

SANNA BLACK-SAMUELSSON • RACHEL E. WHITELEY

## Multifunktionella genetiska markörer – en räddningsplanka för hotade almar



Figur 1. Unga vresalmar vid Pustnäs plantskola i Uppsala. Information om bland annat trädens höjd, frosthärdighet och tidpunkten för knoppbristning ger besked om den här sällsynta artens förmåga till anpassning i en föränderlig miljö. Men för att underlätta ett bevarande behövs även kunskap om variationen i DNA!

- En genetisk markör är ett avsnitt av arvsmassan, som kan användas för att beskriva ärftlig (genetisk) variation.
- Vi utvecklade de första markörerna av typen mikrosatelliter för släktet alm. De här hypervariabla markörerna gör det bland annat möjligt att identifiera kloner som är resistent mot almsjukan och att utreda almarnas taxonomi.
- Vi använde mikrosatelliterna tillsammans med försök i plantskola för att kartlägga genetisk variation hos vresalm (*Ulmus laevis*), ett av Sveriges mest sällsynta ädellövträd.
- Resultaten pekar på att vresalm ofta innehåller unik och/eller hög genetisk variation, både mellan och inom olika geografiska regioner, ett faktum som talar för att många populationer bör bevaras.

Det är inte bara den lilla almsplintborren, överförare av den fruktade almsjukan, som får trädforskare i genetik runt om i Europa att slå sina kloka huvuden ihop. Hoten mot almarna, i synnerhet mot vresalm, *Ulmus laevis*, är flera. Aktiviteter i skogsbruket gör att många av växtplatserna försvinner. Idag finns vresalm, ett av Sveriges mest sällsynta lövträd, enbart i Mittlandsskogen på Öland.

Det är här "mikrosatellit-markörerna" kommer in. De är ett genetiskt verktyg för att beskriva ärftlig variation, kunskap som kan vara en möjlig räddningsplanka för almarna.

#### Vad är en genetisk markör?

En genetisk markör är ett avsnitt av en gen eller ett litet fragment av DNA. Markörerna används för att identifiera vad som är en individ eller en population, eller för att bestämma positionen för en gen på kromosomen. Mikrosatelliter är en typ av markör som förekommer rikligt i arvsmassan. Frekventa förändringar (mutationer) gör att mikrosatelliter hos olika individer ofta varierar i hög utsträckning. Därför utnyttjas de bland annat till att studera hur gener flödar mellan och inom populationer eller utreda hur mycket inavel som finns.

Vi utvecklade de första mikrosatellit-markörerna för alm (Whiteley m.fl. 2003a). I Faktarutan beskrivs tekniken bakom mikrosatellit-analysen.

#### Almarna – viktiga inslag i den svenska ädellövskogen

Vresalmen är ett ovanligt ädellövträd. I stora delar av utbredningsområdet växer vresalm i strandnära skogar, ofta tillsammans med många andra sällsynta arter. I Sverige förekommer arten i ett ca fem mil långt område i och runt Mittlandsskogen på Öland. Bestånden består av några få träd och utgör artens nordvästliga utbredningsgräns. Enligt svensk rödlista är vresalm klassificerad som Sårbar (*Vulnerable* – VU). Hoten beror framför allt på att växtplatserna förstörs genom avverkning och omföring till mer produktiv skogsmark.

Vresalm är bara ett av många exempel på rödlistade arter i ädellövskogen, för övrigt den skogstyp som hyser flest antal hotade växt-, djur- och svamparter. Utbredningen av ädellövskogarna i Sverige liksom i övriga Europa minskar parallellt med att efterfrågan på kvalitetsvirke och kraven på förbättrad lönsamhet i skogarna ökar. Detta är ett komplicerat faktum med tanke på ädellövskogarnas rika biodiversitet.

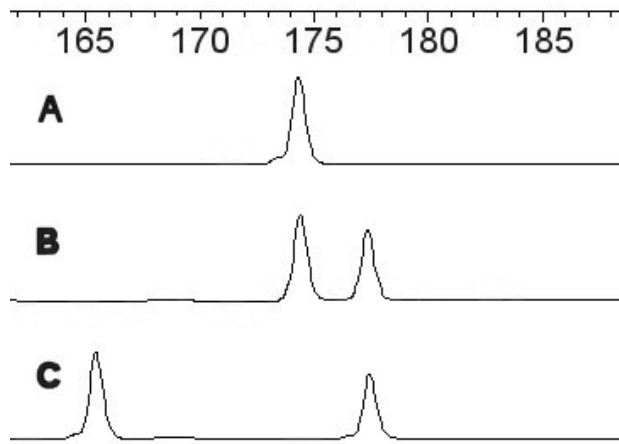
#### Kombination av metoder avslöjar variationen

I ett doktorandprojekt undersökte vi den ärftliga (genetiska) variationen hos flera populationer av vresalm (Figur 2) med olika metoder. Variationen i DNA analyserades dels med våra egna mikrosatelliter (Figur 3 och faktaruta), dels i kloroplasterna (där fotosyntesen sker). Variationen för bland annat höjd och frosthärdighet, liksom tidpunkten på våren för knopparna att brista, registrerades också i plantskola under tre år (Whiteley m.fl. 2003b). De här karaktärerna är viktiga för att träden skall kunna anpassa sig till sin rådande miljö och överleva framtida förändringar i miljön.

Men varför skriver man en hel avhandling om genetisk variation hos vresalm? Kunskap om genetisk variation är ett centralt område inom bevarandegenetiken: genetisk variation fungerar som en buffert för att populationer skall kunna anpassa sig till förändringar i miljön. Variationen fungerar också som "byggstenar" för framtida bruk om man vill bevara eller förädla växtmaterial med olika gener. Information om hur variationen fördelar sig mellan och inom populationer gör det möjligt att utforma lämpliga bevarandestrategier för en art. Populationer som prioriteras för ett bevarande kanske ligger i utkanten av artens utbredningsområde, eller innehåller särskilt hög eller unik genetisk variation.



Figur 2. Sju populationer av vresalm, *Ulmus laevis*, som ingick i våra genetiska studier: 1) Hattula, Finland – strandzon vid skogsvattendrag; 2) Öland – blandskog; 3) Moskva - blandskog; 4) Lolland, Danmark – blandskog; 5) Mulde, Tyskland – strandnära skog; 6) Elbe, Tyskland – strandnära skog; 7) Garonne, Frankrike – strandnära skog. Det skuggade fältet visar artens hela utbredningsområde, och de små öppna cirkelarna visar förekomsten av enskilda populationer.



Figur 3. Exempel på variation i mikrosatellit-DNA, synligt som toppar på en kurva, hos tre vresalmar (A-C). Mikrosatelliten har en repeterande enhet som är tre baspar. Skalan överst visar längden (mätt i baspar) av mikrosatellitfragmentet. Har trädet en topp betyder det att båda kromosomerna bär samma variant (allel) av genen (är homozygot). Ett träd med två toppar betyder att kromosomerna har två olika alleler (är heterozygot).

Träd A är homozygot och båda allelerna är 174 baspar. Träd B är heterozygot och har en allel på 174 baspar och den andra allelen på 177 baspar, d.v.s. det är en repeterande enhet som skiljer allelerna. Träd C är också heterozygot och har alleler som är 165 och 177 baspar, d.v.s. fyra repeterande enheter skiljer allelerna. I det här exemplet finns genetisk variation mellan de tre träden.

### Stor genetisk variation hos vresalm

Våra försök visade att variationen i mikrosatellit-DNA var relativt stor (fyra till åtta olika varianter av gener på specifika platser i arvsmassan) (se Figur 3 för ett exempel). Främst bidrog vresalmar från Frankrike och Finland till olikheterna mellan populationerna. Inom populationerna var variationen högst på Öland och vid Elbe

och lägst i Frankrike. Förvånande nog var det den stora och centralt placerade ryska populationen som hade mest inavel. Flödet av pollen och frö har kanske varit för litet för att resultera i hög genetisk variation.

De 2 400 träden i plantskolan var också mycket variabla både inom och mellan populationer (Whiteley m.fl., 2003a,

Figur 1). Sydliga (tyska och franska) populationer drabbades mest av frostsador, medan nordliga populationer (svenska och ryska) "svarade" på längre nätter och svalare temperaturer med att sätta knopp och sluta växa för att undvika tidig höstfrost. Många försök har visat att karaktärer viktiga för anpassningen ofta har hög variation, dels för att de styrs av många gener (är kvantitativa), dels för att de påverkas av miljön. För vresalm skiljer sig markförhållanden mellan och inom populationer. Dessutom är fröerna insamlade över ett stort område. Ett troligt scenario är att korsningar mellan träden inte har skett slumpmässigt utan inom mindre bestånd, vilket ökar den genetiska variationen mellan bestånden.

### Bevarande av alm

Träden i vår studie är överlag genetiskt olika varandra, ett faktum som talar för att flera populationer bör bevaras. Detta gäller främst den genetiskt särpräglade finska och den geografiskt avskilda franska, liksom de hotade öländska almarna. Bevarandet kan ske direkt på växtplatsen (*in situ*) i anslutning till att de strandnära ekosystemen skyddas från påverkan av människor. Utanför växtplatserna (*ex situ*) kan almarna bevaras i plantager eller fröbanker.

I Europa finns ett samarbetsprogram (<http://www.biodiversityinternational.org/networks/euforgen/>, EUFORGEN), som syftar till att långsiktigt bevara och nyttja skogsgenetiska resurser. Almens bark är ett viktigt habitat för många insekt- och svamparter. Dessutom är almträ ett kvalitetsvirke, användbart för golv och möbler. Svenska insatser för att bevara genetiska resurser av alm liksom övriga ädellövträd är i allmänhet sällsynta, faktiskt färre än i många andra europeiska länder. Detta är en situation som uppmanar till förändring, inte minst med tanke på riksdagens riktlinjer efter Rio-konferensen 1992. Dessa innebär att nationerna själva ansvarar för att säkerställa den biologiska mångfalden på art-, ekosystem- och gennivå. Bevarandet på den genetiska nivån innebär alltså att genetisk variation skall karteras och förvaltas.

### Markörerna medför många möjligheter

Många länder i Europa tävlar om forskningsbidrag från EU för att på ett dynamiskt och hållbart sätt bevara och använda genetiska resurser av alm. En uppgift är att förädla kloner resistent mot almsjukan, ett angeläget område med tanke

Tabell 1. DNA-markörer av mikrosatelliter som utvecklades för vresalm prövades också på några individer av skogsalm (*U. glabra*), amerikansk alm (*U. americana*), sibirisk alm (*U. pumila*) och lundalm (*U. minor*). I tabellen anges ifall markörerna varierade (V) eller inte varierade (Ej V) inom arterna, eller om resultaten inte gick att tolka ordentligt (-)

Markör	Vresalm	Skogsalm	Amerikansk alm	Sibirisk alm	Lundalm
Ulm2	V	V	V	-	V
Ulm3	V	Ej V	-	V	V
Ulm6	V	-	-	Ej V	Ej V
Ulm8	V	V	V	-	V
Ulm9	V	Ej V	V	-	Ej V
Ulm12	V	-	V	-	Ej V
Ulm19	V	-	-	-	Ej V

på de enorma förluster av alm i Europa och Nordamerika som blev följderna av epidemierna 1919 och 1972. Med markörernas hjälp vill forskarna dels identifiera kloner som är resistent mot almsjukan, dels kontrollera att inte icke-resistenta kloner ingår i olika lokala *in situ*- och *ex situ*-kollektioner. När kloner har identifierats kan forskarna rekommendera vilka populationer som skall ingå i en fröplantage, eller hur fröpartier skall nyttjas. En annan uppgift är att ge råd om hur riktigt små populationer kan öka sin genetiska variation genom att nya träd planteras in i populationen.

Potentialen hos våra mikrosatelliter, och nu även sådana som utvecklats av andra (Collada m.fl. 2004), är att de fungerar för flera arter av alm, däribland skogsalm (*U. glabra*) och lundalm (*U. minor*) (Tabell 1). Därmed är det möjligt att undersöka andra aspekter av genetisk variation. Ett exempel är att studera hur utbredd den

asexuella förökningen är hos lundalm. Detta är en spännande uppgift efter upptäckten att den engelska *U. minor* var *vulgaris* härstammar från en enda 2 000 år gammal klon (Gil m.fl. 2004)!

Mikrosatelliterna kan också användas för att skilja den allmänna skogsalmen från den mer ovanliga lundalmen, liksom för att studera omfattningen av korsningar mellan arterna. Denna uppgift har hittills vållat botanikerna huvudbry eftersom de formkaraktärer hos blad, blommor och fröer som studerats påverkas av miljön. Kanske kan därmed det taxonomiska mysteriet hos almarna snart vara löst. Ytterligare en förhoppning (möjligen av det mer teatraliska slaget) är att markörforskningen minskar risken för att naturvårdare återigen ska ta till civil olydnad för att bevara almar, något som ju inträffade för snart 40 år sedan med trädskramarna i Kungsträdgården.

## Ämnesord

Alm, genetisk markör, plantskola, mikrosatellit, sällsynt art, *Ulmus*, *Ulmus laevis*

## Läs mer

Collada, C., Fuentes-Utrilla, P., Gil, L. & Cervera, M.T. 2004. Characterization of microsatellite loci in *Ulmus minor* Miller and cross-amplification in *U. glabra* Hudson and *U. laevis* Pall. *Molecular Ecology Notes* 4: 731-732.

Gil, L., Fuentes-Utrilla, P., Soto, A., Cervera, M. T. & Collada, C. 2004. English elm is a 2 000-year-old Roman clone. *Nature* 431: 1053.

Whiteley, R. E., Black-Samuelsson, S. & Clapham, D. 2003a. Development of microsatellite markers for the European white elm (*Ulmus laevis* Pall.) and cross-species amplification within the genus *Ulmus*. *Molecular Ecology Notes* 3: 598-600.

Whiteley R. E., Black-Samuelsson, S. & Jansson, G. 2003b. Within and between population variation in adaptive traits in *Ulmus laevis*, the European white elm. *Forest Genetics* 10: 313-323.

## Författare



Sanna Black-Samuelsson är docent i skogsgenetik vid institutionen för växtbiologi och skogsgenetik, SLU Box 7080, 750 07 Uppsala.  
Tel: 018-67 33 42  
E-post: Sanna.Black@vbsg.slu.se



Rachel E. Whiteley disputerade 2004 vid institutionen för växtbiologi och skogsgenetik, SLU. Ämnet för avhandlingen var genetisk variation hos vresalm.  
E-post: rachel@rachelwhiteley.org

## Faktaruta, DNA-analys med mikrosatelliter

Mikrosatelliter är hypervariabla fragment som består av ett antal korta upprepade enheter av DNA, t.ex. ATGATGATGATGATG, (ATG)<sub>n</sub>. I analysen med mikrosatelliter använder man sig av två "primrar", d.v.s. korta kända DNA-sekvenser, vilka fäster på specifika platser på varsin ända i närheten av det upprepade fragmentet. En DNA-kopiator masskopierar mikrosatelliten mellan primrarna. Fragmenten sorteras efter storlek med hjälp av elektrofores. När ström kopplas på, rör sig de negativt laddade DNA-molekylerna genom gelen mot den positiva elektroden. Ju kortare DNA-fragmentet är desto snabbare rör det sig genom gelen. Om fragmenten är märkta med fluorescerande färg känns de igen av ljussensorer i apparaturen. Längden hos mikrosatelliterna bestäms genom att de jämförs med DNA-fragment av känd storlek. Idag används ofta sekvenseringsmaskiner för att studera skillnaderna i storlek mellan varianter av gener (alleler).

### Fakta Skog – Om forskning vid Sveriges lantbruksuniversitet

**Redaktör:** Göran Sjöberg, SLU, Fakulteten för skogsvetenskap, 901 83 Umeå  
090-786 82 96 • Goran.Sjoberg@adm.slu.se

**Ansvarig utgivare:** Jan-Erik Hällgren, 090-786 82 38 • Jan-Erik.Hallgren@sfak.slu.se

**Webb:** www.slu.se/forskning/faktaskog

**Prenumeration:** 15 nummer per år för 340 kronor + moms.

SLU Publikationstjänst, Box 7075, 750 07, Uppsala, 018-67 11 00 • Publikationstjanst@slu.se

Elanders Tofters AB, Uppsala 2007

ISSN 1400-7789 © SLU



Universitetet som utbildar  
och forskar för livet