással rendelkeznek. A növény mindhárom hazai előfordulási helyéről gyűjtöttünk mintát. Egy 1973-as, Balogh Márton által gyűjtött velencei-tavi *L. loeselii* herbáriumi mintát (Magyar Természettudományi Múzeum, Növénytár) is bevontunk a vizsgálatba, valamint egy csehországi, nagy egyedszámú populáció egy egyedét. A teljesebb vizsgálathoz DNS szekvenciákat használtunk fel a *Liparis* nemzetség további két fajából, ezek az É-Amerikában honos *L. liliifolia* és a Vietnámból származó *L. distans* faj egy, az ELTE Botanikus Kertjéből származó mintája.

Eredmények és értékelésük

A szekvenciákat az alábbi hivatkozási számokkal helyeztük el a GenBank adatbázisban (1. táblázat).

Ezenkívül a *Liparis liliifolia* nrITS szekvenciája a következő hivatkozási számmal szerepel a GenBank adatbázisban: AF521067.

Mindegyik mintából sikerült az nrITS régiót szekvenálni. A teljes ITS régió

		nrITS	cpITS	ycf3/trnS
<i>L. loeselii</i>	Velencei-tó	AJ551451	AJ551456	AJ551461
	Velencei-tó (1973)	AJ551452	-	-
	Kis-Tómalom	AJ551453	AJ551457	AJ551462
	Soroksári-Duna	AJ551454	AJ551458	AJ551463
	Csehország	AJ551455	AJ551459	AJ551464
<i>L. distans</i>	Vietnámi	AJ558105	AJ551460	AJ551465

1. táblázat

az általunk vizsgált *L. loeselii* mintákban egyöntetűen 636 bp hosszúságú és a szekvenciák 100%-osan egyformának bizonyultak. A *L. liliifolia* nrITS régiója 639 bp hosszúságú és 98%-os egyezést mutat a *L. loeselii* mintáink szekvenciájával. Az nrITS a *L. distans*-ban 644 bp hosszúságú és a *L. loeselii* szekvenciákkal mutatott hasonlósága lényegesen kisebb, 77%-os.

A cpITS régió a *L. loeselii* mintákban egyöntetűen 417 bp hosszúságú volt és különbség nem adódott a faj mintáin belül. A *L. distans* 407 bp hosszúságú cpITS régiója pedig 99%-ban hasonlított a *L. loeselii* minták szekvenciáihoz.

A kloroplasztisz ycf3 és trnS gének közötti régió vizsgálata során ugyancsak 100%-os egyezést kaptunk a *L. loeselii* fajon belül. A fajok közötti hasonlóság pedig 92%-os a *L. loeselii* és a *L. distans* között.

Az nrITS régió vizsgálata érdekes eredményt hozott a *Liparis* nemzetség három fajának szekvencia alapú rokonsági vizsgálatában. A nemzetségnek csupán két mérsékelt övi faja van, a cirkumboreális *L. loeselii* és az északamerikai boreális elterjedésű *L. liliifolia*. Az nrITS nagyfokú hasonlósága e két közelrokon faj között nem meglepő, annál inkább a jelentős eltérés a két boreális faj és a trópusi elterjedésű *L. distans* ITS szekvenciája között. A 23-24%-os eltérés még rokon nemzetségek között is viszonylag nagynak számít. A vizsgált plasztisz régiók jóval konzervatívabbnak bizonyultak, a trópusi faj és a *L. loeselii* között a cpITS-ben mindössze 1%-os, az ycf3/trnS spacerben pedig 8% különbséget találtunk. Adataink tükrében tehát az nrITS régió látszik legalkalmasabbnak annak a kérdésnek az eldöntésére, hogy a magyarországi *L. loeselii* populációk milyen mértékű elszigeteltséget mutatnak egymástól és a többi európai populációtól. A hazai populációk és a vizsgált cseh anyag ezen vizsgálatok alapján egységesnek tekinthetők, noha egymástól nagy távolságra levő, kis egyedszámú populációkról van szó. A velencei-tavi élőhelyről az 1973-ban, valamint a faj eltűnése, majd újra megjelenése után, 2001-ben gyűjtött minták között szintén nem találtunk különbséget a vizsgált genetikai markerek alapján. Ez a genetikai homogenitás talán nem is meglepő annak tudatában, hogy a hagymaburok igen jó terjedőképességű, hiszen nagy számban termelődő (tokonként átlagosan 8-10000 db), 0,5 g-os magjait a szél könnyen szállíthatja akár nagy távolságokra is. Emellett a növény magjai feltevéseink szerint vízimadarak közvetítésével is terjedhetnek, mivel a

vízταςzító maghéj következtében a magok sokáig a víz felületén úsznak.

Vizsgálataink hozzájárulnak ahhoz, hogy e ritkuló faj elterjedési határán élő populációk rokonsági viszonyairól minél többet megtudhassunk, s így lehetővé tegyük hazánkban a faj aktív védelmét. A jövőben kutatásainkat ki kívánjuk terjeszteni a *L. loeselii* egyéb európai populációira, valamint a nemzetség más fajaira is.

Irodalom

- Baldwin B. G., Sanderson M. J., Porter J. M., Wojciechowski M. F., Campbell C. S., Donoghue M. J. (1995): The ITS region of nuclear ribosomal DNA - a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82(2): 247-277.
- Balogh M. (1969): A *Liparis loeselii* (L.) Rich a Velencei-tavon. *Bot. Közlem.* 56(1): 17-19.
- Balogh M. (1983): A Velencei-tó nyugati medencéjének úszólápjai és hatásuk a tó vízminőségére. *Kand. Ért. MTA. Budapest.*
- Balogh M. (2000): Az úszóláp-szukcesszió kérdései I. *Kitaibelia* 5(1): 9-16.
- Balogh M. (2001a): Az úszóláp-szukcesszió kérdései II. Az úszólápok növényzetének szukcessziója. *Kitaibelia* 6(2): 291-297.
- Balogh M. (2001b): A hazai úszólápok florisztikai értékei. II. Kárpát-medencei Biológiai Szimpózium, Budapest, pp. 27-32.
- Balogh M., Bratek Z., Illyés Z., Zöld-Balogh Á. (2002): A *Liparis loeselii* (L.) Rich. tömeges előfordulása a Velencei-tavon. *Kitaibelia* 7(2): 247.
- Bratek Z. (2000): Mikorrhiza kapcsolatok élettani, morfológiai és ökológiai jellemzése, ELTE Növényélettani Tanszék, Budapest, Doktori (PhD) Tézisek.
- Bratek Z., Illyés Z., Szegő D., Vértényi G. (2001): Az orchidea-típusú mikorrhiza képződésének és működésének egyes kérdései. *Bot. Közlem.* 88(1-2): 185-193.
- Catling P. M. (1980): Rain-assisted autogamy in *Liparis loeselii* (L.) L. C. Rich. (Orchidaceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 107(4): 525-529.
- Illyés Z. (2003): A *Liparis loeselii* aktív védelmét célzó aszimbiotikus és szimbiotikus nevelése és szimbiota gombapartnereinek molekuláris azonosítása. ELTE Növényélettani Tanszék, Budapest, Szakdolgozat.
- Mitchell J. I., Roberts P. J., Moss S. T. (1995): Sequence or Structure? A short review on the application of nucleic acid sequence information to fungal taxonomy. *Mycologist*, Vol. 9, Part 2, May 1995.
- Soó R. (1973): A Magyar Flóra és Vegetáció Rendszertani-Növényföldrajzi Kézikönyve V. Akadémia Kiadó, Budapest.
- Vackova D., Balogh M., Bratek Z., Takács A. A., Vlèko J., Zöld-Balogh Á. (2002): A *Liparis loeselii* (L.) Rich. újralfedezése a Velencei-tavon. *Kitaibelia* 7(2): 279.
- Vértényi G., Bratek Z. (1996) Talajlakó orchideák mikorrhizaképző gombáinak izolálása és annak nehézségei. *Mikológiai Közlemények* 35(3): 31-36.