

Doktori (PhD) értekezés

**A NÁD (*PHRAGMITES AUSTRALIS*) GENETIKAI
DIVERZITÁSÁNAK VIZSGÁLATA PCR-RAPD
TECHNIKÁVAL**

Lukács Viktória

**Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar
Kertészettudományi Doktori Iskola**

**Témavezető: Dr. Herodek Sándor, DSc
a biológiai tudományok doktora
MTA BLKI**

**Egyetemi témavezető: Dr. Bisztray György Dénes,
PhD habil, egyetemi docens**

**Készült: A Magyar Tudományos Akadémia Balatoni Limnológiai
Kutatóintézetében és a Budapesti Corvinus Egyetem
Kertészettudományi Kar Genetika és növénynevelés Tanszékén**

2009

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola
tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok
vezetője: Dr. Tóth Magdolna
egyetemi tanár, DSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi
Kar,
Gyümölcstermő Növények Tanszék

Témavezető: Dr. Bisztray György PhD habil.
tanszékvezető, egyetemi tanár
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi
Kar,
Szőlészeti Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanácsának 2009. október 7-i határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke

Palkovics László DSc

Tagjai

Szeglet Péter, CSc

G.-Tóth László, DSc

Hegedűs Attila, PhD

Opponensek

Pedryc Andrzej, CSc

Keresztúri Péter, PhD

Titkár

Höhn Mária, CSc

TARTALOMJEGYZÉK

1.	BEVEZETÉS	4
2.	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
2.1.	A nád ökológiai tulajdonságai	5
2.1.1.	Rendszertani helye és elterjedése	5
2.1.2.	A nád morfológiája	6
2.1.3.	A nád szaporodása és növekedése	7
2.2.	A nád genetikája	10
2.2.1.	A nád citogenetikája	10
2.2.2.	Molekuláris genetikai módszerek	12
2.2.3.	A nád vizsgálata molekuláris genetikai módszerekkel	17
2.2.3.1.	Az észak-amerikai nád invázió	17
2.2.3.2.	Az európai nádpusztulás	19
2.2.4.	A nádasok korának becslése a tavak hosszútávú vízszintváltozásai alapján..	20
3.	CÉLKITŰZÉSEK	25
4.	ANYAG ÉS MÓDSZER	27
4.1.	A mintavételi helyek leírása	27
4.1.1.	Mintavételi helyek a Bodeni-tónál.....	27
4.1.2.	Mintavételi helyek az Osterseen tórendszerénél.....	28
4.1.3.	Mintavételi helyek a Mondsee-nél.....	29
4.1.4.	Mintavételi helyek a Fertő-tónál	29
4.1.5.	Mintavételi helyek a Kis-Balatonnál.....	30
4.1.6.	Mintavételi helyek a Balatonnál	31
4.1.7.	Mintavételi helyek a Kárpát medence néhány pontján.....	35
4.2.	A minták feldolgozása a PCR-RAPD módszerrel	38
4.2.1.	A minták izolálása	38
4.2.2.	A DNS extrakció ellenőrzése, gélelektroforézis	38
4.2.3.	PCR amplifikálás	39
4.2.4.	A DNS amplifikátumok elválasztása gélelektroforézissel	39
4.3.	Adatelemzés	41
5.	EREDMÉNYEK	43
5.1.	A klonális diverzitás összehasonítása különböző tavak nádasaiban	43
5.2.	A klonális diverzitás változása a vízmélységgel	55
5.3.	A klonális diverzitás vizsgálata sűrű mintavételezéssel	62

5.4.	A nádasok gén diverzitása és az állományon belüli klónok genetikai távolsága	70
5.5.	A nád populációk térbeli és genetikai távolsága	74
6.	EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA	79
6.1.	Klonális diverzitás és a nádasok kora	79
6.2.	A nádpusztulás	81
6.3.	Genetikai diverzitás, genetikai távolságok és a génáramlás	82
7.	ÖSSZEFOGLALÁS	86
8.	SUMMARY	89
9.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	92
10.	IRODALOM JEGYZÉK	94
MELLÉKLETEK:		
M1:	RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	102
M2:	OLDATOK, PUFFEREK ÖSSZETÉTELE	103
M3:	TÁBLÁZATOK.....	105
	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	108

1. BEVEZETÉS

A nád Földünk egyik legelterjedtebb növénye, amelyik mindkét féltekén a trópusoktól a mérsékelt égöv hűvösebb régiójáig, tehát nagyon különböző éghajlati viszonyok mellett megtalálható. Talajban nem különösen válogatós, fényigénye mérsékelt, só tűrése nagy. Szárazföldön is megél, ha gyökerei vizet tudnak érni, legjobban azonban a sekély álló vagy lassú folyású vizeket kedveli. A tavak és vízfolyások parti zónájának legfontosabb emergens növénye, társulásaiban rendszerint uralkodó faj.

A nád a pázsitfűvek családjába tartozik, de több méter magasra is megnő. A sűrű nádasok alapterületre számítva nagyon sok szerves anyagot termelnek. Nem elhanyagolható az a széndioxid mennyiség, amelyet a nádasok kivonnak a légkörből. Üledékükben erős a szerves anyag lebontás és a denitrifikáció, amit a szennyezett vizek tisztítására is felhasználnak. A nádasban a parttól a nyíltvíz felé haladva, de vertikálisan is erősen változnak az életkörülmények, a nád szálak pedig nagy felületet jelentenek a rajtuk megtelepedő élőlények számára. A nádasok sok szervezetnek nyújtanak táplálkozási, szaporodási, búvó vagy egyedüli élő helyet, és nagy részét adják a tavak fajgazdagságának.

A nád védi a vizet a külső szennyezésektől, a partot az eróziótól és díszíti a tájat. Az ember régóta hasznosítja. A nádfedél tájba illő szépségével és kitűnő hőszigetelésével egyre jobban ismét divatba jön. Nádpallót is igényel az építőipar. Külföldön sok nádat hasznosít a papíripar. Az utóbbi évtizedekben Európában a nádpusztulás, Észak-Amerikában az Európából behurcolt genotípusok inváziószerű terjedése okozott komoly gondokat, amelyek indokolttá teszik a nádasok fokozott kutatását.

Európa a nádasokban különösen gazdag földrész, hazánk pedig az egyik leggazdagabb ország, hiszen a Duna delta után a Fertőé a leghatalmasabb európai nádas, de kiemelkedő értékűek a Balaton, Velencei-tó, Kis-Balaton nádasai is, hogy csak néhányat említsünk. A nádasok hazai kutatása nagy múltra tekint vissza. Kitűnő eredményeket értek el a nádasok növénytársulásainak, vizének és üledékének, a nádasok élővilágának, a nád morfológiájának, növénykémiájának, öko fiziológiájának területén. A genetikai vizsgálatok vártak magukra. Munkánkkal elsősorban ennek a hiánynak a pótlásához kívántunk hozzájárulni, de a vizsgálatokat külföldi nádasokra is kiterjesztettük, hogy azonos módszerrel összehasonlítva állapíthassuk meg a hazai állományok jellegzetességeit, és általánosabb képet kapjunk a klonális diverzitást és az állományok genetikai távolságát kialakító tényezőkről.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A nád ökológiai tulajdonságai

2.1.1. Rendszertani helye és elterjedése

A *Phragmites* nemzetség a pászitfűfélék (*Poaceae*) családjához tartozik, de magas termetével kiválik a többi füvek közül. A genusnak négy fajt ismerjük. Az Afrikában élő *P. mauritanus*-nak fás, évelő szára van rövid, merev levelekkel. A korábban külön fajként számontartott, Görögországban található *P. frutescens* valószínűleg ennek a trópusi fajnak a mérsékeltégyvi reliktum populációja. A *P. vallatória* viszonylag kevés példánya ismert, ezek azonban átfogják az egész paleotropust, AFLP vizsgálatuk pedig jól elkülönült, nagy intraspecifikus variabilitású fajt mutat (Scholz és Böhling, 2000; Lambertini és tsai., 2006). Morfológiailag közel áll a *P. mauritanushoz*. A *P. japonicus* morfológiailag elkülöníthető faj (Tsevelev, 1983), a molekulárgenetikai vizsgálatok azonban arra utalnak, hogy a *P. australis*től származhatott úgy, hogy valaha földrajzilag elszigetelődött attól. Ma sokszor a *P. australis*-al együtt fordul elő, feltehetően későbbi terjeszkedése eredményeként (Lambertini és tsai., 2006).

A genus fajai közül messze a legelterjedtebb a közönséges nád, teljes rendszertani nevén *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex Steud, korábbi nevén *Phragmites communis*. Ez a faj Földünknek legelterjedtebb növényei közé tartozik, mindegyik kontinensen és a trópusoktól a mérsékelt égöv hideg területéig megtalálható (Rodewald-Rudescu, 1974; Clevering és Lissner, 1999).

A nádasok a tengerszint közeli síkságokon a leggyakoribbak, de ennél lényegesen magasabban is előfordulnak, így Svédországban 670 m (Samuelson, 1934), az Alpokban 1910 m (Bitmann, 1953), Tibetben 3000 m (Ridley, 1930) magasan is találtak nádat. A nád leginkább az álló vagy lassan folyó vizeket kedveli, így főként tavak, folyók és vizes árkok partján, mocsarakban, lápokban, láperdőkben fordul elő, de szántóföldeken, domboldalon is megtalálható, ha gyökere vizet ér.

2.1.2 A nád morfológiája

A nád gyökértörzsre, más néven rizómára, gyökerekre, járulékos gyökerekre, hajszálgökerekre, szárra, levelekre, és virágzatra tagolódik.

A nád talajban lévő szervei a rizómák és a gyökerek, a talaj feletti a szár a járulékos gyökerek, a levelek és a virágzat (Rosewald-Rudescu, 1974; Virág, 1998). A talajban lévő szervek élők, a talaj feletti évente elhalnak. Mind a rizómák, mind a szár hengeres szerkezetűek. Mindkettőt a csomók (nóduszok) internódiumokra tagolják. A fiatal rizómák fehér vagy halványzöld színűek, az idősebbek barnák. A rizómák élettartama 3-7 év között változik, hidegebb éghajlat mellett a hosszabb. A növény a vízszintes rizómaival terjeszkedik. A függőleges rizómák sarjrügyeiből fejlődnek ki a vízből kiemelkedő nádszálak. Az egy élő rizóma rendszerhez tartozó növényi szövetek egy élettani egységet jelentő egyed, egy rametet képeznek. Ha a ramet két részét összekötő rizóma elpusztul, két különálló ramet keletkezik, amelyek azonban genetikailag azonosak, ugyanahhoz a klónhoz tartoznak. A rizómák csomóin koszorú alakban fejlődnek ki a gyökerek, amelyek a talajból veszik fel a táplálékot. A rizómák és gyökerek feladata a nád rögzítése is.

A szár a legtöbb állományban 1-4 m magasra nő, meleg vidékeken általában magasabb, mint a hideg területeken. Az oktoploid óriás nád a 8 métert is elérheti. Hideg területeken a rizóma tömege a föld feletti részek tömegének a sokszorososa, míg a melegebb területek felé haladva az arány kiegyenlítődik.

A nád fejlődésében igen nagy szerepe van a nádszárakról szétágazó járulékos gyökereknek. Egy-egy nádszáron 6 000 (maximálisan 13 000) járulékos gyökér is lehet (Kovács, 1987). Ezek 300-900 cm² adszorpciós felületükkel nagyon sok tápanyagot és vizet képesek felvenni. A gyökereken és a járulékos gyökereken kifejlődő hajszálgökerek száma sokszorosan meghaladja az előbbieket és területük is sokkal nagyobb.

A csomóknál helyezkednek el a nád szárán a levéllemezről, a hüvelyből és a nyelvecskéből álló hosszúkás, lándzsa alakú levelek. Ezek szélessége 0,5 cm-től 5 cm-ig terjedhet, hosszúsága elérheti a 60 cm-t. A levélnagyság a hajtás alsó részétől annak kétharmadáig a csúcs irányában nő, majd csökken. A levelek szürkés zöldek, laposak, szélük metszően éles.

A virágzat 15-60 cm hosszú, sötét- vagy sárgásbarna, terebélyes, felül kissé visszahajló buga, főteneggel és I.-V. rendű elágazásokkal. A IV.-V. rendű oldalágakon vannak a 3-7 virágból álló kalászkok. A bugában 10 000-nél több virág van.

2.1.3. A nád szaporodása és növekedése

Európában augusztus végétől szeptember elejéig virágzik a nád (Van der Toorn, 1972). Minden kifejlett hajtás hoz virágot, de csak azok (Hürlimann, 1951). Angliában a jó állományokban a hajtások kb. 25 %-a virágzik. Néhány populációnál 50-91 %-os virágzásról számolnak be (Haslam, 1970), ez azonban kivételesen jó lehet. A beporzást a szél végzi, így a keresztbeporzás gyakori lehet (Nikolajevsky, 1971).

A virágok 1-55%-a hoz szemtermést. A termékenység általában alacsony, és nagyon változékony. Jó esetben azonban egy nádszál így is ezer szemtermést teremhet (Hürlimann, 1951; Haslam, 1972). Magas és alacsony terméstről számoltak be svéd (Björk, 1967), holland (Van der Toorn, 1972) svájci (Hürlimann, 1951) és quebeci (Gervais és tsai., 1993) nádasok kutatói is. Oroszország északi területein a szemtermések életképtelenek voltak, dél felé haladva viszont nőtt az állományok fertilitása (Nikolajevsky, 1971). Svéd populációknál azt találták, hogy a nyári nagy esőzések és a hideg károsítja a szemtermést (Gustafsson és Simak, 1963), ha pedig különösen hideg az idő, nem is virágzik a nád (Björk, 1967). A magas poliploidia és abnormális pollen képzés (Björk, 1967), az önsterilitás (Gustafsson és Simak, 1983) és a rovarok és gombák okozta károsítás (Durska, 1970) is ronthatja a nád szemtermés hozatalát.

Laboratóriumban, optimális körülmények között az érett, ép termések 90-100 %-a (Hürlimann, 1951), más kísérletekben (Gustafsson és Simak 1963; Ekstam, 1995) 70-80 %-a kelt ki. A jó csírázáshoz erős megvilágítás, pára és magas, 30 °C körüli hőmérséklet szükséges. (Harris and Marschall, 1960; Van der Torn, 1972; Karska, Podolski és Podolska, 1992; Ekstam, 1995) szükséges. Terepen a csírázás nagyon különböző mértékű (Buttery, 1959; Haslam, 1972).

Mind a terepi megfigyelések, mind a kísérletek azt mutatják, hogy a nád szemtermések csírázását és a magoncok növekedését is gátolja a vízzel való borítottság (Hürliman, 1951; Haslam, 1971; Rosewald-Rudescu, 1974; Weisner S.E.B., Graneli W., Ekstam, B., 1993; Coops H., Van der Velde G., 1995). Ez azt jelenti, hogy az állandóan vízzel borított részekben a nád szemtermések nem csíráznak ki, de nem tud a nád ott sem ivarosán szaporodni, ahol rövidebb időre száraz terület keletkezik, és kicsírázhat a mag, ha azt újra elborítja a víz, mielőtt az új növényke kellő magasságot érne el. Az új nádról akkor mondják, hogy megtelepedett, ha már kb. 10 hajtást hozott. (McKee J. és tsai., 1996) Mindegyik hajtás hosszabb rizómáról ered, és magasabb, mint az előző. Ennek gyökerei már 20 cm-nél mélyebbre hatolnak, rizómái már elegendő tápanyagot tartalmaznak, hogy kedvezőtlenebb viszonyokat is túléljenek, a növényke pedig kb. 30 cm magas, így kb. 20

cm vízmélységet elvisel. A kisebb magoncok 2-3 cm-es vízben is megfulladnak. A legkedvezőbb esetben a magoncok 3 hónap alatt érik el ezt a 10 hajtásos állapotot, de ez másutt 3 évnél is tovább tarthat. Mivel az ennél fejletlenebb magoncoknak nagyon nagy a mortalitása, a pusztulás mértéke nagyon függ a növekedés sebességétől. A szárazföldön kikelt magoncokra a szárazság jelenti a legnagyobb veszélyt. Rendszerint a felszín alatt 5 cm mélyen lévő víz sem elég, de nagyon kedvező egyéb feltételek mellett 10 cm mélyen lévő víz mellett is fejlődhetnek. Ehhez megfelelő tápanyag, megvilágítás és főként meleg szükséges. Legjobb az érszakai 25 °C és a nappali 35 °C. Hogy a magoncokat mennyire károsítja a fagy, a fulladás, kiszáradás vagy árnyékolás, az területenként nagyon eltérő lehet (McKee J. és tsai., 1996).

Vízi növényeknél gyakori a vegetatív szervekkel való szaporodás egyesek erre külön gumókat vagy turion rügyeket is fejlesztenek. A nagyobb fajsúlyú vízben a nagyobb növénydarabok messzebb sodródhatnak, mint a levegőben, ahol az apró magvaknak van előnye. Visszatérő gondolat, hogy a vegetatív szaporodás miatt a vízi növényeknél visszaszorulna az ivaros szaporodás, valójában azonban a szárazföldi növényeknél előforduló minden kereszteződési típus megtalálható a vízi növényeknél is. A virágos vízi növények mindannyian a szárazföldről tértek át a vízi életmódra. A nád szaporodás szempontjából olyan kevéssé vízi növény, hogy amint láttuk magjai ki sem csiráznak a víz alatt, de nem fejleszt külön a terjedését szolgáló gumókat, rügyeket sem, hogy azokat terjessze a víz. Gyakran láthatunk azonban a víz tetején úszó nádcsomókat, rizóma darabokat vagy kötegeket. Ezek napjainkban többnyire emberi tevékenység során szabadultak el, de természetes viszonyok között is útnak indulhattak, pl. nádat fogyasztó rágcsálók stb. hatására.

Akár magról, akár rizómáról indul a szaporodás, virágzó nádas kialakulásához legalább 2-3 év szükséges. A nád megtelepedése másképp történik, mint a már létező nádas növekedése. Ez alapvetően a rizómákkal történik. Egy érett fiatal növény, amelynek például 4 m az átmérője, évente 1-3 métert is terjeszkedhet a rizómáival minden irányba, de 5 méterre, vagy akár ennél jóval nagyobb távolságokra is elérhetnek az indák.

A nád növekedése a hőmérséklet az éghajlat, az aktuális időjárás és az élőhely jellege szerint változik. A kényszer nyugalmi állapot végét, tehát azt, hogy mikor indulnak fejlődésnek a hajtások, melegebb éghajlaton a növény belső tulajdonságai, hidegebbnél a külső hőmérséklet határozza meg. Így Máltán februárban, Romániában márciusban, Szlovákiában áprilisban, Lengyelországban májusban hajt ki a nád (Rudescu és tsai., 1965; Haslam, 1973) Melegebb éghajlaton 4-6 hónap, hidegebben 2 hónapig tart a gyors

növekedés, amit egy lassuló szakasz követ. Így fejeződik be a növények fejlődése mindenütt nagyjából egyszerre szeptemberben.

A talaj szerkezetére a kifejlett nád nem nagyon érzékeny, viszont a durvább szemcséjű üledék könnyen kimosódhat, és rendszerint tápanyagban szegény, és ezért nem megfelelő a nád számára. Mind a Fertő, mind a Balaton esetében a nyugati szelek dominálnak, ezért a szélvédett nyugati parton iszapos, a keletin homokos az üledék, és mindkét tóban a szélvédett nyugati parton nőnek a nagy nádasok. A Fertő-tó esetében a nádasok ilyen eloszlását a keleti part homokos üledékének tápanyag szegénységével magyarázzák. A Balaton esetében a délkeleti oldalon a nádasok hiányát a hullámok közvetlen mechanikai hatásával magyarázni, de akkor kérdéses marad, miért nőnek Máriafürdőnél hatalmas nádasok, ahol a part nincs kevésbé kitéve a hullámzásnak, mint pl. Szemesnél, viszont van némi különbség a két terület üledékének összetételében. Entz és Sebestyén (1942) sem foglal ebben a kérdésben egyértelműen állást. A nád növekedését területenként más-más tápanyag hiánya korlátozhatja. Foszfát, nitrát és kálium adásával is sikerült a hajtások magasságát, sűrűségét és virágzását növelni. A talaj PH-tartománya 3,6-tól 8,6-ig terjedhet. A tápanyagok zömét a felső rizómákról elágazó horizontális gyökerekkel a felső 0,5 méteres talajrétegből veszi fel. A nád önmagában jól nő a tápanyagban gazdag területeken, de ezeken még jobban fejlődhetnek a versenytársak. Ezért lehet az, hogy a nád sokszor jobban kedveli a tápanyaggal közepesen ellátott helyeket (Haslam, 1973).

A nád kevés fényt igényel, különösen a többi nyílt terepen növő növényhez képest. Április-májusban még az egész nádast átjárja a fény, ilyenkor lehet dús alga bevonatot látni a nádszálakon. Ahogy azután nőnek a nádszálak és rajtuk lévő levelek, az alsó leveleknél már kicsi a megvilágítottság és a fény spektrális összetétele is megváltozik. Julius-augusztusban a vízben álló viszonylag sűrű állománynál 60-120 cm-es magasságban a nádas felszínére eső fotoszintetikusán aktív sugárzásnak (PhAR) már csak a 15-30 %-át lehet megtalálni (Ondok, 1973). A levél területi index (LAI), amely azt mutatja, hogy a levelek felülete hányszorosa az állomány alattuk lévő területének, júliusban 5-9 között változik, a növények viszont május-júniusban használják ki legjobban a sugárzó energiát 3-5-ös LAI mellett. A fotoszintézis a fényerősséggel telítési függvény szerint változik. Nyáron 25 °C alatt $15-19 \text{ cal cm}^{-2}\text{h}^{-1}$, 25-30 °C esetében $32 \text{ cal cm}^{-2}\text{h}^{-1}$ globális sugárzásnál telítődik a rendszer. A fény kihasználása így alacsonyabb sugárzás mellett jobb. A vegetációs periódusban a nád az állomány felületére eső PhAR kb. 3 %-t hasznosítja, ami magas érték. A termesztett növények közül a kukorica (*Zea mais*) és a rizs (*Oryza sativa*) (Hayashi, 1969; Okubo és tsai., 1968), az emergens mocsári növényekből a keskenylevelű

gyékény (*Typha angustifolia*) és a káka (*Scirpus L.*) (Dykyova, 1971) képes hasonló teljesítményre.

A fotoszintézis során keletkező cukrok nagy részét a rizómák tárolják keményítő és egyszerű cukrok formájában. Áprilisban a nád föld feletti növekedését nagyrészt a rizómákból visszajuttatott cukrok teszik lehetővé. A fotoszintézis májusban és júniusban a legmagasabb, a Fertő nádasainál ilyenkor 13-16 mg CO₂/h átlagokat találtak, és ez biztosította a gyors növekedést. Júliusban a föld feletti részek növekedése már lassul, a cukrok a rizómákba áramlanak, amelyek erősebben nőnek ilyenkor. Augusztusban a fotoszintézis már valamivel kisebb, mint nyár elején, és főként a rizómák növekedését szolgálja (Zax, 1973). Kora ősszel, amíg még pozitív az anyagcsere mérlege, felhalmozódik a keményítő a rizómákban, és részben már ekkor az új hajtások fejlesztésére fordítódik (Kreji, 1974).

2.2. A nád genetikája

2.2.1. A nád citogenetikája

A gének az örökítő anyag (DNS) egymástól szerkezetileg és funkcionálisan elkülöníthető szakaszai. Egyedi jellegüket a DNS bázis sorrendje szabja meg. A gének száma és egymáshoz viszonyított aránya jellemző az egyedekre. Az élőlényekben a DNS kromoszómákba szerveződve van jelen. A gének a kromoszómákon helyezkednek el. A kromoszómaszám a növény- és az állatvilágban rendkívül nagy változatosságot mutat. Rokon fajok kromoszómaszáma hasonló.

Haploidoknak nevezzük az olyan sejteket, szöveteket, növényi szervezeteket, amelyeknek kromoszómaszáma egyenlő a gamétákban levő kromoszómaszámmal (n). Ez azt jelenti, hogy haploidokban a fajra jellemző testi kromoszóma-készletből a homológ pároknak csak az egyik tagja van jelen, a másik tagja hiányzik. A meiózisban a homológok szétválnak, a kromoszómaszám megfelelődik, tehát a gaméták haploid, azaz redukált kromoszómaszámúak (n). A zigóta létrejöttétől a következő meiotikus osztódásig a szomatikus sejtek diploidok ($2n$). Legegyszerűbb esetben a növények ivarsejtjében a haploid kromoszómaszám és a kromoszóma-alapszám azonos ($n = x$). A diploid zigótában és az abból származó szomatikus sejtekben két homológ kromoszóma-szerelvény van ($2n = 2x$). Előfordulhat azonban, hogy a szomatikus sejtekben nemcsak kettő, hanem három ($2n = 3x$) vagy több kromoszóma-szerelvény kerül. Ezeket poliploidoknak nevezzük, mert három vagy több alapkromoszóma szerelvényt tartalmaznak. A poliploid fajokat származásuk és viselkedésük alapján két csoportba soroljuk, autopoliploidok és

allopoliploidok. Az autopoliploidok három vagy több homológ genomot, az allopoliploidok pedig kettő vagy több nem homológ genomot tartalmaznak. Lehetségesek köztes formák is, mint amikor egy növényfaj, amely néhány kromoszóma, vagy kromoszóma szegmentum tekintetében autopoliploid, a többi kromoszóma szegmentum tekintetében lehet allopoliploid. Ezek alkotják az autoallo-poliploidokat, és a szegmentális allopoliploidokat. A ploidiafok a genomok számát jelenti, amelyet az x együttható fejez ki. Például $3x =$ triploid, $4x =$ tetraploid. A fajok egyik jellemző kritériuma a kromoszómaszám. A növényekben a sporofitonok kétszer annyi kromoszómát tartalmaznak, mint a gametofitonok. Az állatfajokban a hímek és a nőstények testi sejtjeiben a homológ kromoszómák szintén kétszeres dózisban vannak jelen az ivarsejthez képest. Ettől szabályos eltérés legfeljebb az ivari kromoszómák esetében fordul elő. A diszómás állapot, más szóval az euploid kromoszóma-szerelvény az élővilág általános törvényszerűsége. Ha a kromoszómaszám az euploid állapottól eltér, akkor aneuploidiáról beszélünk. Más vonatkozásban aneuploidnak nevezzük az olyan sejtet, szövetet vagy szervezetet, amelynek kromoszómaszáma az alap kromoszóma-szerelvény nem egész számú többszöröse. Egy vagy több kromoszóma hiánya hipoploidiát, egy vagy több kromoszóma feleslege pedig hiperploidiát idéz elő. Ha a homológ pár egyik tagja hiányzik, monoszómáról ($2n - 1$), ha mindkét tagja hiányzik, nulliszómáról ($2n - 2$) beszélünk. A triszómában ($2n + 1$) egy teljes kromoszóma háromszoros, a tetraszómában ($2n + 2$) négyszeres dózisban van jelen (Clevering és tsai, 1999).

Aneuploid sejtek szabálytalan sejtosztódáskor keletkeznek. Mitotikus sejtosztódáskor előfordulhat, hogy az anafázis során az egyik pólushoz több kromoszóma kerül, mint a másikhoz. Az egyik leánysejtben kromoszóma hiány, a másik leánysejtben kromoszóma többlet keletkezik. A szövet vagy a szervezet citogenetikai szempontból mozaikossá válik. Mesterségesen ezt kolhicin kezeléssel érhetjük el.

A *Phragmites australis*nál mind euploid, mind aneuploid egyedeket is lehet találni. Az alap kromoszómaszám $x = 12$ (Gorenflot, 1986). Előfordulnak $3x$, $4x$, $6x$, $7x$, $8x$, $10x$, $11x$ és $12x$ euploidia szintű egyedek is. Az eredeti diploid forma $2n = 24$ kromoszómát tartalmazott, de ez kipusztult (Gorenflot és tsai., 1986). Feltehető, hogy ezt a diploid őst a teraploid nád szorította ki (Gorenflot és tsai., 1990; Les és Pholbrick, 1993). Európában és Afganisztánban a tetraploidok, Iránban, Kínában, Ausztráliában az oktoploidok uralkodnak (Gorenflot, 1976; Zong és tsai., 1991), azaz kelet felé haladva tolódik el az arány az oktoploidok javára. A tetraploid allo-tetraploid, amely két ősi faj hibridizációjával keletkezhetett, az oktoploid pedig auto-allo-oktoploid lehet, amely az allo-teraploid kromoszómáinak kettőződésével keletkezhetett. A triploidok a diploidok és tetraploidok, a

hexaploidok a tetraploidok és oktoploidok hibridizációjával keletkezettek. A poliploidok egy része nagyon régen keletkezhetett, és hosszú évezredek alatt vándorolhattak mostani helyükre. A *P. australis* feltehetően Kelet- vagy Közép-Ázsiából származik (Gorenflot és tsai., 1982), másodlagos kromoszóma kettőződés azonban a múltban többször is előfordulhatott. A Duna deltában a mélyebb részeken nő a 4 méternél is magasabb oktoploid *P. australis* var. *gigentea* és a tözegesebb, sekélyebb és sósabb helyeken a sokkal kisebb tetraploid *P. australis* var. *flavescens* (Raicu és tsai., 1972; Pauca, Comanescu és tsai., 1999). A poliploidia először lassabb sejtosztódással jár, megnőnek a sejtek, nagyobb lesz a növény, nagyobb szemterméseket is hoz, de csökken a fertilitás. Később azonban a természetes szelekció a nagy sejtméret ellen hathat (Stebbins, 1971). Így a Földközi-tenger vidékén élő, kisebb oktoploid nád sokkal öregebb lehet, mint a romániai.

A részletesen vizsgált populációkban rendszerint találtak aneuploid nádszálakat is (Gervais és tsai., 1993; Connor és tsai., 1998). Az aneuploidia csökkenti a termékenységet, klonális növényeknél viszont sokáig fennmaradhatnak az ilyen genomok.

Magyarországon általában tetraploid nádat találtak (Kovács, 1986), a Fertő-tóból vizsgált anyagban azonban egy oktoploid minta is volt. Magam a Balaton körül 12 pontról vettem egy-egy nádszálát, és azokat mint tetraploidnak találtam (Lukács és tsai, 2005).

2.2.2. Molekuláris genetikai módszerek

A genetikai variabilitás vizsgálatában nagy áttörést jelentett a molekuláris markerek alkalmazása. A 70-es évektől használt biokémiai markerek egyik csoportjába tartoznak a tartalékfehérjék és izoenzimok, a másikat pedig a DNS-markerek alkotják. Tanksley (1983) molekuláris markereknek azokat a biokémiai markereket nevezte, amelyek fehérje és/vagy DNS-szinten polimorfizmus kimutatására alkalmasak.

Detektálásuk gélelektroforézissel történik. Az egy lókuszon belüli alléleket az eltérő elektroforetikus mobilitású sávok jelzik. A klonális diverzitást mocsári növényeknél először allozim polimorfizmussal vizsgálták az 1960-as, 70-es években *Typha* és *Spartina* fajokon.

Számos célra alkalmazhatunk izoenzim analíziseket, de a legfontosabb ezek közül a biokémiai géntérképek készítése és a fajtatisztaság ellenőrzése vagy populációgenetikai felmérések. Előnyök közé sorolható, hogy nagy mintaszám vizsgálható, fiatal egyedek tesztelhetők, a szükséges enzim mennyiség kis mennyiségű mintából kivonható és viszonylag olcsó. Viszont az izoenzim markerek hátránya, hogy nem minden DNS szinten

bekövetkező változás detektálható fehérje szinten is, fejlődési állapot függő és kisebb variabilitású (Mullis és Faloona, 1987).

A DNS-alapú módszerek felbontóképessége rendkívül nagy. A DNS-markerek közül az RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) vagyis a restriktációs fragmentumhossz polimorfizmus az egyik elterjedt technika. Először adenovírus DNS-t restriktációs endonukleázokkal emésztettek, majd a DNS-fragmentumok hosszában lévő különbségeket használták hőre érzékeny mutáns izolátumok jellemzésére (Grodzicker, 1974). Véletlenszerűen oszlanak meg a genomban és gyakoriak. Az RFLP markerek reprodukálható mintázatot adnak, és a fragmentumok hossza egyedeken vagy fajon belül is változatos lehet a mutációk, inszerció vagy delécio következtében. Először izolálják a kromoszómális DNS-t, majd emésztik restriktációs endonukleázokkal, melyek speciális szekvenciáknál hasítják a DNS-t. A kapott több százezernyi DNS-fragmentumot agaróz gélen választják el elektroforézissel. Ez után a DNS-fragmentumokat denaturálják, depurinálják, és a gélről nitrocellulóz vagy nejlon membránra viszik át, ahol ezeket hibridizálják jelölt, egy fonalas DNS-próbával. A módszert alkalmazzák DNS ujjlenyomatok készítésénél, tulajdonságok térképezésénél. A módszer előnyei közé sorolható tulajdonság, hogy a kimutatott polimorfizmusok kodominánsan öröklődnek, az egész genomról, vagy annak bármely komponenséről információt adnak, hátránya viszont az, hogy drága, idő és munkaigényes, a radioaktív jelzés miatt nagy körültekintést igényel. Az RFLP mintázatok kiértékelésénél a többi módszerhez hasonlóképpen, a sávokat binárisan kódoljuk, 1-gyel a meglévő sávot, 0-val a hiányzót, genetikai hasonlóságot Nei képletével számítjuk (Nei és Lee, 1979), vagyis két beltenyészett vonal között azonos sávok számának kétszerese osztva a két beltenyészett vonalon belüli sávok számának összegével. Ezen értékek felhasználásával UPGMA cluster analízissel is megjeleníthető a genetikai távolság. Az adatokat statisztikai algoritmusokkal értékeljük ki.

A PCR (Polymerase Chain Reaction), vagyis polimeráz láncreakció lehetővé teszi egy adott DNS-szakasz *in vitro* sokszorosítását. Egy vagy több DNS-szekvencia közel exponenciálisan sokszorosítható egymást követő, szabályozott hőmérsékleten végrehajtott reakciók ciklusain keresztül, ahol a kiválasztott DNS-szekvenciájával megegyező másolatok képződnek (Mullis és Faloona, 1987). Az eljárás lényege az, hogy a vizsgálandó kettős szálú DNS, vagyis a templát denaturálása után két oligonukleotid primer és DNS-polimeráz enzim segítségével DNS-t szintetizálunk a templát-DNS mindkét száláról az első ciklusban. A következő ciklusban az újonnan szintetizált szálak is templátként fognak szerepelni, de ebben az esetben már a DNS-szintézis az ellentétes szál primerrel határolt végénél befejeződik. A ciklus többszöri ismétlése azt eredményezi, hogy a két primer

közötti DNS-szakasz exponenciálisan amplifikálódik, mégpedig a ciklusok számától függő mértékben. A technika olyan érzékeny, hogy akár egyetlenegy molekuláról is sokszorosítható DNS. Az amplifikált DNS fragmentek egyszerű agaróz gélelektroforézissel kimutathatók, míg a templátként használt DNS kis mennyisége miatt nem látszik.

A reakció komponensei, a templát-DNS, a primerek, ezek az amplifikálandó DNS-szakasz 3' végeinek szintetikusan előállított komplementerei, a nukleotidok, melyek a DNS építőkövei, DNS-polimeráz enzim, valamint stabilizáló vegyszerek.

A reakció három, egymást követő lépésben valósítható meg. Az első a kétszálú DNS szétválása (denaturálás) 92-96 °C-on, a primerek feltapadása (annealing), a templát komplementer helyeire 35-70°C-on, végül a primerek növesztése (elongation) a DNS polimeráz segítségével 72 °C-on. Fontos, hogy a reakció specifikus, hatékony, érzékeny és megbízható legyen. A denaturálás során a kétszálú DNS-t összetartó H-hidak megszüntethetők magas hőmérsékleten, ahol egy szálú DNS képződik. A későbbi ciklusokban kevesebb idő kell ezen a hőfokon, mert új, rövid szálak képződnek. A reakció specifikussága a primer feltapadásától függ. Az egy szálú DNS hirtelen visszahűtésekor nem tud újra egyesülni, viszont a primerek ez alatt az idő alatt be tudnak kötődni. A feltapadás valószínűsége függ a kiindulási célkópiák számától, az időtől, és a tapadási hőmérséklettől. A hőmérséklet optimuma az olvadási hőmérséklet környékén van, viszont ha nagyon magas, nem kapunk terméket, ha alacsony, nem specifikus a reakció. Az olvadási hőmérséklet minden bázis hozzáadásával nő, a feltapadás hőmérsékletét így folyamatosan lehetne növelni a láncnövekedéssel párhuzamosan. A tapadási hőmérsékletet kicsivel az olvadási hőmérséklet fölött vezetik. A lánc hosszabbítás szakaszban az új lánc szintézise történik. A primerek a komplementer templát szálakon egymással szemben növekednek, a hőmérsékletet a DNS polimeráz optimumára kell beállítani, ami általában 72-73 °C. A nem specifikus termékek elleni védekezés eszköze lehet a reakcióelegy 0-4 °C-on történő összemérése és / vagy több PCR cső forró blokkba helyezése (Mullis és Faloona, 1987).

A kutatókat régóta foglalkoztatta az, hogy a Southern hibridizáción alapuló, radioaktív izotópot alkalmazó RFLP helyett egy egyszerűbb, gyorsabb (előzetes szekvenálást nem igénylő) és izotópot nélküli módszer legyen. Az említett kritériumoknak megfelelő eljárást 1990-ben írták le Williams és munkatársai, a módszer neve pedig RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).

A RAPD különböző genomok hasonlóságának vagy különbözőségének, speciális gén szekvenciák jelenlétének vagy hiányának kimutatására szolgáló módszer. A RAPD

módszer polimeráz lánreakción (PCR-Polimerase Chain Reaction) alapszik. Egyféle primert alkalmaz, melynek hossza 10 bázispár. A primerek ellentétes orientációban vannak, vagyis távoli, rövid, ellentétes irányú ismétlődések. Ezzel az ellentétes orientációjú ismétlődő szekvenciával komplementer oligonukleotidot primerként használva, azt a szakaszt amplifikáljuk, mely az ismétlődések között foglal helyet. Az amplifikátum agaróz gélen könnyen kimutatható. RAPD-amplifikálásnál rendszerint domináns markerként kiértékelhető fragment sávokat kapunk. Ez feltételezhetően abból adódik, hogy a szekvencia különbségek következtében, ugyanazt a primert használva, egyik növény DNS-éről amplifikálódik egy bizonyos szakasz, a másikéről pedig nem. A szekvencia különbségek keletkezhetnek báziscserék vagy nagyobb genetikai átrendeződés, mint deléciók, inszerciók következtében. Rutinszerű vizsgálatok során a RAPD 200 - 1500 bp közötti mérettartományban működik jól, ahol gyakorlatban is reprodukálható.

A RAPD-módszer előnyei közé sorolható a gyorsaság, valamint a nagy számú minta egyidejű kezelése izotóp használata nélkül, nem igényel előzetes szekvencia ismeretet vagy munkát (pl. cDNS-bank készítés) a markerek előállításához, és ugyanazon primerek széles körben használhatók több fajhoz, fajtához is, viszonylag egyszerű műszerezettséget igényel, ez egy hőciklus szabályozó készülék. Igen kis mennyiségű templát-DNS-t, akár ng-nyi mennyiség is elegendő a reakcióhoz, akár egy levéldarab vagy beszárított növényi rész is használható mintaként.

Hátránya viszont, hogy alkalmazásával főleg domináns markerekhez jutunk. Amennyiben azonban egy ilyen marker részletesebb kiértékelésére van szükség, a domináns jelleg a legtöbb esetben kodominánssá tehető az úgynevezett SCAR, eljárással. A SCAR (Sequence Characterized Regions) azt jelenti, hogy a dominánsan megnyilvánuló RAPD-fragmentet klónozzuk, szekvenciáját meghatározzuk, és a szekvencia alapján specifikus primereket tervezünk az adott DNS-szakasz két végére (Paran és McChelmore, 1993). Az amplifikált fragmentumok hibridizációs próbaként való használata nem mindig sikeres. A RAPD-reakció igen érzékeny a reakció körülményekre, ezért különböző laboratóriumokban az ismételtetésnek akadályai vannak (Bardakci, 2001).

Főbb alkalmazási területei a genetikai különbség vagy rokonság megállapítása, a tulajdonságokat meghatározó gének térképezése, a "DNS ujjlenyomat" készítése, a növényfajta homogenitásának vizsgálata, valamint a kapcsolt markerek keresése. RAPD analízissel viszonylag rövid idő alatt elkészítették néhány növényfaj géntérképét, mint a lucerna (Kiss és tsai., 1993), a bab (Torres és tsai., 1993) és az alma (Hemmat és tsai., 1994) esetében. Ezzel a módszerrel sikeresen azonosították a betegség rezisztencia géneket paradicsomban (*Lycopersicon* sp.) (Martin és tsai., 1991), salátában (*Lactuca* sp.) (Paran és

tsai., 1991), és közönséges babban (*Phaseolus vulgaris*) (Adam-Bloddon és tsai., 1994). A RAPD használható még populációk vizsgálatára molekuláris ökológiai kutatásoknál és taxonómiai vizsgálatoknál.

Az AP-PCR (Arbitrary primed PCR) (Welsh és McClelland, 1990) és a DAF (DNS-amplifikációs ujjlenyomat módszer) (Caetano-Anollés, Bassam és Gresshoff, 1991) a RAPD módszertől a primerek hosszában és a templáthoz való kapcsolódás módjától, a gélelválasztásban és a fragmentumok megjelenítésében különbözik (Agarwal M., Shrivastava N., Padh H., 2008). A fragmentumok megléte illetve hiánya alapján az adatokból hasonlósági mátrixot majd ennek alapján genetikai távolságot számolunk egy programmal (Ellsworth, Rittenhouse és Honeycut, 1993).

Az AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), vagyis amplifikált fragmentumhossz polimorfizmus (Vos és tsai., 1995) elve, hogy ismeretlen szekvenciájú, kromoszómális restrikciós endonukleázos hasítással létrehozott fragmentumokat amplifikálunk PCR-el. A módszert alfajok géntérképezésénél alkalmazták (Althoff és tsai., 2007). A keresztezett csoportok közötti kapcsolat vizsgálható (Yin és tsai., 1999) és becsülhető vele az alfajok közötti rokonsági fok vagy a variabilitás (Mian és tsai., 2002). A DNS restrikciós enzimekkel történő kezelése után az adapter szekvenciák illesztésére kerül sor. Ezekhez PCR során szelektív primerek tapadnak, és egy részüket sokszorosítják. Szükségtelen a genom ismerte és környezetre kevésbé érzékeny. A két szálú, ragadós végű adaptereket a két restrikciós enzimmel által generált végekhez kötik, ide tapadnak a primerek. Előválasztó primereket használva csak azok sokszorozódnak fel, melyek a primer 3' végével lesznek komplementerek. Második PCR során jelzett, szelektív primerekkel amplifikálva 100 körüli fragment számot kapunk. Ritkán és gyakran vágó enzimekkel emésztünk, majd a végekhez adaptereket ligálunk, ezekhez kapcsolódnak a jelölt, szelektív primerek. Ezt gél analízis követi, a módszer a restrikciós fragmentumok meglétét illetve hiányát jelzi.

Az eukarióta genom nem kódoló régiójában, a heterokromatikus részekben előforduló szatellit DNS is felhasználható molekuláris markerként. Méretük alapján három csoportba sorolhatók: midi-, mini- és mikroszatellitok.

Az STR markereket (Short Tandem Repeat = rövid tandem ismétlődés, Edwards és tsai., 1991) mikroszatellitnek (Litt és Luty, 1989) vagy SSR-nak (Simple Sequence Repeat = egyszerű szekvencia ismétlődés, Jacob és tsai., 1991) nevezzük. A növényi mikroszatellit markerek egyik alapvető tulajdonsága, hogy az ismétlődő egységek számát figyelembe véve rendkívül polimorfak mind a fajok, mint pedig az egyedek között (Akkaya és mts., 1992; Saghai-Marooft és mts., 1994; Yang és mts., 1994). Mini- és mikroszatellit

polimorfizmus alapja, hogy markerként az eukarióta genom nem kódoló szakaszában is előforduló szatellit DNS-t használják, mely tandem ismétlődő szekvenciákból áll. Méretük alapján mini-, midi-, és mikroszatellit. A mikroszatellit (SSR) 2-5 bázispár hosszúságú, nagy polimorfizmust mutató DNS szakaszok. A határoló szekvenciák fajra jellemzőek, ezekhez primert kapcsolva amplifikálhatók a cél szekvenciák. Másképp rövid, tandem ismétlődő szakaszoknak is nevezik, bármely eukarióta genomban ismétlődő szakaszok (Tautz és Renz, 1984). A repetitív szekvenciákat jellemző nagy mutációs ráta és a javítómechanizmus interakciója a mikroszatellit ismétlődő szekvencia számát meghatározó két fő tényező (Strand és mts., 1993). Ezek nem adnak magyarázatot a mikroszatellit régiók keletkezésére és az evolúciós trendekre amelyek a genomban formálják ezeket a szakaszokat.

Ezek a technikák kodominánsan öröklődnek, vagyis mindkét allél – ha van – kimutatható, ha a méretük különbözik. A mikroszatelliteket például géntérképezésnél, családfelemzésnél, apaság meghatározásnál egyaránt használják. Mikroszatellit primerekkel ismeretlen kromoszomális DNS-szekvenciákat amplifikálhatunk. A PCR termékeket jellemzően gélelektroforézissel vagy kapilláris elektroforézissel választják el, detektálásuk többféle módszerrel történhet, jelentős ezek közül a fluoreszcens jelölés vagy a lézeres detektáláson alapuló fragmentumhossz analízis. A módszer automatizálhatóságán javított a lézeres detektálási módszer (Wenz és tsai., 1998).

2.2.3. A nád vizsgálata molekuláris genetikai módszerekkel

2.2.3.1. Az észak-amerikai nád invázió

Észak-Amerika délnyugati területein a fossziliák szerint 40 ezer éve is volt nád. Paleoökológiai kutatások során mind az atlanti, mind a csendes-óceáni parton több ezer éves nád maradványokat találtak (Niering és tsai., 1977; Orson, 1999; Goman and Wels, 2000). A 19. század elején a botanikai kutatások szerint a nád Amerikában még sokkal ritkább volt, mint Európában, a 20. század elején viszont már gyakori volt a faj, és egyre terjedt. Napjainkban az USA a kontinensen lévő összes államában előfordul, de mindenütt ott van Kanada déli részén is. Főként ott jelentkezik, ahol háborgatják a vizes élőhelyeket, de néhol háborítatlan területeket is ellep. Leggyorsabban Észak-Amerika Atlanti partjának és a Mexikói öböl dagály-mocsaraiban terjed. Viszonylag kevésbé fenyegetettek a nyugati part jobban elkülönített dagály mocsarai. Kanadában a hidegebb éghajlat miatt lassabb a terjedés. Mexikóban és Florida egyes helyein az erősen sós parti vizekben a mangrove erdő

állítja meg a terjedését. Az oligohalin, és mesohalin dagály mocsarakban azonban egyformán terjed a nád. Bár a nád invázió a kontinens belsejére is kiterjed, a legnagyobb gondot az ökológiailag különösen értékes és nagy kiterjedésű dagály mocsarak elözönlése okoz. Ezek közül is az édesvízi dagály mocsaraknál csökken a nagyobb mértékben a biodiverzitás, egyszerűen azért, mert ezek eredetileg 100 növény fajt is tartalmaztak. Drámaian csökken a vízi madarak számára megfelelő pihenő, fészkelési és táplálkozási terület. Eltűnnek a nagytestű gázló madarak, a mocsári specialista fajokat generalisták váltják fel, és általában csökken a madárvilág gazdagsága. A nád terjedése az eredeti vegetáció terhére kihat az egész állatvilágra, és csökkenti a fauna gazdagságát. A zoológiai kutatások fontos eredménye, hogy míg Európában 70 rovar faj is fogyasztja a nádat, Észak Amerikában csak 10 ilyen találtak. Az ellenségek kialakulásának késlekedése gyakran segíti a biológiai invázió sikerét. Egyes feltevések szerint a nád inváziót emberi beavatkozások okozhatták (Marks és tsai., 1994), felmerült viszont a gondolat, hogy esetleg idegen genotípust hurcolhattak be Észak Amerikába az elmúlt 200 évben. (Metzler és Rosza, 1987; Pellegrin és Hauber 1999; Chambers és tsai., 1999) A kérdés eldöntésére a kloroplaszt DNS-t használtak (Saltonstall, 2002). Ez a DNS anyai örökítésű, viszonylag konzervatív, de kellő fajon belüli változatosságot és szabályos földrajzi eltéréseket mutat, így jól használható különböző növényfajokon belül az elterjedés eredetének kutatására (Soltis és tsai., 1997; Sahuquillo és Lumaret, 1999). A kloroplaszt DNS két nem kódoló régióját PCR technikávak amplifikálták, majd szekvenálták.

Észak-Amerikából és más kontinensekről 283 új mintát gyűjtöttek, és 62 olyan herbáriumi anyagot vizsgáltak, amely 1910 előtről származott. Összesen 27 haplotípust tudtak kimutatni, ebből 11 volt olyan, hogy csak Észak Amerikában fordult elő. Két haplotípus, az I és az M jelű számos kontinensen található. Az M jelenleg a legelterjedtebb Európában, Ázsiában és Észak-Amerikában is. Ezt tekintik az ősi haplotípusnak. A 11 haplotípusból, amelyet az 1910 előtti herbáriumi anyagokban találtak, hármat nem sikerült újra megtalálni, és a többiek sem terjeszkedtek tovább. A teljes inváziót tehát az M haplotípus hajtotta végre. Ennek az összes haplotípuson belüli gyakorisága 1910 előtt csak 6 % volt, 1960 után viszont 61 %, azaz ugyanakkor lett, mint Európában. Elvben elképzelhető, hogy az M haplotípus őshonos volt Észak-Amerikában, és a táj ember általi megváltoztatása juttatta hirtelen előnyhöz, amitől ennyire elterjedt. Valószínűbb azonban, hogy Európából hurcolták be a 19 században, mert az 1910 előtt Észak-Amerikában talált haplotípusok közül ez nem mutatja a másik 11-ben meglévő mutációkat, és ez hasonlít legjobban az eurázsiai típusokhoz.

2.2.3.2. Az európai nádpusztulás

Míg Amerikában a nád invázió, Európában a nád pusztulás okozott gondot. Az 1970-es évektől egyre több tóban lehetett megfigyelni, hogy a homogén nádas vízfelőli oldalán lagunák keletkeznek, a korábban zárt állomány felbomlik, egymástól különálló zombékszerű csomókra esik szét, majd ezeket kidönti a hullám. A nád csomókat hívjuk magyarul babáknak. A babásodás a Balatonban a 1970-es évek végén vagy az 1980-as évek elején indulhatott meg. A pusztulásnak a hazai és a nemzetközi Eureed program (Van der Putten, 1997) keretében is számos lehetséges okát vizsgálták. Pusztítják a nádat kikötők, strandok, horgász bejárók, zagyterek létesítésével. Jelentős károkat okozhatnak egyes betelepült állatok, a Balaton esetében ilyenek a pézsmapocok, a hattyú és főként az amúr. A nádnak Európában sok rovar kártevője van és számos gomba fertőzést is megfigyeltek. Az Eureed keretében több tó esetében azt találták, hogy a vízállás emelését követte a nádpusztulás. Jelentős szerepet tulajdonítanak a szerves anyag bomlásának az üledékben, anaerob viszonyok között romlik a gyökerek tápanyagfelvétele és mérgező anyagok keletkezhetnek. Szélső esetben a rizómákon parásodás indul meg, és eltömődnek a levegőztető járatok.

Mínthogy a nádpusztulás röviddel az eutrofizálódás után kezdődött, eléggé elterjedt az a feltevés, hogy az előbbi az utóbbinak lehet a következménye. Ennek viszont ellen mondani látszik az, hogy számos erősen eutróf tóban jól nő a nád. Az ellentmondást úgy próbálták feloldani, hogy feltételezték, hogy a nád nagy ökológiai rugalmasságát az okozza, hogy nagyon sok, egyenként azonban szűk tűrőképességű klón van. Eutróf vízben az eutróf körülményeknek megfelelő genotípus nő, oligotróf vízben viszont a csak ilyen állapotot elviselő klón. Így már érthető lenne, hogy a nád pusztul, ha az oligotróf víz eutróffá válik (Koppitz, 1999).

A feltevést Németország északkeleti részén (Ukkermark és Brandenburg) lévő tavakból gyűjtött nádszálak RAPD-PCR elemzésére alapozták (Kühl és Neuhaus, 1993; Neuhaus és tsai., 1993). Először a 1100 ha felületű, nádpusztulást mutató, dimiktikus, oligo-mezoróf Partsteiner See 4 állományából vettek 3-3 nádszálát. A nádszálak genotípusa egymástól különbözött, állományon belül azonban azonos volt, így mindegyik állomány monoklonálisnak bizonyult. A legnagyobb állomány területe 3000 m² volt. Ugyancsak egy klónhoz tartozónak bizonyult a 95 ha területű, polimiktikus, eutróf, Templiner See pusztuló nádasából vett 3 nádszál is. Eltért viszont egymástól a 37 ha területű, enyhén eutróf, dimiktikus, ép állományú Kleiner Krinert See-ből vett három nádszál genotípusa.

A nem túl sok adat alapján értékes elméletet állítottak fel (Kühl és Neuhaus, 1993; Koppitz és tsai., 1996; Koppitz, 1999). Eszerint a nádasok kialakulása három szakaszból áll. Az első a megtelepedés stádiuma. Ebben a tó partján magról, tehát generatív úton nagy genetikai diversitású állomány fejlődik ki. Ennek a sok különböző klón miatt nagy az ökológiai rugalmassága, és könnyen tud alkalmazkodni a külső körülmények változásaihoz. A második a terjeszkedés és a klónok kialakulásának a stádiuma. A hipotézis szerint a vegetatív úton terjeszkedő klónok között erős a verseny, ami viszonylag stabil külső körülmények mellett hosszú távon csökkenti a genetikai diverzitást úgy, hogy végül csak kevés, de a körülményeknek jól adaptálódott klón marad meg. Ezek alkotják azután a harmadik, az állandósult stádium populációját, amely így kevésbé diverz, és nagy területeket boríthatnak szűk ökológiai tűrőképességű monoklonális állományok.

Az egyes tavakon belül a nádasok mindig közelebb voltak genetikailag egymáshoz, mint más tavak állományaihoz. Svéd, angol, dán, holland, német, cseh, magyar és román tavakból egy-egy mintát elemezve úgy vélték, hogy a megvizsgált nád minták genetikai távolsága nő a földrajzival (Koppitz, 1999). Ez a megállapítás azonban a bemutatott dendrogram alapján nem látszott egyértelműnek, hiszen a román és magyar nád minta nem a cseh vagy német, hanem az észak-európai nádszálakkal került egy klaszterba.

2.2.4. A nádasok korának becslése a tavak hosszútávú vízszintváltozásai alapján

A Bódeni-tó a legrégebben tanulmányozott tavak közé tartozik, vízállásáról 1817 óta van folyamatos adatsorunk (Ostendorp és tsai., 2007). A tó lefolyását a mai napig nem szabályozzák mesterségesen. Az évi vízszintingadozás sokéves átlagban 1,9 m. A szubalpin tónál a vízállás télen a legalacsonyabb, és a hóolvadás után, júniusban a legmagasabb. Ekkora vízszint ingadozás mellett télire a nádasok vízfelőli oldala is szárazra kerül, a hidegben és sötétben azonban nem tudnak a nádmagok kicsírázni. A ritkán előforduló nagy aszályok idején, amilyen 2003-ban is volt, nyáron is szárazra kerülhet a nádasok előtti tófenék, és ilyenkor a pionír növények között a nád is megjelenik. Csakhogy a magoncok a következő évig nem nőnek meg annyira, hogy túléljék a következő magas vízállást. Az 1817 előtti vízállásra vonatkozólag nincsenek mérési adatok, de valószínű, hogy akkor sem lehetett alacsonyabb. Ebből az adódik, hogy a Bódeni tó nádasainak vízfelőli része legalább kétszáz éve, de valószínűleg még sokkal korábban kicsírázott magokból származik. A most sekély vízben álló, partfelőli nád viszont ennél lényegesen fiatalabb lehet. A kifejlett nád rövid időre elbírja a teljes vízborítást, Az időnkénti tartósan

magas vízállások viszont pusztulást okoznak, és jelentős hatásuk lehet a nádasok kiterjedésére (Ostendorp, 1999, Dienst et al., 2004, Schmieder és tsai., 2004).

Az Osterseen tórendszer különböző méretű és trofitású tavai jó lehetőséget kínálnak az összehasonlító limnológiai kutatásokhoz. A tavak a Würm jégkorszak végén keletkeztek a jég által kivájt medrekben. Vízállásukról nincsenek adatsorok, de azt eléggé állandónak tartják, mert a tavakat főként a talajvíz táplálja. A nádasok öregek, akár több száz évesek is lehetnek (Melzer, 1976).

A Fertő vízállásáról már az 17. század óta vannak feljegyzések, melyeket Bendeffy (1973) dolgozott fel, és Dobesch és Neuwirth (1979) ismertet. Ezek szerint 1616-ban a vízszint 1,6 m-t süllyedt, 1638 és 1640 között a tó teljesen kiszáradt, 1668-ban nagyon magas volt a vízállás, 1676-tól 1677-ig viszont nagyon alacsony. 1683 és 1693 között a tó nagy területe annyira kiszáradt, hogy szántóföldként használták. 1728-ban ismét összezsugorodott a tó, és sok hal pusztult el. 1738-ban keresztül lehetett sétálni a tavon, 1740-1741-ben viszont gyorsan nőtt a vízszint, és gátakat kellett építeni. 1742-1756-ban, 1765-1767-ben és 1770-1790-ben a környező szántóföldeken és legelőkön nagy területeket öntött el a víz. 1786-ban a tó 2 m mély volt, 1807-1812-ben viszont jelentősen apadt., majd 1813-1830 között ismét 2 méterre duzzadt. 1836-1838-ban ismét apadt a tó, ez 1855-1865-ben folytatódott, és 1866-1870-ben a Fertő teljesen kiszáradt. A halak már az előző években kipusztultak, ekkora a korábban dús nádasok is eltűntek, a száraz fenékről hatalmas porfelhőket kavart fel a szél, és sziksóval terített be még távoli területeket is (Moser, 1866). 1881-1882-ben gyorsan feltöltődött a tó, és állandóan magas lett a vízállás. 1892-1895-ben jelentős volt a vízveszteség, 1902-1905-ben ismét emelkedett a vízszint, 1905-1907-ben viszont a tónak csak egyes részeit borította víz. 1909-1911-ben épült meg az Einsler-csatorna, amellyel le akarták csapolni a Fertőt, hogy mezőgazdasági területet nyerjenek. Szerencsére a csatorna gyorsan eliszapolódott, de így is fél méterrel csökkentette a vízállást, amitől a tó nagy részét csak 80 cm víz borította. A csatorna okozta vízszintsüllyedésnek alapvető szerepe lehetett a nádasok terjedésében. Ezek összes területe a Fertőben Kopf (1974) számításai szerint 1872-ben 62 km², 1901-ben 98 km², 1923-ban 149 km², 1937-ben 163 km², 1957-ben 177 km², 1965-ben 198 km² volt, azaz nem egészen egy évszázad alatt több mint háromszorosára nőtt, és a tó kétharmadát fedi. A fentiekből az következik, hogy a Fertő mostani nádasai 1870 után keletkeztek. 1872-ben a tó közepén is jelentős nádas foltok voltak, ekkor tehát a nedvessé vált kopár talajon magról szaporodhatott el a nád. Később a vízszint növekedése miatt a tóközépi foltok eltűntek, az 1905-1907-es vízállás viszont újra segíthette a magoncokról való szaporodást. 1911 után a partok felől vegetatív úton terjedhetett befelé a nád. Előretörése a hullámnak kevésbé

kitett déli és nyugati oldalon volt gyors, ahol a nádnak kedvező lágy iszap halmozódott fel. Ebben a zónában évente akár 20 métert haladhatott előre a nádas (Riedmüller,1965).

A Balaton vízállásáról a Sió zsilip 1863 évi megnyitása óta van adatsorunk. A siófoki vízmércén a 0 vízállás az Adria feletti 104,09 m-nek felel meg. Eredetileg ezt szánták a megengedhető legalacsonyabb vízállásnak. Hogy a Sió megnyitása előtti természetes állapotban milyen magas lehetett a vízszint, arról eltérőek a vélemények, Bendeffy (1968) 111 m-es Adriai feletti szintet is feltételez, amikor Tihany sziget lett volna. Virág (1998) szerint azonban nincs bizonyíték a 107,5 mAf-nél magasabb vízállásra. Ilyen magas vízszintnél a hullámvás már átszakíthatta a turzást, és a víz a résen leszaladt a Sióba. Az első pontos térképet Krieger Sámuel készítette a Balatonról 1776-ban. A munka valójában a Balaton lecsapolásának előkészítését célozta, amire szerencsére pénz hiányában nem került sor. A térkép feltünteti az 1, 2, és 3 bécsi öl mélységű szintvonalakat. A térképet, melyet a Zalaegerszegi Múzeum őriz Zlinszky András (személyes közlés) szkennelte, és a digitalizált változatot megfelelő számítógépes programokkal úgy javította, hogy azt összevethető legyen az 1975-ben készített Balaton Atlasz 1: 20 000 méretarányú változatával. A szint vonalak összehasonlítása azt mutatja, hogy 1776-ban a vízállás 1,5 méterrel lehetett magasabb, mint a mostani +100-cm-es, ami a tó jogi partvonalát jelöli. Ez annyit jelent, hogy bár a vízszint a felmérés évében talán alacsonyabb volt, mint a sokévi átlag, mégis a mai tó területén sehol nem volt olyan sekély, hogy ott nádas tudott volna nőni. Valóban, a térképen az akkori nagy öblök peremén látni nádast, a mostani tó partvonalán belül azonban nem.

A 19. század első felében már több kisebb lépésben csökkentették a vízszintet a Sió medrének rendezésével, a legnagyobb beavatkozás azonban a Sió zsilip megépítése és a csatorna jelentős bővítése volt 1863-ban. Pár évvel korábban megépült a déli vasút, amelynek a töltése ott futott, ahol most is, a déli part turzásának koronáján. A következő, csapadékos évek viszont annyira felduzzasztották a Balatont, hogy a jégzajlás súlyosan megrongálta a vonalat. A Balatont a vasút védelmére csapolták meg, a költségeket pedig a vasúttársaság teremtette elő. 1865-ben viszont több éves nagy aszály kezdődött, amitől a vízállás -50 cm-re süllyedt. Ettől a tófenék széles sávban szárazra került, jó lehetőséget teremtve a nád magról való megtelepedéséhez. A tó mai állapotában a + 100 cm-es vízállás mellett a nád általában 1,5 m mélyen hatol a tóba. Az 1865-ös aszály idején pont ott lehetett a víz-szárazföld határ, ahol most a víz-nádas határ található. Ezután csapadékos időjárás következett, a vízszint megemelkedett, az alsó vízállásra pedig +40 cm-t írtak elő. 1876-ban a 0 cm közelébe esett a vízállás, hogy 1980-ban +190 cm-re emelkedjék, azaz még a Sió megnyitása után is több mint 2 m volt a maximális és minimális vízállás

különbsége. Ebből arra következtethetünk, hogy a szabályozás előtti „természetes” vízszintingadozás középtávon a 3 méter közelében lehetett. Bár a +190 cm erősen zavarta az üdülőket, hiszen a tó +120 cm fölött még most is kiönt, ez az ingadozás sokkal kisebb a Bódeni tóénál, és nem is okozott nádpusztulást, hiszen ahol most a +100 cm-es vízállásnál 1,5 m mélyen áll a 3,5 m hosszú nádszál, ott +190 cm-es vízállásnál is 1,6 méter kilátszhatott belőle. 1886-tól 1991-ig ismét nagy szárazság volt, és időnként még a 0 cm alá is esett a vízállás, ami új lehetőségeket teremthetett egyes területeken a nád magról való megtelepülésére. A vízszint nagy ingadozásait azért nem tudták megfelelően ellensúlyozni, mert a Sió levezető kapacitása 1863-ban csak $10 \text{ m}^3\text{sec}^{-1}$ volt, ami csak tizede az árvizek hozamának, és a századfordulóig ezt csak megduplázták.

A 20. században folytatódott a csatorna fokozatos bővítése, így egyre jobban csillapodtak a lengések. 1917-ben volt még egy 155 cm-es maximum, egy 151 cm-es maximumot pedig 1947-ben a zsilip meghibásodása okozott. Az alsó vízállást sikerült az előírt +40 cm fölött tartani, csak 1920-1921-ben esett 0 cm alá, és az 1949-es aszály idején csökkent +23 cm-re. A csatorna levezető kapacitásának $50 \text{ m}^3\text{sec}^{-1}$ -re való további bővítésével és a szabályozás finomításával elérték, hogy a vízszint 1970-től 2000-ig már csak +70 és +110 közötti tartományban mozgott. Az alsó szabályozási szintet 1977-ben hivatalosan is +40 cm-ről +70 cm-re, a felső szabályozási szintet pedig 1995-ben +100 cm-ről +110 cm-re emelték.

A fentiekből következik, hogy 1863 előtt a Balaton mai partvonalán belül nem lehettek nádasok a magas vízállás miatt, 1865-68 között ideális körülmények voltak a magoncok megtelepedésére, 1868-tól viszont a mai nádasok vízfelőli területét folyamatosan víz borította, itt tehát magról a nád nem tudott többé szaporodni. Ezeken a területeken a klónok kb. 140 évesek lehetnek. A partközeli sáv időnként szárazra kerülhetett. Klonális növények zárt állományaiban azonban eléggé korlátozottan tartják a magról való megújulás lehetőségeit. A nád leárnyékolja a talajt. A nádas alját fedő avar gátolja, hogy a magvak a talajra hulljanak és megfelelő nedvességhez jussanak. A mégis avar alá került magvak nem kapnak fényt. Valószínű ezért, hogy a klónok nagy része itt is öreg, valamelyes génbeáramlást azonban nem lehet kizárni.

Kis-Balatonnak újabban a Kis-Balaton Vízvédelmi Rendszer területét szoktuk nevezni, amelyik a Zalaapáti és Hídvég közötti, 18 km^2 területű Felső-tározóból (=Hídvégi tó) és a Hídvég és Fenékpuszta közötti, 52 km^2 területű Alsó-tározóból (=Fenéki tó) áll. Most a Felső-tározó nyílt víz, és az Alsó -tározó jelentős részét fedi nád. Természetes állapotban ez fordítva lehetett, lejjebb volt a nyílt víztükör és feljebb a nádas. Korábban csak a Hídvég alatti részt nevezték Kis-Balatonnak. Krieger térképén ez a Balaton

mocsaras öble, a későbbi első katonai felmérés (1780-as évek) térképén viszont nyílt víz. A különbségre nem olvashatunk magyarázatot. Krieger vizsgálatakor talán kicsi volt a Zala vízhozama, és a víz felszínét úszóláp borította. Az úszólápot a későbbi üledék vizsgálatok szerint nem nád, hanem sás alkotta. A katonai felmérés idejére viszont talán egy áradás elsodorta ezeket a lebegő szigeteket. A második katonai felmérés idején, 1856-ban már lényegesen kevesebb volt a nyíltvíz, valószínűleg az 1821-1822 évi balatoni vízszintsüllyesztés hatására.. Az 1980 körüli harmadik katonai felmérés térképein még kevesebb a nyíltvíz. A nyíltvizek területét a térképek alapján először Kéz (1931) számszerűsítette, amely szerinte 1850-ben 14,21 km² 1890-ben 13,39 km² 1910-ben 2,39 km², 1931-ben 0,68 km² volt. A Balaton vízszintjének 1863-as csökkentésére a Kis-Balaton jelentős késéssel válaszolt, hiszen csak 1890 után zsugorodott nagyot a nyíltvíz. 1931-re már csak két kis tavacska maradt, a Kis-Balaton legmélyebb, Ingói-berek nevű részén lévő 0,27 km² területű Zalavári-víz, és a Zalától keletre eső , 0,41 km² területű Vörsi-víz. Ezek további alakulását már légi fényképek alapján lehetett nyomon követni (Szeglet és tsai, 1999). A nádasok további előretörése miatt a Zalavári-víz nyíltvízi területe 1951-re 10,8 ha-ra, 1881-re 5,0 ha-ra, 1996-ra 2,8 ha-ra zsugorodott. Jelenleg az Ingói-berek 16 km² területéből 10 km²-et borít nádas, a többi főként magas sásos és gyékényes (Pomogyi, 1998). Az általunk vizsgált nádasok közül a Kis-Balatoné tekinthető a legfiatalabbnak.

3. CÉLKITŰZÉSEK

Magyarország nádasai európai jelentőségűek, hiszen a Duna-delta után a Fertő-tó 200 km² területű nádas a legnagyobb, a Kis-Balaton területén 20 km²-t borít nád, melynek élővilága kiemelt természeti érték, a Balaton 12 km² területű nádasának a megvédése pedig az egyik legfontosabb környezetvédelmi feladat. A hazai nádasokat cönológiailag kitűnően feltárták, sokat tudunk azok üledékének és vizének kémiai viszonyairól, a nád morfológiájáról, növekedéséről, egyes ökofiziológiai tulajdonságairól, az eddigi genetikai vizsgálatok viszont csak kromoszóma számlálásokra korlátozódtak. A biodiverzitás fontos részét a fajon belüli genetikai diverzitás képezi, amelyről a DNS-vizsgálatokkal juthatunk a legtöbb ismerethez.

1. A Balatonban pusztult a nád. Az európai nádpusztulás során felmerült, hogy annak genetikai oka is lehet. Vízzel borított területen a nád magja nem tud csírázni, ezért idővel csökken a klonális diverzitás, ha pedig erős a klónok közötti versengés, végül monoklonális állomány alakulhat ki. Ez viszont már nem tud a külső körülmények változásához alkalmazkodni. Első célunk tehát az volt, hogy képet kapjunk a balatoni nádasok klonális diverzitásáról, így megtudjuk, összefügghet-e azzal a nádpusztulás.
2. Miután a balatoni nádas viszonylag öreg, és mégis poliklonálisnak találtuk, azoknak az állományoknak viszont, amelyre az elméletet alapozták, nem ismerték a korát, második célunk az volt, hogy ismert korú nádasok (Bódeni-tó, Osterseen, Fertő-tó, Kis-Balaton) klonális diverzitásának vizsgálatával ellenőrizzük a feltevést a monoklonalitás kialakulásáról.
3. Korábbi vizsgálatoknál vagy csak azt adták meg, hogy egy vagy több klónt találtak az egyes állományokban, vagy megtudtuk a mintavételi távolságot is, de az rendszerint 50 m körüli volt. Mivel 15 méteres mintavételi távolságot alkalmazva a Balatonnál azt találtuk, hogy a klónok zöme ennél kisebb, bevezettük a sűrű, mintázást, hogy képet kapjunk a klónok tényleges méretéről.
4. A külföldi vizsgálatoknál a klonális diverzitásra helyezték a hangsúlyt. Célul tűztük ki, hogy azt is megtudjuk, mekkora a gén diverzitás, milyen genetikai távolságra vannak az egyes klónok egymástól egy-egy állományon belül, illetve milyen különbségek mutatkoznak ebben a tekintetben a különböző tavak állományai között.
5. A nád terjedésének megismeréséhez fontos tudni, hogyan változik a populációk genetikai távolsága a földrajzi távolsággal. Az Eureed program keretében erre nem kaptak egyértelmű választ. Mi a kérdés megközelítéséhez az öt tóban azonos módszerrel vizsgált 12 populáció genetikai távolságait összehasonlítjuk a földrajzi

távolságukkal, majd 21 közép európai tóból vett egy-egy mintát elemezve nagyobb területre terjesztettük ki a vizsgálatokat.

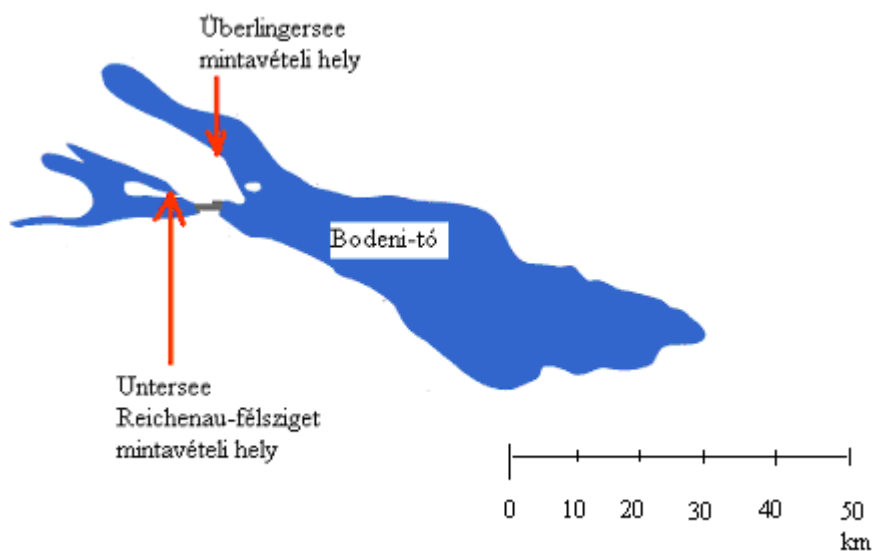
6. Az eredményeink és újabb irodalmi adatok segítségével képet próbálunk alkotni arról, hogyan terjed nagy távolságokon a nád, hogyan telepszik meg, és hogyan függhet az állományok diverzitása kialakulásuk módjától.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A mintavételi helyek leírása

4.1.1. Mintavételi helyek a Bodeni-tónál

A Bódeni-tó 536 km² felületével Közép-Európa harmadik legnagyobb tava. Szubalpin tó, melynek legnagyobb mélysége 254 m, átlagos mélysége 90 m. A nagyobbik felső és a kisebbik alsó tóból áll. A Rajna az Obersee-be ömlik, és innen folyik át az Untersee-be. Egyik mintavételi helyünk az Obersee kiágazását képező Überlinger-see partján volt, ahol a 40 m széles nádas állományban a nád 2,5-3 m magas (1. ábra). Itt a nyíltvíz felőli szegélyben a vízmélység 70 cm, a parti oldalon 0-5 cm volt. Másik mintavételi helyünk az Untersee-ben lévő Reichenau sziget partján a víz fölött 0,7-1 m magasságot elérő nádas volt. A vízfelőli szegély a parttól 30 m-re, 70 cm mély vízben volt. A parti állomány 0-10 cm mély vízben állt. Mind a vízi, mind pedig a parti oldalon 10-10 mintát gyűjtöttünk egymástól 20 m távolságban. A GPS koordináták az Untersee-nél: É:47°41'14.01", K: 9°05'24.15", Überlingersee-nél É: 47°45'02.21", K: 9°11'45.06" voltak. A mintákat 2007. június végén gyűjtöttük.

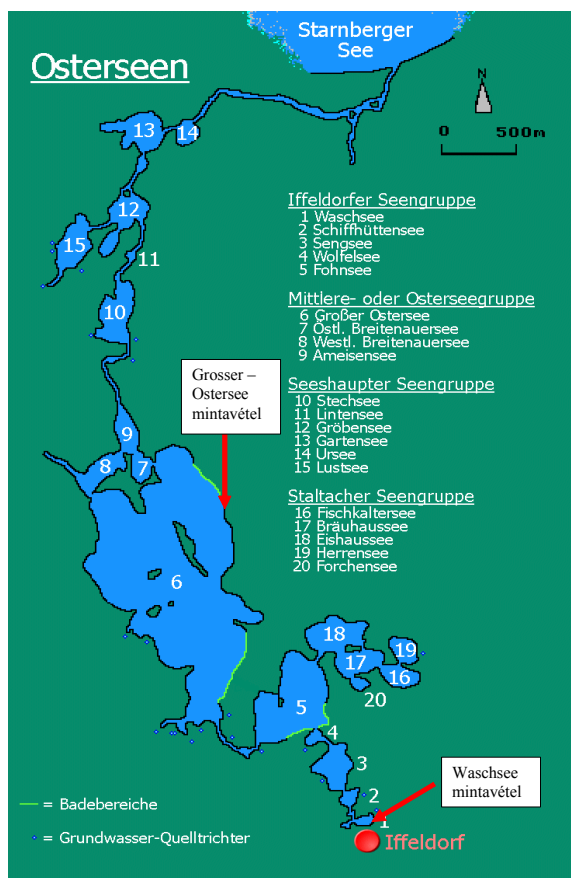


1. ábra. Mintavételi helyek a Bodeni-tónál

4.1.2. Mintavételi helyek az Osterseen tórendszerénél

Az Osterseen tórendszer Felsőbajorországban, a Starnberger tótól délre található. A 20 egymással összekötött nagyobb tavacska együttes területe 225 ha, átlagos mélységük 9 m. A tórendszeren az Ostersee-Ach folyik keresztül, melynek vízgyűjtője 5,7 km², és amely végül a Starnberger tóba torkollik. A tavakat főként talajvíz táplálja, így a vízállás kevésbé változik. A tavak állapota különböző. A Grosser Ostersee oligotróf-mezotróf. Itt a vízfelőli front a parttól 40 m-re volt, és a ritkás, a víz felett 1 m magas nád 50 cm mély vízben állt. A parti 1,5-1,7 m magas, ritkás nád 5-10 cm mély vízben állt. Az eutróf Waschsee-ben a nyíltvíz a parttól 30 m-re kezdődött, ahol a nádas 70-80 cm mélységig terjedt. A parti sávban a víz 10-20 cm mély volt, és a sűrű nád 2 m magasra nőtt (2. ábra).

A fenti négy tónál mind a vízfelőli frontról, mind a parti sávból 200 m-es szakaszon 20 méterenként 10-10 nádszálát gyűjtöttünk 2007. június utolsó hetében. A gyűjtési helyek GPS koordinátái G. Ostersee-nél É: 47°47'40,97", K: 11°18'23.03" , Waschsee-nél É: 47°46'21.41", K: 11°19'11.90" voltak.



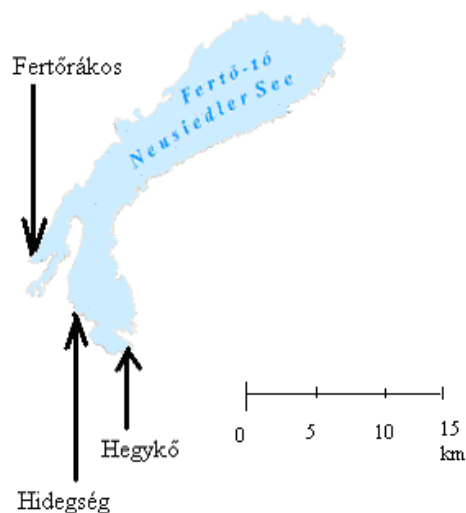
2. ábra. Mintavételi helyek az Osterseen tórendszerénél

4.1.3. Mintavételi helyek a Mondsee-nél

Ötödik tavunk az ausztriai Mondsee volt. Itt csak a parti sáv 0-10 cm mély vízében álló, 1,5 m magas zárt állományból vettünk 20 méterenként 6 összesen 6 nádmintát. A mintavételek időpontja 2007. június utolsó hete volt. A GPS koordináták É: 47°50'14.82", K: 13°21'25.03" voltak.

4.1.4. Mintavételi helyek a Fertő-tónál

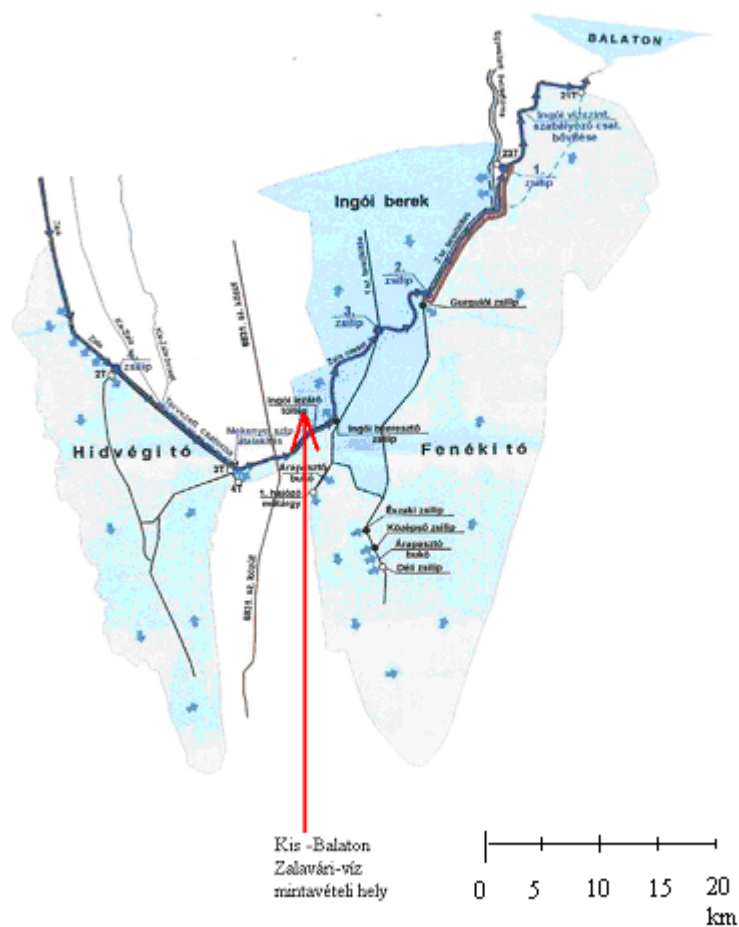
A Fertő felülete 309 km², legnagyobb mélysége mindössze 1,8 m, átlagos mélysége 0,5-0,8 m. Területének nagy részét nádas borítja. A Fertő-Hanság Nemzeti Park területén három település melletti nádas vizsgáltunk (3. ábra). A vízfelőli és a partfelőli sáv közötti távolság Fertőrákosnál 3 km, Hidegségnél 5,2 km, Hegykőnél 4,5 km volt. A víz felőli nádas ép, tömött, sötétzöld színű volt, csak a Hidegség melletti állomány mutatott babásodást. Magassága 2-3 m között változott. A part felőli nádas ritkásabb, világosabb színű, átlagosan 1-1,5 m magas volt. Mind a három nádasban a víz felőli fronton és a part felől 10- 10 mintát vettünk egymástól 20 m távolságban. A mintákat 2007. július elején gyűjtöttük. A GPS koordináták a minták gyűjtési helyénél, Fertőrákosnál: É: 47°42'33.96", K: 16°41'34.58" , Hidegségnél É: 47°40'06.16", K: 16°44'41.43" , Hegykőnél É: 47°39'29.55", K: 16°48'13.84" voltak.



3. ábra. Mintavételi helyek a Fertő-tónál

4.1.5. Mintavételi helyek a Kis-Balatonnál

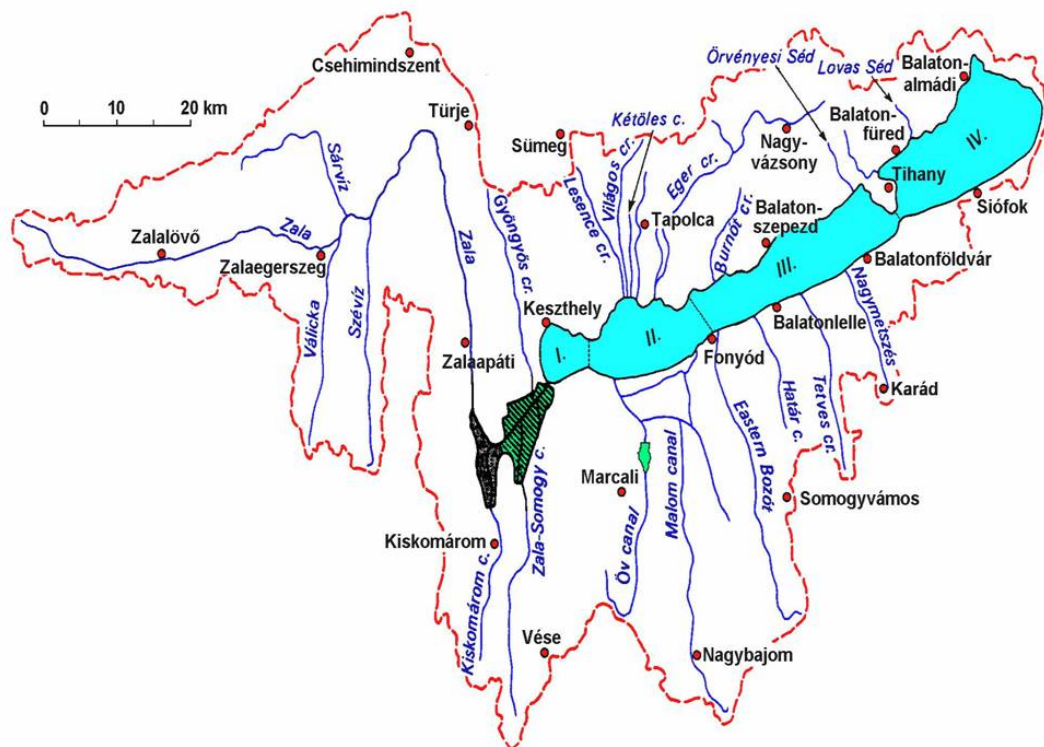
Kis-Balatonnak a Zala mostani torkolata fölötti medencét nevezik, amelynek a Fenékpusztától Hídvégig terjedő szakasza (Alsó-tározó vagy Fenéki tó) korábban a Balaton vízzel borított öble volt. A Balaton vízszintjének csökkentése és a csatornázások hatására a terület egy része szárazra került, más részét csak sekély víz borítja. Az 52 km² összterület kb. fele nádas, amelyben csak kis területeken van szabad víztükör. Ilyen a Zalavári-víz (4. ábra). Ebben a nádas nyíltvíz felőli szegélyén 80-90 cm mély volt a víz, Az ettől 500 méterre levő, 10-20 cm mély sávot tekintettük parti nádasnak. A nád 2,5-3 méter magasra nőtt. A víz felőli nádas ép és tömött volt, a part felőli, lápos, mocsaras területen álló ritkásabb, és más növények is vegyültek belé. A Zalavári víz egy nádasában a vízi és a parti oldalon 5 m-ként vettünk 30-30 mintát. Gyűjtési időpontunk 2007 május vége volt. A GPS koordináták É: 46°38'46.68", K: 17°11'24.10" voltak.



4. ábra. Mintavételi hely a Kis-Balatonnál

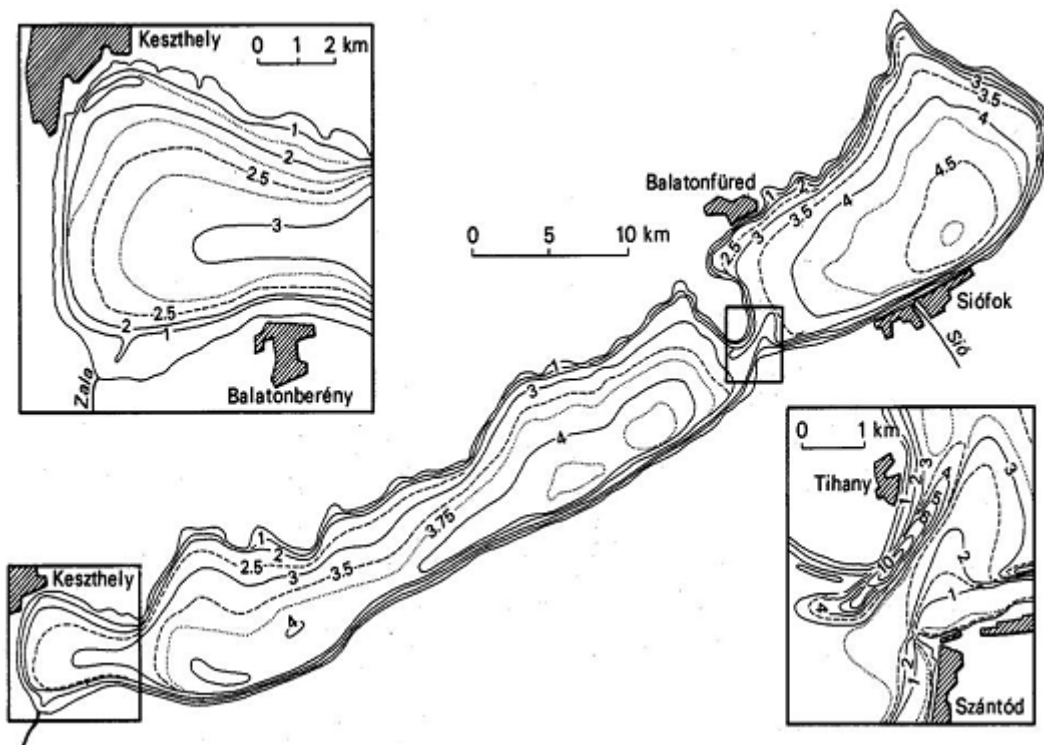
4.1.6. Mintavételi helyek a Balatonnál

A Balaton 594 km felületével Közép-Európa legnagyobb tava, egyben az egyik leglátogatottabb üdülőtó is, melynek partján csúcsidőben akár egy millió ember is tartózkodik. A tó négy medencéből áll (5. ábra).



5. ábra. A Balaton, a Kis-Balaton és vízgyűjtő területe

Az elsőbe torkollik a Zala folyó, a negyedikből a Sió csatorna vezeti le a vizet. A tó nagy felületéhez képest igen sekély (6. ábra).



6. ábra. A Balaton mélységvonalas térképe

Átlagos mélysége csak 3,5 m. A fő szél északnyugatról fúj, és a nádasok zöme az északi parton alakult ki, a déli part főként homokos strand. A tó 240 km partvonalából 110 km-t övez nádas, ennek összes területe 12 km², tehát a nádasok átlagos szélessége mintegy 100 méter, az északi part nagy öbleiben azonban több száz méter széles állományok is vannak. A nád általában 1,5 méter mélyen hatol a tóba, az északi part néhány területén azonban 2 méter mélyen is megtalálható. A déli, lassan mélyülő parton viszont 1 méternél nem jut mélyebbre. A balatoni nád erős, magassága a 4 métert közelíti (7. ábra).



7. ábra. Egy ép nádas a Balatonnál



8. ábra. Egy pusztuló (babásodó) nádas a Balatonnál

A különböző helyről vett minták citogenetikai vizsgálata során a balatoni nád mindenütt tetraploidnak bizonyult. A nádpusztulás az 1970-es évek végén kezdődött, és csak az északi parton jelentkezett (8. ábra).

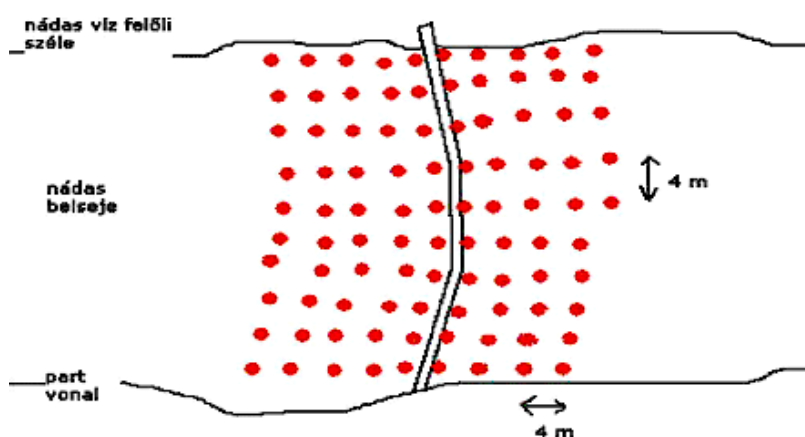
A homogén állományok vízfelőli szegélye megbomlott, és elkezdett babásodni. A folyamat 2000 után megfordult, valószínűleg egy nagy aszály okozta vízállás csökkenésének hatására.

A nádasok nagyobbik része a szélvédett északi parton, annak is különösen az öbleiben nő, a déli, hullámverte, homokos partnak csak Fonyódtól nyugatra lévő részein van nagy nádas.

A vízmélység hatásának vizsgálatához a Kerekedi öböl ép és pusztuló nádasából és Balatonmáriafürdő nádasából vettünk mintákat a partvonallal párhuzamosan, a szárazföldről, a sekély vízből, a mély vízből és a nyílt víz felőli élről. Minden sávból 10 db, egymástól 15 méterre lévő nádszalat gyűjtöttünk. A GPS koordináták a mintagyűjtési helyen a Kerekedi-öböl ép részénél É: 46°58'02.96", K: 17°55'16.68", a pusztuló részénél É: 46°57'51.76", K: 17°54'59.31", Balatonmáriafürdőnél É: 46°42'20.20", K: 17°23'13.68" voltak.

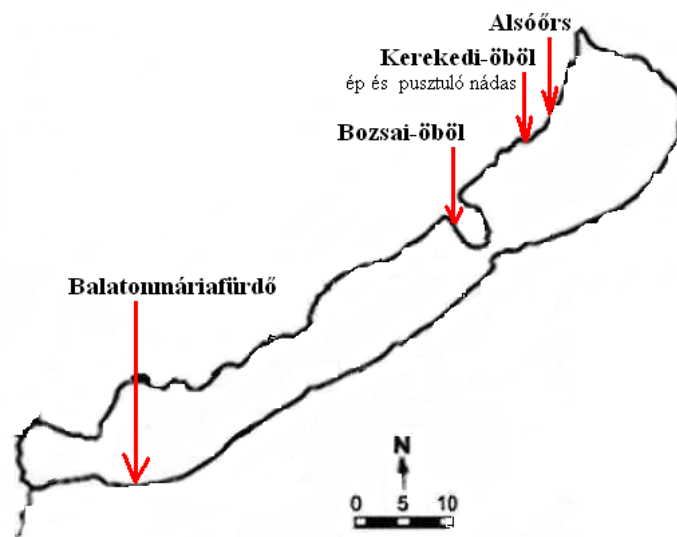
Az északi parton a Kerekedi-öböl 240 m széles nádasából vettünk mintát, amely 1,1 m mélyre hatolt a tóba. A déli parton Balatonmáriafürdőnél 156 m széles állományból vettünk mintákat, amely 0.9 m mélységig terjedt. A parti minták a szárazon álltak, közvetlenül a víz határán. Mindkét állomány ép volt, bennük a nád víz fölötti magassága 2,5 m-t ért el. A víz felőli front és a mély vízi sáv illetve a sekély vízi sáv és a szárazföldi között a távolság egyaránt 16 m volt. A mintákat 2005. augusztus végén gyűjtöttük.

Alsóörsön 40 m x 40 m-es területet jelöltünk ki a nádasban, és ebből 4 m x 4 m sűrűségű rács szerint vettük a mintákat (9. ábra). 5 helyen nem volt nád, így összesen 95 db mintát vizsgáltunk. A mintákat 2006 szeptember közepén gyűjtöttük.



9. ábra. Mintavételi hely Alsóörsnél

A Bozsai öbölben és Alsóórs egy másik állományában a víz felőli fronton és a part felőli szegélyen vettünk 30- 30 mintát egymástól 5 m távolságban (10. ábra). Ezen a két helyen 2008. július elején gyűjtöttük a mintákat. A minták gyűjtési helyén a GPS koordináták Bozsai-öbölnél É: 46°54'54.28", K: 17°50'52.75", Alsóórsnál É: 46°58'45.13", K: 17°58'11.07" voltak.



10. ábra. Mintavételi helyek a Balatonnál

4.1.7. Mintavételi helyek a Kárpát medence néhány pontján

A Kárpát medence néhány helyén, Fertőrákoson, Kárpátalján, Erdély néhány pontján (Csíkrákos, Medve-tó), Romániában a Duna-deltában, dél-nyugat Magyarországon, Tamásiban, a Velencei-tóban, Tatán, a Hortobágyon és az Őrségben gyűjtöttünk néhány nád szálát egy- egy rametből (11. ábra).

Hortobágyon a Hortobágyi 9 lyukú híd mellett (GPS É: 47°32'48.57", K: 21°08'57.87"), száraz területről vettünk mintákat, egy csomóból, egymástól kb fél méterre. Alacsony, ritkás, vékony szálú nádas. Száraz területen gyűjtöttük 2006. májusában.

A Velencei-tóban Velence település strandján, a Velencei-tó partján vettük a mintákat (GPS É: 47°14'11,12", K: 18°38'46.45"), egy sávban, egymástól kb fél méterre. A nádas itt kb 10 cm mély víz borította. A nádas keskeny sávban volt. Magas, tömött, vastag szálú nádas. Gyűjtési időpontunk 2006. június volt.

Tatán a Tatai-tó partján (GPS É: 47°38'12.01", K: 18°20'16.17"), már száraz részen vettük a mintákat egy sávban, egymástól kb fél méterre. A terület nehezen megközelíthető,

a tó környékén ritka a nádas. Erdős, lápos bozótoson kellett áthatni a nádasig. Alacsony, ritkás, vékony szálú nádas. Száraz területről gyűjtöttük 2006. júniusban.

A Fertő-tó Rákospatak torkolatánál vettük a mintákat a parton (GPS É: 47°42'35.43", K: 16°41'57.72"), egy sávban, egymástól kb fél méterre. A nádas itt kb 20 cm-es víz borította. Alacsony, sűrű, sötétzöld, közepesen vastag szálú nádas. 0-10 cm-es vízborítottság. Gyűjtési időpontunk 2006. július volt.

Tamásiban a Miklós-vári halastó partján vettük a mintákat (GPS É: 46°36'56.05", K: 18°16'39.98"), itt a nádas kb 10 cm víz borította. A tó kb 6000 m² területű, egyik oldalán van csak nádas. A mintákat a parton, egy sávban, egymástól kb 1 m-re vettük. Közepesen magas, tömött, vastag szálú, sötét zöld nádas. 10-20 cm-es vízborítottság. A mintákat 2006. júliusban gyűjtöttük.

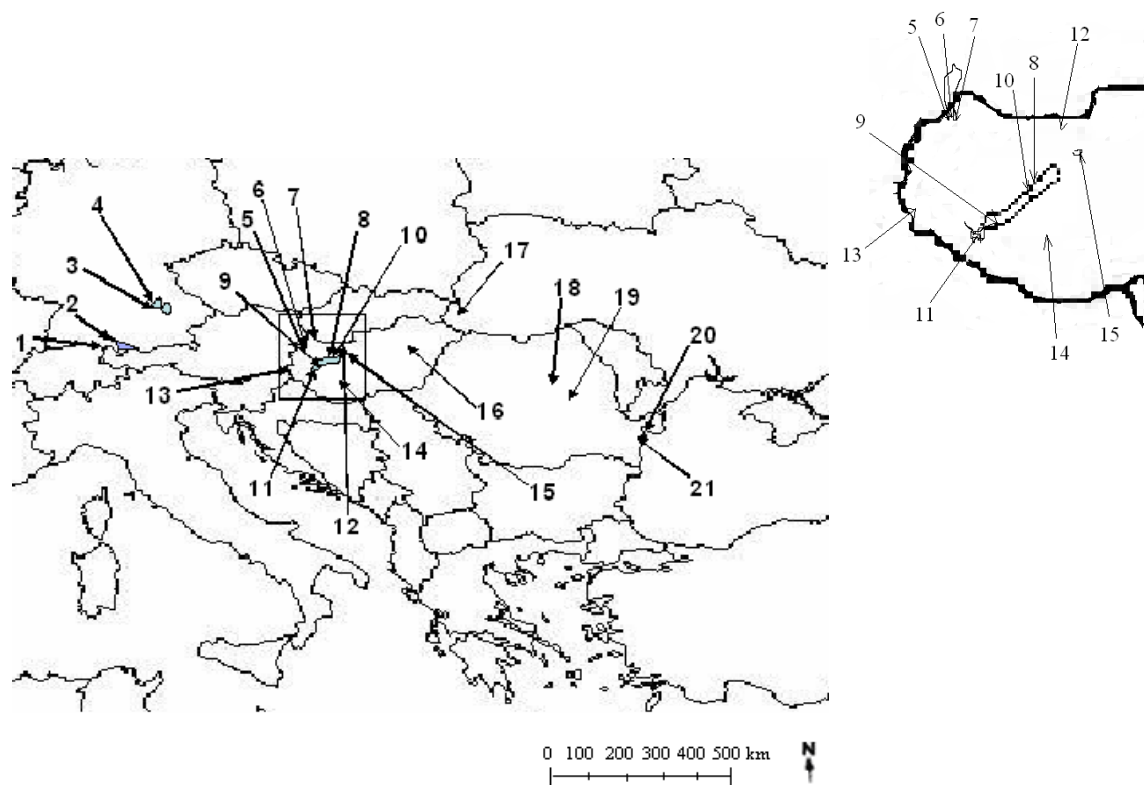
Kárpátalján Szolyva település mellett, Munkácsról Lenbergbe vezető főútvonal szélén vettük a mintákat (GPS É: 48°31'46.56", K: 22°46'33.42"). Mocsaras területen nőtt a nádas, egy csomóban. Máshol nem láttunk nádasokat, viszont a gyékényes elterjedt. A víz ezen a részen a hegyekből lezúduló csapadék. Közepesen magas, ritkás, közepesen vastag szálú nádas. 0-10 cm-es vízmélység. Egy csomóban, egymástól kb fél méterre szedtük a mintákat 2006. júliusban.

Az Órségben a Vadása-tó partján (GPS É: 46°56'03.53", K: 16°18'37.17"), már száraz területen vettük a mintákat. A tó kb 1000 m² területű. Kevés, kis méretű nádas van itt. Pici, vékony nádak, elvéve. 0-10 cm-es vízmélység. A mintákat egy sávban, egymástól 1-2 m távolságban vettük 2006. októberében.

Erdélyben Csíkrákos községben, az árok szélén (GPS É:46°27'13.94", K: 25°45'53.31") száraz területen vettük a mintákat egy csomóban, közvetlenül egymás mellett vettük a mintákat egy csomóban, ezen a területen ritkán fordult elő nádas. Pici, vékony, világos zöld színű nádak. A Medve-tó (GPS É: 46°36'22.30", K: 25°05'24.53") Kb. 1000 m² területű, fürdésre alkalmas tó. A nád mintákat a parton, víz borította területen vettük. Az évszakhoz képest kis méretű, zsenge nádszálak voltak. Pici, vékony, sötét zöld nádak. 20-30 cm-es vízmélység. A mintákat egy sávban, egymástól 1-2 m-re vettük 2004. júliusban.

Romániában a Duna-deltában víz borította területen (GPS É: 44°51'15.99", K: 29°36'23.90") mintát vettünk nagy méretű, kb 7-8 m magas, vastag szárú nádból illetve kisebb, 2-3 m-es nádasból is. 100-120 cm-es víz mélység. Gyűjtési időpontunk 2004. augusztusában volt.

Minden mintavételnél GPS készüléket használtunk, az adott pont koordinátáját rögzítettük. A nádasok mintavételi pontjait néhány helyen egyéb módon is megjelöltük a Balaton esetében.



11. ábra. Mintavételi helyek Közép-Európában

1. Untersee; 2. Überligersee; 3. Grosser Ostersee; 4. Waschsee; 5. Fertőrákos; 6. Hidegség;
 7. Hegykő; 8. Kerekedi-öböl; 9. Balatonmáriafürdő; 10. Bozsai-öböl; 11. Zalavári-víz; 12.
 Tatai-tó; 13. Öregség; 14. Tamási halastó; 15. Velencei-tó; 16. Hortobágy; 17. Solyva; 18.
 Medve-tó; 19. Csíkrákos; 20. (Duna-delta (octoploid)); 21. Duna-delta (tetraploid).

4.2. A minták feldolgozása a PCR-RAPD módszerrel

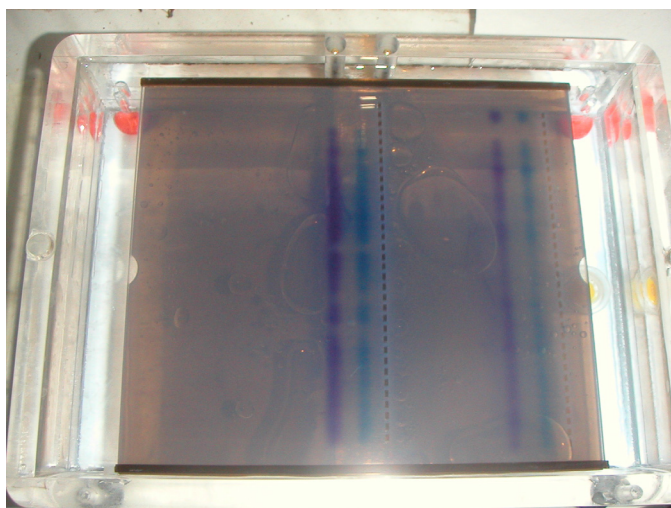
4.2.1. A minták izolálása

A nádszál osztódó hajtáscsúcsából vontuk ki a DNS-t, a nád felső részét levágva nedves papírba csomagoltuk és a laboratóriumba szállítottuk, majd az osztódó hajtáscsúcs belső részéből 100 mg-ot kimértünk és számozott eppendorf-csövekben a feldolgozásig fagyasztóba tettük. Erre a -80°C -os mélyhűtőt használtuk.

Feldolgozás során az első lépés a DNS kinyerése a növényből. Ezt izoláló KIT-el (Qiagen DNA Plant Mini KIT) tettük. A protokollt követve kinyertük a tiszta, tömény DNS-t.

4.2.2. A DNS extrakció ellenőrzése gélelektroforézissel

Az izolátum DNS tartalmát gél elektroforézissel ellenőriztük (12. ábra). Egy utas spektrofotométerrel (Cecil CE 1020) 260 nm-en, tiszta TE puffer referenciával szemben mértük az abszorbáciát. A kinyert DNS koncentrációja 30-50 ng/ μl volt.



12. ábra. A minták vizsgálata gélelektroforézissel- horizontális gélelektroforézis kádban

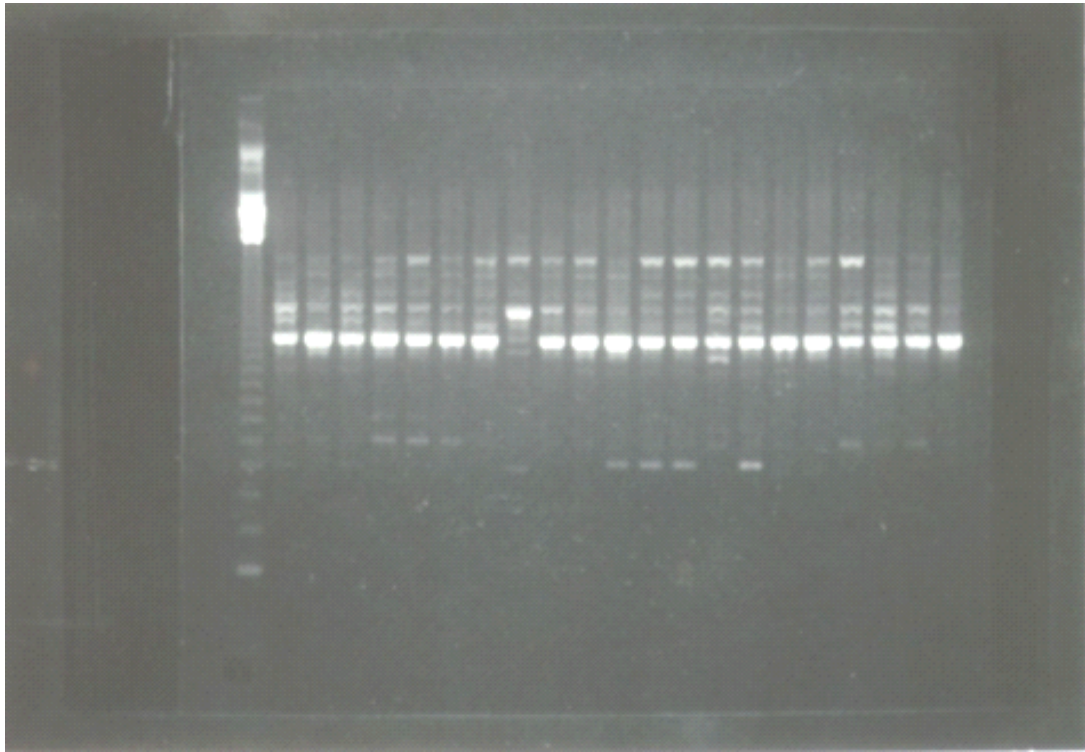
4.2.3. PCR amplifikálás

Minden DNS mintából 4 µl-t hígítás nélkül összekevertük a PCR reakcióhoz szükséges vegyszerekkel és amplifikálási reakciót végeztünk vele PCR Applied Biosystems 2720 Thermocycler készülékkel.

A PCR reakció elegy komponensei a 10-szeres enzim puffer, mely 2 mM Mg-sót tartalmazott, 0,75 mM dNTP, mely azonos mennyiségben tartalmazta a dATP, dCTP, dGTP, és a dTTP-t, 0,4 mM primert és 0,8 Unit Sigma Taq polimerase enzimet. A DNS mennyisége a reakcióelegyben körülbelül 50 ng/µl volt. Az elegyet sterilizált ultra tiszta vízzel egészítettük ki 25 µl térfogatra. Különböző primereknél más-más hőmérsékleti profilt alkalmaztunk, ezt az 1. táblázat mutatja.

4.2.4. A DNS amplifikátumok elválasztása gélelektroforézissel

Az amplifikációs terméket ismét horizontális gélelektroforézissel vizsgáltuk, a fragmentumokat az elektroforézis kádban elektromos feszültség hatására választottuk szét. Az agaróz gélen, egy hálós szerkezetű polimeren elektromos feszültség hatására vándoroltattuk a DNS-t, ez által a fragmentumokat szétválasztottuk méret különbségük alapján. Az agaróz gél készítése során 1,5 g agaróz port oldottunk fel 150 ml 1%-os TBE pufferben, négyszer fölforraltuk az oldatot, majd miután kihűlt, hozzáadtunk 2 µl tömény etidium-bromidot. Ezt géltálcába öntöttük, amihez fésűt rögzítettünk, ebben a gél lassan kihűlt és közben megszilárdult. Minden mintából 18 µl mennyiséget felvittünk a gél zsebeibe, a kék színű LB puffer festékkel megfestve (2 µl-t hozzáadva minden mintához). A minták mellett azokkal egyszerre futtattunk 11 µl mennyiségben sztenderdként funkcionáló 123 bp-os DNS létrát, vagyis ismert méretű DNS fragmentumokat tartalmazó sztenderdet használtunk, ennek segítségével hasonlítottuk össze a különböző géleken futtatott minták fragmentumait. Egy gélen egyszerre 30 mintát futtattunk. A gélelektroforézis kádban 150 V feszültségkülönbséggel futtattuk a mintákat 1 óra 20 percig. Ezt követően a gélt a szétválasztott fragmentumokkal UV fényel átvilágítva polaroid kamerával lefotóztuk, majd a kapott ujjlenyomat képet kiértékeltek. Mi a 200 – 1200 bp közötti mérettartományban kaptunk fragmentumokat. Minden egyes gélelektroforézis vizsgálat eredményeként kapott ujjlenyomat képnél (13. ábra) ugyanazokat a méret-markereket figyelembe véve excel táblázatba írtuk be a bináris adatokat. Amelyik mintánál egyértelműen volt sáv, 1-et, ahol egyértelműen nem volt sáv, ott 0-át írtunk.



13. ábra: Az Operon F13-as primerrel amplifikált termék gélelektroforézis után kapott ujjlenyomat képe bal oldalon a 123 bp-os sztenderddel

4.3. Adatelemzés

A sztenderd DNS létra segítségével választottuk ki mindig ugyanazokat a markereket a gélképen. Az így kiválasztott variábilis, reprodukálható markerekre számítottuk ki a minták közötti hasonlósági együtthatókat számítógépes programmal. Minden esetben 43 variábilis, megbízható markert vettünk figyelembe. Az ezekkel számított Nei-féle távolságmátrix alapján a PopGen 1,32 programmal csoportátlag (UPGMA) dendrogramokat szerkesztettünk.

Az izolált mintákon kétszer végeztük el a PCR amplifikálás reakciót és a termékek gélelektroforetikus vizsgálatát, azon mintákat, melyek csak két vagy három markerben tértek el egymástól a gél képen, háromszor. A többszörös futtatás eredményeképp kapott gél képeket vizsgálva csak azokat a markereket vettük figyelembe, melyeknél mindegyik képen egyértelműen megállapítható volt a fragmentumok jelenléte vagy hiánya. A különböző időben végzett gélelektroforetikus vizsgálatok során a gélre minden esetben felvittünk egy korábbi gélen futtatott mintát is, hogy a különböző kísérletek összevethetőek legyenek egymással. Ilyen módon ellenőriztük a módszer megbízhatóságát.

A Popgen 1.32 programmal ([Http://www.ualberta.ca/~fyeh](http://www.ualberta.ca/~fyeh)) (Department of Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, Canada T6G 2H1) az adatokból kiszámítottuk a Nei és Lee (1979) szerinti genetikai hasonlósági együtthatókat, és azok alapján megrajzoltuk az UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages*) dendrogramokat. Amikor az egyes minták között számoltatunk a Popgene 1.32 programmal összefüggéseket, dendrogramot, a bemeneti file-ban a minták bináris adatait egymástól elválasztva, külön névvel adjuk meg. Ugyancsak a Popgene 1.32 programmal számítottuk ki az egyes minták közötti genetikai távolságokat, amelyeket azután összevetettünk a földrajzi távolságokkal. A genetikai távolságot, D-t a program Nei és Li (1979) szerint számolja:

$$D = -\ln I$$

$$I = c (a \times b)^{-1/2}$$

Ahol I a genetikai identitás, a a markerek száma az egyik, b a markerek száma a másik mintában, c pedig az összes markerek száma.

A csoportátlag UPGMA dendogramot egy külön rajzoló programmal, a PhyloDraw 0.82-es programmal rajzoltattunk meg. Az UPGMA dendogram alapján a mintavételi helyek szerint klóntérképet készítettünk minden állományról.

A Popgen 1.32-es program segítségével az állományokra kiszámoltuk az átlagos Shannon indexet,

az átlagos Shannon Index képlete: $H = -\sum p_i \ln 2 p_i$

p_i : i -edik marker frekvenciája (Lewontin, 1972), valamint az átlagos gén diverzitást, a következő képlettel:

$$h = \frac{1}{k} \sum_{s=1}^k [1 - q_s^2 - (1 - q_s)^2]$$

Ahol az átlagos gén diverzitás (h) egy lókuszra (Nei, 1973), valamint q_s a gén frekvencia.

A Popgen 1.32-es program populációk között is számol összefüggéseket, statisztikát, UPGMA dendrogramot. A bementi file-ban ekkor az egy populációba tartozó minták bináris adatait közvetlenül egymás alatt, egy közös névvel kell megadni.

A Mantel-tesztet a zt version 1.0 programmal számítottuk ki (Eric Bonnet 2001-2002). Az r érték a korrelációs koefficiens, ez adja meg az összefüggést a két adatsor között ha 1 akkor teljes a korreláció, ha nulla akkor egyáltalán nincs összefüggés a két adatsor között.

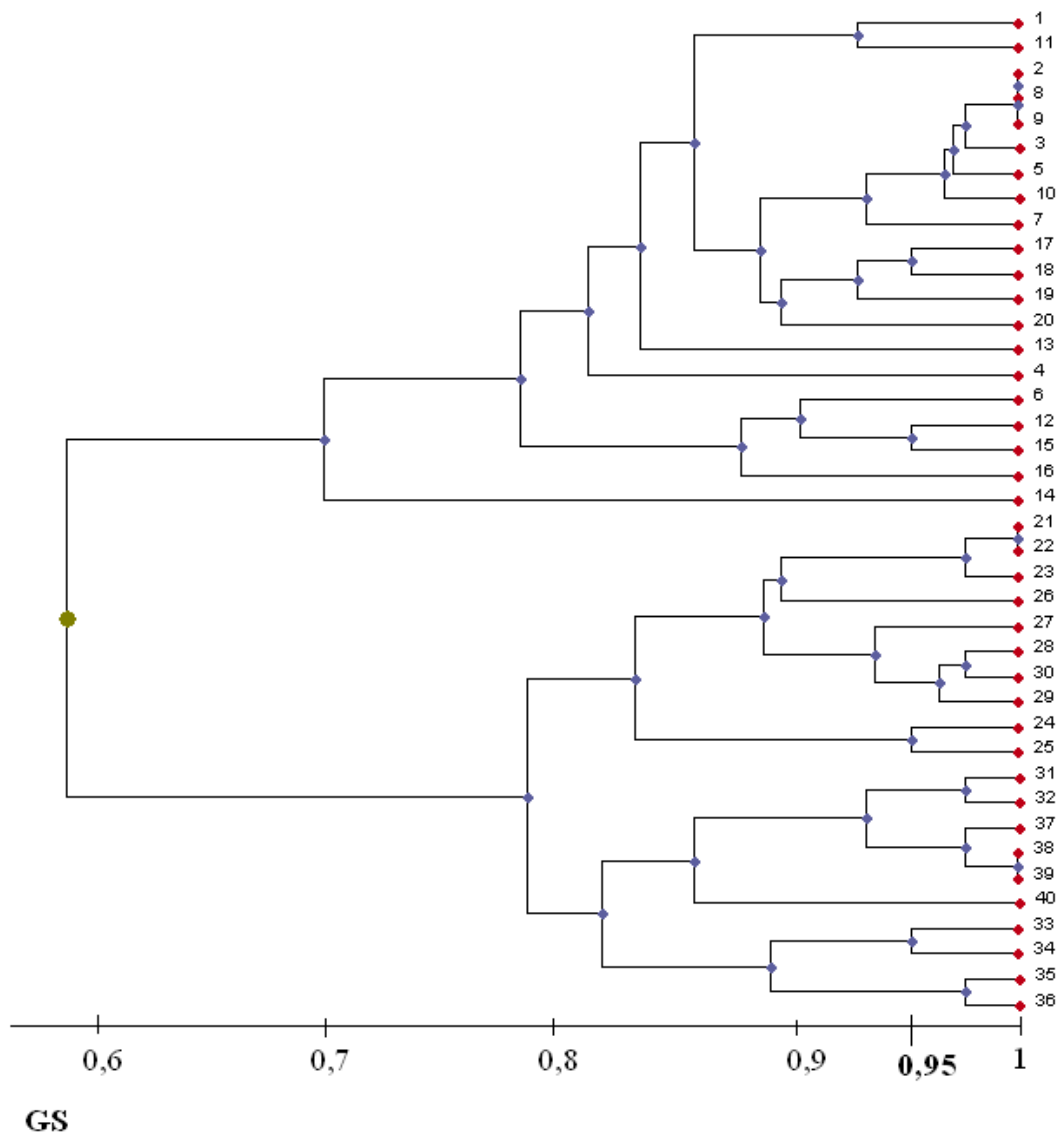
A p érték a szignifikancia szintet mutatja. Általában úgy értelmezzük hogy ha ez az érték 0,05 alatti akkor 5% alatti az esélye annak, hogy az összevetett két adatmátrix különbözik.

5. EREDMÉNYEK

5.1. A klonális diverzitás összehasonítása különböző tavak nádasaiban

Összesen 5 primerrel dolgozva 51 markert találtunk, ezek közül 43 bizonyult variabilisnak és megbízhatónak. Ebből a (GACA)₄-nél 9 db, az M13-nál 10 db, és a (GATA)₄ -nél 9db markert, a B01-nél 8 db és a B11-nél pedig 7 db markert vettünk figyelembe.

A Bodeni tó nádasainak dendrogramján (14. ábra) világosan elkülönül az Untersee-ben lévő reichenai nádas az Überlinger-see nádasától. Mindkét állomány nádszála 0,8 szimilaritásnál kapcsolódnak össze egy reichenai nádszál kivételével, a két állomány pedig 0,58-nál találkozik. Az Überlinger-see állományánál szétválnak a vízi és a parti oldal nád mintái, a reichenai nádasnál ez nem figyelhető meg. A reichenai nádas vízfelőli oldalán vett 10 mintából 6 egymáshoz 0,95-nél nagyobb hasonlóságot mutatott, ezek tehát egy klónt alkothatnak. A klónba két helyen más klón tagjai is benyomultak, így két szélső tagja egymástól 160 m távolságra van. A valóságban a klón ennél nagyobb is lehet, hiszen folytatódhat a vizsgált szakasz határán kívül is. A parti oldalon kétszer mutatott 2 minta 0,95-ös hasonlóságot, így a reichenai állomány parti sávjában a 10 minta 5 klónt, a partiban 8 klónt alkotott (15. ábra). Az überlingeni nádas vízfelőli oldalán 3, 2 majd ismét 3 minta mutatott nagy hasonlóságot, a part felőlben pedig négyszer kettő, így a 10 minta a vízi oldalon 5, a partin 6 klónhoz tartozik (15. ábra).



14. ábra. A Bodeni-tó két nádasában gyűjtött minták Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

1-10: Untersee vízi oldal

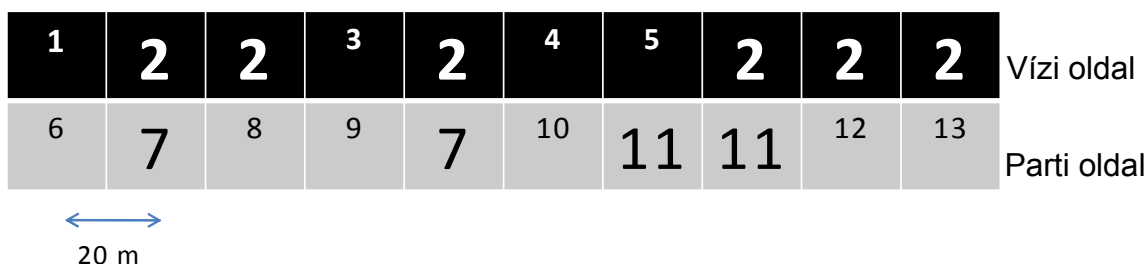
11-20: Untersee parti oldal

21-30: Überlingersee vízi oldal

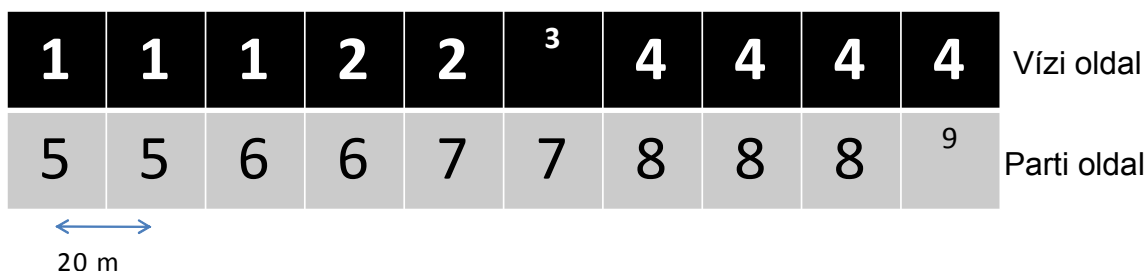
31-40: Überlingersee parti oldal

GS: Genetikai szimilaritás

Unterseen

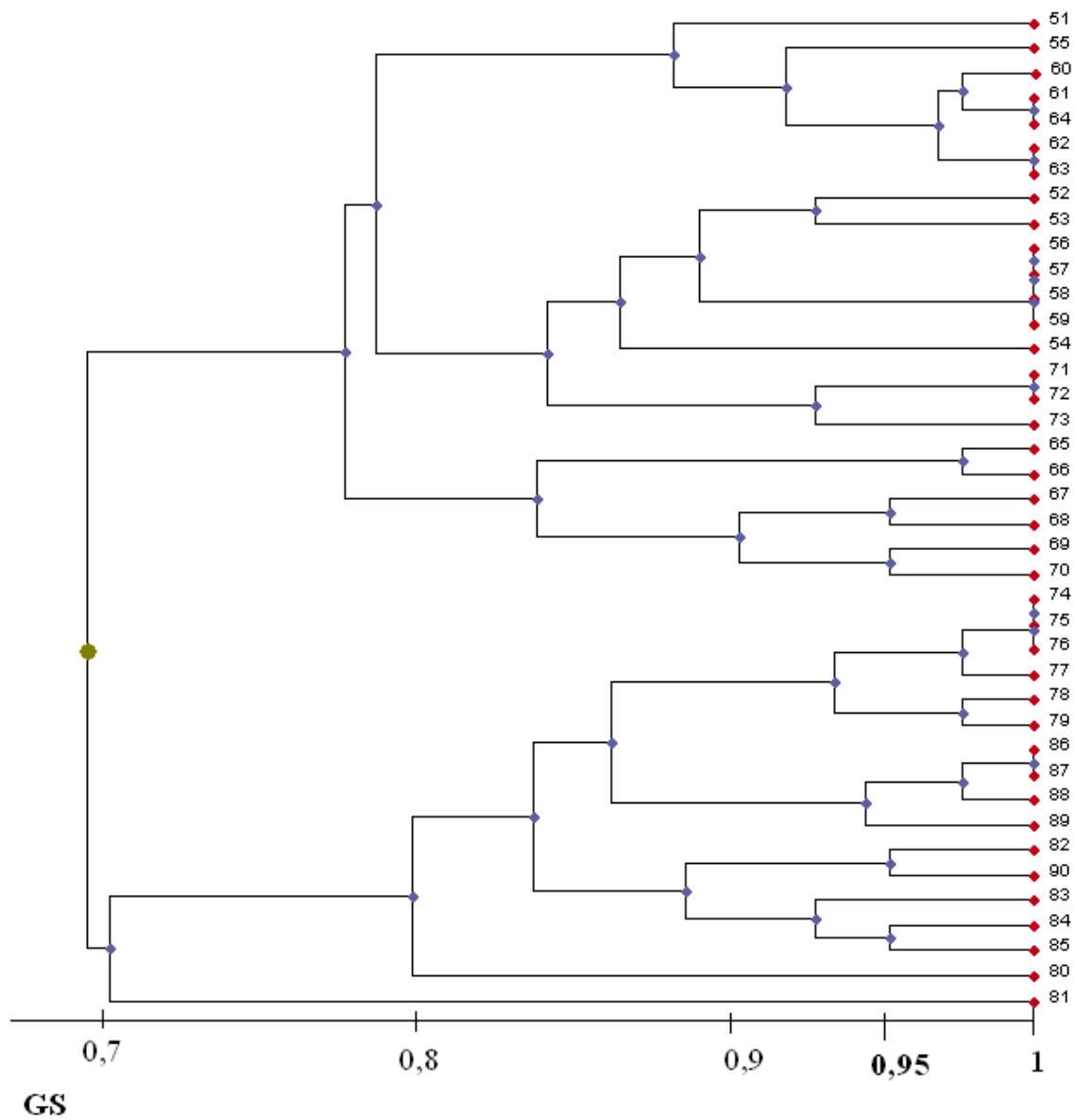


Überlinger-see



15. ábra. A Bódeni-tó két nádasában gyűjtött minták klóntérképei
Azonos számok azonos klónt jelölnek, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl

Az Osterseen dendrogramjában (16. ábra) két klaszter különül el. Az ágak mindkettőben 0,8 hasonlóság körül találkoznak, míg a két csomó 0,7 körül egyesül. Az egyik klaszterben kizárólag a Waschsee nádszájai vannak, a másikat az Grosser Ostersee mintái alkotják, de ide került a Waschsee-ből is három nádszál. A két állomány tehát kissé hasonlóbb, mint a Bódeni tó esetében, és némi átlépés is van a két állomány mintái között. A Grosser Ostersee nádasának vízfelőli oldalán egy négytagú a part felőlin egy négytagú, és két kéttagú klónt találtunk (17. ábra), a víz felől tehát 7, a part felől 5 klónba tartozott a 10-10 minta. Ez az egyetlen hely, ahol a parti oldalon volt a kisebb klonális diverzitás. A Waschsee esetében a vízfelőli sávban két kéttagú és egy háromtagú, a part felőlben két kéttagú klón mutatkozott (17. ábra), az előbbiben tehát 6, az utóbbiban 8 klón volt.



16. ábra. Az Osterseen tórendszer két nádasában gyűjtött minták Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

51-60: Grosser Ostersee vízi oldal

61-70: Grosser Ostersee parti oldal

71-80: Waschsee vízi oldal

81-90: Waschsee parti oldal

GS: Genetikai szimilitás

Großer-Ostersee

1	2	3	4	5	6	6	6	6	7	Vízi oldal
8	8	8	8	9	9	10	10	11	12	Parti oldal

←→
20 m

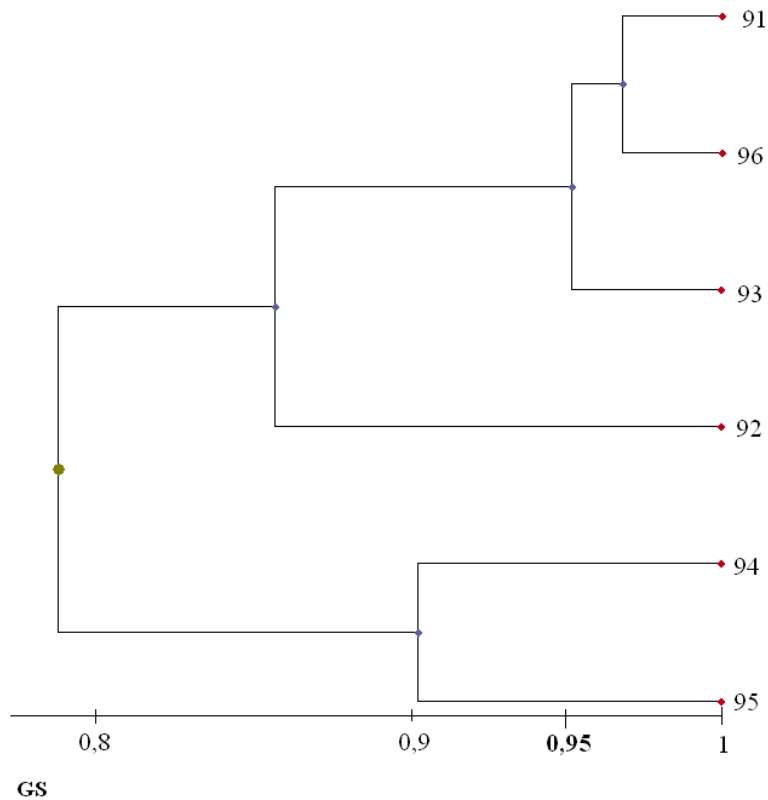
Waschsee

1	1	2	3	3	3	4	5	5	6	Vízi oldal
7	8	9	10	10	11	11	12	13	14	Parti oldal

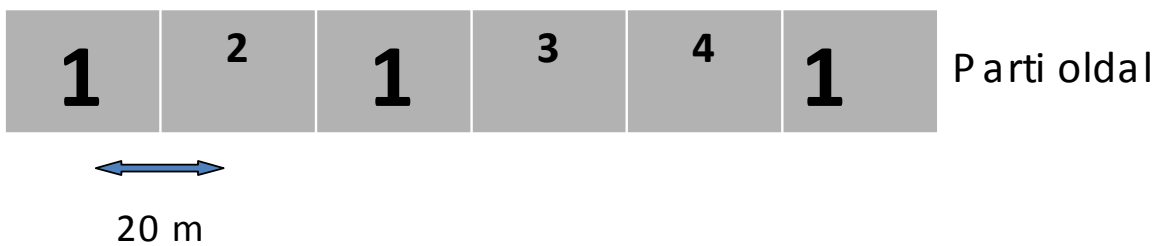
←→
20 m

17. ábra. Az Osterseen tórendszer két nádasában gyűjtött minták klóntérképei
Azonos számok azonos klónt jelölnek, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl

A Mondsee esetében csak a parton tudunk hat mintát venni. Ennek az állománynak a tagjai is a fentiekhez hasonlóan a 0,8 genetikai szimilaritásnál kapcsolódtak össze. (18. ábra) A hatból 3 minta kapcsolódott egy klónhoz, de ez magába foglalta a két szélső mintát, tehát a klón legalább 100 m hosszú (19. ábra).



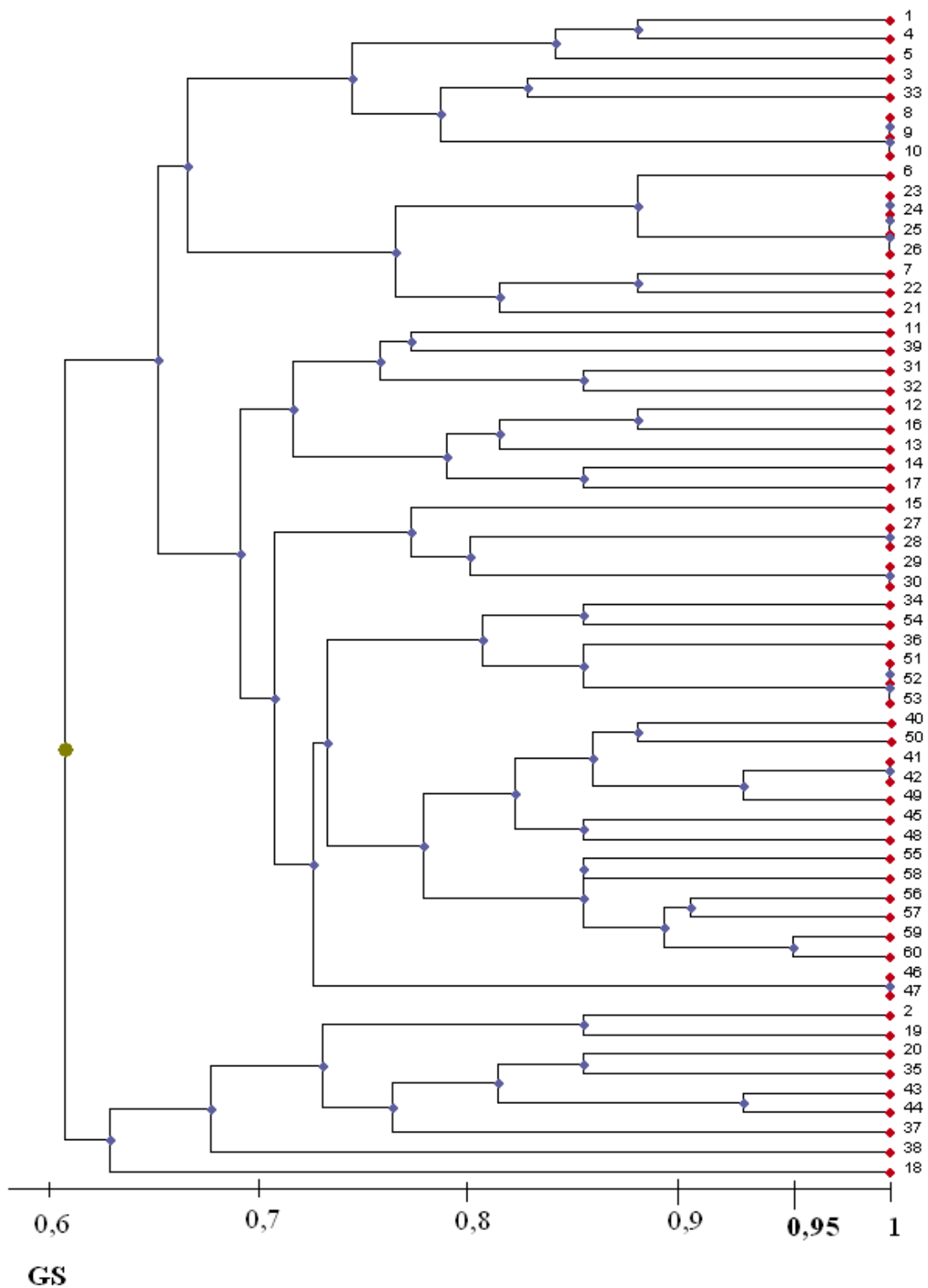
18. ábra. A Mondsee parti nádasában gyűjtött minták Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja
GS: Genetikai szimilaritás



19. ábra. A Mondsee parti nádasában gyűjtött minták klóntérképei
Azonos számok azonos klónt jelölnek, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl

A Fertő tó három állományának vízfelőli és parti sávjából vett összesen 60 minta dendrogramja (20. ábra) a fentiekől nagyon eltérő képet mutat. A dendrogram minden ága a Bódeni-tóhoz hasonlóan 0,6 körül kapcsolódik össze, viszont egyik állomány tagjai sem tartoznak mind egyetlen klaszterhez 0,7-nél nagyobb szimilaritás mellett. A három állomány vízi és parti tagjai genetikai hasonlóságuk mértékében erősen keverednek.

Fertőrákoson (21. ábra) a vízfelőli oldalon egy 3 tagú klónt találtunk, a 10 minta összesen 8 klónt alkotott. A parti oldalon mind a 10 minta külön genotípust mutatott. Hidegségnél (21. ábra) a víz felől egy 4 tagú és két 2 tagú klón mutatkozott, összesen tehát 5 klón volt, a parti sávban viszont itt is 10. Hegykőnél (21. ábra) a víz felől két 2 tagú, a part felől egy 3 tagú klónt észleltünk, azaz mindkét sávban 8 klónt találtuk.

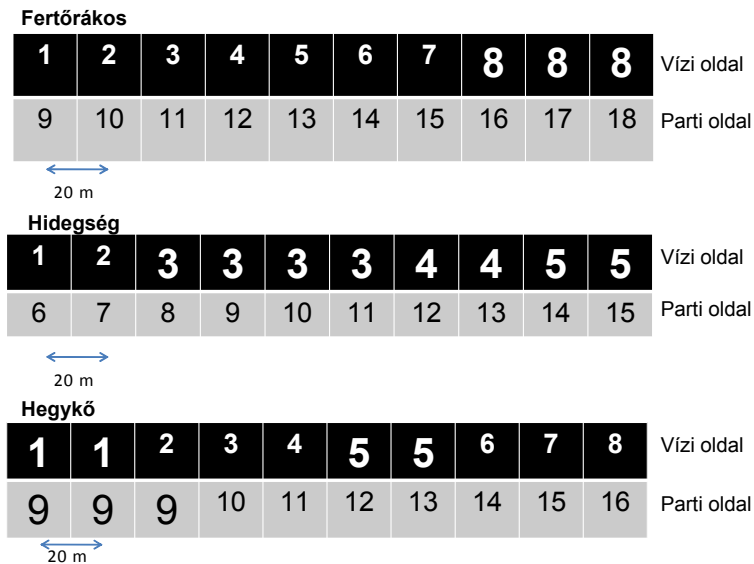


20. ábra. A Fertő-tó három nádasában gyűjtött minták Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

1-10: Fertőrákos vízi oldal 11-20: Fertőrákos parti oldal 21-30: Hidegség vízi oldal

31-40: Hidegség parti oldal 41-50: Hegykő vízi oldal 51-60: Hegykő parti oldal

GS: Genetikai szimilaritás

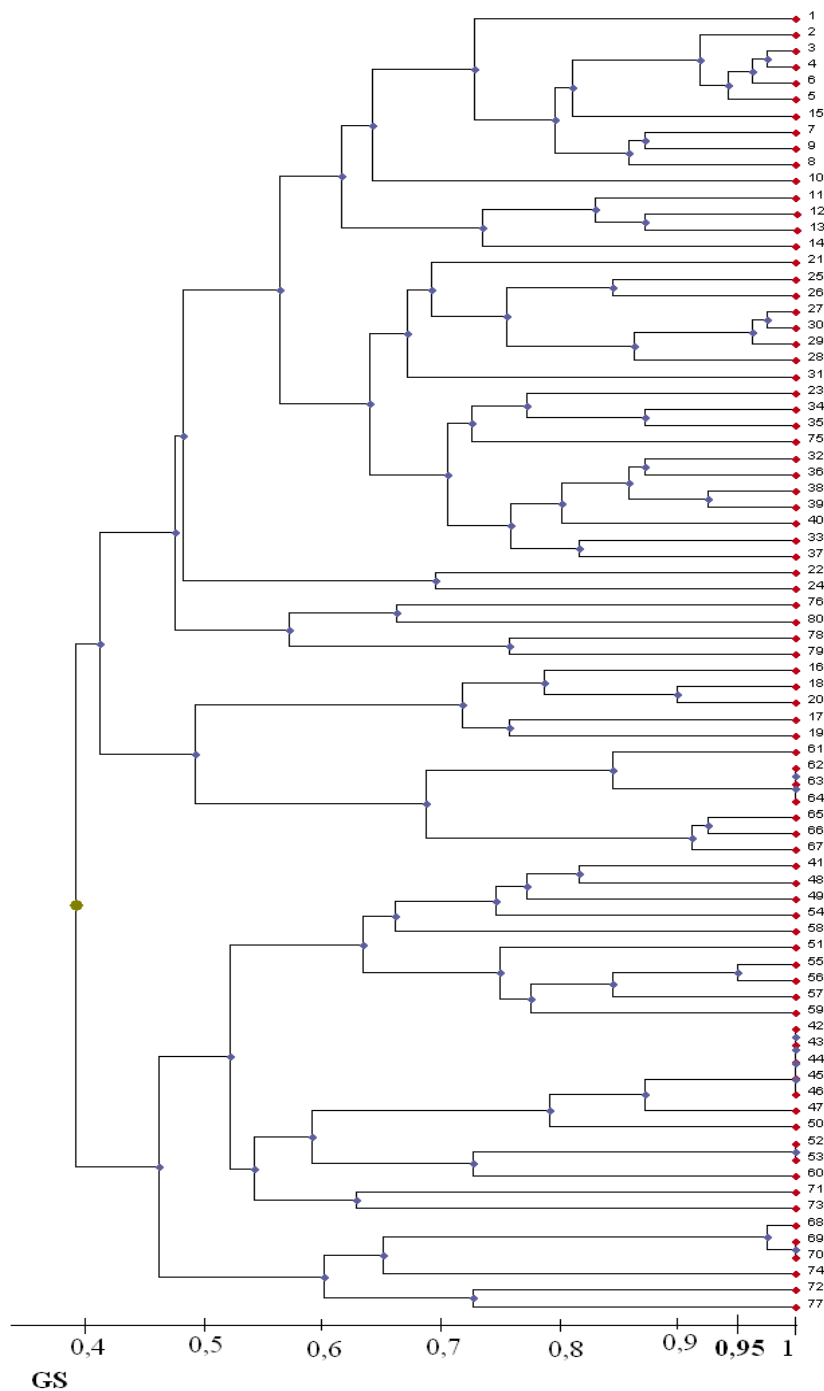


21. ábra. A Fertő-tó három nádasában gyűjtött minták klóntérképei

Azonos számok azonos klónt jelölnek, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl

A Balatonból 150 méteres szakaszokon a Kerekedi-öböl ép állományában és Balatommáriefürdőnél négy sávban, a Kerekedi öböl pusztuló állományában pedig, ahol az eredeti vízfelőli sáv eltűnt, három sávban gyűjtöttünk egymástól 15 m-re lévő nádszalakat, a Bozsai-öbölben és Alsőörsnél pedig ugyancsak 150 méteres szakaszokon csak a vízfelőli és a partközeli sekélyvizű sávban mintáztunk, de 5 méterenként. Hogy az eredményeket a többi tóéval jól összehasonlítható formába hozzuk, a mostani elemzésből kihagyjuk a kerekedi pusztuló nádas, a kerekedi ép nádasból és a márafürdői nádasból csak a vízfelőli élről és a partközeli, de még sekély vízben álló sávból származó mintákat vesszük figyelembe, a bozsai és alsőörsi gyűjtésből pedig csak minden harmadik mintát. Az így redukált adatokból kapott dendrogramon (22. ábra) azt látjuk, hogy viszonylag a leghomogénebb a máriefürdői nádas, melynek elkülönül ugyan a két sávja, de azok 0,6 körül találkoznak. A kerekedi nádas vízfelőli oldalán közel vannak egymáshoz genetikailag a minták, a part felőli rész néhány eleme esik csak távolabb. A legkevésbé az alsőörsi nádas parti mintái hasonlítanak egymáshoz, az állomány vízfelőli mintáival pedig csak 0,4 szimilaritásnál találkoznak. Mind a Kerekedi-öbölben, mind Máriefürdőnél a vízi oldalon 3 minta tartozott azonos klónhoz, így a tíz minta mindkét helyen 7 klónt adott. A parti oldalon mindkét helyen mind a 10 minta különbözött. A Bozsai-öbölben a vízi oldalon egy nagyon hosszú, 5 tagú klón látszik, így ebben a sávban a 15 méterenként vett minták 6 klónt alkotnak. A parti sávban két 2 tagú klónt találtunk, azaz ezzel a sűrűséggel mintázva 8 klón mutatható ki. Alsőörsnél a vízi oldalon két 3 tagú klónt is találtunk,

összesen tehát itt 6 klón különül el, míg a parti oldalon minden minta különbözik (23. ábra).



22. ábra. A Balaton négy nádasában gyűjtött minták Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

1-10: Kerekedi-öböl vízi oldal 11-20: Kerekedi-öböl parti oldal

21-30: Balatonmáriafürdő vízi oldal 31-40: Balatonmáriafürdő parti oldal

41-50: Bozsai-öböl vízi oldal 51-60: Bozsai-öböl parti oldal 61-70: Alsóórs vízi oldal

71-80: Alsóórs parti oldal GS: Genetikai szimilaritás

Kerekedi-öböl

1	2	3	3	4	3	5	6	7	8	Vizi oldal
9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	Parti oldal

Balatonmáriefürdő

1	2	3	4	5	6	7	8	7	7	Vizi oldal
9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	Parti oldal

Bozsai-öböl

1	2	2	2	2	2	3	4	5	6	Vizi oldal
7	8	8	9	10	10	11	12	13	14	Parti oldal

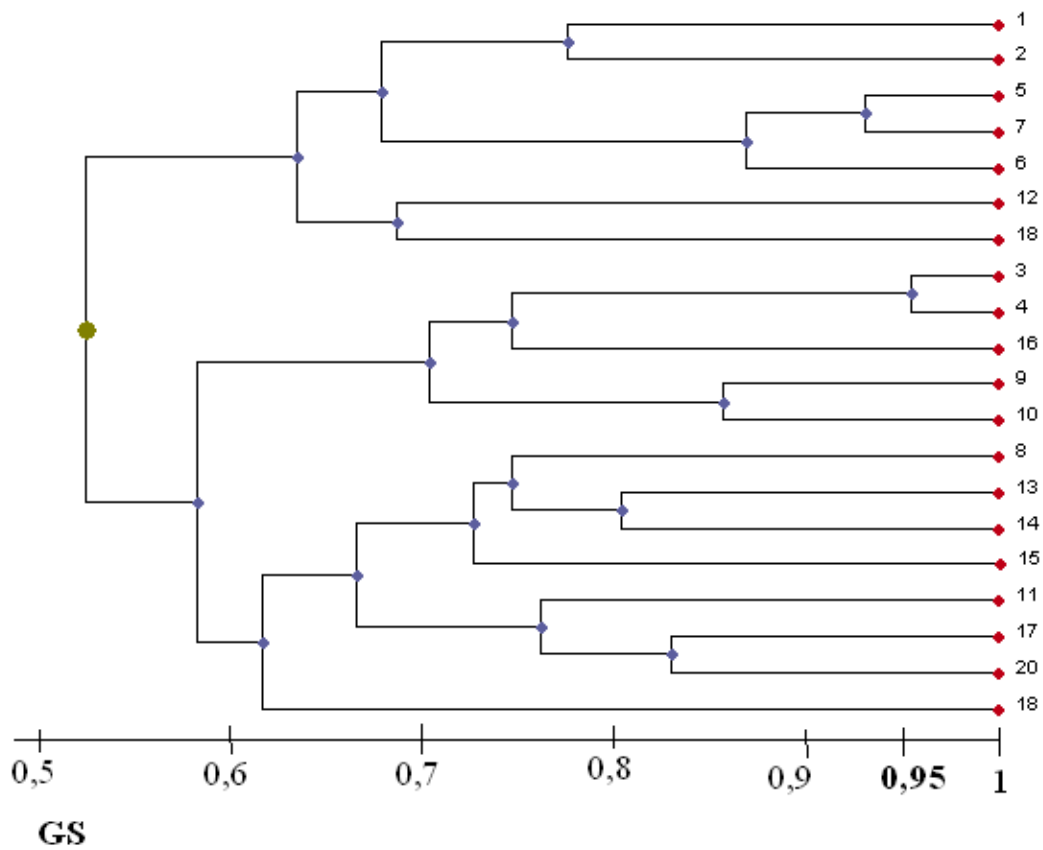
Alsóórs

1	2	2	2	3	4	5	6	6	6	Vizi oldal
7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Parti oldal

←→
15 m

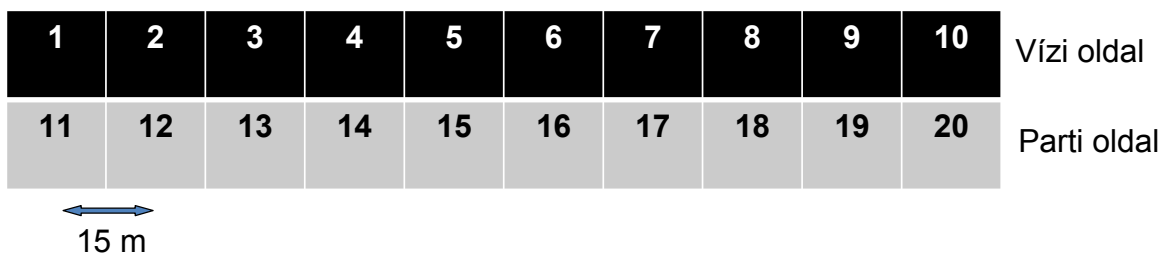
23. ábra. A Balaton négy nádasában gyűjtött minták klóntérképei
Azonos számok azonos klónt jelölnek, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl

A Kis-Balatonban a Zalavári-víz körül is 5 méterenként vettünk 30 mintát. Az összehasonlíthatóság kedvéért a csak a minden harmadik minta alapján készített dendrogramon (24. ábra) az látszik, hogy a vízi oldal mintái két, a parti oldal mintái zömmel egy klaszterhez tartoznak, és az ágak 0,52-es szimilaritásnál kapcsolódnak össze. Ha csak a 15 méterenként vett mintákat vesszük figyelembe, mindkét oldalon csupa önálló klónt találunk (25. ábra).

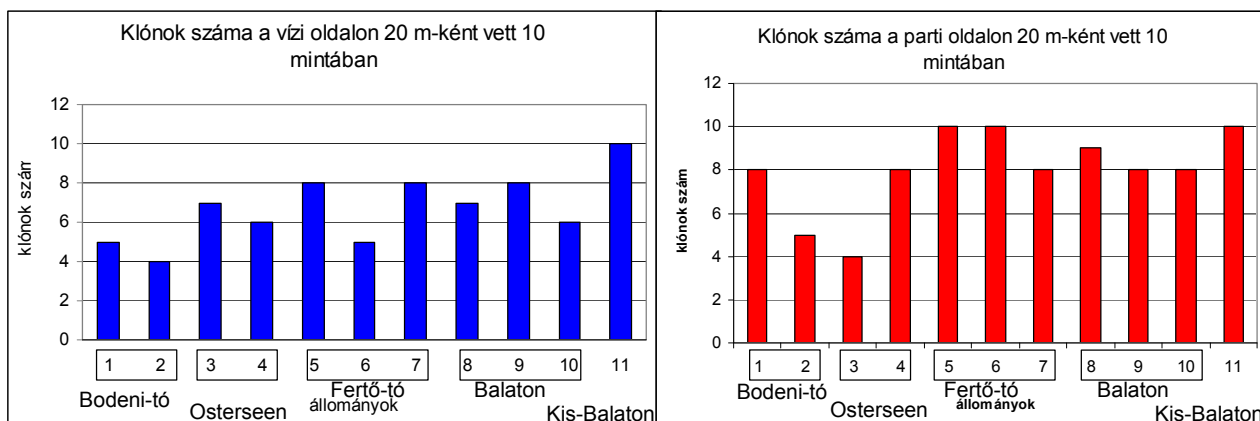


24. ábra. A Kis-Balaton nádasában egymástól 15 m-re gyűjtött minták Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

GS: Genetikai szimilaritás



25. ábra. A Kis-Balaton nádasában (Zalavári-víz) gyűjtött minták klóntérképei
Azonos számok azonos klónt jelölnek, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl



26. ábra. Klónok száma a vízi és a parti oldalon az öt tó vizsgált 11 nádas állományánál

1: Untersee; 2: Überlinger-see; 3: G.Ostersee; 4: Waschsee; 5: Fertőrákos;
 6: Hidegség; 7: Hegykő; 8: Kerekedi-öböl; 9: Balatonmáriafürdő; 10: Bozsai-öböl;
 11: Zalavári-víz

kék színű: vízi oldal; piros színű: parti oldal

A fentieket összegezve öt tó 11 állományában határoztuk meg, hány klónhoz tartozik a vízfelőli ill. parti oldalról vett 10-10 nádszál. A vízfelőli oldalon a Bódeni tóban 4-5, az Osterseen-ben 6-7, s a Fertőben 5-8, a Balatonban 6-8, a Kis-Balatonban 10 klónt, a parti oldalon az Bódeni-tóban 5-8, az Osterseen-ben 4-8, a Fertőben 8-10, a Balatonban 8-10, a Kis-Balatonban 10 klónt találtunk (26. ábra). Mindegyik állomány mindkét oldalon poliklonális. A part felőli oldalon több a klón, mint a vízfelőlín. A Bódeni-tóban a legkisebb, a Kis-Balatonban a legnagyobb a klonális diverzitás.

5.2. A klonális diverzitás változása a vízmélységgel

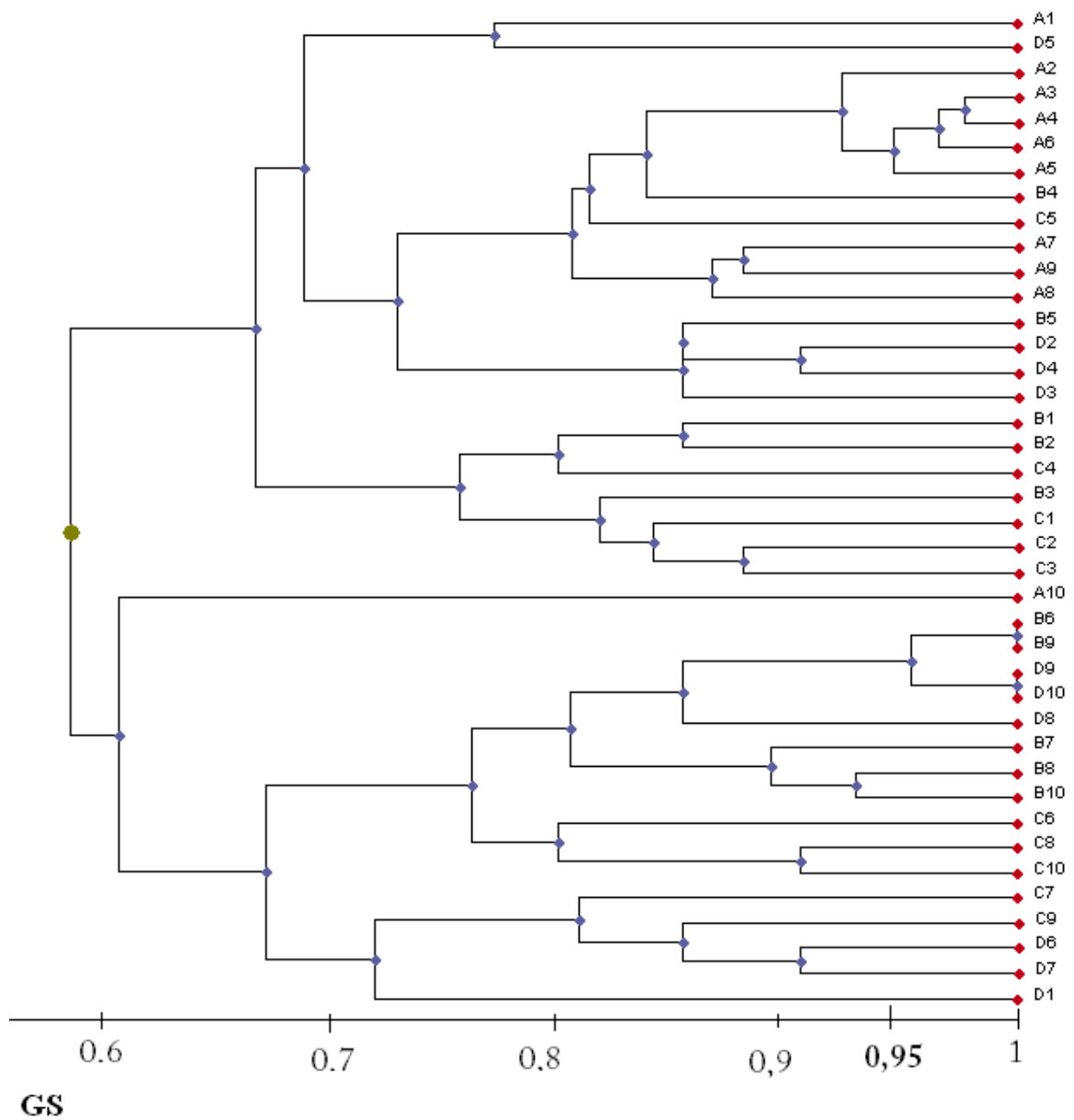
A Balaton nádasaiiban megpróbáltuk több sávban is vizsgálni a diverzitást, hogy lássuk, hogyan változik a vízmélységgel. A 27. ábra mutatja a Kerekedi-öböl ép állománya mind a négy sávjának adataiból kapott dendrogramot. Az összes minta ágai 0,6 genetikai szimilaritásnál találkoznak, és az egyes klaszterekben, bár nem egyforma mértékben, de keverten találhatóak a vízfelőli szegély, a mélyvízben húzódó sáv, a partközeli sekélyvízi sáv és a partközeli szárazföldi sáv nádszájai. A négy sávra kiegészített klón térkép (28. ábra) szerint a vízi élen 8, a mélyvízi sávban 9, a sekélyvíziben 10, a part közeli

szárazföldön 9 klón mutatkozott, tehát a mélyvízben és a szárazon is volt egy-egy kéttagú klón.

A Kerekedi-öböl pusztuló nádasának dendrogramjában (29. ábra) három sáv összes mintái 0,5 genetikai hasonlóságnál találkoznak. A dendrogram két nagy klaszterre különül. A mélyvízi sáv összes mintái az egyikben, a szárazföldi a másikban vannak, míg a sekélyvízi minták megoszlanak a kettő között. A mélyvízi sávban 10, a sekélyvízben 9, a szárazföldiben is 9 klón mutatkozott (30. ábra). Ez azt mutatja, hogy a pusztuló állomány ugyanúgy polikonális, mint az ép, és semmiképpen nem utal arra, hogy a nádpusztulásban a klonális diverzitás csökkenésének nagy szerepe lehetne.

Balatonmáriafürdőnél a négy sáv dendrogramja (31. ábra) két fő klaszterre különül, amelyek 0,6 hasonlóságnál találkoznak, és ezekhez csatlakozik még kisebb értékűnél a szélsőséges négy minta csoportja. Az egyik csomóban a vízfelőli él és a mélyvíz nádszárait, a másikban a sekély víz és a szárazföldi sáv nádszárait találhatjuk. A vízfelőli élen 8, a mély vízben 9, a sekély vízben 10, a szárazföldön 9 klón mutatkozott (32. ábra).

Ha az eredményeket átlagoljuk, úgy a vízfelőli szegélyre 8, a mélyvízi sávra 9,3, a sekélyvízi parti sávra 9,7 a szárazföldi parti sávra 9 klónt kapunk. A vízfelőli szegélyen tehát a korábbiakkal összehangban kevesebb a klón, mint a sekélyvízi parti sávban, a mélyvízben is valamivel kevesebb van, mint a sekély vízben, a szárazföldön viszont nem jelentkezett több klón, mint a mélyvízben. A különbségek kicsinyek, több állomány keresztmetszetében végzett részletes vizsgálatok után lehene csak eldönteni jelentőségüket. Kérdéses, milyen széles sávra terjed ki a vízfelőli front nagyobb diverzitása. Annyi azonban kétségtelen, hogy a balatoni nádasok diverzitása nagy.



27. ábra. A Kerekedi-öböl ép nádasának négy sávjában gyűjtött minták Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

A1-A10: vízi él

B1-B10: mély vízi sáv

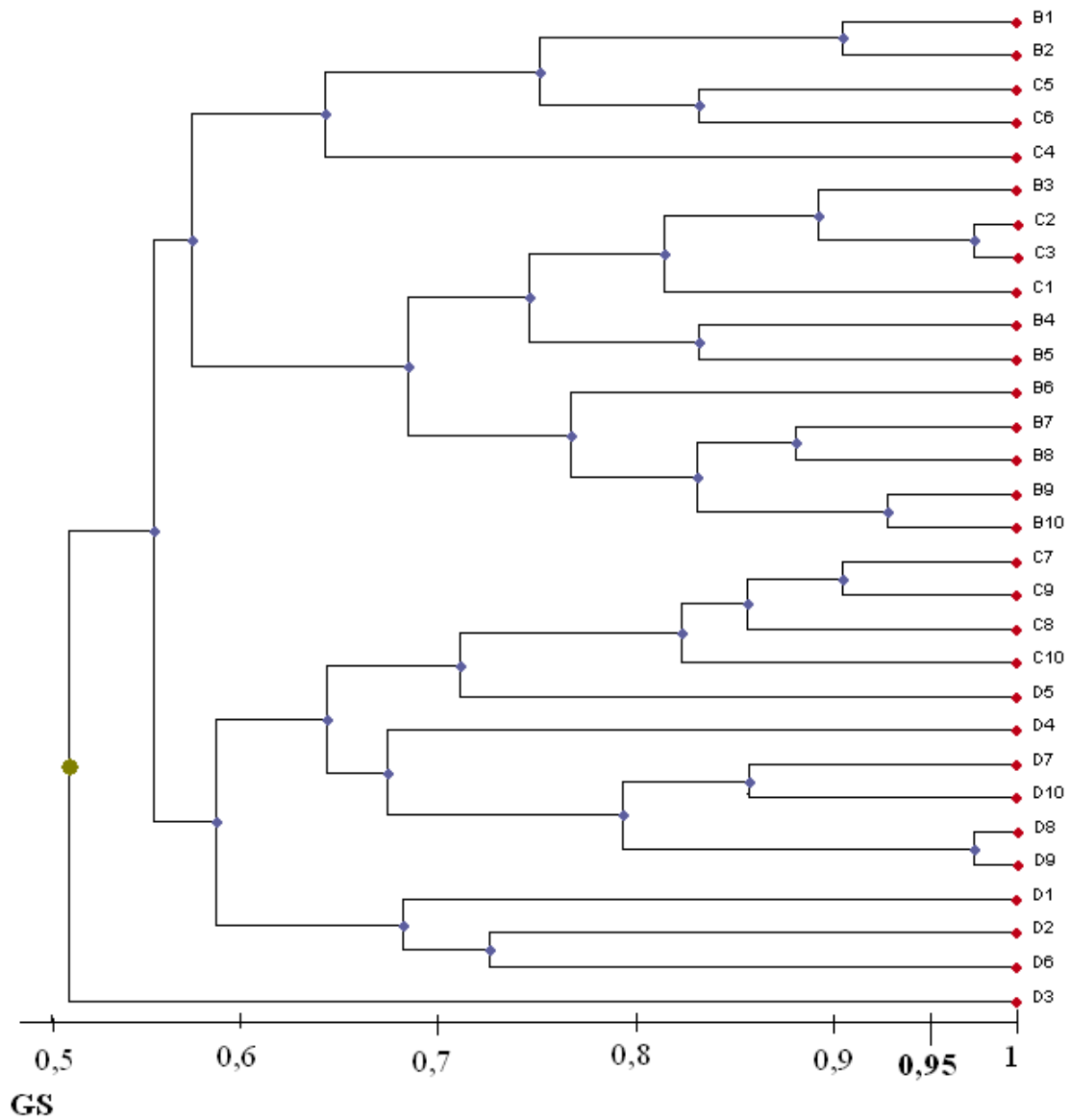
C1-C10: sekély vízi sáv

D1-D10: szárazföldi sáv

GS: Genetikai szimilitás

								15 m			
								↔			
VÍZI ÉL	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	16 m
MÉLY VÍZ	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>11</u>	<u>12</u>	<u>13</u>	<u>14</u>	<u>15</u>	<u>13</u>	<u>16</u>	
SEKÉLY VÍZ	<u>17</u>	<u>18</u>	<u>19</u>	<u>20</u>	<u>21</u>	<u>22</u>	<u>23</u>	<u>24</u>	<u>25</u>	<u>26</u>	16 m
SZÁRAZFÖLD	<u>27</u>	<u>28</u>	<u>29</u>	<u>30</u>	<u>31</u>	<u>32</u>	<u>33</u>	<u>34</u>	<u>35</u>	<u>35</u>	

28. ábra. A Kerekedi-öböl ép nádasában négy sávjában gyűjtött minták klóntérképei
Azonos számok azonos klónt jelölnék, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl



29. ábra. A Kerekedi-öböl pusztuló nádasának négy sávjában gyűjtött minták Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

B1-B10: mély vízi sáv

C1-C10: sekély vízi sáv

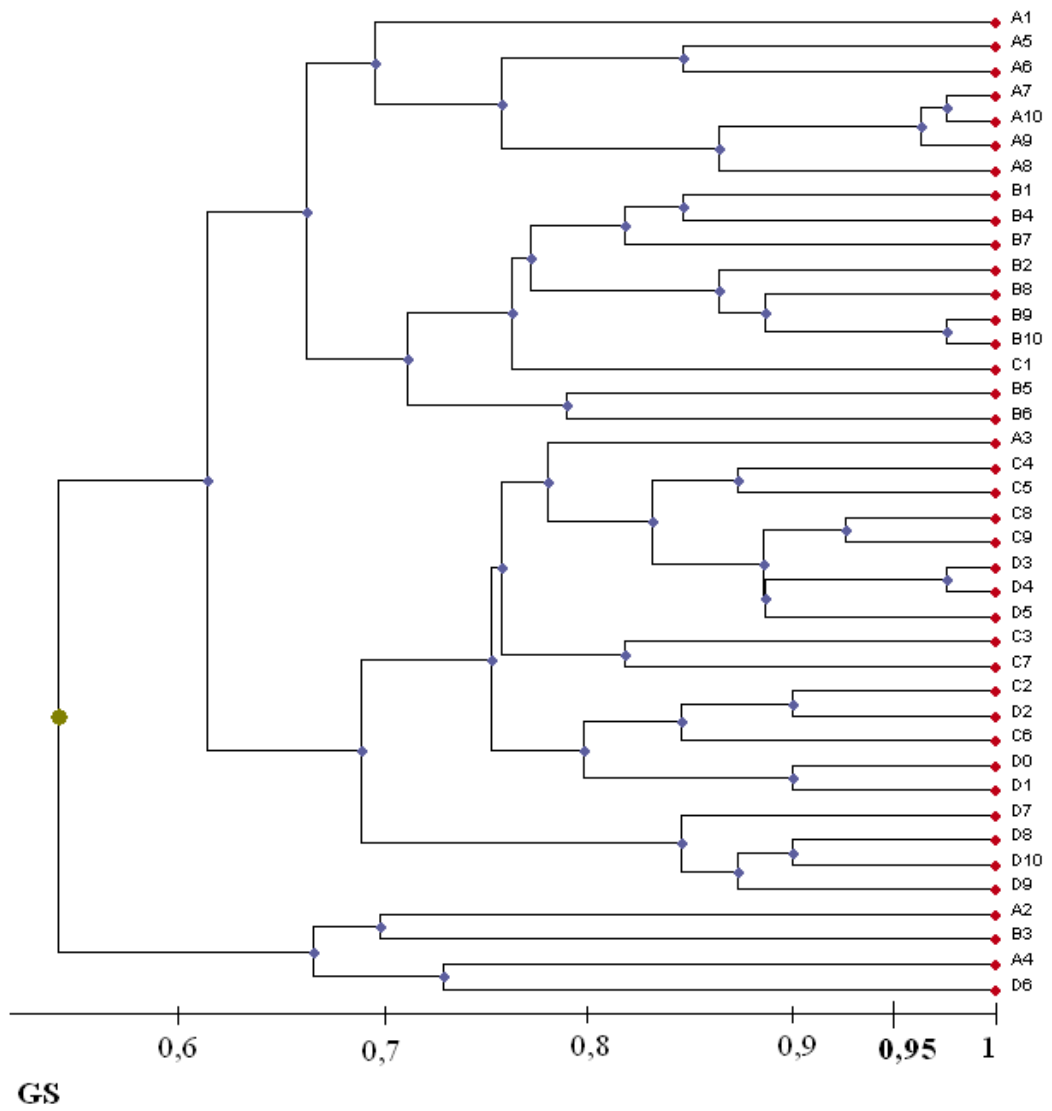
D1-D10: szárazföldi sáv

GS: Genetikai szimilitás

								15 m ↔		
MÉLY VÍZ	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>10</u>
SEKÉLY VÍZ	<u>11</u>	<u>12</u>	<u>12</u>	<u>13</u>	<u>14</u>	<u>15</u>	<u>16</u>	<u>17</u>	<u>18</u>	<u>19</u>
SZÁRAZDÖLD	<u>20</u>	<u>21</u>	<u>22</u>	<u>23</u>	<u>24</u>	<u>25</u>	<u>26</u>	<u>27</u>	<u>27</u>	<u>28</u>
									↑ 16 m ↓	

30. ábra. A Kerekedi-öböl pusztuló nádasa négy sávjában gyűjtött minták klóntérképei

Azonos számok azonos klónt jelölnek, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl



31. ábra. Balatonmáriafürdő nádasának négy sávjában gyűjtött minták

Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

A1-A10: vízi él

B1-B10: mély vízi sáv

C1-C10: sekély vízi sáv

D1-D10: szárazföldi sáv

GS: Genetikai szimilaritás

								15 m		
								↔		
VÍZI ÉL	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>7</u>	<u>7</u>
MÉLY VÍZ	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>11</u>	<u>12</u>	<u>13</u>	<u>14</u>	<u>15</u>	<u>16</u>	<u>17</u>	<u>17</u>
SEKÉLY VÍZ	<u>18</u>	<u>19</u>	<u>20</u>	<u>21</u>	<u>22</u>	<u>23</u>	<u>24</u>	<u>25</u>	<u>26</u>	<u>27</u>
SZÁRAZFÖLD	<u>28</u>	<u>29</u>	<u>30</u>	<u>30</u>	<u>31</u>	<u>32</u>	<u>33</u>	<u>34</u>	<u>33</u>	<u>35</u>
									↑ 16 m	
									↓ 16 m	

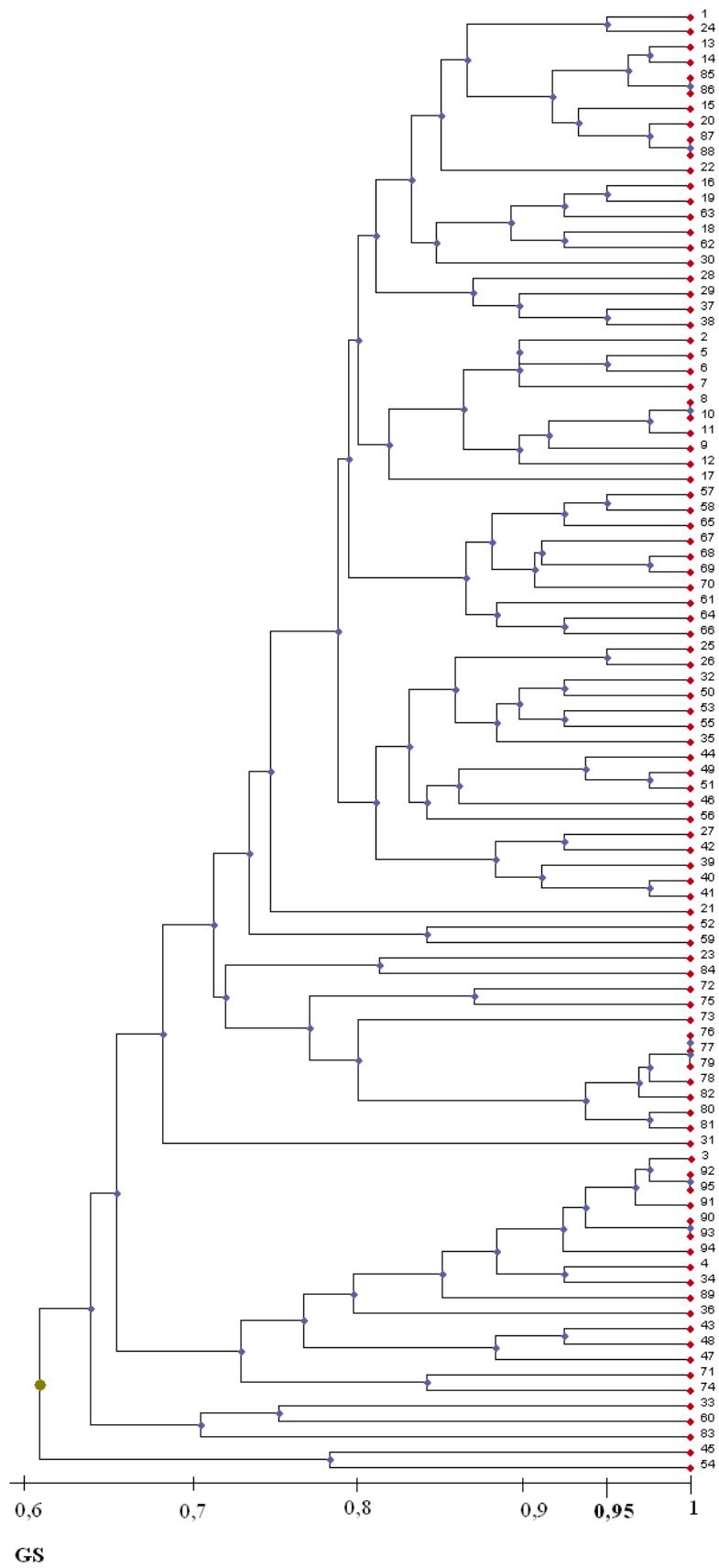
32. ábra. Balatonmáriafürdő nádasának négy sávjában gyűjtött minták klóntérképei

Azonos számok azonos klónt jelölnek, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl

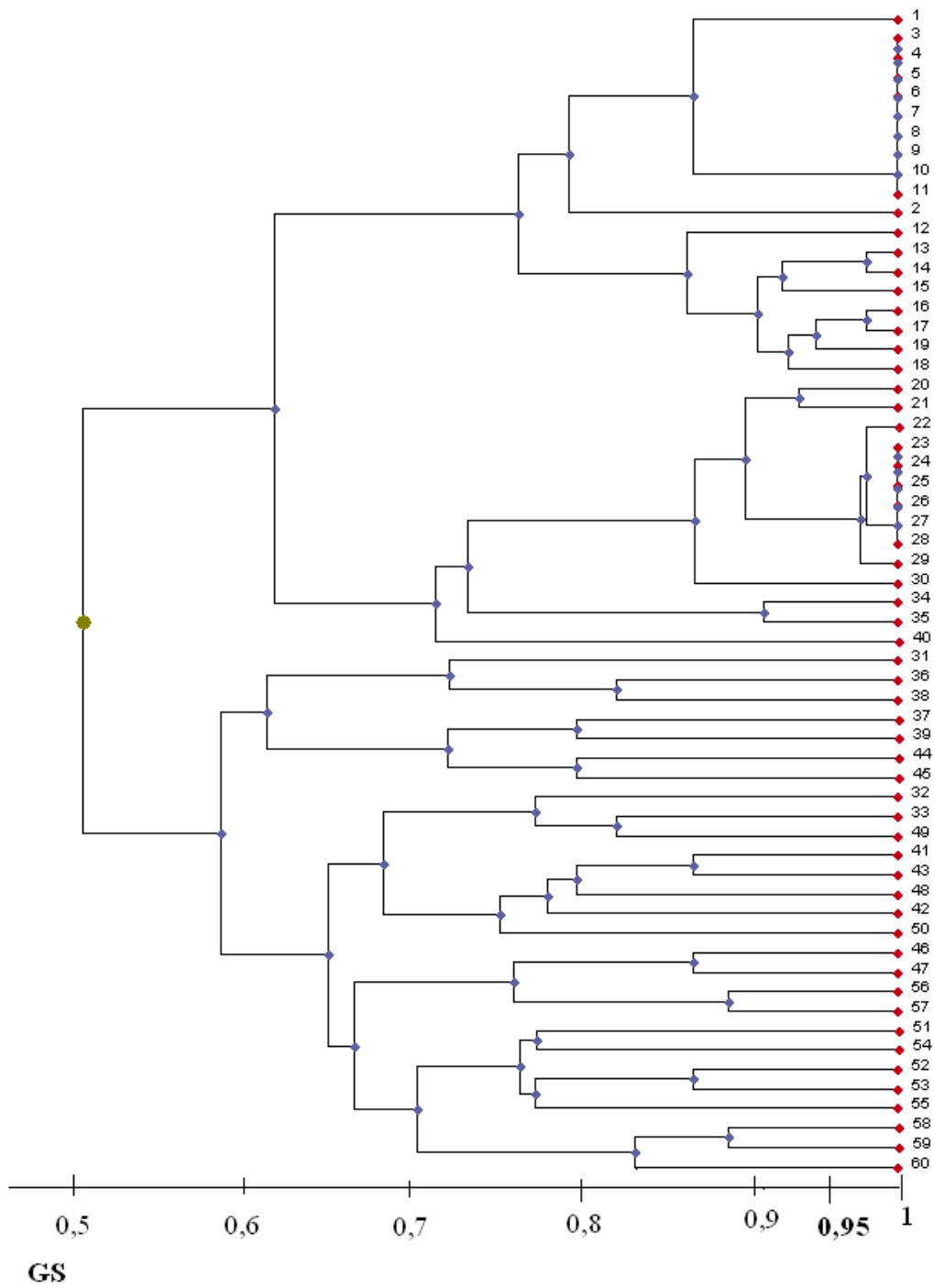
5.3. A klonális diverzitás vizsgálata sűrű mintavételezéssel

Az, hogy hány klónt találunk, az természetesen függ a vizsgált szakasz hosszától és a mintavételek távolságától. A megvehető minták számát a feldolgozás költségei korlátozzák. Ha rövidebb szakaszból nagyobb sűrűséggel veszünk mintát, a kis diverzitású állomány monoklonálisnak tűnhet, ha pedig nagyobb szakaszból ritkábban, a diverzebb állomány minden mintája külön klónhoz tartozik. A 15-20 méteres mintavételi távolság szerencsésnek bizonyult ahhoz, hogy a Bódeni-tótól a Balatonig össze lehessen hasonlítani a nádasokat. Ahhoz viszont, hogy a nagy diverzitású állományoknál jobb képet kapjunk arról, valójában hány klón is lehet egy adott területen, sűrűbb mintavételezésre van szükség.

Alsóörsnél a nádas belsejében 40 m x 40 m területen 4 méteres rácsbőséggel összesen 95 nádszálát vettünk, 5 ponton ugyanis nem volt nád. Ezek dendrogramján (33. ábra) az összes minta 0,6 hasonlóságnál kapcsolódik össze, 60 minta azonban már 0,7-nél egyesül. Az egyes klaszterekben vegyesen fordulnak elő az inkább víz vagy part felőli nádasok. A 95 nádszál összesen 74 különböző klónhoz tartozott (34. ábra). Ebből 64 klón 1, 10 klón 2, 2 klón 3 és 1 klón 5 mintát tartalmazott. A klónok száma még sűrűbb mintázással valamennyire bizonyára még tovább fokozható. Az öttagú klón hossza, mivel abba más klónok is benyomultak, valamivel 30 méter feletti, a nádas zömét azonban 4 méter átmérőnél kisebb klónok foglalják el.



33. ábra. Az egyik alsórsi nádas belsejében 4 méteres rácsbősséggel gyűjtött 95 minta Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja - GS: *Genetikai szimilaritás*



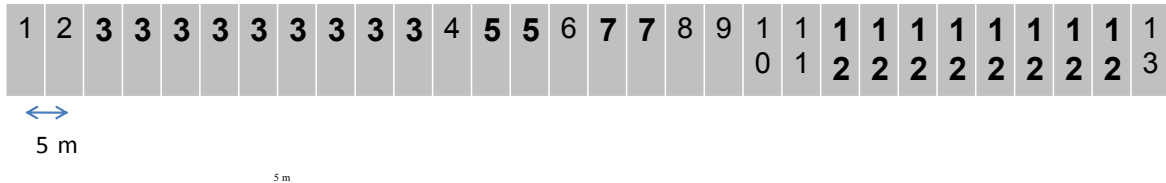
35. ábra. A másik alsóórsi nádas víz- és part felőli széléről 5 méterenként gyűjtött nádszálak Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

1-30: vízi oldal

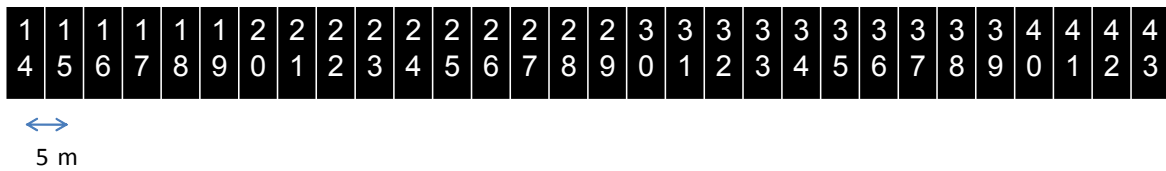
31-60: parti oldal

GS: Genetikai szimilaritás

Vízi oldal

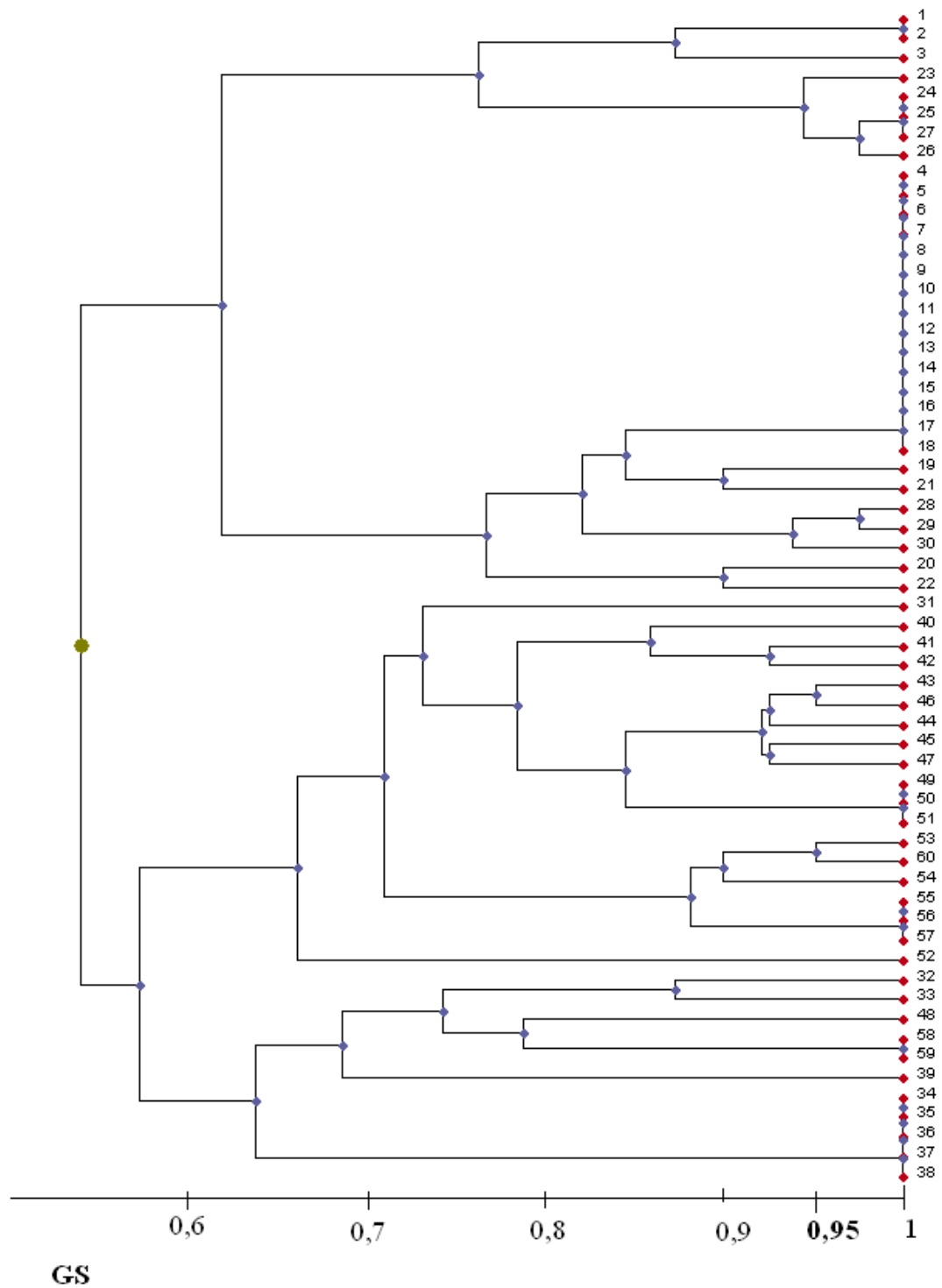


Parti oldal



36. ábra. A másik alsóörsi nádas klóntérképe az 5 méterenként gyűjtött nádszálak alapján
Azonos számok azonos klónt jelölnek, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl

Ugyanilyen vizsgálatot végeztünk a Bozsai-öböl egyik nádas szakaszán is. Itt is két, 0,6 körüli szimilaritású klaszterra váltak szét a vízi és parti szegély mintái (37. ábra). A vízfelőli élen a 30 minta 11 klónt mutatott. Ebből 7 klón egy, 2 klón kettő, 1 klón négy és 1 klón tizenöt mintát tartalmazott. A parti sávban 13 klónban egy, 3 klónban kettő, 2 klónban három és 1 klónban öt minta volt (38. ábra).



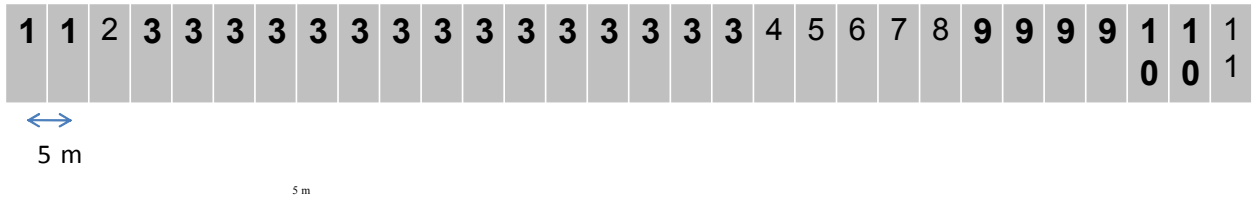
37. ábra. A Bozsai-öböl nádasa víz- és partfelőli széléről 5 méterenként gyűjtött nádszálak Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

1-30: vízi oldal

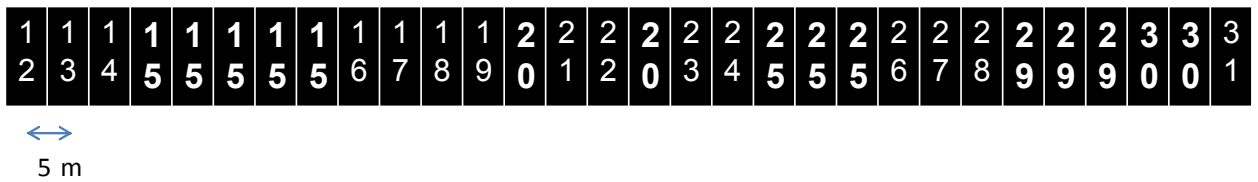
31-60: parti oldal

GS: Genetikai szimilaritás

Vízi oldal



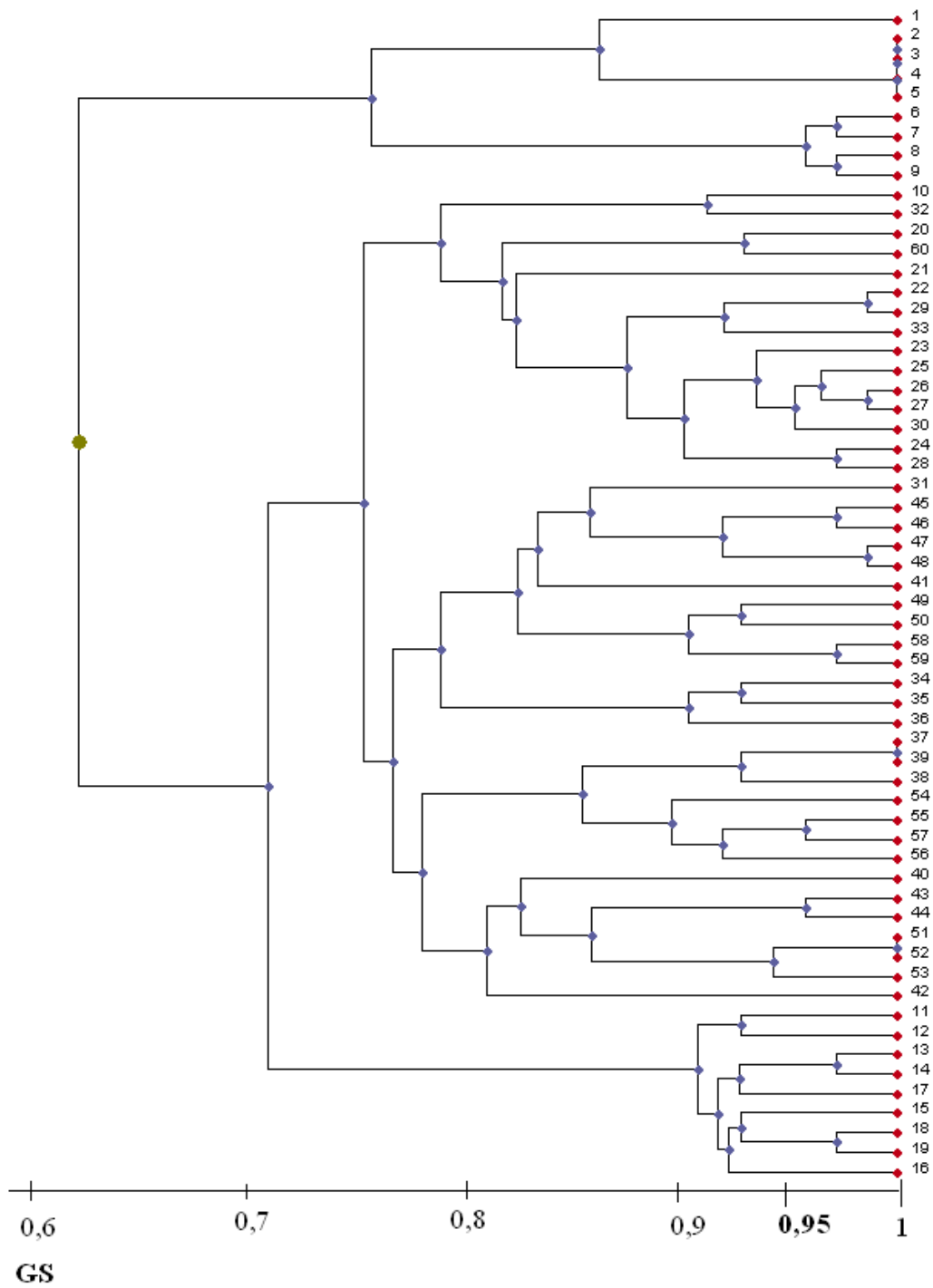
Parti oldal



38. ábra. A Bozsai-öböl nádasának klóntérképe az 5 méterenként gyűjtött nádszálak alapján

Azonos számok azonos klónt jelölnék, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl

A Kis-Balatonban a Zalavári víz körül a parti nádas 5 méterenként vett 30 mintája határozottan elkülönül a vízfelőli élen lévőktől (39. ábra). Utóbbi viszont három klaszterre oszlik, amelyek csak 0,6 hasonlósággal kapcsolódnak egymáshoz. A vízfelőli oldalon 17 klónt különböztettünk meg, melyekből 10 egytagú, 4 kéttagú és 3 négytagú volt, a partiban 20 egytagú és 5 kéttagú klónt találtunk (40. ábra).



39. ábra. A Zalavári-víz nádasa víz- és partfelőli széléről 5 méterenként gyűjtött nádszálak

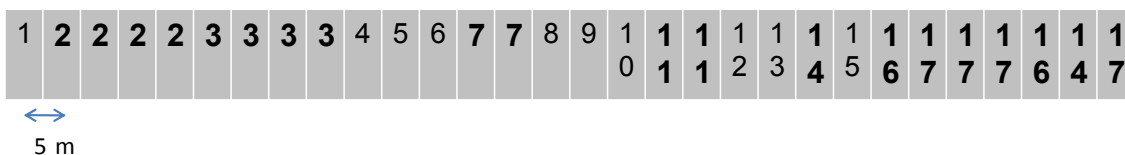
Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

1-30: vízi oldal

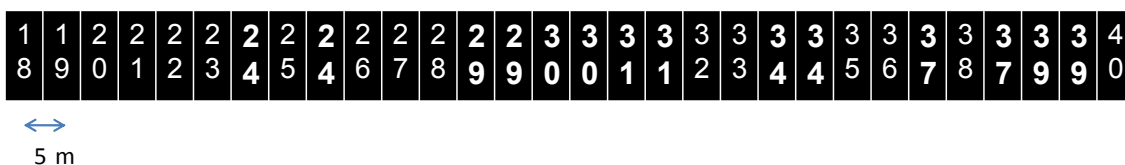
31-60: parti oldal

GS: Genetikai szimilaritás

Vízi oldal



Parti oldal



40. ábra. A Zalavári-víz nádasának klóntérképe az 5 méterenként gyűjtött nádszálak alapján
Azonos számok azonos klónt jelölnek, egy négyzet egy mintavételi helyet jelöl

A sűrűn vett minták egyik tanulsága, hogy a klónok nagy része kicsiny, 5 méternél kisebb. A másik, hogy egyazon nádasban is nagyon különböző méretű klónok vannak, a bozsai nádas vízfelőli élén 5 méternél kisebb de 60 méteres klón is akadt. Egy tavon belüli különböző állományok azonos sávjában is eléggé eltérő lehet a klonális diverzitás. Alsóörsnél a part felőli sekély vízben a rács szerint mintázott területen 35 m hosszú klónt is találtunk, a két sávban 5 méterenként vizsgát nádas partfelőli részén viszont mind a 30 minta külön klónt alkotott. Általánosságban azonban kimondhatjuk, hogy a Balatonban nagy a klonális diverzitás, a Kis-Balatonban még nagyobb, és a nyíltvízi szegélyen nagyobb klónok vannak, mint a partközelenben.

5.4. A nádasok gén diverzitása és az állományon belüli klónok genetikai távolsága

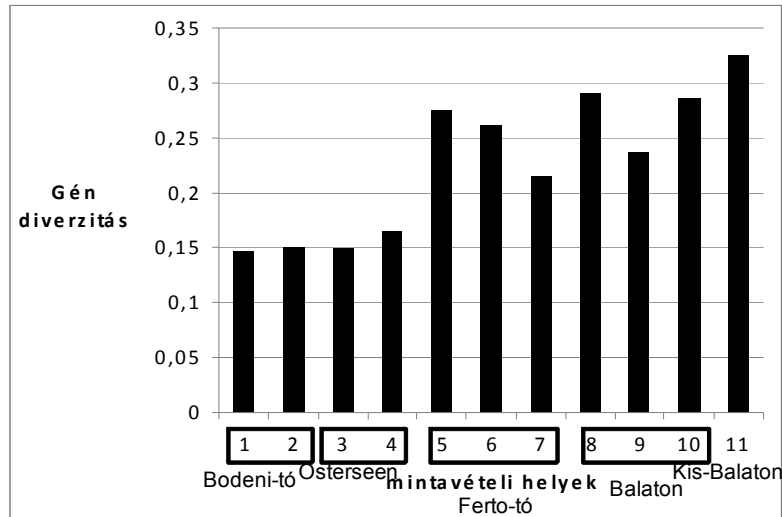
A nádasok genetikai változatossága a klónok számán kívül attól is függ, hogy mekkora a gének diverzitása és az egyes klónok genetikailag milyen távol vannak egymástól.

A gén diverzitás mértéke a heterozigóták gyakoriságának valószínűsége (Nei, 1979). Kicsiny, elszigetelt és öreg népegekben a kiválasztódás és sodródás hatására csökken a heterozigóták aránya. A gén diverzitás és genetikai távolság számításánál az egy klónhoz tartozó mintákat egy egységként vettük figyelembe. Az eredmények szerint a Bodeni-tó és az Osterseen állományaiban nem csak a klónok száma, de a gén diverzitás is kisebb volt, mint a sekély magyar tavakban, és a különbség megállapítható. A négy németországi állományban a gén diverzitás 0,15-0,16, a Fertőben 0,22-0,28, a Balatonban 0,24-0,36 tartományban mozgott, míg a Kis-Balatonban 0,33 volt (41. ábra).

A Shannon diverzitás egyszerűbben számítható, így mást is jelent, mint a Nei féle gén diverzitás, de nem meglepő, hogy hasonló tendenciát mutat. (42.ábra). Értéke a német tavaknál 0,22-0,26, a Fertőnél 0,32-0,41 a Balatonnál 0,36-0,51, tartományban mozgott, a Kis-Balatonnál 0,48 volt.

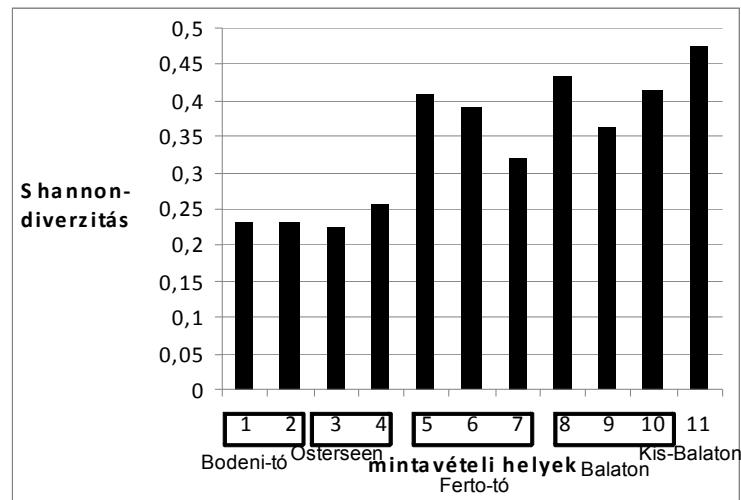
Az egyes állományokon belül páronként kiszámítottuk a klónok közötti genetikai távolságokat, és méretkategóriánként adjuk meg azok gyakoriságát (43. ábra). A német tavakban a 0,20-0,35, a Fertőben a 0,30-0,45, a Balatonban a 0,30-0,55, Kis-Balatonban a 0,55-0,60 kategóriába esett a legtöbb genetikai távolság. A genetikai távolságok maximuma a német tavakban 0,33-0,47, a Fertőben 0,49-0,72, a Balatonban 0,72-0,89 között változott a különböző állományokban, míg a Kis-Balatonban 0,93 volt. Az átlagos genetikai távolság a német tavakban 0,18-0,22, a Fertőben 0,26-0,37, a Balatonban 0,32-0,51 között változott, míg a Kis-Balatonban 0,47 volt.

Mind a gén diverzitás, mind az állományon belüli genetikai távolságok a német tavakban voltak a legalacsonyabbak, és a Kis-Balatonban a legmagasabbak. Ebben a tekintetben a Bódeni-tó és az Osterseen négy állománya között alig volt különbség. A Fertő és a Balaton meglehetősen hasonlítanak egymáshoz, azzal a különbséggel, hogy Hegykő nádasa lényegesen kisebb, Alsóörsé pedig lényegesen nagyobb diverzitást és távolságokat mutat a többiekétől, azaz Alsóörsé tulajdonképpen a Kis-Balatonéhoz hasonlított, kevéssel felül is múlva azt.



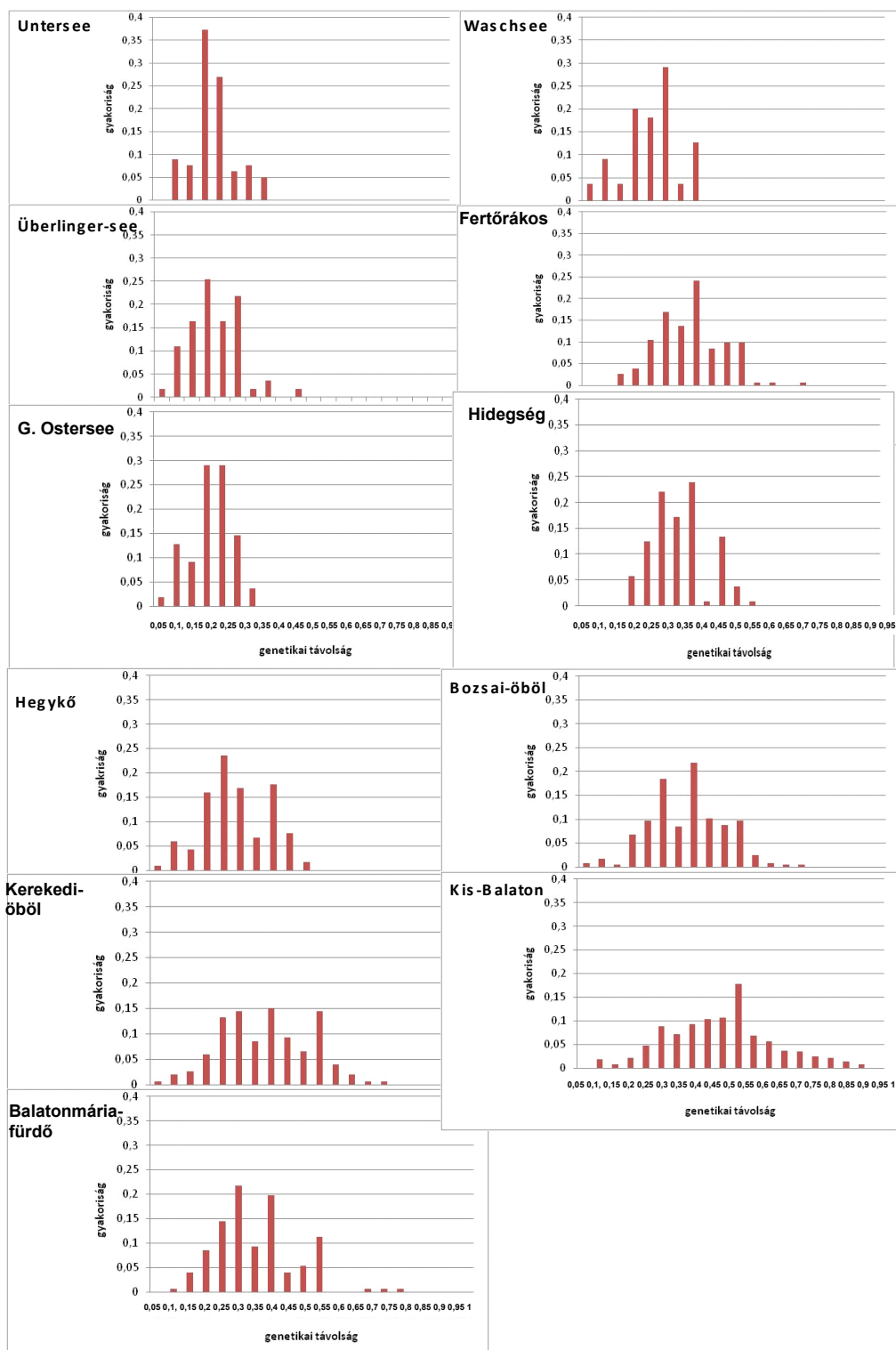
41. ábra. Gén diverzitás az öt tó vizsgált 11 nádas állományán belül-
Popgen 1.32-es programmal számítva

1: Untersee; 2: Überlinger-see; 3: G.Ostersee; 4: Waschsee; 5:
Fertőrákos; 6: Hidegség; 7: Hegykő; 8: Kerekedi-öböl; 9:
Balatonmáriafürdő; 10: Bozsai-öböl; 11: Zalavári-víz



42. ábra. Shannon diverzitás az öt tó vizsgált 11 nádas állományán belül- Popgen 1.32-es
programmal számítva

1: Untersee; 2: Überlinger-see; 3: G.Ostersee; 4: Waschsee; 5: Fertőrákos; 6:
Hidegség; 7: Hegykő; 8: Kerekedi-öböl; 9: Balatonmáriafürdő; 10: Bozsai-öböl; 11:
Zalavári-víz



43. ábra. Genetikai távolságok gyakorisága az öt tó vizsgált 11 nádas állományán belül-
Popgen 1.32-es programmal számítva

1: Untersee; 2: Überlinger-see; 3: G.Ostersee; 4: Waschsee; 5: Fertőrákos; 6:
Hidegség; 7: Hegykő; 8: Kerekedi-öböl; 9: Balatonmáriafürdő; 10: Bozsai-öböl; 11:
Zalavári-víz

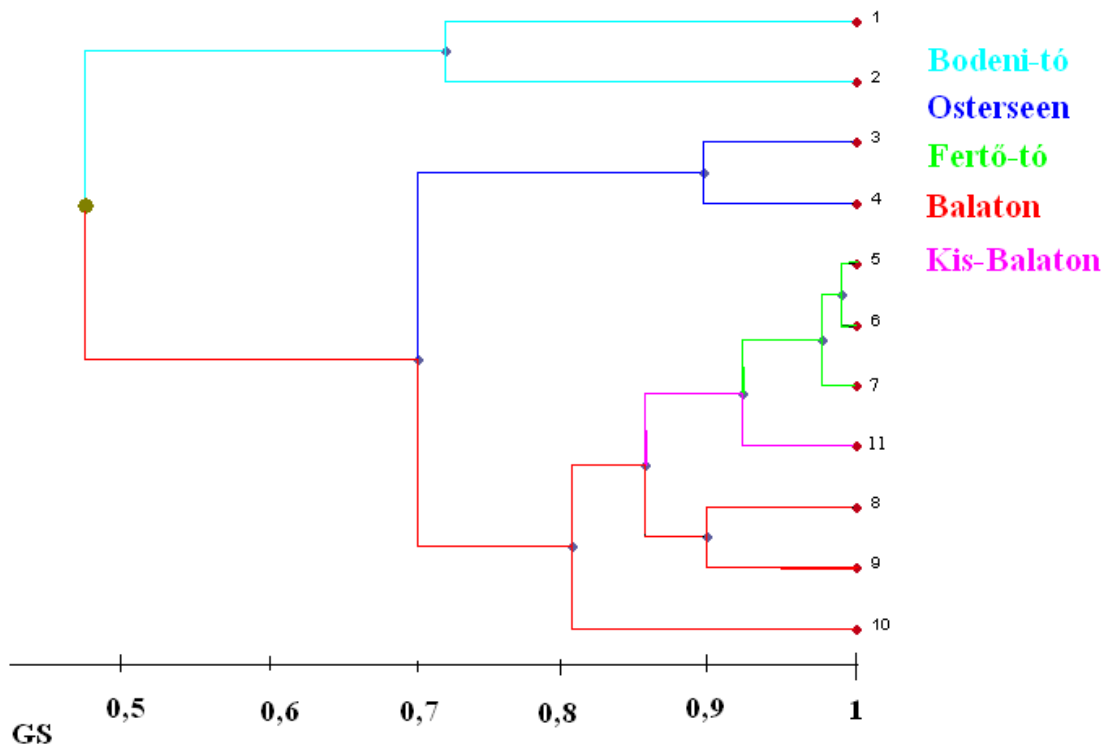
5.5. A nád populációk térbeli és genetikai távolsága.

Ha nem az egyedek, hanem a populációk genetikai szimilaritását számoltuk ki, az így kapott hasonlósági koefficiensek alapján szerkesztett UPGMA dendrogramon, (44. ábra) látható, hogy a Fertő-három állománya a leginkább hasonló. Ezután a kis-balatoni és az alsóörsi állomány kapcsolódik egymáshoz és szinte ugyanazon a szinten a fertő-tavi klaszterhez. Ennél kissé feljebb, 0,9 szimilaritás értéknél kötődik a Kerekedi-öböl és Máriafürdő nádasa, azután 0,84-nél ez is a Fertő-Kis-Balaton ághoz kapcsolódik, a Bozsai-öböl nádasa csak 0,82-nél csatlakozik a többi csoporthoz. Az Osterseen két állománya nagyjából azon a szinten kapcsolódik egymáshoz, mint a Kerekedi-öbölé Máriafürdőéhez, a Bódeni-tó állományai viszont csak 0,7 körüli szimilaritásnál kapcsolódnak. Az Osterseen nádasa hamarabb kapcsolódik a tőle távolabbi Balatonéhoz, mint a közelebbi Bódeni-tóéhoz, ahogy a Kis-Balatoné is a távolabbi Fertőéhez és nem a balatoni állományok többségéhez kötődött.

Hogy számszerűsítsük a földrajzi és a genetikai távolság viszonyát, ezt a 12 állományra páronként meghatároztuk, és mátrixban (2. táblázat) adjuk meg. A legkisebb (0,02-0,03) a genetikai távolság a Fertő három állománya között, ahol a földrajzi távolság is 10 km-en belüli. A Kis-Balaton és Alsóörs nádasainak egymástól és a Fertő nádasaitól való genetikai távolsága a 0,70-0,9 tartományba esik, miközben egymástól 80 km-re, a Fertőtől 117-125 km-re vannak. Alsóörs nádasa viszont 0,10-0,20 genetikai távolságra van a tőle csak 7-51 km-re eső másik három balatoni állománytól. A G. Ostersee állományának genetikai távolsága a Bódeni tó nádasaitól 0,50-0,52, a földrajzi 160-167 km, ugyanakkor a Fertő nádasaitól csak 0,26-0,30 genetikai, viszont 404-412 km földrajzi távolságra esik. Az ábrán feltüntetett állomány párosítások alapján a genetikai távolságot a földrajzi függvényében (45. ábra) 130 km-ig kis genetikai távolságokat látunk. Ezek zömmel a Balaton, a Fertő és a Kis-Balaton állományai közötti kapcsolatot mutatják. A 160 km körül felszökő pontok azt jelzik, mennyire távol van a Bódeni-tó genetikailag az Osterseen-től. A 400-510 km-nél látható sokkal alacsonyabb értékek az Osterseen nádasainak a Balaton és Fertő állományaitól való genetikai távolságát mutatják. 560-670 km között ismét nagyobb genetikai szimilaritás értékek vannak, annak megfelelően, hogy a Bódeni tó nádasai a Balaton és Fertő nádasaitól kb. ugyanolyan messze vannak genetikailag, mint az Osterseen állományaitól. A genetikai távolság függését a földrajzi távolságtól Mantel teszttel is megvizsgáltuk. A 13 populációra az $r = 0,728728$, a $p = 0,000999$ lett. Az eredmény azt mutatja, hogy a genetikai távolság függ a földrajzi távolságtól.

Ha ahelyett, hogy mind a 13 állományt párosítjuk a másik 12-vel, csak egy-egy állománnyal tesszük ezt, könnyebben áttekinthető és igen eltérő ábrákat kapunk, amelyekből példaként csak négyet mutatunk be (46. ábra). A Kerekedi-öböltől vagy Fertőrákosról indítva emelkedő pontsort látunk, de meg kell jegyeznünk, hogy a Balaton a Fertőtől másik irányba esik, mint a Bódeni tó. Ha viszont az Untersee-től indulunk, a rövid, 167 km-es földrajzi távon az Ostersee-ig 0,52-re ugrik fel a genetikai távolság, de a 622 km-re lévő Kis-Balatonig innen már nincs további emelkedés. Ha a G.Ostersee-től indulunk, 167 km-es távolságon a Bódeni-tóig megint felszökik a genetikai távolság 0,5-re, innen viszont a földrajzi távolsággal csökkenni látszik. Az eredmények tehát nem mutatnak egyértelmű kapcsolatot a földrajzi távolsággal, inkább a tűnik ki, hogy a Bódeni-tó nádasa valamilyen okból nagyon eltér a többitől.

Hogy a földrajzi távolság hatásának vizsgálatát kiterjesszük, a Bódeni-tótól a 1600 km-re levő Duna-deltáig öt ország 21 nádasából elemeztünk meg egy-egy nádszálat. Azt UPGMA dendrogram (47. ábra) jóval kisebb szimilaritásokat mutat, mint amelyeneket az egyes állományokon belül általában mutat. Az összes minta csak 0,42 genetikai szimilaritásnál kapcsolódik össze. A legnagyobb hasonlóságot (0,82) a bajorországi G Ostersee és a kátpátaljai Szolyva mocsarából vett nádszálak mutatták egymással. Páronként kiszámítottuk a minták genetikai távolságát, az 0,21-től 1,0-ig tertjed, átlaguk 0,5. A genetikai távolságokat a földrajzi távolság függvényében ábráztuk (48. ábra), és nem látszott összefüggés. Ezt Mantel teszttel is igazoltuk, ahol $r = 0,104980$ és $p = 0,128871$ volt.

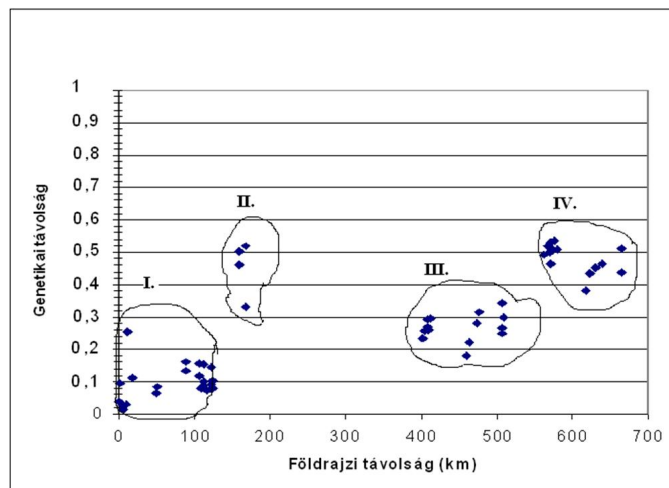


44. ábra. Az öt tó 11 vizsgált nádas populációjában gyűjtött nádszálak Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

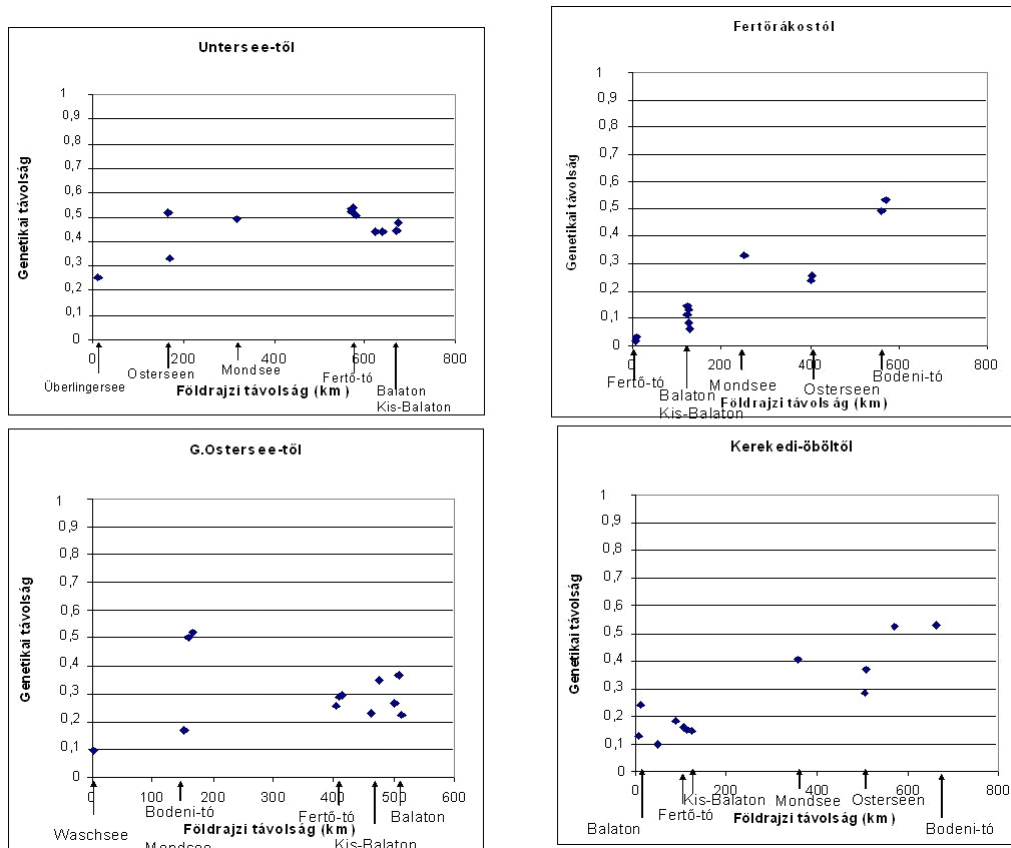
1: Untersee; 2: Überlinger-see; 3: G.Ostersee; 4: Waschsee; 5: Fertőrákos; 6: Hidegség; 7: Hegykő; 8: Kerekedi-öböl; 9: Balatonmáriafürdő; 10: Bozsai-öböl;

11: Zalavári-víz;

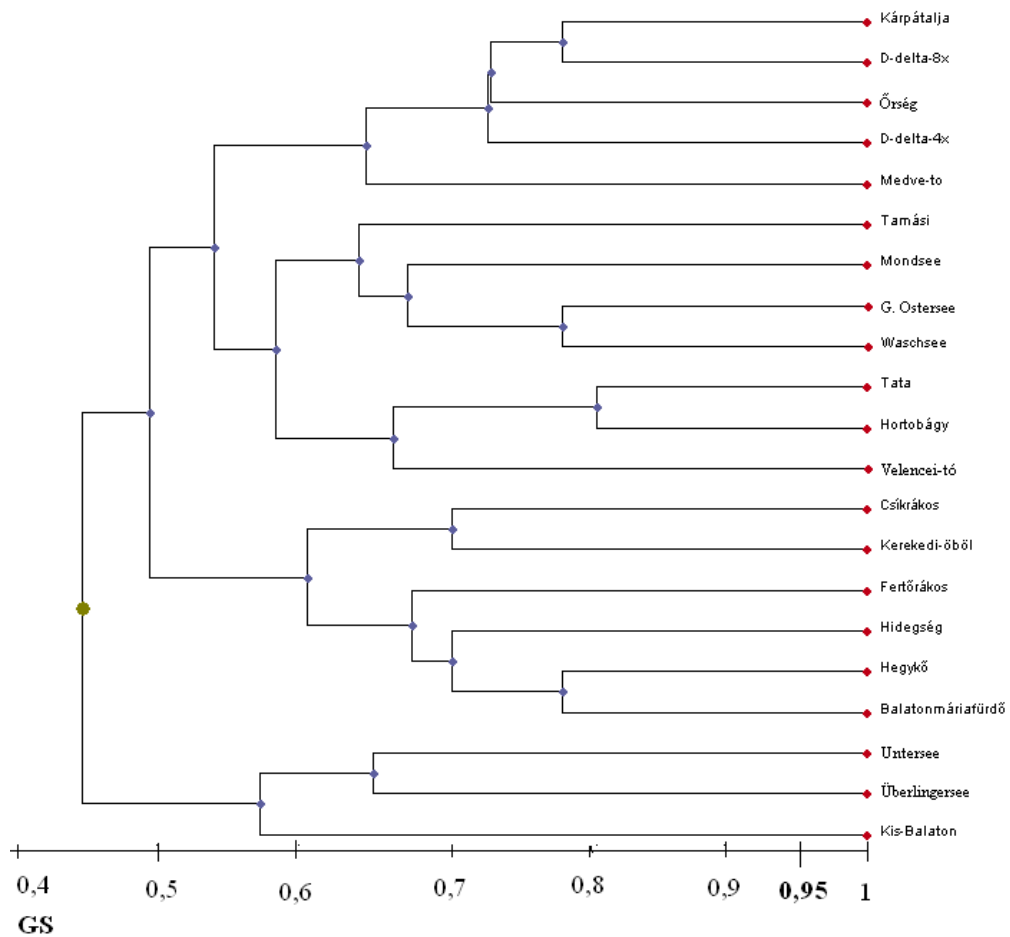
GS: Genetikai szimilaritás



45. ábra. A genetikai távolság a földrajzi távolság függvényében ábrázolva az öt tó 11 vizsgált nádas populációjánál- A diagramon négy csoportot tudunk elkülöníteni
 1: Untersee; 2: Überlinger-see; 3: G.Ostersee; 4: Waschsee; 5: Fertőrákos; 6: Hidegség; 7: Hegykő; 8: Kerekedi-öböl; 9: Balatonmáriaifürdő; 10: Bozsai-öböl; 11: Zalavári-víz

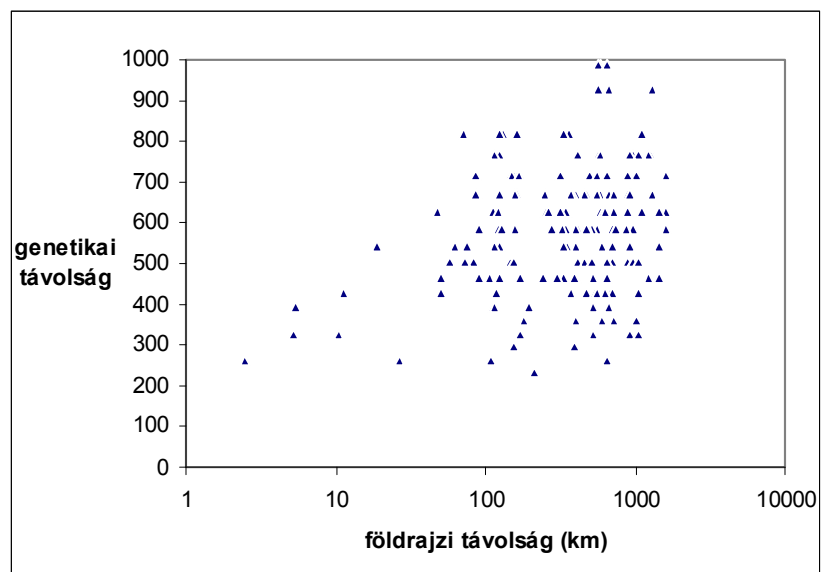


46. ábra. A genetikai távolság a földrajzi távolság függvényében ábrázolva egy-egy állományból kiindulva a vizsgált öt tó 11 nádas populációjánál
 1: Untersee; 2: Überlinger-see; 3: G.Ostersee; 4: Waschsee; 5: Fertőrákos; 6: Hidegség; 7: Hegykő; 8: Kerekedi-öböl; 9: Balatonmáriaifürdő; 10: Bozsai-öböl; 11: Zalavári-víz



47. ábra. Közép-Európa 21 helyén gyűjtött (11. ábra) 1-1 nádszál Nei-féle távolságmátrix alapján számított UPGMA dendrogramja

GS: Genetikai szimilaritás



48. ábra. A genetikai távolság a földrajzi távolság függvényében Közép-Európa 21 helyén gyűjtött (11. ábra) 1-1 nádszál mintájánál páronként ábrázolva

6. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

6.1. Klonális diverzitás és a nádasok kora

Klonális növények állományai legtöbbször mérsékelt klonális diverzitást mutatnak, és nem teljesen tisztázott, hogyan is marad fenn ez a változatosság. A magról kialakult állományban eleinte csökken a diverzitás, azután beáll egy állandósult szintre, és viszonylag kevés a monoklonális populáció. Ha a klónok között nem éles a verseny, viszonylag kis gén beáramlás is fenn tud tartani poliklonális állapotot (Andrew és tsai., 1993). Hogy a diverzitás fenntartásához hogyan és mennyiben járul hozzá a génáramlás, és mekkora lehet a szomatikus mutációk szerepe, még sok kutatást igénylő kérdések. A többi klonális növényhez képest a nád annyiban különleges, hogy van olyan állománya, amelyik vízben áll, és ez teljesen kizárja a magról való megújulást. Ezzel lehetne magyarázni, hogy több helyen, például a Parsteiner-see-ben, a Templesee-ben, és a Duna-delta egyes területein valóban nagy monoklonális állományokat találtak (Kühl and Neuhaus, 1993; Koppitz, 1999), de az állományok korát nem ismerjük.

Az általunk vizsgált nádasok korát a Bódeni-tóban legalább kétszáz évesre, de valószínűleg jóval öregebbre tehetjük. Az Osterseen nádasai is valószínűleg több száz évesek. A Fertő és a Balaton állományai 140 év körüliek lehetnek, a legfiatalabb pedig a Kis-Balaton állománya. Hasonló hosszúságú szakaszokon a klónok száma valóban a Bódeni-tóban volt a legkisebb, ezt követte az Osterseen. A Fertő és a Balaton nádasainak klonális diverzitása eléggé hasonlóan mutatkozott, és a Fertőben volt a legtöbb klón. Az, hogy a vízzel borított területeken, ahol nincs magról való szaporodás, idővel csökkenjen a klónok száma, mindenképpen várható. Az azonban, hogy 140 év elteltével is olyan sok klón legyen, mint a Balatonban és a Fertőben, és hogy még a legöregebb nádas is poliklonálisnak bizonyult, azt mutatja, hogy a klónok közötti verseny nem éles.

Újabban Curn és munkatársai (2007) két ismert korú tó nádasait hasonlították össze. Az egyik az Opatovicky halastó, amely 1510 és 1514 között készült, a másik az 1970 és 1994 között létesült Hlámky homokbányató. A halastó 9 állományából vettek egyenként 200 m-es szakaszokon 5-5 mintát, a bányatóban pedig 7 állományából egyenként 100 méteres szakaszokon ugyancsak 5-5 mintát. A halastóban a 9-ből 5, a bányatóban a 7-ből 4 állomány bizonyult monoklonálisnak. A halastó esetében valóban feltehető, hogy a monoklonális állományok úgy keletkezhetek, hogy fél évezred alatt a legmegfelelőbb klón kiszorította a többit, de a bányatóban a 40 év ehhez aligha lehetett elegendő. Kisegítő magyarázatként az szolgál, hogy a bányató esetében egyes helyeken kevés magonc volt a

parton és így jöhettek létre monoklonális állományok. Ez lehetséges, de az is, hogy odasodródott rizómákból indulnak ki a nádasok olyan helyeken ahová a partról egyébként nem kerülhettek. Kérdésesnek látszik az is, hogy nem alakulhattak-e ki a halastóban és másutt is úgy a monoklonális állományok, mint a bányató fiatal nádasában, és miért vannak az ötszáz éves halastóban poliklonális állományok is?

Eredményeink, és az ismertett irodalmi adatok alapján úgy véljük, hogy a nádasok korán kívül a megtelepedés módjának is nagy szerepe lehet a klonális szerkezet kialakításában. Utóbbiban három alaptípust különböztetünk meg. Az elsőben egy nádcsomó kivetődik a partra, ahol egyébként nem nő nád, ott megtelepszik, és monoklonális állomány fejlődik ki belőle minden versengés nélkül. A másodikban valóban a parton magról szaporodik el az állomány, és ennek rizómái hatolnak azután egyre mélyebben a tóba. A klónok közötti verseny két részből állhat, attól függően, hogy melyik klón tud a még szabad területből mennél többet gyorsan elfoglalni, és azután melyik tudja a másikat a már elfoglalt területről kiszorítani? Hogy az állomány mennyire lesz sokszínű, az a kiinduló parti nádas diverzitásától is függhet. Hullhat sok vagy kevés, termékeny vagy kevésbé termékeny szemtermés az adott területre, ahol kedvezőbbek vagy kedvezőtlenebbek a csirázási viszonyok és a magoncok túlélési lehetőségei. Így azután többen vagy kevesebben indulnak a versenyen. A harmadik mód az, ahogy a sekély vizeink nádasai keletkezhetnek. Az ideiglenesen kiszáradt tófenékre hullott magokból nagyon sokszínű állomány nő fel, amelyet utólag áraszt el a víz. Később ezek az állományok is tovább terjeszkedhetnek a tóban. Az, hogy a genetikailag változatosan indult állomány másfél évszázad után is változatos, nem csak annak a következménye, hogy ha sok klón el is tűnt, a sokból még így is sok marad, hanem annak is, hogy a klónok között bizonyára többen vannak, amelyek a külső körülményeknek hasonlóan felelnek meg. A sekély tavakban a diverzitáshoz az is hozzájárulhat, hogy aszályok idején a nádas egy része szárazra kerül. Bár zárt állományokban nincs sok esélye a magoncokról való fejlődésnek, azt teljesen kizárni nem lehet. Ha azonban elő is fordul ilyen génbeáramlás, annak intenzitása nagyon korlátolt lehet, tehát a klónoknak a versengésből vagy egyéb okból való mortalitása a kifejlett állományban mindenképpen kicsiny.

6.2. A nádpusztulás

Amint az irodalmi áttekintésben is láttuk, a magoncok eléggé különleges feltételeket igényelnek fejlődésükhöz, és a természetes kiválogatódás is ebben a szakaszban lehet a legintenzívebb. A kifejlett állományok viszont stabilnak mutatkoznak, és ezekben a nád az

egyedül uralkodó faj. A nád egyik előnye, hogy magasra tud nőni, viszonylag kicsiny a fény igénye, és sűrű állománya elveszi a fényt a többi növény elől. Másik előnye, hogy a rizómáiban tárolt tápanyag felhasználásával tavaszi növekedése időben is megelőzi a többi növényekét. A harmadik tulajdonsága, ami hozzájárulhatott nagy elterjedéséhez, hogy kitűnően alkalmazkodott az elárasztott talajon való növekedéshez. A növényeknek a fényen és tápanyagokon kívül vízre és széndioxidra van szükségük. A vízi növényeknek a víz korlátlanul áll rendelkezésükre, a széndioxidot viszont a kiemelkedő növények sokkal könnyebben veszik fel a légkörből, mint az alámerült hínarak a vízből. Így nem meglepő, hogy a legnagyobb szervesanyag termelők az emergens makrofitonok. Azt, hogy a virágos növények közül olyan kevesen választották a vízi életmódot, az okozza, hogy a vízzel elárasztott talajt a szervesanyagok bomlása erősen anaerobbá teszi. Ha nagyon negatív a redox potenciál, a gyökerek nem tudnak tápanyagot felvenni, a rügyek elhalnak, és mérgező anyagok is keletkezhetnek. A nád és néhány más növény egy sajátos szellőztető rendszert fejlesztett ki (Armstrong és Armstrong, 1991; Brix és tsai., 1992; Armstrong és tsai., 1996; Beckett és tsai., 2001). A levelekben a sztóma alatt nagyobb a vízgőz nyomása, mint a külső légtérben, így a többi gázoké kisebb, és azok befelé diffundálnak. A kis nyílású sztóma jobban ellenáll a nyomás okozta kiáramlásnak, mint a diffúzív beáramlásnak. A levélben keletkező nyomás gázáramot hoz létre, amely végighalad a levél lemez aerenchimáján, a nád szárán, a rizómákon, és az előző évről visszamaradt holt szárazon vagy torzsákon keresztül tér vissza a légkörbe. Közben a levegő egy része a gyökereken keresztül a gyökérszónába diffundál, és azt megfelelően ellátja oxigénnel. A Balatoni nádasokban jó megvilágítás mellett egy-egy nádszálban az áramlási sebesség az 5 ml/percet is eléri (Herodek és Tóth 2002, 2004). Ha azonban a szerves anyag bomlása túl erős, ez a mechanizmus már nem tudja az oxigénfogyasztást kiegyenlíteni, és megindul a pusztulás. 2000 nyarán a Balaton ép nádasának üledékében -160 mV, a pusztuló nádas üledékében viszont -360 mV volt a redox potenciál. Ekkor azonban hosszú aszály kezdődött, és a vízállás, amelyet 30 éven keresztül nem engedtek +70 cm alá 2003-ra +23 cm-re süllyedt, a pusztuló állomány redoxpotenciálja viszont -112 mV-re emelkedett, tehát olyan lett, mint az ép állományé, és a Balatonban megindult a nádasok regenerálódása (Herodek és Tóth 2004). Légi fényképek elemzésével kimutatható, hogy a nádpusztulás azután kezdődött, hogy a hetvenes években a vízszintet +40 cm-ről +70 cm-re emelték, és az aszály okozta vízállás csökkenés hatására azok ismét előre kezdtek nyomulni (Zlinszky, 2007; Herodek és tsai., 2009). A nádpusztulás valószínű oka tehát az, hogy a megemelt vízállás mellett a hullámok nem tudják kiöblíteni a szerves törmeléket a nádasok aljából, ennek bomlása pedig annyira erős anaeróbiát okoz, hogy azt a nád már nem viseli el.

A Kerekedi-öböl ép és pusztuló nádasának vizsgálata során nem találtunk különbséget az állományok klonális diverzitásában. Az a tény, hogy a Balatonban nagy klonális diverzitás mellett is pusztult a nád, azt mutatja, hogy a pusztulásnak itt nem a diverzitás csökkenés az oka, és valószínűvé teszi, hogy más tavakban sem az.

6.3. Genetikai diverzitás, genetikai távolságok és a génáramlás

Nybom és Bartish (2000) 41 növényfaj RAPD elemzésének adatait összegyűjtve összefüggéseket keresett az életforma és a populáción belüli géndiverzitás között. Az egyes csoportokra kapott átlagokat zárójelben tüntetjük fel. Ez a nyitvatermőknél, nyilván a szélbeporzás miatt sokkal magasabb (0,36) volt, mint a virágos növényeknél (0,19). A hosszú életű évelőknél (0,24) jelentősen felül múlta az egynyáriakét (0,12) idegenmegtermékenyülőkét (allogám) (0,26) az önbeporzásukét (0,09) a szélporozta növényekét (0,29) az egyebekét és a késői szukcessziós állapotúakét (0,29) és a koraiakét (0,16). A nádra általunk kapott gén diverzitások jól beillenek ebbe a felsorolásba, a nád hosszú életű évelő, szélbeporzású növény.

Egy fajon belül a beltenyészet, genetikai sodródás és természetes szelekció hatására kisebb gén diverzitás várható az izolált öreg populációkban, mint a nyitottabbakban és a fiatalokban. Eredményeink szerint a Bódeni-tó és az Osterseen nádasában a gén diverzitás 0,15-0,16 volt, ami sokkal alacsonyabb, mint a Fertő, Balaton és Kis-Balaton 0,22-0,51 tartományba eső értékei. Ez is arra utal, hogy az előbbieket idősebb nádasok. A legnagyobb diverzitást Alsóörs és a Kis-Balaton mutatta. Lehet, hogy Alsóörs nádasának parti része valamilyen módon fiatalabb képződmény, és az állomány azért ugrik ki több mutató tekintetében is a többi balatoni állomány közül. Úgy véljük, hogy a gén diverzitást is befolyásolhatja a nádas megtelepedésének a módja. Ha a szárazföldön alakul ki először a nádas, az talán ott is „öregszik” egy ideig, mielőtt rizómái nekiindulnának magának a tónak. Ha viszont a magoncokról a kiszáradt tófenéken alakul ki az új állomány, és azt pár éven belül elönti a víz, az állomány saját magáról nem szaporodik tovább, és jobban megmarad az eredeti állapotban. A Shannon diverzitás és a populáción belüli genetikai távolságok is jól mutatják, mennyivel homogénebbek genetikailag az Bódeni-tó és az Osterseen egyes állományai, mint a hazai sekély tavaink nádasai. A genetikai hasonlóság mutatóiból viszont az is látszik, hogy a Bódeni-tó állományai még egymástól is jobban elkülönültek, mint a Balatoni állományok.

A gén áramlás rövidebb távolságon intenzívebb lehet, mint távoli területek között, így a legtöbb vizsgált fajnál, vízi növények közül pl. az *Eichhornia paniculata*-nál (Barett

et al., 1993) a genetikai távolság nő a földrajzival. Viszonylag kevés vizsgálat alapján feltételezték, hogy a nád esetében is jobban hasonlítanak genetikailag a tavon belüli a populációk egymáshoz mint más tavakéhoz, a kontinensen belül a tavak állományai közötti különbség azok földrajzi távolságával nő, és ennél jobban különböznek az egyes kontinensek állományai egymástól.

Genetikailag nagyon közel csak a Fertő három állománya volt egymáshoz, ezeknek viszont földrajzi távolsága sem haladta meg a 10 km-t. A Balatonnál az alsőörsi nádas genetikailag már közelebb esett a fertő-taviakhoz, mint a többi balatonihoz. A Mondsee és az Osterseen populációi is közelebb voltak a Balaton-Fertő állományaihoz, mint a földrajzilag sokkal közelebbi Bódeni-tóéhoz. Mindez egyrészt azt mutatja, hogy a nád esetében nincs egyszerű kapcsolat a genetikai és földrajzi távolság között, másrészt azt, hogy a Bódeni-tó állományai a többiektől elszigetelt, hosszabb fejlődésen átesett nádasok. Az egyes nádasok magról való megtelepedése között több évszázados különbségek lehetnek. Korábban másutt és másféle nádasok léteztek a kontinensen mint most. A térbeliség mellett ezért az időbeliség is hatással lehet a genetikai hasonlóságokra és különbözőségekre. Ha a vízben álló állományoknál nincs ivaros szaporodás, a genetikai eltérésük vagy hasonlóságuk nem a jelenlegi, hanem egy korábbi génáramlás intenzitását mutathatja.

Nem találtunk határozott kapcsolatot a földrajzi és genetikai távolság között akkor sem, ha páronként hasonlítottuk össze a Bódeni-tótól a Duna-deltáig terjedő, 1600 km hosszú terület 21 nádasából gyűjtött nádszálakat. Hasonló eredményről számolnak be legújabban Lambertini és munkatársai (2008), akik a Pó-síkság nádpopulációit vetik össze különböző távolságra lévő európai nádasokból vett egy-egy nádmintával. A Pó-síkság nádasaitól 500 km távolságig a genetikai távolság semmit nem változott, 500 és 1500 km között is csak 10 %-ot, majd afölött további 10 %-ot nött.

Ahogy az irodalmi áttekintésben láthattuk, a nád ivaros szaporodása kevésbé kutatott. A cikkek rendszerint megemlítik, hogy nem minden nádszál hoz virágzatot, nem minden virág hoz szemtermést, a magok nagy hányada steril lehet, és hangsúlyozzák a vegetatív szaporodás jelentőségét az ivarossal szemben. Ez természetesen az adott állomány szempontjából így is van, zárt állományban szárazon is kicsiny a magoncról való megújulás lehetősége, vízzel fedett területen pedig csak vegetatív szaporodás van. Nagy távolságon azonban egészen más a helyzet. Ha egy virágzatban tízezer virág van, egy hektáron pedig tízezer nádszál, akkor az a csökkentő tényezők mellett is hatalmas számú szemtermést jelenthet. Ezeknek viszont nem a helyi, hanem a hosszú távú terjedésben van alapvető szerepe. Már korábban felmerült az a gondolat, hogy számos klonális növény

azért termel hosszú távú terjesztésre megfelelő magokat, mert a helyi állomány növelést vegetatív úton is megoldotta. Más vélemények (Eriksson, 1992) szerint viszont az ivaros szaporodás jellege ősibb tulajdonság, mint a klonalitás, és azok a fajok, amelyek hosszú távú terjesztésre szolgáló magokat termeltek, húztak leginkább hasznot abból, ha helyileg vegetatív növekedésre álltak át.

Eredményeink, összhangban Lambertiniék adataival a hosszú távú génáramlásra utalnak a nádnál. Ez történhet a széllel szállított pollennel, és magokkal is. Sem az egyik sem a másik mennyiségét nem ismerjük a levegőben. A tapasztalat viszont azt mutatja, hogy ahol ideiglenesen szárazra kerül a tófenék, ott nagyon gyorsan megjelennek a magoncok. Ezt figyelhattuk meg a legutóbbi alacsony vízállásnál a Fonyód előtt kibukkant homokzátonyon. A szárazföldön is gyakran láthatunk fiatal nádat ott, ahol pl. építkezések miatt megbolygatták az eredeti növénytakarót. Hogy a szél mekkora távolságra tudja szállítani a nád magvait, még további kutatásokat igényel. A széllel messze szállított magoknak nagy szerepe lehetett az Észak-Amerikán belüli nád invázióban. Az Atlanti-óceán fölött azonban már nem juthat át jelentős mennyiségű mag, különben az invázió nem várt volna a behurcolásig. A behurcolt haplotípust Észak-Amerikában bizonyára sokkal kevesebb klón képviseli, mint Európában, mégis szélesen elterjedt. Ez nem azt mutatja, hogy a klónok szűk specialisták lennének.

Az irodalom tanulmányozása és saját eredményeink alapján átfogóbb képünk kezd kialakulni a nád populációgenetikai tulajdonságairól. A nád évelő, klonális, szélbeporzású növény, amelynek magvait a szél nagy területen terjeszti el, ezért 1500 km-en belül valójában egy meta-populáció található. A magoncok a növényzettől mentes talajon, leginkább természetes vizek időszakosan szárazzá vált fenekén tudnak kicsírázni. A nád életében a magonctól a kifejlett növényig való fejlődés időszaka a kritikus, ebben lehet legerősebb a szelekció. A fajnak több olyan tulajdonsága van, amely kifejlett állományaiban egyeduralkodóvá teszi a többi növény felett. Az állományok vagy partra vetett rizóma darabokból, vagy a rizómáikkal vízbehatoló szárazföldi nádasokból, vagy a kiszáradt fenéken kialakult és utólag elöntött nádasokból alakulhat ki. Első esetben várhatjuk a legkisebb, az utolsóban a legnagyobb klonális diverzitást. Mivel a kifejlett állományokban a szárazföldön alig van magról szaporodás, a vízben álló nádasban pedig egyáltalán nincs, a diverzitás idővel csökken. Ez a csökkenés viszont nagyon alacsony, mert a klónoknak tág az ökológiai tűrőképessége, és nem túl éles a köztük folyó verseny.

Most elemezzük a jelenlegi helyzetet, és próbáljuk kitalálni, hogy milyen folyamatok vezethettek ide. A jövőben elvben lehetőség lenne maguknak a folyamatoknak a vizsgálatára. Megnézhetnénk például, hogyan néz ki a klonális diverzitás az elárasztás

előtt, majd nyomon követhetnénk annak hosszú távú változását az elárasztás után. Ez annál jobban megtehető, mert nem csak a molekuláris genetika fejlődik rohamosan, hanem a térinformatika is, és modern GPS felhasználásával méteren belüli pontossággal meghatározható az egyes klónok kiterjedése. A Kis-Balatonban a közeljövőben kezdik meg hatalmas nádas területek elárasztását. Az intenzív biodiverzitás vizsgálatokból csak a nád genetikai diverzitásának kutatása maradt ki. A Fertő 200 km² nádas is sokkal részletesebb felmérést érdemelne a mostaninál. A Velencei-tó nádasainak genetikájáról semmit sem tudunk. Reménykedünk a kutatás folytatásának lehetőségében.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A nád nagytermetű, évelő, klonális növény, amely a trópusoktól a 70 szélességi fokig mindkét féltekén megtalálható. Főként a sekély vizeket kedveli, de nagyon különböző helyeken megél. Vitatott, hogy ezt a széles elterjedést a klónok ökológiai rugalmassága, vagy a különböző igényű klónok sokasága teszi-e lehetővé. Mivel a víz alatt a nád magja nem csírázik ki, a tartósan vízzel borított állományokban csökkenhet a genetikai diverzitás. A korábbi molekuláris genetikai vizsgálatok során nagy monoklonális állományokat találtak. Kialakult az az elképzelés, hogy a klónok a szárazföldön magról települnek meg, majd rizómáikkal indulnak a vízzel borított területek meghódítására. Itt éles verseny alakul ki köztük, és végül csak egy, az adott körülményeknek legjobban megfelelő, de szűk tűrőképességű klón marad meg. Az ilyen nádas már nem tud alkalmazkodni a változó körülményekhez, és feltételezték, hogy ennek a folyamatnak az európai nádpusztulásban fontos szerepe lehet. A vizsgálatok azonban kevés tóra terjedtek ki, és ezeknél sem ismerjük a nádasok korát.

A kérdés számunkra azért volt fontos, mert a Balaton nádasai öregek, és ezek is pusztultak.

A kérdés vizsgálatához olyan tavakat választottunk ki, amelyekben a vízállás hosszú távú alakulása ismert, így becsülhető a nádasok kora. A Bódeni-tóban két, az Osterseenben két, a Fertőben három, a Balatonban négy a Kis-Balatonban egy állományt jelöltünk ki. Mindegyik nádasból a vízfelőli és partfelőli szélén 150 vagy 200 méteres szakaszokon 10-10 nádmintát vettünk, és ezeket RAPD-PCR technikával elemeztük.

A vízfelőli oldalon a Bódeni tóban 4 és 5, az Osterseenben 6 és 7, a Fertőben 5, 8 és 8, a Balatonban 6, 6, 7 és 8, a Kis-Balatonban 10 klónt, a parti oldalon a Bódeni-tóban 5 és 8, az Osterseenben 4 és 8, a Fertőben 8, 10 és 10, a Balatonban 8, 10, 10 és 10, a Kis-Balatonban 10 klónt találtunk.

A vízfelőli sávban valóban kevesebb a klón, mint a partfelőliben.

Az idővel valóban csökken a klonális diverzitás, hiszen a Bódeni-tó nádasainak korát 200 évnél hosszabbra tehetjük, nagyon öregek az Osterseen nádasai is, a Fertő és a Balaton vízfelőli állományai 140-145 évesek, és a legfiatalabbak a Kis-Balaton nádasai.

Az a tény viszont, hogy még a legöregebb nádasok is polikonálisak, azt mutatja, hogy a klonális diverzitás csak lassan csökken, a klónok közötti versengés tehát nem lehet túlságosan erős.

A Fertőben és a Balatonban is volt nádpusztulás. Mivel mindkét tóban nagyon sok klónt találtunk, a pusztulást nem okozhatta a klonális diverzitás hiánya.

Hogy a klónok méretéről pontosabb képet kapjunk, az alsóörsi nádas belsejében 40 m x 40 m területről 4 m x 4 m rács szerint vettünk nádszálakat. A 95 minta 74 különböző klónhoz tartozott, a terület zömét tehát 4 m-nél kisebb átmérőjű klónok borítják.

A Balatonban az alsóörsi, a bozsai nádas, a Kis-Balatonban pedig a Zalavári-víz körüli nádas vízfelőli és partfelőli oldalán 150 méteres szakaszokról 5 méterenként vettünk nádszálakat. A 30 nádszál a vízfelőli oldalon az alsóörsi nádasnál 13, a bozsainál 11, a zalavárinál 17, a part felőli oldalon az alsóörsinél 30, a bozsainál 20, a zalavárinál 23 klónhoz tartozott. A vízfelőli szélen tehát nagyobbak a klónok, mint a partfelőlin és a nádas belsejében, de a klonális diverzitás ott is nagyon magas.

Úgy véljük, hogy a nádasok klonális diverzitása a populációk kora mellett a kiinduló állomány diverzitásától is függ, utóbbit pedig az állomány kialakulási módja határozza meg.

Ha egy rizóma köteg olyan helyen sodródik partra, ahol egyébként nem nő nád, minden verseny nélkül monoklonális állomány alakulhat ki belőle. Ha a parti nádasból indulnak a rizómák a víz felé, közepes diverzitású vízi állományt kaphatunk. A legnagyobb diverzitás akkor alakul ki, ha sekély tavak ideiglenesen szárazra került fenekén kelnek ki a magoncok, és az így kialakult állományt később árasztja el a víz. Ez magyarázhatja hazai nádasaink nagy genotípus gazdagságát.

A gén diverzitás, ami a heterozigotitás valószínűségét jelzi, a négy németországi állományban 0,15-0,16, a Fertőben 0,22-0,28, a Balatonban 0,24-0,36 tartományban mozgott, a Kis-Balatonban 0,33 volt. Nagyon hasonló tendenciát mutatott a Shannon diverzitás is. Az egyes állományokon belül páronként kiszámítottuk a klónok közötti genetikai távolságokat. Ezek átlaga a német tavakban 0,18-0,22, a Fertőben 0,26-0,37, a Balatonban 0,32-0,51 között változott, míg a Kis-Balatonban 0,47 volt.

Ezek a populációgenetikai adatok lényegesen magasabbak, mint az egynyári, önbeporzású vagy rovarbeporzású növényekre jellemző értékek, és az évelő, szélbeporzású növényekéhez hasonlítanak. A Bódeni-tó és az Osterseen állományainak viszonylag alacsony értékei a nádasok öregségére és elszigeteltségére utalnak, míg a hazai nádasok magas értékei intenzív, hosszú távú génáramlást valószínűsítnek.

A populációk genetikai hasonlósági együtthatói alapján szerkesztett UPGMA dendrogramon a Kis-Balaton először a Fertő állományaihoz csatlakozik, ezután kötődnek hozzájuk a balatoni nádasok, majd kisebb szimilaritásnál kapcsolódnak az Osterseen állományai, és annál is kisebbnél a Bódeni-tó nádasai. A 12 állományra páronként meghatároztuk a földrajzi és genetikai távolságot. A korábbi feltételezésekkel szemben a kettő között nincs egyértelmű kapcsolat. A Kis-Balaton nádasai Fertőrákosétól 125 km-re

esik, a genetikai távolságuk viszont csak 0,08, míg Balatonmáriafürdőtől 19 km-re van, a két állomány genetikai távolsága 0,14. A G. Ostersee Fertőrákostól 404 km-re fekszik, a genetikai távolság 0,26, az Untersee-től viszont csak 167 km-re esik, a gén távolság mégis 0,52. és így tovább.

Hogy a földrajzi távolság hatásának vizsgálatát kiterjesszük, Németország, Ausztria, Magyarország, Kárpátalja, Erdély és a Duna-delta 21 nádasából elemeztünk meg egy-egy nádszálat. Meghatároztuk minden mintának minden más mintától való genetikai és földrajzi távolságát. A genetikai távolságok átlaga 0,5 volt. A genetikai távolságok a földrajzi távolságok függvényében nem mutattak emelkedést.

Az eredmények azt jelzik, hogy az 1600 km-es távolságon belül erős a génáramlás.

A hatalmas mennyiségű maggal való hosszútávú terjeszkedés, a klonális és géndiverzitás és a klónok ökológiai plaszticitása együttesen teheték lehetővé a faj sikeres térhódítását.

8. SUMMARY

The common reed is a large, clonal, perennial grass, which can be found on both hemispheres from the equator to the latitude of 70°. It can survive under a wide variety of different conditions, but mainly lives in shallow waters. The question whether this wide distribution is permitted by the adaptability of single clones or by a multitude of specialist clones is widely disputed. The genetic diversity is gradually reduced in stands permanently covered by water because submerged seeds are unable to germinate. Previous molecular genetic studies have indicated that reed stands are monoclonal. This was explained by the hypothesis that the clones originate from seeds germinating on the dry shore, and the growth of the rhizomes expands the clone towards deeper water. This causes intensive competition among them, and finally only one specialist clone survives, the one with the best adaptation to the local environment. The specialist monoclonal reed could not accommodate to changing circumstances, so it was assumed that this process is an important cause of reed degradation in Europe. However, these investigations were only carried out on a small selection of lakes, and the age of the reed stands was unknown in these cases.

Our research focused on this problem because the reed-dominated wetlands of Lake Balaton are relatively old and are also degrading.

We selected lakes where the long-term changes of the water level are well known in order to be able to estimate the age of the reed stands for our study. Two stands were selected on Lake Constance (Bodensee), two in the Osterseen lake system, three on Lake Fertő (Neusiedler See), four on Lake Balaton and one in the Kis-Balaton wetland. 10 reed samples were collected at the shore side and 10 on the water side in a distance of 150 or 200 meters, and these were analyzed by PCR-RAPD.

On the border between the reed vegetation and the open water, 4 and 5 clones were found on Lake Constance, 6 and 7 on the Osterseen, 5, 8 and 8 on Lake Fertő, 6, 6 and 7 on Lake Balaton and 10 on Kis-Balaton. On the shore side, we found 5 and 8 clones on Lake Constance, 4 and 8 on the Osterseen, 8, 10 and 10 on Lake Fertő, 8, 10, 10, 10 on Lake Balaton, and 10 on Kis-Balaton.

This indicates that the clonal diversity is higher on the shore side as expected based on the hypothesis. Clonal diversity was also found to decrease with time, since the reeds on Lake Constance can be estimated to be 200 years old, the reeds of Osterseen are probably even older, the reed stands on Lake Fertő and Lake Balaton are 140-145 years old, and the youngest reeds are on Kis-Balaton.

However, the fact that even the oldest stands are polyclonal indicates that the clonal diversity decreases slowly, so the competition between the clones can not be intensive.

The reed stands on Lake Fertő and Lake Balaton are both subjects to die-back, but since the reeds in both lakes are highly polyclonal, the degradation could not have been caused by the lack of clonal diversity.

In order to gain finer scale information on the size of the clones, samples were collected in a 4m x 4m grid inside an area of 40 by 40 meters in a reed wetland near Alsóörs on Lake Balaton. The 95 collected samples belonged to 74 clones, so most of the area must have been occupied by clones smaller than 4 by 4 meters.

Further samples were collected on the shore and water side of 150-meter stretches of reed near Alsóörs and in the Bozsai Bay on Lake Balaton and on the Zalavári Basin of Kis-Balaton in intervals of 5 meters. The 30 reed culms collected on the water side belonged to 13 different clones at Alsóörs, 11 in the Bozsai Bay, 17 on the Zalavári Basin; the 30 culms on the shore side were from 30 clones at Alsóörs, 20 in the Bozsai Bay and 23 in the Zalavári Basin. On the water side the clones are larger than in the middle of the wetland or on the shore, but the clonal diversity was found to be relatively high even on the edge near the water.

In addition to the age of the reed bed, we suggest that the clonal diversity is also determined by the way the stands were formed.

If a bunch of rhizomes is deposited by the water on a stretch of shore that was previously not covered by reed, it can form a monoclonal stand without any competition at all. If rhizomes grow towards the water from a reed stand on the shore, the clonal diversity of the resulting stand is larger. But the largest diversity can probably be found where seeds germinate on the bottom of a shallow lake that is temporarily dry, and the resulting reed stand is only flooded later. This latter process would explain the large clonal diversity of Hungarian reed wetlands.

The genetic diversity, (which in this case is indicated by the probability of heterozygosity) is in the interval of 0.15-0.16 in the four stands in Germany, between 0,22-0,28 on Lake Fertő, 0,24-0,36 on Lake Balaton, and 0,33 on Kis-Balaton. The Shannon diversity showed similar tendencies. The genetic distance between the clones was calculated for every pair of two reed stands. The average distance was 0,18-0,22 for German lakes, 0,26-0,37 for Fertő, 0,32-0,51 for Balaton, and 0,47 for Kis-Balaton.

These population genetic indices are much higher than the values measurable for annual, self-pollinating or insect-pollinated plants, and are similar to the values of perennial, wind-pollinated plants. The relatively low genetic diversity and distance measured on Lake

Constance and the Osterseen show that these are old and isolated reed stands, while the high values measured for Hungarian lakes are probably explained by intensive gene transfer over long distances.

The UPGMA dendrogram calculated from the genetic similarity indices of the populations shows that the first connection of Kis-Balaton is to Lake Fertő, and Lake Balaton connects to this cluster. The reeds from Osterseen are connected with lower similarity to this group, and the last connection is for Lake Constance. The geographic and genetic distance was calculated for each pair of stands from the 12 locations. We found no visible correlation within these values, which contradicts the earlier expectations. The reeds from Kis-Balaton are in a geographic distance of 125 km from Fertőrákos, but their genetic distance is only 0,88, and in a geographic distance of 19 km from Balatonmárfürdő, but the genetic distance for this pair is 0,14. The G. Ostersee is in a distance of 404 km from Fertőrákos, while the genetic distance is 0,26; and in a distance of 167 km from Untersee, but the genetic distance is only 0,52, etc.

In order to extend the area where we studied the effect of geographic distances, we analyzed one reed culm in each of 21 reed stands in Germany, Austria, Ukraine (Transcarpathia), Transylvania and the Danube delta. We determined the geographic and genetic distance of all samples from each other. The average genetic distance was 0,5, and the genetic distances did not grow with the geographic distances.

These results show that the genetic transfer is intensive in the distance of 1600 km.

The successful spreading of this species was a result of the long travelling distance of the wind-blown seeds produced in large numbers, the clonal and genetic diversity and the ecological plasticity of the clones.

9. Új tudományos eredmények

1. A Balaton összes megvizsgált nádasa poliklonálisnak mutatkozott, a nádpusztulást tehát nem okozhatta a klonális diverzitás csökkenése.
2. A Bódeni tó nádasainak korát 200 évnél hosszabbra tehetjük. Nagyon öregek az Osterseen nádasai is. A Fertő és a Balaton vízfelőli állományai 140-150 évesek. A legfiatalabbak a Kis-Balaton nádasai. Mindegyik nádasból a víz felőli és partfelőli szélén 150 vagy 200 méteres szakaszon 10-10 nádmintát vettünk. A víz felőli oldalon a Bódeni-tó két nádasában 4 és 5, az Osterseen nádasában 6 és 7, a Fertőében 5, 8 és 8, a Balatonéban 6, 6, 7 és 8, A Kis-Balatonéban 10 klónt találtunk. A partfelőli sávban ennél is nagyobb volt a diverzitás. Az állandóan vízzel borított területeken a klonális diverzitás az idővel csökken, ez a csökkenés azonban lassú, azaz a klónok közötti versengés nem lehet túlságosan erős, hiszen a legöregebb nádasok is poliklonálisak.
3. Az 5 méterenként vett 30-30 minta a vízfelőli oldalon az alsóörsi nádasnál 13, a bozsainál 11, a zalavárinál 17 klónhoz a part felőli oldalon az alsóörsinél 30, a bozsainál 20, a zalavárinál 23 klónhoz tartozott.. Az alsóörsi nádas belsejében 40 m x 40 m területről 4 m x 4 m rács szerint vett 95 nádszál 74 különböző klónt mutatott. A terület zömét tehát 4 m-nél kisebb átmérőjű klónok borították. A rametek mérete ennél csak kisebb lehet.
4. A gén diverzitás a négy német állományban 0,15-0,16, a hat magyarban 0,22-0,36 tartományban mozgott. Nagyon hasonló tendenciát mutatott a Shannon diverzitás is. Az állományokon belüli átlagos genetikai távolság a német tavakban 0,18-0,22, a magyarokban 0,26-0,51 volt. A Bódeni-tó és az Osterseen állományainak alacsonyabb értékei a nádasok öregségére és elszigeteltségére utalnak, míg a hazai nádasok magasabb értékei intenzív hosszú távú génáramlást valószínűsítene.
5. Genetikailag a Kis-Balaton, a Balaton és a Fertő-tó nádasai nagyon közel vannak egymáshoz, de a Kis Balaton nádasa közelebb esik a Fertő-tavi állományokhoz, mint a földrajzilag sokkal közelebbi balatoniakhoz. Az Osterseen nádasai is közelebb vannak a Fertő állományaihoz, mint a földrajzilag sokkal közelebb lévő Bódeni-tóéhoz. A nádasok genetikai távolságában nagy szerepe lehet azok izoláltságának és kialakulásuk idejének, amiben több száz éves különbségek is lehetnek. A Bódeni-tótól a Duna-deltáig öt ország 21 nádasából vizsgáltunk meg egy-egy nádszálat, és páronként összehasonlítva azok genetikai és földrajzi

távolságát. A genetikai távolság nem nőtt a földrajzival. Ez egy nagy metapopulációt jelez az 1600 km-es távolságon belüli erős génáramlással.

6. A nád azok közé a növények közé tartozik, amelyeknek apró magvai a hosszú távú terjedést szolgálják, míg a kialakult állományok vegetatív úton oldják meg a terjeszkedést. Az állományok klonális szerkezete alapvetően függhet a kialakulásuk módjától. Partra vetődött rizóma kötegből könnyen alakulhat ki monoklonális állomány. Ha a parton szaporodik el magról a nád, és ennek rizómái hatolnak egyre mélyebben a tóba, közepesen diverz állomány várható. Sekély vizeinkben viszont az ideiglenesen kiszáradt fenékre hullott magból nagyon sokszínű kiinduló állomány nőhet fel, melyet utólag áraszt el a víz.

10. IRODALOM JEGYZÉK

- Adam-Blondon, A.F., Sevignac, M., Bannerot, H., Dron, M. (1994): SCAR, RAPD and RFLP markers linked to a dominant gene (Are) conferring resistance to anthracnose in common bean. *Theor Appl Genet.*, 88:865-870.
- Agarwal, M., Shrivastava, N., Padh, H. (2008): Advanced in molecular techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep.*, 27: 617-631.
- Akkaya, M.S., Bhagwat, A.A., Cregan, P.B. (1992): Length Polymorphisms of Simple Sequence Repeat DNA in Soybean. *Genetics*, 132: 1131-1139.
- Althoff, D.M., Gitzendanner, M.A., Segraves, K.A. (2007): The utility of amplified fragment length polymorphism in phylogenetics: a comparison of homology within and between genomes. *Syst Biol.*, 56: 477-484.
- Armstrong, J., Armstrong, W. (1991): A convective gas through-flow in *Phragmites australis*. *Aquat Bot.*, 39: 75-88.
- Armstrong, W., Armstrong, J., Beckett, P.M. (1966): Pressurised ventilation in emergent macrophytes: the mechanism and mathematical modelling of humidity-induced convection. *Aquat Bot.*, 54: 121-136.
- Bardacki, F. (2001): Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Turk J Biol.*, 25:185-196
- Barett, S.C.H., Eckert, C.G., Husband, B.C. (1993): Evolutionary processes in aquatic plant populations. *Aquat Bot.*, 44: 105-145.
- Beckett, P.M., Armstrong, W., Armstrong, J. (2001): A modelling approach to the analysis of pressure-flow in *Phragmites* stands. *Aquatic Botany.*, 69: 269-291.
- Bendefy, L. (1968): A Balaton vízszintjének változásai a neolitikumtól napjainkig. *Hidrol. Közl.*, 48: 257-263.
- Bendefy, L.(1973): Relation existing between the eriodic fluctuation of the water levels of the Hungarian lakes and solar activity. *Proc. Int. Symp. On Hydrology of Lakes, Helsinki, IAHS Publication*, 109: 109-114.
- Bittmann, E. (1953): Das Schilf (*Phragmites communis Trin.*) und seine Verwendung in Wasserbau. *Angew. Pfl. Sociol.*, 7: 5-47.
- Björk, S. (1967): Ecological investigation of *Phragmites communis*. *Studies in theoretical and applied limnology. Folia Limnol. Scand.*, 14: 1-248.
- Brix, H., Sorrel, B.K., Orr, P.T. (1992): Internal pressurization and convective gas flow in some emergent freshwater macrophytes. *Limnol. Oceanogr.*, 37: 1420-1433.
- Brix, H., Cizkova, H. (2001): Introduction: *Phragmites*-dominated wetlands, their functions, and sustainable use. *Aquat. Bot.* 69, 87-88.
- Buttery, B.R. (1959): An investigation into the competition between *Glyceria maxima* (Hatm.) Holmb., and *Phragmites communis Trin.*, in the region of Surlingham Broad. Norfolk. Ph.D. thesis, University of Southampton, U.K.
- Catenao-Annolés, G., Bassam, B.J. (1993): Amplification fingerprinting using arbitrary oligonucleotide primers. *App Biochem Biotechnol.*, 42:189-200.

- Chambers, R.M., Meyerson, L.A., Saltonstall, K. (1999): Expansion of *Phragmites australis* into tidal wetlands of North America. Aquatic Botany, Volume: 64 Issue: 3-4 Pages: 261-273 Published: SEP Clayton, W. D. 1967, Studies in the Graminae. XIV. Kew. Bull., 21: 111-117.
- Clevering, O. A., Lissner, J. (1999): Taxonomy, chromosome numbers and population dynamics of *Phragmites australis*. Aquat. Bot., 64: 185-208.
- Clevering, O.A. (1999): Between and within-population differences in *Phragmites australis*. I: The effect of nutrients on seedling growth. Oecologia, 121: 447-457.
- Connor, H.E., Dawson, M.J., Keating, R.D., Gill, I.S. (1998): Chromosome number in *Phragmites australis* (Arundineae:Gramineae) in New Zealand. N. Z. J. Bot., 36: 465-469.
- Coops, H., Van der Velde, G. (1995): Seed dispersal, germination and seedling growth of six helophyte species in relation to water-level zonation. Freshwater Biol., 34: 13-20.
- Curn, V., Kubatova, B., Vavrova, P., Sucha, O., Cizkova, H. (2007): Phenotypic and genotypic variation of *Phragmites australis*. Comparison of populations in two man-made lakes of different age and history. Aquatic Bot., 86: 321-330.
- Dienst, M., Schmieder, K., Ostendorp, W. (2004): Dynamik der Schilfröhrichte am Bodensee unter dem Einfluss von Wasserstandsvariationen. Limnologica, 34: 29-36.
- Dobesch, H., Neuwith, F. (1979): Water Balance in: Löffler H. ed.: Neusiedlersee: The Limnology of a Shallow Lake in Central Europe. Junk bv Publishers, The Hague-Boston-London, 79-84.
- Durska, B. (1970): Changes in the reed (*Phragmites communis Trin.*) caused by diseases of fungal and animal origin. Polish Archives of Hydrobiology, 17: 373-396.
- Dykyova, D. (1971): Productivity and solar energy conservation in reed swamp stands in comparison with outdoor mass culture of algae in the temperate climate of Central Europe. Photosynthetica, 5: 329-340.
- Edwards, A., Civitello, A., Hammond, H.A., Caskey, C.T. (1991): DNA typing and genetic mapping with trimeric tandem repeats. Amer J Human Genet., 49: 746-756.
- Ekstam, B. (1995): Regeneration traits of emergent clonal plants in aquatic habitats. Ph.D. dissertation. University of Lund, Sweden.
- Ellstrand, N.C., Roose, M.L. (1987): Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. Amer.J. Bot. 74: 123-131.
- Ellsworth, D.L., Rittenhouse, K.D., Honeycutt, R.L. (1993): Artifactual variation in randomly amplified polymorphic DNA banding patterns. BioTechniques, 14: 214-217.
- Entz, G., Sebestyén, O. (1942): A Balaton Élete. Kir. Magyar Trészettudományi Társulat Kiadó Vállalat, Budapest, 1-336 old.
- Eriksson O. (1992): Evolution of seed dispersal and recruitment in clonal plants. Oikos 63: 439-448.
- Gervais, C., Trahan, R., Moreno, D., Drolet, A.M. (1993): *Phragmites australis* in Quebec- Geographic distribution, chromosome numbers and reproduction. Can. J. Bot. 71: 1386-1393.

- Goman, M., Wells, L. (2000): Trends in river flow over the last 7000 yr affecting the Northeastern reach of the San Francisco Bay estuary. *Quaternary Research*, 54: 206-217.
- Gordon-Gray, K.D., Ward, C.J. (1971): A contribution to knowledge of *Phragmites* (*Graminae*) in South Africa, with particular reference to Natal populations. *S. Afr. J. Bot.* 37: 1–30.
- Gorenflot, R. (1976): Le complexe polyploïde du *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud (= *P. communis* Trin.). *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 123: 261-271.
- Gorenflot, R., Hubac, J.M., Jay, M., Lalande, P. (1982): Geographic distribution and pattern of flavoids in *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. Proc, NATO Adv. Study Inst. Serie G Ecol. Sci., 1: 474-478.
- Gorenflot, R. (1986): Degrés and niveaux de la variation du nombre chromosomique chez *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex Steud. Veröff. Geobot. Inst. ETH, Stiftung Rübel. Zürich, 87: 53-65.
- Gorenflot, R., Sanei-Chariat Panahi, M., Liebert, J. (1979): Le complexe polyploïde du *Phragmites australis* (Cav.)
- Gorenflot, R., Tahiri H., Lavabre P. (1990): Anomalies meiotiques de la microsporogénèse dans un complex poliploïde: *Phragmites australis*(Cav.) Trin. ex Steud. *Rev. Cytol. Biol. végét.-Bot.*, 13: 153-172.
- Grodzicker, T., Williams, J., Sharps, P., Sambrook, J. (1974): Physical mapping of temperature-sensitive mutations of adenovirus. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol.*, 39: 439-446.
- Gustaffson, A., Simak, M. (1963): X-ray photography and seed sterility in *Phragmites communis* Trin. *Hederitas*, 49: 442-450.
- Harris, S.W., Marschall, W.H. (1960): Experimental germination of seed and establishment of *Phragmites communis*. *Ecology*, 41: 395.
- Haslam, S.M. (1971): The development and establishment of young plants of *Phragmites communis* Trin. *Annals of Botany*, 35: 1059-1072.
- Haslam, S.M. (1972): Biological flora of the British isles. *Phragmites communis* Trin. *Journal of Ecology*, 60: 585-610.
- Haslam, S.M., (1973): Some aspects of the life history and autecology of *Phragmites communis* Trin. A review. *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 20: 79-100.
- Haslam, S.M. (1970): The development of the annual population of *Phragmites australis* Trin.. *Annals of Botany*, 34: 571-591.
- Haslam, S. M. (1969 a.): Stem types of *Phragmites communis* Trin. *Ann. Bot.*, 33: 127-131.
- Hayashi, K. (1969): Response of net assimilation rate of to differing intensity of sunlight in rice varieties. *Proc. Crop. Sci. Japan*, 38: 495-500.
- Hemmat, M., Weeden, N.F., Manganaris, A.G., Lawson, D.M. (1994): Molecular marker linkage map for apple. *J Heredity*, 85:4-11.
- Herodek, S., Tóth, V. (2002): A makrofitonok elterjedését befolyásoló tényezők a Balatonban III. A 2001. évi kutatások eredményei. In: Machunka S., Baczerowski J. (szerk.): A Balaton Kutatásának 2001. Évi Eredményei, MTA Budapest, 93-101.

- Herodek, S., Tóth, V. (2003): A makrofíronok elterjedését befolyásoló tényezők a Balatonban IV: A 2002. évi kutatások eredményei. In: Machunka S., Banczerowski J. (szerk.): A Balaton Kutatásának 2002. Évi Eredményei., MTA Budapest, 85-92.
- Herodek, S., Tóth, V. (2004): Ép és pusztuló balatoni nádasok összehasonlító kutatása. In: Machunka S., Banczerowski J. (szerk.): A Balaton Kutatásának 2003. Évi Eredményei. MTA, Budapest, 64-72.
- Herodek, S., Tóth, V., Lukács, V. (2005): Ép és pusztuló balatoni nádasok összehasonlító kutatása II.: A 2004. évi eredmények. – In: *A Balaton kutatásának 2004. évi eredményei. (Szerk.: Machunka S., Banczerowski J.), Magyar Tudományos Akadémia, Budapest, ISSN 1419-1075, p. 65-74.*
- Herodek, S., Tóth, V., Zlinszky, J., Lukács, V. (2009): Mitől pusztul a nád? In: Biró P. (szerk.) Balatonkutatásról Mindenkinek (könyv szerkesztés alatt)
- Hocking, P.J., Finlayson, C.M., Chick, A.J. (1983): The biology of Australian weeds. 12. *Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steud.* J. Aust. Inst. Agr. Sci., 49: 123–132.
- Hürlimann, H.,(1951): Zur Lebensgeschichte des Schilf an den Ufern der Schweizern Seen. Beitr. Geobot.Landesaufn., 30: 1-232.
- Jacob, H. J. és tsai (1995): A genetic linkage map of the laboratory rat, *Rattus norvegicus*. Nat. Genet., 9: 63-69.
- Karska, M., Podolski, G., Podolska, M. (1992): Germination under various culture conditions of reed caryopses (*Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steud.*) from Lake Patnowskie (near Konin, Poland) with heated water. Acta Hydrobiologica, 34: 213-225.
- Kéz, A. (1931): A balatoni medencék és a Zalavölgy. Pótfüzetek a Természettudományi Közlöny 63. kötethez. 182-183. pótfüzet 49-61.
- Kiss, G.B., Csanadi, G., Kalman, K., Kalo, P., Okresz, L. (1993): Costruction of a basic linkage map for alfafa using RFLP, RAPD, isozyme and morphological markers. Mol. Gen. Genet., 238: 129-137.
- Kopf, F. (1974): Der neue Wasser haushalt des Neusiedler Sees. Österr. Wasser wirtschaft, 26: 169-180.
- Koppitz, H., Kühl, H., Hesse, K., Kohl, J.G. (1997): Some aspects of the importance of genetic diversity in *Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steudel* for the development of reed stands. Bot. Acta., 110: 217-223.
- Koppitz, H. (1999): Analysis of genetic diversity among selected populations of *Phragmites australis* world-wide. Aquat. Bot., 64, 209-221.
- Koppitz, H., Kühl, H. (2000): To the importance of genetic diversity of *Phragmites australis* in the development of reed stands. Wetk. Ecol. Manag., 8: 403-414.
- Kovács M. (1976): Die Bedeutung der Balaton-Uferzone für den Umweltschutz am See. Acta Bot. Acad. Sci. Hung. 22, 85-105.
- Krejci, G. (1974): Jahresperiodische Stoffwechselschwankungen in *Phragmites communis*. Diss. Univ. Wien.
- Kühl, H., Neuhaus, D. (1993): The genetic variability of *Phragmites australis* investigated by random amplified polymorphic DNA, In: Ostendorp W., Krumscheid-Plankert P. (Eds.), Seeuferzerstörung und Seeuferrenaturierung in Mitteleuropa, Gustav Fischer, Stuttgart, pp. 9-18

- Lambertini, C., Gustaffson, M. H. G., Frydenberg, J., Speranza, M., Brix, H. (2008): Genetic diversity patterns in *Phragmites australis* at the population, regional and continental scales, *Aquat. Bot.*, 88: 160-170.
- Lenoir, A., Stoian, V., Cartier, D., Gorenflot, R., Raicu, P., Lucien, M. (1975): Polyploidie et méiose pollinique du.
- Les, D.H., Pholbrick, C.T. (1993): Studies of hybridization and chromosome number variation in aquatic angiosperms-evolutionary implications. *Aquat. Bot.*, 44: 181-228.
- Lewontin, R.C. (1972): The Apportionment of Human Diversity, Committee on Evolutionary Biology. University of Chicago, Chicago, Illionis, 381-398.
- Litt, M., Luty, J.A. (1989): A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Amer J Human Genet.*, 44: 397-401.
- Lynch, M., Milligan, B.G. (1994): Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molec Ecol.*, 3: 91-99.
- Marks, M., Lapin, B., Randall, J. (1994): *Phragmites-australis (P. communis)* threats, management, and monitoring. *Natural Areas Journal* Volume, 14 Issue: 4 Pages: 285-294 Published: OCT.
- Martin, G.B., Williams, J.G.K., Tanksley, S.D. (1991): Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 88: 2336-2340.
- McKee J., Richards A.J. (1996): Variation in seed production and germinability in common reed (*Phragmites australis*) in Britain and France with respect to climate. *New Phytol.*, 133: 233-243.
- Melzer, A. (1976): Makrophytische Wasserpflanzen als Indikatoren des Gewässerzustandes oberbayerischer Seen. *Diss. Bot.* 34, Vrl. J. Cramer Voduuz, 34: 1-195.
- Metzler, K., Rosza, R. (1987): Additional notes on the tidal wetlands of the Connecticut River. *Newsletter of the Connecticut Botanical Society*, 15: 1-6
- Mian, M.A.R., Hopkins, A.A., Zwonitzer, J.C. (2002): Determination of genetic diversity in tall fescue with AFLP markers. *Crop. Sci.*, 42: 944-950.
- Moser, I. (1866): Der Abgetrocknete Boden des Neusiedler See's. *Jahrb. Geol. Reichanst.*, Vienna.
- Mullis, K.B., Faloona, F. (1978): Specific synthesis of DNA in vitro via polymerase chain rection. *Methods Enzymol.*, 155: 350-355.
- Nei, M., Li, W.H. (1979): Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 5269-5273.
- Nei, M. (1973): Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70: 3321-3323.
- Nei, M.(1987): *Molecular evolutionary genetics*. New York : Columbia University Press, 512 p. ISBN 0231063202.
- Niering, W.A., Warren, R.S., Weymuth, C. (1977): "Our Dynamic Tidal Marshes: Vegetation Changes as Revealed by Peat Analysis." *Conn. Arboretum Bull. No. 22*, New London, CT.

- Nikolajevsky, V.G. (1971): Research into the biology of the common reed (*Phragmites communis Trin.*) in the U.S.S.R.. *Folia Geobotanica Phytotaxonomica*, 6: 221-230.
- Nybom, H., Bartish, I.V. (2000): Effects of life history and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 3/2, 93-114.
- Okubo, T., Oizumi, K., Hoshino, M. (1968): An observation of solar energy conversion of primary canopies of forage crops. In: *Photosynthesis and utilization of solar energy. Level III. Experiments. JIBP/PP-Photosynthesis level III.Group, Tokyo.*
- Ondok, J.P. (1973): Photosynthetically active radiation in a stand of *Phragmites communis Trin.*, II. Modell of light extinction in a stand. *Photosynthetica*, 7: 50-57.
- Orson, Richard A. (1999): A Paleocological Assessment of *Phragmites australis* in New England Tidal Marshes: Changes in Plant Community Structure During the Last Few Millennia Biological Invasions, Issue Volume 1, Numbers 2-3 Pages 149-158 / June,
- Ostendorp, W. (1999): Susceptibility of lakeside *Phragmites* reeds to environmental stresses: examples from Lake Constance-Untersee (SW Germany), *Limnologica*, 29(1):21-27.
- Ostendorp, W; Brem, H., Dienst, M., Jöhnk, K., Mainberger, M., Peintinger, M., Rey, P., Rossknecht, H., Schlichtherle, H., Straile, D., Strang, I., Heft, S. (2007): Auswirkungen des globalen Klimawandels auf den Bodensee, *Schriften des Vereins für Geschichte des Bodensees und seiner Umgebung*, 125: 199-244.
- Paran, I., Kesseli, R., Michelmore, R. (1991): Identification of restriction-fragment-length-polymorphism and random amplified polymorphic DNA markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce, using near isogenic lines. *Genome* 34: 1021-1027.
- Paran, I., Michelmore, R.W. (1993): Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor. Appl. Genet.*, 85: 985-999.
- Pauca-Comenescu, M., Clevering, O.A., Hanaganu, J., Gridin, M. (1999): Phenotypic differences among ploidy levels of *Phragmites australis* growing in Romania. *Aquat. Bot.*, 64: 223-234.
- Pellegrin, D., Hauber, D.P. (1999): Isozyme variation among populations of the clonal species, *Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steudel*, *Aquatic Botany Volume: 63 Issue: 3-4 Pages: 241-259.*
- Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steud.* C.R. Acad. Sci. Paris 280, Série D 621–624.
- Pomogyi, P. (2006): A Kis-Balaton makrovegetációjának változásai - Történelmi távlatok. *Hidrológiai Közlöny*, 91-93.
- Raicu, P., Staicu, S., Stoian, V., Roman, T. (1972): The *Phragmites australis Trin.* Chromosome complement in the Danube delta. *Hydrobiol.*, 39: 83-89.
- Ridley, H. N. (1930): *The dispersal of plants throughout the world.* Ashford, Kent, Reeve and Co.
- Riedmüller, G. (1965): Der Schilfgürtel des öster. Anteils des Neusiedles Sees 1938-1958. *Wiss. Arb. Bgld.*, 32: 58-59.
- Rosewald-Rudescu, L. (1974): *Das Schilfrohr. Die Binnengewässer.* E.Schweizerbart. Stuttgart, 27: 302.

- Rudescu, L., Niculescu, C., Chivu, I.P. (1965): Monografia stufului den delta Dunarii. Bucuresti, Edit. Akad. Rep. Soc. Romania.
- Sahuquillo, E., Lumaret, R. (1999): Chloroplast DNA variation in *Dactylis glomerata* L-taxa endemic to the Macaronesian islands. *Molecular Ecology* Volume: 8 Issue: 11 1797-1803.
- Saltonstall, K. (2002): Cryptic invasion by a non-native genotype of the common reed, *Phragmites australis*, into North-America. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99: 2445-2449.
- Samuelson, G. (1934): Die Verbreitung der höheren Wasserpflanzen in Nordeuropa. *Acta phytogeogr. suec.*, 6: 1-211.
- Sanghai-Marroof, M.A., Biyashev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q., Allard, R.W. (1994): Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 5466-5470.
- Schmieder, K., Dienst, M., Ostendorp, M., Jöhnk, K. (2004): Effects of water level variations on the dynamics of reed belts of Lake Constance. *Ecology and Hydrobiology*, 4: 229-239.
- Scholz, H., Böhring, N. (2000): *Phragmites frutescens* (Gramineae) revised. The discovery of an overlooked, woody grass in Greece, especially Crete. *Willdenowia*, 30: 251-261.
- Soltis, D.E., Gitzendanner, M.A., Strenge, D.D., Soltis, P.S. (1997): Chloroplast DNA intraspecific phylogeography of plants from the Pacific Northwest of North America. *Plant Systematics and Evolution* Volume: 206 Issue: 1-4 Pages: 353-373
- Stebbins, G.L. (1971): Chromosomal evolution in Higher Plants. Edward Arnold, London.
- Strand, M., Prolla, T.A., Liskay, R.M., Petes, T.D. (1993): Destabilization of tracts of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. *Nature*, 365: 274-276.
- Szeglet, P., Dömötörfy, Zs., Pomogyi, P. (1999): A nádas határ változása a Kis-Balatonon az 1950-es évektől napjainkig. *Hidrológiai Közöny*, 386-387.
- Tanksley, S.D., Orton, T.J. (eds) (1983): *Isosymes in Plant Genetics and Breeding*. Elsevier Amsterdam-Oxford-New York.
- Tautz, D., Renz, M. (1984): Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eucaryotic genomes. *Nucleic Acids Res.*, 12 (10): 4127-4138.
- Tischler, G. (1942): Polyploidie und Artbildung. *Naturwissenschaften* 48/49: 713-718.
- Torres, A.M., Weeden, N.F., Martin, A. (1993): Linkage among isozyme, RFPL, and RAPD markers. *Plant Physiol*, 101: 394-452.
- Tóth, L. (1960): Phytozönologische Untersuchungen über die Röhrichte des Balaton-Sees. *Annal. Biol. Tihany*, 27: 209-242.
- Tóth, L., Szabó, E. (1961): Zönologische und Ökologische Untersuchungen in den Röhrichten des Neusiedlersees (Fertő-tó). *Annal. Biol. Tihany*, 28: 151-168.
- Trin. ex Steud. (= *P. communis* Trin.) en Iran. *Rev. Cytol. Biol. Bot.*, 2: 67-81.
- Tsvelev, N.N. (1984): Grasses of the Soviet Union Part II. In: Fedorov, A.A. (Ed), *Russian Translations Series 8*. Balkema, Rotterdam.

- Van der Toorn, J. (1972): Variability of *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex Steudel in relation to the environment. Van Zee zot Land, 48: 1-122.
- Virág, Á. (1998): A Balaton múltja és jelene. Eger, pp. 904.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van der Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M. (1995): AFLP a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res, 23: 4407-4414.
- Watkinson, A.R., Powell, J.C. (1993): Seedling recruitment and the maintenance of clonal diversity in plant populations- a computer simulation of *Ranunculus repens*. Journal of Ecology, 81: 707-717.
- Weisner, S.E.B., Granelly, B., Ekstam, B. (1993): Influence of submergence on growth of seedlings of *Scirpus lacustris* and *Phragmites australis*. Freshwater Biol., 29: 371-375.
- Welsh, J., McClelland, M., (1990): Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res., 18: 7213-7218.
- Wenz, H.M., Robertson, J.M., Menchen, S., Oaks, F., Demorest, D.M., Scheibler, D., Rosenblum, B.B., Wike, C., Gilbert, D.A., Efcavitch, J.W. (1998): High-precision genotyping by denaturing capillary electrophoresis. Genome Res, 3: 69-80.
- Williams, K., et al (1990): DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res., 18: 6531-6535.
- Yang, G.P., Saghai-Maroo, M.A., Xu, C.G., Zhang, Q., Biyashev, R.M. (1994): Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. Molecular and General Genetics, 245: 187-194.
- Yin, X., Stam, P., Dourleijn, C.J., Kropff, M.J. (1999): AFLP mapping of quantitative trait loci for yield-determinating physiological characters in spring barley. Theor Appl Genet, 99: 244-253.
- Zax, M. (1973): Die Temperaturresistenz von *Phragmites communis* Trin. Pol. Arch. Hydrobiol., 20: 159-164.
- Zlinszky, A. (2007): A balatoni nádpusztulás légifelvétel vizsgálat. Tudományos diákköri dolgozat. XVIII. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Biológia szekció. 1-29.
- Zong, W., Chen K., Taiguchi K., Kondo A., (1991): A chromosome study in intraspecific polyploidy of *Phragmites australis* and its related species. Kromosomo, 11: 2168-2172.

Mellékletek:

M1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AFLP = amplifikált fragmentumhossz polimorfizmus

AP-PCR = PCR tetszés szerinti primerrel

bp = bázispár

cDNS = kópia DNS

DAF = DNS amplifikációs ujjlenyomat

DAPI = 4',6-diamidino-2-fenilindol (Merck)

DNS = deoxiribonukleinsav

dNTP-k = dexozinukleotid triózfoszfátok

EtBr = Etídium-bromid

LAI = levél területi index

LB = loading buffer festék

OP = Operon primer

PCR = polimeráz láncreakció

PhAR = fotoszintetikusán aktív sugárzás

RAPD = véletlen amplifikált polimorf DNS

RFLP = restrikciós fragmentumhossz polimorfizmus

RN-áz = ribonukleáz

SCAR = ismert szekvenciájú amplifikált régió

SSR = mikroszatellit régió

STR = rövid tandem ismétlődés

TBE = Tris-Bórsav-EDTA puffer

UPGMA = távolságokat optimalizáló csoportátlag

M2. OLDATOK, PUFFEREK ÖSSZETÉTELE

Oldatok készítése gélelektóforézis vizsgálatához

TBE puffer

Tris bázis 27 g

Bórsav 13,75 g

EDTA 10 ml, pH= 8

1 l-re hígítani desztillált vízzel.

LB (loading buffer festék)

Peacock (10-szeres)

Tris-bázis 10,8 g

Bórsav 0,55 g

Na₂EDTA-2H₂O (Selecton B2) 0,93 g

100 ml-re kiegészíteni háromszor desztillált vízzel.

LB festék

Peacock 10-szeres 2,5 ml

Glicerin 87 %-os 40,22 ml

SDS 10 %-os 1,0 ml

Na₂EDTA-2H₂O 0,5 M 5,0 ml

Bidesztillált víz 1,5 ml

Brómfenolkék 125 mg

Xilene-cianol 50 mg

Etídium-bromid oldat (EtBr)

Etídium-bromid por 200 mg

Háromszor desztillált steril víz 20 ml

Oldat: 10 mg/ml, sötét üvegben tárolva

Ebből 100 µl –t 600 ml háromszor desztillált steril vízzel hígítani

DNS sztenderd (létra)

100 bp létra

50 µl DNS sztenderd

50 µl LB puffer

200 µl háromszor desztillált steril víz

123 bp DNS sztenderd

25 µl DNS sztenderd

155 µl háromszor desztillált steril víz

20 µl LB puffer

M3. Táblázatok

1. **táblázat:** Hőmérsékleti profilok a különböző primerek esetében a PCR Applied Biosystems 2720 Thermocycler készülékkel

primer	kezdeti fej (T)	ciklusonként								befejező lépés (T)	ideje	hűtés vég (T)	ciklusszám
		kezdeti (T)	ideje	láncbontási (T)	ideje	primer kötődési (T)	ideje	lánc növekedési (T)	ideje				
OPB01	130 °C	94 °C	3min 45 s	94 °C	1 min	36 °C	1 min	72 °C	2 min 30 s	72 °C	10 min	4 °C	40
OPB11	130 °C	94 °C	3min 45 s	94 °C	1 min	36 °C	1 min	72 °C	2 min 30 s	72 °C	10 min	4 °C	40
(GACA) ₄	130 °C	93 °C	3min 45 s	93 °C	20 s	50 °C	1 min	72 °C	2 min 30 s	72 °C	6 min	4 °C	40
M13	130 °C	93 °C	3min 45 s	93 °C	20 s	50 °C	1 min	72 °C	2 min 30 s	72 °C	6 min	4 °C	40
(GATA) ₄	130 °C	93 °C	3min 45 s	93 °C	20 s	42 °C	20 s	72 °C	2 min 30 s	72 °C	6 min	4 °C	40

2. táblázat. Az öt tó 11 vizsgált populációjának páronként felírt földrajzi távolságainak és genetikai távolságának értékei- Popgen 1.32-es programmal számolva - A diagonál vonal alatti értékek a genetikai távolságot, a fölötti értékek a földrajzi távolságot mutatják.

	Untersee	Überlinger-see	G.Ostersee	Waschsee	Fertőrákos	Hidegség	Hegykő	Kerekedi-bay	Balatonmáriafürdő	Bozsai-bay	Zalavári-víz
Untersee	****	11	167	168	572	580	575	571	639	669	623
Überlingensee	0,253	****	159	159	562	573	569	664	631	662	617
G.Ostersee	0,521	0,503	****	2	404	412	407	508	476	502	462
Waschsee	0,330	0,463	0,097	****	402	411	408	506	474	503	460
Fertőrákos	0,533	0,494	0,257	0,236	****	5	10	123	123	124	125
Hidegség	0,506	0,507	0,296	0,260	0,016	****	5	112	113	116	116
Hegykő	0,536	0,519	0,291	0,268	0,031	0,025	****	106	109	117	122
Kerekedi-bay	0,525	0,530	0,367	0,286	0,147	0,153	0,162	****	50	10	89
Balatonmáriafürdő	0,440	0,445	0,351	0,302	0,115	0,102	0,095	0,100	****	43	19
Bozsai-bay	0,448	0,344	0,265	0,194	0,131	0,158	0,189	0,241	0,198	****	65
Zalavári-víz	0,440	0,380	0,229	0,183	0,082	0,073	0,077	0,181	0,136	0,164	****

3. Táblázat: Közép –Európa különböző helyein vett 21 nád genetikai távolsága és földrajzi távolság értékei páronként- Popgen 1.32-es programmal számítva

Gen.táv	Földr.táv	Gen.táv	Földr.táv	Gen.táv	Földr.táv	Gen.táv	Földr.táv	Gen.táv	Földr.táv
0,6702	401,39	0,429	542,72	0,5831	90,5	0,6702	551,32	0,7167	155,1
0,5423	345,63	0,7167	172,2	0,5031	72,99	0,928	1271,26	0,8168	130,08
0,3272	519,15	0,7167	85,09	0,6702	122,2	0,7655	952,85	0,5423	62,35
0,3939	654,3	0,3272	170,95	0,6257	346,54	0,6257	1103,53	0,5831	319,52
0,2647	652,82	0,3272	916,96	0,36	398,38	0,5831	701,3	0,7167	167,16
0,6257	319,56	0,5423	906,3	0,36	715,89	0,6702	658,09	0,7655	571,5
0,5831	271,54	0,6257	579,12	0,5031	882,85	0,36	602,31	0,429	622,66
0,6702	160,19	0,5831	523,92	0,7167	1603,8	0,6257	316,27	0,9886	570,63
0,5831	341,93	0,2348	212,23	0,7655	1286,5	0,7167	494,09	0,2955	152,86
0,7167	1023,85	0,429	50,35	0,5423	1438,34	0,7655	1217,46	0,6257	250,13
0,5831	704,69	0,5423	695,06	0,5031	1040,08	0,7167	896,8	0,7167	318,11
0,6257	855,27	0,6702	373,55	0,5031	981,96	0,5031	1048,73	0,8168	358,04
0,5831	463,27	0,4654	526,49	0,6702	931,79	0,4654	647,42	0,7655	403,64
0,6702	471,74	0,7655	123,56	0,6257	341,54	0,6257	603,95	0,5831	462,42
0,6702	401,12	0,5031	144,2	0,2955	393,21	0,7167	547,47	0,5831	507,72
0,429	116,88	0,5031	82,13	0,6702	708,58	0,3939	192,77	0,8168	124,94
0,6702	155,16	0,3272	1049,58	0,5831	872,66	0,7655	906,48	0,5423	123,11
0,5831	896,66	0,3272	1036,79	0,6257	1593,88	0,6257	585,33	0,4654	88,73
0,6702	884,45	0,6257	721,31	0,6702	1275,11	0,5831	737,38		
0,6702	572,73	0,5031	667,98	0,4654	1425,74	0,4654	335,73		
0,4654	520,02	0,429	370,67	0,429	1030,72	0,8168	320,42		
0,4654	242,38	0,36	179,19	0,5031	968,13	0,6257	253,3		
0,5423	74,81	0,7167	553,04	0,6702	922,27	0,6702	720,77		
0,5831	708,19	0,6702	245,94	0,5031	57,41	0,5423	404,06		
0,4654	396,48	0,4654	388,87	0,6702	373,27	0,429	555,23		

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Doktori munkámat a **Magyar Tudományos Akadémia Balatoni Limnológiai Kutatóintézet** tudományos segédmunkatársaként végeztem. Szeretném megköszönni **Dr. Bíró Péternek**, a Magyar Tudományos Akadémia rendes tagjának, a Magyar Tudományos Akadémia Balatoni Limnológiai Kutatóintézet igazgatójának, és **Dr. Pedryc Andrzejnek**, a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Kar Genetika és Növénynevelés Tanszék tanszékvezető docensének nagyvonalú segítőkészségét, amely lehetővé tette, hogy munkám során mindkét intézmény szellemi és technikai lehetőségeit igénybe vehessem.

Kiemelten köszönöm **Dr. Herodek Sándornak**, a biológiai tudományok doktorának, a Magyar Tudományos Akadémia tudományos tanácsadójának munkám tudományos irányítását. A kutatásokat az Ő koncepciói szerint, az általa vezetett „A vízszint változásának hatása a Balaton ökológiai állapotára” című **3B022-04 számú NKFP pályázat** keretében, annak anyagi támogatásával végeztem. Hetente beszéltek meg részletesen az elért eredményeket, az áttanulmányozott szakirodalom tanulságait és a következő teendőket. Külön köszönöm az értekezés elkészítésében nyújtott nagy segítségét.

Köszönöm egyetemi témavezetőmnek, **Dr. Bisztray Györgynek** doktori munkám előrevitelét, a laboratóriumi munkában nyújtott hasznos tanácsait.

Köszönöm **Schrettné Major Ágnesnek** önzetlen fáradozását, amellyel bevezetett a PCR technikába és az ELTE TTK Genetika Tanszék munkatársainak, hogy segítettek a technika elsajátításában.

Megköszönöm a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Kar Genetika és Növénynevelés Tanszéken **Dr. Halász Júliának**, **Bacsikainé Papp Annának** és **Tóth Veronikának** a laboratóriumi munkákban nyújtott segítségét.

Köszönöm a Konstanzi Egyetem kutatóinak segítségét a terepi mintavételnél.

Köszönettel tartozom a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Kar Szőlészeti Tanszéken **Deák Tamásnak** a statisztikai kiértékelésekben nyújtott segítségéért.

Megköszönöm az MTA BLKI-ben dolgozó munkatársaim, kiemelve **Litkey Zsolt** és **Vári Ágnes** a terepi munkákban nyújtott segítségét, **Dr. Takács Péter** statisztikai programok használatában nyújtott segítségét, **Zlinszky András** térinformatika területén nyújtott segítségét, valamint **Németh Balázs** informatikai jellegű segítségét.