



**A KÁRPÁTOKBAN ÉS A PANNON MEDENCÉBEN ELŐFORDULÓ EGYES ERDEIFENYŐ
(*PINUS SYLVESTRIS* L.) ÁLLOMÁNYOK ADAPTÍV VARIABILITÁSÁNAK MORFOLÓGIAI,
ANATÓMIAI ÉS MOLEKULÁRIS HÁTTERE**

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISE

KÖBÖLKUTI ZOLTÁN ATTILA

TÉMAVEZETŐ: DR. HÖHN MÁRIA

BUDAPEST

2018

A DOKTORI (PH.D.) ISKOLA

Megnevezése:	Kertészettudományi Doktori Iskola
Tudományága:	Kertészeti biológia
Vezetője:	Zámboriné dr. Németh Éva egyetemi tanár, tanszékvezető, DSc Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar Gyógy- és Aromanövények Tanszék
Témavezető:	Dr. Höhn Mária egyetemi docens, tanszékvezető, CSc Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar Növénytani Tanszék és Soroksári Botanikus Kert

A jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhely vitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Zámboriné dr. Németh Éva
Iskolavezető

.....
Dr. Höhn Mária
Témavezető

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Az erdeifenyő (*Pinus sylvestris* L.) nagy eurázsiai elterjedési területén rendkívül jól alkalmazkodott az eltérő éghajlati viszonyokhoz. Európában a fajt változatos talajtípusokon találjuk: tőzeglápokban és sziklafelszíneken, szilíciumos vagy savas talajokon, gyakran mély humuszrétegű tenyészterületen (Steinbeck 1966). Elterjedésének déli peremén állományai feldarabolódtak, fennmaradásukat elsősorban az edafikus körülmények, – ezek közül is leginkább a talajnedvesség – határozzák meg. A periférikus populációk további terjeszkedése a kedvezőtlenebb élettér miatt erősen korlátozott (Bridle és Vines 2007), ugyanakkor ezen széli állományok populációdinamikai folyamatai nagy fontosságúak a fajnak a klímaváltozásra adott válaszreakcióiban (Iverson *et al.* 2004).

A populációgenetikában általánosan elfogadott tény, hogy a periférikus állományok genetikailag számottevően különböznek a centrális populációktól az eltérő szelektív nyomás, valamint a csökkent génáramlás miatt (Lenormand 2002). Következésképpen a széli állományok jelentősége a faj hosszútávú megőrzése szempontjából kulcsfontosságú (Hampe és Petit 2005). A széli állományok helyi genotípusainak az adott környezethez való viszonylagos alkalmazkodottsága magasabb fokú, mint a más élőhelyekről származó genotípusoké. Bár magas fenotípusos plaszticitásuk révén jól alkalmazkodnak a helyi környezethez, genetikai struktúrájukban nem csupán az *in situ* alkalmazkodás, de történeti események, hosszútávú geológiai változások is meghatározóak (Losos 1996). Morfológiai vizsgálatok elvégzése tehát ezeken az eltérő élettérhez alkalmazkodott periférikus populációkon indokolt.

Az elmúlt évtizedek – a növekedés és a túlélés változatosságát elemző – vizsgálatai elsősorban morfológiai, anatómiai megfigyeléseken és eredetvizsgálatokon alapultak. A molekuláris biológia területén elért fejlődés azonban a molekuláris genetikai markerek széles körű alkalmazását eredményezte. Mindezen túlmenően, az újgenerációs szekvenálási eljárások gyors fejlődése új genomikai eszközök kifejlesztésének lehetőségét is megteremtette. A költséghatékonyság és nagyobb szekvenciahozam új génjelöltek azonosítását, funkcionális genomikai adatokhoz való hozzáférést eredményezett. Ezek információtartalma magas és elérhető közelségbe került az ismert vagy előre jelzett funkciójú gének azonosításának lehetősége. Az összehasonlító genomika felhasználása az adaptív variabilitás genetikai vizsgálatában immár megkerülhetetlen (Vera *et al.* 2008). A genomikai elemzés az előfeltétele az egyponyos nukleotid

polimorfizmusokon alapuló SNP markerek kifejlesztésének. Alkalmazásuk a biotikus és abiotikus környezeti stresszre adott adaptív válasz megértésében kiemelkedő fontosságú.

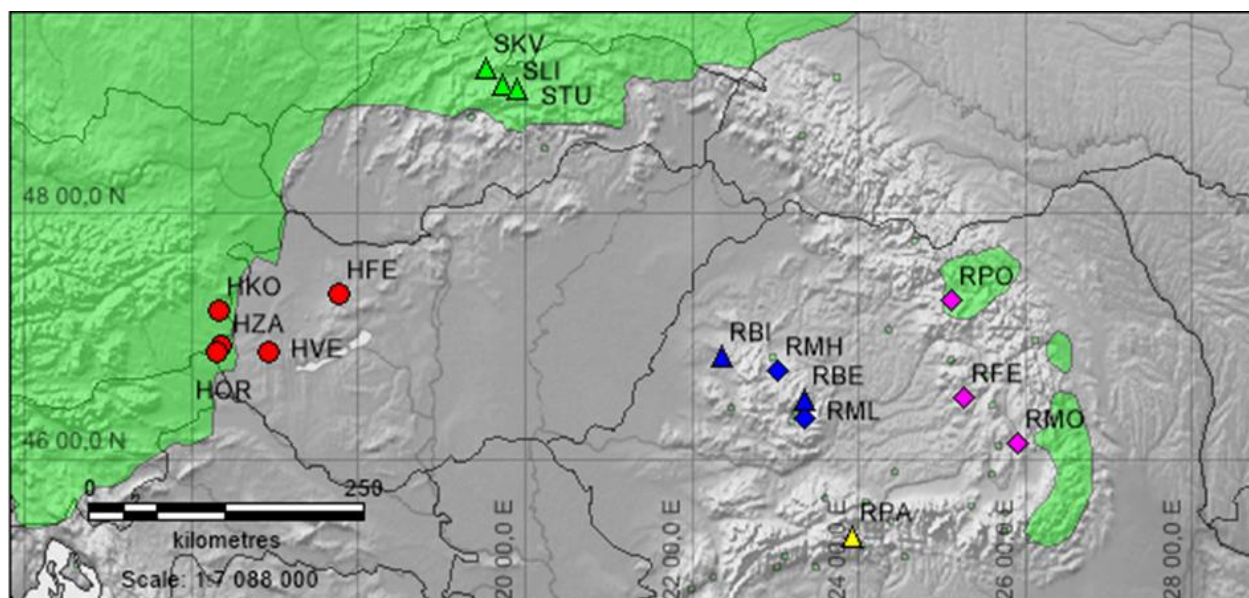
Célkitűzések:

- A Kárpátokban és a Pannon medence térségében élő, perifériális erdefenyő populációk fenotípusos elkülönülésének vizsgálata tobozmorfológiai és tülevélanatómiai bélyegek alapján.
- A fenotípusos differenciálódás és filogeográfiai struktúrák közötti esetleges összefüggések feltárása.
- Az állományok élőhelytípus szerinti csoportosulásának fenotípusos bélyegek általi azonosítása.
- A populációk élőhelytípus szerinti elkülönülésének vizsgálata magmorfológia és csírázási paraméterek alapján.
- Adaptációval kapcsolatba hozható génszekvenciák azonosítása, ezek új SNP markerként történő alkalmazása és tesztelése két, európai hegyvidéken honos fenyőfajon, a szekvenciák nukleotid-diverzitásának elemzése.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. A vizsgálatba vont populációk

Vizsgálatunk növényanyaga a közép-kelet-európai térségből, a Kárpátokból és a Pannon-medencéből származott. Tobozmorfológiai és tülevélanatómiai vizsgálatainkhoz 2011-2015 között 16, irodalmi adat alapján természetesnek vélt erdefenyő állomány egyedeit mintáztuk. A magmorfológiai és csírázási vizsgálatokra az előbbiekből származó, 10 populáció esetében volt lehetőség. Az összes vizsgált állomány a faj elterjedési területének peremén helyezkedik el, ahol jellegzetes élőhelytípusokon (tőzegláp, sziklafelszín, büккеleges erdő alacsony tápanyagtartalmú talajon) tenyészik (1. ábra).



1. ábra. A mintavételezett erdefenyő állományok földrajzi elhelyezkedése. A színek a földrajzi hovatartozást (piros: Pannon medence (PB), zöld: Északi-Kárpátok (NC), kék: Közép-Szigethegység (CIM), rózsaszín: Keleti-Kárpátok (EK), sárga: Déli-Kárpátok (SC), a mintavételi pontok alakja az élőhelytípust (négyzet: tőzegláp, háromszög: sziklafelszín, kör: büккеleges erdő) jelölik. Zöld színnel kiemelt az erdefenyő elterjedési területe az Euforgen térkép alapján (<http://www.euforgen.org/species/pinus-sylvestris>). Populáció nevének rövidítését lásd a rövidítési jegyzékben.

A magvak csírázásának vizsgálata végett 2016 tavaszán a Soroksári Botanikus Kertben állítottunk be csírázási kísérletet, minden populáció négy egyedéről származó, egyenként 15 mag elvetésével.

A markerfejlesztést egy – az Osztrák Erdészeti Tudományos Intézet Genetikai Osztályán – cirbolyafenyő transzkriptomon végzett előzetes vizsgálat előzte meg. Az ehhez szükséges *Pinus cembra* L. minták egy anyanövényről származtak (Oberurgel, Ausztria), egy tülevél és két eltérő

fejlettségi stádiumban lévő tobozról (Jahn és Heinze, publikálatlan). A *de novo* azonosított génekre tervezett primereket a laboratóriumban előzetesen 84 cirbolyafenyő DNS mintán teszteltük, az ehhez szükséges növényanyag begyűjtése hat mintavételi pontról történt az osztrák Alpokban. Ezt követően a markereket a Kárpátokból származó erdefenyő populációk mintáin alkalmaztuk. A mintákat a morfoanatómiai és korábbi filogeográfiai (Tóth *et al.* 2017) vizsgálatokba vont állományokból választottuk ki, három különböző élőhelytípusból származtak.

2.2. Adatgyűjtés

A vizsgált tulajdonságok tekintetében 12 toboz- és magmorfológiai, nyolc tüanatómiai bélyeget mértünk, ezekből összesen 12 aránypárt számoltunk. A csírázást 2016. április 5. és június 19. között heti egy alkalommal rögzítettük, a mért adatokból hat csírázási paramétert határoztunk meg (International Seed Testing Association-ISTA 1985).

A cirbolyafenyő transzkriptomból történő markerfejlesztést irodalmi adatgyűjtés előzte meg. A szakirodalomból az alkalmazkodás folyamatában esetlegesen szerepet játszó génjelölteket választottuk ki. Ezt egy 5187 EST és fehérje szekvenciát tartalmazó BLAST-adatbázis létrehozása követte, amelyben a feltöltött szekvenciák az NCBI adatbázisból (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) származtak. A *de novo* összeillesztett kontigokat BLASTN és BLASTX homológia alapú szekvenciakeresésnek vetettük alá az adatbázissal. Az így azonosított szekvenciákat a kódolt fehérje nevére átneveztük, szűrtük és templátként használtuk a primertervezés során. A markereket cirbolyafenyőn felszaporítottuk, működőképességük és az átvihetőség értékelésére a laboratóriumban erdefenyő DNS-mintákon teszteltük. A CleanSweep folyamatból származó PCR-termékeket egy irányban szekvenáltuk. Annak megállapítására, hogy a génjelöltek valóban társíthatók-e az előzetesen feltételezett enzimmel vagy transzkripció faktorral, valamint annak vizsgálata végett, hogy a kódolt fehérje szerkezetét milyen mértékben és módon befolyásolják a nem szinonim mutációk vagy indelek, az NCBI adatbázissal az összes marker összes felszaporított szekvenciáját újabb BLASTX azonosításnak vetettük alá.

2.3. Statisztikai elemzés

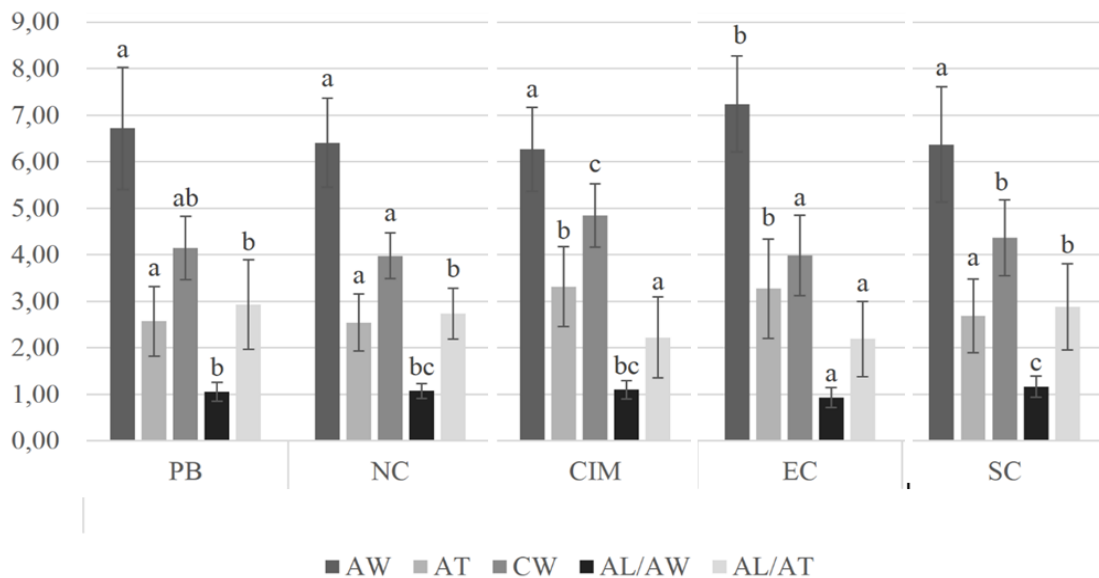
A tobozmorfológiai és túlevélanatómiai paramétereket statisztikai elemzésnek vetettük alá, adatkészletünk összesen 4448 mért adatot tartalmazott. A módszereket Jasińska *et al.* (2014), Marcysiak (2006), Staszkievicz (1961) valamint Turna és Güney (2009) módszerei alapján választottuk ki. Minimum-maximum értékeket, számtani átlagot, standard szórását, egyváltozós és többváltozós szórásanalízist, diszkriminancia-analízist, Mantel tesztet, klaszteranalízist, Pearson-féle korrelációs analízist végeztünk. A szórásanalízist és diszkriminancia-analízist két módon, előbb a földrajzi elhelyezkedés, majd az élőhelytípus szerint előzetesen csoportosított adatsorral is elvégeztük.

A morfológiai paraméterek valamint csírázási paraméterek vizsgálata céljából statisztikai elemzést végeztünk a 3240 adatot tartalmazó magmorfológiai adatsoron is. A magok morfológiai variabilitását IBM SPSS 20.0 (IBM Corp.) és Microsoft Excel segítségével elemeztük. Egyváltozós ANOVA-t, diszkriminancia-analízist és Mantel-tesztet végeztünk. A maximum-minimum értékeket, a számtani átlagot és a standard szórását minden populációra kiszámítottuk és elemeztük. Egyváltozós szórásanalízist használtunk a változók átlagai közötti szignifikáns különbségek meghatározására. Kétváltozós korrelációs analízissel a magmorfológiai változók, valamint előbbieket és a csírázási paraméterek közötti esetleges kapcsolatot próbáltuk kimutatni. A diszkriminancia-analízist előbb csak a magmorfológiai adatokkal, majd mind a morfológiai, mind a csírázási paraméterekkel, „stepwise” módszerrel végeztük. A vizsgált populációkat az élőhelytípus (tőzegláp, sziklai felszín és büккеlegyes erdő) alapján előzetesen csoportosítottuk, az élőhelytípus szerinti esetleges differenciálódás kimutatása céljából. A Mantel tesztet (Mantel 1967) a morfoanatómiai változóknál ismertetett módon, a GenAlEx 6.5 (Peakall és Smouse 2012) szoftverrel végeztük.

A szekvenciák szerkesztésére és vizualizálására, valamint az SNP-k és indelek elemzésére a BioEdit Sequence Alignment Editor 7.0.9.0 változatát (Hall 1999) használtuk. A polimorf lokuszok számát, a haplotípusok számát, a haplotípus diverzitást, a haplotípus diverzitás varianciáját és standard szórását, a nukleotid diverzitást és a nukleotid-eltérések átlagának meghatározását a DNS Sequence Polymorphism v6.10.01 (Rozas és Rozas 1995) szoftverrel végeztük.

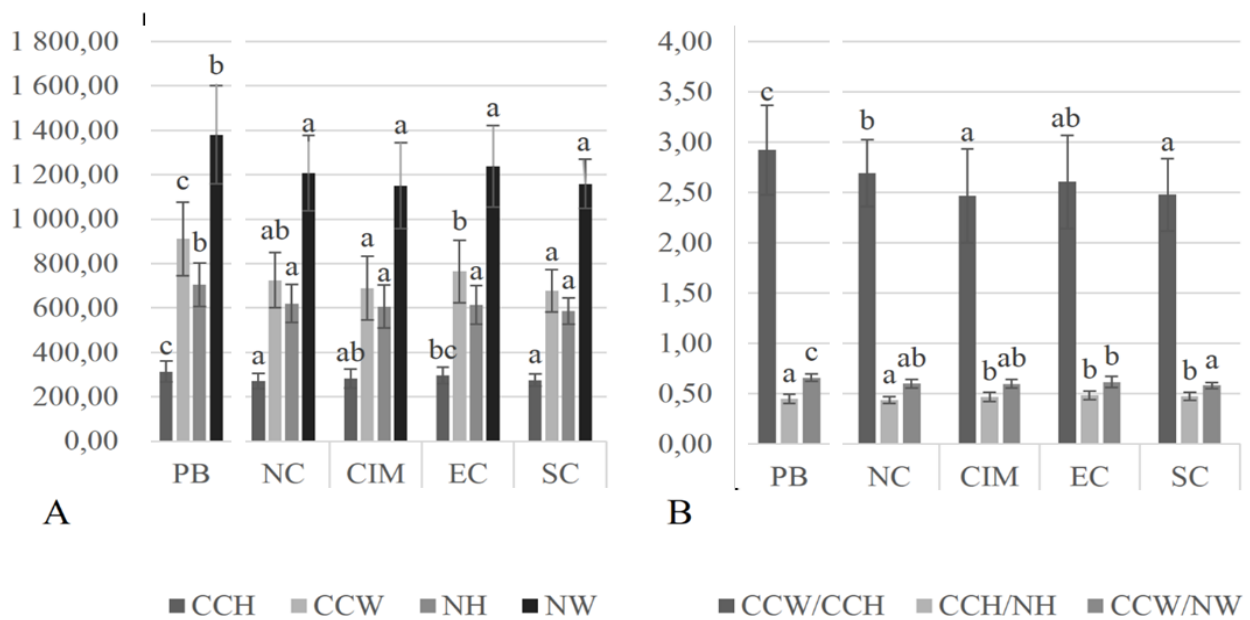
3. EREDMÉNYEK

Földrajzi elhelyezkedés szerint előzetesen csoportosított tobozmorfológiai adatokkal a MANOVA-próba szignifikáns különbségeket mutatott ($F(20; 820) = 8,25; p < 0,001$) szignifikáns ($F(4; 251) > 6,1; p < 0,001$). Megállapítható volt, hogy öt változó esetében az Északi-Kárpátok és a Pannon-medence állományai egy csoportot alkottak. A Keleti-Kárpátok állományai négy változó révén elkülönültek és két változó által meghatározva egy csoportba kerültek a Központi-Szigethegységből származó állománnyal (2. ábra).



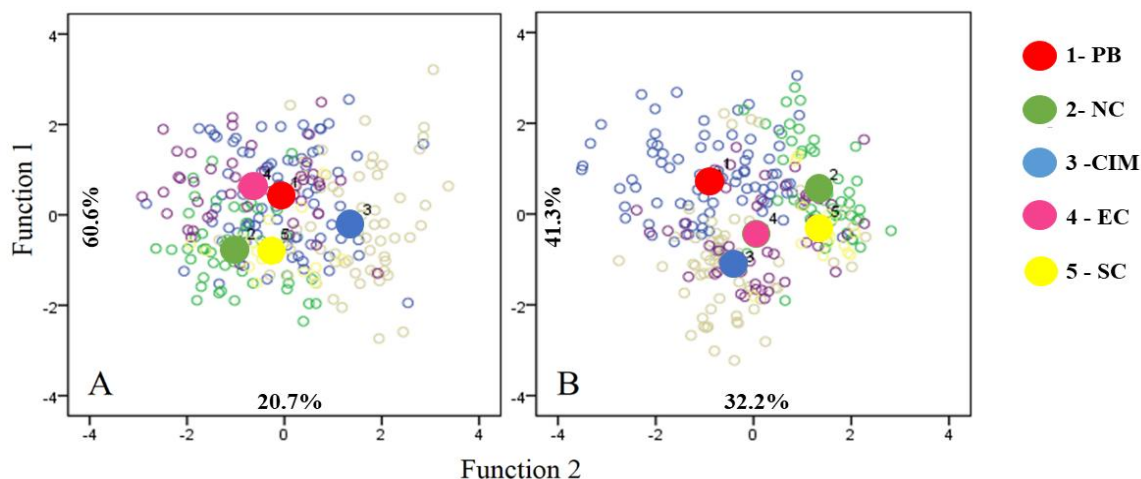
2. ábra. A vizsgált földrajzi régiók közötti statisztikailag szignifikáns morfológiai változók. A PB rövidítés jelentése: Pannon-medence (HKO, HFE, HVE, HZA, HOR) NC: Északi-Kárpátok (SKV, STU, SLI); CIM: Központi-Szigethegység (Apuseni) (RBI, RBE, RML, RMH), EK: Keleti-Kárpátok (RPO, RMO, RFE) és SC: Déli-Kárpátok (RPA). Populáció nevének rövidítését lásd a rövidítési jegyzékben.

A MANOVA próba során előzetes földrajzi csoportosítás alapján szignifikáns különbségeket találtunk négy változó és három aránypár esetében: ($F(16; 758) = 10,35; p < 0,001$; $F(126; 659) = 12,62; p < 0,001$) szignifikáns ($F(4; 251) > 14,90; p < 0,001$; $F(4; 251) > 9,94; p < 0,001$). A Pannon-medence populációi a négy változó és a három aránypár révén szignifikánsan különböztek az Északi-Kárpátoktól (3. ábra).



3. ábra. A vizsgált földrajzi régiók közötti statisztikailag szignifikáns túlevélanatómiai változók erdeifenyőn. A PB rövidítés jelentése: Pannon-medence (HKO, HFE, HVE, HZA, HOR) NC: Északi-Kárpátok (SKV, STU, SLI); CIM: Központi-Szigethegység (Apuseni) (RBI, RBE, RML, RMH), EK: Keleti-Kárpátok (RPO, RMO, RFE) és SC: Déli-Kárpátok (RPA). Populáció nevének rövidítését lásd a rövidítési jegyzékben.

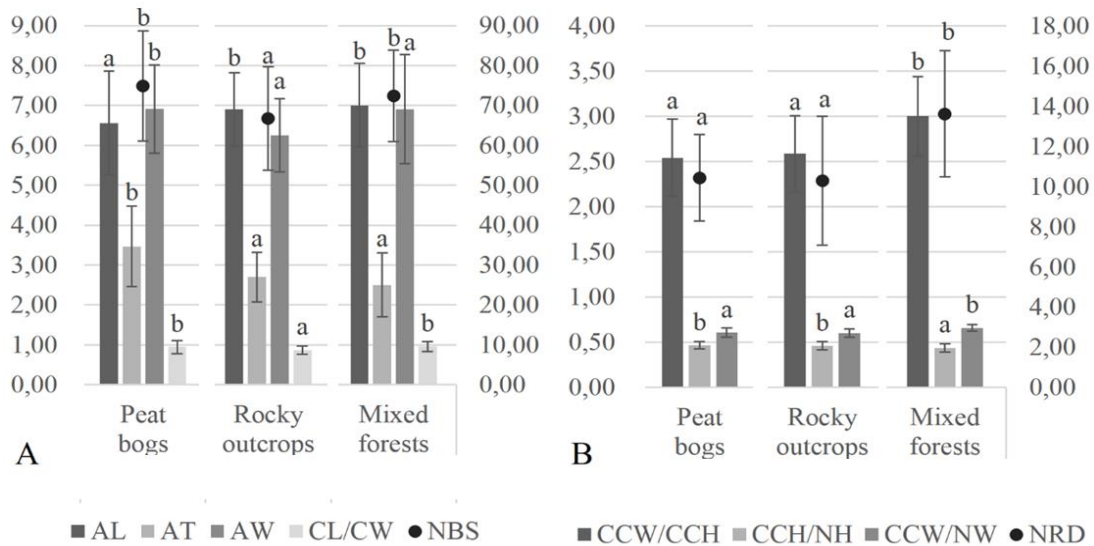
A diszkriminancia-analízis alapján az eltérések 60,6% -ért felelős első változó (1. függvény) alapján a populációk centroidjai két csoportot alkottak: az első a Központi-Szigethegység (3), az Északi-Kárpátok (2) és a Déli-Kárpátok (5), a második a Pannon-medence (1) és a Keleti-Kárpátok (4) populációit foglalta magába (**3A ábra**). Az eltérések 20,7% -ért felelős második változó (2. függvény) elkülönítette a Pannon-medencétől (1) a Keleti-Kárpátok állományait (4), de az Északi- (2) és a Déli-Kárpátok (5) továbbra is egy csoportban maradtak. A túlevélanatómiai adatok diszkriminancia-analízise során a változatosság 41,3% -ért felelős első változó (1. függvény) alapján a populációk két jól megkülönböztető csoportot alkottak (**3B ábra**): a Pannon-medence (1), a Központi-Szigethegység (3), a Keleti-Kárpátok (4), illetve az Északi- (4) és a Déli-Kárpátok (5) csoportosulása révén. Az eltérések 32,2% -ért felelős második funkció (2. függvény) nyilvánvalóvá tette a Pannon-medence (1) elkülönítését a Központi-Szigethegység (3) és a Keleti-Kárpátok állományaitól.



3. ábra A *Pinus sylvestris* populációk kanonikus diszkriminancia-függvény analízise tobozmorfológiai (A) és a tülevélanatómiai változókon (B) alapuló földrajzi eloszlással. A PB rövidítés jelentése: Pannon-medence (HKO, HFE, HVE, HZA, HOR) NC; Északi-Kárpátok (SKV, STU, SLI); CIM: Központi-Szigethegység (Apuseni) (RBI, RBE, RML, RMH), EK: Keleti-Kárpátok (RPO, RMO, RFE) és SC: Déli-Kárpátok (RPA). Populáció nevének rövidítését lásd a rövidítési jegyzékben.

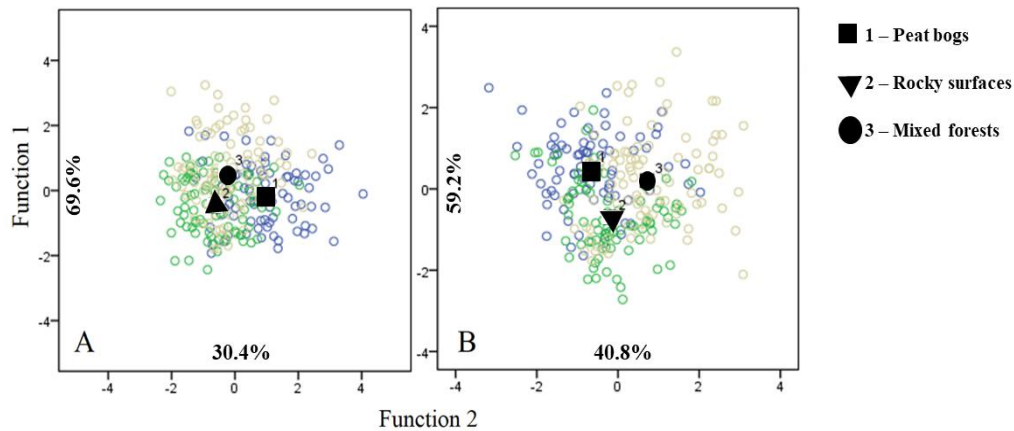
A Mantel korrelációs teszt nem volt szignifikáns ($R^2 = 0,017$, $p < 0,05$), sem a tobozmorfológia, sem a tülevélanatómia esetében.

A tobozmorfológiai adatokból élőhelytípusnak megfelelően előre definiált csoportokkal az elvégzett MANOVA teszt szignifikáns különbségeket mutatott ($F(10; 498) = 13,69$, $p < (F(2; 253) > 3,46$, $p < 0,05$). A lápi populációk szignifikánsan különböztek a sziklai felszínekről és vegyes erdőkből származóktól, három változó alapján (**4A. ábra**). A MANOVA-teszt ugyancsak szignifikáns különbségeket mutatott az élőhelytípusnak megfelelően előre csoportosított adatok alapján ($F(8; 500) = 12,64$, $p < 0,001$); szignifikáns különbségek ($F(2; 253) > 8,00$; $p < 0,001$). Szignifikánsan kevesebb gyantajáratot találtunk a tőzeglápokból és sziklai felszínekről származó állományokban. Három aránypár esetén az elegyes erdei populációk szignifikánsan különböztek a másik két élőhelytípustól (**4B. ábra**).



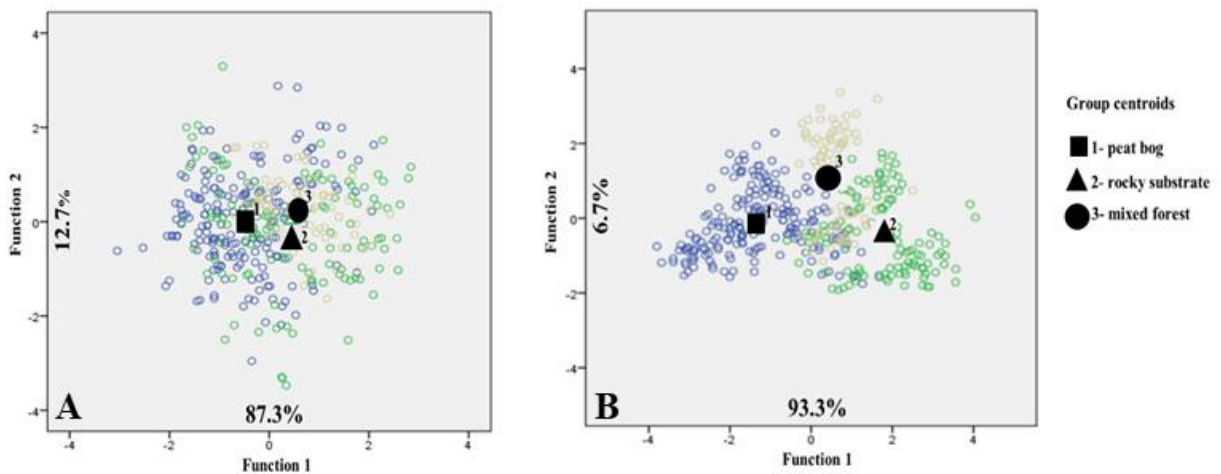
4. ábra: A vizsgált populációk élőhelytípusainak (tőzeglápok, sziklai felszínek és elegyes erdők) statisztikailag szignifikáns toposzometriai és tülevélanatómiai változói. Populáció nevének rövidítését és élőhelytípusát lásd a rövidítési jegyzékben.

A mért toposzomorfológiai adatsorokon alapuló diszkriminancia-analízis, az eltérések 69,6% -ért felelős első változó (1. függvény) és a variancia 30,4% -ért felelős második változó (2. függvény) alapján két csoport enyhébb elkülönülését eredményezte: elegyes erdők (3) és sziklai felszínek (2) valamint tőzeglápok (1) (5A. ábra). Ugyanezt az analízist tülevélanatómiai változókkal elvégezve az adatok élőhelytípus szerinti előzetes csoportosítása után, kimutatható volt, hogy az első változó (1. függvény) felelős az eltérések 59,2% -ért, a második változó (2. függvény) az eltérések 40,8% -ért. Három csoportot azonosítottunk: elegyes erdők (3), sziklai felszínek (2) és tőzeglápok (5B. ábra).



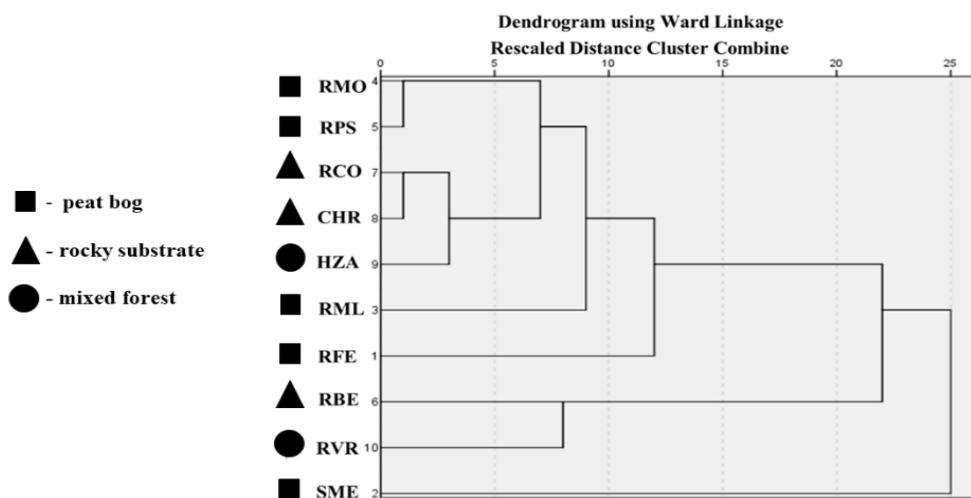
5. ábra: A *Pinus sylvestris* állományok kanonikus diszkriminanciaanalízise toposzomorfológiai (A) és túlévelanatómiai változók révén (B): 1- tőzeglápok, 2 - sziklai felszínek, 3 elegyes erdők. Populáció nevének rövidítését és élőhelytípusát lásd a rövidítési jegyzékben.

A diszkriminancia-analízisben az élőhelytípus szerint előzetesen három csoportba sorolt adatokkal az eltérések 87,3% -ért felelős első változót (1. függvény) és az eltérések 12,7% -ért felelős második (2. függvény) változót, valamint a populációk két csoportba való szétválását tapasztaltuk: elegyes erdőket (3) a sziklai felszínekkel (2) szemben a tőzeglápokkal (1) (6A ábra). Az analízisbe csírázási paramétereket is bevonva, az eltérés 93,3% -ért felelős első (1. függvény) változót és az eltérés 6,7% -ért felelős második (2. függvény) változót, valamint az előbb bemutatott két csoport erőteljesebb elválását találtuk (6B ábra).



6. ábra: A *Pinus sylvestris* L. állományok diszkriminanciaelemzéssel, élőhelytípusok és magmorfológiai-jellemzők alapján (A) valamint csírázási paraméterek és magmorfológia révén (B) detektált elkülönülése: 1 - tőzeglápok, 2 - sziklai felszínek, 3 - elegyes erdők. Populáció nevének rövidítését és élőhelytípusát lásd a rövidítési jegyzékben.

A hierarchikus klaszteranalízis eredményeként létrejött dendrogrammon az RMO és RPS (oligotróf tőzeglápok) csoportosultak, akárcsak az RCO és CHR populációk (sziklai felszín), viszonylag jól támogatva a HZA (bükkelegyes erdő) állománnyal. Egy másik csoportot az RBE és RVR (sziklai felszín és elegyes erdő) alkotott. Külön kiemelendő az SME állomány teljesen távoli helyzete (7. ábra).



7. ábra. IBM SPSS 20.0 szoftverrel generált dendrogramm, a különböző élőhelyekről: tőzegláp, sziklai felszín, bükkelegyes erdő) származó 10 *Pinus sylvestris* L. állomány magmorfológia adatai alapján. Populáció nevének rövidítését és élőhelytípusát lásd a rövidítési jegyzékben.

A kétváltozós korrelációanalízist a magmorfológiai változók közötti összefüggések kimutatására végeztük és szignifikáns – 0,01 és a 0,05-ös szignifikanciaszinten – összefüggést mutattunk ki a legtöbb változó között. Ugyanaz az elemzés a magmorfológia és a csírázási paraméterek közötti kapcsolat feltárására – ugyanazon szignifikanciaszinten – a csírázási sebességnek a maghossz / szárnyhossz és magszélesség / szárny szélesség aránypárokkal, valamint a csírázási százaléknak a magszélességgel és magtömeggel való korrelációját eredményezte.

A BLASTN és BLASTX alapú szekvenciaazonosítás a BLAST adatbázissal 399 szekvencia kiválasztását eredményezte. A szekvenciákra tervezett primerek 164 esetben adtak PCR terméket a *Pinus cembra* DNS mintákon. Ezek közül 68 PCR termék jelent meg egyetlen sávként az elektroforetikus gélben. A 68 marker *Pinus sylvestris* DNS mintákon történő tesztelése 53 PCR terméket eredményezett. Ebből az 53-ból 25 olyan PCR-terméket detektáltunk, amelyek egyetlen sávban fordultak elő a gélben. Ezeket szekvenáltuk, 20 szekvencia esetén kaptunk mindhárom DNS minta amplifikált termékére vonatkozóan meggyőző kromatogramot. Visszaellenőrizve, a szekvenciák feltételezett hasonlóságát a legjobb BLAST-találat alapján becsültük meg. Három gén

esetén nem találtunk szignifikáns hasonlóságot. Ennek megfelelően ezeket a szekvenciákat kizártuk a további elemzésekből. Összesen 61 SNP találtunk. Kilenc SNP-t transzkripciósfaktort kódoló génben, de csupán egy konkrét esetben. Indeleket a 22 génjelölt közül hét esetben detektáltunk. Szinonim SNP-t hat szekvencia esetén sikerült kimutatni, számuk 1-től 8-ig terjedt. A nem-szinonim mutációk száma a génjelöltekben 1-től 14-ig terjedt és 11 esetben volt kimutatható.

4. KÖVETKEZTETÉSEK

Eredményeink hasonlóan tekinthetők a szakirodalomban leírtakkal. Az állományok elkülönülését tülevélanatómiai vizsgálatok (Boratynska és Hincsa 2003, Jasińska *et al.* 2014, Pardos *et al.* 1990) és tobozmorfológiai adatok (Marcysiak 2006, Staszkiwicz 1993) egyaránt alátámasztják. Urbaniak *et al.* (2003) morfológiai differenciálódást detektáltak a populációk között úgy az edafikus feltételek, mind az eltérő genetikai struktúra eredményeként. A populációk morfológiai és anatómiai eltérései Bobowicz és Korczyk (2000) munkájában ugyancsak differenciálódást eredményező tényezőként szerepelnek.

Vizsgálatunk először is az állományok csoportosulását jelzi földrajzi helyzetük alapján. Az Északi-Kárpátok és a Pannon-medence populációi öt toboz- és két tülevél változó alapján jól megkülönböztetett csoportokat hoztak létre. Ez az eredmény általában összhangban van korábbi molekuláris vizsgálatokkal (Bernhardsson *et al.* 2016, Cheddadi *et al.* 2006, Tóth *et al.* 2017, Naydenov *et al.* 2005), makrofoszilia és pollenadat-elemzésekkel (Damblon 1997, Haesaerts *et al.* 1996, Jankovska és Pokorný 2008, Richardson és Rundel 1998, Rudner *et al.* 1995, Rudner és Sümegi 2001, Stieber 1967, Willis és Van Andel 2004), amelyek szerint a fő rekolonizációs útvonal Európában feltehetően a Keleti Alpok környékén és a Duna-síkságon át húzódott. A Kelet-Alpokban és Kelet-Közép-Európában refugiális helyszínek feltételezhetők (Bernhardsson *et al.* 2016, Cheddadi *et al.* 2006, Naydenov *et al.* 2005).

Tülevélanatómiai adatokon alapuló megállapításaink ugyancsak összhangban vannak a szakirodalommal. A Pannon-medence populációi hat anatómiai változó alapján szignifikánsan elkülönültek, a MANOVA- és a diszkriminancia-analízis négy morfometriai változója alapján pedig a Keleti Kárpátok térségéből származó állományok távol estek a többi populációtól. Magyari *et al.* (2014) munkája az utolsó jégkorszaki maximum (LGM) vegetációjának pollen alapú rekonstrukciójáról alátámasztja az erdefenyő fennmaradását a Keleti Kárpátokban.

Nyolc tobozmorfológiai változóra támaszkodva a diszkriminancia-analízis egyértelműen felismerhető csoportokat tárt fel az élőhelytípus alapján. Mindazonáltal a toboz méretét és súlyát befolyásolhatja a fa kora, a fák általános egészsége és makro- valamint mikro-környezete (Dangasuk és Panetsos 2004). A toboz morfológiájában megfigyelt magas variabilitás a populációknak a változatos és változó környezeti feltételekhez történt hosszútávú adaptációjával, valamint a többi fenyővel való verseny hiányával is magyarázható (Gil *et al.* 2002).

A MANOVA-vizsgálat tobozmorfológia eredményei szignifikáns különbséget mutattak a tőzeglápokban és a sziklai felszíneken növekvő állományok között. Figyelembe véve ugyanakkor azt a tényt, hogy a földrajzilag eltérő elhelyezkedésű lápokban a tobozok nem voltak szignifikánsan nagyobbak a más élőhelytípusokból származó tobozoknál, megállapítható, hogy a tőzeglápok a tobozszerkezetben, és nem a tobozméretben mutatnak eltérést, ez pedig a helyi adaptáció jeleként értékelhető. Hasonló fenotípusú populációk között a földrajzi elkülönülés hiánya hasonlóképpen tapasztalható volt a *P. canariensis* (Gil *et al.* 2002), *P. radiata* (Forde 1964) és *P. tecunumanii* (Eguiluz 1984) esetében.

A tülevélanatómiai adatokra alkalmazott MANOVA-teszt szignifikánsan kevesebb gyantajáratot mutatott a tőzeglápok és a sziklai felszínek állományainál, vagy másképpen fogalmazva, szignifikánsan többet a büккеlegyes erdő eredetű állományok esetében. Bár nem tisztázott, a fenyőgyanta szerepet játszhat a vízszabályozásban (Bell 2010, Farrell *et al.* 1991). Minden elegyes erdőből származó mintát a legalacsonyabban fekvő Pannon-medence területeiről gyűjtöttük. Ennek megfelelően ez magassági adaptáció jele lehet, vagy pedig a közös földrajzi eredetre utalhat. Hasonló eredményeket írtak le a Dangasuk és Panetsos (2004) a *Pinus brutia* esetén, szerintük a gyantajáratok magassági és hosszanti grádiensekhez történt alkalmazkodás azonosítására alkalmasak populáción belül és között. Tekintettel arra, hogy az elegyes erdei mintáinkat a Pannon-medencében a legalacsonyabban fekvő területekről mintáztuk, eredményeink összhangban vannak Wahid *et al.* (2006) adataival, akik azt találták, hogy a tülevélszélesség negatívan korrelál a tengerszint feletti magassággal a *Pinus pinaster* esetében.

A vizsgálatainkban tapasztalt magmorfológiai eltérések összhangban állnak az eltérő környezethez történt morfológiai adaptáció eddig közölt eredményeivel (Alía *et al.* 2001, Bilgen és Kaya 2007, Dzialuk *et al.* 2009, Jasińska *et al.* 2014, Kinloch *et al.* 1986, Köbölkuti *et al.* 2017, Labra *et al.* 2006, Prus-Glowacki *et al.* 2003, Pyhäjärvi *et al.* 2007, Semiz *et al.* 2007, Turna 2003). A szigethegységi Mluha (RML) tőzeglápból származó magok kisebb tömege, maghossz / magszélesség, maghossz / szárny szélesség és magszélesség / szárny szélesség aránya a tápanyaghiány következményei lehetnek (Vaughton és Ramsey 1998). A Medzi bormi, Mohos, Poiana Stampei (SME, RMO, RPS) tőzeglápi állományok esetében az általunk tapasztalt szárny szélesség szignifikánsan alacsony értékeit McGinley *et al.* (1990) adatai is alátámasztják. Az eredményekben bemutatott dendrogram azt mutatta, hogy a populációk nem csoportosulnak egyértelműen élőhelytípusok szerint a mag- és szárny morfológia tekintetében. Ez valószínűleg a vizsgált populációk eltérő eredetével magyarázható. A Medzi bormi (SME) állomány

dendrogrammon belüli távoli helyzete valószínűleg abból adódik, hogy lépben a *Pinus sylvestris* és *P. mugo* közötti introgresszív hibridizáció következett be, amelyet korábban Christensen és Dar (1997), valamint Wachowiak és Prus-Glowacki (2008) is említ.

Az egyes magmorfológiai változók közötti korreláció megegyezik a szakirodalom adataival (Cervantes *et al.* 2016, Chambers és Macmahon 1994, Ehrenberg *et al.* 1955, Greene és Johnson 1993).

A Mantel korrelációs mátrixok nem mutattak lineáris összefüggést a morfológiai és földrajzi távolságok között. Ez az eredmény vagy azt tükrözi, hogy a mag fenotípusos változatosságát a genetikai és környezeti hatások közötti kovariancia határozza meg (Rehfeldt 1991), vagy annak tudható be, hogy a vizsgált állományok csak kis földrajzi tartományt képviselnek a faj nagy elterjedési területén.

A diszkriminancia-analízis a magmorfológia, valamint a magmorfológia és csírázási paraméterek révén erős differenciálódást mutatott. A tűzeglápi populációkat a csírázási arány, a maghossz és a szárnyhossz alacsony értékei határozták meg az 1. függvény, és az erdei és sziklai állományokhoz viszonyított köztes értékek a csírázási sebesség, magtömeg, magszélesség, szárnyisélesség és csírázási értékek a 2. függvény esetében. Az irodalom szerint a termelt magok nagysága és száma az anyanövényben felhalmozott tápanyagmennyiség függvénye. Mivel az ombotróf vagy oligotróf körülmények alacsonyabb tápanyagellátottságot jelentenek, a tűzeglápi állományok alacsonyabb csírázási százaléka az ilyen típusú élőhelyet jellemző sajátos körülményekkel magyarázható. A korreláció-analízis a csírázási százaléknak a maghossz, magszélesség és a magtömeggel való korrelációját eredményezte, hasonlóan korrelált a csírázási sebesség a maghossz / szárnyhossz és a magszélesség / szárnyisélesség aránypárokkal. Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy a nagy magvakból termesztett egyedek magasabb növekedést és túlélést eredményeznek.

A markerfejlesztés és transzfervizsgálat során kapott eredmények azt mutatják, hogy a tervezett primerek több fajon alkalmazhatóak a *Pinus* nemzetségen belül. A homológ szekvenciáknak a cirbolyafenyőn és erdeifenyőn egyaránt lehetséges alkalmazása jövőbeni lehetőség arra, hogy a *Pinus* nemzetségben hasonló régiók felszaporíthatóak legyenek. Eredményeink tehát azt jelzik, hogy a funkcionálisan megjelölt kódoló szekvenciák felszaporíthatóak és genetikai markerekként használhatóak ugyanazon nemzetség viszonylag távoli fajai esetén. A polimorfizmust mutató markerekkel eltérő élőhelytípusok vizsgálhatóak. Az általunk vizsgált két fajban 25 primer működött és az amplifikált fragmentumok többsége magas

polimorfizmust mutatott. Ezen lókuszok következésképpen nem konzervatívak. Mutációik megváltoztathatják az általuk kódolt transzkripciós faktorok és az enzimek másodlagos szerkezetét, következésképpen a funkciójukat is (Fu 1995). Eredményeink a genomból származó más kódoló DNS-fragmensek azonosításának fontosságára világítanak rá. A kimutatott SNP-k fontos szerepet játszhatnak az adaptáció további vizsgálataiban során, mivel a fehérje-kódoló lókuszok adaptív genetikai variációhoz közvetlenül kapcsolódhatnak. Másrészt a transzkripciós faktorok szekvenciaváltozása szintén függhet a DNS-től az 5' UTR régióban. Összességében ezek a genetikai különbségek erősen befolyásolhatják a populációk alkalmazkodóképességét. Mivel a fajoknak a környezeti változásokhoz való alkalmazkodási képessége a populációk genetikai változatosságától függ (Krutovsky és Neale 2005), az adaptív genetikai variabilitás az érintett génekben elengedhetetlen a hosszútávú alkalmazkodási folyamat szempontjából.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Vizsgálatunkban egyrészt az erdeifenyő – a Pannon-medencében és a Kárpátokban előforduló egyes széli állományainak – tobozmorfológián és a tülevélanatómián alapuló fenotípusos differenciálódásának felderítését kíséreltük meg. Eredményeink a paleobotanikai adatokkal összhangban vannak, az Északi-Kárpátok és a Pannon-medence állományainak közös eredetét jelzik. A tobozmorfológiában nagy variabilitást tapasztaltunk. A diszkriminancia-analízis feltárta az állományok egyértelműen megkülönböztethető csoportjait és szignifikáns különbséget mutatott a tőzeglápokban és a sziklai felszíneken tenyésző populációk között. A különböző élőhelyekről származó állományok közötti jelentős különbségeket a tülevélanatómiai bélyegek révén is kimutattuk. A mért fenotípusos differenciálódás élőhelytípus szerinti helyi adaptáció jeleként értékelhető.

Kísérletünk második része a magmorfológia és a csírázási paraméterek variabilitásának értékelésére vonatkozott a perempopulációk között és azokon belül, az élőhelytípus figyelembevételével. A diszkriminancia-analízis a tőzeglápokban tenyésző állományok jelentős differenciálódását mutatta. A maghossz, szárnyhossz és a csírázási arány bizonyult a legmarkánsabb jellemzőnek a tőzegláp eredetű magok azonosítása során.

Végül, a cirbolyafenyőn fejlesztettünk új molekuláris markereket 25 különböző – az alkalmazkodásban lehetséges szereppel bíró – génszakaszra, és ezeket erdeifenyő mintákon sikerrel teszteltük. 22 szekvencián a polimorf lókuszkok számát, a haplotípus és nukleotid diverzitást, indeleket, valamint a szinonim és nem szinonim SNP-et elemeztük. A polimorf lókuszkok száma egytől 14-ig terjedt, néhány génszakasz ebből a szempontból különös figyelmet érdemel. A kísérlet során számos SNP-t és indelt találtunk, ezek különböző környezeti feltételekhez történő adaptációs folyamatban lehetnek fontosak. Az észlelt nem szinonim SNP-k különös fontossággal bírnak, mert befolyásolhatják az általuk kódolt fehérje szerkezetét és funkcióját. A variábilis szekvenciák új SNP markereket jelentenek az alkalmazkodás tanulmányozásában. Mivel az érintett gének adaptív genetikai változása elengedhetetlen a stresszes körülményekhez történő hosszútávú alkalmazkodás során, a bennük fellelhető SNP-k jellemzése hozzájárulhat az adaptív variabilitás genetikai alapjainak megértéséhez.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- I. Tobozmorfológiai és túlevélanatómiai vizsgálataimmal bizonyítottam az Északi-Kárpátok és a Pannon medence periferiális erdeifenyő állományainak közös eredetét. Eredményeim összhangban vannak ezen refugiális helyszínek molekuláris filogeográfiai mintázatával.
- II. Szignifikáns különbséget sikerült kimutatni a tőzeglápok és sziklai felszínek erdeifenyő populációi között. Eredményeim révén ezen sajátos ökoszisztémáknak és a benne levő populációknak a környezet változásaira adott válaszára következtethetünk.
- III. A magmorfológiában és csírázásban tapasztalt élőhely szerinti elkülönülés kimutatásával a helyi adaptációra sikerült bizonyítékot szerezni. A magmorfológia és csírázás között tapasztalt korreláció hasznos lehet a magszelekció értékelésében.
- IV. Adaptív funkcióval társítható SNP markereket fejlesztettem cirbolyafenyőben és bizonyítottam alkalmazhatóságukat erdeifenyő esetében is. Ezen variábilis markerek eszközként használhatóak a későbbiekben az adaptáció mechanizmusainak mélyrehatóbb megértésében.

7. IRODALOM

- Alía, R., Moro-Serrano, J., & Notivol, E. (2001). Genetic variability of Scots Pine (*Pinus sylvestris*) provenances in Spain: growth traits and survival. *Silva Fennica*, 35(1), 27–38.
- Bell, G. (2010). Fluctuating selection: the perpetual renewal of adaptation in variable environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 365(1537), 87–97.
- Bernhardsson, C., Floran, V., Ganea, S. L., & García-gil, M. R. (2016). Forest Ecology and Management Present genetic structure is congruent with the common origin of distant Scots pine populations in its Romanian distribution. *Forest Ecology and Management*, 361, 131–143.
- Bilgen, B. B., & Kaya, N. (2007). Allozyme variations in six natural populations of scots pine (*Pinus sylvestris*) in Turkey. *Biologia*, 62(6), 697–703.
- Bobowicz, M. A. and Korczyk, A. (2000). The variability of the oldest trees of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) from the Bialowieza Primeval Forest. II. Variability of needle morphology traits in old-growth Scots pine trees from the Bialowieza Primeval Forest as compared to the variability. *Biological Bulletin of Poznań*, 1, 37.
- Boratynska, K. & Hincă, M. (2003). Morphological characteristic of *Pinus sylvestris* L. in the southernmost, isolated locality in the Sierra de Baza (Spain) as expressed. *Dendrobiology*, 50, 3–9.
- Bridle, J. R., & Vines, T. H. (2007). Limits to evolution at range margins: when and why does adaptation fail? *Trends in Ecology and Evolution*. 22(3), 140-147.
- Cervantes, E., Martín, J. J., & Saadaoui, E. (2016). Updated methods for seed shape analysis. *Scientifica*, 2016, 5691825.
- Chambers, J. C., & Macmahon, J. A. (1994). A say in the life of a seed: movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 25(25), 263–92.
- Cheddadi, R., Vendramin, G. G., Litt, T., François, L., Kageyama, M., Lorentz, S., ... Lunt, D. (2006). Imprints of glacial refugia in the modern genetic diversity of *Pinus sylvestris*. *Global Ecology and Biogeography*, 15(3), 271–282.
- Christensen, K. I., & Dar, G. H. (1997). A morphometric analysis of spontaneous and artificial hybrids of *Pinus mugo x sylvestris* (Pinaceae). *Nordic Journal of Botany*, 17(1), 77–86.
- Damblon, F. (1997). Palaeobotanical study of representative upper palaeolithic sites in the central European plain: a contribution to the SC-004 Project. *Préhistoire Européenne*, 11, 245–254.
- Dangasuk, O. G., & Panetsos, K. P. (2004). Altitudinal and longitudinal variations in *Pinus brutia* (Ten.) of Crete Island, Greece: some needle, cone and seed traits under natural habitats. *New Forests*, 27(Panetsos 1981), 269–284.

- Dzialuk, A., Muchewicz, E., Boratyński, A., Montserrat, J. M., Boratyńska, K., & Burczyk, J. (2009). Genetic variation of *Pinus uncinata* (Pinaceae) in the Pyrenees determined with cpSSR markers. *Plant Systematics and Evolution*, 277(3–4), 197–205.
- Eguiluz, P. (1984). Geographic variation in needles, cones and seeds of *Pinus tecunumanii* in Guatemala. *Silvae Genetica*, 33(2/3), 72–79.
- Ehrenberg, C., Gustafsson, Å., Forshell, C., Simak, M. (1955). Seed quality and the principles of forest genetics. *Hereditas*, 41(3–4), 291–366.
- Farrell, B. D., Dussourd, D. E., & Mitter, C. (1991). Escalation of plant defense: do latex and resin canals spur plant diversification? *The American Naturalist*, 138(4), 881.
- Forde, M. B. (1964). Variation in natural populations of *Pinus radiata* in California. *New Zealand Journal of Botany*, 2(4), 459–485.
- Fu, Y. X. (1995). Statistical properties of segregating sites. *Theoretical population biology*, 48(2), 172–197.
- Gil, L., Climent, J., Nanos, N., Mutke, S., Ortiz, I., & Schiller, G. (2002). Cone morphology variation in *Pinus canariensis* Sm. *Plant Systematics and Evolution*, 235, 35–51.
- Greene, D. F., & Johnson, E. A. (1993). Seed mass and dispersal capacity in wind-dispersed diaspores. *Oikos*, 67(1), 69–74.
- Haesaerts, P., Damblon, F., Bachner, M., & Trnka, G. (1996). Revised stratigraphy and chronology of the Willendorf II sequence, Lower Austria. *Archaeologia Austriaca*, 80, 25–42.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41(41), 95–98.
- Hampe, A., & Petit, R. J. (2005). Conserving biodiversity under climate change: The rear edge matters. *Ecology Letters*, 8(5), 461–467.
- International Seed Testing Association-ISTA. (1985). International rules for seed testing. *Seed Science and Technology*, 13, 299–513.
- Iverson, L. R., Schwartz, M. W., & Prasad, A. M. (2004). How fast and far might tree species migrate under climate change in the eastern United States? *Global Ecology and Biogeography*, 13, 209–219.
- Jankovska, V., & Pokorný, P. (2008). Forest vegetation of the last full-glacial period in the Western Carpathians (Slovakia and Czech Republic). *Preslia*, 80(3), 307–324.
- Jasińska, A. K., Boratyńska, K., Dering, M., Sobierajska, K. I., Ok, T., Romo, A., & Boratyński, A. (2014). Distance between south-European and south-west Asiatic refugial areas involved morphological differentiation: *Pinus sylvestris* case study. *Plant Systematics and Evolution*, 300(6), 1487–1502.
- Kinloch, B. B., Westfall, R. D., Forrest, G. I. (1986). Caledonian Scots Pine: origins and genetic structure. *New Phytologist*, 104(4), 703–729.
- Köbölkuti, Z. A., Tóth, E. G., Ladányi, M., & Höhn, M. (2017). Morphological and anatomical differentiation in peripheral *Pinus sylvestris* L. populations from the Carpathian region. *Dendrobiology*, 77, 105–117.

- Krutovsky, K. V., & Neale, D. B. (2005). Forest genomics and new molecular genetic approaches to measuring and conserving adaptive genetic diversity in forest trees. In *Conservation and management of forest genetic resources in Europe*. Zvolen: Arbora Publishers. pp. 369–390.
- Labra, M., Grassi, F., Sgorbati, S., & Ferrari, C. (2006). Distribution of genetic variability in southern populations of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) from the Alps to the Apennines. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 201(6), 468–476.
- Lenormand, T. (2002). Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology and Evolution*. 17(4), 183-189.
- Losos, J. (1996). Phylogenetic perspectives on community ecology. *Ecology*, 77(5), 1344–1354.
- Magyari, E. K., Veres, D., Wennrich, V., Wagner, B., Braun, M., Jakab, G., ... & Rethemeyer, J. (2014b). Vegetation and environmental responses to climate forcing during the Last Glacial Maximum and deglaciation in the East Carpathians: attenuated response to maximum cooling and increased biomass burning. *Quaternary Science Reviews*, 106(278), 2.
- Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27(2), 209–220.
- Marcysiak, K. (2006). Scots pine (Pinaceae) from the Crimea compared to the species variation in Europe on the basis of cone traits. *Analysis*, 12(2), 203–208.
- McGinley, M. A., Smith, C. C., Elliott, P. F., & Higgins, J. J. (1990). Morphological constraints on seed mass in lodgepole pine. *Functional Ecology*, 183-192.
- Naydenov, K. D., Tremblay, F. M., Alexandrov, A., & Fenton, N. J. (2005). Structure of *Pinus sylvestris* L. populations in Bulgaria revealed by chloroplast microsatellites and terpenes analysis: provenance tests. *Biochemical systematics and ecology*, 33(12), 1226-1245.
- Pardos, J. A. , Lange, W and Weißmann, G. (1990). Morphological and chemical aspects of *Pinus sylvestris* L. from Spain. *Holzforchung-International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*, 44(2), 143–146.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenALEX 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539.
- Prus-Glowacki, W., Stephan, B. R., Bujas, E., Alia, R., & Marciniak, A. (2003). Genetic differentiation of autochthonous populations of *Pinus sylvestris* (Pinaceae) from the Iberian peninsula. *Plant Systematics and Evolution*. 239(1-2), 55-66.
- Pyhäjärvi, T., García-Gil, M. R., Knürr, T., Mikkonen, M., Wachowiak, W., & Savolainen, O. (2007). Demographic history has influenced nucleotide diversity in European *Pinus sylvestris* populations. *Genetics*, 177(3), 1713–1724.
- Rehfeldt, G. E. (1991). A model of genetic variation for *Pinus ponderosa* in the Inland Northwest (USA): applications in gene resource management. *Canadian Journal of Forest Research*, 21(10), 1491–1500.

- Richardson, D. M., & Rundel, P. W. (1998). Ecology and biogeography of *Pinus*: an introduction. In *Ecology and biogeography of Pinus*, Cambridge, Cambridge University Press. pp. 3–46.
- Rozas, J., & Rozas, R. (1995). DnaSP, DNA sequence polymorphism: an interactive program for estimating population genetics parameters from DNA sequence data. *Computer Applications in the Biosciences*, 11(6), 621–625.
- Rudner, Z. and, & Sümegei, P. (2001). Recurring Taiga forest-steppe habitats in the Carpathian Basin in the Upper Weichselian. *Quaternary International*, 76, 177-189.
- Rudner, Z., Sümegei, P., Toth, I., Beszedá, I., & Hertelendi, E. (1995). The vegetation history of the Upper Weichselian in the Central and Southern Part of The Great Hungarian Plain. In *7th European Ecological Congress*. Budapest. p. 165.
- Semiz, G., Hejari, J., Isik, K., & Holopainen, J. K. (2007). Variation in needle terpenoids among *Pinus sylvestris* L. (Pinaceae) provenances from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*. 35(10), 652-661.
- Staszkievicz, J. (1961). Biometric studies on the cones of *Pinus silvestris* L., growing in Hungary. *Acta Botanicorum Academy of Science Hungary*, 7, 451–455.
- Staszkievicz, J. (1993). Zmienność morfologiczna szpilek, szyszek i nasion. *Biologia Sosny Zwyczajnej. PAN Instytut Dendrologii, Poznań–Kórnik*. pp. 33–42.
- Steinbeck, K. (1966). Site, height and mineral nutrient content relations of Scotch pine provenances. *Silvae Genetica*, 15(2), 42–50.
- Stieber, J. (1967). A magyarországi felsőpleisztocén vegetációtörténete az anthrakotómiai eredmények (1957-IG). *Földtani Közlöny*, 97(3), 308–317.
- Tóth, E. G., Vendramin, G. G., Bagnoli, F., Cseke, K., & Höhn, M. (2017). High genetic diversity and distinct origin of recently fragmented Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations along the Carpathians and the Pannonian Basin. *Tree Genetics and Genomes*, 13(2), 47.
- Turna, I. (2003). Variation of some morphological and electrophoretic characters of 11 populations of Scots pine in Turkey. *Israel Journal of Plant Sciences*, 51(3), 223–230.
- Turna, I., & Güney, D. (2009). Altitudinal variation of some morphological characters of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 8(2), 202–208.
- Urbaniak, L, Karlinski, L, Popielarz, R. (2003). Variation of morphological needle characters of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations in different habitats. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 72(1), 37–44.
- Vaughton, G., & Ramsey, M. (1998). Sources and consequences of seed mass variation in *Banksia marginata* (Proteaceae). *Journal of Ecology*, 86(4), 563-573.
- Vera, J. C., Wheat, C. W., Fescemyer, H. W., Frilander, M. J., Crawford, D. L., Hanski, I., & Marden, J. H. (2008). Rapid transcriptome characterization for a nonmodel organism using 454 pyrosequencing. *Molecular Ecology*, 17(7), 1636–1647.
- Wachowiak, W., & Prus-Głowacki, W. (2008). Hybridisation processes in sympatric populations of pines *Pinus sylvestris* L., *P. mugo* Turra and *P. uliginosa* Neumann. *Plant Systematics and Evolution*, 271(1–2), 29–40.

Wahid, N., González-Martínez, S. C., El Hadrami, I., & Boulli, A. (2006). Variation of morphological traits in natural populations of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) in Morocco. *Annals of Forest Science*, 63(1), 83-92.

Willis, K. J., & Van Andel, T. H. (2004). Trees or no trees? The environments of central and eastern Europe during the Last Glaciation. *Quaternary Science Reviews*, 23(23-24), 2369-2387.

8. A VIZSGÁLATBAN SZEREPLŐ POPULÁCIÓK NEVÉNEK RÖVIDÍTÉSI JEGYZÉKE

HKO	Kőszeg	Magyarország	bükkelegyes erdeifenyves
HFE	Fenyőfő	Magyarország	tölgyeelegyes erdeifenyves
HVE	Pethőhenye	Magyarország	tölgyeelegyes erdeifenyves
HZA	Szalafő	Magyarország	bükkelegyes erdeifenyves
HOR	Csörötnek	Magyarország	bükkelegyes erdeifenyves
SKV	Kvacany	Szlovákia	sziklai felszín
STU	Svarin	Szlovákia	sziklai felszín
SLI	Liptovszky Hrádok	Szlovákia	sziklai felszín
RFE	Fantana Brazilor	Románia	tőzezláp
RPO	Poiana Stampei	Románia	tőzezláp
RMO	Baile Tusnad	Románia	tőzezláp
RPA	Voineasa	Románia	sziklai felszín
RBI	Roşia	Románia	sziklai felszín
RBE	Posaga de sus	Románia	sziklai felszín
RML	Ponor	Románia	tőzezláp
RMH	Calatele	Románia	tőzezláp

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Impakt faktoros folyóiratcikkek:

Köbölkuti, Z. A., Tóth, E. G., Ladányi, M., Höhn, M. (2017). Morphological and anatomical differentiation in peripheral *Pinus sylvestris* L. populations from the Carpathian region. *Dendrobiology*, 77, 105–117.

Tóth, E. G., **Köbölkuti, Z. A.**, Pedryc, A., Höhn, M. (2017). Evolutionary history and phylogeography of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Europe based on molecular markers. *Journal of Forestry Research*, 1-15.

Lektorált folyóiratban megjelent közlemények:

Köbölkuti, Z. A., Höhn, M. (2018). Habitat type differentiation in peripheral *Pinus sylvestris* L. populations based on seed traits and germination data. *Studia botanica hungarica*. In press.

Tóth, E. G., **Köbölkuti Z. A.**, Pedryc A., Höhn M. (2015). Az SNP markerek és alkalmazhatóságuk fenyőfajok molekuláris genetikai vizsgálatainál. *Kertgazdaság*, 47(2), 79-87.

Konferencia összefoglalók (absztrakt):

Köbölkuti, Z. A., Tóth, E. Gy., Höhn, M. (2018). Adaptív markerek fejlesztése és tesztelése erdeifenyőn (*Pinus sylvestris* L.). XII. Aktuális Flóra- és Vegetációkutatók a Kárpát-medencében. Debrecen, 2018. február 23-25.

Köbölkuti, Z. A. Tóth, E. G., Jahn, D., Höhn, M., Heinze, B. (2017). Comparative analysis of adaptive variation in *Pinus cembra* L. and *Pinus sylvestris* L. based on Swiss stone pine transcriptome developed molecular markers. Integrated methods to detect polygenic adaptation from genomic data. Symposium and Summer School, Zürich. 2017.

Köbölkuti, Z. A., Jahn, D., Heinze, B. (2017). Cirbolyafenyő génextpressziós szekvenciaanalízise. IV. Transylvanian Horticulture and Landscape Studies Conference. Románia. Marosvásárhely, 2017. május 5-7.

Köbölkuti, Z. A., Tóth, K., Tóth, E. Gy., Buczkó, K., Höhn, M. (2017). Tűlevelek mikromorfológiai változatossága peremhelyzetű erdeifenyő (*Pinus sylvestris* L.) populációkban (P-8). XV. Magyar Növényanatómiai Szimpózium 2017. szeptember 7.

Höhn, M., **Köbölkuti, Z. A.,** Tóth, E. Gy. (2017). A Fenyőkúti tőzegláp erdeifenyves populációjának különleges helyzete molekuláris markerek vizsgálata alapján. IV. Transylvanian Horticulture and Landscape Studies Conference. Románia. Marosvásárhely, 2017. május 5-7.

Tóth, E. G., **Köbölkuti, Z. A.,** Bede-Fazekas, Á., Vendramin, G. G., Bagnoli, F., Höhn, M. (2017). Population demographic inferences of Scots pine along the Carpathians and the Pannonian Basin based on bioclimatic and molecular genetic data. Biogeography of the Carpathians (Second Interdisciplinary Symposium). Cluj-Napoca, Romania.

Köbölkuti, Z. A., Tóth, E. G., Zahoretz, A., Tóth, K., Höhn, M. (2015). Comparative needle anatomy and cone morphometry of natural *Pinus sylvestris* (L.) populations from Central-Eastern Europe. III. Transylvanian Horticulture and Landscape Studies Conference. Románia. Marosvásárhely, 2015. május 15-16.