

**EGY ELEGYES TÖLGY ÁLLOMÁNY FINOMLÉPTÉK GENETIKAI
MINTÁZATÁNAK ELEMZÉSE**

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében

a Nyugat-magyarországi Egyetem Roth Gyula Erdészeti és Vadgazdálkodási Tudományok
Doktori Iskolája

Erdei ökoszisztémák ökológiája és diverzitása programja

Írta:

Cseke Klára

Témavezet : Dr. Borovics Attila

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton % -ot ért el,

Sopron,

.....
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)

Első bíráló (Dr.) igen /nem

(aláírás)

Második bíráló (Dr.) igen /nem

(aláírás)

(Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen /nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján.....% - ot ért el

Sopron,

.....
a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

.....
Az EDT elnöke

Tartalomjegyzék:

1. Bevezet	7
2. Célkit zés	8
3. Szakirodalmi áttekintés	10
3.1. A taxonómiai „ördöglakat”	10
3.1.1. <i>A klasszikus rendszerek és a bennük rejl ellentmondások - A sz ken értelmezett tölgy fajok</i>	10
3.1.2. <i>Újabb vizsgálati módszerek a tölgy fajok elkülönítésére</i>	13
3.2. Új módszerek színrelépése az erdészeti kutatásban	16
3.2.1. <i>A legfontosabb molekuláris genetikai eredmények bemutatása: a taxonok és populációk elkülöníthet sége</i>	20
3.2.2. <i>A legfontosabb molekuláris genetikai eredmények bemutatása: finomlépték genetikai vizsgálatok</i>	26
4. Anyag és módszer	32
4.1. A vizsgált növényanyag	32
4.2. Taxonómiai vizsgálat	35
4.3. Laboratóriumi vizsgálatok	40
4.3.1. <i>Mikroszatellit vizsgálat</i>	40
4.3.2. <i>RAPD vizsgálat</i>	41
4.3.3. <i>Izoenzim vizsgálat</i>	43
4.4. Statisztikai értékelés	45
4.4.1. <i>Egyedazonosítás genetikai ujjlenyomat alapján</i>	46
4.4.2. <i>Genetikai szerkezet jellemzése</i>	46
4.4.3. <i>Csoportok (részpulációk) genetikai szerkezetének összehasonlítása</i>	47
4.4.4. <i>Egyedszint genetikai vizsgálatok</i>	48
4.4.5. <i>Térbeli genetikai struktúra</i>	48
5. Eredmények	50
5.1. Numerikus taxonómiai vizsgálat	50
5.2. Térképi ábrázolás	52
5.3. Mikroszatellit vizsgálat	53
5.3.1. <i>Egyedazonosítás genetikai ujjlenyomat alapján</i>	53
5.3.2. <i>A fajok genetikai elkülönülése</i>	56
5.3.3. <i>A molyhos tölgy komplex genetikai szerkezete</i>	61

5.4. Izoenzim vizsgálat	64
<i>5.4.1. A három vizsgált tölgy faj genetikai elkülönülése</i>	64
<i>5.4.2. A molyhos tölgy komplex genetikai szerkezete</i>	69
5.5. RAPD vizsgálat	71
<i>5.5.1. A három vizsgált tölgy faj elkülönítése</i>	71
5.6. Térbeli genetikai struktúra	76
5.7. Az egyedszint genetikai mintázat vizsgálata	81
5.8. A „Petraea-probléma”	92
5.9. Az újulat genetikai szerkezetének összehasonlítása a szülői nemzedékkel	97
6. Diszkusszió, következtetések	105
6.1. Numerikus taxonómiai vizsgálat	105
6.2. Genetikai ujjlenyomat létrehozása, klónok azonosítása	107
6.3. A térbeli genetikai struktúra	109
6.4. A vizsgált fehér tölgy fajok elkülöníthetősége	111
6.5. A hibridizáció mértékének vizsgálata az egyedi szint genetikai elemzésekkel	113
6.6. Technikai, módszertani következtetések, javaslatok	117
6.7. Egyéb gyakorlati következtetések, javaslatok	120
7. Összefoglaló, tézisek	123
8. Rövidítések jegyzéke	128
9. Köszönetnyilvánítás	129
10. Irodalomjegyzék	130
11. Mellékletek (CD)	
1. számú melléklet	
<i>1.1. Az izoenzim vizsgálatához alkalmazott extrakciós oldat receptje</i>	
<i>1.2. Az alkalmazott izoenzim gélrendszerek jellemzői</i>	
<i>1.3. A vizsgált enzimrendszerek megjelenítéséhez szükséges festőoldatok összetétele</i>	
2. számú melléklet	
<i>2.1. A numerikus taxonómiai határozás eredménye</i>	
<i>2.2. A molyhos tölgy egyedek numerikus taxonómiai határozásának eredménye</i>	
3. számú melléklet	
<i>3.1. A RAPD elemzés során alkalmazott három primer kombinációjából detektált markerek gyakoriságértékei a különböző taxonómiai csoportokban</i>	

4. számú melléklet

4.1. A kocsányos tölgy (*Qu. robur*) állomány térbeli genetikai struktúrája autkorrelációs elemzéssel (*GenAlEx*), a három alkalmazott marker csoport alapján, 10 m-es távolság osztályokra bontva

4.2. A kocsányos tölgy (*Qu. robur*) állomány térbeli genetikai struktúrája autkorrelációs elemzéssel (*GenAlEx*), a három alkalmazott marker csoport alapján, 2 m-es távolság osztályokra bontva 60 m-ig

4.3. A molyhos tölgy (*Qu. pubescens s.l.*) állomány térbeli genetikai struktúrája autkorrelációs elemzéssel (*GenAlEx*), a három alkalmazott marker csoport alapján, 10 m-es távolság osztályokra bontva

4.4. A molyhos tölgy (*Qu. pubescens s.l.*) állomány térbeli genetikai struktúrája autkorrelációs elemzéssel (*GenAlEx*), a három alkalmazott marker csoport alapján, 2 m-es távolság osztályokra bontva 60 m-ig

4.5. A teljes állomány, a kocsányos tölgy állomány valamint a molyhos tölgy állomány térbeli genetikai struktúrája a klón egyedek nélkül, autkorrelációs elemzéssel (*GenAlEx*), mikroszatellit (*SSR*) markerek alapján, 2 m-es távolság osztályokra bontva, 60 m-ig

5. számú melléklet

5.1. A *Structure* klaszterezés eredményeképpen kapott legvalószínű *bb* *K* klaszterszám értékelése

6. számú melléklet

6.1. A *Structure* klaszterezés eredményeként az egyedek besorolása a legvalószínű *bb* két klaszterbe, valamint a két klaszter között hibrid genotípust mutató egyedek

6.2. A *Structure* klaszterezés eredményének grafikus megjelenítése az egyedek két legvalószínű *bb* klaszterbe történt besorolásával

7. számú melléklet

7.1. A Besorolási Teszt eredménye, szürkén kiemelve a valamely másik klaszterbe átsorolt egyedek valószínű ségi értékeit

8. számú melléklet

8.1. A *Structure* elemzés eredménye a két vizsgált újulatfolt és az *id s* állomány összehasonlításából

8.2. A Besorolási Teszt eredménye a két vizsgált újulatfolt és az *id s* állomány összehasonlításából, színesen kiemelve az újalattal hasonló genetikai mintázattal rendelkező *id s* egyedeket

Kivonat

Tölgy állomány esetében, hazai viszonylatban elsőként került sor ún. finomléptékű genetikai mintázat elemzésre, amely során numerikus taxonómiai határozómódszer és három különböző molekuláris markertípus segítségével történt az állomány jellemzése. A területen dominánsan jelenlévő két fajcsoport, a kocsányos tölgy (*Quercus robur*) és a molyhos tölgy komplex (*Quercus pubescens* s.str., *Qu. virgiliana* és hibridjeik) egyedei területileg jól elkülönülnek, az ökológiai igényeiknek megfelelően. A területen igen kis részarányban sikerült csak kimutatni a kocsánytalan tölgy komplex (*Quercus petraea* s.str., *Qu. dalechampii* és hibridjeik) tagjait.

Mindhárom alkalmazott molekuláris genetikai marker-csoport alapján kismértékű elkülönülés volt megfigyelhető a három fajtölgy csoport között. Az alkalmazott három markertípus alapján a kis létszámú kocsánytalan tölgy komplex genetikai mintázata részben a kocsányos tölgyekkel, részben pedig a molyhos tölgyekkel mutatott nagyobb hasonlóságot. A molyhos tölgy komplexen belül nem volt megfigyelhető genetikai differenciálódás a két szorosan értelmezett faj és hibridjeik tekintetében.

Az egyedi genetikai mintázat, a numerikus taxonómiai határozás és a hagyományos bélyegeken alapuló megfigyelések komplex értékelése nyomán mintegy 20%-ra tehető az állományban a valamilyen fokú introgresszió nyomait viselő egyedek aránya. Az állományban fellelhető kocsánytalan tölgy komplex egyedeit vélhetőleg két irányból is – a molyhos tölgyek és kocsányos tölgyek felől – lezajlott introgresszió érintette a múltban, amely egyik oka lehet alacsony arányú jelenlétüknek a mai populációban. A fenotípusos megjelenés ugyanakkor nem minden hibrid genotípussal rendelkező egyed esetében jelentkezett köztes morfológiai bélyegegekkel.

Az idős állomány térbeli-genetikai struktúrája tekintetében a teljes állományra határozott térbeli-genetikai strukturáltság volt jellemző. Ezzel szemben, a két nagyobb részarányban jelenlévő tölgyfaj egyedei esetében csupán gyenge korreláció volt kimutatható. Ez a struktúra szintén az introgresszióval érintett egyedek jelenlétével függhet össze.

A területen, a régóta folyó sarjzattatás ellenére is csupán 9%-os arányban voltak jelen azonos genotípussal bíró, klón egyedek. Ezek nagyrészt csokros növekedést sarjak formájában jelentek meg, azonban két molyhos tölgy pár esetében megfigyelhető volt a nagyobb térbeli szeparáció, ami gyökérsarj eredetre utal. A két vizsgált újulatfolton is kimutathatóak voltak a klóneredetű egyedek, így a generatív szaporodási stratégia mellett a vegetatív stratégiával is számolni lehet a természetes újulatban. A genetikai diverzitáselemzés arra mutatott rá, hogy a sarjzattatás hatására megjelenő klón egyedek nem okozták az állomány drasztikus genetikai leromlását.

Abstract

A fine-scale genetic pattern analysis of a mixed oak stand

The first fine-scale genetic pattern analysis of a local Hungarian mixed oak stand has been carried out applying a numeric taxonomy method and three different molecular genetic marker systems. Among the three main white oak species groups identified (pedunculate oak - *Quercus robur*, pubescent oaks - *Quercus pubescens* s.l. complex and sessile oaks - *Quercus petraea* s.l. complex) a low genetic differentiation has been revealed by the molecular markers. There was no evidence of any genetic differentiation within the pubescent oak complex. The sessile oak group that comprised only a few individuals showed a unique genetic pattern partly analogous with both of the two other oak species groups. The introgression rate was almost 20 % in the stand and sessile oaks were mainly affected. The ratio of individuals with clonal origin was 9 % and a drastic genetic diversity loss could not be observed in the stand.

1. Bevezet

Hazánk legnagyobb területarányal rendelkező közös fafajai a tölgy nemzetség (*Quercus* L.) kerülnek ki. A természetközeli erdő gazdálkodás egyre nagyobb térnyerésével, továbbá az értékes faanyagok kapcsán fennálló állandó kereslet miatt napjainkig kiemelt jelentőséggel bírnak. A tölgyek ugyanakkor nem csupán gazdasági szempontból fontosak, hanem ökológiailag is meghatározó elemei Európa lombhullató erdeinek. A tölgykutatók mind a mai napig tartogat aktuális kérdéseket, hiszen bár sokan sokféle megközelítésben vizsgálták ezt az értékes fás nemzetséget, sok olyan biológiai kérdés maradt feltáratlanul, például a taxonómiai elkülönülés kérdése, hibridizációs folyamatok, populációdinamika és ökológiai kérdések, amelyek ma is foglalkoztatják a kutatókat. Amennyiben sikerül válaszokat találunk, legalább a kérdések egy részére, már olyan gazdaságilag is jelentős kihívásoknak tudunk eleget tenni, mint a klímaváltozás erdeinkre mért hatásainak követése, a fenntarthatóság kérdése a fajok jobb adaptációs potenciáljának kiaknázása révén, vagy akár csak a biodiverzitás megőrzéséből fakadó elnyújtott tudatos felhasználása.

A tölgyek esetében – a 400-450 körüli elkülöníthető taxonszámmal mint az északi félteke egyik legnagyobb virágos nemzetsége (Nixon 1993) – a rendszertani besorolásuk körüli problémakör az egyik kiemelt kutatási területnek számít. Bár a fajsza tekintetében a szakirodalmi megítélés változó, ez csupán részben ered a trópusi alakkör kérdéses taxonjaiból. A különféle tölgy fajokat megtalálhatjuk a mérsékelt égöv lombhullató zárt erdeinek fás fafajai között, állomány szintű terjedésük jelentős Európában (elsősorban *Qu. petraea* – kocsánytalan tölgy és *Qu. robur* – kocsányos tölgy), Észak-Amerikában (*Qu. alba* – fehér tölgy és *Qu. rubra* – vörös tölgy) és Kelet-Ázsiában (elsősorban *Qu. mongolica* – mongol tölgy). Az európai mediterrán régiókra, és még inkább az észak-amerikai kontinensre, valamint a trópusi élőhelyekre jellemző fajgazdagság kimagasló. Bár az európai kontinensen, a hegyvonulatok nyugat-kelet irányú lefutása miatt a legutóbbi eljegesedés hatására jóval alacsonyabb fajdiverzitás maradt fenn, mint az amerikai kontinens hasonló élőhelyein (Mátyás 1996), azonban a tölgy nemzetség taxonómiai összetételében még így is tartogat kihívást a 21. századi tölgykutatók számára. A következőkben – a disszertáció célkitűzéseinek ismertetését követően – ezeket, a sok esetben tudományos vitára okot adó területeket tekintjük át.

2. Célkit zések

A kutatás célja egy olyan elegyes tölgy állomány finomlépték genetikai vizsgálata, amely kimagasló diverzitással bír az európai fehér tölgy fajok tekintetében, mind taxonómiai mind morfológiai értelemben. A vizsgálni kívánt terület egy korábbi nemzetközi kutatás, az OAKFLOW Projekt keretén belül került kijelölésre, így az ott található egyedekről rendelkezünk már bizonyos kiindulási információkkal. Így megtörtént a kijelölt területen az id s egyedek, továbbá két újulatfolt egyedeinek sorszámozása és helyzetük koordinátákkal történ felvételezése, továbbá terepi bejárások alkalmával képet kaphattunk az egyedek taxonómiai és morfológiai sokféleségéről. Ezen túl, a projekt keretében DNS szint elemzések is történtek, amelynek nyers adatsora csak részben került kiértékelésre, illetve hazánkban egyáltalán nem került feldolgozásra.

Tekintettel az állomány taxonómiai összetettségére, valamint az átmeneti hibrid jelleg egyedek nagyszámú jelenlétére, egy olyan numerikus taxonómiai határozómódszert (Borovics 2000) tartunk szükségesnek alkalmazni, amely a levél alaki tulajdonságait vizsgálja többváltozós függvények segítségével. Ezen túl egyszer en kivitelezhető ség jellemzi és a szubjektív határozás lehetőségét kizárhatjuk. A módszerben leírt határozófüggvények a Kárpát-medence tölgy állományaiából gy jtött nagyszámú minta alapján kerültek kidolgozásra, így vélhetően leg a legnagyobb pontossággal alkalmas egy helyi állomány taxonómiai vizsgálatára. A módszer alkalmas továbbá a fajkomplexeken belüli, sz ken értelmezett (*sensu stricto*) fajok meghatározására, illetve a hibrid egyedek kimutatására is.

A taxonómiai csoportok elkülönülését – a tágan értelmezett fajkomplexek, illetve a sz ken értelmezett fajok tekintetében – molekuláris genetikai markerek alkalmazásával kívánjuk a továbbiakban vizsgálni. Ehhez három különböző markertípust tervezünk alkalmazni, hogy ennek megfelelően minél részletesebb képet kaphassunk a taxonómiai csoportok genetikai elkülönüléséről. Az alkalmazni kívánt markertípusok a következők lesznek: (1) a korábban már említett nemzetközi kutatás kapcsán rendelkezésre áll négy nukleáris mikroszatellit DNS markerrel létrehozott genotípus adatsor, amely feltehetően alkalmas lesz az egyedi szint azonosításra; (2) egy klasszikus, az erdészeti genetikai kutatásban igen elterjedt marker-csoport, az izoenzim rendszerek vizsgálata tovább b vítheti a tölgy fajokkal kapcsolatos eddigi populációgenetikai ismereteinket; (3) végül egy, az el z ekt l teljesen eltér domináns jelleg markertípus alkalmazását is tervezzük, a RAPD markerekét, amely a DNS nagyszámú pontját vizsgálja és ezáltal megint egy újabb képet adhat a csoportok genetikai elkülönüléséről. A molekuláris módszerek segítségével, a

megfelel populációgenetikai elemzések elvégzése révén, sor kerül az állomány genetikai diverzitásának elemzésére, benne a taxonómiai csoportok genetikai szerkezetének feltárására, továbbá az id skorú egyedek és az újulat részpopulációjának összehasonlító vizsgálatára. A többváltozós módszerekkel, valamint molekuláris markerekkel végzett taxonómia vizsgálatokon túl olyan egyedszint genetikai elemzéseket is alkalmazni kívánunk, amely alkalmas lehet a hibridizáción átesett egyedek genotípusából az introgresszió mértékének becslésére az állományban.

A disszertáció célkit zései tehát a következ k:

1. Az állomány id skorú egyedeinek taxonómiai határozása a Borovics-féle (2000) numerikus taxonómiai határozófüggvények alkalmazásával.
2. A taxonómiai csoportok elkülönülésének vizsgálata – a tágan értelmezett fajkomplexek, illetve a sz ken értelmezett fajok tekintetében – három molekuláris genetikai markertípus alkalmazásával, amelyek a következ ek: (1) négy nukleáris mikroszatellit marker kodomináns genotípus adatsora, (2) 13 izoenzim génhely elemzéséb l nyert kodomináns genotípus adatsor, (3) négy RAPD primer kombinációból nyert, domináns markerek.
3. Populációgenetikai elemzések elvégzése révén sor kerül az állomány genetikai diverzitásának elemzésére, benne a taxonómiai csoportok genetikai szerkezetének feltárására, továbbá az id skorú egyedek és az újulat részpopulációjának összehasonlító vizsgálatára.
4. Az állomány térbeli genetikai struktúrájának elemzése Mantel-teszt, valamint távolság osztályokra bontott autokorrelációs elemzés segítségével.
5. Egyedszint molekuláris genetikai elemzések kivitelezése kétféle megközelítésben (kiindulási besorolás figylemebevétele nélküli K-klaszterezés, illetve az el zetes besorolás tesztelése ún. Besorolási Teszttel), amelynek célja introgresszió mértékének becslése az állományban, a hibridizáción átesett egyedek genotípusát figyelembevéve.

3. Szakirodalmi áttekintés

3.1. A taxonómiai „ördöglakat”

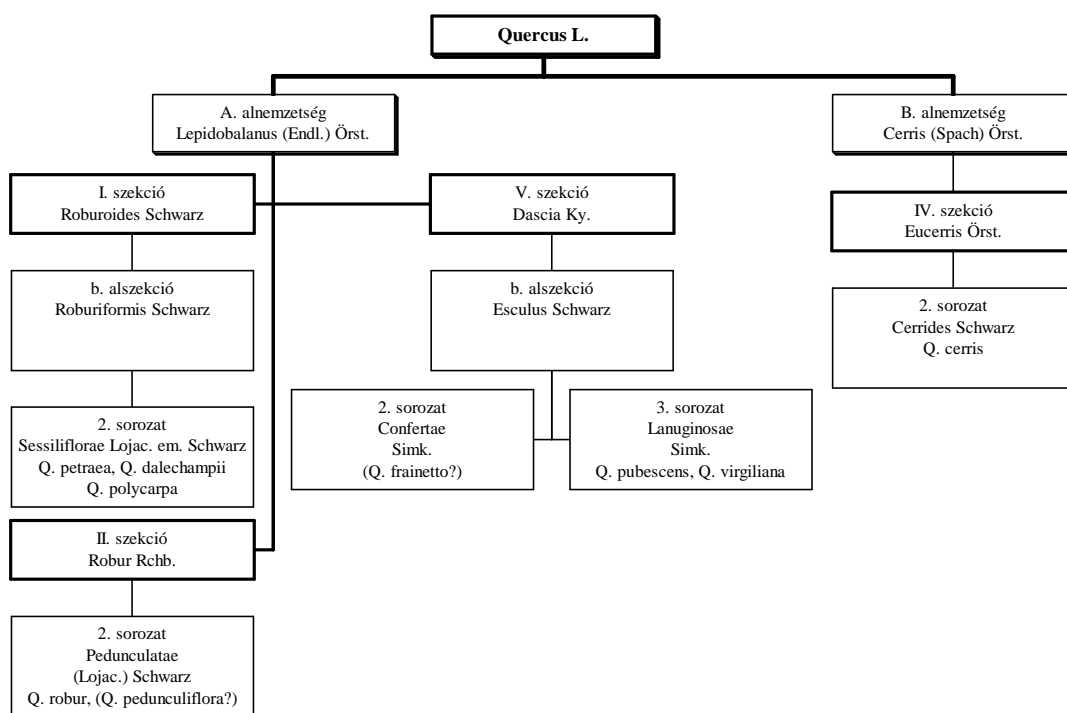
3.1.1. A klasszikus rendszerek és a bennük rejlő ellentmondások - A székelyi értelmezett tölgyfajok

Ahogy ezt már a Bevezetőben említettük, a tölgy nemzetség fajai (*Quercus* spp.) mind a mai napig komoly botanikai kihívást jelentenek. A taxonómiai szakirodalomra jellemző az erős megosztottság a fajszám tekintetében, és ha csupán a hazai lombhullató erdeink fő tölgyfajait nézzük, akkor is négytől kilencig terjedhet az elkülönített fajok száma.










A számbeli különbség alapvetően arra vezethető vissza, hogy a mediterrán, illetve a kontinentálisabb klímahatásokkal érintett közép- és délkelet-európai régiókban más, karakteres különbségekkel bíró „alakok” is megjelennek, ráadásul esetenként állományszinten, vagy legalább is jelentősebb egyedarányban egy-egy állományban. Ezek az eltérő típusok morfológiájukban jól megkülönböztethetők a Nyugat-Európában leírt tipikus kocsányos tölgy (*Quercus robur* L.), kocsánytalan tölgy (*Qu. petraea* (Matt.) Liebl.), vagy molyhos tölgy (*Qu. pubescens* Willd.) taxonoktól, amelyek a „nemes” vagy fehér tölgyek alnemzetségébe (*Lepidobalanus*) sorolhatók és közelebbi rokonságot mutatnak egymással. Ugyanakkor ezek az alapfajok egyfajta fajkomplexet képeznek, és feloszthatók további székelyi értelmezett fajokra (1. sz. táblázat). Így a kocsánytalan tölgyek csoportjában (*Sessiliflorae* sorozat) található a székelyi értelmezett kocsányos tölgy (*Qu. petraea* (Matt.) Liebl. s.str.), a dárdáskaréjú tölgy (*Qu. dalechampii* Ten.) és az erdélyi kocsánytalan tölgy (*Qu. polycarpa* Schur.). A kocsányos tölgy komplexen belül a domináns *Qu. robur* alapfaj mellett a hamvas- vagy szürkétölgy (*Qu. pedunculiflora* C. Koch) jelenhet meg, azonban ez utóbbi fajnak a székelyi honossága vitatott. A molyhos tölgyek csoportja (*Lanuginosae* sorozat) tovább osztható a székelyi értelmezett molyhos tölgy (*Qu. pubescens* Willd.) és az olasz tölgy (*Qu. virgiliana* Ten.) fajokra. A molyhos tölgyekkel közelebbi rendszertani kapcsolatot (*Dascia* szekció) mutató magyar tölgy (*Qu. frainetto* Ten.) hazai honossága szintén vitatott. Az előző fajokkal szemben a csertölgy (*Qu. cerris* L.) egy másik rendszertani ágon található, különálló alnemzetség (*Cerris*) tagja, és az előbbiekkal nem kereszteződik.

Ezek a székelyi értelmezett taxonok, egyedi morfológiai és ökológiai jellegzetességeik miatt, önálló fajként kerültek megkülönböztetésre sok közép-európai taxonómus rendszerében (Magi 2000; Požgaj 1986, 1990; Georgescu és Moraru 1948; Georgescu és mtsai 1963; Georgescu és Ciobanu 1964, 1965 a, 1965 b; Weiser 1964; Hedge és Yaltirik 1994; Soó 1970;

Simon 1994; Bartha 1997), akárcsak az Otto Schwarz (1936) nevéhez fűződő rendszerben, akinek tölgy monográfiája (*Die Eichen Europas und des Mittelmeergebietes*) a mai napig mérvadónak tekinthető (1. sz. ábra). A hazai rendszerek ugyancsak ezt a szisztémát követik (Soó 1970; Mátyás 1967 a, 1971 a, 1971 b, 1986; Majer 1987, 1989; Gencsi és Vancsura 1992; Bartha 1997), és a Kárpát-medencében fellelhető fajokban és sokszor hibridekben gazdag populációk leírásában olyan kiemelkedő botanikai szakemberek tevékenykedtek, mint Borbás Vince (1887), Simonkai Lajos (1890) és Fekete Lajos vagy a 20. század kiemelkedő tölgyszakértője Mátyás Vilmos (1962, 1967 a, b, 1970 a, b, c, 1971 a, b, 1973 a, b, 1975, 1986).



1. sz. ábra: A *Quercus* nemzetség hazánkban előforduló, feltételezhetően szonoros fajainak rendszere Schwarz (1936) nyomán

kocsányos tölgy komplex <i>Quercus robur</i> sensu lato		kocsánytalan tölgy komplex <i>Quercus petraea</i> sensu lato			molyhos tölgy komplex <i>Quercus pubescens</i> sensu lato			
kocsányos tölgy <i>Quercus robur</i> s.str.	hamvas tölgy <i>Quercus pedunculiflora</i>	kocsánytalan tölgy <i>Quercus petraea</i> s.str.	dárdáskaréjú kocsánytalan tölgy <i>Quercus dalechampii</i>	erdélyi kocsánytalan tölgy <i>Quercus polycarpa</i>	molyhos tölgy <i>Quercus pubescens</i> s.str.	olasz molyhos tölgy <i>Quercus virgiliana</i>	magyar tölgy <i>Quercus frainetto</i>	csertölgy <i>Quercus cerris</i>
								
Kontinentális klímát, medencefekvéseket toleráló faj. Mély, nedvesebb, humuszban gazdag talajokat kedveli, folyók menti hordalékos talajon is megtalálható. Nem kimondottan alföldi, síkvidéki faj, de egyes ökotípusa jól tűri az árterek, elárasztott, de nem pangóvízes környezetet. A völgyek mentén behatol a domb- és hegyvidékekre is, és az üdőbb kittedségek hegyoldalain átlag 600 m magasságig is felhatol. Fényigényes. Későbbi fagyokra érzékeny.	Inkább kontinentális klímán megjelen, délkelet-európai, balkáni faj. Jobban tűri a szárazabb és melegebb term. helyet, mint a kocsányos tölgy.	Kontinentális klímát kerül, inkább atlanti, mezofita, dombvidéki-középhegységi faj. Mészmentes vagy mészből szegény talajok üdőbb term. helyein él, de a rossz vízelvezetés, glejes talajokat nem kedveli. Nagyobb páratartalmat, jobb vízgazdálkodást igényel. Északi vagy hűvösebb kittedségek, völgyhajlatok kedvezőbbek számára, az alföldi területeken természetesen nem fordul el. Fagyra érzékeny. Jellemzően a gyertyánnal és bükkkel elegyedik.	Inkább kontinentális viszonyokhoz módosult, melegkedvelő, mérsékelt szárazságot tűr xerofil elem. Hosszabb nyári szárazsághoz, alacsonyabb páratartalomhoz alkalmazkodott. Meszes talajokat, löszös, andeziten, szilikátos talajokat is elviseli, tehát bazofil és acidofil tölgyekben egyaránt megtalálható. (Mész- és melegkedvelő tölgyekben, savanyú tölgyekben csak szórványosan.) Cseres tölgyes társulásokban a legelterjedtebb, itt gyakoribb, mint a <i>Q. petraea</i> . Az Északi-középhegységben elterjedt állományokat is képez.	Melegigényes, szárazságot tűr szubmediterrán típus. A kontinentális klíma éghajlati szélségeit jól elviseli. Talaj kémhatásában nem válogat. Bokorerdőkben, mész- és melegkedvelő erdőkben fordul el. Molyhos tölgyekkel elegyedhet. Karsztbokorerdőkben csak III. osztályú fáska. Száraz tölgyekben uralkodó faj lehet. Bokorerdőkben a molyhos tölgyet helyettesítheti. Alföldperemi kontinentális tölgyekben dominálhat, de cseres tölgyekben csak szórványosan fordul el.	Xerotherm, fényigényes, száraz élőhelyekhez alkalmazkodott faj. Bázikus, vulkanikus eredetű talajokat preferálja, de szélsőképpen száraz élőhelyeken savanyú talajon is megjelenhet. Gyengén fejlett talajokon, mint pl. sekély rendszíneken tipikus, kisebb mértékben homoktalajokon is el fordul. Domb- és hegyvidékeken meleg kittedség élőhelyein található.	A molyhos tölgyhöz képest inkább a kiegyenlített klímát kedveli. Mélyebb, jobb term. képességű talajokon vagy akár mészszegény talajon (pl. barna erdőtalaj, mélyebb rendszínek). Fényigényes. Csertölgyvel és kocsánytalan tölgyvel elegyedik.	Melegkedvelő, mezofita faj. A talaj kémiai összetétele iránt közömbös vagy inkább melegkedvelő. Sekély, köves talajokon is jól díszik. Elterjedésénél nyben részesíti a meleg déli oldalakat, és elviseli a hosszabb száraz periódusokat. Fényigényes, de nagyobb záródást visel el, mint a szekció többi faja. Magyarországi elterjedésének északi határa Sátoraljaújhegy felett hazánk jelenlegi területét alig haladja meg. Tömeges elterjedése 400-500 m-ig, délebbi vidékeken 700-800 m-ig is felhúzódik. Hazánk dombvidékeiben és középhegységeiben nagy területen el fordul, de síkságon is megtalálható.	Meleg- és fényigényes faj. Jól tűri a sekély, száraz, alacsony tápanyagtartalmú vázlatokat savanyú talajokon. Homokon nem fordul el. Fagyra érzékeny. Hazánk délies arculatának jellegzetessége. Dél-középeurópai, mediterrán faj, elterjedésének északi határa Sátoraljaújhegy felett hazánk jelenlegi területét alig haladja meg. Tömeges elterjedése 400-500 m-ig, délebbi vidékeken 700-800 m-ig is felhúzódik. Hazánk dombvidékeiben és középhegységeiben nagy területen el fordul, de síkságon is megtalálható.

1. sz. táblázat: A hazánkban el forduló tölgy fajok és fajkomplexek ökológiai igényeinek összehasonlítása Mátyás (1967 a) nyomán (levélfotók: Borovics A.)

Ugyanakkor a taxonómusok más csoportja (Enescu 1995; Borhidi 1998; Gellini és mtsai 1992; Bussotti és Grossoni 1997) csupán alfaji szinten javasolja az elkülönítésüket, óvatosságra intve a túlzott mértékű rendszertani felosztás tekintetében. Az indok ebben az esetben általában az európai fehér tölgyek közötti reprodukciós gát legalább részleges hiánya, illetve az ebből következő kiterjedt hibridizáció és átmeneti formák megjelenése, amely sok esetben a három alapfaj elkülönítését is megnehezítheti. Ezt a morfológiai megfigyeléseken alapuló álláspontot erősítették meg a 90-es években fellendült filogenetikai kutatások, amelynek egyik mérföldköve a Nixon (1993) által kidolgozott új rendszer volt. Ez, a mai taxonok virág és termés anatómiai megfigyelései mellett, fosszilis leletek vizsgálatain alapult, és így evolúciós összefüggések, leszármazási kapcsolatok feltárására volt alkalmas. Ez a rendszer magával hozta a tölgy taxonok faji szintű elkülönítésének megkérdőjelezését. Nixon álláspontja szerint ugyanis nemhogy a különleges ismérvekkel leírt fajokat nem lehet elkülöníteni, de még a három európai fehér tölgyfaj faji státusza is megkérdőjelezhető, ha a filogenetikai eredményeket vesszük alapul. Véleménye szerint az egyetlen fajba történő besorolás tükrözné leginkább a valós helyzetet, legyen szó bármilyen fokú fajon belüli változatosságról is, az csupán az alapfaj különböző ökotípusainak felel meg. Bár ez az álláspont igen szélsőségesnek tűnhet, és a taxonómusok és tölgykutatók között továbbra is tart a vita ennek a rendszernek az elfogadhatóságáról, azonban tény, hogy léteznek olyan álláspontok is már, amelyek támogatják az egyszerűsített taxonómiai besorolást (Kleinschmit és Kleinschmit 2000; Steinhoff 1998 a, b).

3.1.2. Újabb vizsgálati módszerek a tölgy fajok elkülönítésére

A képet tovább színesítette az olyan modern taxonómiai módszerek színre lépése, mint a numerikus taxonómia vagy morfometria (Bookstein 1991; Podani 1997). Ezek a módszerek már nem a klasszikus morfológiai bélyegek alapján felépített, hierarchikus határozókulcsok alkalmazásán alapulnak, hanem többváltozós függvényekkel írják le egy-egy taxonómiai csoportot. Ezek az ún. klasszifikációs függvények általában a levél alaki tulajdonságainak komplex vizsgálatát teszik lehetővé oly módon, hogy egyszerre, kombináltan értékelik akár 15-20 mérési pont vagy egyéb sajátosság (például szőrözöttség típusa, mértéke) értékeit. Más rendszerek olyan mikromorfológiai bélyegeket is vizsgálnak, mint a levélszövet sejtes szerkezete, a fonáki epidermisz viaszbevonata és a sztómátípusok (Baird 1981; Bussotti és Grossoni 1997) vagy a szórképletek mikroszkópikus felépítése (Kissling 1977, 1979; Mátyás 1983; Aas 1995, 1998; Kézdy 2000a, 2000b, 2001, 2002). Ezeknek a bélyegeknél a vizsgálata ugyan nagyobb szakértelmet és kifinomultabb technikai hátteret igényel, azonban

több kutatás is alátámasztotta már fontosságukat. Érdeemes megjegyezni, hogy a levél az egyik olyan szerv, amely a faji különbségek leírására leginkább alkalmas. A másik fontos csoportot a generatív szervek jelenthetnék: a klasszikusan nagy jelentőségű virágzati jellemzők (Borhidi 1998), illetve a tölgy fajok esetében a termés (Mátyás 1967 b), azonban a szakaszos terméshozam miatt ezek vizsgálata erősen korlátozott. A levél vizsgálata ezzel szemben szinte bármikor elvégezhető a vegetációs idő alatt, és az egyszerű méréseken, illetve a kontúrvonal digitalizált vizsgálatán alapuló morfológiai módszerek szempontjából is könnyebben kezelhetőek. A módszer legfontosabb előnye abban rejlik, hogy a hagyományos határozással ellentétben kiszűri a szubjektív szempontokból eredő bizonytalanságokat, illetve alkalmas az átmeneti formák értékelésére és így a hibrid típusok azonosítására. Az európai fehér tölgyek elkülönítésére több olyan klasszifikációs rendszer is született már, amelyek beépültek a gyakorlati kutatásba. A nyugat-európai szakirodalom elsősorban a kocsányos és kocsánytalan tölgyek elkülönítésének problémájára fókuszál. A Kremer és mtsai (2002) által létrehozott klasszifikációs függvény Európa nyugati régiójából (Skóciától délen Spanyolországig és keleten Ausztriáig bezárólag) begyűjtött mintákon alapul, és az előbbi két alapfajnak, illetve a közöttük létrejött hibrideknek az elkülönítését teszi lehetővé. Curtu és mtsai (2006) ezen rendszer mérési pontjait kombinálták az Aas (1998) által javasolt mikromorfológiai bélyegek értékelésével, illetve kiterjesztették a módszert a molyhos tölgyek vizsgálatára is egy a Keleti-Kárpátokban (Románia) mintázott elegyes tölgy állományban. Más szerzők is az adott tölgy fajok sajátosságait figyelembe véve alakították ki a saját, többváltozós határozómódszereket. Valbuena-Carabaña és mtsai (2005, 2007) spanyolországi *Qu. petraea* és *Qu. pyrenaica* elegyes állományokban vizsgálták a két faj és a közöttük kialakult hibridek arányát a levél alaki mérései és a szőrözöttség mértékének kombinált vizsgálatával. Borazan és Babaç (2003) a törökországi Bolu tartományban vizsgálták a *Qu. robur*, *Qu. petraea*, *Qu. pubescens* és *Qu. virgiliana* fajok elkülönítését levélparaméterek mérésein alapuló többváltozós statisztikai értékeléssel. Munkájuk nyomán a vizsgált tölgy fajok elkülönítése a *Qu. virgiliana* esetében egyáltalán nem, a másik három alapfaj esetében pedig részlegesen, átmeneti formákkal sikerült, amiből kiterjedt introgresszióra következtek a területen. Franji és mtsai (2006) horvátországi állományokból begyűjtött *Qu. pubescens* egyedek többváltozós levélvizsgálatát végezte el annak érdekében, hogy tisztázzák a molyhos tölgy komplexen belül, a Dalmát-félszigeten leírt további szűken értelmezett fajok (*Qu. virgiliana*, *Qu. brachyphylla*, *Qu. dalmatica*) önálló faji státuszát. Ezt azonban nem sikerült megérősíteniük (az eredményeik részletesebb tárgyalására még visszatérünk a molekuláris genetikai eredmények bemutatásánál).

Hazánkban Kézdy (1997 a, 1997 b, 2001, 2002) mind a levél mikromorfológiai, mind az alaki tulajdonságok mérésén, és a sz rözség mértékén alapuló bélyegeket kombinálta annak érdekében, hogy egyrészt feltárja az alföldi tölgyekben a kocsányos tölgy – molyhos tölgy, valamint kocsánytalan tölgy – molyhos tölgy hibridek arányát, illetve a hazai molyhos tölgy állományokban vizsgálja a két sz ken értelmezett faj (*Qu. pubescens* s.str. és *Qu. virgiliana*) elkülöníthet ségét. Míg az alapfajok közötti introgresszió kimutatását lehet vé tette a módszer, a két molyhos tölgy faj elkülönülését nem támasztotta alá. Borovics (1997, 1999, 2000) egy olyan komplex numerikus taxonómiai határozórendszert dolgozott ki, amely a Kárpát-medence tölgy fajainak és kislejűknek leírására alkalmas, illetve a közöttük létrejött hibridek is kisz ríthet ek a határozófüggvények alkalmazásával. A leírás alapját az a herbáriumi anyag szolgáltatja, amelyet a teljes Kárpát-medencét lefed , kiterjedt gy jt munka eredményeképpen Mátyás Vilmos hozott létre. A Borovics által létrehozott határozófüggvények egyszer és gyorsan kivitelezhet méréséb l állnak, amelyhez összetettebb szaktudás nem szükséges. A módszer továbbá online formában az interneten is hozzáférhet , *Quercologist* néven (<http://ngt-erdesztet.emk.nyme.hu/quercologist/default.htm>). Az egyszer kivitelezhet ség és a statisztikai alapot szolgáltató növényanyag eredete alapján ez a rendszer az, amely legnagyobb megbízhatósággal és legkényelmesebben alkalmazható a hazai állományok vizsgálatára.

Meg kell jegyezni ugyanakkor, hogy a klasszikus numerikus taxonómiai megközelítések mellett egyre nagyobb szerepet kapnak a digitalizált formában, levélkontúr alapján történ morfometriai vizsgálatok is (Bookstein 1991). Viscosi és mtsai (2009 a) 20 olaszországi populációból begy jtött *Qu. robur*, *Qu. petraea*, *Qu. pubescens* és *Qu. frainetto* fajok összehasonlító vizsgálatával értek el ígéretes eredményeket, míg egy másik tanulmány (Viscosi és mtsai 2009 b) egy nyugat-franciaországi *Qu. robur*, *Qu. petraea*, *Qu. pubescens* és *Qu. pyrenaica* fajokból álló állományban bizonyította a módszer nagyfokú alkalmazhatóságát.

A nagyszámú, átmeneti formát hordozó egyed kapcsán, a fajok közötti hibridizáció tényének bizonyítása a mesterségesen létrehozott hibridek által t nt a legcélravezet bb útnak. A különböző tölgy fajok közötti átkeresztez és lehet ségét számos mesterséges keresztezési kísérlet alátámasztotta mind az észak-amerikai (Cottam és mtsai 1982; Hardin 1975; Jensen és Eshbaugh 1976; Knops és Jensen 1980), mind pedig az európai tölgy fajok esetében (Dengler 1941; Rushton 1977; Aas 1991; Schüte 1995; Steinhoff 1998 a, b; Borovics 1998 b). Ugyanakkor, egyes megfigyelések szerint az F1 hibridek nem mutatnak feltétlenül köztes morfológiát, hanem inkább az egyik szül faj jegyeit hordozzák (Cottam és mtsai 1982; Kleinschmit 1995; Kleinschmit és mtsai 1995 a; Kleinschmit és Kleinschmit 1996), legalább

is fiatal stádiumban. A numerikus taxonómia és a morfometria tehát az objektív megközelítésből fakadó sajátossága révén jelenthetné a tölgyeket övező vita feloldását, azonban a hibridek és méginkább a többszörösen visszakereszteződött, introgresszált egyedek kapcsán kétséges eredményt nyújthat. A figyelem ezért egyre inkább a hibridizációs folyamatok, a fajok közötti géncsere és introgresszió molekuláris szintű vizsgálata felé fordult.

3.2. Új módszerek színrelépése az erdészeti kutatásban

Mint láthattuk, a taxonómusok szorgalmasan rendszerezték és írták le az alakgazdag fehér tölgyek különböző változatait és azok hibridjeit, fajkomplexekbe rendezve őket, majd tovább bontva a szűken értelmezett „kisfajokra”. Ezt a precíz, rendszerező munkát már az átmeneti, hibrid jellegű formák állandó felbukkanása is megnehezítette, és a molekuláris genetikai vizsgálatok eredményei végképp aláásni látszanak az eddig felépített rendszereket. A következőkben, mielőtt rátérnénk az eddigi kutatási eredmények bemutatására, egy kis kitérvel az eddig alkalmazott molekuláris genetikai módszerek sajátosságait tekintjük röviden át.

Az első generációs genetikai markerek az erdei fafajok kutatásában az izoenzim markerek voltak (Hamrick és mtsai 1992). Az izoenzimek olyan enzimvariánsokat jelentenek, amelyek azonos funkcióval bírnak, azonban szerkezetüket tekintve eltérőek (Markert és Moller 1959, Markert 1977). A szerkezetbeli különbség alapján egy egyszerű szeparációs technika (gélelektroforézis) alkalmazásával elválaszthatjuk az adott növénymintában megtalálható különböző változatokat. Az eltérő struktúrából pedig a kódolásukért felelős génszakasz eltéréseire következtethetünk. Így áttételesen ugyan, de a DNS diverzitásáról kaphatunk képet. Az izoenzimek esetében a változatok alapvetően kétféle módon alakulhattak ki. Az egyik típus (allozimek) esetében egyetlen struktúrgén variánsai (alléljai) felelősek az eltérő felépítésért. A másik esetben a különböző változatok eltérő struktúrgének termékei, ezek a valódi izoenzimek, amelyek enzimrendszereket alkotnak. Bármely csoportról is legyen szó, az izoenzim változatokat általában semleges genetikai markereknek tekintik, de legalább is valamely adaptív jelleghez köthet megjelenésük eddig még nem bizonyított. Ettől függetlenül, mivel funkcionális géntermékekről van szó, a teljes semlegesség és a véletlenszerű elfordulás is megkérdőjelezhető. Továbbá, egy Kremer és mtsai (1998 a) által végzett kutatás eredménye szerint az európai fehér tölgyek esetében a legmagasabb változatosság (heterozigotia) a termőhelyi optimumokon elforduló populációkban fordul elő,

ami szintén utalhat a semlegest l eltér mintázatra. Az izoenzim markerek esetében tehát a DNS néhány specifikus régiójáról nyerhetünk információt. A vizsgálható enzimrendszerek száma is korlátozott, a f fajok esetében 15-20 enzimrendszer esetében beszélhetünk független örökléssről, egyszer megjeleníthet ségr l és megfelel változatosságról. Ez utóbbi kritérium alatt általában 2-4, maximum 8 allélváltozatot értünk, így a modern markertechnikákkal összehasonlítva a felbontóképessége korlátozott.

A 90-es évek második felét l egy újabb markertechnika hódított, a kloroplasztisz DNS motívumait vizsgáló, cpNDS haplotípus változatosság vizsgálata. Ezek, a kizárólag anyai úton öröklődő DNS szegmensek alkalmasak voltak a komplex filogenetikai összefüggések feltárására, és így a múltban lezajlott események nyomon követésére. Hasonló célokat szolgált a riboszomális DNS ún. ITS¹ szekvenciáiban rejlő különbségek vizsgálata. (Weising és mtsai 2005)

A markerezési technikák következő lépés fokát a sejtmagi DNS vizsgálatát lehet vétevé RAPD² markerek jelentették (Williams és mtsai 1990). Ez a módszer már a PCR³ (polimeráz láncreakció) segítségével történő DNS fragmentumok felszaporításán, majd méret szerinti elkülönítésén (elektroforézis) alapul. A RAPD markerek ugyan a DNS-t rövid szekvenciamotívumok keresésével szerezik, így függetlenül a kódoló és a nem kódoló régióktól bárhol megjelenhetnek, azonban már a DNS nagyobb felbontóképességű analízisét teszik lehetővé. A RAPD markerek az ún. domináns markertípusba tartoznak, tehát csupán arról adnak információt, hogy bizonyos motívumok jelen vannak vagy sem a DNS adott pontján, így egy bináris jellegű genotípus kódot eredményeznek. A RAPD módszer egyszerűségéből fakadóan sajnos hibákat is rejt magában: a kivitelezése ugyan egyszerű, azonban az eredmények nem mindig reprodukálhatóak a néha ténylegesen véletlenszerű bekötődés és felszaporítás miatt. A domináns markerek egy új generációját jelentette az AFLP⁴ módszer kidolgozása (Vos és mtsai 1995), amely jóval összetettebb eljárással dolgozik (restrikciós enzimekkel történő emésztés után PCR reakció két lépésben, majd a fragmentumok pontos méretének meghatározása egy nagy felbontóképességű analízátorral), azonban a megbízhatósága ennek megfelelően jóval magasabb.

¹ ITS – *Internal Transcribed Spacer*

² RAPD – *Random Amplified Polymorphic DNA*

³ PCR – *Polymerase Chain Reaction*

⁴ AFLP – *Amplified Fragment Length Polymorphism*

A markerezési technikák fejlődésének egy következő lépcsőfoka a nukleáris mikroszatellit vagy más néven SSR⁵ markerek megjelenése volt (Beyermann és mtsai 1992). Ezek a markerek a DNS olyan speciális régióit jelentik, amelyek funkciójára máig nem derült fény. Felépítésük igen egyszerű, egy 1-5 bázispárból álló motívum nagyszámú ismétlődéseként jöttek létre, az ismétlődő elemek száma pedig igen változatos lehet a vizsgált egyedek között. Ennek megfelelően az adott mikroszatellit régió hossza is változó. Ez a hosszbeli változatosság jelenti ezen markerekben rejtelegfontosabb lehetőséget, ugyanis már akár 4-5 ilyen mikroszatellit szakasz mérésével olyan számkombinációhoz juthatunk, amely egyedi szintű azonosítást tesz lehetővé. Ennek köszönhetően ez a markertípus a genetikai ujjlenyomat technikák ('*genetic fingerprinting*') között vezető pozícióba került mind a humán, mind a zoológiai, mind pedig a botanikai kutatásban (Weising és mtsai 2005). A mikroszatellit markerek további nagy előnye abban rejlik, hogy az eddigekben bemutatott markerekkel szemben már kodomináns öröklődésmenetet mutatnak, tehát mind az apai, mind az anyai eredetű allélváltozat feltárhatóvá válik. Ebben az értelemben hasonlít az izoenzim markerekhez, azonban a kimagasló allélváltozatosság (a tulajdonképpen a hosszváltozatosság) révén a felbontóképessége jóval meghaladja a klasszikus markerekét. A kodomináns típusból következik tehát, hogy egy normál diploid szervezetnél minden mikroszatellit lokuszon⁶ két hosszadatot mérhetünk (egy apai és egy anyai eredetű). Amennyiben a két hosszérték megegyezik, akkor homozigóta genotípusról beszélünk, míg az eltérőknél heterozigótákról, akárcsak a klasszikus értelemben vett génhelyek esetében. Mindezekből következik, hogy a módszer felbontóképessége olyan értelemben is nő, hogy a heterozigóta lokuszok révén is nő a számkombinációk lehetősége. Így például 5 mikroszatellit marker vizsgálatával egy 5×2 számjegyből álló kódot kapunk, amelynek minden számjegye egyedenként eltérő lehet. Bár a természetes populációk esetében az allélok eloszlására inkább a haranggörbe jellegű eloszlás jellemző, tehát míg egyes allélok igen gyakoriak az adott állományban, addig más, ritkább allélváltozatok csak kis gyakorisággal jelennek meg. Az alkalmazott markerek esetében kiszámítható annak a valószínűsége, hogy két genotípus kód véletlenszerű egyezést mutat (P_{ID} , *probability of identity* érték), ami abban az esetben fordulhat elő, ha kevés markert vizsgáltunk, és a ritka allélok nem kerültek színre (pl. kis

⁵ SSR – *Simple Sequence Repeat*

⁶ természetesen nem valódi génhelyekről van szó, azonban a szaknyelvben megmaradt ez az elnevezésmód, ahogyan az allél kifejezés is a különböző hosszváltozatokra

mintaszámnál). Ekkor növelni kell a vizsgált markerszámot, és így finomítható a felbontóképesség.

A mikroszatellit markerekben rejlik másik nagy lehetőség a rokon egyedek tesztelése az egyedi genetikai profil alapján. Különböző statisztikai eljárásokkal azonosítható a legvalószínűbb szülő vagy szülő pár az utódok és a feltételezett szülő genotípusának ismeretében. Az ilyen szülő-, illetve apasági vagy anyasági vizsgálatokhoz (*parentage*, *paternity*, *maternity analysis*) ma már több program is rendelkezésre áll, amelyeket az erdészeti kutatásban is alkalmazhatunk (Cervus 3.0 – Kalinowski és mtsai 2007; FaMoz – Gerber és mtsai 2003; Probmax 1.2 – Danzmann 1997).

A mikroszatellit markerek egyik legnagyobb hátrányát ugyanakkor a semlegességük okozza: míg egyedazonosításra kiválóan alkalmazhatóak, addig adaptív jellegű tulajdonságok követésére nem váltak be. Ez vélhetőleg abból következhet, hogy bár elfordulnak kódoló régiókban is, azonban nagyrészt a nemkódoló, egyelőre funkció nélkülinek tartott DNS szakaszokhoz köthetnek leginkább. Másik hátrányuk a kivitelezés összetettebb voltában, és ennek megfelelően magasabb költségigényében rejlik, azonban a nagyfokú megbízhatóságuknak köszönhetően az ismétlésszám minimálisra csökkenthető, így összességében akár olcsóbbak és időtakarékosabbak is lehetnek egy RAPD technikával összehasonlítva. A markertípus első felbukkanásakor még jelentős költségeket jelentettek a mikroszatellit régiók feltárásának munkálatai. Ezt legalább nemzetségenként szükséges volt elvégezni, és bár a rokon fajok között a markerrégiók gyakran azonos DNS régióban helyezkednek el, így a markerleírások könnyen adaptálhatóak a rokon fajok között, azonban ez nem minden esetben garantált. Ma már a legfontosabb fafajok esetében jelentős marker adatbázisok állnak rendelkezésre, ami a mikroszatellit technika rutinszerű alkalmazását lehetővé teszi, és ennek megfelelően a költségei is mérséklődtek. A fehér tölgyek esetében alkalmazott legfontosabb mikroszatellit markerleírások a Steinkellner és mtsai (1997) által *Qu. petraea* genomról leírt QpZAG sorozat, a Kampfer és mtsai (1998) *Qu. robur* genomról leírt QrZAG sorozata, illetve a Dow és mtsai (1995) nevéhez fűződő MSQ sorozat, amely a *Qu. macrocarpa* faj genomjából származik. Az említett markerek közül több univerzálisnak bizonyult más tölgy fajok esetében is (Fernández és mtsai 2000; Valbuena-Carabaña és mtsai 2005; Neophytou és mtsai 2008; Curtu és mtsai 2006).

A markerezési technikák legújabb hullámát viszont azok a kodomináns markerek képviselik már, amelyek alkalmasak a genom teljes „átfésülésére”, lehetővé téve így az

adaptív markerek kiszűrését (SNPs⁷, Lascoux és Petit 2010), illetve eleve a kódoló régiókban találhatóak (EST-SSRs⁸, Varshney és mtsai 2005; Ellis és Burke 2007; Durand és mtsai 2010) így növelve az esélyt az adaptív jellegek genetikai kontrolljának feltárására. A tölgy nemzetség esetében is történtek elrelépések az elmúlt években, így ma már rendelkezésre állnak az első adatbázisok, igaz első sorban a *Qu. robur* és *Qu. petraea* genom vizsgálata alapján (EVOLTREE SNP Database: <http://www.evoltree.eu/index.php/snp>; Quercus Portal EST Database: <https://w3.pierroton.inra.fr/QuercusPortal/index.php?p=est>).

3.2.1. A legfontosabb molekuláris genetikai eredmények bemutatása: a taxonok és populációk elkülöníthetősége

A tölgy fajok esetében a filogenetikai kutatások szolgáltatották az első meglepő eredményeket, ugyanis sem a cpDNA markerek (Kremer és mtsai 1991; Ferris és mtsai 1993; Petit és mtsai 1993 a, 1995, 1996, 1997; Manos és mtsai 1999), sem a riboszomális DNA speciális markerszakaszai (Petit és mtsai 1993 b) nem mutattak ki markáns, fajsztint elkülönülést a három fő fehér tölgy faj, a kocsányos, kocsánytalan és molyhos tölgy között. A cp haplotípusok alapján rekonstruált posztglaciális rekolonizációs útvonalak, valamint a lehetséges refúgiumterületek feltárása további érdekességre derítettek fényt (Petit és mtsai 1997, Dumolin-Lapégue és mtsai 1997, Petit és mtsai 2002, Bordács és mtsai 2002). A vizsgálatok eredményeképpen megállapítható volt ugyanis, hogy az azonos refúgium területekről származó leszármazási vonalak a faji hovatartozástól függetlenül azonos haplotípusokban osztoznak. Ez a megfigyelés vezetett ahhoz az elmélet kidolgozásához (Petit és mtsai 2002), amely szerint az eljegesedés utáni visszavándorlás során kiterjedt hibridizáció zajlott az említett három tölgy faj között, és mintegy egymást segítve, szukcessziós lépésenként együttesen haladtak előre. Ezek a szukcessziós lépések vélhetőleg úgy zajlottak, hogy a pionír jellegű kocsányos tölgyek ligetes térfoglalása után a kocsánytalan tölgy egyedek pollen révén jelentek meg fokozatosan nagyobb arányban az egyes állományokban. Ezután a kialakult hibridek további folyamatos, kocsánytalan tölgy pollennel történt visszakereszteződés miatt egyre inkább túlsúlyba kerültek a kocsánytalan tölgy introgresszált formák és végül kiszorítva a tiszta kocsányos tölgy egyedeket az állományból. Így egy pollen útján történő szukcesszió révén gyakorlatilag egy „genomiális szukcesszió” zajlott le. Bár a molyhos tölgyekről kevesebbet tudunk, azonban a szintén nem elkülöníthető haplotípus

⁷ SNP – *single-nucleotide polymorphism* (ejtsd: *sznip*)

⁸ ESTs – *Expressed Sequence Tags*

mintázatukból kiindulva, feltételezhet en hasonló folyamatok révén hódíthattak teret. Ez az európai fehér tölgyekre jellemző sajátosság lehet vé teszi az állományok természetességének, autochtonitásának feltárását (Kätzel és mtsai 2002, König és Stauber 2004, Cottrell és mtsai 2004, Buiteveld és Koelewijn 2006). Megfigyelhet ugyanis, hogy az shonos állományokban csupán egy vagy néhány haplotípus dominál, és amennyiben a fajok elegyedve vannak jelen, ez a haplotípus jellemző mindegyik jükre. Ráadásul az adott uralkodó haplotípus mintázat jól megfeleltethető a legutóbbi eljegesedés után történt visszavándorlás útvonalának mintázatával. Ezzel szemben, a nem shonos, betelepített állományokban általában már elve egyes haplotípus mintázattal találkozhatunk, de legalább is a mintázat nem illeszkedik a környező állományok genetikai összetételéhez. Az idegen haplotípusokból az esetek többségében az is megmondható, hogy mely területekről származott a betelepített növényanyag.

Az európai fehér tölgyfajok esetében számos izoenzim tanulmány készült, azonban ezek egyike sem mutatott ki fajspecifikus allélokot, bár egyes allélok gyakorisága tekintetében például a PGM-A, IDH-B és ACP-C enzimrendszereknél, a kocsányos és kocsánytalan tölgy fajok között tapasztalható volt jelentős eltérés az allélgyakoriságok tekintetében (Hertel és Degen 2000). A molyhos tölgyfaj esetében még kevesebb információ áll rendelkezésünkre, bár ezek – hasonlóan a másik két tölgy faj esetében tapasztaltakhoz – nem mutatnak éles fajsztint elkülönülést (Samuel és mtsai 1995; Curtu és mtsai 2006; Kanalas és mtsai 2008). Tekintve, hogy az izoenzim markerek felbontóképessége korlátozott, a fajok közötti markáns különbségek hiánya még nem jelenti ténylegesen az elkülönülés hiányát. Ezt erősítik meg a más fafajok esetében tett megfigyelések is, miszerint a fafajokra jellemző kimagasló izoenzim változatosság többnyire a populációkon belül jelenik meg, és jelentősebb differenciálódás csupán az egyébként is izolált, fragmentált areával jellemezhető fafajoknál fordul elő (Mátyás 1999). A tölgyek esetében az eredmények nagy része a két legnagyobb területen megjelenő tölgy faj a kocsányos és kocsánytalan tölgy genetikai mintázatának vizsgálatára korlátozódik. Az egyik érdekes eredmény, hogy míg a két faj populációi között nem tapasztalható éles genetikai elkülönülés, addig egy határozott K-Ny irányú klintális mintázat figyelhető meg az izoenzim variációkban. A diverzitás értéke kimagasló mértékű az egyéb fafajokhoz mérten is, és ennek a magas értéknek a fenntartásában vélhetőleg a kiterjedt intra- és interspecifikus génáramlás nagy szerephez jut (Kremer és mtsai 1998 a, b). Ezen túl, a kocsánytalan tölgy esetében további korreláció is kimutatható volt a diverzitási mutatók és a földrajzi elhelyezkedés között (Kremer és mtsai 1998 a): (1) A rügyfakadás sokkal változatosabbnak bizonyult a nyugati populációkban és a magasabb fekvésű állományokban, továbbá a mérhető,

fenotípusos tulajdonságok alapján általánosan jobb elkülönülés figyelhető meg a populációk között, mint az izoenzim markerek alapján; (2) ugyanakkor a magassági növekedés változatosabb a déli populációkban, amiben a *Qu. pubescens*-szel vagy akár más mediterrán fajokkal történt introgresszió játszhat szerepet; (3) kelet felé haladva nem a lokuszonkénti allélszám, amiben viszont a balkáni-pontuszi elemekkel (*Qu. dalechampii*, *Qu. polycarpa*) történt keveredés mutatkozhat meg (Zanetto és Kremer 1995) és az izoenzim polimorfizmus keleten magasabb diverzitást jelez (Zanetto és Kremer 1995, Le Corre és mtsai 1998); (4) végül a várható heterozigócia nyugati irányban növekszik és a tengerszint feletti magassággal csökken (Zanetto és Kremer 1995). A nyugat-európai populációkban megfigyelhető magasabb heterozigócia értékek vélhetőleg a kiegyenlítettebb, atlantikus klímán a *Qu. robur*-ral történő intenzívebb géncseréből fakadhat, tekintve, hogy a két faj ökológiai igényeikben, és így az elfoglalt élőhelyekben nem különül el olyan markánsan. Ezzel szemben a kocsányos és kocsánytalan tölgyek elkülönülése a Kárpát-medencében jóval hangsúlyosabb mind morfológiai (Borovics 1997), mind genetikai mintázatban (Bordács és Korányi 1993, Bordács és Burg 1997), ami a korábban már említett balkáni-pontuszi hatással függhet össze.

Moreau és mtsai (1994) szintén kocsányos és kocsánytalan tölgyek közötti eltérést vizsgálták sejtmagi genom szintjén RAPD markerekkel. Általánosan rendkívül alacsony mértékű elkülönülést tapasztaltak (átlag 0,5 %), azonban sikerült kimutatniuk egy olyan markert (fragmentumot), amely gyakorisága jelentős mértékben eltért a két faj között (*Qu. robur*-nál 1,0 volt, míg *Qu. petraea*-nál csupán 0,16). Ez a véletlenül kimutatott marker jól jelzi, hogy előfordulhatnak eltérések a fajok genetikai állományában, ha nagyon alacsony arányban is, azonban a felkutatásuk igen hosszadalmas és sokszor véletlenszerű folyamat. AFLP markerekkel végzett vizsgálatokra szintén elsősorban a nyugat-európai kocsányos és kocsánytalan tölgy állományok esetében találhatunk példákat (Mariette és mtsai 2002; Bakker és mtsai 2001; Coart és mtsai 2002). Általánosan elmondható, hogy bár az AFLP jobb és megbízhatóbb felbontást kínáló módszer, mint a RAPD technika, azonban a két tölgy faj elkülönítésére nem szolgáltattak eddig fajspecifikus markerekkel, bár a gyakoriság értékek megoszlása alapján a két taxonómiai csoport részben elkülöníthető volt. A Mariette és mtsai (2002) által végzett nagyobb léptékű nyugat-európai vizsgálat (az Egyesült Királyságtól Spanyolországon át Ausztriáig 7 populáció mintázása), nagyobb mértékű genetikai diverzitást jelezett a kocsánytalan tölgy csoporton belül, mint a kocsányos tölgyeknél. A kocsánytalan tölgy populációk között némileg magasabb volt a genetikai differenciáltság mértéke is. Ugyanez a tanulmány nukleáris mikroszatellit markereket is alkalmazott, azonban a 155 AFLP markerhez viszonyítva a 6 SSR marker esetében kisebb volt a genetikai differenciáltság

mértéke. Ugyanakkor a mikroszatellit markerekkel nyert genetikai mintázat is megerősítette a kocsánytalan tölgy csoport magasabb diverzitását és differenciáltságát. Összességében elmondható, hogy a populációk elkülönítése érdekében lehetőség szerint minél magasabb markerszámra kell törekedni, amely leginkább az AFLP markerek esetében valósítható meg. Ráadásul úgy tűnik, hogy jelenleg csak ez a marker csoport teszi lehetővé az adaptív jellegekhez kötött markerek fellelését, mivel a korlátozott számú mikroszatellit lokuszok esetében eddig csupán semleges jelleg volt kimutatható.

A két alfaj, a *Qu. robur* és *Qu. petraea* közötti genetikai differenciálódás vizsgálatának egy speciális megközelítése volt a Scotti-Saintiagne és mtsai (2004) által publikált, irányított keresztezésből származó 278 testvérből álló utódnemzedék QTL⁹ vizsgálata. Ez a vizsgálat mind módszertanában (géntérképezés, QTL markerek kutatása), mind a felhasznált markerek számában és összetételében (389 marker, köztük izoenzim, SCAR, SSR, AFLP, SNP markerek) egyedülállónak bizonyult. A vizsgálat megerősítette azokat a korábbi eredményeket, amely szerint a két faj között nagyon kismértékű a genetikai elkülönülés. Az eltérésekért felelős markerek azonban elsősorban a genom kódoló régióihoz köthetők, tehát kijelenthető, hogy a semleges markertípusokkal jóval kisebb mértékű elkülönülés tárható fel. Ezt erősíti meg az a tény is, hogy funkcionális régiókhoz kötődő SNP markerek, továbbá néhány izoenzim lokusz nagyobb differenciálódást jeleztek, mint a mikroszatellit, vagy akár AFLP markerek. Ezen túl azt is megállapították, hogy az eltéréseket okozó régiók nem a genom egy jól körülhatárolható régiójához köthetők, hanem elszórva, több ponton is jelen vannak. Így például a két faj elkülönítésére máig leginkább alkalmas levél morfológiai tulajdonságokért felelős QTL markerek is 6 különböző kapcsolódási csoportban, elszórtan voltak kimutathatóak. Hasonlóan a víz felhasználás hatékonyságával összefüggő markerek is két, nagyobb csomóponton (*hot spot*) jelentek meg, illetve további számos, a genomban elszórtan megjelenő és kevésbé szignifikáns QTL marker is kötődött ehhez a tulajdonsághoz.

Közép-Európa tekintetében jóval kevesebb tanulmány áll rendelkezésünkre, és mivel a pontuszi-balkáni elemek megjelenésével a térségre jellemző a tölgy változatok számának növekedése a kiegyenlítettebb klímájú, nyugati térséghez viszonyítva, a vizsgálatok is változó fajösszetételűek. Az egyik fő kutatási irány a molyhos tölgy állományok genetikai mintázatának vizsgálata. Erről, a harmadik legnagyobb elterjedési területtel bíró európai fehér

⁹ QTL – *Quantitative Trait Loci* (Camp és Cox 2002)

tölgy fajról összességében kevesebbet tudunk, mint az intenzíven vizsgált kocsányos és kocsánytalan tölgy fajokról. Az első filogenetikai kutatások, amelyek az európai fehér tölgy állományok intenzív vizsgálatát végezték el, azt a meglepő eredményt hozták, hogy a cp-haplotípusok tekintetében a molyhos tölgyek sem rendelkeznek egyedi, a kocsányos és kocsánytalan tölgyektől eltérő genetikai mintázattal sem európai léptékben (Petit és mtsai 2002), sem pedig a helyi, kárpát-medencei illetve balkáni területeken (Bordács és mtsai 2002). Bordács (1998) vizsgálata szerint (lásd még: Bordács és Borovics 1999) a molyhos tölgy komplexbe tartozó két hazai faj a székelyföldi molyhos tölgy (*Qu. pubescens* s.str.) és az olasz tölgy (*Qu. virgiliana*) között nem mutatható ki különbség sem a cp-haplotípus mintázatban, sem a vizsgált RAPD markerek tekintetében. Ugyanakkor a molyhos tölgyekkel közelebbi rokonságot mutató magyar tölgy (*Qu. frainetto*) esetében kimutathatóak voltak unikális cp-haplotípusok. Hazánkban Kanalas és mtsai (2008) egy kocsánytalan tölgy állományt (Bükk hegység, Síkfő kút) vizsgáltak, a begyűjtött egyedek levélmintáin elvégzett numerikus taxonómiai határozással és izoenzim elemzéssel. A kijelölt területen az uralkodó *Qu. petraea* egyedek mellett *Qu. polycarpa*, *Qu. pubescens* és *Qu. virgiliana*, illetve különböző fajösszetételben hibrideket is azonosítottak, összesen 30%-os arányban. Ugyanakkor ez a morfológiai és taxonómiai heterogenitás nem volt teljesen érthető a genetikai mintázatban. Meglepő módon viszont, a három fakadási csoport közül a korán fakadó egyedek csoportja a genetikai távolság alapján jól elkülönültek a másik két, későbbi fakadású csoporttól. Ez vélhetőleg a populáció jóval korábbi differenciálódásából alakulhatott ki, ami viszont az eltérő virágzási periódusból eredően az említett csoportok közötti génáramlás hiányára vezethető vissza.

Franji és mtsai (2006) Horvátország területén vizsgáltak több molyhos tölgy állományt levélmorfológiai bélyegek és RAPD markerek segítségével, annak érdekében, hogy a feltételezett komplexen belüli, egyéb molyhos tölgy fajok (*Qu. virgiliana*, *Qu. brachyphylla*, *Qu. dalmatica*) önálló faji státuszát megértsék vagy cáfolják. Sem a numerikus taxonómiai vizsgálatok, sem a genetikai mintázat nem támasztja azonban alá a molyhos tölgy komplex további fajokra bontását. Ugyanakkor egyértelműen elkülönülés mutatkozott a déli és északi terület között, amelyet mindkét csoportosítási módszer megerősített. A szerzők az északi állományokban tapasztalható nagyfokú genetikai és morfológiai diverzitás alapján a kocsánytalan tölgyvel való kiterjedt introgressziót feltételezik, míg a déli populációkban, ahol a két tölgyfaj elterjedési területe már nem fed át, vélhetőleg tisztán *Qu. pubescens* egyedek fordulnak elő. Hasonló eredményekre jutottak Bruschi és mtsai (2000) észak- és közép-olaszországi állományok mikroszatellit markerekkel végzett vizsgálatakor, vagyis nem

sikerült elkülöníteniük a kocsánytalan tölgyek és molyhos tölgyek csoportját a genetikai mintázat alapján, ami a két faj közötti kiterjedt hibridizációra utalhat. Salvini és mtsai (2009) szintén egy olaszországi állományban végeztek hasonló genetikai vizsgálatot, ahol nagy arányban tártak fel kocsánytalan tölgy és molyhos tölgy hibrid genotípussal rendelkező egyedeket. Az utódvizsgálat eredményeképpen azt is megállapították, hogy az aktuális beporzáskor nagy arányban a kocsánytalan tölgy egyedek szerepeltek pollen donorként, továbbá a hibrid anyafákat mindkét alapfaj, és a hibrid egyedek is egyenlő mértékben termékenyítették. A kocsánytalan tölgyek és molyhos tölgyek között létrejövő kiterjedt introgresszióra már egy korábbi, északkelet-franciaországi elegyes tölgy állományban végzett morfológiai vizsgálat (Dupouey és Badeau 1993) is szolgáltatott bizonyítékot. Ebben a vizsgálatban ugyanis a kocsányos tölgy egyedek egyértelműen elkülöníthetőek voltak a másik két tölgy fajtól, azonban a kocsánytalan és molyhos tölgyek között egy folyamatos átmeneti formákat tartalmazó csoport volt kimutatható.

A három fehér tölgy faj komplex, összehasonlító vizsgálatára Curtu és mtsai (2006) kutatását érdemes kiemelni. Egy, a Keleti-Kárpátokban (Bejan, Románia) található elegyes tölgy állományban végeztek taxonómiai és genetikai megfigyeléseket (cp, izoenzim és SSR markerekkel). A tölgy fajokban gazdag területen (*Qu. robur*, *Qu. petraea*, *Qu. pubescens*, *Qu. frainetto*, *Qu. cerris*) a csertölgy (*Qu. cerris*) egyértelműen elkülönült genetikai mintázatában a többi tölgy fajtól, ami megerősíti az elkülönült taxonómiai státuszát is (másik alnemzetség). A fehér tölgyek között viszont részben volt csak kimutatható genetikai elkülönülés. A Neiféle genetikai távolságok alapján szerkesztett dendrogramokon a *Qu. frainetto* a *Qu. pubescens*-szel mutat közelebbi kapcsolatot, ahogyan a Schwarz-féle rendszerben is azonos szekcióba (sect. *Dascia*) tartoznak. Ugyanakkor a *Qu. robur* csoporttól a legtávolabb helyezkedik el. A taxonok páronkénti összehasonlításakor a *Qu. petraea* és a *Qu. pubescens* csoportok között mutatható ki a legkisebb genetikai differenciálódás a mikroszatellit markerek alapján, ami nagyobb mértékű génáramlást feltételez a két faj között, és alátámasztja az előzőekben már ismertetett megfigyeléseket a két faj introgressziója kapcsán. Curtu és mtsai (2011 a) egy korábbi vizsgálatukban több romániai állományból begyűjtött *Qu. pubescens* és *Qu. frainetto* egyedek genetikai elkülöníthetőségét vizsgálták részletesebben. Az alkalmazott hét mikroszatellit marker (ebből két EST-SSR régió) segítségével sikerült jól elkülöníteniük a két taxonómiai csoportot, illetve bizonyos állományokban kimutatniuk a hibrid egyedeket. A romániai állományok kapcsán egyértelműen megállapítható volt, hogy a *Qu. frainetto* faj alacsonyabb genetikai diverzitással bír, és a populációi között kisebb a genetikai távolság, mint a *Qu. pubescens* állományok esetében. Érdekes módon mégis a *Qu.*

frainetto állományok esetében volt kimutatható olyan egyedek nagyobb arányú jelenléte, amelyek a két faj közötti, kevert genotípussal rendelkeztek. Ez alapján a szerzők erre sebb introgresszióra következtettek a *Qu. frainetto* fajnál.

Végül a kocsányos tölgy csoport tekintetében két érdekes eredményt említhetünk. Curtu és mtsai (2011 b) egy közelmúltban készített vizsgálata a kocsányos tölgy komplexbe tartozó egyik szárazságtoleráns faj, a *Quercus pedunculiflora* genetikai mintázatát tárta fel izoenzim és cp haplotípusok segítségével 7 romániai állományban. A levél morfológiai vizsgálata alapján úgy találták, hogy a fonáki szárazságtoleráns szilárdoság szolgálja a legjobb elkülönítésre alkalmas bélyeget a két csoport között, továbbá az egyéb levélbélyegek tekintetében is nagymértékű hasonlóságot tártak fel a molyhos tölgyek jellemzőivel. Mindezek alapján, feltételezésük szerint a szárazságtoleráns *Qu. pedunculiflora* alak vélhetőleg a *Qu. robur* és *Qu. pubescens* közötti introgresszió eredményeként alakulhatott ki. A genetikai mintázatban kimutatható kismértékű elkülönülés ugyanakkor arra utal, hogy a két kocsányos tölgy faj elkülönülése csak a közelmúltban kezdődhetett, és közöttük még mindig intenzív géncsere áll fenn. Bordács és Burg (1997) magyarországi kocsányos tölgy állományok reprezentatív mintázását végezték el RAPD markerekkel, amelynek eredményeképpen egy olyan unikális markert sikerült kimutatniuk, amely a szlavón tölgyek (*Quercus robur* ssp. *slavonica*), a kocsányos tölgy egy területileg jól elhatárolható származásának (Mátyás 1967) a jellegzetessége volt. Ez a marker sem a többi *Qu. robur* állományban, sem a másik két tölgy fajnál nem jelent meg. Az egyedi genetikai mintázatból a szlavón tölgyesek önálló evolúciós fejlődésére következtettek. Ugyanakkor azt is szem előtt kell tartani, hogy a specifikus markerek jelenlétükkel sok esetben csupán a populációk egyediségét jelzik (Dumolin-Lapégue és mtsai 1997; Bordács és Burg 1997), a tényleges taxonómiai elkülönülés vizsgálatára pedig mindkét esetben további minták bevonása szükséges.

3.2.2. A legfontosabb molekuláris genetikai eredmények bemutatása: finomléptékű genetikai vizsgálatok

A finomléptékű genetikai vizsgálatok áttekintését érdemes kiemelni, hiszen más jellegű információhoz juthatunk általuk, mint a populációk közötti genetikai kapcsolat feltárásából. A finomléptékű elemzések sajátossága, hogy egy kijelölt mintaterület lehet legösszes időskorú egyedét mintázzuk, a helyzetüket földrajzi koordinátaikkal rögzítjük, így a későbbiekben a vizsgált állományrészlet genetikai struktúráját tudjuk rekonstruálni. Ezek az elemzések is a diverzitás egyfajta felmérését jelentik, azonban mindez sokkal kisebb távolságon belül történik. Általában olyan markertípus alkalmazása célszerű, amellyel

lehetőség nyílik az egyedek genetikai azonosítására, genetikai ujjlenyomatuk révén, így a klónok (sarjak) kiszérésére, illetve a genetikailag nagyobb hasonlóságot mutató egyedek esetleges térbeli csoportosulásának kimutatására (térbeli genetikai struktúra). Mindezek miatt az elemzések finomléptékűek tekinthetők mind a földrajzi távolság, mind a genetikai felbontás tekintetében. A leggyakrabban alkalmazott mikroszatellit markerek kodomináns sajátosságából következően nem csupán egyedazonosításra alkalmasak, hanem az utódnemzedék és a szülő populáció genotípusának ismeretében szülő vizsgálatokra vagy ismert anyanövény esetében apasági vizsgálatokra is lehetőség nyílik. Így nem csupán a két generáció genetikai mintázatát hasonlíthatjuk össze, de olyan populációdinamikai folyamatok is tanulmányozhatóak, mind a pollen általi génáramlás vagy akár a mag útján történő migráció aránya vagy távolsága. A tölgy fajok esetében az egyes állományokban lehetőség nyílik továbbá a hibridizáció vagy introgresszió mértékének feltárására is. A következőkben néhány, a fehér tölgyekkel kapcsolatos finomléptékű genetikai vizsgálat eredményeit foglaljuk össze.

A tölgyek esetében az első ilyen jellegű vizsgálat Dow és Ashley (1996) nevéhez köthető, akik egy észak-amerikai faj, a *Quercus macrocarpa* egy állományában vizsgálták az állományon belüli génáramlás arányát a beporzás során mikroszatellit markerek alkalmazásával. A tulajdonképpeni apasági vizsgálat során azt az eredményt kapták, miszerint a beporzás során, a 62 vizsgált egyed közül a magoncok 80%-a mindössze 4 egyedtől származott. Míg az állományban vélhetőleg néhány domináns egyed vesz részt a beporzásban, addig a külső pollen biztosítja a genetikai változatosság fenntartását és a beltenyésztettség elkerülését. Ezzel az állományban egy természetes szabályozó rendszer alakulhat ki.

Streiff és mtsai (1999) már egy *Qu. robur* és *Qu. petraea* egyes állományban vizsgálták hasonló módon a külső pollen arányát. Vizsgálatukban meglepő módon 70%-ban kívülről érkezett pollent mutattak ki, tehát a beporzó egyed nem volt megtalálható az 5,76 hektáros állományban. Az átlagos megporzási távolság 287 m volt, és a távolsági pollen transzport bizonyíthatóan fontos szerepet játszott az állomány genetikai diverzitásának fenntartásában.

Az európai fehér tölgy állományokban – első sorban a kocsányos és kocsánytalan tölgyek esetében – a génáramlás mértékének vizsgálatára, és 2001 és 2005 között egy nemzetközi projekt jött létre OAKFLOW néven. Ebben a komplex kutatásban kilenc európai mintaterület került kijelölésre és intenzív mintázásra (ún. ISP területek, *intensive study plot*) különböző országokban (Anglia, Dánia, Hollandia, Svédország, Franciaország, Spanyolországhoz tartozó szigetek, Olaszország, Svájc és Magyarország). A mintaterületek nagysága igen változó volt, 5-50 hektáros méretekig. A vizsgált európai részterület keleti

szélén elhelyezkedő magyar mintaterület Sopron közelében került kijelölésre, egy taxonómiai és morfológiai is igen változatos összetételű egyes állományban. Azonban ez a taxonómiai gazdagság, valamint a hibrid jegyeket mutató példányok sokasága vezetett ahhoz, hogy az általános érvényű konklúziók levonásakor a hazai mintaterület szinte minden tekintetben kívülállónak szerepelt (bár ugyanez részben elmondható a mediterrán fajokat is feldolgozó spanyol területekről). Így a nyugatabbra fekvő, tisztán kocsányos és kocsánytalan tölgyekből álló állományok alapján az eredmények egységesebbek. Az egyik fontos konklúzió az európai tölgy állományok magas genetikai diverzitása, amelynek fenntartásában a legfontosabb evolúciós faktornak a pollen útján történő, populációk és fajok közötti génáramlás tekinthető. A vizsgált területeken átlagosan 60%-os volt a külső pollen aránya, ami megfelelő mértékben fenntartja az utódpopulációban a genetikai változatosságot. A meglepő eredményt a mag útján történő génáramlás (*seed flow*) hozta, ugyanis a diszperzió genetikai nyomon követésével az állományokban átlagosan 40%-ra volt tehető a külső migráció aránya. A nagy magvú fajok magszóródása elsősorban gravitációs úton történik, és így kis távolságon belül valósulhat meg. Azonban a magas tápanyagtartalmú szaporítóképletek esetében, mint a tölgy makkok esetében is, nagy szerepet kap az állatok útján történő terjesztés is. A tölgyek esetében is találhatunk már olyan vizsgálatokat, amelyek egy-egy tölgy faj és a makkot fogyasztó madár vagy kisemlék kapcsolatát, és így a diszperziót befolyásoló hatásukat vizsgálja. Különösen a szajkó jelet ségére hívják fel többnyire a figyelmet, amely egyúttal a faj védelmének szükségességét, például vadászatának tilalmát is kellően indokolja (Grivet és mtsai 2003; Pons és Pausas 2007).

A finomléptékű vizsgálatok másik fontos célkitűzését a fajok közötti hibridizációs események feltárása jelenti. A korábban bemutatott OAKFLOW projekt keretében kijelölt svájci mintaterületen Gugerli és mtsai (2007) végeztek ilyen irányú levélmorfológiai és genetikai vizsgálatokat (öt mikroszatellit marker alkalmazásával) kocsányos és kocsánytalan tölgyek között. A genetikai klaszterezés alapján jól elkülöníthető volt a két taxonómiai csoport, és az egyedek besorolása összhangban állt a morfometriai elemzés eredményével is. A területen igen kis arányban voltak jelen hibrid genotípussal bíró egyedek, és a morfológiai bélyegek alapján hibridként meghatározott egyedek többsége is besorolható volt genotípus mintázatuk alapján valamelyik alapfajba. Ráadásul ez megfelelt a környező fák taxonómiai státuszának. A két faj egyedei területileg is jól elkülönültek az élő helyen tapasztalható környezeti különbségeken kialakult mikrohabitatoknak megfelelően. A tanulmány végső konklúziójaként azt emeli ki, hogy az idős kori állományban igen kis arányban fordulnak elő a hibrid egyedek, ami arra utal, hogy az eltérő mikrohabitatokon az alapfajok jutnak szelekciós

el nyhöz, és az esetleges hibrid egyedek még fiatal stádiumban kisselektálódnak. Mindezek alapján a szerzők arra hívják fel a figyelmet, hogy a két faj közötti genetikai elkülönülés korlátozott volta inkább a fajképzés és fiatal stádiumával magyarázandó, mintsem az intenzív géncserével.

Curtu és mtsai (2007) korábban bemutatott vizsgálatában szintén viszonylag alacsony volt a morfológiailag hibrid egyedek aránya (6%), és csupán 3,4%-ban voltak kimutathatók első generációs hibridek a területen. Ráadásul a morfológiailag és genetikailag hibridként azonosított egyedek sem voltak minden esetben összhangban, amiből az következett, hogy a morfológiailag hibrid fenotípus nem jelentett feltétlenül valódi genetikai hibrid státuszt, és fordítva. Az introgresszió kimutatható volt a fajok között, azonban nem egyforma mértékben. A legkisebb mértékben a *Qu. robur* és *Qu. frainetto* csoport között volt megfigyelhető (1,7%), ezt követte a *Qu. robur* és *Qu. petraea* csoportok közötti magasabb introgressziós érték (6,1%), míg nagyobb mértékben volt kimutatható a *Qu. pubescens* és *Qu. petraea* között (9,4%), illetve legmagasabbnak bizonyult a *Qu. pubescens* és *Qu. frainetto* fajok között (16,2%). Ugyanakkor a szerzők felhívják a figyelmet arra, hogy a fajok között megtalálható kisszámú első generációs hibrid arra utal, hogy működik egyfajta reprodukciós gát, aminek következtében a fajok nem olvadnak fel egymásba. Az F1 hibridek ellen vélhetőleg működik egy szelekciós mechanizmus, a szülő fajok, illetve a szülő fajokkal nagyobb hasonlóságot mutató visszakeresztezhető formák javára.

A Salvini és mtsai (2009) finomléptékű genetikai vizsgálatáról, amelyet egy *Qu. petraea* és *Qu. pubescens* elegyes állományban végeztek, korábban már volt szó. A vizsgálat érdekessége volt, hogy a nagy arányban feltárt hibridek vagy visszakeresztezhető egyedek között a beporzás irányát is azonosították. Így míg az első generációs hibridek esetében a *Qu. petraea* dominál mint pollendonor, addig a hibrid anyafákat egyenlő mértékben termékenyítették a két alapfajhoz tartozó, illetve a hibrid egyedek.

Ugyanakkor egy spanyolországi vizsgálat (Valbuena-Carabaña és mtsai 2007), amely három *Qu. petraea* és *Qu. pyrenaica* elegyes állomány genetikai szerkezetét, és a hibridizáció mértékét tárta fel, arra hívja fel a figyelmet, hogy a kapott eredmények nagyban függenek a populációk egyedi sajátosságaitól. Így a területileg jól elkülönült alapfajok esetében a hibrid és introgresszált egyedek kisebb számban fordultak elő, és szinte kizárólag a kontakt zónában helyezkedtek elő. Ebben az átmeneti zónában megfigyelhető volt a talaj azon tulajdonságainak köztes formában való megjelenése is, amely talajtulajdonságokra egyébként a két alapfaj térbeli szeparációja is visszavezethető. Ezzel szemben a jobban elegyesedő állományban, ahol az edafikus tényezők szempontjából az élőhely is jóval kiegyenlítettebb volt, a különböző

mértékben introgresszált egyedek is elszórva és nagyobb számban fordultak elő. A vizsgálat egyik legérdekesebb eredménye a hibridizáció térbeli genetikai struktúrára gyakorolt hatásának kimutatása volt. Az introgresszált formák gyakoribb előfordulása ugyanis kimutatható volt az állomány térbeli-genetikai mintázatában, még hozzá nagyobb mértékben, mint az alapfajok esetében. Az élőhely változatosságának, mozaikosságának a fajok elterjedésére és a hibrid zónák kialakulásával való összefüggésekről már más, amerikai tölgyfajok esetében is születtek megfigyelések (Dodd és Afzal-Rafii 2004; Williams és Mtsai 2001), illetve Himrane és Mtsai (2004) a *Qu. pubescens* × *Qu. faginea* hibridek ökofiziológiai paramétereiben mérhető nagyobb változatosságát mutatták ki az alapfajokhoz képest.

Az introgresszió mértékét és irányát, és így a valamilyen fokú hibrid genotípusok arányát az adott állományban nem csupán az élőhely befolyásolhatja, hanem az alapfajok egyedaránya is. Lepais és Mtsai (2009) intenzív mintázáson alapuló és 10 mikroszatellit markerrel végzett, nagyfelbontású genetikai analízisen alapuló kutatásuk alapján megállapították, hogy az európai fehér tölgyek körében kiterjedt és általános folyamatnak tekinthető a fajok közötti keresztezés. Ugyanakkor, az adott állományban kisebb egyedszámban jelenlevő tölgyfajokat nagyobb mértékben érinti a más fajtól származó pollen, illetve a már kialakult hibrid egyedeket is nagyobb arányban termékenyítik a gyakoribb fajok. Így az introgresszió aszimmetrikussá válik, és akár a ritka faj teljes genetikai integritásának eltűnéséhez is vezethet. Lepais és Gerber (2011) folytatva az előző tanulmányt, azt is megállapította, hogy a hibridek ugyanolyan életképesnek bizonyultak mind a termelt pollen, mind a mag szempontjából, mint a tiszta fajok egyedei. Ugyanakkor, a szaporodásban egyenlő arányban résztvevő fajok esetében mégis a magkódik egyfajta kontroll a fajazonos pollen kiszűrésére, ami hosszú távon megakadályozza a hibrid egyedek felduzzadását az állományban és így legalább részben fenntartja a fajok elkülönülését.

Egy-egy kiválasztott állomány teljes vagy közel teljes mintavételezésén és az egyedek nagy felbontású genetikai analízisen alapuló finomléptékű vizsgálatok sok egyéb kutatási lehetőséget rejt magában. Copini és Mtsai (2005) például az egykori hollandiai tölgyesek helyén visszamaradt, részben a legeltetés miatt kitermelt, részben a zifatermelés céljából sarjzattal fenntartott, leromlott erdő genetikai szerkezetét és diverzitását tárta fel a módszerrel. A vizsgált területeken az egyedek genetikai ujjlenyomata alapján beazonosították a klóneredetű fákat, amelyek sokszor kiterjedt sarjtelepek és egymástól jól elkülönült gyökérsarjak formájában voltak jelen. Az európai bükk esetében (*Fagus sylvatica*) Buiteveld és Mtsai (2007) a különböző erdészeti művelésmódoknak az állomány genetikai szerkezetére

gyakorolt hatását tanulmányozták intenzív genetikai mintázással, illetve Höltken és Gregorius (2006) a madárcseresznye (*Prunus avium*) gyökérsarjakkal való kolonizációs stratégiáját hasonlították össze különböző m velés erd kben szintén az egyedek genetikai ujjlenyomatát alkalmazva.

4. Anyag és módszer

4.1. A vizsgált növényanyag

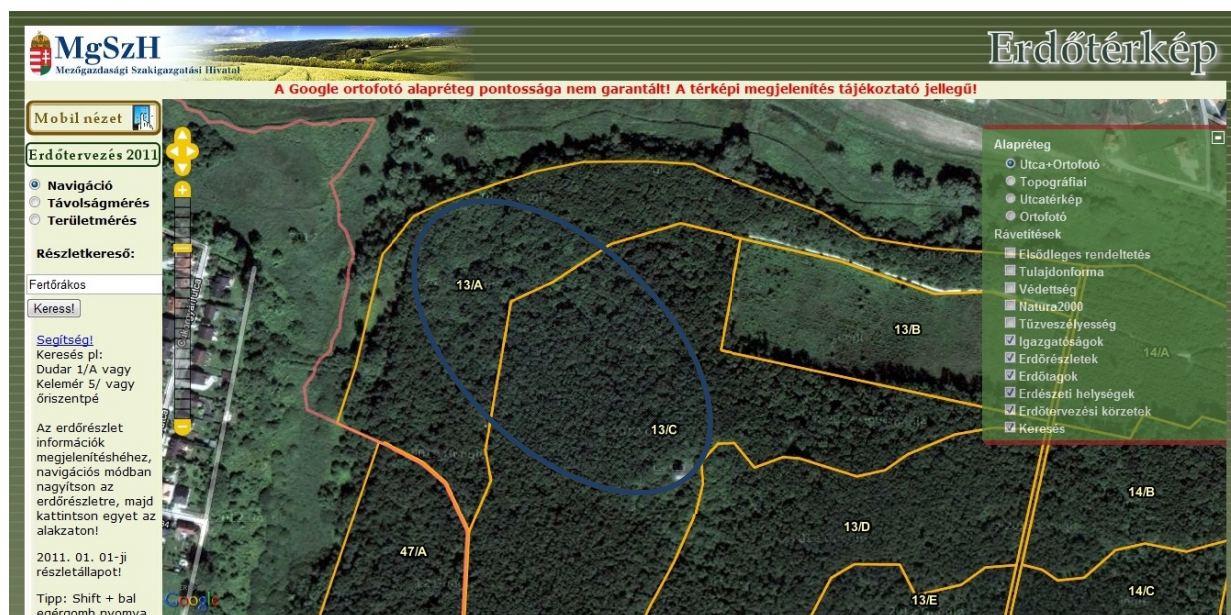
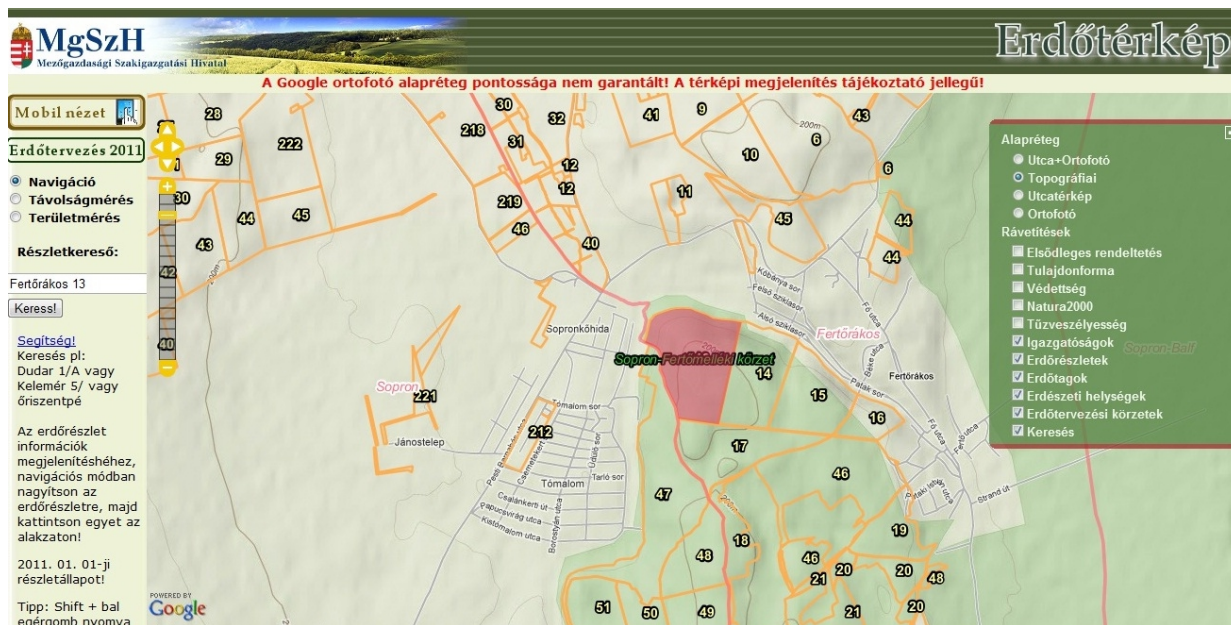
A kijelölt mintaterület közel 4 hektár nagyságú, Sopron és Fertőrákos között, a Szárhalmi-erdő északnyugati csücskében, a Kecsehegyi kilátó alatt terül el (Tanulmányi Erdőgazdaság ZRt., Fertőrákos 13/C és 13/A erdő részleteken, északi szélesség $47^{\circ} 43,314'$ keleti hosszúság $16^{\circ} 37,800' 2. sz. \text{ábra}$). A területen 450 idős egyed került kijelölésre 2001 folyamán egy korábbi nemzetközi projekt (OAKFLOW) kapcsán. A kijelölés során a mintafák felfestett sorszámot kaptak, valamint a pontos földrajzi helyzetük rögzítésre került X,Y,Z helyi koordinátákkal, hagyományos teodolitos technikát alkalmazva. A vizsgálatához két újulatfolt is kijelölésre került, amelyekben az ott megtalálható 37 illetve 38 csemete földrajzi helyzetét az előzőekben ismertetett módon rögzítettük. A vizsgálatba vont egyedek helyzete ezután térképen is ábrázolhatóvá vált az ArcMap 9.0 (www.esri.com) térinformatikai szoftver segítségével.

A vizsgálatra kijelölt terület jellegzetessége a néhány száz méteren belül jelentős terméshelyi különbség, amely részben a térszint emelkedéséből, részben pedig az üde-száraz terméshelyi átmenetből adódik. A terület legmélyebb pontján patakmeder fut, míg a legmagasabb pontján (208 méteren) száraz, napos kiettség dombtető terül el (3. sz. ábra).

A terület természetes növénytakarója a melegkedvelő és fényigényes, xerotherm tölgyes (*Orno-Quercetum pubescenti-cerris*), azon belül is a Soproni-dombvidékre jellemző, reliktum jellegű *alpokalji molyhos tölgyes szálerdő* társulás (Borhidi és Sánta 1999). A területen, a már említett korábbi nemzetközi projekt kapcsán, terepi megfigyelések is történtek. Ennek során a felvételezett egyedek taxonómiai státuszáról is születtek feljegyzések a hagyományos taxonómiai határozóbélyegek figyelembevételével (Bordács és Borovics *nem publikált adatsor*). A társulástípusnak megfelelően a területen molyhos tölgy, kocsánytalan tölgy és csertölgy egyedek találhatóak. Ez utóbbi tölgyfaj azonban nem képezte a vizsgálat tárgyát, mivel a fehér tölgyektől való távolabbi taxonómiai helyzetéből adódóan (más alnemzettség) azokkal nem hibridizál. A területen megtalálható volt továbbá a kocsányos tölgy csoport is, amelynek természetes eredete vitatható. A terepi megfigyelések során nagy számban kerültek leírásra átmeneti bélyegekkel rendelkező, hibrid egyedek is.

A mintaparcella elsődlegesen védelmi rendeltetésű, védett területen fekszik és része a Natura 2000 hálózatnak. Ugyanakkor korábban, elsősorban a környező települések vízszükségletét kielégítendő, többször visszavágásra került. Ennek eredményeképpen az

állomány magán viseli a többszöri újrasarjztatás nyomait, ami az állomány s r ségében, a „csokros” növekedés egyedek jelenlétében és a leromlott törzsmin ségben is tettenérhet (4. és 5. sz. ábra).



2. sz. ábra: A kijelölt mintaterület elhelyezkedése Fertőrákos és Sopron között, a Fertőrákos 13/A és C erdő részletek területén (Forrás: MgSzH – Erdőterkép, <http://erdoterkep.mgszh.gov.hu/>)



3. sz. ábra: A mintaterület látképe a Kecsehegyi kilátóval (Fotó: Borovics A.)



4. sz. ábra: Részlet a kijelölt állományból (Fotó: Borovics A.)



5. sz. *ábra*: A sarjzattatás hatásának szembevetési jelei az állományban (Fotó: Borovics A.)

4.2. Taxonómiai vizsgálat

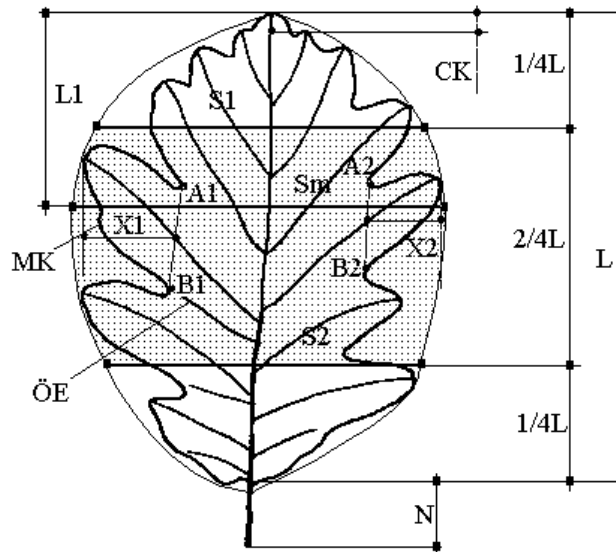
A vizsgálatba vont időszerű egyedek esetében numerikus taxonómiai határozásra került sor, amelyet 2004-2005 folyamán, a területen még megtalálható 376 időszerű egyed esetében végeztem el. A numerikus taxonómiai határozás során a levél alaki tulajdonságai, illetve a szőröségének mértékét alapul véve, a különböző fajok szubjektív megítélés nélküli, mentes taxonómiai besorolására nyílik lehetőség, továbbá a hibrid egyedek azonosítására is alkalmas. A vizsgálathoz egyedenként minimum 5 levelet gyűjtöttem, lehetőség szerint a korona dél-keleti, fénynek kitett alsó harmadából. A levelek préselés után feliratozott papírtasakokban archiválásra kerültek.

A numerikus taxonómiai határozáshoz a Borovics (2000) által kidolgozott eljárás került alkalmazásra. A vizsgált 16 levélmorfológiai bélyeg többváltozós statisztikai értékelése eredményeként ún. klasszifikációs függvények kerültek leírásra. A módszerrel a *Lepidobalanus* alnemzetség *Pendunculatae*, *Sessiliflorae* és *Lanuginosae* sorozatainak hazánkban előforduló fajtái (*Quercus robur*, *Qu. petraea* s. str., *Qu. dalechampii*, *Qu. polycarpa*, *Qu. pubescens* s. str., *Qu. virgiliana*) különíthetők el, illetve az átmeneti formaképzés, feltehetően hibrid alakok azonosíthatóak.

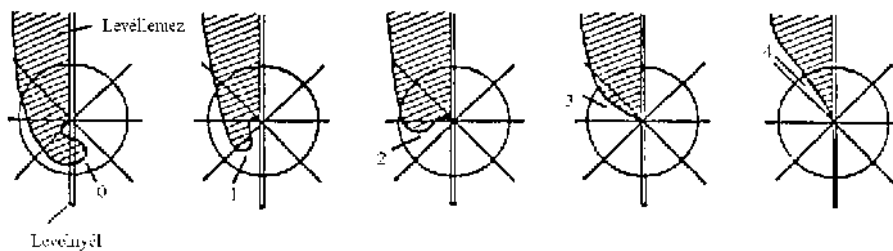
Az értékeléshez szükséges mérhet , és mérésekb l származtatott levélmorfológiai bélyegek (Borovics 2000) ismertetése a 2. sz. táblázatban, illetve a 6. és 7. számú ábrán látható.

Mért és származtatott levélmorfológiai bélyegek		Mérés leírása
ÖE	Öböleresség	db, az öbölbe futó erek száma a levélhossz 1/4-3/4 közötti területen (6. sz. ábra)
KS	Karéjok száma	db, beleszámítva a csúcskaréjt is
SD	Sz rdenzítás a levélfonákon	bonitált érték 0-4 között, 40-szeres nagyítás
Z%	Karéjmélység százalék	Képlete: $(X1+X2)*100/SM$ ahol X1 és X2 a két legnagyobb oldalkaréj hossza mm-ben
S	Szimmetria jelz szám	Képlete: $ X1-X2 *100/(X1+X2)$
N	Levélnyel hossza	mm-ben
NL	Levélnyel százalék	Képlete: $N*100/L$ ahol L a levéllemez hossza mm-ben
S1S2	Levélalak index 1.	Képlete: $S1*100/S2$ ahol S1 a levélhossz csúcstól számított 1/4-nél mért levélszélesség; S2 a levélhossz csúcstól számított 3/4-nél mért levélszélesség
S1SM	Levélalak index 2.	Képlete: $S1*100/SM$ ahol SM a levéllemez maximális szélessége
SML	Levélalak index 3.	Képlete: $SM*100/L$
L1L	Levélalak index 4.	Képlete: $L1*100/L$ ahol L1 a levélcsúcs és a levéllemez maximális szélessége közötti hossz
KI	Karéj index	Képlete: L/K
LA	Levélalap formai értékelése	LEV_ALAP 0-4 között bonitált érték; 0 átfed cimpás, 4 hegyes ékvállú; a bonitálás után a statisztikai feldolgozhatóság miatt radiánban fejezzük ki ezen értékeket: LEV_ALAP=0 LA=9/8* π , 1 7/8* π , 2 5/8* π , 3 3/8* π , 4 1/8* π (7. sz. ábra)
CK	Csúcskaréj	mm-ben
MK	Mellékkaréjok száma	db
CKI	Csúcskaréj index	Képlete: $CK*100/L$

2. sz. táblázat: A numerikus taxonómiai határozás során alkalmazott mérhet , és mérésekb l származtatott levélmorfológiai bélyegek Borovics (2000) nyomán



6. sz. ábra: Levélmorfológiai bélyegek értelmezése



7. sz. ábra: Levélalap formai értékelése (LEV_ALAP)

A mérések után a mintánként vizsgált öt levél eredményeinek számtani átlaga került behelyettesítésre a hat taxont elkülönít klasszifikációs függvényekbe. A legmagasabb értékkel rendelkező függvény megadja az adott minta taxonómiai státuszát. Azonos értékekkel rendelkező függvények esetében pedig a két taxon hibridjére utal. Az alkalmazott klasszifikációs függvényekhez szükséges szorzókat Borovics (2000) nyomán a 3. számú táblázat tartalmazza. A függvény általános formáját a következők szerint lehet megfogalmazni:

$$S_i = w_{i1} * x_1 + w_{i2} * x_2 + w_{i3} * x_3 + \dots + w_{im} * x_m + c_i$$

ahol i jelöli a taxonokat, $1 \dots m$ a bélyegeket, w_{ij} az i taxon j -dik bélyegének együtthatója, x_j a j -dik bélyeg mért (megfigyelt) értéke, c_i az i -taxon konstansa és S_i az i taxon klasszifikációs értéke.

	Qu. robur p=,24390	Qu. petraea p=,20732	Qu. dalechampii p=,18293	Qu. polycarpa p=,10976	Qu. pubescens p=,16829	Qu. virgiliana p=,08780
ÖE	-3,51	-5,07	-5,51	-4,80	-4,06	-4,95
KS	58,36	58,52	58,01	56,96	57,46	57,53
SD	5,68	8,06	7,67	7,38	12,16	12,00
Z%	2,39	2,31	2,36	2,20	2,41	2,37
S	1,06	1,06	1,10	1,00	1,15	1,07
N	-21,47	-19,82	-19,81	-20,34	-20,92	-20,17
NL	20,35	19,62	19,74	20,16	20,33	19,68
S1S2	0,29	0,04	0,05	0,02	0,02	0,05
S1SM	12,68	12,62	12,48	12,67	12,94	12,89
SML	2,15	2,00	1,81	2,00	2,02	2,09
L1L	7,33	7,10	7,19	7,30	7,19	7,35
KI	88,36	86,92	86,13	85,94	85,71	87,44
LA	10,44	1,54	2,15	2,15	1,60	3,56
CK	-62,52	-64,67	-64,04	-62,91	-63,09	-64,64
MK	-3,11	-2,75	-2,49	-2,77	-2,40	-2,62
CKI	72,10	73,91	73,97	71,57	72,08	73,44
Konstan ns	-1653,66	-1571,10	-1549,88	-1548,53	-1591,01	-1613,08

3. sz. táblázat: A numerikus taxonómiai vizsgálat során alkalmazott klasszifikációs függvény együtthatók
Borovics (2000) nyomán

A klasszifikációs függvények együtthatóit és konstansait a vizsgált taxonokra a 3. számú táblázat megfelelő soraiból lehet kiolvasni az alábbi módon:

$$S_{rob} = 5,68 * SD + 10,44 * LA + 0,29 * S1S2 + \dots + 1,06 * S - 1653,66$$

Az eljárás során molyhos tölgyek csoportjába tartozó mintáknál (*Qu. pubescens* s.str., *Qu. virgiliana* vagy hibridek) további három levélsz rözségi bélyeg vizsgálatát javasolta Borovics (2000) a még megbízhatóbb azonosítás érdekében (4. sz. táblázat foglalja össze a molyhos tölgyekre kidolgozott függvény együtthatókat):

1. Sz rdenzítés a levélnyélen: **SN** (bonitált érték 0-2 között, 40-80-szoros nagyítás)
2. Sz rdenzítés a fonák erein: **SE** (bonitált érték 0-2 között, 40-80-szoros nagyítás)
3. Sz rdenzítés a levél színén: **SS** (bonitált érték 0-2 között, 40-80-szoros nagyítás)

	pub p=,16829	virg p=,08780
SN	20,61	18,25
SE	-2,4	-1,92
SS	-3,19	-3,3
ÖE	-6,030	-7,180
KS	82,690	81,300
SD	-2,370	-1,870
Z%	2,130	2,130
S	-0,350	-0,550
N	-53,160	-51,900
NL	45,360	44,370
S1S2	-0,580	-0,570
S1SM	13,090	13,230
SML	0,120	0,190
L1L	5,420	5,710
KI	147,250	147,100
LA	19,970	22,810
CK	-81,620	-81,400
MK	2,000	1,870
CKI	78,710	78,160
Konstans	-1788,800	-1800,120

$$S_{pub} = 19,97*LA+5,42*L1L+20,61*SN+....-2,13*Z%-1788,80$$

$$S_{vir} = 22,81*LA+5,71*L1L+18,25*SN+.....-2,13*Z%-1800,12$$

4. sz. táblázat: A két molyhos tölgy faj elkülönítésére alkalmazott klasszifikációs függvények és együtthatók
Borovics (2000) nyomán

Az els lépésben molyhos tölgyként beazonosított egyedek esetében ezeket a kiegészít méréseket is elvégeztem, és a határozást a kiegészített paraméterekkel megismételtem.

Az alkalmazott módszerr l és határozófüggvényekr l részletes információ a *Quercologist* internetes határozóprogram oldalán is elérhet (<http://ngt-erdeszet.emk.nyme.hu/quercologist/default.htm>).

4.3. Laboratóriumi vizsgálatok

4.3.1. Mikroszatellit vizsgálat

A DNS alapú molekuláris genetikai vizsgálatokhoz szükséges mintavételt, az OAKFLOW Projekt kapcsán, az ERTI és az OMMI (MgSzH, majd legújabban NÉBIH) végezte közösen 2001-ben. A kijelölt 450 id skorú mintafáról, és a két újulatfolton felvételezett 75 csemetér 1 friss levelek kerültek begy jtésre. A DNS kinyerését az OMMI Genetikai Laboratóriuma 2001 során végezte el. Az extrakció friss levélszövetb l történt a QIAGEN Dneasy Plant Mini Kit segítségével. Az így kinyert, általánosan nagy töménység DNS-oldatokat, megfelel mérték hígítás alkalmazásával, egységesen 2-3 µg/µl koncentrációra került beállításra. A mintasor nukleáris mikroszatellit markerekkel történ elemzéséhez négy nukleáris mikroszatellit (SSR) marker került kiválasztásra, amelyek fontosabb adatait az 5. számú táblázat tartalmazza.

Marker	Motívum	Primerpár szekvencia (<i>Forward - Reverse</i>)	Markerleírás
ZAG 1/5	(GT) ₅ (GA) ₉	5'-GCTTGAGAGTTGAGATTTGT-3' 5'-GCAACACCCTTTAACTACCA-3'	Steinkellner és mtsai 1997 (<i>Qu. petraea</i>)
ZAG 9	(AG) ₁₂	5'-GCAATTACAGGCTAGGCTGG-3' 5'-GTCTGGACCTAGCCCTCATG-3'	Steinkellner és mtsai 1997 (<i>Qu. petraea</i>)
ZAG 104	(AG) ₁₆ AT(GA) ₃	5'-ATAGGGAGTGAGGACTGAATG-3' 5'-GATGGTACAGTAGCAACATTC-3'	Steinkellner és mtsai 1997 (<i>Qu. petraea</i>)
MSQ 13	-	5'-TGGCTGCACCTATGGCTCTTAG-3' 5'-ACACTCAGACCCACCATTTTCC-3'	Dow és mtsai 1995 (<i>Qu. macrocarpa</i>)

5. sz. táblázat: A vizsgálat során alkalmazott négy mikroszatellit marker f bb adatai, a primerpárok szekvenciasorrendje és a markerleírás publikációja

A PCR reakcióelegy összeállítása a markerleírások nyomán készült, az optimalizálás során a ZAG1/5 és ZAG104 markerek esetében 1mM MgCl₂ végkoncentrációra, a ZAG9 és MSQ13 markereknél 3 mM MgCl₂ végkoncentrációra beállítva. A PCR reakció az 6. számú táblázatban ismertetett programozással zajlott.

Folyamat	Reakciókörülmények
kezd denaturáció	95 °C 15 perc
denaturáció	95 °C 50 másodperc
primer bekötés és láncosszabbítás	52/55/65* °C 50 másodperc
ciklus (2-3-4. lépés) ismétlése	72 °C 1 perc 45 másodperc ismétlés 35×
végss láncosszabbítás	72 °C 10 perc
tárolás 4 °C-on	4 °C-on

6. sz. táblázat: A PCR reakció programozása a mikroszatellit markerek vizsgálatához

Megjegyzés: * az optimális primer bekötési hőmérsékletet jelzi, amely a ZAG104 és MSQ13 markereknél 52 °C, a ZAG1/5 markernél 55 °C, illetve a ZAG9 markernél 65 °C volt.

A PCR reakció során felszaporított SSR régiók pontos hosszának meghatározása (fragmentanalízis) ABI-Prism 310-es genetikai analizátorral történt. A fragmentanalízis során a gyártó által forgalmazott virtuális C-mátrix került alkalmazásra. A fragmentumok a primerpárok Forward tagjának 5' végén elhelyezett 6-FAM fluoreszcens jelölést hordozták, a belső méretstandard TAMRA-500 volt, az egyes markerek elemzése külön-külön történt. A fragmentumok (minta és méretstandard) méret szerinti elválasztása után, a mintákból felszaporított SSR markerrégió pontos hosszának megadása a GeneMapper szoftver segítségével történt.

4.3.2. RAPD vizsgálat

A RAPD analízist az ERTI Genetikai Laboratóriumában végeztem el 2005-2007 során. A vizsgálat a teljes mintasoron, standardizált koncentrációjú (2-3 µg/µl) DNS-oldatokkal került lebonyolításra. A vizsgálatokhoz szükséges DNS-mintákat az OMMI biztosította.

A genetikai profil létrehozására irodalmi adatok alapján (Bordács és Burg 1997) négy primer került kiválasztásra az OPERON sorozatból. A primerek adatait az 6. számú táblázat tartalmazza.

Marker	Primer szekvencia
G5	5'-CTGAGACGGA-3'
G9	5'-CTGACGTCAC-3'
G11	5'-TGCCCGTCGT-3'
G13	5'-CTCTCCGCCA-3'

6. sz. táblázat: A vizsgálat során alkalmazott RAPD primerek szekvenciaadatai

A PCR reakcióelegy összeállítása Bordács és Burg (1997) szerint a következő receptúra alapján történt: 15 µl végtérfogatra 3 µl DNS, 1×-es mennyiség enzimpuffer (Qiagen HotStar, 15 mM-os MgCl₂ tartalommal), primer (4µM-os) 0,1 rész, dNTPmix (Promega, 10 mM egyenként) 0,01 rész, polimeráz (Qiagen HotStar) 0,75 unit. Az amplifikáció Eppendorf Mastercycler Gradient PCR készülékben zajlott, az alábbi program szerint (7. sz. táblázat):

Folyamat	Reakciókörülmények
kezd denaturáció	95 °C 15 perc
denaturáció	95 °C 1 perc
primer bekötés	38 °C 1 perc
lánchosszabbítás	72 °C 2 perc
ciklus (2-3-4. lépés) ismétlése	ismétlés 40×
vég lánchosszabbítás	72 °C 10 perc
tárolás 4 °C-on	4 °C-on

7. sz. táblázat: A PCR reakció programozása a RAPD markerek vizsgálatához

Az amplifikált fragmensek méret szerinti elkülönítése agaróz gélelektroforézissel történt (1,75 %-os gél [Roti Agarose, Roth GmbH.], TAE pufferrendszer). A futtatás Sigma-Aldrich Midi készülékben zajlott, 2,5 órán át, 120 V feszültségen. A minták mellett, a két széls futtatási pozícióban Roth DNS méretstandardot (5000-100 bázispár), illetve egyes mintáknál Promega méretstandardot (2000-100 bázispár) futtattunk. A gélét etídium-bromiddal festettük, majd UV fényel átvilágítva a futtatási mintázatot megjelenítettük és digitálisan fotóztuk. A használt gélek veszélyes hulladékként kerültek megsemmisítésre.

A RAPD futtatások kódolása egyrészt szabad kézzel (felnagyított fotókkal, segédvonalak behúzásával), másrészt egy speciális értékelő szoftver segítségével (Kodak Image Analyser) történt. A mintákkal együtt futtatott méretstandard különböző méret fragmentumaihoz viszonyítva megadható az egyes mintákban amplifikált DNS sávok mérete. A teljes mintasort áttekintve, első körben az összes megjelenő amplifikátum leírásra került a méretük szerinti elnevezéssel. Ezután mintáról mintára haladva bináris kódolással kerültek áttekintésre az egyes profilok, amelyekben a hiányzó sávok „0” kódot, míg a meglévő sávok „1” kódot kaptak. Az így lekódolásra került futtatási profilok nyers bináris kódját egy Excel munkafüzetben rögzítettem. Ez a nyers genotípus adatsor képezte a kiindulási adatokat a további statisztikai elemzésekhez.

4.3.3. Izoenzim vizsgálat

Az izoenzim vizsgálatra az ERTI Genetikai Laboratóriumában került sor. Az analízist 2004-2006 folyamán végeztem a teljes mintasoron, illetve a még életben lévő mintafák gyjtésével és vizsgálatával.

A mintagyjtés 2004-2005, illetve 2005-2006 telén zajlott, tekintve, hogy a vizsgálatához nyugalomban lévő, téli rügyek szükségesek. Mintánként legalább 10-15 egészséges, élő rügy került begyjtésre, amelyeket hűtve szállítottunk, majd a feldolgozásig – 80 °C-on tároltuk.

A rügminták feldolgozása során szintén igen fontos volt a megfelelően hőkövetelmények biztosítása, ugyanis folyamatosan fenn kellett tartanunk az enzimek működését, az *in situ* enzimspecifikus festési reakciók későbbi alkalmazása érdekében. Az enzim extrakcióhoz kb. 5-6 darab, normál méretű rügyet dolgoztam fel mintánként, amely során a rügpikkelyeket szikével eltávolítottam, a levélkezdeményeket letisztítottam. Ezt a növényi mintát merkaptó-etanol alapú extrakciós pufferrel, elszívófülke alatt, hűtött mintatárolóban homogenizáltam. A folyékony állagú mintaoldatba ezután 8 darab, 4×10 mm-es filterpapírt helyeztem, amely kb. 20 perc várakozási idő alatt felszívta a feltárt enzimotoadatot. Ez az extraktum nagyszámú enzimet, enzimirrendszert tartalmaz, magas koncentrációban. A filterpapírokat ezután 8×12 férőhelyes mikropate-ekbe helyeztem, amelyek azonnal – 80 °C-os mélyhűtőbe kerültek, ahol a vizsgálat következő lépéséig, az elektroforézisig várakoztak. A fennmaradó rügyeket, az esetleges további felhasználásig – 80 °C-on tároltuk.

A vizsgálat következő része a filterpapírokból megtalálható enzimek elválasztása, amely keményítő gélelektroforézissel zajlott. Egy futtatás alkalmával összesen 13 enzimirrendszert vizsgáltam, egyszerre öt futtatóhelyen, öt különböző reakciókörülményeket biztosító gél és pufferrendszer alkalmazásával. Egy futtatás alkalmával 50 minta vizsgálatára kerülhetett sor. A gélek felszélén egy kb. 1 cm-es sávot levágtam, majd egymás mellé egy-egy filterpapírt helyeztem, és a levágott géldarabbal fixáltam őket. Az öt gélhez így öt filterpapírt használtam el, az esetleges ismétlésekhez, illetve egyéb vizsgálatokhoz további három filterpapír maradt mintánként, amelyeket ezután is – 80 °C-on tároltuk. A futtatások, az enzimek aktivitását mérve hőkövetelmények között zajlottak.

A szeparáció egyfelől méret (és szerkezet) szerint történt. Ehhez három különböző pórusszerkezetű gélt készítettünk, amelyek a megfelelő pH-jú pufferrendszerrel kombinálva, a vizsgálni kívánt enzimirrendszerek szempontjából optimális futtatóközeget jelentettek. Az egyes géleket a futtatás után három vékony szeletre vágtam, és az így nyert vékony

géllapokon egy-egy enzimrendszer mintázatát hívtam el. Ez az elhívás a szeparáció második lépcsőfoka, amikor a gélben megtalálható enzimrendszerek közül egy, az adott enzim tevékenységére specifikus reakció lejátszásával, illetve a reakciótermék megfestésével, megjelenítjük a gélben különböző helyen elhelyezkedő enzimvariánsokat. Az inkubálás után elhívott mintázatot fénypadon átvilágítottam és a kódoláshoz digitálisan fotóztam.

Az extrakciós puffert 1, a géleket 1 és az enzimrendszerek festéséhez szükséges festőoldatok elkészítését további információk az *1. számú Mellékletben*, valamint a Müller-Starck és Ziehe (1991) által publikált, pontos protokolléírásban található, amelyet a vizsgálat helyszínénél szolgáló laboratóriumi körülményekre optimalizáltunk. A vizsgálat során alkalmazott vegyszerek és reagensek a Sigma-Aldrich forgalmazótól, a speciális keményítőt a Biomoltól került beszerzésre.

Az izoenzim vizsgálatban az alábbi enzimrendszerek szerepeltek (zárójelben a név rövidítése és a nemzetközi Enzim Bizottság által bevezetett EC kód):

- Aszpartát-amino-transzferáz / (Glutamát-oxálacetát-transzamináz) (AAT (GOT)/ EC 2.6.1.1)
- Akonitáz (ACO/ EC 4.2.1.3)
- Glutamátdehidrogenáz (GDH/ EC 1.4.1.2)
- Izocitrátdehidrogenáz (IDH/ EC 1.1.1.42)
- Leucinaminopeptidáz (LAP/ EC 3.4.11.1)
- Malátdehidrogenáz (MDH/ EC 1.1.1.37)
- Menadionreduktáz (MNR/ EC 1.6.99.2)
- 6-Foszfoglukonát-dehidrogenáz (6-PGDH/ EC 1.1.1.44)
- Foszfoglükó-izomeráz (PGI/ EC 5.3.1.9)
- Foszfoglükomutáz (PGM/ EC 2.7.5.1)
- Sikimát-dehidrogenáz (SKDH/ EC 1.1.1.25)

A különböző enzimrendszerek izoenzim mintázatának kódolását a korábbi publikációkban alkalmazott, standard sor alapján végeztem el (Müller-Starck és Ziehe 1991).

4.4. Statisztikai értékelés

Az elemzésben az egyes SSR markerrégiók egy-egy lokusznak, a detektált hosszvariánsok a különböző alléloknak feleltethetők meg, diploid szervezetről lévén szó két allélvariánssal lokuszonként, amelyek homozigóta genotípus esetén azonosak, illetve heterozigóta genotípusnál eltérnek (kodomináns öröklés).

A vizsgált izoenzim rendszerek elemzése szintén kodomináns jellegű genotípus kódot eredményez. Az egyes enzimlokuszokon szintén megkülönböztethetünk heterozigóta (eltérő allélok esetén) és homozigóta (azonos allélok esetén) genotípust.

A RAPD technika az előzőekkel szemben domináns jellegű (a homozigóta domináns és a heterozigóta genotípus nem különböztethető meg, csak a homozigóta recesszív) és bináris kódot eredményez. Minden egyes felszaporított DNS fragmentum (a gélen különböző méretű sáv) egy DNS markernek felel meg.

A statisztikai elemzést részben a GenAlEx 6.4 (Peakall és Smouse 2006), részben az FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 1995), illetve a STRUCTURE 2.1 (Pritchard és Pritchard 2000) populációgenetikai programokkal készítettem. A dendrogramok szerkesztését a STATISTICA 6.0 szoftver segítségével végeztem.

A mintasor elemzése különböző szempontok szerint, különböző bontásban történt. Az elemzés menete a következőképpen alakult:

- Időskorú állomány
 - Sarj (klón) eredetű egyedek kiszűrése, egyedi ujjlenyomat alapján (GenAlEx) – *mikroszatellit adatokkal*
 - Térbeli genetikai struktúra elemzése (SGS, GenAlEx) – *mindhárom markertípusal*
 - Taxonómiai csoportok genetikai szerkezetének összehasonlítása (GenAlEx, FSTAT) – *mindhárom markertípusal*
 - Elzetes besorolás nélkül történő csoportosítás a genotípus mintázat alapján (K-klaszterezés, Structure) – *mikroszatellit és izoenzim adatokkal*
- Újulatfoltok – *mikroszatellit adatokkal*
 - Esetleges sarj (klón) eredetű egyedek kiszűrése egyedi ujjlenyomat alapján (GenAlEx)
 - Genetikai szerkezet összehasonlítása az időskorú állományéval (GenAlEx)

4.4.1. Egyedazonosítás genetikai ujjlenyomat alapján:

Az alkalmazott négy SSR marker felbontóképességét és az egyedazonosításra való alkalmasságát a P_{ID} mutatóval (*probability of identity*, azonos genotípus valószínűsége) ellen vizsgáljuk. A detektált allélvariánsok minél magasabb száma és kiegyenlítettebb gyakorisága növeli az egyedi genotípus kombinációk, így az egyedazonosítás lehetőségét. Az azonos genotípus valószínűsége mutató (P_{ID}) annak a valószínűsége adja meg, hogy az adott mintasorból véletlenszerűen kivett bármely két, egymással genetikailag nem azonos egyed genotípusa megegyezik (Weising és Mtsai 2005). Értéke 0 és 1 között alakul. Minél közelebb áll a 0-hoz, annál megbízhatóbb az egyedazonosításra alkalmazott markerek köre, illetve annál kisebb a valószínűsége a véletlenszerűen megjelenő azonos genotípusoknak. Ugyanakkor, megfelelően alacsony érték mellett az azonos genotípussal rendelkező egyedekről kijelenthető, hogy klónok, tehát biztosan szülői (törzsi, gyökér) eredetűek.

Számítása: $P_{ID} = \sum p_i^2 - p_i^4$

4.4.2. Genetikai szerkezet jellemzése:

A különböző csoportok (taxonómiai csoportok, időskorú állomány – utódnemzedék) genetikai szerkezetének jellemzésére a következő, megfigyelt allélfrekvencia értékekből levezethető diverzitási mutatók kerültek összehasonlításra:

N_a – megfigyelt allélszám: Az összes detektált allél, amelyek mellé egy gyakorisági érték rendelhető. Megkülönböztethetünk ritka és gyakori allélokot.

N_e – effektív allélszám: A gyakorisági értékekkel korrigált allélszám. $N_e = 1 / \sum p_i^2$

R – allélgazdagság (*allelic richness*): Mintaszámtól független allélszám mutató, lehetővé teszi az eltérő mintaszámmal rendelkező csoportok összehasonlítását. Lényege, hogy a legkisebb csoport mintaszámával (és ennek megfelelően a lehetséges maximális allélszámával) korrigálva ad becslést a magasabb mintaszámú csoportok lehetséges allélszámára egyforma mintaszám esetén (FSTAT, El Mousadik és Petit 1996, Petit és Mtsai 1998).

N_p – egyedi allélok száma: Kizárólag az adott csoportban megtalálható allélok száma.

H_o – megfigyelt heterozigócia (*observed heterozygosity*): A heterozigóta genotípusok gyakorisága a vizsgált populációban. Számítása: heterozigóták tényleges száma / mintaszám

H_e – számított vagy várt heterozigócia (*expected heterozygosity*): Az allélfrekvencia értékekből levezethető diverzitási mutató. Kodomináns genotípus esetén: $H_e = 1 - \sum p_i^2$

Bináris genotípus esetén csak származtatott érték, mivel a sávok hiány esetén a *aa* genotípust feltételezzük, míg a sávok megjelenése egyaránt jelentheti a *AA* és *Aa* genotípusokat.

Számítása ezután a következő: A allél frekvenciája $p = 1 - q$, a allél frekvenciája $q = 1 - p$, aa genotípus frekv. $q^2 = \text{hiányzó sávok gyakorisága} = 1 - \text{sávok gyakorisága}$, és ebből $q = \sqrt{\text{hiányzó sávok gyakorisága}}$ és $H_e = 1 - \sum p^2$

I – Shannon-Weaver-index: Szintén az allélgyakoriság értékekből levezethető információs index. Értéke 0-nál nagyobb, de felső értékkel nem korlátozott, így a csoportok jobb összehasonlítását teheti lehetővé. Lokuszonként kerül számításra, majd megadható a lokuszok átlaga. $I = - \sum p_i \ln p_i$

4.4.3. Csoportok (részpulvációk) genetikai szerkezetének összehasonlítása:

F – fixációs index: A heterozigóták hiányát vagy többletét jelezheti a (rész)populációkon belül, amely nem random párosodás, illetve a heterozigóták ellen/mellett ható szelekció esetén alakulhat ki. Értéke -1 és 1 között alakul. Véletlenszerű párosodás esetén értéke 0. Pozitív értéke beltenyésztettségre (heterozigóta hiányra) vagy nullallélok jelenlétére utal. Negatív értéket vesz fel heterozigóta többlet esetén, amely szelekciós hatásra vagy preferenciális párosodásra utal. $F = (H_e - H_o) / H_e$

F_{st} – A (rész)populációk közötti genetikai differenciálódást méri. A teljes genetikai diverzitás azon hányadát adja meg, amely a vizsgált csoportok elkülönüléséért felel. Értéke 0 és 1 között alakul. Ha minden (rész)populáció Hardy-Weinberg-egyensúlyban van, értéke 0 lesz.

AMOVA – A csoportok közötti genetikai differenciálódás vizsgálatának egy másik lehetősége a molekuláris variancia analízise (AMOVA, *Analysis of Molecular Variance*), amely a teljes molekuláris variancia (rész)populációk közötti komponensének megadásával, és így az **F_{st}** érték becslésével adja meg a vizsgált csoportok elkülönülésének mértékét (Excoffier és mtai 1992). A módszer nagy előnye az **F_{st}** érték hagyományos számításával szemben, hogy nagyszámú random permutáció segítségével statisztikailag tesztelhető az eredmény megbízhatósága és nem szükséges normál eloszlás az elemzéshez.

Nei-féle genetikai távolság – A csoportok páronkénti összehasonlításával megadott genetikai távolság mátrix Nei (1972) nyomán. Számítása: $D_{Nei} = -\ln I_{Nei}$, ahol $I_{Nei} = J_{xy} / (\sqrt{J_x J_y})$ és $J_{xy} = \sum_{i=1}^k p_{ix} p_{iy}$, valamint $J_x = \sum_{i=1}^k p_{ix}^2$ és $J_y = \sum_{i=1}^k p_{iy}^2$.

UPGMA dendrogram – A Nei-féle genetikai távolság mátrixból dendrogramot szerkesztünk, amelyen a csoportok közötti genetikai kapcsolat szemléltethető. A dendrogram a Statistica 6.0 program klaszter analízis opciójával készül, UPGMA (*unweighted pair group average*, csoportátlag eljárás, Podani 1997) klaszterezési móddal.

4.4.4. Egyedszint genetikai vizsgálatok:

Besorolási teszt (*assignment test*) - Az elemzés során a várt allélgyakoriság-értékek és ebből eredően a genotípus gyakoriságok alapján, minden egyes vizsgált minta esetében egy valószínűségi értéket kapunk. Ez az érték megmutatja, hogy az adott minta mely, az elz leg felállított csoportba tartozik a genetikai mintázata alapján. A program mindezt egy grafikus ábrára is kivetíti, amelyen az összehasonlított csoportokat alkotó minták pontfelhí az átfedésük vagy épp elkülönülésük révén szemléltetik az egyes csoportok hasonlóságát vagy különbözőségét. Az elemzés a GenAlEx programmal készült.

K-klaszterezés – Ebben a csoportosítási eljárásban elzetes besorolás nélkül képezünk a mintákból csoportokat úgy, hogy a genetikai mintázatuk alapján hasonló egyedek kerüljenek azonos csoportba. Az eljárás felfogható egy fordított varianciaanalízisként, amikor a csoportok úgy kerülnek kialakításra, hogy a közöttük mérhető variancia a legmagasabb legyen, tehát a legjobb elkülönítést célozzuk meg. Ezen túl, a módszer alkalmas a hibridizáció, introgresszió hatására létrejött egyedek detektálására. A csoportosításhoz a STRUCTURE 2.1-es program (Pritchard és Mtsai 2000) került alkalmazásra, amely Bayes-féle valószínűségi számítás alapján hozza létre a legvalószínűbb K számú csoportot az egyedek többlokuszos genotípus adatsorából. Az elemzéshez a két kodomináns markertípussal nyert kombinált genotípus adatsort alkalmaztuk. A feltételezett K klaszterszámot 1-től 6-ig teszteltük, minden klaszterszám esetében 10 futtatással. A legvalószínűbb klaszterszám megállapítása, a futtatások eredményeképpen kapott valószínűségi értékekből, a STRUCTURE HARVESTER online program (Earl és von Holdt 2011) alkalmazásával történt.

4.4.5. Térbeli genetikai struktúra:

Mantel-teszt – A Mantel-féle teszt (1967) két távolságmátrix közötti összefüggést vizsgálja, így a térbeli genetikai struktúra elemzésekor a genetikai távolságmátrix és a földrajzi távolságmátrix közötti korrelációt. A Mantel-tesztet a GenAlEx programmal végeztem, a szignifikanciaszint ellenőrzése 9999 véletlenszerű ismétlés alapján történt. A teszt eredményeként egy korrelációs együtthatót kapunk, amely értéke 1 és -1 között alakul. Minél közelebb áll valamely szélső értékhez, annál erősebb az összefüggés a két adatmátrix között, míg 0-hoz közeli érték esetén nem mutatható ki korreláció.

SGS – A térbeli genetikai struktúra (SGS, *spatial genetic structure*) az egymáshoz genetikailag közelebb álló genotípusok térbeli elhelyezkedését vizsgálja. Az elemzést a GenAlEx program megfelelő opciójával végeztem el. Az autokorrelációs elemzés során a

különböz távolság osztályokban pozitív korrelációt kapunk, amennyiben az adott távolságban elhelyezked egyedek genetikailag is közelebb állnak, mint a többi egyed, negatív korrelációt kapunk, amennyiben az adott távolságban elhelyezked egyedek genetikailag sokkal távolabb állnak egymástól, mint a többi egyed, illetve nincs szignifikáns korreláció, amennyiben az adott távolságban elhelyezked egyedek nem mutatnak genetikailag szignifikáns különbséget a többi vizsgált egyedtől. Az elemzés nagy elnye, hogy nem lokuszonként külön-külön, hanem egyedben elemzi a többváltozós adatsort, és így jobban feltárja a többallélos genotípus mintázatban rejl térbeli strukturáltságot (Smouse és Peakall 1999). Az elemzés kiindulópontjai az egyedek páronkénti összehasonlításából nyert genetikai és földrajzi távolság mátrixok. A két mátrix összevetéséből generált autokorrelációs koefficiens (r) a hagyományos Moran-féle I mutatóval szoros összefüggést mutat. Értéke -1 és 1 között alakul, és az azonos távolság osztályokba sorolt egyedpárok közötti genetikai hasonlóságot mutatja meg. Az eredmény egy korrelogramon kerül ábrázolásra.

5. Eredmények

5.1. Numerikus taxonómiai vizsgálat

A numerikus taxonómiai vizsgálat során a levél alaki tulajdonságai és a levélsz rök elemzése révén, klasszifikációs függvények alkalmazásával azonosítottuk a területen fellelhet fehér tölgy fajokat és a köztük létrejött átmeneti formákat (Borovics 2000). A 16, illetve a molyhos tölgyek esetében 19 mérési pont együttes értékelése a hagyományos határozókulcsokkal ellentétben egy szubjektivitástól mentes és megismételhet határozást tett lehet vé.

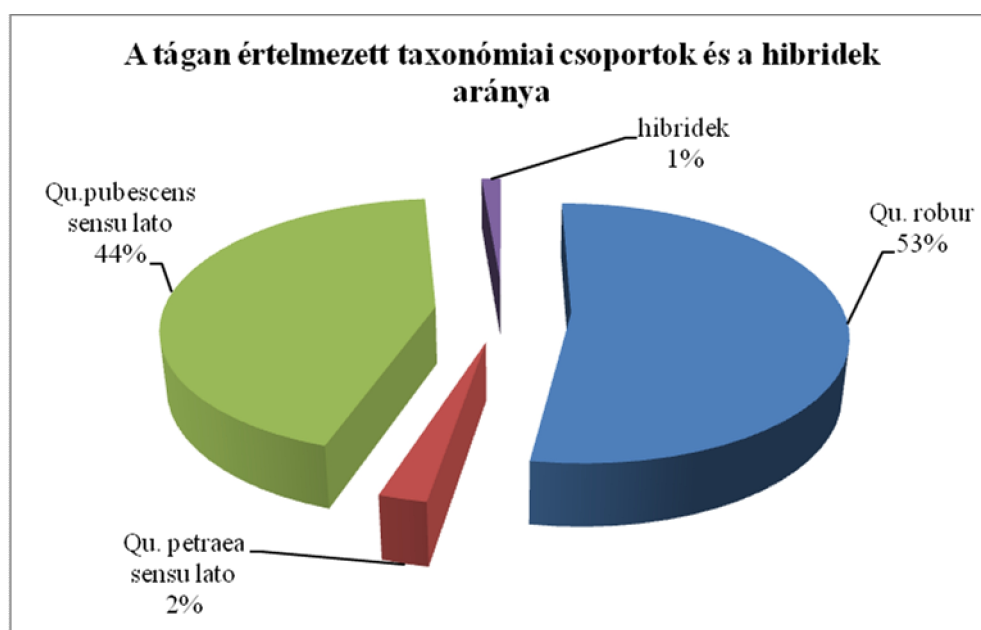
A vizsgálathoz összesen 376 egyed r sikerült mintát gy jteni a korábban kijelölt 450 egyed közül. A fennmaradó 74 egyed 2001-2004 folyamán megsemmisült, kiszáradt illetve néhány fa kivágásra került. A levélmorfológiai vizsgálat alapján a terület igen változatos taxonómiai összetételt mutat: a kocsányos tölgy (*Qu. robur*) dominanciája mellett, jelent s arányban megtalálhatók a molyhos tölgy komplexbe sorolható egyedek (*Qu. pubescens* s.str., *Qu. virgiliana*, *Qu. pubescens* × *virgiliana* hibridek), továbbá jelen vannak kocsánytalan tölgy (*Qu. petraea* s.str., *Qu. dalechampii*, *Qu. petraea* × *dalechampii* hibridek) egyedek, s t további fajhibrid formák is. A határozás eredményét, a területen megtalálható nemes tölgy fajokhoz tartozó egyedek és hibridek számát a 8. számú táblázatban foglaltuk össze. A 8. számú ábra a tágan értelmezett (sensu lato) faji csoportok és a hibridek arányát mutatja be. A részletes mérési adatokat, illetve a határozás eredményét a 2. számú Melléklet tartalmazza.

A vizsgált tölgy egyedek taxonómiai megoszlása a következ képpen alakult a numerikus taxonómiai elemzés alapján: A vizsgálatba vont 376 egyed valamivel több mint 50%-a, 198 egyed kocsányos tölgy (*Qu. robur* L.) volt. Az állomány másik hangsúlyos részét a molyhos tölgyek képezték 43%-os részarányal. Ebb l 29 egyed sz ken értelmezett molyhos tölgy (*Qu. pubescens* Willd.), 98 egyed olasz tölgy (*Qu. virgiliana* Ten.), valamint 41 hibrid jelleg egyed volt. A vizsgált területen a kocsánytalan tölgyek alakköre mindösszesen 10 példánnyal volt képviselve. Ebben a csoportban dominált a szárazságt r bb dárdás karéjú kocsánytalan tölgy (*Qu. dalechampii* Ten.), illetve a *Qu. petraea* × *dalechampii* hibrid. Az atlantikusabb, kiegyenlítettebb klímát kedvel sz ken értelmezett kocsánytalan tölgy (*Qu. petraea* (Matt.) Liebl.) mindössze két egyeddel jelent meg.

A taxonok megoszlása a vizsgált területen

Taxon	Egyedszám	Megoszlás
Qu. robur	198	52,7%
Qu. petraea	2	0,5%
Qu. dalechampii	5	1,3%
Qu. petraea × dalechampii	2	0,5%
Qu. pubescens	29	7,7%
Qu. virgiliana	96	25,5%
Qu. pubescens × virgiliana	39	10,4%
Qu. petraea × virgiliana	1	0,3%
Qu. polycarpa × virgiliana	1	0,3%
Qu. robur × pubescens	2	0,5%
Qu. robur × virgiliana	1	0,3%
Összesen	376	100%

8. sz. táblázat: A taxonok megoszlása a területen a numerikus taxonómiai határozás eredményeképpen

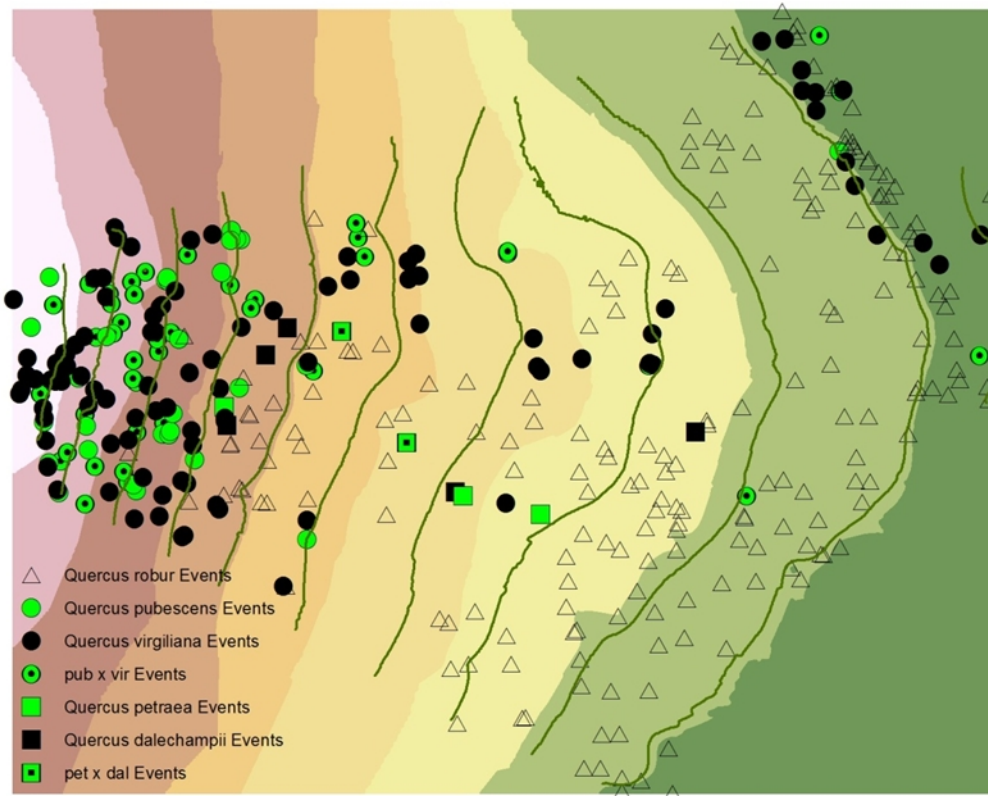


8. sz. ábra: A tágan értelmezett taxonómiai csoportok és a hibridek aránya a numerikus taxonómiai határozás eredményeképpen

5.2. Térképi ábrázolás

A különböző fajok és hibridek megoszlása a vizsgálati területen az X,Y,Z koordinátákkal térképen szemléltettük, amelyen a Z koordináta alapján a térszint emelkedését is ábrázolni tudtuk (9. sz. ábra).

A vizsgált terület jellegzetessége a néhány száz méteren belül jelentkező jelentős termhelyi különbség, amely a térszintemelkedésből és a száraz-üde termhelyi átmenetből adódik. A termhelyi viszonyok karakteres különbségei jól visszatükröződnek a fajok elterjedésében is. Az üdébb völgyi helyzetben dominálnak a kocsányos tölgy (*Qu. robur*) egyedek, illetve a patakmeder közelébe, az állományszegélybe lehúzódó molyhos tölgyek a mezofil termhelyi viszonyokhoz alkalmazkodott olasz tölgy (*Qu. virgiliana*) egyedek közül kerülnek ki. A szárazabb, naposabb kitettségű dombtetőn pedig túlnyomóan a molyhos tölgy csoport (*Qu. pubescens* s.l.) egyedei jelennek meg. A kocsánytalan tölgy (*Qu. petraea* s.l.) fajcsoport egyedei – csertölgyekkel (*Q. cerris*) elegyedve – a kocsányos és molyhos tölgyek közé ékelődtek. Az 9. sz. ábrán jól nyomon követhető a fajok térbeli elkülönülése és az ökológiai gradienssel való összefüggés is. Itt érdemes megjegyezni, hogy a csertölgy nem képezte a jelen kutatás tárgyát tekintve, hogy az európai nemes tölgyektől taxonómiai és genetikailag is jól elkülöníthető, azokkal nem kereszteződik. Ugyanakkor a jövőben érdemes lesz figyelmet szentelni az állományban betöltött szerepére, az esetleges klimatikus és termhelyi változások mentén, az állományszerkezetre és fajösszetételre gyakorolt hatásaira.



9. sz. ábra: A vizsgált fajok eloszlása és az ökológiai gradienssel való összefüggésük a területen, ahol \triangle : *Quercus robur* egyedek, \bullet : *Qu. pubescens* egyedek, \bullet : *Qu. virgiliana* egyedek, \odot : *Qu. pubescens* \times *Qu. virgiliana* hibridek, \blacksquare : *Qu. petraea* egyedek, \blacksquare : *Qu. dalechampii* egyedek, \square : *Qu. petraea* \times *Qu. dalechampii* hibridek (Megjegyzés: A szintvonalak valamint a zöld-barna-szürke színátmenet a térszint emelkedését jelzik, a helyi magassági Z koordinátákból képzve)

5.3. Mikroszatellit vizsgálat

5.3.1. Egyedazonosítás genetikai ujjlenyomat alapján

A mikroszatellit elemzést a mintaterületen kijelölt 376 id skorú egyed esetében végeztük el. A morfológiai vizsgálatához képest egy egyeddel b vítettük az adatsort (165-ös fa), amely a vizsgálatok megkezdésekor már nem élt, azonban a taxonómiai státuszát a korábbi terepi megfigyelések alapján *Qu. petraea*-ként állapítottuk meg (Bordács és Borovics szóbeli közlés).

Az alkalmazott négy nukleáris mikroszatellit (SSR) marker magas polimorfizmust mutatott (részletes adatok a következő alfejezetben). A négy marker kombinációjával az azonos genotípus valószínűség mutató értéke $P_{ID}=1,05 \times 10^{-7}$ lett, tehát annak a valószínűsége,

hogy az adott mintasorból véletlenszerűen kiemelt bármely két, egymással genetikailag nem azonos egyed genotípusa megegyezzen, elenyésző. Az azonos genotípussal megjelenő klónok tehát biztosan egyazon egyed sarjainak tekinthetők. Mivel a területen korábban sarjzattatásos mvelés folyt, ezért ilyen értelemben minden egyedet sarjeredetnek kell tekintenünk. Ugyanakkor, az egyszerűség kedvéért, a továbbiakban kizárólag az azonos genotípussal rendelkező egyedcsoportok – klónpárok, klóncsoportok – esetében, azok szinonimájaként, használjuk a sarj kifejezést.

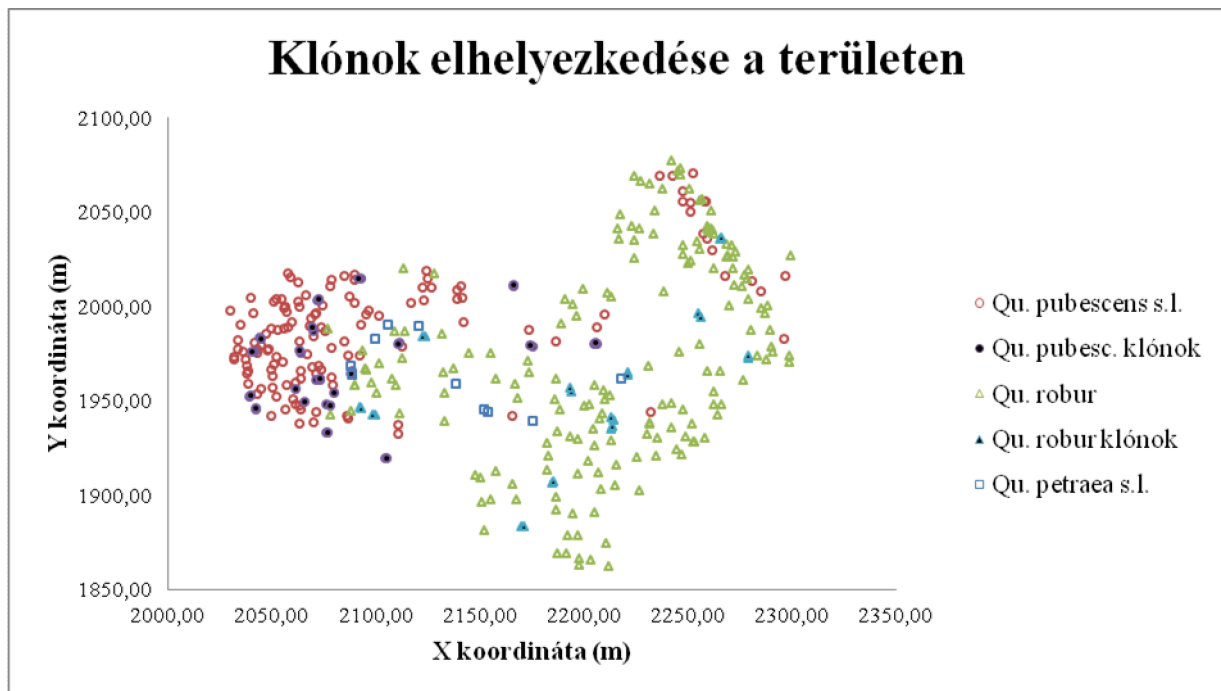
A klónok aránya a vizsgált állományban a következőképpen alakult. Az összes idős példány 9 %-ánál tudunk azonos genotípussal jellemezhető csoportokat meghatározni, ami tükrözi a területen hosszú ideje folyó sarjzattatás hatásait. A 198 kocsányos tölgy egyed között 12 klónpárt találtunk, míg a molyhos tölgyek csoportjában (összesen 168 egyed) 11 klónpár és további 4 esetben hármasklón csoport is előfordult. Ezen kívül 7 klónpár esetében a levélmorfológiai határozás bizonytalan eredményt adott, amelyből 4 eset a molyhos tölgyek csoportján belüli keveredést jelez, míg 3 klónpárnál még magasabb szintű eltérést figyeltünk meg (2 *robur/virgiliana* illetve 1 *virgiliana/petraea*×*virgiliana* kombinációkban). A határozásbeli eltérések oka a molyhos tölgyek esetében egyrészt az állományban egyeseken megjelenő egyedeknél a levélmorfológiai bélyegek erőteljes összemosódásában keresendő. A két rokon taxon közötti különbségek, tipikus bélyegek így egyes egyedeknél ugyan élesen előjönnek, azonban más egyedeknél az átmeneti jellegű formák igen megnehezítik a pontos fajhatározást, még a nagy precizitású többváltozós statisztikai értékelés alkalmazásával is. Ezen túl, a tölgy hibridek időskorú morfológiájáról keveset tudunk. Szakirodalmi adatok nem állnak rendelkezésre, amelyek alátámasztanák azt a feltételezést, miszerint egy hibrid egyedtől származó két sarj esetében előfordulhat, hogy a két szülői fenotípusnak megfelelően eltérő morfológiai bélyegeket hordozzanak. A *virgiliana/virgiliana*×*petraea* páros (266-267-es fák) esetében azonban, ha óvatosan is, de fontolóra vehetjük ezt az eshetőséget. A klónpár helyzetét tekintve a többi kocsánytalan tölgygel egy zónában jelenik meg, utalva a lehetséges kocsánytalan tölgy eredetre, míg a mindkét egyednél megjelenő *virgiliana* jelleg valószínűsíti a molyhos tölgy származási vonalat is. A másik két klónpár (202-201-es és 295-296-os fák) még érdekesebb megjelenésű, ugyanis molyhos tölgy és kocsányos tölgy (*virgiliana/robur*) kombinációban kerültek azonosításra. Ugyanakkor, a herbáriumi anyagok ellenőrzését elvégezve, a kocsányos tölgyként azonosított egyedek esetében (201-es és 296-os fa) a fonák érveiben megfigyelhető volt a szőrözöttség nyoma, ami vélhetőleg a nyár végére részben lekopott már. A levél egyéb alakjaitól függően viszont, egyes esetekben előfordulhat

a kocsányos tölgyek és olasz tölgyek alaki hasonlósága, ami magyarázatot ad a téves határozásra.

Bármely magyarázatot is részesítjük el nyben, mindenképpen érdemes megjegyezni, hogy a többváltozós statisztikai értékelésen alapuló numerikus taxonómiai módszer a molyhos tölgy komplexen belül bizonytalan felbontóképesség lehet, legalább is a nagymértékben elegyes állományok esetében. Hiszen akár az első változatot (a két taxon nagyfokú átfedése), akár a második magyarázatot (hibrideknél valamely szülői fenotípus megjelenése) fogadjuk el, a molyhos tölgy hibridek, sőt akár az egyik alapfajba besorolt egyedek taxonómiai helyzete nem tekinthet biztosnak. A kérdés feloldásának egyik lehetséges módja a molekuláris genetikai különbségek feltárása a tölgy taxonok között, amellyel a hibrid eredetű egyedek kiszűrésére is lehetőség nyílhat. Erre a későbbiekben még bővebben visszatérünk (5.7. fejezet).

A klónok elhelyezkedését a területen X,Y koordinátáik alapján térképen is ábrázoltuk (10. sz. ábra). (A kérdéses sarjpárok az egyszerűség kedvéért a tágran értelmezett molyhos tölgy (*Qu. pubescens* s.l.) csoportban kerültek ábrázolásra). A sarjak minden esetben egymás közvetlen közelében helyezkedtek el, több esetben a terepen is megfigyelhető volt a csokros növekedés, ami a tuskóról történt újrasarjadást jelzi. Két molyhos tölgy pár esetében volt megfigyelhető a klónok kissé távolabbi elhelyezkedése (6,8 illetve 7,9 m-re), ami gyökérsarjak megjelenésére utal. További két kocsányos tölgy és két molyhos tölgy pár esetében a távolság 2 és 3 m között alakult, ami szintén gyökérsarjakról történő vegetatív terjedést valószínűsít.

Össességében elmondható, hogy a molyhos tölgyek csoportjánál gyakoribb és változatosabb (hármast sarjak, gyökérsarjak) volt a vegetatív szaporodási, illetve fennmaradási stratégia.



10. sz. ábra: Az azonos genotípussal rendelkező, klón egyedek elhelyezkedése a területen fajonként

5.3.2. A fajok genetikai elkülönülése

A három f. tölgy csoport (kocsányos tölgy – *Qu. robur*, tágan értelmezett kocsánytalan tölgyek – *Qu. petraea* s.l., tágan értelmezett molyhos tölgyek – *Qu. pubescens* s.l.) genetikai szerkezetének összehasonlítására alkalmazott négy nukleáris mikroszatellit marker f. bb variabilitási jellemzőit, valamint a különböző allélfrekvencia értékekből származtatott diverzitási mutatók értékeit a 9. számú táblázatban foglaltuk össze. Az elemzést a sarj egyedek nélkül, csak az egyedi genotípusok figyelembevételével (G) végeztük el, továbbá kizártuk az elemzésből a három, feltehetőleg hibrid eredetű klónpárt is (295-296, 201-202, 266-267), valamint a tágan értelmezett fajok közötti hibrideket (407, 230, 232, 329). Így a teljes mintasor 336 egyedből 184 kocsányos tölgy volt, 142 a molyhos tölgyek csoportjába tartozott, míg a kocsánytalan tölgy alakkör 10 egyeddel képviseltette magát. Ez utóbbi mintaszáma igen alacsony volt, megnehezítve az eredmények reprezentatív értelmezhetőségét. Az eredmények interpretálása során ezt minden esetben figyelembe vettük.

A legváltozatosabb marker a ZAG104 volt, 52 különböző alléllal a teljes mintasoron. Mind az effektív allélszám (N_e), mind az allélfrekvencia értékekből származtatott diverzitási mutatók (I , H_e , H_o) ennél a markernél adták a legmagasabb értékeket a teljes adatsor és a taxonómiai csoportok tekintetében is. A legalacsonyabb allélszámmal az MSQ13-as marker

szerepelt, 19 allélt detektáltunk a teljes mintasoron. Ezt a markert eredetileg *Quercus macrocarpa* fajnál írták le, így valószínűleg ezzel magyarázható az európai fehér tölgyeknél tapasztalható alacsonyabb variabilitás. Megfigyelhető volt továbbá néhány allél dominanciája, míg a többi allél ritkábban, alacsony gyakorisággal jelent meg. A fixációs index (F) nulla körüli értékei nem utalnak nullallélok jelenlétére a teljes mintasor tekintetében.

	N	N _a	N _e	I	H _o	H _e	F
ZAG1/5	336	28	10,4	2,630	0,827	0,903	0,084
ZAG9	336	23	9,7	2,534	0,893	0,897	0,005
ZAG104	336	52	19,1	3,302	0,938	0,948	0,011
MSQ13	336	19	4,9	1,954	0,750	0,795	0,057

9. sz. táblázat: A vizsgálat során alkalmazott négy mikroszatellit marker főbb diverzitási jellemzői, ahol N: mintaszám, N_a: tényleges allélszám, N_e: effektív allélszám, I: Shannon-index, H_o: megfigyelt heterozigócia, H_e: várt heterozigócia, F: fixációs index

A három tölgy fajcsoport allélszerkezetének összehasonlításakor (10. sz. táblázat) az értékelést megnehezítette a kocsánytalan tölgy csoport (*Qu. petraea* s.l.) kritikusan alacsony mintaszáma (G=10 különböző genotípusú egyed). A diverzitási mutatók tekintetében, ugyanakkor nem találtunk jelentős eltérést a másik két, jelentősen magasabb mintaszámmal rendelkező kocsányos tölgy (*Qu. robur*, G=184) és molyhos tölgy (*Qu. pubescens* s.l., G=142) csoporthoz képest. A csoportokban megfigyelt allélszámok (N_a) eltérése a kocsánytalan tölgy csoportban egyértelműen az alacsony mintaszámra vezethető vissza. A jóval alacsonyabb effektív allélszámok (N_e), azonban mindhárom fajnál tükrözik a ritka allélok hatását, és kiegyenlítettebb allélösszetételre utalnak a három fajnál. A két, nagy mintaszámú tölgycsoport közül a molyhos tölgyek rendelkeztek magasabb mutatókkal az alléldiverzitás tekintetében (N_a=27,0 N_e=9,5), annak ellenére, hogy a mintaszám itt volt az alacsonyabb (G=142), összehasonlítva a kocsányos tölgy csoport értékeivel (G=184 N_a=23,5 N_e=8,6).

Az allélgazdagság (R) mutatóval szintén a különböző fajok allélváltozatosságára adtunk becslést úgy, hogy korrigáltuk a csoportok közötti mintaszámbeli eltérést. A legkisebb csoport mintaszámát alapul véve (esetünkben a kocsánytalan tölgyek, N=10) végeztünk becslést, többszöri véletlen mintavételezéssel, a másik két faj esetében is. Látható, hogy a három tölgy csoport allélszerkezete igen hasonlóan alakul, bár az N=10 részmintára vetített alléldiverzitás a kocsányos tölgy csoportban enyhén alacsonyabb értéket mutatott (R_{rob}=9,0 R_{pet}=9,3 értékkel összevetve), míg a molyhos tölgyeknél némileg magasabb értéket kaptunk (R_{pub}=10,0).

Egyedi allélok (N_p) legmagasabb arányban szintén a molyhos tölgyeknél fordultak el mind összetételüket tekintve, mind lokuszonkénti bontásban. Ugyanakkor, az egyedi allélok mindhárom tölgy csoportban alacsony gyakoriságú, ritka allélokat jelentenek.

Faj	Lokusz	G	N_a	N_e	$R_{[20]}$	N_p	I	H_o	H_e	F
<i>Qu. petraea</i> s.l.	ZAG1/5	10	11	7,7	11,0	2	2,221	1,000	0,870	-0,149
	ZAG9	10	8	6,3	8,0	0	1,934	0,900	0,840	-0,071
	ZAG104	10	13	10,5	13,0	0	2,458	1,000	0,905	-0,105
	MSQ13	10	5	3,3	5,0	0	1,371	0,700	0,700	0,000
	Átlag	10	9,3	7,0	9,3	0,5	1,996	0,900	0,829	-0,081
	SE	0	1,8	1,5	1,8	0,5	0,234	0,071	0,045	0,032
<i>Qu. robur</i>	ZAG1/5	184	18	7,4	8,1	2	2,223	0,772	0,864	0,107
	ZAG9	184	19	10,0	9,9	0	2,518	0,902	0,900	-0,002
	ZAG104	184	42	13,5	12,0	8	3,015	0,929	0,926	-0,004
	MSQ13	184	15	3,7	5,8	1	1,655	0,728	0,728	0,000
	Átlag	184	23,5	8,6	9,0	2,8	2,353	0,833	0,855	0,025
	SE	0	6,2	2,1	1,3	1,8	0,284	0,049	0,044	0,027
<i>Qu. pubescens</i> s.l.	ZAG1/5	142	24	11,0	10,7	8	2,663	0,887	0,909	0,024
	ZAG9	142	23	8,1	9,2	4	2,419	0,880	0,877	-0,004
	ZAG104	142	44	14,1	12,7	9	3,140	0,944	0,929	-0,016
	MSQ13	142	17	5,0	7,3	4	1,976	0,782	0,799	0,021
	Átlag	142	27,0	9,5	10,0	6,3	2,550	0,873	0,878	0,006
	SE	0	5,9	2,0	1,2	1,3	0,243	0,034	0,029	0,010

10. sz. táblázat: A három vizsgált tölgy csoport főbb genetikai jellemzői markerenként és a négy marker átlagában a klón genotípusok nélkül, ahol G: az egyedi genotípusok száma, N: mintaszám, N_a : tényleges allélszám, N_e : effektív allélszám, R: allél gazdagság a legkisebb csoport mintaszámára vetítve, N_p : egyedi allélok száma, I: Shannon-index, H_o : megfigyelt heterozigócia, H_e : várt heterozigócia, F: fixációs index

Az allélgyakoriság értékekből származtatott diverzitási paraméterek (I, H_e), valamint a megfigyelt heterozigóta genotípusok aránya (H_o) magas genetikai diverzitást jeleznek a vizsgált mikroszatellit régiókban, mindhárom tölgy faj esetében. A molyhos tölgyeknél némileg magasabb értékeket figyelhetünk meg ezen mutatók tekintetében is. A kocsánytalan tölgy csoportban a megfigyelt heterozigócia (H_o) magasabb értékei az alacsony, és így torzított mintaszámból adódhatnak. A fixációs index (F) nulla körüli értékekkel alakult, illetve egyes markerek esetében nagyon enyhe heterozigóta többletet jeleztek. Ebből arra következtethetünk, hogy a vizsgálat során a nullallélok jelenléte nem volt számottevő, illetve szelekciós hatásokra sem utalnak.

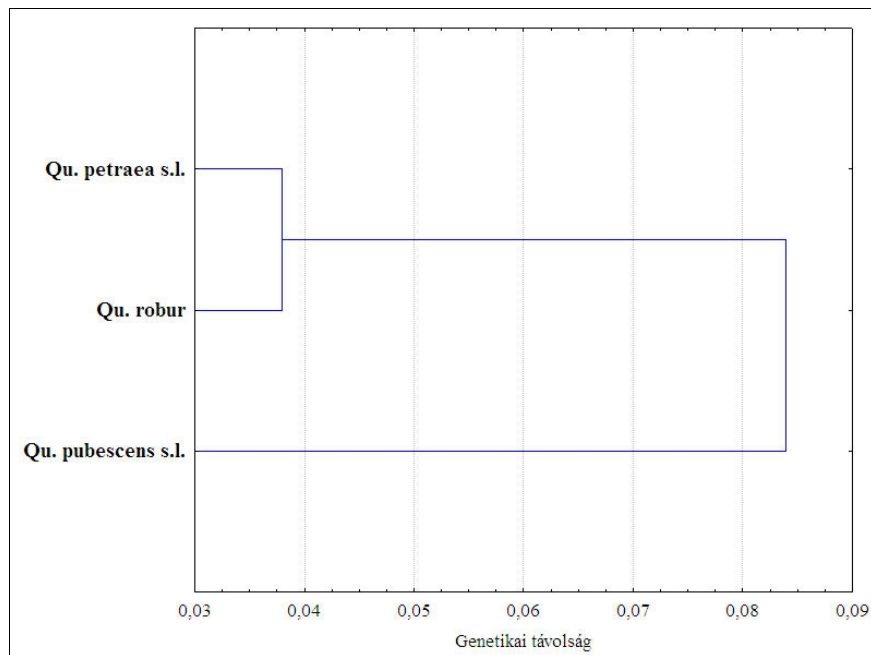
A vizsgált egyedek alapján a területen megtalálható fehér tölgy fajok genetikai szerkezetükben (alléllösszetétel, allélgyakoriság) tehát nem különültek el élesen, és emiatt nem

lehet két ezen genetikai jellemzők alapján élesen szétválasztani. A csoportok közötti elkülönülés mértékét a nagyszámú, ismételt mintavételen alapuló AMOVA elemzéssel adtuk meg, amely a molekuláris variancia megoszlását vizsgálja a csoportokon belül és a csoportok között az F-statisztika értékeinek megadásával. Az elemzés eredményeként kapott $F_{st}=0,077$ érték alacsony varianciát mutat a három tölgy csoport között, míg a genetikai változatosság nagy hányada (93 %) a fajokon belüli varianciából ered ($P<0,0001$). A páronkénti összehasonlításából nyert F_{st} értékek minden esetben szignifikáns különbséget mutattak ($P<0,05$) a vizsgált fajok között (11. sz. táblázat).

	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.l.
<i>Qu. petraea</i> s.l.	-	< 0,010	< 0,0001
<i>Qu. robur</i>	0,038	-	< 0,0001
<i>Qu. pubescens</i> s.l.	0,089	0,079	-

11. sz. táblázat: A vizsgált tölgy fajok páronkénti összehasonlításából nyert F_{st} értékek AMOVA elemzés alapján (diagonál alatt) és a P valószínűségi értékek 9999 ismétlés után (diagonál felett)

Az F_{st} értékekből nyert távolság mátrix alapján szerkesztett UPGMA dendrogramon szemléltettük a taxonok közötti differenciáltság mértékét (11. sz. ábra), amelyen látható, hogy a molyhos tölgyek csoportja jobban elkülönül a másik két tölgy fajtól, míg a kocsányos tölgy és kocsánytalan tölgyek esetében egészen csekély genetikai differenciáltságot tapasztaltunk (0,038). Ugyanakkor a kocsánytalan tölgyek és molyhos tölgyek közötti magasabb genetikai differenciáltság (0,089) arra utal, hogy a területen talált kocsánytalan tölgyek alacsony mintaszámuk ellenére is mutatnak egyedi genetikai sajátosságokat, legalább is a molyhos tölgy csoporttal összehasonlítva.

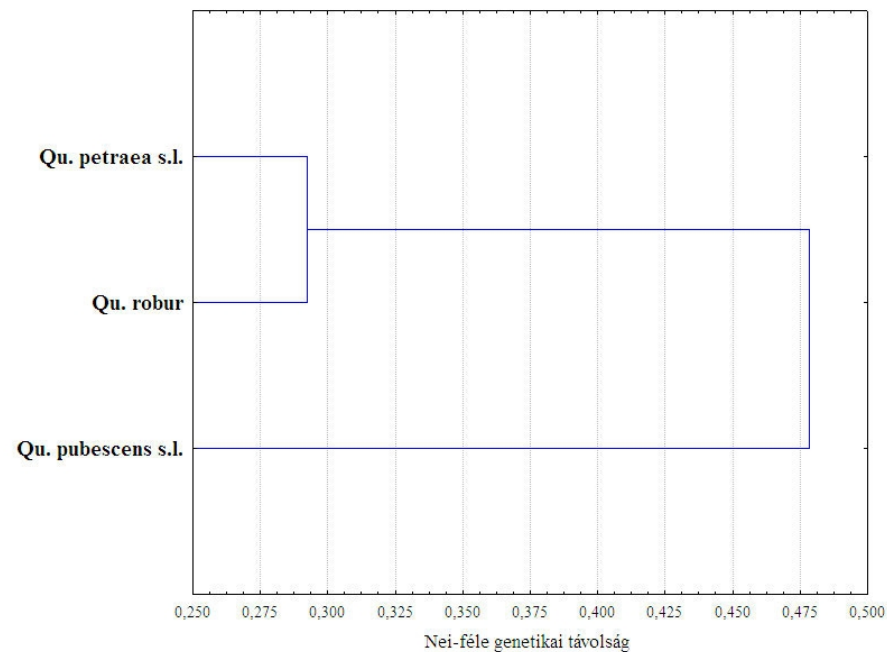


11. sz. ábra: A vizsgált tölgy fajok genetikai elkülönülése az AMOVA vizsgálat eredményéb l szerkesztett UPGMA dendrogramon, négy mikroszatellit marker alapján

A vizsgált tölgy fajok közötti kapcsolat feltárásának egy másik lehet sége az allélfrekvencia értékekb l származtatott Nei-féle (1972) genetikai távolság számítása (12. sz. táblázat). A genetikai távolság mátrix alapján szerkesztett UPGMA dendrogram (12. sz. ábra) az F_{st} értékekb l levezetett, el z megközelítéshez hasonló elkülönülést mutat a három tölgy faj között.

	<i>Qu. petraea s.l.</i>	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens s.l.</i>
<i>Qu. petraea s.l.</i>	0,000		
<i>Qu. robur</i>	0,292	0,000	
<i>Qu. pubescens s.l.</i>	0,597	0,360	0,000

12. sz. táblázat: A fajok páronkénti elkülönülése a Nei-féle (1972) genetikai távolságuk alapján



8. sz. ábra: A fajok Nei-féle genetikai távolsága UPGMA dendrogramon ábrázolva a négy mikroszatellit marker alapján

5.3.3. A molyhos tölgy komplex genetikai szerkezete

A területen magas részarányal – mintegy 50%-kal – jelennek meg a molyhos tölgy komplexbe sorolható egyedek. A levélmorfológiai bélyegek alapján a csoport tovább bontható volt a két sz ken értelmezett molyhos tölgy taxonra, *Quercus pubescens* s.str.-ra, *Quercus virgiliana*-ra, illetve ezek hibridjeire. Az így kapott három alcsoport genetikai jellemzőinek összehasonlítása alapján azonban nem mutatható ki jellegzetes eltérés a csoportok között (13. sz. táblázat).

Faj	Lokusz	G	N _a	N _e	N _p	I	H _o	H _e	F
<i>Qu. virgiliana</i>	ZAG1/5	85	21,0	10,7	4	2,622	0,871	0,907	0,040
	ZAG9	85	18,0	7,8	2	2,332	0,894	0,872	-0,025
	ZAG104	85	37,0	14,6	2	3,109	0,941	0,932	-0,010
	MSQ13	85	16,0	5,2	2	2,010	0,800	0,807	0,009
	Átlag	85,0	23,0	9,6	2,5	2,518	0,876	0,879	0,003
	SE	0,0	4,8	2,0	0,5	0,233	0,029	0,027	0,014
<i>Qu. pubescens</i> s.str.	ZAG1/5	21	15,0	8,9	2	2,408	0,952	0,888	-0,073
	ZAG9	21	11,0	7,1	0	2,108	0,857	0,858	0,001
	ZAG104	21	19,0	8,5	1	2,574	0,952	0,882	-0,080
	MSQ13	21	8,0	3,7	0	1,607	0,762	0,729	-0,045
	Átlag	21,0	13,3	7,0	0,8	2,174	0,881	0,839	-0,049
	SE	0,0	2,4	1,2	0,5	0,212	0,046	0,037	0,018
<i>Qu. pubescens</i> × <i>Qu. virgiliana</i>	ZAG1/5	36	16,0	10,7	0	2,534	0,889	0,906	0,019
	ZAG9	36	16,0	6,6	1	2,272	0,861	0,849	-0,015
	ZAG104	36	27,0	12,6	3	2,901	0,944	0,921	-0,026
	MSQ13	36	11,0	4,8	0	1,891	0,750	0,793	0,054
	Átlag	36,0	17,5	8,7	1	2,399	0,861	0,867	0,008
	SE	0,0	3,4	1,8	0,7	0,213	0,041	0,029	0,018

13. sz. táblázat: A molyhos tölgy komplex sz ken értelmezett fajainak összehasonlítása a f bb diverzitási mutatók alapján a vizsgált négy mikroszatellit lokuszon és azok átlagát tekintve, ahol G: az egyedi genotípusok száma, N: mintaszám, N_a: tényleges allélszám, N_e: effektív allélszám, N_p: egyedi allélok száma, I: Shannon-index, H_o: megfigyelt heterozigócia, H_e: várt heterozigócia, F: fixációs index

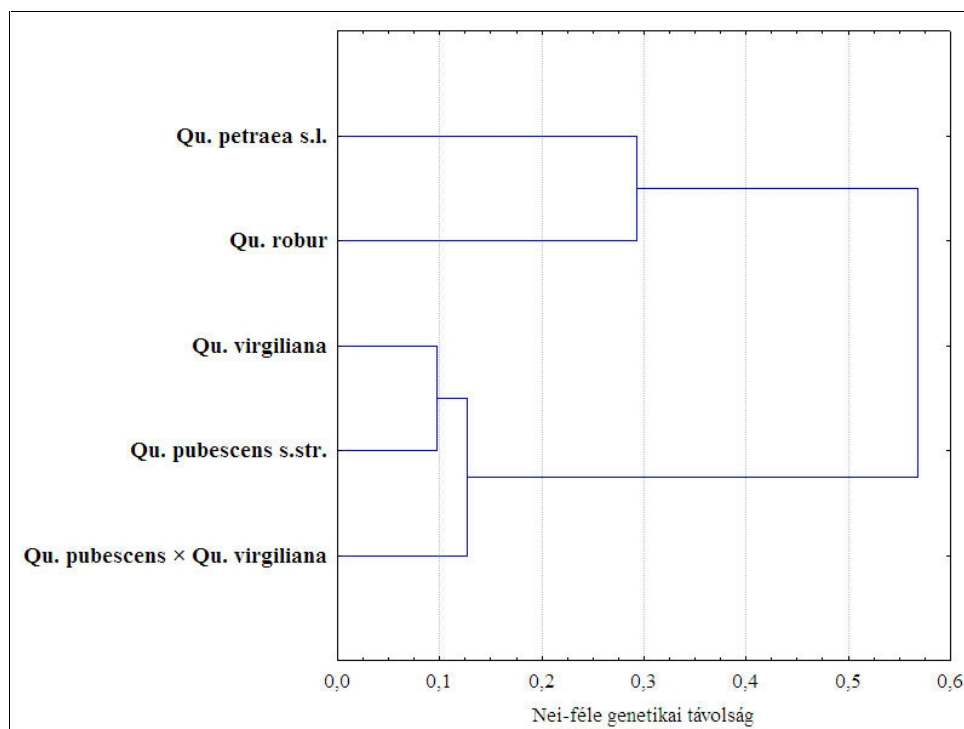
Ugyanezt az eredményt er síti meg az csoportok közötti genetikai variancia arányát megadó AMOVA vizsgálat (14. sz. táblázat), illetve a csoportok közötti páronkénti Nei-féle genetikai távolság értékei is (15. sz. táblázat). Az AMOVA vizsgálatnál nyert F_{st} értékek nem mutatnak szignifikáns elkülönülést a két sz ken értelmezett molyhos tölgy faj között, és ugyan a hibrid csoport némileg elkülön l t lük, azonban ez a különbség sem szignifikáns. A Nei-féle genetikai távolságok alapján is a két faj áll közelebb egymáshoz, míg a hibrid csoport nagyon kis mértékben különbözik t lük (13. sz. ábra).

	Qu. petraea s.l.	Qu. robur	Qu. virgiliana	Qu. pubescens s.str.	Qu. pub. × Qu. virg.
Qu. petraea s.l.	-	<0,013	<0,0002	<0,0001	<0,0002
Qu. robur	0,038	-	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Qu. virgiliana	0,081	0,071	-	<0,299	<0,038
Qu. pubescens s.str.	0,130	0,118	0,003	-	<0,147
Qu. pub. × Qu. virg.	0,094	0,082	0,009	0,009	-

14. sz. táblázat: A vizsgált tölgy fajok, köztük a sz ken értelmezett molyhos tölgy fajok és hibridek, páronkénti összehasonlításából nyert F_{st} értékek AMOVA elemzés alapján (diagonál alatt) és a P valószínűségi értékek 9999 ismétlés után (diagonál felett)

	Qu. petraea s.l.	Qu. robur	Qu. virgiliana	Qu. pubescens s.str.	Qu. pub. × Qu. virg.
Qu. petraea s.l.	0,000				
Qu. robur	0,292	0,000			
Qu. virgiliana	0,564	0,327	0,000		
Qu. pubescens s.str.	0,830	0,613	0,098	0,000	
Qu. pub. × Qu. virg.	0,660	0,411	0,108	0,147	0,000

15. sz. táblázat: A vizsgált tölgy fajok, köztük a sz ken értelmezett molyhos tölgy fajok és hibridek Nei-féle genetikai távolsága a négy mikroszatellit marker alapján



13. sz. ábra: A vizsgált tölgy fajok, köztük a sz ken értelmezett molyhos tölgy fajok és hibridek Nei-féle genetikai távolsága UPGMA dendrogramon ábrázolva a négy mikroszatellit marker alapján

5.4. Izoenzim vizsgálat

5.4.1. A három vizsgált tölgy faj genetikai elkülönülése

Az izoenzim vizsgálatot a mintaterület 389 id skorú egyedén végeztük el. A morfológiai vizsgálatához képest két egyeddel b vítettük az adatsort (165-ös és 192-es fák). Ezek az egyedek a morfológiai gy jtés idejére már elpusztultak, azonban a korábbi terepi megfigyelések alapján *Qu. petraea*-ként kerültek leírásra (Bordács és Borovics *szóbeli közlés*), így az egyébként igen limitált mintaszámú kocsánytalan tölgy csoportot kívántuk b vítteni ezen egyedek rendelkezésre álló genetikai adatával. Ezen kívül kizártunk az elemzésb l három, a tágan értelmezett fajok közötti hibrid egyedet (407, 230, 267) a genetikai határok jobb értelmezhet sége érdekében. A három tölgy faj genetikai szerkezetének összehasonlító elemzése során 11 egyed a tágan értelmezett kocsánytalan tölgy komplexbe (*Qu. petraea* s.l.), 208 egyed a kocsányos tölgy csoportba (*Qu. robur*), míg 170 egyed a szintén tágan értelmezett molyhos tölgyek csoportjába (*Qu. pubescens* s.l.) tartozott. Mivel a kocsánytalan tölgy csoport alacsony mintaszámmal képvisellette magát, az elemzések értékelése során ezt a tényez t szem el tt kellett tartani.

Az eredetileg tervezett 13 izoenzim rendszer közül kilenc mutatott megfelel en értékelhet mintázatot. Ebb l egy bizonyult monomorfnak, így a fennmaradt nyolc enzimrendszerrel végeztük el az elemzéseket. A vizsgált izoenzim lokuszok f bb jellemz it a 16. számú táblázat foglalja össze.

Lokusz	N	N _a	N _e	I	H _o	H _e	F
PGM	389	5	2,127	0,873	0,393	0,530	0,259
IDH_B	388	4	1,722	0,707	0,327	0,419	0,219
IDH_A	378	4	1,480	0,680	0,226	0,324	0,304
AAT_B	384	5	1,181	0,360	0,152	0,153	0,005
MNR	377	6	1,463	0,700	0,242	0,316	0,235
PGI	389	6	1,153	0,322	0,120	0,133	0,098
SKDH_A	389	5	1,163	0,338	0,128	0,140	0,090
6-PGDH_B	385	3	1,126	0,231	0,113	0,112	-0,015

16. sz. táblázat: A vizsgált izoenzim lokuszok f bb diverzitási jellemz i, ahol N: mintaszám, N_a: tényleges allélszám, N_e: effektív allélszám, I: Shannon-index, H_o: megfigyelt heterozigócia, H_e: várt heterozigócia, F: fixációs index

Mind a nyolc vizsgált enzimrendszer esetében sikerült a domináns egy vagy maximum két allél mellett ritka allélokot is detektálnunk. A leginkább informatívnak, a Shannon-index

valamint a heterozigócia értékek alapján, a PGM, IDH-A és IDH-B, illetve az MNR génhelyek bizonyultak. A fixációs index 0 körüli értéke egyensúlyi állapotra utal. A 17. számú táblázatban a három tölgy faj diverzitási jellemzőit foglaltuk össze a nyolc vizsgált izoenzim lokusz esetében külön-külön és átlagosan.

Faj	Lokusz	N	N _a	N _e	R _[22]	N _p	I	H _o	H _e	F
<i>Qu. petraea</i> s.l.	PGM	11	3	1,6	3,0	0	0,689	0,091	0,376	0,758
	IDH_B	11	2	1,3	2,0	0	0,398	0,273	0,236	-0,158
	IDH_A	11	3	1,4	2,9	0	0,576	0,182	0,310	0,413
	AAT_B	10	3	1,2	3,0	0	0,394	0,100	0,185	0,459
	MNR	11	3	1,3	2,9	0	0,485	0,091	0,244	0,627
	PGI	11	2	1,2	2,0	0	0,305	0,182	0,165	-0,100
	SKDH_A	11	2	1,2	2,0	0	0,305	0,000	0,165	1,000
	6-PGDH_B	11	1	1,0	1,0	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	Átlag	10,9	2,4	1,3	2,4	0,0	0,394	0,115	0,210	0,429
	SE	0,1	0,3	0,1	0,3	0,0	0,073	0,033	0,040	0,151
<i>Qu. robur</i>	PGM	209	4	2,4	2,9	0	0,957	0,450	0,580	0,225
	IDH_B	208	4	2,1	2,3	0	0,778	0,514	0,515	0,000
	IDH_A	209	4	1,6	3,4	0	0,781	0,254	0,385	0,341
	AAT_B	209	5	1,2	2,2	1	0,347	0,153	0,149	-0,029
	MNR	202	6	1,3	2,6	0	0,489	0,188	0,206	0,087
	PGI	209	3	1,1	1,4	0	0,130	0,043	0,051	0,162
	SKDH_A	209	5	1,1	1,9	1	0,266	0,091	0,102	0,104
	6-PGDH_B	209	2	1,0	1,0	0	0,017	0,005	0,005	-0,002
	Átlag	208,0	4,1	1,5	2,2	0,3	0,471	0,212	0,249	0,111
	SE	0,9	0,4	0,2	0,3	0,2	0,120	0,065	0,077	0,045
<i>Qu. pubescens</i> s.l.	PGM	172	4	1,6	2,2	1	0,612	0,343	0,385	0,109
	IDH_B	172	4	1,1	2,0	0	0,307	0,105	0,127	0,177
	IDH_A	161	4	1,3	2,8	0	0,525	0,193	0,238	0,190
	AAT_B	168	4	1,2	2,2	0	0,366	0,155	0,157	0,013
	MNR	167	6	1,8	3,6	0	0,890	0,317	0,434	0,269
	PGI	172	6	1,3	2,6	3	0,506	0,209	0,223	0,062
	SKDH_A	172	4	1,2	2,3	0	0,409	0,180	0,183	0,016
	6-PGDH_B	168	3	1,3	2,0	1	0,408	0,256	0,233	-0,100
	Átlag	169,0	4,4	1,4	2,5	0,6	0,503	0,220	0,247	0,092
	SE	1,4	0,4	0,1	0,2	0,4	0,065	0,029	0,038	0,042

17. sz. táblázat: A három tölgy faj diverzitási jellemzőit a nyolc vizsgált izoenzim lokusz esetében külön-külön és átlagosan, ahol N: mintaszám, N_a: tényleges allélszám, N_e: effektív allélszám, R: allél gazdagság a legkisebb csoport mintaszámára vetítve, N_p: egyedi allélok száma, I: Shannon-index, H_o: megfigyelt heterozigócia, H_e: várt heterozigócia, F: fixációs index

A megfigyelt allélszámban (N_a) mutatkozó eltérés egyértelműen a *petraea* csoport alacsony mintaszámára vezethető vissza, az effektív allélszám (N_e) alapján a három csoport

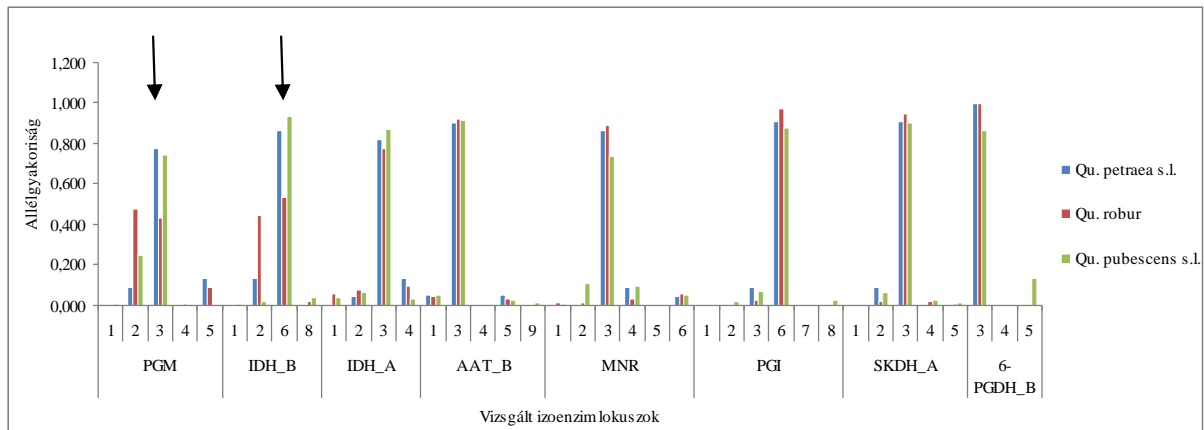
allélszerkezete már jóval kiegyenlítettebb. Az allél gazdagság mutatóval (R) a legkisebb mintaszámú csoport – ami esetünkben a *Qu. petraea* komplex – mintaszámával kalkulálja a további csoportok allélkészletét is. Ezen összehasonlítás alapján – bár az értékek szintén a kiegyenlített, hasonló allélszerkezetre utalnak - a *petraea* csoport $R_{pet}=2,4$ becsült allélszám értékével megelőzi a *robur* csoportot ($R_{rob}=2,2$), és alig marad el a *pubescens* csoport mögött ($R_{pub}=2,5$). Az egyedi allélok (N_p) tekintetében a *pubescens* csoport rendelkezik a legmagasabb értékkel (5 egyedi allél), míg a *robur* csoportban csupán kettő, a *petraea* csoportban pedig egyetlen egyedi allél sem jelent meg (bár ez vélhetően az alacsony mintaszámból ered). A további diverzitási értékeket tekintve a Shannon-index *petraea-robur-pubescens* irányban mutat emelkedést, míg a megfigyelt heterozigócia szempontjából a *robur* és *pubescens* csoportok emelkednek ki, azonban szinte azonos értékekkel. A fixációs index 0-hoz közeli értéke egyensúlyi állapotra utal ebben a két utóbbi csoportban, azonban a *petraea* csoport – feltételezhetően megint csak az alacsony mintaszáma miatt – a várható képest alacsony heterozigóta aránnyal és ennek megfelelően magas fixációs értékkel jelenik meg.

A csoportok közötti elkülönülés mértékét a nagyszámú, ismételt mintavételen alapuló AMOVA elemzéssel adtuk meg, amely a molekuláris variancia megoszlását vizsgálja a csoportokon belül és a csoportok között. A 18. számú táblázatban a páronkénti összehasonlításból nyert F_{st} értékek láthatók. Az alkalmazott izoenzim markerek segítségével jó elkülönülés figyelhető meg a kocsányos és molyhos tölgy között ($F_{st}=0,206$), továbbá a kocsányos és kocsánytalan tölgyek csoportja között is ($F_{st}=0,142$). A markerek nem tették lehetővé viszont a molyhos tölgyek illetve kocsánytalan tölgyek elkülönítését ($F_{st}=0,017$, $P<0,187$), ami eredhet az utóbbi csoport alacsony mintaszámából, de akár a két csoport tényleges hasonlóságából is.

	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.l.
<i>Qu. petraea</i> s.l.	-	< 0,001	< 0,187
<i>Qu. robur</i>	0,142	-	< 0,0001
<i>Qu. pubescens</i> s.l.	0,017	0,206	-

18. sz. táblázat: A vizsgált tölgy fajok páronkénti összehasonlításából nyert F_{st} értékek AMOVA elemzés alapján (diagonál alatt) és a P valószínűségi értékek 9999 ismétlés után (diagonál felett)

A tölgy taxonok közötti markánsabb elkülönülés két enzimrendszer – a PGM és az IDH-B – csoportonként eltérő allélfrekvencia értékeiből ered (14. sz. ábra).



14. sz. ábra: A nyolc vizsgált izoenzim lokusz allégyakoriság értékeinek alakulása a három tölgy faj között, kiemelve a PGM és IDH-B génhelyeket, amelyek jelentősebb allélszerkezeti különbséget jeleznek a fajok között

A PGM enzimrendszer esetében végzett AMOVA vizsgálat eredményeként a csoportok közötti variancia, tehát az elkülönülés mértéke 20%-ra tehető ($F_{st}=0,204$, $P<0,0001$). Az IDH-B lokusz még erőteljesebb különbséget jelez a taxonok között, a csoportok közötti variancia mértéke itt 47% ($P<0,0001$). A páronkénti F_{st} értékek alapján (19. sz. táblázat) az látható, hogy a PGM rendszer a kocsányos és kocsánytalan tölgyek csoportja között nagyobb eltérést mutat, míg az IDH-B lokusz esetében tapasztalt nagymértékű csoportok közötti variancia elsősorban a molyhos és kocsányos tölgyek közötti elkülönülésből ered. A molyhos és kocsánytalan tölgyek között ezzel szemben nem tapasztalható markáns különbség, amit az IDH-B esetében a próba magasabb szignifikancia szintje is igazol.

PGM	<i>Qu. petraea s.l.</i>	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens s.l.</i>
<i>Qu. petraea s.l.</i>	-	< 0,002	< 0,150
<i>Qu. robur</i>	0,243	-	< 0,0001
<i>Qu. pubescens s.l.</i>	0,048	0,207	-
IDH-B	<i>Qu. petraea s.l.</i>	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens s.l.</i>
<i>Qu. petraea s.l.</i>	-	< 0,003	< 0,073
<i>Qu. robur</i>	0,257	-	< 0,0001
<i>Qu. pubescens s.l.</i>	0,079	0,486	-

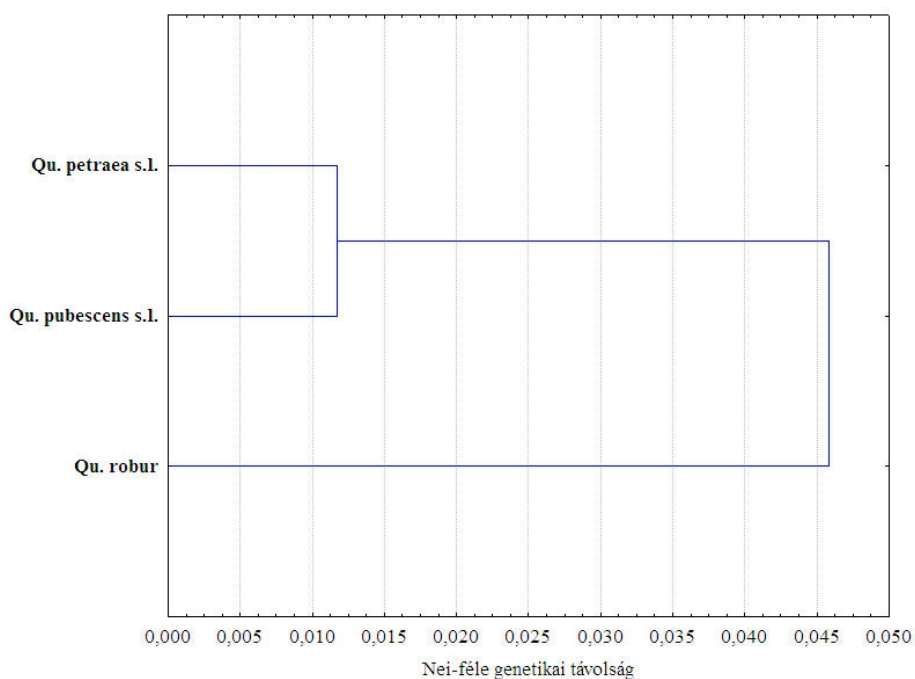
19. sz. táblázat: A vizsgált tölgy fajok páronkénti összehasonlításából nyert F_{st} értékek AMOVA elemzés alapján a PGM és az IDH-B lokuszok esetében

(F_{st} értékek a diagonál alatt és a P valószínűségi értékek 9999 ismétlés után a diagonál felett)

A vizsgált tölgy taxonok közötti kapcsolatot a Nei-féle genetikai távolsággal is jellemezhetjük. A 20. számú táblázatban a csoportok páronkénti genetikai távolsága látható. A távolság mátrix alapján UPGMA-dendrogramot szerkesztettünk (15. sz. ábra), amelyen megfigyelhet az egyes taxonok egymáshoz viszonyított helyzete. A vizsgált izoenzim lokuszok alapján a kocsánytalan és molyhos tölgy komplexek között igen csekély genetikai elkülönülést tapasztalhatunk, míg a kocsányos tölgy csoport tük genetikailag távolabb áll.

	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.l.
<i>Qu. petraea</i> s.l.	0,000		
<i>Qu. robur</i>	0,041	0,000	
<i>Qu. pubescens</i> s.l.	0,012	0,051	0,000

20. sz. táblázat: A vizsgált tölgy fajok Nei-féle genetikai távolsága a nyolc izoenzim lokusz elemzése alapján



15. sz. ábra: A vizsgált tölgy fajok Nei-féle genetikai távolságának UPGMA dendrogramon való ábrázolása a nyolc izoenzim lokusz elemzése alapján

5.4.2. A molyhos tölgy komplex genetikai szerkezete

A molyhos tölgy csoporton belül található további két faji csoport (*Qu. pubescens* s.str., *Qu. virgiliana*), illetve a köztük létrejött hibridek csoport genetikai szerkezetében az izoenzim lokuszok elemzése alapján sem tapasztalható markáns eltérés (21. sz. táblázat).

Faj	Locus	N	N _a	N _e	N _p	I	H _o	H _e	F
<i>Qu. virgiliana</i>	PGM	95	4	1,7	0	0,639	0,358	0,403	0,112
	IDH_B	95	3	1,1	0	0,243	0,105	0,101	-0,041
	IDH_A	88	4	1,3	0	0,498	0,182	0,228	0,202
	AAT_B	93	4	1,2	0	0,383	0,151	0,162	0,070
	MNR	90	5	1,6	0	0,809	0,278	0,387	0,281
	PGI	95	5	1,3	1	0,481	0,189	0,213	0,108
	SKDH_A	95	4	1,2	0	0,349	0,137	0,149	0,081
	6-PGDH_B	92	3	1,3	1	0,399	0,250	0,220	-0,136
	Átlag	92,9	4,0	1,3	0,3	0,475	0,206	0,233	0,085
	SE	1,0	0,3	0,1	0,2	0,063	0,030	0,038	0,046
	<i>Qu. pubescens</i> s.str.	PGM	34	2	1,6	0	0,546	0,353	0,360
IDH_B		34	3	1,2	0	0,402	0,147	0,190	0,226
IDH_A		33	4	1,3	0	0,543	0,182	0,247	0,265
AAT_B		33	3	1,2	0	0,402	0,212	0,194	-0,092
MNR		34	5	2,2	0	1,076	0,382	0,551	0,307
PGI		34	4	1,2	0	0,430	0,206	0,191	-0,079
SKDH_A		34	3	1,1	0	0,257	0,118	0,112	-0,050
6-PGDH_B		34	2	1,3	0	0,362	0,176	0,208	0,150
Átlag		33,8	3,3	1,4	0,0	0,502	0,222	0,257	0,093
SE		0,2	0,4	0,1	0,0	0,088	0,034	0,049	0,058
<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>		PGM	41	3	1,6	0	0,604	0,317	0,374
	IDH_B	41	3	1,2	0	0,295	0,073	0,137	0,466
	IDH_A	38	4	1,4	0	0,549	0,237	0,260	0,088
	AAT_B	40	3	1,1	0	0,276	0,125	0,119	-0,050
	MNR	41	4	1,8	0	0,866	0,366	0,439	0,166
	PGI	41	4	1,4	1	0,546	0,244	0,261	0,067
	SKDH_A	41	4	1,5	0	0,623	0,341	0,315	-0,084
	6-PGDH_B	40	2	1,4	0	0,444	0,325	0,272	-0,194
	Átlag	40,4	3,4	1,4	0,1	0,525	0,254	0,272	0,077
	SE	0,4	0,3	0,1	0,1	0,067	0,038	0,038	0,071

21. sz. táblázat: A molyhos tölgy komplex szűken értelmezett fajainak diverzitási jellemzői a vizsgált nyolc izoenzim lokusz alapján lokuszonként és átlagosan, ahol N: mintaszám, N_a: tényleges allélszám, N_e: effektív allélszám, N_p: egyedi allélok száma, I: Shannon-index, H_o: megfigyelt heterozigócia, H_e: várt heterozigócia, F: fixációs index

A vizsgált öt tölgy fajcsoport közötti variancia mértékét megadó AMOVA vizsgálat alapján szintén nem beszélhetünk genetikai elkülönülésről a molyhos tölgy komplexen belül (22. sz. táblázat).

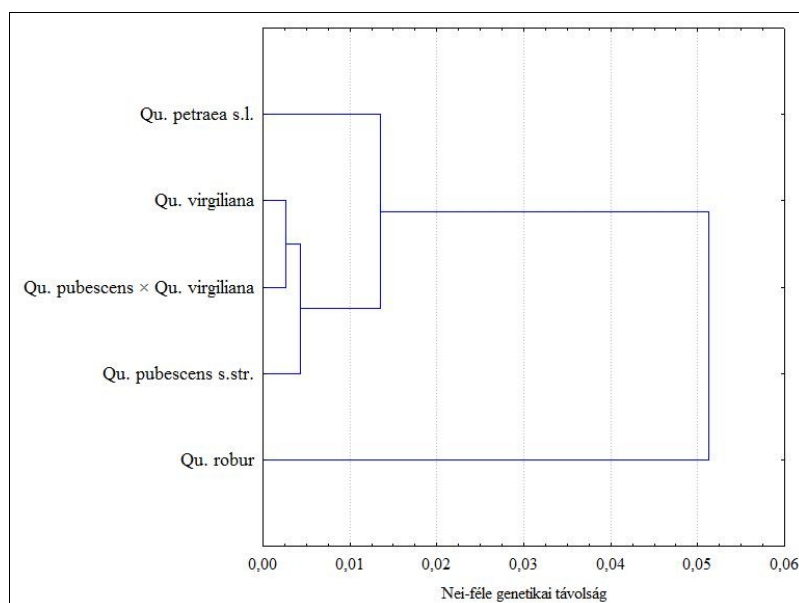
	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. virgiliana</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.str.	<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>
<i>Qu. petraea</i> s.l.	-	< 0,0001	< 0,200	< 0,207	< 0,285
<i>Qu. robur</i>	0,143	-	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
<i>Qu. virgiliana</i>	0,015	0,185	-	< 0,428	< 0,425
<i>Qu. pubescens</i> s.str.	0,017	0,201	0,000	-	< 0,433
<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>	0,010	0,204	0,000	0,000	-

22. sz. táblázat: A vizsgált tölgy fajok, köztük a sz ken értelmezett molyhos tölgy fajok és hibridek, páronkénti összehasonlításából nyert F_{st} értékek AMOVA elemzés alapján (diagonál alatt) és a P valószínűségi értékek 9999 ismétlés után (diagonál felett)

A Nei-féle genetikai távolság, az el z eket meger sítve, a molyhos tölgy csoportok között er s azonosságot mutat, illetve a kocsánytalan tölgyekkel (*Qu. petraea* s.l.) hozzá ket közelebbi rokonságba, akárcsak a korábban elvégzett, tágan értelmezett elemzések alkalmával (23. sz. táblázat, 16. sz. ábra).

	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. virgiliana</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.str.	<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>
<i>Qu. petraea</i> s.l.	0,000				
<i>Qu. robur</i>	0,041	0,000			
<i>Qu. virgiliana</i>	0,011	0,048	0,000		
<i>Qu. pubescens</i> s.str.	0,016	0,057	0,003	0,000	
<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>	0,013	0,058	0,003	0,005	0,000

23. sz. táblázat: A vizsgált tölgy fajok, köztük a sz ken értelmezett molyhos tölgy fajok és hibridek Nei-féle genetikai távolsága a vizsgált nyolc izoenzim lokusz alapján



16. sz. ábra: A vizsgált tölgy fajok, köztük a sz ken értelmezett molyhos tölgy fajok és hibridek Nei-féle genetikai távolsága alapján szerkesztett UPGMA dendrogram, a nyolc izoenzim lokusz elemzése alapján

5.5. RAPD vizsgálat

5.5.1. A három vizsgált tölgy faj elkülönítése

A vizsgálathoz alkalmazott négy RAPD primer (OPERON sorozat: G5, G13, G9, G11) eltér eredményességgel működött a mintasoron. A megfelelő mintázattal rendelkező minták számát fajonkénti bontásban és összesítve a 24. számú táblázat tartalmazza. A G5-ös primert a továbbiakban kizártuk az összesített elemzésből, mivel a kocsánytalan tölgy csoportból csupán három egyed elemzése volt sikeres, illetve összességében is kevesebb minta esetében állt rendelkezésünkre adat. A négy primer kombinációjával a mintaszám tovább csökkent (280 egyed), tekintve, hogy csak azokat a mintákat vettük figyelembe, amelyek mind a négy alkalmazott primerrel értékelhető mintázatot mutattak. A G13-as, G9-es, G11-es primerek kombinációjával összesen 360 minta elemzésére nyílt lehetőség, amelyek taxonómiai összetételüket tekintve 8 kocsánytalan tölgy, 189 kocsányos tölgy és 163 tágan értelmezett molyhos tölgy egyedből álltak.

	Mintaszám					
	G5	G13	G9	G11	4 primer együtt	3 primer együtt (G5 nélkül)
<i>Qu. petraea</i> s.l.	3	9	9	8	0	8
<i>Qu. robur</i>	153	213	205	200	132	189
<i>Qu. pubescens</i> s.str.	26	29	28	29	25	28
<i>Qu. virgiliana</i>	89	93	95	97	83	93
<i>Qu. pubescens</i> × <i>Qu. virg.</i>	41	43	42	43	40	42
Összesen	312	387	379	377	280	360

24. sz. táblázat: A sikeres elemzések mintaszáma az alkalmazott négy RAPD primerrel külön-külön, a négy primer együttes kombinációjából, valamint a három legnagyobb mintaszámú primer kombinációjából

A RAPD elemzés révén egy jellegzetesen domináns örökletes genetikai mintázatot kapunk, amelyet bináris kódolással írhatunk le (van sáv: 1, nincs sáv: 0). Az ilyen jellegű mintázatok kevesebb információt szolgáltatnak az adott populációról vagy az összehasonlítani kívánt csoportokról, mivel a heterozigóta genotípusok kimutatása nem lehetséges. Ellenük viszont, hogy nem csupán egyetlen DNS régióról nyerünk információt általuk, hanem a genom átfogóbb részére, elemzésére alkalmasak. Az elemzés során megfigyelt sávok a DNS egy-egy jellegzetes motívumára utalnak, és minél magasabb számban sikerül ezeket a motívumokat detektálni, annál részletesebb DNS elemzést tesznek lehetővé. A megfigyelt sávok száma mellett, további fontos paraméter lehet az 5%-nál

magasabb gyakoriságú sávok száma (illetve ebből levezethetően a ritka sávok száma), a csak az egyes csoportokban előforduló sávok száma, az azonos sávok száma az egyes csoportok között, valamint a származtatott heterozigócia értéke. Az elemzésbe vont három primer alapján nyert, illetve a kombinációjukból származó főbb diverzitási paramétereket a különböző taxonómiai csoportokra nézve az 25. számú táblázat foglalja össze. Az egyes csoportokban megfigyelt sávok becsült méretét, illetve az előfordulás gyakoriságát az 3. számú Melléklet tartalmazza.

G13	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.str.	<i>Qu. virgiliana</i>	<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>
Sávok száma	21	29	25	29	26
Ebből 1 freq. > 5%	21	24	21	21	18
Egyedi sávok száma	0	0	0	0	0
Átlagos H_e	0,185	0,198	0,155	0,155	0,145
SE Átlagos H_e	0,032	0,028	0,026	0,026	0,028

G9	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.str.	<i>Qu. virgiliana</i>	<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu.</i> <i>virg.</i>
Sávok száma	10	22	13	21	18
Ebből 1 freq. > 5%	10	19	10	10	9
Egyedi sávok száma	0	1	0	0	0
Átlagos H_e	0,123	0,152	0,127	0,124	0,103
SE Átlagos H_e	0,037	0,027	0,036	0,037	0,032

G11	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.str.	<i>Qu. virgiliana</i>	<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>
Sávok száma	14	24	22	24	22
Ebből 1 freq. > 5%	14	19	21	20	17
Egyedi sávok száma	0	1	0	0	0
Átlagos H_e	0,114	0,180	0,167	0,157	0,146
SE Átlagos H_e	0,030	0,030	0,028	0,028	0,027

3 primer együtt	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.str.	<i>Qu. virgiliana</i>	<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>
Sávok száma	44	75	60	74	66
Ebből 1 freq. > 5%	44	60	50	51	44
Egyedi sávok száma	0	2	0	0	0
Átlagos H_e	0,142	0,178	0,151	0,147	0,132
SE Átlagos H_e	0,019	0,016	0,017	0,017	0,017

25. sz. táblázat: A vizsgált tölgy taxonok főbb diverzitási paraméterei, az elemzésbe vont három RAPD primer, illetve a kombinációjuk alapján, ahol H_e a származtatott heterozigócia értéke

Az adatok alapján megfigyelhet, hogy nincs jelentős eltérés a taxonómiai csoportok között. A kocsánytalan tölgy csoportnál (*Qu. petraea* s.l.) ugyan alacsonyabb értéket tapasztaltunk a sávok számát tekintve, azonban ez nagy valószínűséggel a limitált mintaszámra (8 egyed) vezethető vissza. Egyedi sávok csak a kocsányos tölgy csoportban (*Qu. robur*) jelentek meg, de ez a két sáv is nagyon alacsony gyakorisággal fordul elő. Ha az egyes taxonómiai csoportokat páronként összehasonlítva megvizsgáljuk a közös sávok számát tekintve (26. sz. táblázat), akkor szintén azt tapasztalhatjuk, hogy nincs jelentős vagy következetes eltérés a vizsgált fajok között. Ez arra utal, hogy a vizsgálatba vont mintasor taxonómiai csoportjai igen közeli rokonságot mutatnak egymással, a minták DNS-e kevés egyedi motívummal rendelkezik az alkalmazott markerek tekintetében. Meglepő módon, nem csupán a jelentős számbeli eltérés hiánya szembeötlő, de az egyébként távolabbi taxonómiai csoportokként meghatározott kocsányos tölgyek és molyhos tölgyek között sem tapasztalható számottevő különbség.

	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.str.	<i>Qu. virgiliana</i>	<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>
<i>Qu. petraea</i> s.l.	44	44	40	44	41
<i>Qu. robur</i>	44	75	59	73	65
<i>Qu. pubescens</i> s.str.	40	59	60	60	56
<i>Qu. virgiliana</i>	44	73	60	74	66
<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>	41	65	56	66	66

26. sz. táblázat: A vizsgált taxonómiai csoportokra jellemző megfigyelt sávok száma (fő átló, vastagon szedve), valamint a közös sávok száma a vizsgált csoportok között

A csoportok közötti elkülönülés mértékét a nagyszámú, ismételt mintavételen alapuló AMOVA elemzéssel adtuk meg, amely a molekuláris variancia megoszlását vizsgálja a csoportokon belül és a csoportok között. Az 27. számú táblázatban a páronkénti összehasonlításból nyert F_{st} értékek láthatók. A molyhos tölgyek szignifikánsan elkülönülnek a kocsányos illetve kocsánytalan tölgyektől, azonban a komplexen belül már nem tapasztalható jelentős eltérés a szűken értelmezett molyhos tölgy fajok és a hibrid csoport között.

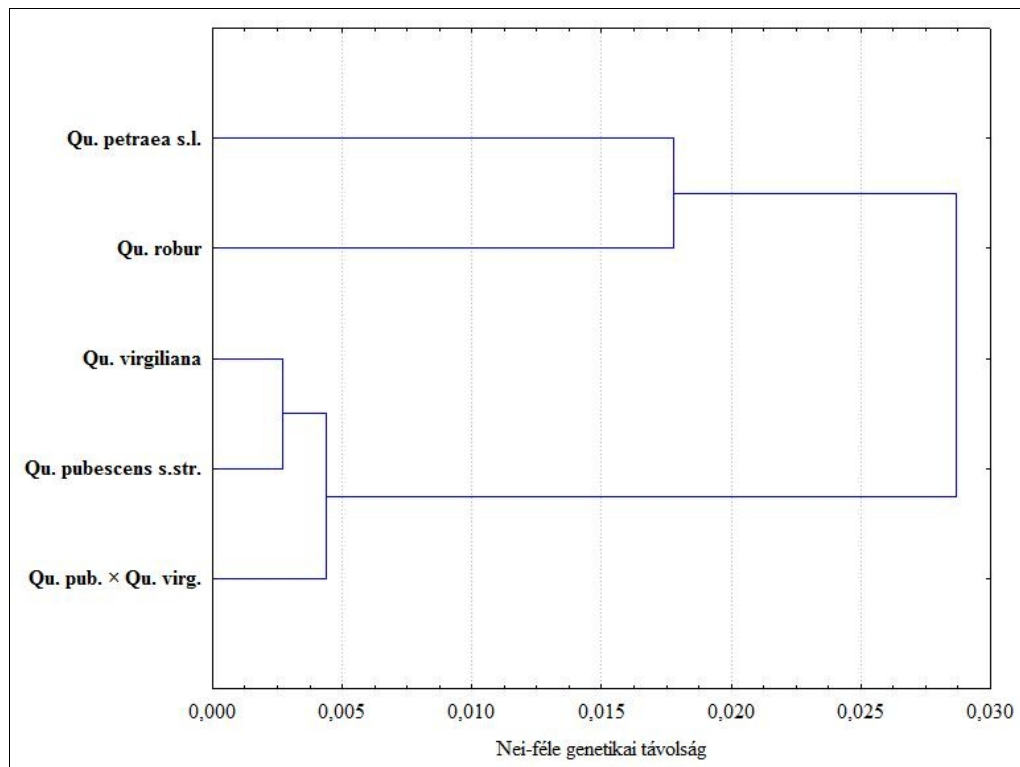
	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.str.	<i>Qu. virgiliana</i>	<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>
<i>Qu. petraea</i> s.l.	-	< 0,051	< 0,003	< 0,0002	< 0,0001
<i>Qu. robur</i>	0,030	-	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
<i>Qu. pubescens</i> s.str.	0,064	0,097	-	< 0,409	< 0,110
<i>Qu. virgiliana</i>	0,084	0,102	0,001	-	< 0,088
<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>	0,134	0,125	0,009	0,006	-

27. sz. táblázat: A vizsgált tölgy fajok páronkénti összehasonlításából nyert F_{st} értékek AMOVA elemzés alapján (diagonál alatt) és a P valószínűségi értékek 9999 ismétlés után (diagonál felett)

A vizsgált tölgy taxonok közötti kapcsolatot a Nei-féle genetikai távolsággal is jellemezhetjük. A csoportok páronkénti genetikai távolsága (28. sz. táblázat) alapján szerkesztett UPGMA-dendrogramon (17. sz. ábra) látható, hogy a vizsgált taxonómiai csoportok egymáshoz viszonyított helyzete hasonlóképpen alakul, mint ahogyan azt az AMOVA vizsgálat eredményeképpen kapott csoportok közötti variancia mértéke is jelezte. A kocsányos és kocsánytalan tölgyek közös ágon helyezkednek el, míg a molyhos tölgy komplex tölgyek némileg elkülönül, azonban a komplexen belül már nem figyelhet meg markáns genetikai különbség.

	<i>Qu. petraea</i> s.l.	<i>Qu. robur</i>	<i>Qu. pubescens</i> s.str.	<i>Qu. virgiliana</i>	<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>
<i>Qu. petraea</i> s.l.	0,000				
<i>Qu. robur</i>	0,018	0,000			
<i>Qu. pubescens</i> s.str.	0,033	0,020	0,000		
<i>Qu. virgiliana</i>	0,032	0,018	0,003	0,000	
<i>Qu. pub.</i> × <i>Qu. virg.</i>	0,044	0,025	0,005	0,004	0,000

28. sz. táblázat: A vizsgált tölgy taxonok Nei-féle genetikai távolsága az alkalmazott három RAPD primer kombinációjából



17. sz. ábra: A vizsgált tölgy taxonok Nei-féle genetikai távolsága alapján szerkesztett UPGMA-dendrogram az alkalmazott három RAPD primer kombinációjából

5.6. Térbeli genetikai mintázat

A térbeli genetikai mintázat elemzésének célja az, hogy megállapítsuk a térben egymás közelében elhelyezkedő egyedekről, hogy azok genetikailag is közelebbi rokonságban állnak-e? Az állományok természetes szaporodási folyamatai során feltételezhető ugyanis, hogy az utódnemzedék, a nagyméretű termés miatt korlátozott migráció eredményeképpen, nagyobb valószínűséggel jelenik meg az anyanövény közelében. Továbbá, az adott állományfoltban kialakult újulat összetételében gyakran egy vagy néhány jól termő anyafa leszármazottja, tehát féltstvéri populáció, ami a genetikai szerkezetük hasonlóságából kimutatható. A vizsgált tölgy állomány esetében arra kerestük a választ, hogy mennyiben felel meg a genetikai szerkezet az előzőekben felvázolt koncepciónak, és mennyiben utal ez a szerkezet az állomány esetleges természetes eredetére.

A térbeli genetikai struktúra keresésének legegyszerűbb módja az egyedpárok közötti genetikai távolságból, illetve a valóság, földrajzi távolságukból létrehozott távolság mátrixok közötti korreláció vizsgálata. Erre alkalmas a többszöri permutációval végzett Mantel-teszt, amelynek eredményeképpen egy adott megbízhatósági szinttel (P) rendelkező korrelációs együtthatóval (R) fejezhetjük ki a vizsgált mátrixok közötti összefüggést. Az R koefficiens 0 és 1 között vehet fel értékeket, és amennyiben ez az érték 1-hez közelít, a genetikai és a földrajzi távolságok között nagyon erős összefüggés figyelhető meg, tehát a genetikailag közelebbi rokonságot mutató egyedek térben is egymás közelében helyezkednek el. A teszt szignifikancia szintjét szintén figyelembe kell vennünk, amely azt fejezi ki, hogy ezt az eredményt, milyen valószínűséggel tekinthetjük megbízhatónak, illetve mennyi a valószínűsége annak a lehetőségnek, hogy a kapott eredmény csupán véletlenszerűen alakult így az adott mintasor elemzése alapján.

A Mantel-tesztet a mintasor több szintjén is elvégeztük. Tekintve, hogy a vizsgált fehér tölgy fajok genetikailag nagyon közeli rokonságot mutatnak, illetve, hogy feltételezhetjük a múltban bekövetkezett hibridizációs eseményeket is, a vizsgált terület összes mintafájának térbeli genetikai strukturáltságát elemeztük legelésző, minden markertípus esetében. Ezután a két magasabb mintaszámú taxonómiai csoport, a kocsányos tölgy (*Qu. robur*) valamint a molyhos tölgy komplex (*Qu. pubescens* s.l.) mintasorát elemeztük külön-külön, hogy az esetlegesen kialakult családstruktúrákat feltárjuk a területen. A 29. számú táblázatban összefoglaltuk a különböző szinteken, a különböző

markertípusokkal kapott eredményeket. A táblázat áttekintésével látható, hogy a területen sem az összes mintafa tekintetében, sem a két domináns taxonómiai csoport, a kocsányos tölgy és molyhos tölgy komplex tekintetében nem tapasztalhatunk korrelációt az egyedek genetikai és földrajzi távolsága között, mivel az R együttható minden esetben 0-hoz közeli értéket vett fel. Ugyanakkor a teszt csupán a teljes mintasor tekintetében mutat erős szignifikanciát, ahol az eredményt 99,99 %-ban megbízhatónak tekinthetjük. A két önállóan vizsgált fajcsoport esetében a Mantel-teszt kevésbé megbízható eredményt hozott. A kocsányos tölgyeknél (*Qu. robur*) a mikroszetellit, valamint az izoenzim markerek esetében tekinthetjük megbízhatónak a korreláció hiányát, mivel ebben az esetben a szignifikancia szint a 0,01-es küszöbérték körül alakult. A tágan értelmezett molyhos tölgyeknél a gyenge korreláció ugyanezen markerekkel viszont nem szignifikáns, míg a RAPD markerek szignifikáns összefüggést (pontosabban a mátrixok összefüggésének hiányát) jeleznek.

Marker	Vizsgált állomány	Mantel-teszt	
		Korrelációs együttható (R)	Szignifikanciaszint (P)
Mikroszetellit	teljes állomány	0,071	0,0001
	<i>Qu. robur</i>	0,041	0,028
	<i>Qu.pubescens</i> s.l.	0,054	0,066
Izoenzim	teljes állomány	0,12	0,0001
	<i>Qu. robur</i>	0,069	0,008
	<i>Qu.pubescens</i> s.l.	0,0002	0,487
RAPD	teljes állomány	0,191	0,0001
	<i>Qu. robur</i>	0,036	0,132
	<i>Qu.pubescens</i> s.l.	0,121	0,012

29. sz. táblázat: A Mantel-teszt eredménye a teljes állomány, illetve a kocsányos tölgy (*Qu. robur*) és molyhos tölgy komplex (*Qu. pubescens* s.l.) egyedeit tekintve, a három alkalmazott markertípus szerint

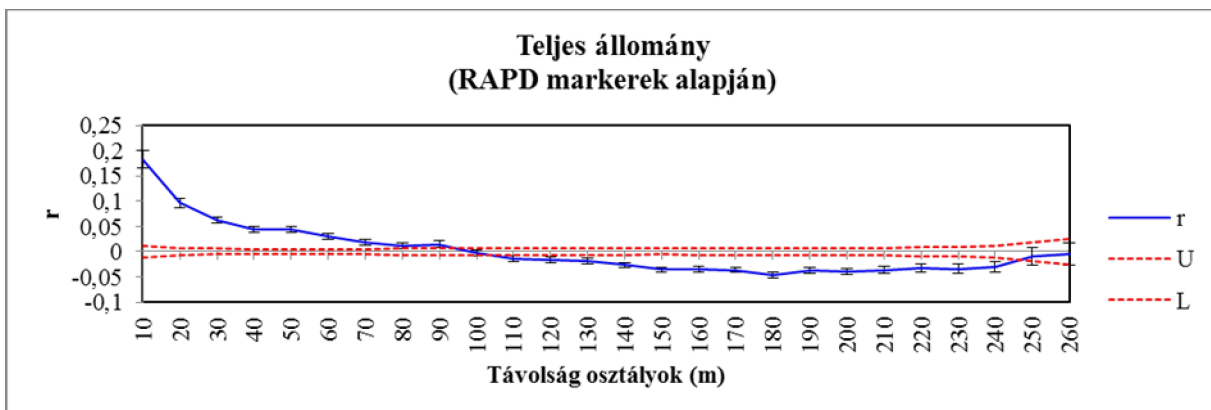
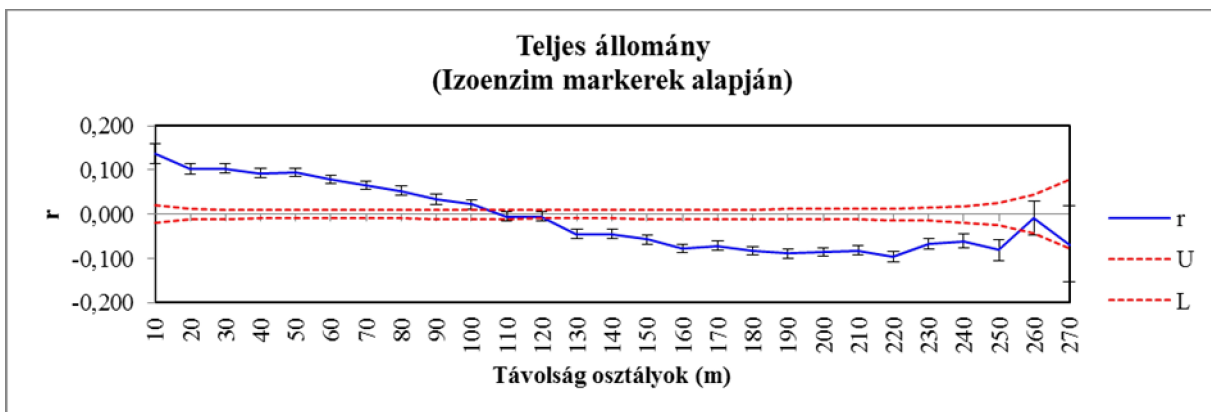
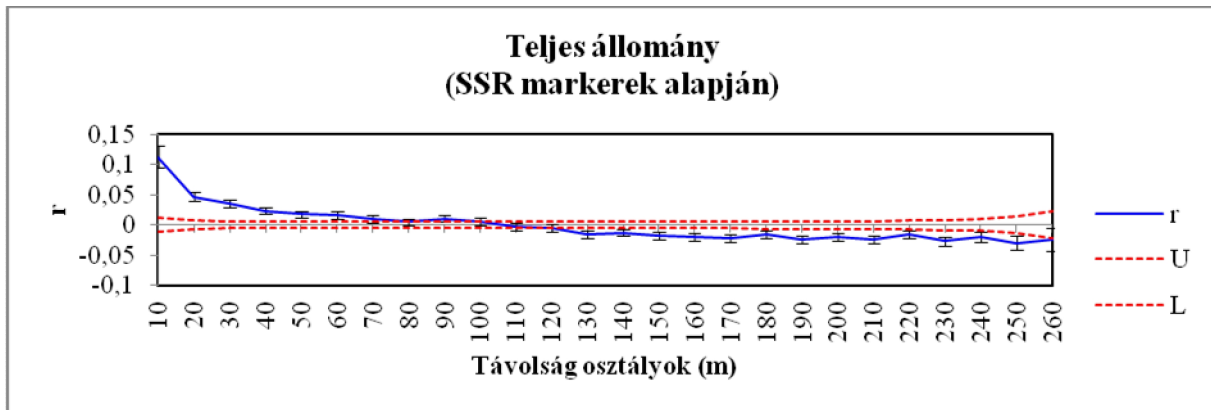
A Mantel-tesztnél sokkal érzékenyebb analízist kínál a térbeli genetikai autokorrelációs elemzés (GenAlEx program), amely szintén nagyszámú permutációs lépésen alapszik, viszont távolságosztályonként képes a mátrixok közötti pozitív vagy negatív korreláció kimutatására. Az elemzés eredményeképpen egy korrelogramot kapunk a korrelációs együttható (r) görbéjével, amely görbe az elzetestesen megadott távolság osztályokon belül felvett értékek összege. A korrelogramon a 0 érték a térbeli és genetikai struktúra összefüggésének hiányát jelzi (tehát az egyedek elhelyezkedése véletlenszerű), illetve megtalálhatjuk a 95 %-os konfidencia intervallum alsó és felső határait is, amelyen belül mozogva az r érték szintén az összefüggés hiányát mutatja. A 0 értéktől való pozitív

irányú eltérés pozitív korrelációt jelez, tehát a genetikailag közelebbi rokonságban álló egyedek térben is közelebb helyezkednek el, míg a negatív r értékek szignifikáns negatív korrelációra utalnak (a rokonságilag távolabb álló egyedek térben is távolabb helyezkednek el). Az elemzést markerenként elvégeztük a teljes mintasoron, valamint külön-külön, csak a kocsánytalan tölgyek csoportjára, illetve a molyhos tölgy komplex egyedeire nézve is.

A teljes állomány térbeli autokorrelációs elemzése során (18. sz. ábrásor) sikerült egy gyenge pozitív korrelációt (r maximum értéke 0,15 és 0,2 körül) feltárni a 0-70 m-es (SSR, RAPD), illetve a 0-100 m-es (izoenzim) távolság osztályokban, 10 m-es intervallumokat nézve. 120 m után viszont egy enyhe negatív korrelációt figyelhetünk meg. Ez a fajta görbe lefutás jellemző a természetes fás állományokra, ahol a diszperzió korlátozott (White és mtsai 2007).

A két domináns tölgy fajcsoport (kocsányos tölgy, molyhos tölgyek) külön-külön végzett elemzése során meglepő módon az elzektl némileg eltérő eredményre jutottunk. Mindkét tölgy csoport egyedeinél csupán egy nagyon enyhe pozitív korreláció volt kimutatható a közeli távolságosztályokban, kb. 0-30 m-ig (4. sz. Melléklet). Efelőtti távolságban nem volt szignifikáns összefüggés a térbeli elhelyezkedés és a genetikai távolság között. Negatív korrelációt a távolabbi távolság osztályokban nem tapasztaltunk. Ha tovább finomítottuk a közeli távolságosztályok felosztását (2 m-es intervallumok), akkor azt tapasztalhattuk, hogy a korreláció első sorban az első 4 m-ig meghatározó (4. sz. Melléklet, 4.2. és 4.4. pont). A területen a sarjztatás következményeképpen megjelenő klón egyedek csak részben magyarázzák ezt az erősebb korrelációt, ugyanis a klónok nélkül elvégzett elemzés hasonló lefutású korrelációs görbét eredményezett (4. sz. Melléklet, 4.5. pont).

Ki kell emelnünk a RAPD markerek nyújtotta eredményeket, hiszen ezzel a marker csoporttal némileg határozottabban sikerült feltárnunk a területen egy pozitív korrelációt a térbeli elhelyezkedés és a genetikai hasonlóság között. Bár a RAPD markerekkel készített korrelogramok még mindig nem egy határozott térbeli genetikai struktúrát jelenítenek meg, azonban a marker családok közötti különbségekre mindenképp felhívják a figyelmet. A térbeli genetikai szerkezet feltárásához vélhetőleg olyan módszerre van szükség, amely a DNS sok pontját képes vizsgálni egyidőben, és a néhány lokusból álló genotípus információk sokszor nem elegendőek.



18. sz. ábrásor: A teljes állomány térbeli genetikai szerkezetét autokorrelációs elemzéssel (GenAlEx), a három alkalmazott marker-csoport alapján, 10 m-es távolság osztályokra bontva, ahol r autokorrelációs együttható (értéke -1 és 1 között), U és L a 95%-os konfidencia intervallum felső és alsó határa, amelyen belül nincs szignifikáns térbeli genetikai szerkezet.

Végül az állomány térbeli genetikai szerkezetét is olyan módon is kaphatunk információt, ha a sarjzatarás hatására kialakult klón egyedet térképezzük fel. Tekintve, hogy a 5.3. fejezetben részletesen tárgyaltuk a t sarjak, illetve egyes esetekben a gyökérsarjak megjelenésének az állomány genetikai szerkezetére gyakorolt hatásait, itt részletesen nem térünk erre ki újra. Annyit kívánunk kiemelni, hogy a nagyobb számban megfigyelhet

t sarjas növekedés mellett néhány esetben, térben távolabb elhelyezkedő gyökérsarj eredetű klónokat is sikerült kimutatnunk. Összefoglalásként elmondható még, hogy a sarjzattatás hatására kimutathatóan megemelkedett számú „csokros” növekedés nem csökkentette drasztikusan az állomány diverzitását.

5.7. Az egyedszint genetikai mintázat vizsgálata

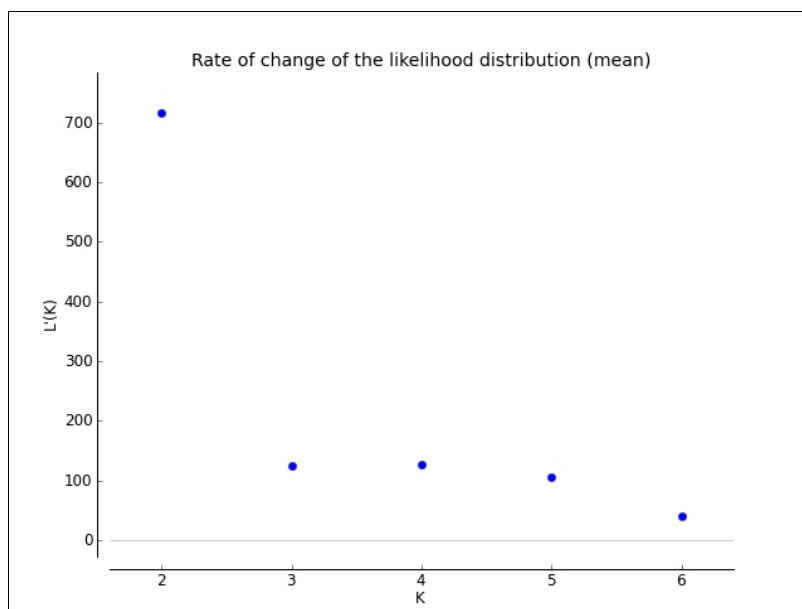
Az egyedszint genetikai mintázat vizsgálatával arra kerestük a választ, hogy a területen fellelhető fehér tölgy taxonok egyedei körében tapasztalható-e valamiféle genetikai mintázat alapján elkülöníthető csoportosulás, jellegzetes csoportmintázat. Ilyen mintázat megléte elsősorban a taxonómiai elkülönülésből adódhat, továbbá a rokonsági struktúra, a közeli rokonságban álló egyedcsoportok egyedi mintázata jelenhet meg a vizsgált egyedek körében. A múltban bekövetkezett hibridizációs események miatti csoportkeveredések szintén feltárhatók az alkalmazott módszerrel.

A vizsgálatot egyrészt a Structure 2.2 (Pritchard és mtsai 2000) populációgenetikai szoftver segítségével végeztük el. Az egyedek genotípus adata alapján, mindenféle elzetes besorolástól eltekintve, a program egyedi csoportmintázatok feltárására alkalmas a vizsgált adatsoron (*Structure K-klaszterezés*). Az alkalmazott statisztikai számításokkal és szimulációkkal nem csupán az adható meg, hogy az egyes egyedek mely csoportba tartoznak, hanem az adatsoron belül képezhető részhalmazok számának (K számú klaszter) valószínűsége is. A vizsgálattal azt kerestük tehát, hogy a területen található fehér tölgy egyedek az egyes alkalmazott marker csoportok, illetve ezek kombinált genotípus információja alapján a legnagyobb valószínűség szerint hány csoportba oszthatók, továbbá mely egyedek mely csoportba kerülnek besorolásra. A csoportok közötti átmeneti mintázatot mutató egyedek, vagyis a feltételezett hibrid genotípusok szintén kiszűrhetők.

Az egyedi szint elemzés másik módja az elzetes besorolások alapján létrejött részpopulációk tesztelése, amely során minden egyed esetében vizsgáljuk a besorolási döntés helyességét egy valószínűségi érték megadásával. Az elemzés során kiszűrjük azokat a mintákat, amelyek genotípusuk valamint a csoportokra jellemző allélszerkezet alapján nagyobb valószínűséggel inkább egy másik csoportba sorolhatók be. Ehhez a típusú megközelítéshez a korábban is alkalmazott GenAlEx program *Besorolási Tesztjét (assignment test)* használtuk.

Az alkalmazott nyolc izoenzim és négy mikroszatellit marker kombinációjából nyert kodomináns genotípus adatsor alapján 373 tölgy egyed besorolását végeztük el a Structure program segítségével. A vizsgált egyedek a legnagyobb valószínűséggel mindössze 2 csoportra oszthatók (K=2). Az elzetes taxonómiai besorolás alapján feltételezett, legalább

három csoport meglétének valószínűsége nagyon alacsony (19. sz. ábra), és ez az eredmény a két markertípus külön-külön elvégzett elemzésénél is hasonlóképpen alakult (a valószínűségi értékelés további eredményei a 5. sz. Mellékletben találhatóak).



19. sz. ábra: Az alkalmazott nyolc izoenzim és négy mikroszatellit marker alapján, a különböző feltételezett csoportszámok valószínűségének változása a Structure 2.2 programmal végzett elemzés nyomán, csoportonként 10 ismétléssel

A mintasoron valószínűsíthető két csoport összetételét tekintve a területen, az elztes morfológiai besorolás alapján megtalálható, két domináns taxonómiai csoport, a kocsányos tölgy (*Qu. robur*) és a molyhos tölgy komplex (*Qu. pubescens*, *Qu. virgiliana* és hibridjeik) egyedeiből áll fel. Ezek alapján elmondható, hogy a genotípus adatok alapján elkülöníthető egy 'robur' jellegű valamint egy 'pubescens' jellegű klaszter. A minták 90%-a (349 egyed) legalább 80%-os részaránytal a két klaszter egyikének jegyeit mutatta, így ezeket az egyedeket tekintettük taxonómiaiilag „tiszta vérvonalúnak”, tehát a korábbi hibridizációt kizártuk. A minták 10%-a (39 egyed) ugyanakkor hibrid jellegű volt, vagyis csak 70%-ban vagy annál kisebb részarányban mutatta az egyik klaszter jellegzetességeit. A taxonómiai határozás alapján, a területen fellelhető, kis egyedszámú kocsánytalan tölgy csoportból (*Qu. petraea*, *Qu. dalechampii* és hibridjeik) néhány egyed az egyik illetve a másik klaszterbe került besorolásra, míg a többi egyed egyértelmű átmeneti jelleget mutatott a két genotípus csoport között. A kocsánytalan tölgy komplex egyedeit tehát ezzel az elemzéssel nem sikerült egy jól körülhatárolható, harmadik klaszterként elkülöníteni a genotípus adatok alapján, még

akkor sem, ha feltételezéseink szerint néhány hibrid jelleg egyed rejtve jelen lehet a másik két taxonómiai csoport egyedei között. Az egyes klaszterekbe besorolt, elzetesen meghatározott taxonómiai csoportok részarányát, valamint a hibrid csoport összetételét a 30. számú táblázatban összegeztük. A vizsgált egyedek részletes besorolása az 6. számú Mellékletben található meg. (Itt kell megjegyezni, hogy a 80%-os küszöb kiválasztása bizonyos mértékig önkényes volt, még nagyobb felbontóképesség markerszám esetében természetesen a küszöbhatár tovább finomítható és magasabbra emelhető lenne. Ugyanakkor a jelen elmezés esetében a túl „szigorú”, 90 vagy akár 95%-os hibrid küszöb kijelölése olyan mértékű hibrid arányt feltételezne az állományban, amely szintén nem tekinthető reálisnak. Emiatt az elemzés során elnyben részesítettem egy „megengedőbb” küszöbértéket, amelyet a határhelyzetben lévő minták egyenkénti, komplex értékelésével egészítettem ki.)

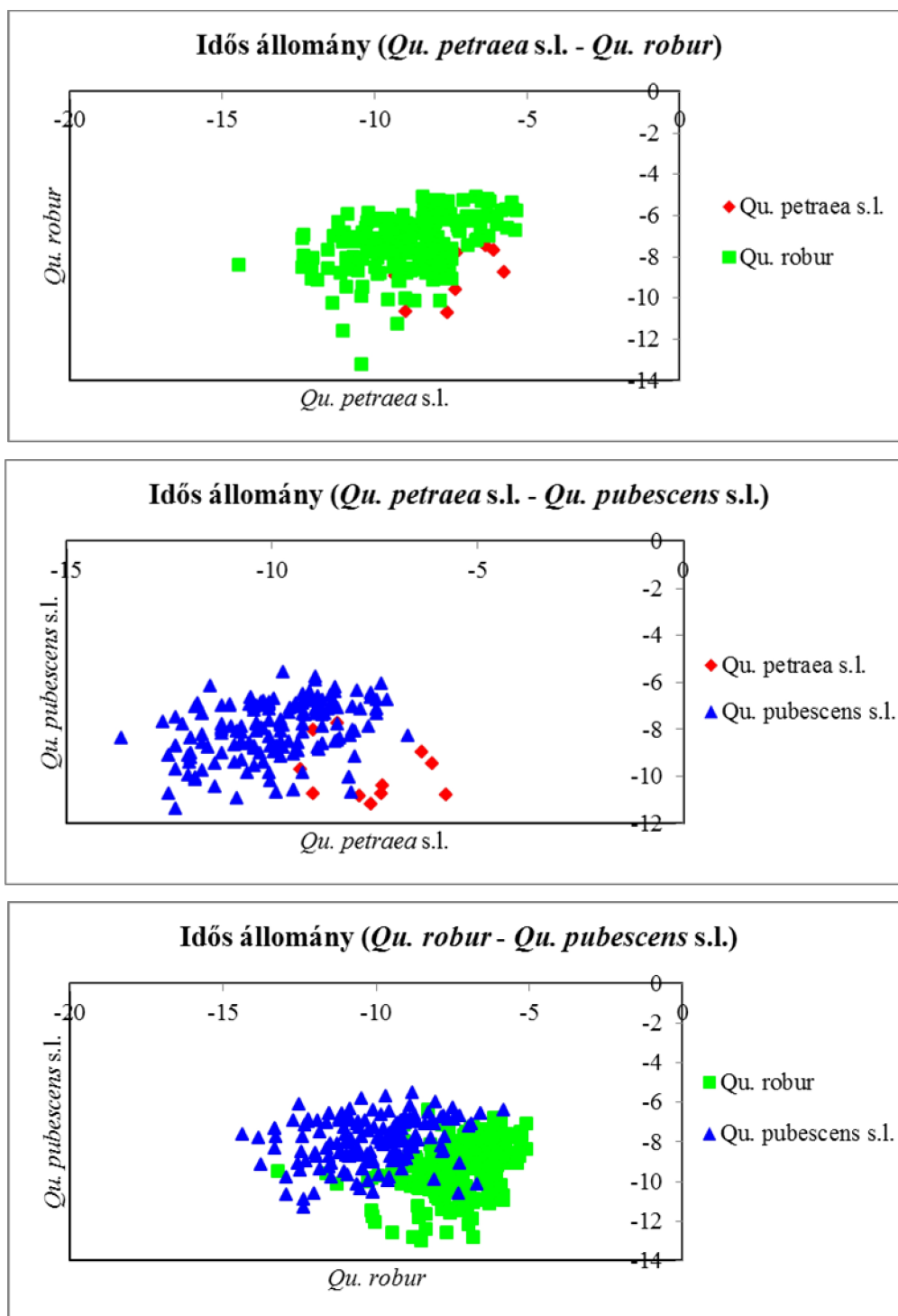
	Klaszter 1 'robur' jelleg	Klaszter 2 'pubescens' jelleg	Hibrid csoport
<i>Qu. petraea</i> s.l.	2	3	6
<i>Qu. robur</i>	175	12	19
<i>Qu. pubescens</i> s.l.	6	151	14
Összesen	183	166	39

30. sz. táblázat: A *Structure* klaszterezés alapján a két klaszterbe besorolt egyedek valamint a hibrid genotípusok száma a numerikus taxonómiai határozással összevetve

Fontos kiemelni, hogy bár a molyhos tölgy komplexen belül a morfometriai határozás lehet véltette a szűken értelmezett fajok, illetve a hibridek elkülönítését, ez az elkülönülés a genetikai struktúrában már nem figyelhető meg. A minták nagyrészt (88%) a 2-es klaszterbe kerültek besorolásra, és a molyhos tölgy csoport önálló elemzése sem utalt egynél több részcsoporthoz meglétére (a részletes adatokat itt nem közöltük). A molyhos tölgy komplex tehát homogénnek tekinthető a genetikai jellemzők alapján, ahogyan ezt már a korábbi elemzések is kimutatták.

Látható ugyanakkor, hogy mind a kocsányos tölgyek, mind a molyhos tölgyek között található olyan egyedek, amelyek a másik taxonómiai csoportba kerültek besorolásra genotípusuk alapján, továbbá mindkét taxonnál előfordulnak hibridek. Mielőtt részletesebben megvizsgálnánk ezeket az egyedeket, összefoglaljuk a másik megközelítéssel, a *Besorolási Teszttel* nyert eredményeket. A két kodomináns markertípussal, az izoenzimekkel és a mikroszatellit markerekkel együttesen jellemezve a három fűtölgy csoportot (robur, petraea

s.l., pubescens s.l.), az egyedek 15%-a került átsorolásra valamely más tölgy taxon csoportjába (31. sz. táblázat, a részletes adatsor a 7. sz. Mellékletben található). A 20. számú ábráson a taxonómiai csoportok genetikai elkülönülése, illetve átfedése látható a Besorolási Teszt valószínűségi értékei alapján, a csoportok páronként összehasonlításával.



20. sz. ábrásor: A Besorolási Teszt eredményeként kapott valószínűségi diagramok, amelyen az állomány taxonómiai csoportjainak genetikai átfedése látható páronkénti összehasonlításban

	Saját taxon	Más taxon	Saját taxon %	Más taxon %
<i>Qu. petraea</i> s.l.	8	3	72,7%	27,3%
<i>Qu. robur</i>	170	36	82,5%	17,5%
<i>Qu. pubescens</i> s.l.	152	19	88,9%	11,1%
Összesen	330	58	85,1%	14,9%

31. sz. táblázat: A Besorolási Teszt eredményképpen, valamely más taxonómiai csoportba átsorolt egyedek száma és %-os aránya a numerikus taxonómiai határozással összehasonlítva

Az átsorolások nagy része a kocsánytalan tölgyek (*Qu. petraea* s.l.) csoportja felé történt, a kocsányos tölgyektől csupán 5 egyed genotípusa állt közelebb a molyhos tölgyekéhez. A molyhos tölgyeknél is mindössze 7 egyed mutatott nagyobb fokú hasonlóságot a kocsányos tölgyekkel. A kocsányos tölgy csoportból átsorolt fennmaradó 31 egyedből 28 került a kocsánytalan tölgyek csoportjába, míg 3 egyed bizonyult hibridnek. A molyhos tölgyeknél 12 egyedet sorolt át a teszt a kocsánytalan tölgyek csoportjába. Tehát a *Besorolási Teszt* alapján a vizsgált egyedek között, a morfológiailag elkülönített 11 kocsánytalan tölgy mellett további 43 egyed rendelkezik a genotípus alapján kocsánytalan tölgy sajátosságokkal. Továbbá, ezen egyedek nagyobb hányadát a morfológiailag kocsányos tölgyként leírt csoportban találhatjuk (32. sz. táblázat).

		<i>Besorolási teszt alapján</i>			
		<i>petraea</i> s.l.	<i>petraea</i> s.l. × <i>robur</i>	<i>robur</i>	<i>pubescens</i> s.l.
<i>Morfometrián</i> alapján	<i>Qu. petraea</i> s.l.	8	1	2	-
	<i>Qu. robur</i>	28	3	170	5
	<i>Qu. pubescens</i> s.l.	12	-	7	152
	Összesen	48	4	179	157

32. sz. táblázat: A *Besorolási Teszt* eredményképpen, valamely más taxonómiai csoportba átsorolt egyedek, a numerikus taxonómiai határozás csoportjaihoz képest

A 33. számú táblázatban összefoglaltuk azokat az egyedeket, amelyek a két elemzés eredményei, valamint a morfolometriai határozás alapján ellentmondó taxonómiai besorolással bírnak. A táblázatban feltettük a terepi bejárások során végzett, hagyományos bélyegeken alapuló taxonómiai megfigyelések eredményét is (Bordács és Borovics szóbeli közlés). A vizsgált 388 egyedből 42 egyed (10,8%) taxonómiai hovatartozása kétséges a morfolometriai határozás, a hagyományos bélyegek, vagy a genotípusuk alapján. Ilyen egyedek mind az 1-es, mind a 2-es klaszterben megtalálhatók nagyjából egyenlő arányban (20, illetve 22 egyed).

Sorszám	Morfometria	Hagyományos	Besorolási Teszt	Structure klaszter (> 80%)
447	dal	<i>rob</i>	robur	1
9	rob	<i>rob</i>	petraea s.l. × robur	1
82	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	1
124	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	1
173	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	1
208	rob	<i>rob</i>	petraea s.l. × robur	1
210	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	1
214	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	1
250	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	1
251	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	1
263	rob	<i>pet x virg</i>	petraea s.l.	1
264	rob	<i>pet x virg</i>	petraea s.l.	1
281	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	1
433	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	1
84	pub-virg	<i>rob</i>	robur	1
164	virg	<i>rob</i>	robur	1
189	virg	<i>pub x virg</i>	robur	1
190	virg	<i>pub x virg</i>	pubescens s.l.	1
262	virg	<i>pet</i>	robur	1
418	virg	<i>virg</i>	robur	1
70	rob	<i>virg x pet x rob</i>	pubescens s.l.	2
86	rob	<i>pet x rob</i>	petraea s.l.	2
101	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	2
201	rob	<i>pet</i>	petraea s.l.	2
206	rob	<i>pet x rob</i>	petraea s.l.	2
207	rob	<i>rob x dal</i>	petraea s.l.	2
219	rob	<i>dal</i>	petraea s.l.	2
220	rob	<i>dal</i>	petraea s.l.	2
230	rob-pub	<i>pet x virg</i>	pubescens s.l.	2
272	rob	<i>dal x pet x virg</i>	pubescens s.l.	2
278	rob	<i>n.a.</i>	petraea s.l.	2
296	rob	<i>pet</i>	pubescens s.l.	2
43	pub-virg	<i>virg x pub x pet</i>	petraea s.l.	2
202	virg	<i>pet</i>	petraea s.l.	2
240	pub	<i>virg x pub</i>	petraea s.l.	2
266	virg	<i>pet</i>	petraea s.l.	2
310	pub-virg	<i>pub x pet</i>	petraea s.l.	2
311	pub-virg	<i>pub x pet</i>	petraea s.l.	2
322	virg	<i>dal x pet x pub</i>	petraea s.l.	2
359	virg	<i>pub</i>	petraea s.l.	2
400	pub	<i>rob</i>	pubescens s.l.	2
407	poly-virg	<i>virg</i>	pubescens s.l.	2

33. sz. táblázat: A numerikus taxonómiai határozás, a hagyományos bélyegek valamint a két egyedszint genetikai vizsgálat eredményei alapján, valamely szempont szerint (szürke kiemelés) kétséges taxonómiai besorolásúnak tekinthető egyedek listája

Az 1-es, vagyis 'robur' jellegű klaszterbe besorolt, kétséges minták közül egy egyed esetében (84-es fa) nagy valószínűséggel gyjtési hiba történt, mivel csak a morfológiai határozás kétséges, ami viszont megfelel az egyik, a gyjtéskor már kizárólagként dokumentált szomszédos egyed (83-as fa) hagyományos bélyegek alapján leírt taxonómiai jellegének. Egy egyed kocsánytalan tölgyként került meghatározásra a morfológiai bélyegek alapján, viszont a hagyományos leírás szerint, továbbá a genotípus alapján is inkább kocsányos tölgyről van szó. 11 egyed kocsányos tölgy morfológiával rendelkezik mindkét taxonómiai határozás alapján, viszont a *Besorolási Teszt* szerint a 'petraea' csoportba kerültek átsorolásra. Mivel a *Structure* klaszterezés alapján a 'robur' jellegű klaszterben találhatóak, amivel egybevetve a morfológiai megjelenésük is, ezért a kocsányos tölgyekre jellemző genetikai mintázat hatása feltételezhető ugyan, de biztosan nem első generációs hibridekről van szó. A *Besorolási Teszt* alapján további két, a kocsánytalan csoportba átsorolt, de kocsányos tölgyként meghatározott egyed rendelkezett inkább a molyhos és kocsánytalan tölgyekre jellemző karakterekkel. 5 egyed pedig olasz molyhos tölgyként került meghatározásra a morfológiai módszer szerint, azonban ezek esetében is ellentmondás áll fenn a hagyományos morfológiai bélyegek és a genetikai mintázatuk között. Összességében ezeknél a kocsányos tölgy jellegű klaszterbe besorolt egyedeknél, az egyetlen gyjtési tévedésből eredő kivételt leszámítva, feltételezhető valamilyen fokú introgresszió egyrészt a kocsánytalan tölgyek, másrészt a molyhos tölgyek irányából. Ugyanakkor nem valószínű, hogy ezek az egyedek első generációs hibridek lennének, sokkal inkább egy korábbi hibridizáció utáni visszakereszteszés eredményeképpen alakulhattak ki.

Ugyanígy módon ellenőrizve a 2-es, vagyis 'pubescens' jellegű klaszterbe besorolt, azonban kétséges mintákat, az előzőekhez hasonló eredményre juthatunk. Mindössze két egyednél tisztázható az ellentmondás, a 400-as fa esetében vélhetőleg a hagyományos leírásban történt tévedés (a 400-as sorszámú egyed még a dombtetőn került kijelölésre, a 401-es egyed pedig már újra a terület alsó részén, ahol többnyire kocsányos tölgyek találhatóak), és az összes többi információ alapján valóban molyhos tölgyről van szó. A 407-es fa pedig polycarpa × virgiliana hibridként került beazonosításra a morfológiai jegyek alapján, azonban itt is inkább tiszta olasz tölgy egyedről lehet szó, mivel a polycarpa típus a területen egyébként sem volt megfigyelhető. A többi egyed esetében elmondható, hogy a morfológiai

határozás alapján robur jegyeket viselő egyedek többnyire rendelkeztek kocsánytalan tölgy bélyegekkel is (7 minta), és a *Besorolási Teszt* alapján is sokuk a petraea csoportba került átsorolásra. 8 további minta esetében szintén petraea besorolást láthatunk a genetikai csoportmintázat alapján, és ezek között 6 esetben valóban megfigyelhetők voltak kocsánytalan tölgy jellegzetességek, annak ellenére, hogy a morfológiai határozás szerint a molyhos tölgy komplex tagjairól van szó.

Összefoglalva elmondható tehát, hogy a morfológiai, illetve genetikai besorolásuk alapján ellentmondásos egyedek esetében, a kérdéses 42 egyed közül mindössze 3 esetben tisztázható a taxonómiai hovatartozás, míg a többi egyed vélhetőleg introgresszált alaknak tekinthető. A genetikai klaszterezés eredményeképpen kapott, egyöntetűnek tekinthető genetikai mintázat viszont arra hívja fel a figyelmet, hogy nagy valószínűséggel nincs közöttük első generációs hibrid egyed. A sajátos morfológiai bélyegek, amelyek más faji hovatartozást sejtetnek, viszont arra engednek következtetni, hogy mégsem „tisztá vérvonalú” egyedekről van szó.

A 34. számú táblázatban a mikroszatellit markerek alapján nyert genetikai ujjlenyomattal azonosított klónpárok, klóncsoportok ellentmondásos morfológiát mutató egyedeinek genetikai besorolását tekintettük át. A két leginkább kérdéses, virgiliana/robur páros esetében a *Structure* klaszterezés alapján egyértelműen a molyhos tölgy jelleg került megérősítésre. A *Besorolási teszt* szerint az egyik klónpár (201-202) inkább a kocsánytalan tölgyekre jellemző genetikai mintázattal rendelkezik, ami viszont a terepi megfigyelésekkel cseng egybe. A molyhos tölgy klónpárok és klóncsoportok esetében, egy kivételével a genetikai mintázat megfelel a molyhos tölgy csoportra jellemző mintázatnak. Az egyetlen kivételként szereplő pár (252-253) genotípusa viszont a *Structure* klaszterezés alapján a 'pubescens' és 'robur' jellegű klaszterek 50%-os hibridjeként jelenik meg. Ez azonban a morfológiai megjelenésükben nem érhető tetten.

Sorszám	Morfometria	Hagyományos	Besorolási Teszt	Structure klaszter (> 80%)
201	rob	<i>pet</i>	petraea s.l.	2
202	virg	<i>pet</i>	petraea s.l.	2
295	virg	<i>pet×virg</i>	pubescens s.l.	2
296	rob	<i>pet</i>	pubescens s.l.	2
266	virg	<i>pet</i>	petraea s.l.	2
267	pet×virg	<i>pet</i>	petraea s.l.	2
130	pub×virg	<i>virg</i>	pubescens s.l.	2
131	virg	<i>virg</i>	pubescens s.l.	2
132	virg	<i>virg</i>	pubescens s.l.	2
252	virg	<i>dal×virg</i>	pubescens s.l.	h (≈50%)
253	pub	<i>dal×virg</i>	pubescens s.l.	h (≈50%)
275	pub	<i>pet×virg</i>	pubescens s.l.	2
276	virg	<i>virg×pet</i>	pubescens s.l.	2
277	virg	<i>virg×pet</i>	pubescens s.l.	2
319	pub×virg	<i>dal×pub</i>	pubescens s.l.	2
320	virg	<i>dal×pub</i>	pubescens s.l.	2
377	pub	<i>virg</i>	pubescens s.l.	2
378	virg	<i>virg</i>	pubescens s.l.	2
380	virg	<i>virg</i>	pubescens s.l.	2
381	pub	<i>virg</i>	pubescens s.l.	2

34. sz. táblázat: A mikroszatellit markerek alapján készített genetikai ujjlenyomattal azonosított klónpárok, klóncsoportok ellentmondásos morfológiát mutató egyedeinek genetikai besorolása

A következőkben, a 35. számú táblázatban a Structure elemzés alapján hibrid genotípussal leírt 39 egyedet tüntettük fel, az elz táblázathoz hasonlóan a morfológiai bélyegek alapján történt besorolásukkal együtt. A minták közül 4 egyed egyöntetesen tiszta robur jellemzőkkel rendelkezik, és a klaszter besorolás is több mint 70%-ban a robur jelleget támasztja alá. A molyhos tölgyek között további 3 egyedről állapítható meg, hogy feltételezhetően „tiszta vérvonallal” rendelkeznek. (Megjegyzés: A táblázatban az azonosítók d lten szedve.)

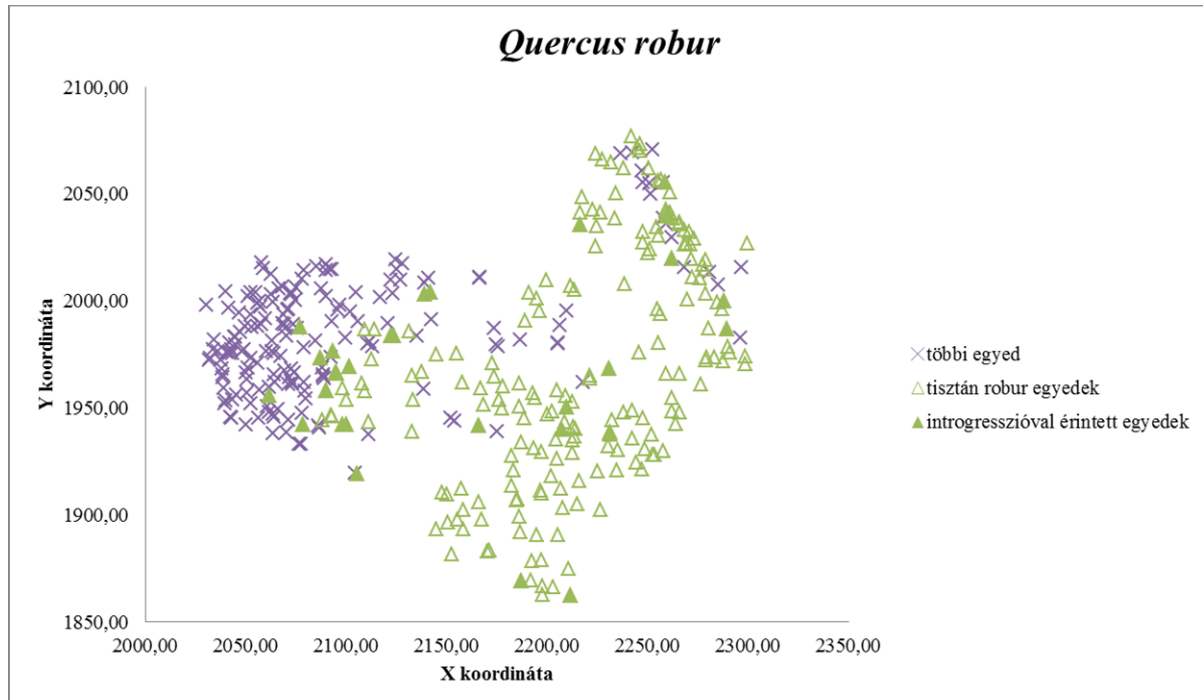
A hibridként azonosított többi egyed között találhatunk olyanokat is, amelyek minden egyéb besorolási módszert tekintve (a genetikai *Besorolási Tesztet* is beleértve) egyöntetesen egy faj jellegzetességeit mutatják (3 'robur' egyed, 6 'pubescens', 4 'petraea'). Ezek esetében nem dönthető el egyértelműen a hibrid eredet. A fennmaradó 19 egyed ténylegesen hibrid karakterrel rendelkezik.

Sorszám	Morfometria	Hagyományos	Besorolási Teszt	Structure hibrid
31	rob	<i>rob</i>	robur	1 (>70%)
160	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	1 (>70%)
216	rob	<i>rob</i>	robur	1 (>70%)
317	rob	<i>dal</i>	petraea s.l.	1 (>70%)
411	rob	<i>rob</i>	petraea s.l. × robur	1 (>70%)
415	rob	<i>rob</i>	robur	1 (>70%)
416	rob	<i>rob</i>	robur	1 (>70%)
237	n.a.	<i>pub</i>	petraea s.l.	1 (>70%)
255	dal	<i>rob</i>	robur	2 (>70%)
271	rob	<i>dal x pet x virg</i>	petraea s.l.	2 (>70%)
438	rob	<i>rob</i>	pubescens s.l.	2 (>70%)
62	virg	<i>virg</i>	pubescens s.l.	2 (>70%)
285	virg	<i>pet x virg</i>	pubescens s.l.	2 (>70%)
340	virg	<i>pub</i>	pubescens s.l.	2 (>70%)
406	virg	<i>virg</i>	robur	2 (>70%)
162	pet	<i>dal</i>	petraea s.l.	h
165	pet	<i>pet</i>	petraea s.l.	h
192	n.a.	<i>pet</i>	petraea s.l.	h
196	pet-dal	<i>pet x dal</i>	petraea s.l.	h
221	pet-dal	<i>pet x dal</i>	petraea s.l. × robur	h
1	rob	<i>rob</i>	robur	h
44	rob	<i>rob</i>	robur	h
53	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	h
85	rob	<i>pet x rob</i>	petraea s.l.	h
119	rob	<i>rob</i>	robur	h
121	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	h
213	rob	<i>rob</i>	petraea s.l.	h
259	rob	<i>pet x dal</i>	petraea s.l.	h
422	rob	<i>virg x rob x pub</i>	robur	h
444	rob	<i>pet</i>	petraea s.l.	h
175	virg	<i>pub x virg</i>	pubescens s.l.	h
178	virg	<i>virg</i>	pubescens s.l.	h
225	virg	<i>pet x pub</i>	robur	h
244	n.a.	<i>pub</i>	pubescens s.l.	h
252	virg	<i>dal x virg</i>	petraea s.l.	h
253	pub	<i>dal x virg</i>	petraea s.l.	h
308	virg	<i>pet x pub</i>	pubescens s.l.	h
366	virg	<i>pub x pet</i>	pubescens s.l.	h
376	pub-virg	<i>virg</i>	pubescens s.l.	h

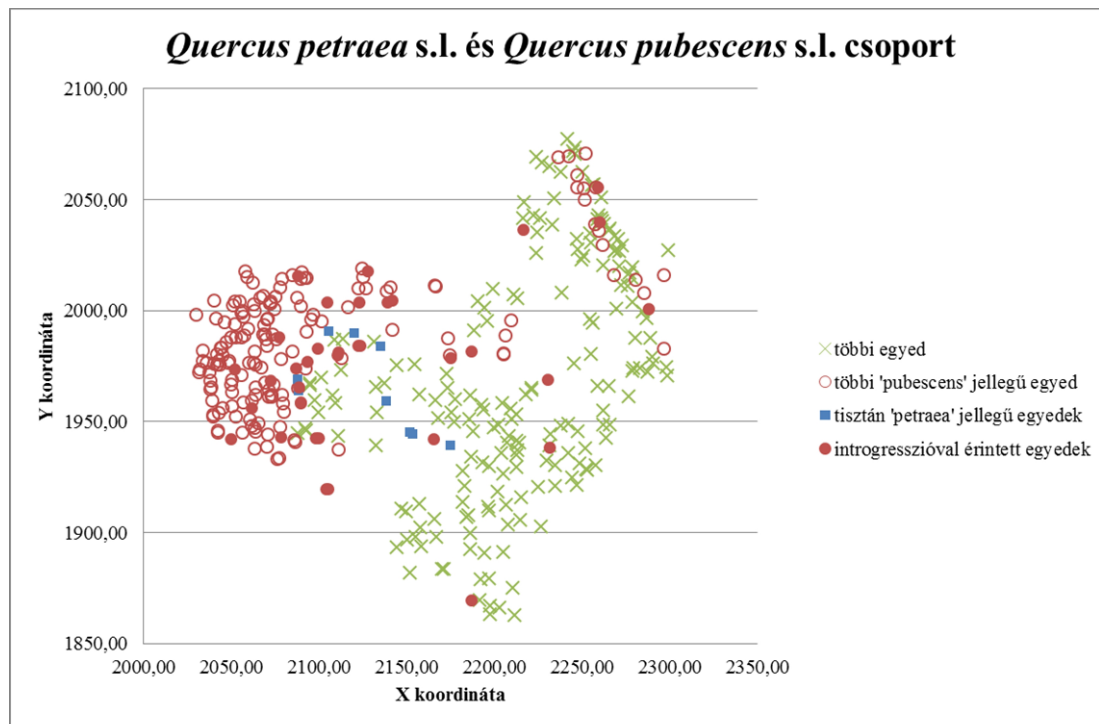
35. sz. táblázat: A *Structure* klaszterezés alapján hibridként azonosított egyedek listája, az egyéb határozási módszerekkel (numerikus taxonómia, hagyományos bélyegek, *Besorolási Teszt*) nyert információk feltüntetésével (szürkén kiemelve az ellentmondásos bélyegek)

Összefoglalva az eddigieket, a vizsgált 388 minta közül 39 egyed a *Structure* klaszterezés szerint ugyan egyöntetű genetikai mintázattal bír, azonban a *Besorolási Teszt*, illetve a morfológiai jegyek alapján feltételezhető a más tölgy fajoktól származó génhatás. Ezek az egyedek azonban nagy valószínűséggel nem tekintendők első generációs hibrideknek, ugyanakkor valószínűleg egy korábbi hibridizáció, majd akár többszöri visszakeresztesedés nyomait viselik magukon. További 32 egyed esetében a *Structure* vizsgálat is kevert genotípust jelzett, ezen egyedek körében részben megtalálhatóak már a valódi hibridek is. A teljes vizsgált állományra nézve így összesen 18,3%-ban feltételezhetjük a valamilyen fokú introgresszióval érintett egyedek arányát.

Ha ezeket az egyedeket térképen ábrázoljuk, akkor azt láthatjuk, hogy különösen nagy arányban vannak jelen azokban a zónákban, ahol a két tölgy faj – a kocsányos tölgy illetve a molyhos tölgyek egyedei – találkoznak, tehát a felső régióban, valamint a patakmeder mentén (21. és 22. sz. ábra). A terület középső-felső zónájában ráadásul megtalálhatóak azok a kocsánytalan tölgyek is, amelyek nagy szerepet játszhattak a hibridizációs események alakulásában.



21. sz. ábra: A kocsányos tölgyek (*Qu. robur*) introgresszióval érintett egyedeinek, valamint a többi tölgy taxonhoz tartozó egyed térbeli viszonya



22. sz. ábra: A molyhos tölgyek (*Qu. pubescens* s.l.) és a kocsánytalan tölgyek (*Qu. petraea* s.l.) introgresszióval érintett egyedeinek, valamint a terület többi egyedének térbeli viszonya

5.8. A „*Petraea*-probléma”

Az előző fejezetek alapján látható, hogy a területen nehezen tisztázható a kocsánytalan tölgy komplexbe tartozó fajok helyzete, jelenléte vagy épp jelenlétének hiánya. Ebben a fejezetben azokat az eredményeket foglaltuk újra össze, amely ehhez a „*Petraea*-problémaként” aposztrofált dilemmához köthetnek.

A probléma első részét az a körülmény képezi, hogy a kocsánytalan tölgy komplex vagy táján értelmezett kocsánytalan tölgy gyjt faj (*Quercus petraea* s.l.) több, elkülönül fajra („kisfajra”) osztható. Ezek a szűken értelmezett fajok elméletben mind klasszikus morfológiai bélyegeik alapján, mind a levél morfometriai tulajdonságai alapján, illetve az ökológiai igényeik szerint is szétválaszthatóak (Mátyás 1967 a; Borovics 2000).

A terület terepi bejárása során végzett taxonómiai megfigyelések nyomán azt a benyomást kaphatjuk a területről, hogy az állomány egyik meghatározó eleme a kocsánytalan tölgyekhez tartozó szűken értelmezett kocsánytalan tölgy (*Qu. petraea* s.str.), illetve a dárdáskaréjú kocsánytalan tölgy (*Qu. dalechampii*), mivel ezek jellemző bélyegeit sok egyed hordozta. Ezen túl, felfigyelhetünk a molyhos tölgyekkel képzett hibrid egyedeken is megfigyelhetünk

voltak egyes, a kocsánytalan tölgyekre jellemző morfológiai bélyegek. A *Qu. dalechampii* faj egyébként ökológiai igényei szerint is jól illeszkedik az állomány összképéhez, hiszen a szárazabb, melegebb mikroklímához jobban adaptálódott, mint a kiegyenlítettebb, elsősorban atlantikus klímát kedvelő *Qu. petraea* s.str.

Ezen megfigyelések alapján azt feltételeztük, hogy a Kárpát-medence tölgy taxonjaira létrehozott numerikus taxonómiai határozófüggvényekkel (Borovics 2000) a területen nagy arányban lesz kimutatható a kocsánytalan tölgy komplex fajainak jelenléte. Az első számú ellentmondás abból adódott, hogy a morfometriai bélyegek alapján végzett taxonómiai besorolás, amely egzaktnak tekinthető olyan értelemben, hogy független a szubjektív értelmezésektől, benyomásoktól, a kocsánytalan tölgyek nagyon csekély mértékű részarányát eredményezte. A terepi bejárások során leírt 20 kocsánytalan tölgy (a két száron értelmezett faj, illetve hibridjeik), illetve a számtalan molyhos tölgyekkel képzett hibrid helyett csupán 11 egyedet sikerült beazonosítani kocsánytalan tölgyként. A 36. számú táblázat a) alpontjában azt láthatjuk, hogy hogyan változott a kocsánytalan tölgyek és hibridjeik mintaszáma a hagyományos besoroláshoz képest (független fejlődés) a numerikus taxonómiai határozás után (vízszintes fejlődés). Látható, hogy a 20 egyedből 9 mutatott tisztán kocsánytalan tölgyekre jellemző bélyegeket, míg 7 egyed, illetve a *robur* hibridekként leírt alakok tisztán kocsányos tölgyként kerültek azonosításra, továbbá a molyhos tölgyekkel képzett hibrid formák szintén tisztán molyhos tölgy karakterekkel bírtak a levél morfometriai tulajdonságai alapján.

A következő lépésben a három molekuláris genetikai marker csoporttal vizsgáltuk a numerikus taxonómiai határozás után nyert három európai fehér tölgy faj (kocsánytalan tölgy komplex – *Qu. petraea* s.l., kocsányos tölgy – *Qu. robur*, molyhos tölgy komplex – *Qu. pubescens* s.l.) genetikai elkülönülésének mértékét, illetve a csoportok közötti genetikai kapcsolatot. Az elemzések újabb fordulatot eredményeztek olyan értelemben, hogy az alkalmazott marker csoportok közül két esetben (mikroszatellit és RAPD markerek) a kocsánytalan tölgyként azonosított csoport inkább a kocsányos tölgyekkel mutatott közelebbi rokonságot, míg az izoenzim markerek alapján a kocsánytalan tölgyek és a molyhos tölgyek csoportjának genetikai mintázata között találtunk nagymértékű hasonlóságot. A többféle markertípus együttes elemzésével feltárhatóak voltak ezek a rejtett összefüggések is, amelyek az introgressziós elmélet bevezetéséhez vezettek.

Az egyedszintű genetikai elemzések azt a célt szolgálták, hogy az egyedi csoportmintázatok meglétével jobban feltárhassuk, továbbá a csoportok közötti hibridizáció vagy introgresszió mértékét felmérhessük. A vizsgálat kétféle megközelítésben zajlott. Az egyik megközelítés szerint a *Besorolási Tesztet* vizsgáltuk a korábban morfometriai

határozással kialakított, három f taxonómiai csoport genetikai mintázatát, figyelembe véve az egyes egyedek legvalószínűbb csoporthelyzetét. A teszt eredményeképpen egyes egyedek átsorolásra kerültek másik taxonómiai csoportba, amennyiben a genotípusuk alapján nagyobb valószínűséggel illettek a másik csoport genetikai mintázatába. Az 36. számú táblázat b) alpontjában a kocsánytalan tölgy jegyekkel rendelkező egyedek (függleges fejléc) megoszlása látható *Besorolási Teszt* során módosított három f tölgy fajcsoportban (vízszintes fejléc). A tisztán kocsánytalan tölgyként (köztük a szűken értelmezett „kisfajok” hibridjeivel) jellemzett egyedek nagy része a teszt alapján is a kocsánytalan tölgy csoport genetikai mintázatát hordozta, továbbá ide kerültek átsorolásra egyes molyhos tölgyekkel és kocsányos tölgyekkel képzett hibridek is. Tisztán kocsányos tölgyként csupán néhány egyed (6) került átsorolásra a genetikai mintázat alapján. (A numerikus taxonómiai határozás eredménye ezzel szemben, összesen 21 egyed kocsányos tölgyként azonosítva, amely egyedek között változatos összetételben szerepeltek a korábban tiszta *petraea* fajként vagy *robur* × *petraea* hibridként, s t molyhos tölgy hibridként kerültek leírásra.) A molyhos tölgyekkel képzett hibrid formák legnagyobb részt ez esetben is tisztán molyhos tölgyként kerültek átsorolásra, tehát a molyhos tölgy csoport genetikai mintázatához illeszkedtek inkább. A *Besorolási Teszt* eredményeként módosított kocsánytalan tölgy csoport mintaszáma összesen 48 egyed volt, amely mintaszámban az előzőekben ismertetett (vagyis korábban is kocsánytalan tölgy jegyekkel leírt) egyedeken kívül, további kocsányos és molyhos tölgy egyedek is megjelentek.

Az egyedszintű genetikai elemzés másik megközelítése szerint bárminemű előzetes csoportosítást figyelmen kívül hagyva, a teljes mintasoron kerestünk jól elkülöníthető genetikai sajátosságokkal bíró csoportokat (*Structure* K-klaszterezés). Az elemzés első meglepő eredménye az volt, hogy a teljes mintasoron mindössze két klaszter valószínűsíthető az eltérő genetikai mintázat alapján. Ez az eredmény első látásra inkább a numerikus taxonómiai határozást látszik alátámasztani, ahol a két domináns tölgy csoport mellett (kocsányos és molyhos tölgyek) a kocsánytalan tölgyek részaránya csekély mértékű, így a genetikai mintázatuk nem reprezentatív a mintasoron. A két genetikai klaszter egyébként jól megfeleltethető a két taxonómiai csoportnak így a továbbiakban a 'robur' illetve 'pubescens' jellegű klaszter elnevezést használtuk. A két csoport között ugyanakkor megfigyelhetők olyan minták, amelyek vagy kevert, hibrid genotípus mintázattal rendelkeznek vagy a besorolásuk alapján ugyan „tiszta vérvonallal” rendelkeznek, azonban minden egyéb leírás (hagyományos, morfometriai, *Besorolási Teszt*) alapján ellentmondásos karakterekkel rendelkeznek. Ebben a köztes csoportban található továbbá, az egyéb tipizálás alapján kocsánytalan tölgy jegyekkel bíró egyedek nagy része is (36. számú táblázat c) alpont).

a) *Qu. petraea* s.l. típus részaránya a numerikus taxonómiai csoportokban a hagyományos bélyegek alapján

	<i>Qu. petraea</i> s.l. csoport		<i>Qu. robur</i> csoport		<i>Qu. pubescens</i> s.l. csoport	
tisztán <i>petraea</i> (s.l.) jelleg	9	82%	7	3%	4	2,3%
<i>robur</i> hibridek	-	-	8	3,8%	-	-
<i>pubescens</i> (s.l.) hibridek	-	-	5 (+1*)	3%	101	59%

b) *Qu. petraea* s.l. típus részaránya a *Besorolási Teszt*tel módosított csoportokban a hagyományos bélyegek alapján

	<i>Qu. petraea</i> s.l. módosított csoport		<i>Qu. robur</i> módosított csoport		<i>Qu. pubescens</i> s.l. módosított csoport	
tisztán <i>petraea</i> (s.l.) jelleg	17 (+1**)	34,6%	1	0,5%	1	0,6%
<i>robur</i> hibridek	4	7,7%	4	2,2%	-	-
<i>pubescens</i> (s.l.) hibridek	9	17,3%	1	0,5%	96 (+1*)	61,7%

c) *Qu. petraea* s.l. típus részaránya a *Structure* klaszterekben a hagyományos bélyegek alapján

	Klaszter 1 (' <i>robur</i> ' jelleg)		Klaszter 2 (' <i>pubescens</i> ' jelleg)		Hibrid csoport	
tisztán <i>petraea</i> (s.l.) jelleg	2	1%	10	6%	8	20,5%
<i>robur</i> hibridek	4	2,2%	3	1,8%	1	2,5%
<i>pubescens</i> (s.l.) hibridek	2	1%	97 (+1*)	59%	7	18%

36. sz. táblázat: A hagyományos bélyegek alapján kocsánytalan tölgy komplex (*Qu. petraea* s.l.) jellemzőivel rendelkező egyedek és hibridek aránya a különböző vizsgálatok szerinti csoportokban: a) numerikus taxonómiai határozás, b) *Besorolási Teszt*, c) *Structure* klaszterezés eredményei alapján

(* A hagyományos bélyegek alapján mindhárom tölgyfaj (*virg*×*pet*×*rob*) jegyeit hordozó hibrid egyed

**A besorolási Teszt alapján *Qu. petraea* s.l. × *Qu. robur* -ként azonosított hibrid genotípusú egyed)

Ezek az egymásnak ellentmondó információk viszont azt a feltételezést erősítik meg, hogy a területen valóban megtalálhatók a három különböző taxonómiai csoporthoz tartozó egyedek, azonban míg ezek közül a kocsányos és molyhos tölgyek mutatnak elkülöníthető genetikai mintázatot, addig a kocsánytalan tölgy komplex egyedei ilyen sajátosságokkal nem rendelkeznek. Ezt erősítette meg az az eredmény is, hogy a mintasoron egy harmadik klaszter jelenlétének valószínűsége igen alacsony, és így a harmadik klaszterbe sorolható minták esetlegesen, vagyis elemzésről elemzésre változnak. Továbbá, akárcsak az előző genetikai teszt alapján, a *Structure* klaszterezés eredménye szerint is azt láthatjuk, hogy a korábban kocsánytalan tölgy jegyekkel leírt egyedek nagyobb hányada (111 egyed) a '*pubescens*' jellegű klaszterben található, míg a '*robur*' jellegű klaszterben mindössze 8 egyed jelent meg.

Ezek alapján genetikailag kijelenthetjük, hogy a területen jelen lévő kocsánytalan tölgyek illetve hibridek genetikailag inkább a molyhos tölgyekhez állnak közelebb, tehát feltételezhetően egy molyhos tölgyekkel lezajlott sorozatos introgresszió eredményeképpen részben feloldódtak a területen ma megfigyelhető molyhos tölgy jellegű egyedek génállományában. A *Structure* klaszterezés eredményeképpen hibrid genotípussal jellemzett egyedek esetében egy, a közelmúltban bekövetkezett hibridizáció gyanúja is fennállhat, amelynek eredményeképpen első generációs hibridek is jelen lehetnek az állományban. Vélhetőleg a kocsányos tölgyek genetikai mintázatával mutatott, és közkeletűen elfogadott genetikai hasonlóság miatt azonban nehezen megállapítható, hogy a kocsánytalan tölgyek és kocsányos tölgyek közötti hibridizációról, introgresszióról van szó, vagy pedig valódi *Qu. robur* × *Qu. pubescens* s.l. hibridekről. Mivel sem a morfológiai mérések, sem a hagyományos bélyegeken alapuló megfigyelések nem támasztják alá ez utóbbi hibridek (kocsányos és molyhos tölgyek közötti) nagyszámú jelenlétét a területen, ezért valószínűbb a kocsánytalan tölgy génanyag jelenléte mindkét klaszter kérdéses egyedeiben.

Végül, a területen kimutatható, taxonómiai helyzetétől függetlenül térbeli genetikai struktúra is utalhat arra, hogy az egymás közelében elhelyezkedő egyedek között a múltban a faji határoktól függetlenül intenzív géncseré zajlott, amelynek eredményeképpen kialakulhatott a korlátozott diszperziós képességű, állományalkotó fajokra jellemző természetes genetikai családszerkezet. Ebben az esetben az állományban található kocsánytalan tölgy egyedek egyfajta genetikai hídként szerepeltek a két szélsőséges ökológiai igényű tölgy taxon, a kocsányos és molyhos tölgyek között. A mindkét irányban fennálló hibridizáció, majd ismételt visszakereszteződések nyomán a kocsánytalan tölgy génanyag fokozatosan feloldódott a két másik taxon egyedeiben, kiszorítva a tisztán kocsánytalan tölgy bélyegekként és „vérvonallal” rendelkező egyedeket, illetve helyet adva, az adott esetben nagyobb ökológiai plaszticitással bíró introgresszált, átmeneti formák sokaságának.

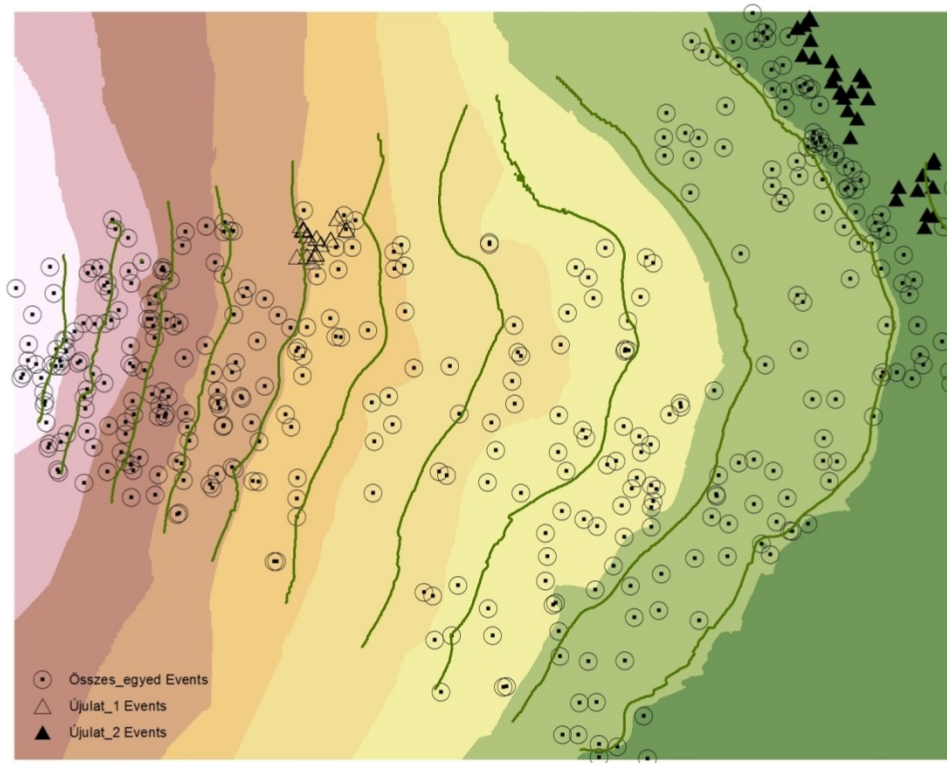
5.9. Az újulat genetikai szerkezetének összehasonlítása a szülői nemzedékkel

A kijelölt területen két újulatfoltot vizsgáltunk (24. sz. ábra, az 1. újulatfolt \triangle jellel, a 2. újulatfolt \blacktriangle jellel jelölve). Az újulat egyedeinek genetikai azonosítása során a P_{ID} érték $2,3 \times 10^{-7}$ volt, ami alapján az egyező genotípussal rendelkező egyedekről kimondható, hogy klón eredetűek.

Az 1. újulatfolt 37 egyede viszonylag kis területen, szűk körben helyezkedett el. Meglepő módon, viszonylag nagyszámú azonos genotípusú sarjat azonosítottunk be. A 37 egyedből hat klónpárt, további két esetben három egyedből álló, és egy esetben négy egyedből álló sarjcsoportot is találtunk. A fennmaradó 15 egyed egymástól elkülönülve, önálló genotípussal rendelkezett, tehát esetükben nagyobb a magról történt szaporodás lehetősége. Az egyes sarjcsoportok egyedei minden esetben egymás közvetlen közelében csoportosultak.

A 2. újulatfolt az állomány alsó határán, mélyebb fekvésű területen volt található. Kiterjedését tekintve nagyobb, mint az első, és két kisebb csoportra osztható. Összesen 38 egyed került felvételezésre, amelyből csak öt darab két egyedből álló sarjpárt sikerült azonosítanunk.

A fentiekből levonható az a következtetés, hogy a természetes újulatot nem csupán a generatív szaporodásból származó magoncok képezhetik, hanem a helyi, jól alkalmazkodott egyedek gyökérsarjai is jelen lehetnek. Azon időskorú egyedek, amelyekből a gyökérsarjak származhattak a vizsgálati területen azonban nem voltak megtalálhatók. Ennek több oka is lehet: egy kipusztult vagy kitermelésre került egyed képzett gyökérsarjakat vagy a mintázott területen kívüli példány sarjait azonosítottuk. Ez utóbbi feltételezést erősíti, hogy mindkét újulatfolt a terület szélén helyezkedett el.



24. sz. ábra: A vizsgált két újulatfolt elhelyezkedése az állományban, ahol az 1. újulatfolt \triangle jellel, a 2. újulatfolt \blacktriangle jellel, az állomány term. korú egyedei \odot jellel jelölve (Megjegyzés: A szintvonalak valamint a zöld-barna-szürke színátmenet a térszint emelkedését jelzik, a helyi magassági Z koordinátákból képzve)

Az 37. és 38. számú táblázatban a szülői és az újulat képezte két részpopuláció főbb genetikai jellemzőit hasonlítottuk össze, először a tényleges populációt alkotó összes egyedet figyelembe véve (N), majd az ismétlődő genotípusok kihagyásával korrigált adatsoron (G). Ezzel az összehasonlítással a klónok jelenlétéből fakadó esetleges különbséget kívántuk bemutatni. A kétféle számítási módszer összevetésekor látható, hogy nincs drámai eltolódás a sarjak megjelenésével, az állomány egyensúlyi helyzetben van. Erre utalnak a fixációs index (F) 0 körüli értékei is, szintén jelezve a közel egyensúlyi állapotot. Ez az egyébként minden csoportban magas értékekkel megjelenő megfigyelt és a várt heterozigócia (H_o , H_e) adatok hasonlóságából ered. Az újulat és a szülői csoportok összehasonlításakor egyedül a megfigyelt allélszámban (N_a) tapasztalhatunk jelentősebb eltéréseket, az azonban a mintaszámok egyenlőségével, jelentős eltéréseivel magyarázható. Ezt támasztja alá az is, hogy a gyakorisággal súlyozott effektív allélszám (N_e) esetében az eltérés már alig volt kimutatható. A két újulatfolt genetikai szerkezetét összevetve látható, hogy az allélgyakoriságon alapuló diverzitási indexekben nincs szembetűnő különbség.

Az egyedi genotípusok és a tényleges egyedszám aránya (G/N) megmutatja az egyes csoportokra jellemző, elkülöníthető genotípusok arányát és utal a klónok különböző arányú jelenlétére (38. sz. táblázat utolsó oszlopa). Értéke a kocsánytalan tölgy esetében 1, mivel az idős állományban ennél a fajnál nem találtunk azonos genotípusból álló sarjcsoporthoz. Ezzel szemben a molyhos tölgyek esetében kapott 0,881 érték közel 12%-os klónjelenlétet utal. Az 1. újulatfolt esetében számított 0,649 érték jelzi a sarjképzés és 30%-ot meghaladó arányát.

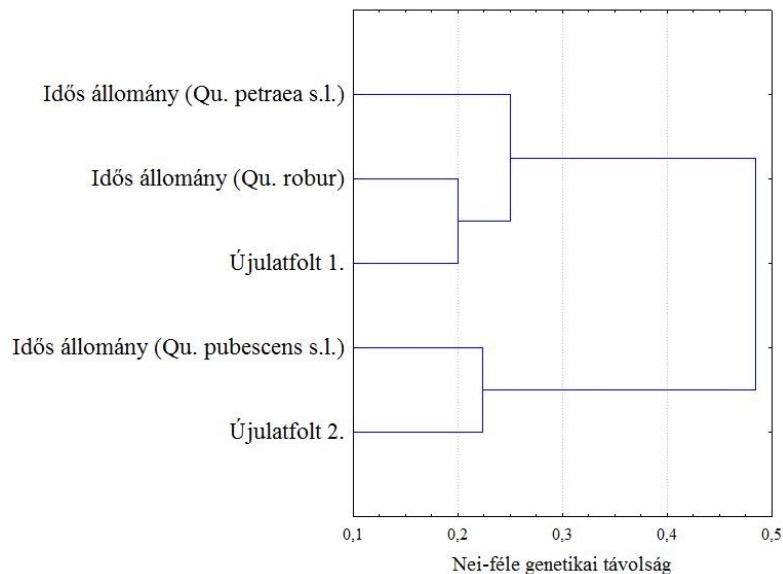
	N	N _a	N _e	I	H _o	H _e	F
Idős állomány (<i>Qu. petraea</i> s.l.)	10	9,250	6,950	1,996	0,900	0,829	-0,081
Idős állomány (<i>Qu. robur</i>)	198	24,000	8,627	2,361	0,833	0,855	0,025
Idős állomány (<i>Qu. pubescens</i> s.l.)	168	28,000	9,584	2,566	0,872	0,881	0,010
Újulatfolt 1.	37	14,000	7,429	2,168	0,811	0,834	0,021
Újulatfolt 2.	38	14,000	7,164	2,215	0,908	0,859	-0,057

37. sz. táblázat: A szülői csoportok és a vizsgált újulatfoltok genetikai szerkezetének főbb adatai és diverzitási mutatói (a négy vizsgált mikroszatellit lokusz értékeinek átlaga), ahol N: egyedszám, N_a: tényleges allélszám, N_e: effektív allélszám, I: Shannon-index, H_o: megfigyelt heterozigócia, H_e: várt heterozigócia, F: fixációs index

	G	N _a	N _e	I	H _o	H _e	F	G/N
Idős állomány (<i>Qu. petraea</i> s.l.)	10	9,250	6,950	1,996	0,900	0,829	-0,081	1
Idős állomány (<i>Qu. robur</i>)	184	23,500	8,645	2,353	0,833	0,855	0,025	0,929
Idős állomány (<i>Qu. pubescens</i> s.l.)	142	27,000	9,545	2,550	0,873	0,878	0,006	0,845
Újulatfolt 1.	24	14,000	7,916	2,229	0,833	0,842	0,006	0,649
Újulatfolt 2.	33	14,000	7,420	2,243	0,909	0,863	-0,054	0,868

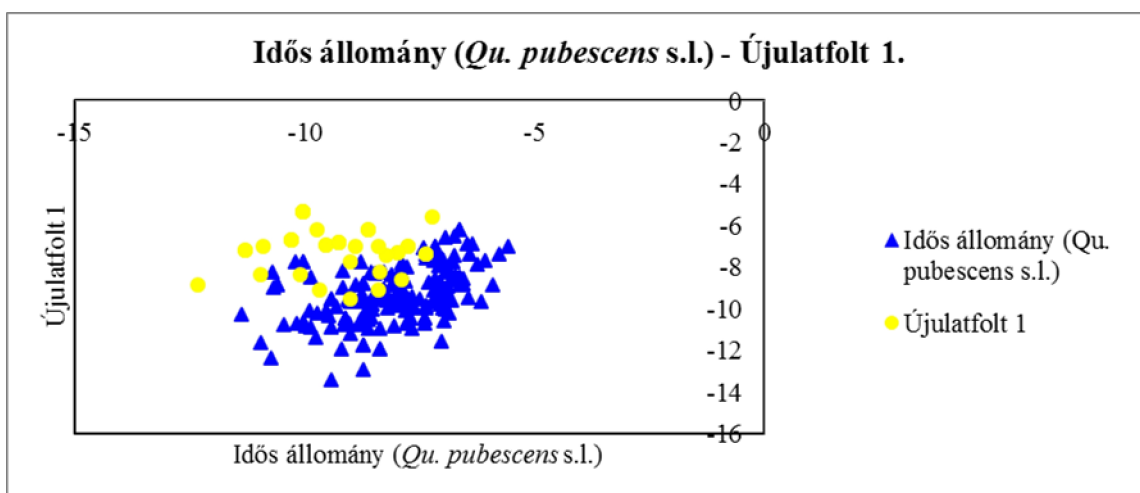
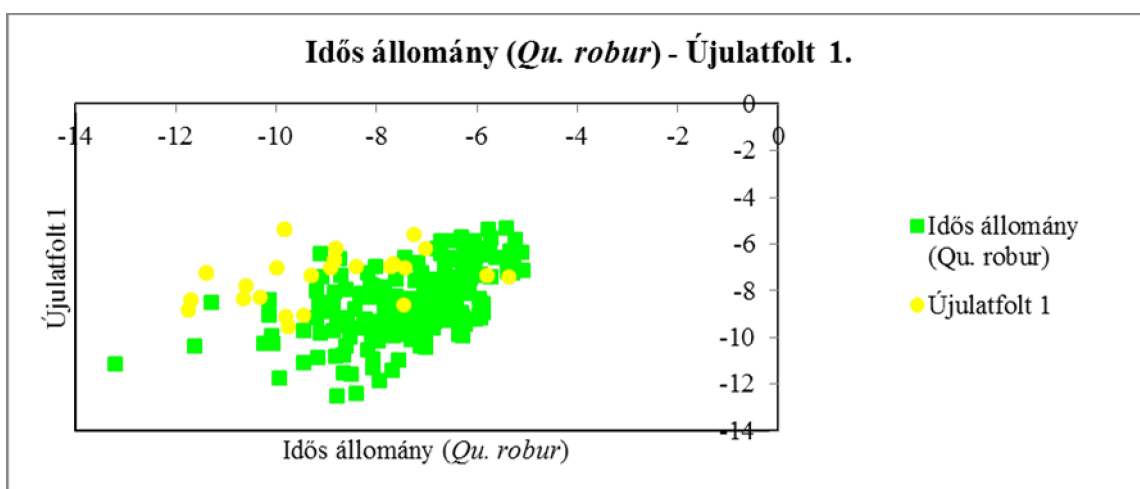
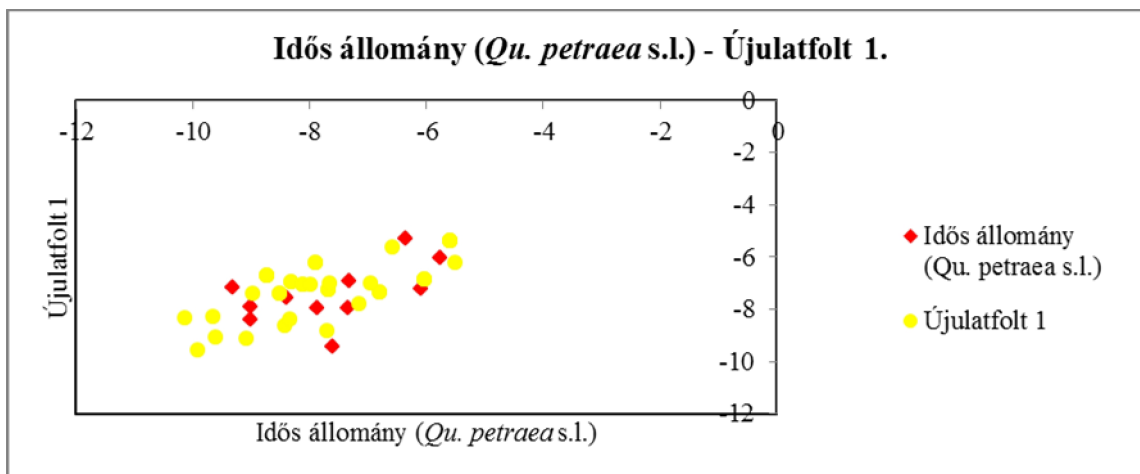
38. sz. táblázat: A szülői csoportok és a vizsgált újulatfoltok genetikai szerkezetének főbb adatai és diverzitási mutatói (a négy vizsgált mikroszatellit lokusz értékeinek átlaga) klónok nélkül, ahol G: egyedi genotípusok száma, N_a: tényleges allélszám, N_e: effektív allélszám, I: Shannon-index, H_o: megfigyelt heterozigócia, H_e: várt heterozigócia, F: fixációs index, G/N: egyedi genotípusok aránya

A két vizsgált újulatfolt, valamint az állomány három tölgy fajba sorolt idős korú egyedei közötti genetikai kapcsolatot a Nei-féle genetikai távolság alapján szerkesztett UPGMA dendrogramon ábrázoltuk (23. sz. ábra). Az ábrán látható, hogy az 1. újulatfolt egyedei a kocsányos tölgy csoporttal mutatnak nagyobb hasonlóságot, míg a 2. újulatfolt egyéértelműen inkább a molyhos tölgyekhez áll közelebb.

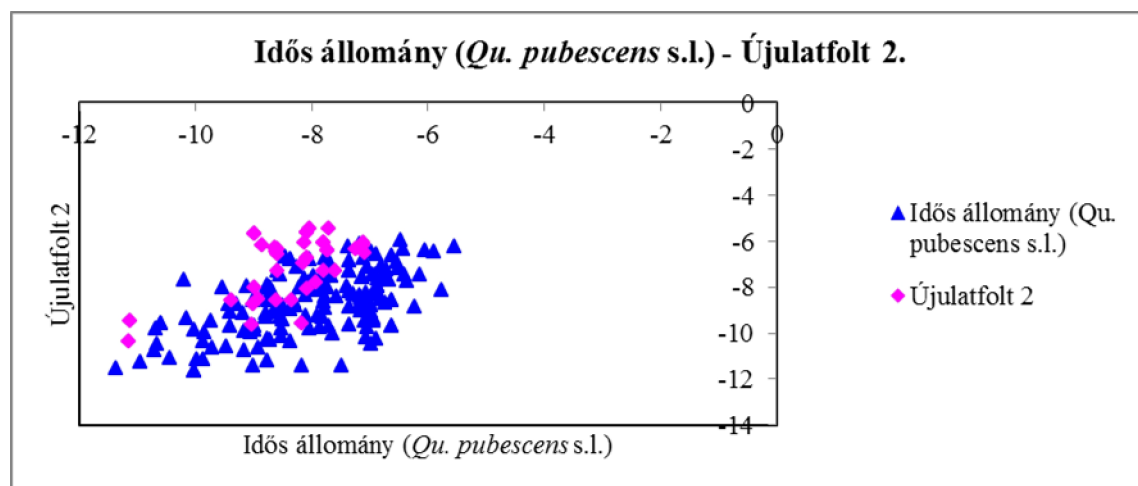
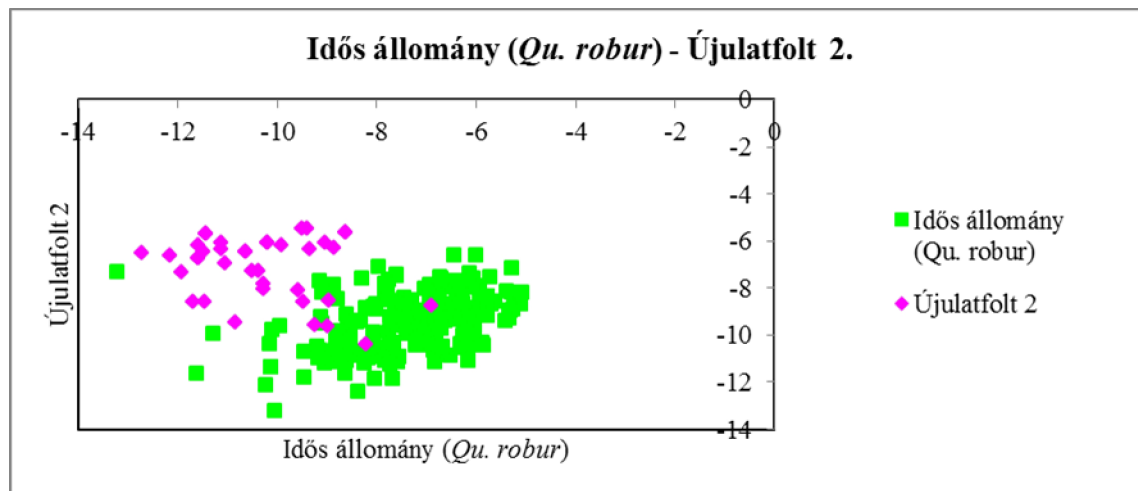
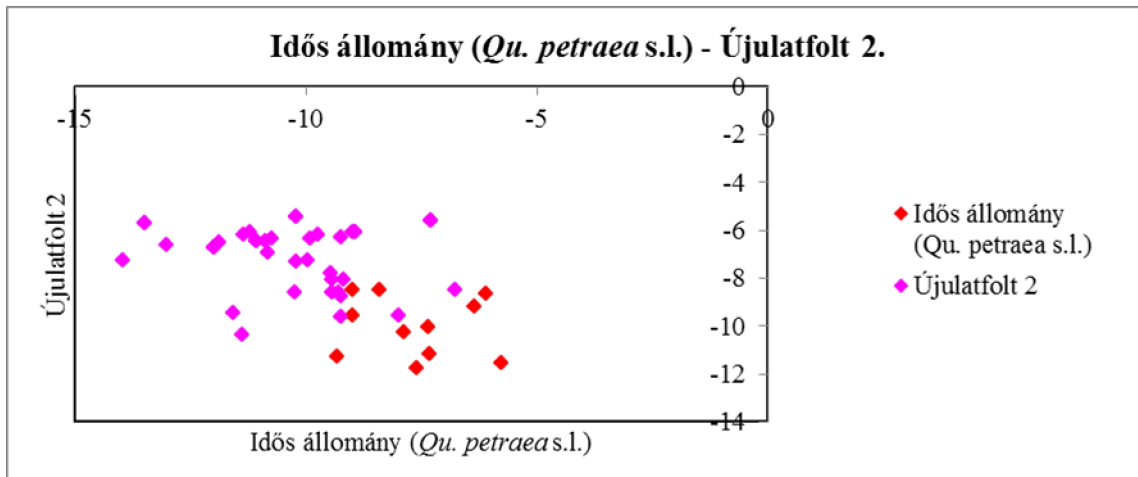


23 .sz. *ábra*: A két vizsgált újulatfolt és a különböző taxonómiai csoportok egymáshoz viszonyított helyzete a Nei-féle genetikai távolságuk alapján (UPGMA dendrogram)

Az egyedszint genetikai elemzést nyújtó *Besorolási Teszt* (24. és 25. sz. *ábrásor*), valamint a *Structure* klaszterezési eljárás is hasonló eredményekhez vezettek, annyi különbséggel, hogy az 1-es újulatfolt esetében nagyobb mértékű átfedés tapasztalható a kocsánytalan tölgyek csoportjával. A *Structure* programmal végzett, kizárólag a mintasor genotípus mintázatán alapuló klaszterezést, az újulat esetében az izoenzim adatsor nélkül, csak a mikroszatellit genotípusok alapján tudtuk elkészíteni. Az eredmény azonban így is szépen egybeesik az idős állomány egyedein végzett elemzés eredményével. A legvalószínűbb esetben is két klaszter, vagyis két, egyedi genetikai mintázattal rendelkező csoport jelenléte volt, amelyek az idős egyedek besorolása alapján egy 'robur' jellegű és egy 'pubescens' jellegű csoportnak felelnek meg. A néhány kocsánytalan tölgy egyed részben az egyik, részben a másik klaszterbe került, illetve átmeneti, hibrid genotípust mutatnak. Az újulatfoltok közül az 1-es esetében 5 egyed tartozott a 'robur' jellegű klaszterbe (legalább 80%-ban), 10 egyed hibrid genotípust mutatott, amelyek között feltételezhetően megtalálhatóak a kocsánytalan tölgy eredetű egyedek, illetve 9 egyednél 'pubescens' jelleget is megállapíthattunk a 2-es klaszterbe történt besorolásuk alapján. Ezzel szemben a 2-es újulatfolt összetétele jóval homogénebb volt, 25 egyed mutatott egyértelmű 'pubescens' jelleget, további 3 egyed pedig több mint 70%-ban mutatta ugyanezeket a genetikai karaktereket. Csak 2 egyed került besorolásra a 'robur' klaszterbe és 3 egyed rendelkezett hibrid genotípus mintázattal.



24. sz. ábrásor: Az 1-es újulatfolt genetikai mintázatának viszonya az idős korú állomány különböző taxonómiai csoportjaiéhoz a *Besorolási Teszt* alapján

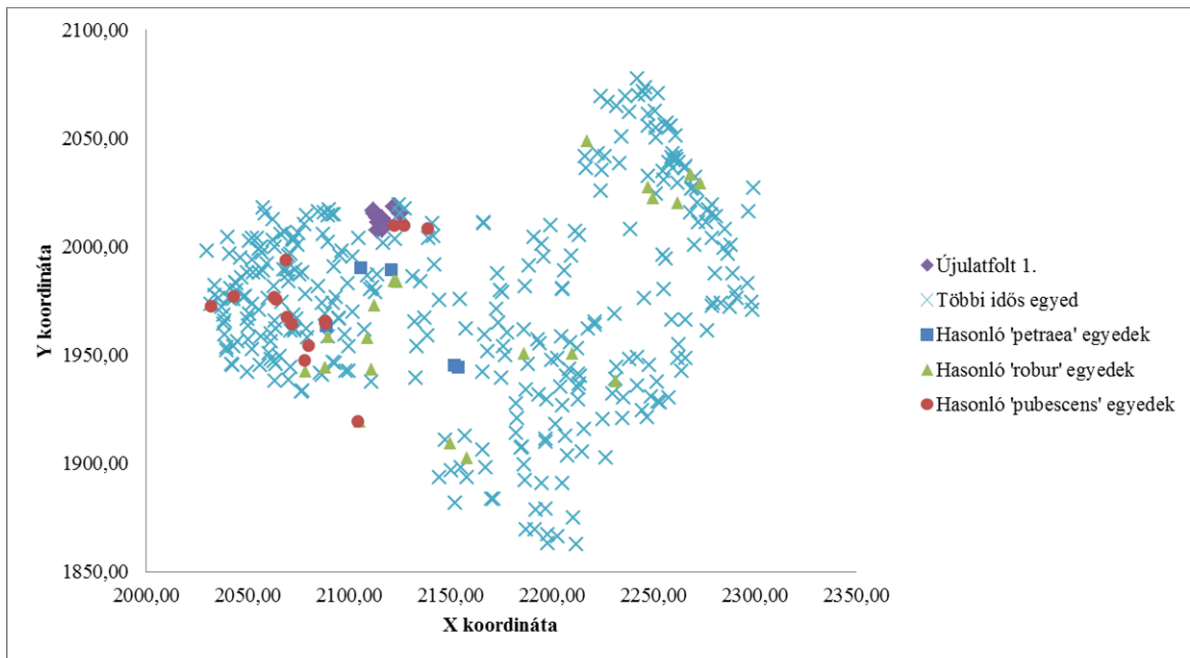


25. sz. ábrásor: A 2-es újulatfolt genetikai mintázatának viszonya az idős korú állomány különböző taxonómiai csoportjaiéhoz a *Besorolási Teszt* alapján

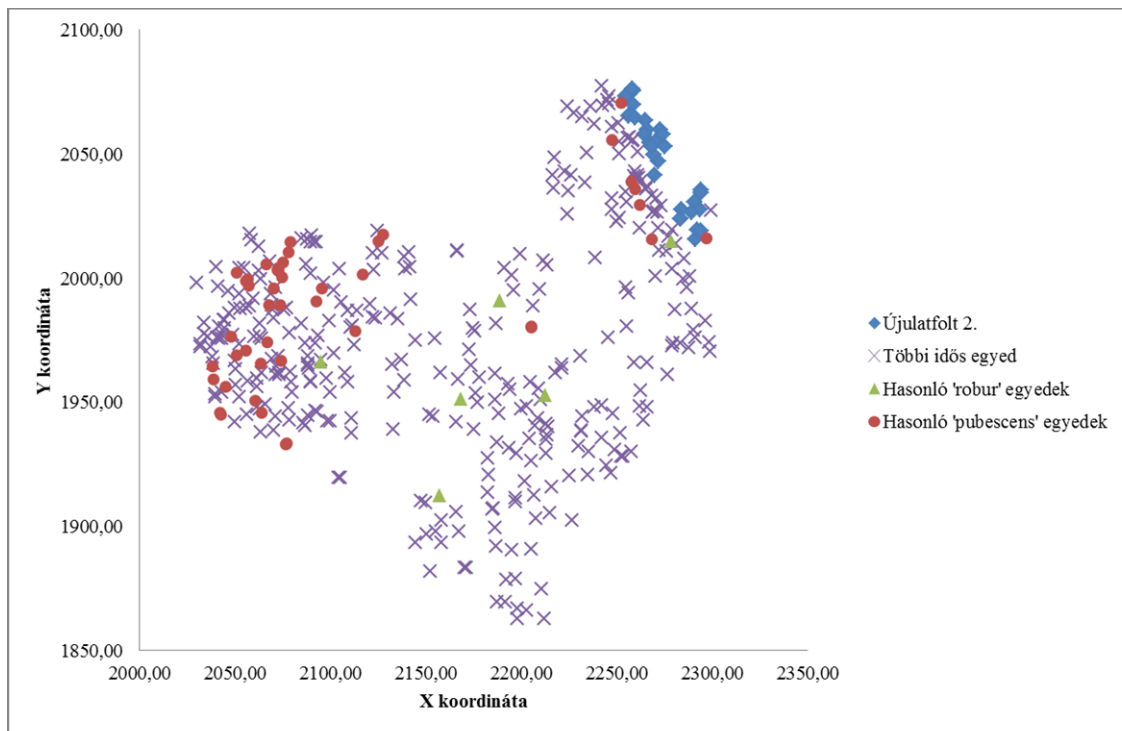
Ugyanakkor a *Besorolási Teszt* alapján mindkét újulatfolt egyedi genetikai mintázattal rendelkezik az idős korú állományhoz képest, tehát vélhetőleg nem a vizsgált állományrészből származnak, legyen szó akár sarj vagy makk eredetű. Azoknak az idős egyedeknek a térbeli

helyzetét ábrázolva, amelyek a *Besorolási Teszt* alapján hasonló genetikai mintázattal rendelkeztek, mint az 1. vagy 2. újulatfolt, azt láthatjuk, hogy ezek többnyire nem a fiatal egyedek közvetlen közelében találhatók (26. és 27. sz. ábrák). Ha tehát szerepük is volt az újulat létrehozásában, az nagy valószínűség szerint csak beporzás által történhetett, illetve a vizsgált területen kívül es egyedekkel mutathatnak hasonló kapcsolatot.

A két egyedi szint genetikai elemzés részletes adatsora a 8. számú *Mellékletben* található.



26. sz. ábra: Az 1-es újulatfolt és a *Besorolási Teszt* alapján hasonló genetikai mintázattal rendelkező idős egyedek térbeli elhelyezkedése a vizsgált állományban



27. sz. ábra: A 2-es újulatfolt és a *Besorolási Teszt* alapján hasonló genetikai mintázattal rendelkező idős egyedek térbeli elhelyezkedése a vizsgált állományban

6. Diszkusszió, következtetések

6.1. Numerikus taxonómiai vizsgálat

Az európai fehér tölgyek taxonómiai-genetikai vizsgálatát egy Sopron közelében (Szárhalmi-erdő, Kecsehegy) kijelölt és intenzíven mintázott elegyes tölgy erdő részletben végeztük el. A vizsgálatra kijelölt terület tölgy fajokban és hibrid jegyeket mutató egyedekben igen gazdagnak bizonyult, ami oda vezetett, hogy a hagyományos bélyegeken alapuló határozókulcsokkal csak meglehetősen nehezen sikerült volna beazonosítani a morfológiailag formagazdag egyedek taxonómiai státuszát. Az átmeneti formákat mutató egyedekre való tekintettel, a kétséges kimenetel vagy éppen túlságosan szubjektív határozás elkerülése érdekében egy olyan határozómódszert alkalmaztunk, amely többváltozós, mért paraméterek alapján létrehozott, ún. klasszifikációs függvények segítségével egy objektív döntést tesz lehetővé. A vizsgálat során a Borovics által (2000) kidolgozott numerikus taxonómiai módszer került alkalmazásra, amelynek elnye abban rejlik, hogy a klasszifikációs függvények leírása a helyi, kárpát-medencei állományok egyedei alapján történtek (egészen pontosan *Herbarium Quercuum Hungariaea*, Mátyás Vilmos munkája nyomán begyűjtött példányai alapján). Feltételezhető volt tehát, hogy szemben a hasonló paramétereket alkalmazó nyugat-európai rendszerekkel (Kremer és Mészáros 2002, illetve a részben módosított változatai), ez a módszer nagyobb eséllyel ad pontos támpontot a helyi viszonyokhoz adaptálódott tölgy populációk taxonómiai határozásához. A módszer további elnye, hogy könnyen mérhető levélbélyegeken alapul, tehát a mérések kivitelezéséhez gyakorlatilag csupán egy-két vonalzóra, illetve a levélszárzottság vizsgálatához egy egyszerű mikroszkópra van szükség. Más taxonómiai rendszerek (Aas 1998) olyan mikromorfológiai bélyegeket vizsgálnak (sztóma, parenchima sejtek, stb.), amelyek jóval összetettebb felszerelést és képzettséget kívánnak meg, tehát a gyors határozást nehezítik. Továbbá, ezek a mikromorfológiai bélyegek nem bizonyultak alkalmasnak a fehér tölgy komplexeken belül elkülöníthető, szűken értelmezett 'kisfajok' azonosítására hazánkban (Kézdy 2002).

A Borovics-féle numerikus taxonómiai függvények alapján a területen felvételezett 376 fehér tölgy egyed taxonómiai státuszát határoztuk meg a lehető legpontosabb felbontásban, tehát a kocsánytalan – kocsányos – molyhos tölgy komplexeken belüli szűken értelmezett fajokat, továbbá a hibrideket is beazonosítva. A határozás meglepő módon a terepi megfigyelésekkel két okból is némileg ellentétes eredményt hozott. Egyfelől a megfigyelt

átmeneti formákhoz képest igen alacsony számú interspecifikus hibridet azonosítottunk, illetve a hibridek nagy része a molyhos tölgy komplexen belül, a két sz ken értelmezett faj (*Quercus pubescens* s.str. és *Qu. virgiliana*) között, továbbá kocsánytalan tölgy komplex sz ken értelmezett fajai között (*Qu. petraea* s.str., *Qu. dalechampii*) találhattuk. A három f tölgy taxon közötti hibrid egyedek aránya csupán 1 %-ra volt tehető, ami igen meglepő eredménynek bizonyult az állományra jellemző hatalmas morfológiai változatossághoz képest. Másfelől, szintén nem várt módon, a kocsánytalan tölgy komplex (*Qu. petraea* s.l.) fajai szintén igen kis létszámban képviseltették magukat a területen a numerikus taxonómiai határozás alapján. Az így azonosított 10 egyed között domináltak a dárdáskarójú tölgyre (*Qu. dalechampii*) jellemző bélyegek, amelyek felbukkanása egybevágt a területen tapasztalható szárazabb ökológiai viszonyokkal. A terepi gyjtések során, egyszer szemrevételezéssel nagyobb arányban következtettünk a komplex egyedeinek térfoglalására (Bordács és Borovics *szóbeli közlés*). A határozás további érdekessége volt az olasz tölgy (*Qu. virgiliana*) nagy létszámú jelenléte a területen – sokszor hibrid formában a sz ken értelmezett molyhos tölgyvel –, ez a sajátosság azonban már a terepi bejárások során is valószínűsíthető volt.

A taxonómiai határozás során leírt tölgy egyedek térbeli elhelyezkedése összhangban áll az azonosított fehér tölgy taxonok ökológiai igényeivel. A vizsgálatra kijelölt terület jellegzetessége ugyanis a néhány száz méteren belül jelentkező helyi különbség, amely részben a térszint emelkedéséből, részben pedig az üde-száraz term helyi átmenetből adódik. Az üdebb, patakmenti völgyi helyzetben domináltak a kocsányos tölgy egyedek, illetve az itt felbukkanó molyhos tölgyek a mezofil viszonyokhoz adaptálódott olasz tölgy egyedek közül kerültek ki. A száraz, naposabb kitétségű dombtetőn ezzel szemben szinte kizárólag a molyhos tölgyek voltak megtalálhatóak. A kocsánytalan tölgy komplex egyedei a kocsányos és molyhos tölgyek közé ékelődtek, ahol a vizsgálatban nem szereplő csertölgyek (*Quercus cerris*) is nagy számban megtalálhatóak voltak. A terület ezen része a meleg- és mészkedvelő tölgyesek (*Orno-Quercetum pubescenti-cerris*) (Mátyás 1967a) jellegzetességeit mutatja, egészen pontosan a Soproni-dombvidékre jellemző, reliktum jellegű *alpokalji molyhos tölgyes szálerd* társulásnak felel meg (Borhidi és Sánta 1999). Ebben a társulástípusban a term helyi szárazságából adódóan a kocsánytalan tölgy egyedek növekedése kevésbé ér teljes a cserrel és molyhos tölgyvel szemben, és gyakran csupán kis méretet ér el, sarjegyedek formájában vannak jelen (Mátyás 1967a). Ezt a folyamatot erősítheti továbbá a sarjzattások után bekövetkező „elcseresedés”, amikor is a cserrel teljesebb sarjadzó- és visszaszerző képessége nyomán a kocsánytalan tölgy egyedek kiszorulhatnak az állományból (Majer 1972). Ráadásul a gazdag, záródó aljnövényzet is a

tölgy felújulása ellen hat (Borhidi és Sánta 1999). A területen el fordul kocsánytalan tölgyek igen kis egyedszáma vélhetőleg ezekkel az okokkal áll összefüggésben. Ezen túl, ér sődik az a vélemény is, mely szerint a csertölgy a szárazodó klimatikus változásokhoz jobban képes alkalmazkodni, és ezáltal kiszoríthatja a ma még kedvezőbb ökológiai körülmények között élő kocsánytalan tölgyeket, azonban ez a feltételezés a vizsgált területen tételesen nem volt igazolható. Mindenesetre a kocsánytalan tölgy egyedek alacsony száma, valamint a cser jelentős részaránya felvetheti ennek a lehetőségét.

A vizsgálat következő fázisában arra kerestük a választ, hogy hogyan alakul a különböző taxonómiai csoportok elkülöníthetősége a molekuláris genetikai mintázatuk tükrében. Ennek feltárására három olyan markertípust is vizsgáltunk, amelyeket külön-külön már több elemzés, kutatás is alkalmazott (lásd *Bevezet*), azonban az együttes értékelésük, ugyanazon növényanyag esetében, ritkán fordult elő (Curtu és mtsai 2006). A markertípusok kiválasztásakor különböző szempontokat követtünk, ugyanis az egyes marker csoportok más-más területen rendelkezhetnek előnyökkel. Röviden összefoglalva ezeket a szempontokat: (1) a mikroszatellit genotípus kódok alkalmasak lehetnek az egyedi szintű azonosításra, így a klón eredetű egyedek feltárására, továbbá kiemelkedő variabilitásuk révén az egyes részpopulációk közötti genetikai kapcsolat feltárására és a genetikai diverzitás jellemzésére; (2) az izoenzimek klasszikus marker csoportnak számítanak az erdészeti genetikában és bár elsősorban nagyobb léptékben, az eltérő származású tölgy populációk közötti diverzitáskülönbség feltárására alkalmazták (Zanetto és mtsai 1994; Bacilieri és mtsai 1995), alkalmasnak bizonyult a kocsányos és kocsánytalan tölgy csoportok elkülönítésére is (Hertel és Degen 2000); (3) a domináns RAPD markerek a genom több pontjának vizsgálatát teszik lehetővé egyidejűleg, így lehetőséget nyújthatnak a csoportok jobb elkülönítésére, illetve a térbeli genetikai struktúra feltárására.

A következőkben a vizsgálati céloknak megfelelően, összefüggésében foglaljuk össze a markerek elemzése során nyert eredményeket és a sokszor meglepő hozadékokat.

6.2. Genetikai ujjlenyomat létrehozása, klónok azonosítása

A vizsgálat megkezdésekor rendelkezésünkre állt egy korábbi nemzetközi projekt (OAKFLOW Project 2001-2005) kapcsán az összes felvételezett törzsfő egyedi DNS genotípusa, amelyet négy sejtmagi mikroszatellit markerből nyertünk. Ez a genotípus kód – a mikroszatellit markerek kimagasló variabilitásának eredményeképpen – lehetővé tette az egyedi szintű, ún. DNS ujjlenyomatok létrehozását, amelyekkel minden egyes vizsgált

faegyed beazonosíthatóvá vált. A megfelelő felbontóképességet az igen alacsony érték azonos genotípus valószínűség mutató ($P_{ID}=1,05 \times 10^{-7}$) számításával igazoltuk. Mivel ez az érték annak a valószínűségét adja meg, hogy két egyed véletlenszerűen azonos genotípus kóddal rendelkezzen az alkalmazott markerek tekintetében, és mivel az érték elhanyagolhatóan alacsony volt, az elemzés során megegyező genotípus kóddal bíró törzsfákról kimondható volt a klón eredet. Ilyen klónoknak tekinthetők a sarjzattatás hatására, az azonos tuskóról fejlődött sarjak, illetve egyes esetekben gyökérsarjak, a térben távolabb elhelyezkedő egyedek esetében. A mikroszatellit markerek vizsgálatával az összes idős példány 9%-ánál tudtunk azonos genotípussal rendelkező párokat, csoportokat megállapítani. Általában elmondható, hogy a molyhos tölgyek között nagyobb arányban és változatosabb formában (több sarj csokros növekedése, gyökérsarj) volt megfigyelhető ez a vegetatív szaporodási stratégia. A klónok jelenléte jelzi a hosszú ideje folyó sarjzattatás következményeit az állományban. Összehasonlítva ugyanakkor más sarjzattatásban végzett, hasonló vizsgálatok eredményeivel (Bakker és mtsai 2001, Copini és mtsai 2005) a vizsgált területen nyert 9%-os sarjarány nem jelez drámai változást az állomány genetikai szerkezetében. Ugyanezt támasztja alá a diverzitási mutatók kétféleképpen elvégzett elemzése is, amely során a sarjakkal, illetve a klón egyedek kihagyásával végzett számítások nem jeleztek drasztikus változást az állomány genetikai diverzitásában. Levonható az a következtetés, hogy az állomány magas genetikai diverzitást riz, függetlenül az emberi hatásoktól, még akkor is, ha az állomány szerkezete (egyedszerűség, törzsmintázat, stb.) alapján inkább egy leromlott mintázat, többszörösen sarjzattatott erdő feltételeznénk. Sőt, a közeli települések emberi hatására, régóta folyó sarjzattatásos mintázat eredményeképpen feltételezhető, hogy egy természetes, szonos állományfolt maradt fenn, amelyet a magas genetikai és morfológiai diverzitás is megerősít. Ebben az esetben tehát az emberi beavatkozás, jelen esetben a sarjzattatás, paradox módon nemhogy negatívan befolyásolta volna egy szonos állomány létét, de egyenesen a megőrzését segítette (Mátyás 2002). A természetes állapot fennmaradását egyébként egy korábbi, kloroplasztisz haplotípus vizsgálat is alátámasztja (Bordács *szóbeli közlés, nem publ. adatsor*). A Kárpát-medence és a Balkán tölgy állományainak kloroplasztisz haplotípus mintázatát feltáró tanulmányban szereplő állományokkal összehasonlítva (Bordács és mtsai 2002), a genetikai mintázatát jól megfelelő a térség természetes mintázatának, a kimutatott haplotípus egyöntetűen jelent meg a vizsgált tölgy fajok között, tehát idegen származások hatása nem volt megfigyelhető. Az egyetlen kétséges elem, a kocsányos tölgy jelenléte, ugyanis ez a tölgyfaj nem illik a területre jellemző társulástípusba, és felmerülhet a korábbi telepítés lehetősége. Ugyanakkor a genetikai mintázat

alapján feltételezhet a közeli területekről származó szaporítóanyag alkalmazása. Mindezek alapján *in situ* génmegmentésre szánt állományok kiválasztásakor (Mátyás 1998; Mátyás 2002), érdemes hangsúlyt fektetni a taxonómiai-morfológiailag változatos állományok megmentésére is, még akkor is, ha sarjzartatás folyik bennük, és emiatt a klónok jelenléte feltehetőleg elkerülhetetlen.

A felvételezés évében megtalálható két újulatfolt esetében még meglepőbb volt a sarjak, sarjcsoportok megjelenése. Ez a körülmény felhívja a figyelmet arra, hogy a természetes újulatot nem csupán a generatív szaporodásból származó magoncok képezhetik, hanem a helyi, jól alkalmazkodott egyedek gyökérsarjai is jelen lehetnek. Bár az időskorú egyedek, amelyekből a gyökérsarjak származhattak a vizsgálati területen nem voltak megtalálhatók, lehettek korábban kitermelésre került egyedek, amelyek közvetlenül ezután képeztek gyökérsarjakat vagy a mintázott területen kívüli példányok sarjait azonosítottuk, tekintettel arra, hogy mindkét újulatfolt a terület szélén helyezkedett el. Ezen kívül számba kell venni a vad okozta újrasarjadás lehetőségét is. Összefoglalásként elmondható, hogy az idős állományban, illetve az újulatban egyaránt megjelenő sarjak egyértelműen jelzik, hogy nem csupán a mesterséges, emberi hatásra bekövetkezett vegetatív felújulás zajlott az állományban, hanem természetes szaporodási stratégiaként is jelen van mindhárom tölgyfajcsoport esetében. Ráadásul, a molyhos tölgyek esetében a gyökérsarjképzés lehetőségére is sikerült bizonyítékot találnunk.

6.3. A térbeli genetikai struktúra

A természetes állományoknál megfigyelhető térbeli genetikai struktúrát, vagyis a genetikailag közelebb álló egyedek csoportosulását a térben, általában nagyszámú, megfelelően változatos marker segítségével lehet feltárni. A vizsgálat során alkalmazott három markertípus közül csupán a DNS több pontját feltáró RAPD markerekkel sikerült egy gyenge kapcsolatot kimutatnunk a molyhos tölgyek, illetve a kocsányos tölgy csoporton belül az egyedek genetikai és földrajzi távolsága között, és ezt is csupán kb. 20 méteres körön belül. A két kodomináns marker-csoport (mikroszatellit, izoenzim) csupán 4 méterig mutattak ki gyenge térbeli-genetikai korrelációt a két vizsgált tölgyfaj egyedeinél. Ez a korreláció csak részben magyarázható a klón eredetű sarjak jelenlétével, hiszen a klón genotípusok nélküli végzett elemzés is hasonló lefutású korrelációs görbéket eredményezett. A bináris kódolású domináns markerek nagyobb felbontóképességére már volt korábbi irodalmi példa a kimagasló változatossággal bíró, azonban csupán a DNS néhány pontját érintő mikroszatellit markerekkel szemben, bükk állományok esetében (Jump és Peñuelas 2007).

Ugyanakkor, a teljes állományt vizsgálva mind a három markertípus esetében tapasztalhattunk térbeli genetikai strukturálódást az állományban. A közeli távolság osztályokban tapasztalható pozitív, valamint a távolabbi egyedek esetében kimutatott negatív korreláció megléte egy olyan korrelogramot jelenít meg, amely jellemző azokra a természetes fás állományokra, amelyekben a diszperzió korlátozott mértékű (Epperson és Li 1997; Doligez és mtsai 1998; Vekemans és Hardy 2004; White és mtsai 2007). Azonban, amennyiben elfogadjuk ezt a kiindulási feltételezést a teljes állomány vizsgálatával, akkor feltételeznünk kell, hogy az egymás közelében lévő egyedek között valóban létezik genetikailag rokonság még akkor is, ha nem sorolhatóak azonos taxonómiai csoportokba. Más szóval feltételeznünk kell a szomszédos egyedek közötti, múltban bekövetkezett hibridizációt vagy introgressziót. Ezt a feltételezést ugyan az egyedek morfológiai sokfélesége, az átmeneti formák nagyfokú jelenléte alátámaszthatja, azonban a numerikus taxonómiai határozás alapján a hibridek jelenléte korlátozottnak tűnik. Ugyanakkor, az egyedi szintű genetikai mintázat elemzésével szintén találtunk arra utaló jeleket, hogy a múltban kiterjedt hibridizációs események zajlottak le. A természetes hibridizációs folyamatoknak az állomány térbeli-genetikai strukturálódására gyakorolt hatását pedig már egy korábbi vizsgálat is kimutatta (Valbuena-Carabaña és mtsai 2007). Az introgresszió úgy tűnik, elsősorban a kocsánytalan tölgyek csoportját érintette, és vélhetőleg mind a kocsányos, mind a molyhos tölgyekkel történt génkicserélés. Ezekre az eredményekre a későbbiek folyamán még visszatérünk.

Egy másik lehetséges magyarázat lehet a teljes állományra jellemző térbeli-genetikai struktúra megjelenésére a taxonómiai csoportok térbeli és genetikai elkülönülése. Mint láttuk, a taxonómiailag azonosított tölgy csoportok térben jól elkülönülten jelennek meg, még ha nem is izolálódnak teljes mértékig. Amennyiben a fajok között az alkalmazott markerekkel megfelelő mértékű genetikai differenciálódást sikerül feltárnunk, a strukturálódás eredhet a fajok térbeli elkülönüléséből is. A vizsgálataink során elsősorban a kocsányos és a molyhos tölgy csoportot sikerült genetikailag is elkülönítenünk, ugyanakkor a területen megfigyelhető kocsánytalan tölgyek leválasztása bizonytalan volt. Ez egyrészt eredhet a numerikus taxonómiai módszer alapján beazonosított alacsony mintaszámból, másrészt a egyedi szintű genetikai elemzés során sem volt kimutatható a területen kétféle több elkülöníthető csoport. A két lehetséges magyarázat megvitatására, a további eredmények tárgyalása után még visszatérünk.

6.4. A vizsgált fehér tölgy fajok elkülöníthetősége

A mikroszatellit markerek nagy változatossága ellenére a korábbi, nemzetközi vizsgálatok (Scotti-Saintiagne és mtsai 2004; Gugerli és mtsai 2007; Curtu és mtsai 2006) alapján a tölgy fajok esetében nem számítottunk a fajspecifikus allélok meglétére és az éles taxonómiai elkülönülésre. Vizsgálataink során a numerikus taxonómiai határozással azonosított, három fehér tölgy csoport igen hasonló allélszerkezeti mutatókkal rendelkezett – az allélösszetétel és allélgyakoriság tekintetében nem különültek el élesen –, és emiatt nem lehetett ezen genetikai jellemzők alapján élesen szétválasztani. A csoportok elkülönülését elemző AMOVA teszt 7%-os varianciát állapított meg a csoportok között, míg a változatosság nagyobb hányadát (93%-át) a csoportokon belüli genetikai variabilitásból eredezteteti. Ez a mutató is azt támasztja alá, hogy a tölgy fajok közötti genetikai elkülönülés csak nagyon kismértékű. Ugyanakkor ez alapján az enyhe különbség alapján a molyhos tölgy komplex áll távolabb, míg a kocsányos és kocsánytalan tölgyek közelebbi rokonságot mutatnak. A Nei-féle genetikai távolság alapján szerkesztett dendrogram (12. sz. ábra) szintén ezt a kapcsolatot szemlélteti. A nagyobb mintaszámmal megjelenő molyhos tölgy komplex – amely szép számban tartalmaz *Qu. pubescens* s.str. × *Qu. virgiliana* hibrideket – azonban nem mutatta jelét a genetikai differenciálódásnak. Az alkalmazott mikroszatellit markerek alapján a csoporton belül a két székely értelmezett molyhos tölgy taxon jelenléte nem bizonyítható.

A mikroszatellit vizsgálat eredményeit a Curtu és mtsai (2006) által végzett, romániai tölgy állomány elemzésével tudjuk részben összehasonlítani (részben egyező markerek, illetve tölgy fajok kapcsán). A kocsányos tölgy és molyhos tölgyek molekuláris elkülönülésére kapott $F_{st}=0,076$ érték összességében nem utal markáns izolációra, és alacsonyabb, mint a másik említett vizsgálat értéke (0,113). A kocsányos tölgy és kocsánytalan tölgyek esetében egészen csekély genetikai differenciáltságot tapasztaltunk (0,037), összevetve a romániai állomány 0,096-os értékével. Ugyanakkor a kocsánytalan tölgyek és molyhos tölgyek közötti genetikai differenciáltság magasabb (0,083) volt, mint a Curtu-ék által mért 0,045-ös érték. A területen talált kocsánytalan tölgyek tehát alacsony mintaszámuk ellenére is mutatnak egyedi genetikai sajátosságokat a másik két tölgy csoporttal összehasonlítva. Meg kell jegyeznünk azt is, hogy a kocsányos tölgyek kisebb mértékű elkülönülése vélhetőleg részben abból a körülményből is fakadhat, hogy az itt közölt vizsgálat, szemben a másik tanulmánnyal, nem alkalmazta azt a mikroszatellit markert (ZAG 96), amely markánsabb allél gyakoriságbeli különbségeket mutat a fajok között.

Az eddigiekhez hasonló eredményre jutottunk a három RAPD primer kombinációjából nyert, és a genom egészét „átfésülő” 76 RAPD marker alapján is. A három fehér tölgy

taxon egymáshoz viszonyított helyzete tehát inkább a molyhos tölgyek elkülönülését, illetve a kocsányos és kocsánytalan tölgyek genetikai hasonlóságát erősíti meg. A molyhos tölgy komplexen belüli elkülönülés itt sem erősíthető meg.

A vizsgálathoz alkalmazott izoenzim markerek esetében, korábbi kutatások alapján (Hertel és Degen 2000) azt feltételeztük, hogy alkalmasak lesznek legalább a kocsányos és kocsánytalan tölgy csoportok elkülönítésére, és esetleg új eredményként, a molyhos tölgy komplex leválasztására is. A vizsgálat ezt a feltevést csak részben igazolta. Az irodalmi utalások a faji csoportok elkülönítésére alkalmas két lokusz (PGM, IDH-B) ugyan szétválasztotta a kocsánytalan tölgy és kocsányos tölgy csoportot, azonban a kocsánytalan tölgy komplex egyedeit a molyhos tölgyekkel közelebbi rokonságba helyezte (15. sz. ábra). Ez a megfigyelés látszólag ellentétmondásban áll a másik két marker-csoporttal nyert eredményekkel, ugyanakkor léteznek már olyan korábbi tanulmányok, amelyek szintén nagyobb mértékű genetikai hasonlóságot mutattak ki a kocsánytalan és molyhos tölgy fajok között, és ennek a hasonlóságnak a magyarázataként a két faj közötti kiterjedt introgressziót jelölték meg (Bruschi és mtsai 2000; Franji és mtsai 2006; Curtu és mtsai 2007; Salvini és mtsai 2009).

A különböző markertípusokkal nyert, részben ellentmondó eredmények a következő okokra engednek következtetni: (1) A kocsánytalan tölgy csoport alacsony mintaszáma miatt olyan genetikai mintázatot mutathat, amely beleolvad vagy akár „töredezett” volta miatt különül el a többi taxonómiai csoport genetikai mintázatától. Ezzel szemben a kocsánytalan tölgyek genetikai szerkezete, különböző szempontok (markerek) szerinti összehasonlításban más-más csoportoktól mutat elkülönülést, így felelehet leg olyan egyedi, a csoportra jellemző jegyekkel bírhat, ami a korlátozott elemszám ellenére is fennáll. (2) Amennyiben elfogadjuk a kocsánytalan tölgy csoport reprezentatív voltát, akkor a területen két irányba is zajló introgresszió nyomait feltételezhetjük. A kocsányos tölgyekkel mutatkozó hasonlóság eredhet egyfelől a korábban is megfigyelt, két faj közötti taxonómiai hasonlóságokból, másfelől a korábban lezajlott hibridizációs eseményekből is. Ugyanakkor a molyhos tölgyek irányából kimutatható genetikai hasonlóság is utalhat introgresszióra. A kocsánytalan tölgy komplex így egyfajta hídként szerepelhet a másik két, ökológiai igényeiben szélső helyet elfoglaló tölgy taxon között, és a hibridizáció révén részben feloldódott mindkét irányban. Ez az elmélet magyarázatot adhat az állományban tapasztalható nagyfokú morfológiai sokféleségre és az átmeneti formák jelenlétére, még akkor is, ha a levél alak tulajdonságai alapján végzett numerikus taxonómiai vizsgálattal a hibrid formák csak kismértékben voltak kimutathatóak. Amennyiben a hagyományos bélyegeken alapuló, terepi megfigyelések eredményeit vesszük

figyelembe, a három morfometriai csoport közül a molyhos tölgyek csoportjában található kimagasló számban (61%) olyan egyedek, amelyek valamely kocsánytalan tölgy faj bélyegeivel rendelkeznek. Ezek az egyedek nagyrészt a kocsánytalan és molyhos tölgy komplex közötti hibridekként kerültek leírásra, ami arra utalhat, hogy eközött a két taxonómiai csoport között kiterjedt hibridizáció folyhatott a múltban.

Összességében elmondható tehát, hogy a több markertípussal végzett elemzés alapján olyan eredményekhez juthattunk, amelyeket csupán egyetlen markertípus alkalmazásával rejtve maradtak volna. A némileg ellentmondásos, de legalább is további értelmezésre szoruló eredmények tisztázására olyan egyedszint genetikai elemzéseket végeztünk, kétféle megközelítésben (*Besorolási Teszt, Structure klaszterezés*), amelyek lehetővé tették a genetikai mintázat szerinti taxonómiai differenciálódás mértékének további vizsgálatát, továbbá az introgressziós elmélet ellenőrzését is. A következő alfejezetben az ezek alapján feltárt összefüggések kerülnek ismertetésre.

6.5. *A hibridizáció mértékének vizsgálata az egyedi szintű genetikai elemzésekkel*

Az egyedi szintű elemzésekhez a két kodomináns marker-csoportból (mikroszatellitiek és izoenzimek) nyert genotípus kombinációt alkalmaztuk, mivel ezek a típusú markerek egyértelmű genotípus információt szolgáltatnak, mind az apai, mind az anyai eredet állél megjelenítése révén. Első lépésként mindennemű elzetes csoportosítási szemponttól eltekintve, kizárólag a genetikai mintázat alapján kerestünk feltárható csoportstruktúrákat a mintasoron (*Structure klaszterezés*). Meglepő módon, a feltételezett három, jelenlévő taxonómiai csoport helyett csupán két csoport volt valószínűsíthető az egyedi genetikai csoportmintázat alapján. A két csoportba besorolt egyedek elzetes morfológiai határozása alapján egy *'robur'* és egy *'pubescens'* jellegű klasztert különíthettünk el. A besorolt minták nagy része (90 %-a) legalább 80 %-os részarányal mutatta a két típus egyikének jegyeit, tehát ezeket az egyedeket tekinthetjük taxonómiaiilag „tisztá” vérvonalú, nem hibrid egyedeknek. A kocsánytalan tölgy komplex egyedeit – a feltételezett jelenlétükkel ellentétben – nem sikerült egy genetikailag körülhatárolható harmadik klaszterként elkülönítenünk. A 11 vizsgált egyed közül kettő a *'robur'* jellegű csoportba, három a *'pubescens'* jellegű klaszterbe került besorolásra, míg hat egyed hibrid jellegűt mutatott a két csoport között. A kocsánytalan tölgyek genetikai „rejtettsége” szintén azt támasztja alá, hogy a csoport egyedei erősen introgresszált formában vannak csak jelen, és az introgresszió iránya sem élesen behatárolható.

A hagyományos határozóbélyegek alapján végzett terepi megfigyelések szerint a kocsánytalan tölgy komplexbe tartozó fajok (*Qu. petraea* s.str., *Qu. dalechampii*) és hibridjeik jellegzetességeit hordozó egyedek nagy hányada (67%-a) a molyhos tölgyként azonosított csoportban ('*pubescens*' jelleg genetikai klaszter) tartoztak fel. Ezzel szemben a '*robur*' jellegű 1-es klaszterben a kocsánytalan tölgy jegyeket hordozó egyedek aránya mindössze 4% volt. A genetikailag hibrid csoportban pedig szintén magas, 41%-os részaránnyal találhattunk olyan egyedeket, amelyeken valamilyen mértékben felismerhetők voltak kocsánytalan tölgyekre jellemző bélyegek. Ezek a terepi megfigyelések, bár nem alapulataknak részletekbe menő határozási procedúrán, és inkább tükröznek egyfajta első benyomást az avatott szemek részéről, mégis megerősítik azt a gyanút, hogy a területen megtalálható a kocsánytalan tölgy komplexbe tartozó fajok genetikai mintázata. Azonban ez a mintázat a korábban lezajlott, kiterjedt hibridizációs folyamatok hatására, ma már csak „beolvadt”, introgresszált formában van jelen. Ezt támasztja alá az a tény is, hogy a tisztán kocsánytalan tölgy jegyeket viselő egyedek aránya a hagyományos bélyegek alapján történő határozás során is igen kis mértékű volt (20 egyed).

A molyhos tölgy komplex esetében nincs jele a genetikai strukturálódásnak és így a két faj genetikailag is megerősített jelenlétének, a '*pubescens*' jellegű klaszter genetikailag homogénnek tekinthető. A vizsgálataink alapján ki kell mondanunk tehát, hogy az olasz tölgy (*Qu. virgiliana*) taxonómiai leválasztása a szilveszter értelmében molyhos tölgy (*Qu. pubescens* s.str.) fajtól kizárólag az ökológiai igényekben való eltérés, és így a betöltött *niche* szempontjából indokolt, illetve morfológiai bélyegek alapján is csupán egyes, a tipikus morfológiai jegyeket hordozó egyedek esetében oldható meg.

Az egyedi szintű genetikai vizsgálatot egy másik értékelési módszerrel is elvégeztük (*Besorolási Teszt*), amely az elzártsági besorolás alapján létrehozott csoportokat teszteli olyan módon, hogy minden egyes egyed esetében ellenőrizni a besorolás helyességét, és amennyiben szükséges, az egyedet átsorolja egy másik csoportba. Ebben az esetben a három, elzártsági taxonómiai csoportot vizsgáltuk, tehát egy '*petraea* s.l.' csoportot is teszteltünk a '*robur*' és '*pubescens* s.l.' csoportok mellett. Az elemzés eredményeképpen az egyedek 15 %-a került átsorolásra nagyobb valószínűséggel egy másik csoportba. Az átsorolások nagy hányada a kocsánytalan tölgyek irányába történt, és összesen további 43 egyed rendelkezett a genotípusuk alapján kocsánytalan tölgy sajátosságokkal (ebből 12 a molyhos tölgyek közül és további 28 a kocsányos tölgyek köréből). Emellett, az elzártsági kocsánytalan tölgyként leírt egyedek közül 8 maradt a saját csoportjában a genetikai mintázat alapján. Továbbá, a vizsgált minták közül mindössze négy egyed rendelkezett hibrid jellegű genotípussal (ezek

mindegyike *Qu. petraea* × *Qu. robur* hibrid volt), tehát a minták többsége jól elkülöníthetően besorolható volt a három taxonómiai csoport egyikébe.

Miután ez utóbbi csoportosítási módot is összevetettük a hagyományos bélyegek alapján kocsánytalan tölgy karakterekkel rendelkező egyedekkel, megint csak azt láthattuk, hogy a legtöbb ilyen jellegű egyed a molyhos tölgyek módosított csoportjában van jelen (a csoport 62%-a). Továbbá, a teszt eredményeként kibevitett '*petraea* s.l.' csoportba került azoknak az egyedeknek a többsége is (18 egyed a 20-ból), amelyek a terepi határozás során tisztán a kocsányos tölgy komplex fajainak jegyeit hordozták. Ezek a megfigyelések erősítik a Besorolási teszt eredményeit, továbbá arra utalnak, hogy a területen valóban megtalálható mind a három fehér tölgy fajkomplex, illetve a komplexek közötti introgresszált formák is.

Ugyanakkor szem előtt kell tartani azt is, hogy az egyedi szintű elemzéseknél a *Structure* klaszterezési módszer tekintendők megbízhatóbbnak, mivel ebben az esetben az elemzést nem terheli semmilyen elzetes szempont szerinti kategorizálás.

Összességében, az egyedi szintű genetikai elemzések eredményeként 39 egyed státusza (a teljes mintasor mintegy 10 %-a) tekinthető kétségesnek a morfológiai, a hagyományos illetve a genetikai besorolásuk alapján, annak ellenére, hogy a *Structure* elemzésben egyértelműen az egyik vagy a másik klaszterbe kerültek besorolásra, míg további 32 egyed hibrid genotípussal bír a *Structure* klaszterezés alapján is. Míg az előző csoportba tartozó minták esetében vélhetőleg csupán a múltban bekövetkezett hibridizáció, majd esetleg többszöri visszakereszteséssel lehet szó, addig az utóbbi csoportban tényleges, első generációs hibrid genotípussal bíró egyedek is jelen lehetnek. Hibridek tényleges arányát tekintve tehát a teljes vizsgált állományban, magas, megközelítőleg 20%-os részarányt feltételezhetünk a valamilyen fokú introgresszióval érintett egyedek között.

A korábban tárgyalt térbeli genetikai struktúra megjelenése a teljes állományban (függetlenül a taxonómiai hovatartozástól), szintén azt az elméletet erősítheti, amely szerint a szomszédos egyedek között kiterjedt géncseréről van szó. A diszperzió korlátozott volta miatt a térben egymás közelében elhelyezkedő egyedek így genetikailag is közelebbi rokonságban álltak. A géncsere ebben a forgatókönyvben legalább részben független kellett legyen a faji elkülönüléstől, amelynek eredményeképpen a mai állományban nagyszámú introgresszióval érintett egyedet találhatunk. Ezek az egyedek azonban nem feltétlenül első generációs hibridek. A hosszú ideje, több nemzedéket felölelő hibridizáció illetve visszakeresztesés eredményeképpen olyan egyedek is megjelentek, amelyek csak részben

hordozzák egy másik tölgy taxon genetikai mintázatát, fenotípusukban azonban akár teljes mértékben tiszta fajnak tűnnek. A mesterséges keresztezési kísérletek korábban már rámutattak, hogy a hibrid utódok sokszor az anyai fenotípust mutatják, legalább is fiatal stádiumban (Kleinschmit és Kleinschmit 1996). Emellett, más genetikai vizsgálatok is felhívták a figyelmet arra a körülményre, hogy a hibrid vagy introgresszált genotípus nem feltétlenül jár együtt a hibrid morfológiai megjelenéssel és fordítva (Bacilieri és mtsai 1995; González-Rodríguez és mtsai 2004; Gugerli és mtsai 2007; Curtu és mtsai 2007). A területen megtalálható tölgy csoportok, fajok esetében a feltárt genetikai mintázat alapján ugyanakkor nagy valószínűséggel feltételezhető, hogy kiterjedt hibridizáció működött a múltban.

Az előzőekben bemutatott kérdések és eredmények a „*Petraea*-probléma” című fejezetben kerültek összefoglalásra. A problémakör tárgyalásakor két dilemmára hívtuk fel a figyelmet: (1) A hagyományos bélyegeken alapuló megfigyelések és leírások alapján a területen nagy részarányban vannak jelen a kocsánytalan tölgy komplexbe tartozó fajok jegyeit hordozó egyedek, sokszor elsősorban a molyhos tölgyekkel képzett hibrid alakban. Ehhez képest az egzaktabb megközelítés numerikus taxonómiai besorolás nem mutatta ki a komplex fajainak ilyen mértékű jelenlétét. (2) Az állomány genetikai struktúráját vizsgálva szintén nem kimutatható a kocsánytalan tölgyekre jellemző, egyedi genetikai mintázat a két domináns tölgy csoport (a kocsányos és molyhos tölgyek) mellett. Ugyanakkor két megközelítés szerint is kimutatható egyfajta „rejtőzködő” csoport jelenléte, amely inkább a molyhos tölgyekkel mutat átfedést.

A „*Petraea*-probléma” feloldásaként azt az elméletet vezettük elő, amely szerint a kocsánytalan tölgyek csoportja már csak egyfajta „genetikai hídként” található meg az állományban, és az elenyésző számú „tiszta vérvonlú” egyedek leszámítva, többnyire genetikai állományukkal feloldódva, introgresszált formában vannak jelen, átmeneti morfológiájú egyedek sokaságát eredményezve az állományban. Ez a „genetikai híd”, amely megjelent a vizsgált területen, azonban elsősorban a sajátos ökológiai feltételek között kialakult „adaptációs híd” szerepével bírhat a területen. A kis léptékben megjelenő ökológiai gradiens, ugyanis teljesen egyedi mikroklímát teremt a terület alsó és felső térszintjén. A különböző ökológiai igényekkel rendelkező tölgy fajok esetében több vizsgálat is megerősítette az eltérő mikrohabitatokon, mozaikos élőhelyeken a hibrid formák megjelenését (Kézdy 2001; Dodd és Afral-Rafii 2004; Williams és mtsai 2001), továbbá a hibrid egyedek részaránya és elhelyezkedése erősen függ az adott állomány élőhelyi sajátosságaitól (Valbuena-Carabaña és mtsai 2007). A hibrid egyedek az átmeneti élőhelyeken szelekciós

el nyökkel bírhatnak, ami a fennmaradásukat el segíti. Ugyanakkor, más szerz k (Gugerli és mtsai 2007) arra hívják fel a figyelmet, hogy az élesen elkülönül ökológiai adottságok a hozzájuk alkalmazkodott alapfajoknak kedvezhetnek inkább. Így az átmeneti formák általában fiatal korban kiszelektálódnak és az id skorú állományban hibrid egyedek csak elvétve fordulnak el , a fajok elkülönülése hosszú távon fennmarad. Vizsgálataik alapján egyenesen azt a következtetést vonják le, hogy a tölgyek között tapasztalható kismérték elkülönülés és az átmeneti genetikai formák megjelenése abból ered, hogy még a fajképz és korai stádiumában állnak, míg a kiterjedt hibridizációnak ezzel szemben elenyész szerepet tulajdonítanak. Ez a megállapításuk jól egybecseng Muir és Schlötterer (2005) korábbi elméletével, és ugyanakkor ellentétes válaszreakcióra készítetett más szerz ket (Lexer és mtsai 2006), élénk szakmai vitát bontakoztatva ki. Curtu és mtsai (2007) kutatásukban azt az óvatos köztes álláspontot képviselik, amely szerint ugyan az els generációs hibridek nem feltétlenül rendelkeznek szelekciós el nyökkel az alapfajokhoz képest, így nagy eséllyel általában elt nnek még fiatal stádiumban, ugyanakkor a visszakeresztez dött formák már hordozhatnak olyan el nyösebb, kombinált tulajdonságokat, amely az átmeneti él helyeken kedvez bb helyzetbe hozza ket, akár az alapfajok egyedeihez képest is. Így a tölgy fajok között m kód átkeresztez és több lépcs ben, az introgresszió révén szelekciós el nyöket nyújthat, és így fontos faktorrá válik a tölgy fajok adaptációja szempontjából. Ez az álláspont azért is t nik a legelfogadhatóbb megközelítésnek, mivel a hibridizáció létét megkérd jelez tábor els sorban a kocsányos és kocsánytalan tölgyek, és azoknak is a nyugat-európai állományait vizsgálták, és ebb l vonták le következtetéseiket. Ezzel szemben a keletebbre és délebbre fekv tölgy állományokban a taxonómiai sokféleség növekedésével, a helyzet jóval komplexebbé válik.

Ehhez járul még hozzá az a körülmény is, hogy az adott állományban eltér egyedarányban jelen lév tölgy fajok esetében az introgresszió aszimmetrikussá válik és a ritka faj egyedeit, illetve a már hibrid genotípusú egyedeket a gyakori fajok pollenje nagyobb mértékben érinti (Lepais és mtsai 2009). Ez egyértelm en megfigyelhet az általunk vizsgált állományban is, ahol a kocsánytalan tölgyek kis egyedszámuk miatt kisebb vagy nagyobb mérték introgresszió átesve vannak már csak jelen az állományban.

6.6. *Technikai, módszertani következtetések, javaslatok*

A vizsgálat egyik fontos technikai, gyakorlati eredménye a több markertípuson alapuló, együttes elemzések által nyújtott többlet értékben rejlik. Míg a legtöbb kutatás egy

marker csoporttal végzett vizsgálatok eredményeire hagyatkozik, addig az itt közölt eredmények jól szemléltetik az egymást kiegészítő vagy rejtett összefüggések fontosságát.

A domináns markerek, bár a konkrét genotípus feltárását a bináris kód jellegéből fakadóan nem teszik lehetővé, mégis különösen informatívak lehetnek, mivel a DNS számos pontját vizsgálják egyszerre. A jelen kutatásban alkalmazott RAPD módszerrel függetlenül ma már idejélműltnek tekinthető, hiszen a kivitelezés és sokszor a reprodukálhatóság is kétséges lehet. A módszer szinte egyetlen elnyeként a gyors kivitelezhetőség és az alacsony költségigényét szokás kiemelni. Ugyanakkor a kezdeti optimalizációhoz szükséges teszttel vizsgálatok, továbbá az eredmények bizonytalansága miatt esetenként nagyszámú ismétlések miatt a gyorsaság és költséghatékonyság erősen vitathatóvá válik. Mindezek miatt ma már egy másik, ugyan költségesebb és technikailag is összetettebb, de mindenképpen megbízhatóbb eredményeket szolgáltató domináns markerezési eljárás, az AFLP technika alkalmazása javasolt. A DNS „átfésülése” révén, akár 300-500 DNS pontot is vizsgálhatunk, amelyek között akár adaptív jellegű információval bíró régiókat is feltárhatunk. Természetesen az ilyen típusú elemzésekhez sokszor igen kontrollált feltételek, a kísérlet pontos tervezése szükséges. Így a klasszikus QTL-ezés lebonyolításához általában egy irányított keresztezésből származó nagyszámú utódnemzedékének genetikai változatosságát értékeljük statisztikai módszerekkel, amelyből akár géntérképek szerkesztése is lehetséges. Az egyetlen eddig rendelkezésre álló ilyen jellegű vizsgálat (Scotti-Saintiagne és mtsai 2004) a taxonómiai problémák szempontjából egyelőre korlátozott információkat szolgáltatott. Azonban léteznek ma már más jellegű megközelítések is az erdei fajok közötti introgresszió vizsgálatára. Lexer és mtsai (2007) az európai fehér nyárfák szekciójába (*Leuce*) tartozó fajok – a fehér nyár (*Populus alba*) és rezgő nyár (*Populus tremula*) – kontakt zónájában kialakult természetes hibridjük, a szürke nyárfák (*Populus canescens*) genetikai mintázatát vizsgálták. A zoológiai és humán kutatásokban kidolgozott és alkalmazott 'admixture model' fás populációkra történő adaptálásával lehetővé vált az introgresszió mértékének és irányának feltárása. A vizsgálatokhoz nagyszámú molekuláris marker (20 SSR marker) alkalmazása volt szükséges. A semleges mikroszatellit markerek esetében más cikkek is felhívják a figyelmet a nagyobb markerszám révén a hibridizációs kérdések jobb feltárására (Valbuena-Carabaña és mtsai 2005 kontra Valbuena-Carabaña és mtsai 2007; Curtu és mtsai 2007 kontra Curtu és mtsai 2011 a). A jövőben hasonló módszertani megközelítéssel lehetőség nyílhat az általunk vizsgált tölgy állományban lezajlott introgressziós jelenségek pontosabb feltárására is. Ehhez vélhetőleg további, morfológiailag a kocsánytalan tölgy komplexhez tartozó egyed bevonására is szükség lesz a kijelölt terület bevitésével, ugyanis az eredményeink alapján a

területen ez a taxonómiai csoport kulcsfontosságú szerepet tölt be a hibridizáció kialakulásában.

A módszertan tekintetében ki kell emelnünk a markerezés „új hullámát”, egy teljesen új markertípust, amely az utóbbi években megjelent az erdészeti genetikai kutatásban is. Ez az SNP markerek csoportja, amely szintén a DNS „átfésülését” teszi lehetővé nagyszámú, pontos vizsgálatokkal, azonban mindezt már kodomináns, tehát a bináris kódokhoz képest jóval informatívabb formában. Vélhetőleg ez a markerezési módszer pár éven belül kiszoríthatja a ma széles körben alkalmazott SSR vagy az összetettsége miatt egyébként is háttérbe került AFLP markereket, tekintve, hogy ígéretes kezdeti eredményekkel és adatbázisokkal találkozhatunk már a legfontosabb európai állományalkotó lombos fafajok esetében (részletesebben lásd: *Bevezet*).

Akár tágan értelmezett tölgy fajkomplexumról van szó, akár a Közép-Európában megjelenő további „kisfajokról”, úgy tölgy, az ökológiai igények tekintetében megfigyelhető olyan különbségek, amelyek alapján elkülöníthetővé válnak az említett csoportok. Ugyanakkor az átmeneti termhelyeken, ahol több faj együttesen van jelen, megnövekszik az átmeneti morfológiát mutató egyedek aránya, vélhetőleg a fajok közötti hibridizációnak köszönhetően. A hibridek nagyarányú jelenléte az ilyen termhelyeken azt feltételezi, hogy ezek a formák valamiféle szelekciós elnyelést is bírnak az alapfajokhoz képest, illetve az alapfajok elnyeső adaptív tulajdonságait kombináltan hordozzák. Azt is tudjuk ugyanakkor, hogy a tölgy taxonok nem olvadtak fel egymásba, rendelkeznek egyfajta gátló mechanizmussal, ami fenntartja a különböző taxonómiai csoportok közötti különbségeket is. Ezeknek az adaptív sajátosságoknak, amelyek az eltérő ökológiai igényekben tükröződnek, természetesen kell, hogy legyen megfelelően kontrollált genetikai háttere, különben a taxonok között tapasztalható változatosság vagy teljesen véletlenszerűen jelentkezne a különböző állományokban, vagy már homogénné vált volna néhány generáció után. Az adaptív tulajdonságokért felelős gének felkutatása azonban különösen nehéz feladat a hosszú életciklusú és kiemelkedően magas genetikai változatossággal bíró erdei fafajok esetében (Hamrick és Mtsai 1992). Ettől függetlenül a kulcs a tölgy fajok elkülönítéséhez nagy valószínűség szerint az adaptív bélyegeket kontrolláló DNS szakaszok vagy az ezekhez kötődő markerrégiók felkutatásában rejlik majd. Bár a nagyszámú markerrégió alkalmazásával tett eddigi kísérletek még nem hoztak átütő sikereket (Scotti-Saintiagne és Mtsai 2004), az újabb típusú markerek jelenthetik a megoldás felé vezető utat. Ezen az úton nyújthatnak majd segítséget a nagy felbontóképességű SNP elemzések is.

Végül említést kell tenni arról a körülményről is, hogy a levél alaki tulajdonságait vizsgáló, klasszikus numerikus taxonómiai módszerek esetében az átmeneti formák kimutatása vélhetőleg az első generációs hibridekre korlátozódik, de az sem kizárható, hogy a hibrid egyedek esetében dominál az egyik vagy másik szülő fenotípusa. Ez utóbbi jelenséget a fiatalkori stádiumban lévő mesterségesen létrehozott hibridek esetében mások már korábban is megfigyelték. A feltételezést azonban a kifejtett kort elért példányok esetében csupán az irányított keresztezésekkel származó egyedek termékeiről példányainak vizsgálatával tudnánk igazolni vagy cáfolni. Ilyen jellegű vizsgálatokra még nem került sor, de a korábbi kutatások révén (Borovics 1998 a, 2000) a megfelelő növényanyag a jövőben rendelkezésünkre állhat.

A levélkontúr digitális vizsgálatán alapuló újabb morfometriai módszereknek (Viscosi és mtsai 2009) a hazai kutatási gyakorlatba való bevezetését, bár jóval nagyobb szakértelmet kívánnak, mégis érdemes megfontolni. Különösen igaz ez olyan állományok esetében, mint az itt bemutatott soproni elegyes tölgy mintaterület. Látható ugyanis, hogy „kisfajokban” gazdag, és ráadásul nagyszámú átmeneti formával rendelkező állomány esetében a jól elkülöníthető, tipikus bélyegekkel rendelkező tölgy taxonok leírásából született, numerikus taxonómiai klasszifikációs függvények akár kétséges eredménnyel is szolgálhatnak.

6.7. *Egyéb gyakorlati következtetések, javaslatok*

Az olyan jellegű molekuláris genetikai vizsgálatok, amelyek egy kiemelt populáció intenzív mintázásán alapulnak, általában az adott állomány egyedi feltételeit, állapotát írják le, és arról festenek részletesebb képet. Az általános érvényű következtetések levonására általában több állomány, ugyanolyan módszerekkel történő vizsgálata szükséges. Ma még kevés ilyen jellegű kutatási eredmény áll rendelkezésünkre nemzetközi viszonylatban is, és a hazai erdőalkotó fajok finomléptékű genetikai vizsgálata tekintetében a jelen kutatás úttörő munkának számít. A hazai fehér tölgy fajok kutatását az is nehezíti, hogy a korábbi morfológiai és taxonómiai vizsgálatok alapján a Kárpát-medence területén óriási változatosságra számíthatunk, amely gyakran a taxonok közötti kiterjedt introgresszióval társul. Ez a körülmény megnehezíti a határozott, általános következtetések levonását, hiszen minden állomány más és más történettel bír és megint más élőhelyi sajátosságokkal rendelkezik. Jó példa erre az alföldi tölgyesekkel kapcsolatos kutatások eredménye, amely elsősorban a kocsányos tölgy és a molyhos tölgyesek közötti génáramlásra fókuszál (Kézdy 2001). Az alföldi régióhoz kapcsolódó tölgykutatás eleve egy speciális helyzetet tár fel, hiszen az eltérő félben lévő, szonosz erdőssztyep vegetáció merében eltér a középhegységeink lombhullató erdeitől. Ugyanakkor ez utóbbi fás állományok is nagyon

változatos fajösszetétel ek lehetnek, akár csupán a tölgy fajok tekintetében is, attól függ en, hogy mely klimatikus vagy egyéb term helyi tényez k hogyan hatottak az általuk elfoglalt területeken. Így más-más problémákkal találkozhatunk egy üde kocsánytalan tölgyesben, mint egy száraz karsztbokored ben.

Az utóbbi évtized(ek) két nagyon fontos kutatási irányelvet hoztak magukkal: a klímaváltozás hatásainak kutatását, illetve a fenntartható természetközeli erd gazdálkodás felé történ elmozdulás kapcsán az állományok populációdinamikájának és az emberi beavatkozások összefüggéseinek feltárását. Mindkét terület szorosan kapcsolódik a gyakorlati erdészeti megfontolásokkal és gazdaságossági kérdésekkel. Az itt bemutatott kutatás a középhegységek szárazabb term helyein kialakuló elegyes tölgyesek kapcsán szolgáltathat hasznos következtetésekkel a gyakorlati szakemberek számára. Kézdy (2001), a hazai molyhos tölgyesek taxonómiai célú kutatásában felhívja a figyelmet arra, hogy a védett területeken erd felújítás csak a term helynek megfelelő shonos fafajokkal végezhet (aktuálisan a 2009. évi XXXVII. Erd törvény¹⁰ értelmében), így a mész- és melegkedvel tölgyeseink, bokorerdeink helyén álló feketefenyvesek esedékes felújítása is csak fafajcserével végezhet majd el. A megfelelő tölgy fajok szaporítóanyaga iránti, esetlegesen megnövekedett igény mellett, talán még nagyobb problémát jelenthet a mozaikos él helyeken az elegyesség fenntartása, és így az átmeneti alakokban rejl adaptációs el nyök meg rzése. Az optimális megoldást egyértelm en a természetes felújítás jelentené, hiszen így átmenthet k lennének a már introgresszált formák is. Ugyanakkor pont az el bbiekben említett, feketefenyvesekkel borított területeken, ahol az ismételt fafajcsere, az shonos tölgy fajokra történ visszaváltás szükséges, válik kiemelten fontossá a mesterséges telepítések kapcsán a tölgy taxonokban rejl ökológiai potenciál pontos ismerete. Sajnos azonban a tölgyekre jellemz taxonómiai változatosság nem teszi lehetővé ezt a gyakorlatias szemlélet alkalmazást, hiszen az itt tárgyaltak alapján is láthatjuk, mennyire problémás a különböző csoportok elkülönítése, illetve ez sok esetben nem is lehetséges. A megoldást jelent rendszer kidolgozásához, amely segíti, és nem hátráltatja a gyakorlati felhasználást, a területi-taxonómiai leltározások, a gyors határozást lehetővé tev módszerek, illetve a már rendelkezésre álló genetikai információk összefésülése szükséges. Az így létrehozható komplex adatbázis a terület ökológiai adottságait figyelembe véve adhatna ajánlást a

¹⁰ 2009. évi XXXVII. törvény az erd r l, az erd védelméről és az erd gazdálkodásról – Bp.: Országgy lés, 2009. május. 25. – V. Fejezet

megfelel tölgy fajok, majd azon belül a legalkalmasabb „kisfajok” kiválasztására. A határozást segített, a legfontosabb és leginkább jellegzetes bélyegek kiemelésére szükséges törekedni, akár az állomány szint jellemző megadásával is, az egyes társulástípusoknak megfelelően. Ezen túl, a rendszer információt nyújthatna a legközelebbi, hasonló paraméterekkel rendelkező, természetes vagy természetközeli állományokról a lehetséges szaporítóanyag beszerzése céljából, a rendelkezésre álló és folyamatosan b vített összeírások alapján. A napis szint, gyakorlati munka segítése érdekében egyértelműen a rendszer egyszer ségére és könnyű áttekinthet ségére kell hangsúlyt fektetni, oly módon, hogy közben a szakmát segítő információ tartalom se sérüljön.

Az itt közölt eredmények arra is felhívják a figyelmet, hogy bár kiindulási információval nem rendelkezünk az állomány sarjzattalás előtti állapotáról, a sarjzattalás ebben az esetben nem feltétlenül járt az állomány elszegényedésével, leromlásával. A magról történő felújulást a legtöbb esetben a vadkár vagy éppen a sarjak konkurenciája hiúsíthatja meg, azonban egy értékes állomány létének meghosszabbítása a sarjzattalással is elképzelhető. Ugyanígy a korábban sarjzattalással fenntartott állományok esetében sem szükséges feltétlenül lemondani a magas genetikai és taxonómiai változatosságról, ahogyan ezt az eredményeink is megerősítik. A vizsgált területhez hasonló állományok esetében akár az *in situ* génmegőrzés lehet segítség, illetve a speciális feltételekhez adaptálódott állományból a szaporítóanyag gyűjtését is érdemes megfontolni.

Ugyanakkor az is megfigyelhető volt a területen, hogy az erdészeti beavatkozás hiányában a természetesen megjelenő újulat fennmaradása kétséges. A gyűjtés évében felvételezett két újulatfolt is eltűnt pár éven belül az idős állomány leárnyékolása miatt. Egy 2011 során tett terepi bejárás során a terület középső zónájában, egy kisebb egyedségi folton szép számban voltak megfigyelhetőek egy éves tölgy magoncok, azonban lék hiányában vélhetőleg ezek sorsa is megpecsételt. Ilyen esetekben a szakszerűen elvégzett és a természetközeli erdőgazdálkodás kritériumait szem előtt tartó léknyitással az állományban természetes úton megjelenő új generáció léte, és így a természetes felújítás biztosítható lenne. A cserenyagarányú jelenléte pedig elvetíti annak a lehetőségét, hogy a területen ma még megtalálható kocsánytalan tölgy introgresszált alakok utódai végleg eltűnnek a cserenyag sebb kompetíciója miatt. Mindezek alapján kijelenthetjük, hogy amennyiben az állomány formagazdagságát fenn kívánjuk tartani, a természetes felújulás érdekében szükséges lesz a körültekintő erdészeti beavatkozás alkalmazása is.

7. Összefoglaló, tézisek

A disszertáció témája egy elegyes tölgy állományfolt összes fehér tölgy egyedének mintázásán alapuló (a már term korú és a fellelhet , két újulatfolt fiatal egyedét is beleértve), molekuláris genetikai diverzitás és genetikai mintázat elemzése volt. Ilyen, ún. finomlépték genetikai mintázat elemzésre, hazai viszonylatban els ként került sor tölgy állomány esetében. A kutatás egyedülállónak tekinthet olyan szempontból is, hogy hazánkban els ként alkalmaztuk numerikus taxonómiai határozómódszert a *Quercus robur*, *Qu. petraea* s.str. *Qu. dalechampii*, *Qu. pubescens* s.str., *Qu. virgiliana* fajok elkülönítésére és a hibridek kimutatására, továbbá az állomány genetikai szerkezetének feltárása három különböző molekuláris genetikai markertípus feldolgozásával készült. A finomlépték genetikai vizsgálatok kapcsán több populációgenetikai-statisztikai módszer is elemzésre került. Feltártuk az állomány különböző taxonómiai csoportjainak genetikai szerkezetében rejl különbségeket és a csoportok közötti genetikai hasonlóság mértékét. Összehasonlítottuk az utódnemzedék és az id s állomány genetikai diverzitását. Felmértük az állomány térbeli-genetikai struktúráját. Továbbá két különböző módszer alkalmazásával elemeztük az egyedi szint genetikai mintázatot, amely lehet vé tette az introgresszióval érintett egyedek kisz részét. Komplex módon értékeltük a genetikai mintázatból származó eredményeket a numerikus taxonómiai határozással nyert információkkal, illetve az introgresszió vizsgálata kapcsán a hagyományos bélyegeken alapuló, terepi megfigyelésekkel. Ez a komplex elemzés olyan következtetések levonását is lehet vé tette, amelyek az adott marker vizsgálata nélkül egyébként rejtve maradtak volna.

Az alkalmazott numerikus taxonómiai határozófüggvényekkel feltártuk az állomány taxonómiai összetételét, és az egyedeket taxonómiai státuszuk alapján elkülönítve térképen ábrázoltuk. Megállapítottuk, hogy a területen dominánsan jelen lévő két fajcsoport a kocsányos tölgy (*Quercus robur*) és a molyhost tölgy komplex (*Quercus pubescens* s.l.) egyedei területileg jól elkülönülnek, az ökológiai igényeiknek megfelelő en. A molyhos tölgy csoport igen változatos összetétellel volt jelen: nagy arányban jelentek meg *Qu. virgiliana* és *Qu. pubescens* s.str. \times *Qu. virgiliana* hibrid egyedek is. A területen igen kis részarányban sikerült csak ugyanakkor kimutatni a kocsánytalan tölgy (*Quercus petraea* s.l.) komplex tagjait, és köztük *Qu. dalechampii*, *Qu. petraea* s.str. és hibrid egyedeket is beazonosítottunk. A tágan értelmezett három tölgy faj között létrejött hibrid egyedeket csak elenyész részarányban sikerült azonosítanunk a területen a nagyarányú morfológiai diverzitás ellenére.

Mindhárom alkalmazott molekuláris genetikai marker csoport alapján kismértékű elkülönülés volt megfigyelhető a három f. tölgy csoport között, ami megfelel a korábbi, nemzetközi eredményeknek. Ugyanakkor a kis létszámú kocsánytalan tölgy csoport olyan egyedi mintázattal rendelkezett, amely két markertípus alapján (SSR, RAPD) inkább a kocsányos tölgyekkel mutatott genetikai hasonlóságot, míg az izoenzim markerek tekintetében alig mutattak eltérést a molyhos tölgyek csoportjától. A molyhos tölgy komplexen belül nem volt megfigyelhető genetikai differenciálódás a két azonosított sz. ken. értelmezett faj és hibridjeik tekintetében.

A *Structure* klaszterezéssel végzett egyedszintű genetikai elemzésből kiderült, hogy a területen a genetikai mintázat alapján csupán két jól elkülöníthető csoport feltételezhető, amely megfelelt a morfológiailag 'robur' és 'pubescens' jellegű egyedek csoportjának. A két csoport közötti, valamilyen fokú hibrid genotípussal rendelkező egyedek aránya 10% volt. A kocsánytalan tölgy egyedek nem voltak kimutathatóak, mint egyedi genetikai mintázattal bíró csoport, és a korábbi besorolásuk alapján részben a molyhos tölgyek klaszterében, részben pedig a hibrid genotípusú egyedek között bukkantak fel. A *Besorolási Teszt* alapján készített egyedszintű genetikai elemzés alapján kocsánytalan tölgy egyedek voltak feltételezhetőek mind a molyhos tölgyek között, mind pedig a kocsányos tölgyek csoportjában, méghozzá ez utóbbiban nagyobb arányban. A kocsánytalan tölgy komplex jelenléte az állományban, vélhetőleg két irányban is (a molyhos tölgyek és kocsányos tölgyek felől) lezajlott introgresszió eredményeképpen mind genetikai mintázatban, mind külső morfológiai jegyek alapján is csak kis arányban mutatható ki.

A fenotípusos megjelenés ugyanakkor nem minden hibrid genotípussal rendelkező egyed esetében jelentkezik köztes morfológiai bélyegekkel. Az alkalmazott numerikus taxonómiai határozófüggvények sem minden esetben tárják fel teljes pontossággal az introgresszált formákat. Különösen igaz ez olyan állományok esetében, ahol a tölgy fajok együttes jelenléte, valamint a mozaikos élőhely, a különböző mikrohabitatok kialakulása következtében kimagasló lehet a hibridizációval érintett egyedek aránya. Ilyen jellegű állományokban más típusú, morfometriai elemzések alkalmazását is érdemes megfontolni.

Az egyedi genetikai mintázat, a numerikus taxonómiai határozás és a hagyományos bélyegeken alapuló megfigyelések komplex értékelése nyomán kb. 20%-ra tehető az állományban a valamilyen fokú introgresszió nyomait viselő egyedek aránya. Ezek az egyedek térben is nagyrészt a szülő fajok érintkezési zónájában helyezkedtek el.

Az elemzésre került négy, nagy variabilitású mikrosztellit marker segítségével az egyedek elkülönítése lehetett vélt genetikai ujjlenyomatuk alapján. A területen, a régóta

folyó sarjzattatás ellenére is, csupán 9%-os arányban voltak jelen azonos genotípussal bíró klón egyedek. Ezek nagyrészt csokros növekedésű sarjak formájában jelentek meg, és csak két molyhos tölgy pár esetében volt megfigyelhető a nagyobb térbeli szeparáció. Ez utóbbi két esetben gyökérsarjak megjelenéséről van szó. A molyhos tölgyek csoportjáról általánosan elmondható, hogy nagyobb arányban és változatosabb formában jelent meg a vegetatív szaporodási stratégia. A klón genotípusok nélkül végzett genetikai diverzitáselemzés arra mutatott rá, hogy a sarjzattatás hatására megjelenő klón egyedek nem okozták az állomány drasztikus genetikai leromlását. A sarjzattatás ebben az esetben vélhetőleg éppen az eredeti, természetes állomány fennmaradását segítette. Mindezek alapján, az *in situ* génrezervátumok kijelölése során akár olyan állományok védelmét is érdemes fontolóra venni, amelyeken ugyan régóta sarjzattatás folyik, azonban az állomány taxonómiai-morfológiai diverzitása szempontjából még részre érdemes.

A két vizsgált újulatfolt egyedei között is kimutathatóak voltak a klón eredetű egyedek. Az újulatban tehát a generatív szaporodási stratégián túl számolhatunk vegetatív eredetű egyedekkel is, amelyek vélhetőleg egy idősebb egyed gyökérsarjaiként jelentek meg. Az újulatfoltok genetikai mintázatuk alapján taxonómiai szinten is behatárolhatóak voltak az idősebb állomány taxonómiai csoportjaival történt összehasonlító vizsgálat során. Ugyanakkor a két újulatfolt vélhetőleg inkább a mintázott területen kívül eső egyedek utódaiból áll, mivel genetikai mintázatukban nagyobb elkülönülés volt kimutatható a mintaterület egyedeivel vett összehasonlítás során. Ez megfelel a térbeli helyzetüknek is, tekintve, hogy a kijelölt terület határán helyezkedtek el.

Az idősebb állomány térbeli-genetikai struktúrája tekintetében a két nagyobb egyedszámú taxonómiai csoport, a kocsányos tölgyek és molyhos tölgyek tekintetében, csak gyenge korrelációt sikerült kimutatni az egymás közelében elhelyezkedő egyedek genetikai rokonsága tekintetében. Ez a korreláció csupán a nagyobb DNS régió vizsgálatát biztosító RAPD markerekkel volt határozottabb, azonban ekkor is csupán kb. 20 méteres távolságig. Ugyanakkor a teljes állományra határozott térbeli-genetikai strukturáltság volt jellemző. Feltételezhetően ez a struktúra is az introgresszióval érintett egyedek nagyarányú jelenlétével függ össze.

A kutatás eredményei alapján a disszertáció Tézisei a következők:

1. Hazai viszonylatban elsőként került alkalmazásra tölgy állomány esetében olyan finomléptékű genetikai vizsgálat, amely a mintaterületen található összes idősebb

- egyed mintavételén alapult, numerikus taxonómiai határozómódszert alkalmazott a *Quercus robur*, *Qu. petraea* s.str. *Qu. dalechampii*, *Qu. pubescens* s.str., *Qu. virgiliana* fajok elkülönítésére és a hibridek feltárására, továbbá az állomány genetikai szerkezetének feltárására három különböző molekuláris genetikai markertípust is feldolgozott és több megközelítésben is vizsgálta az egyedszint genetikai mintázatot.
2. Mindhárom alkalmazott molekuláris genetikai marker csoport alapján kismértékű elkülönülés volt megfigyelhető a három f. tölgy csoport között, ami megfelel a korábbi, nemzetközi eredményeknek. Ugyanakkor a kis létszámú kocsánytalan tölgy csoport olyan egyedi mintázattal rendelkezett, amely két markertípus alapján (SSR, RAPD) inkább a kocsányos tölgyekkel mutatott genetikai hasonlóságot, míg az izoenzim markerek tekintetében alig mutattak eltérést a molyhos tölgyek csoportjától.
 3. A molyhos tölgy komplexen belül nem volt megfigyelhető genetikai differenciálódás a két azonosított, sz. ken értelmezett faj (*Quercus pubescens* s.str. és *Qu. virgiliana*) tekintetében.
 4. Az egyedszint genetikai mintázat elemzése, a numerikus taxonómiai határozás és a hagyományos bélyegeken alapuló megfigyelések komplex értékelése nyomán kimutathatóvá vált az állományban az introgresszió nyoma, amely az egyedek mintegy 20%-át (18,3%) érintette. Ezek az egyedek térben is nagyrészt a szül. fajok érintkezési zónájában helyezkednek el.
 5. Az állományban fellelhető kocsánytalan tölgy komplex egyedeit vélhetőleg két irányból is – a molyhos tölgyek és kocsányos tölgyek felől – lezajlott introgresszió érintette a múltban, amelynek eredményeképpen mind genetikai mintázatban, mind külső morfológiai jegyeik alapján is csak kis arányban mutathatók ki a mai populációban. Ezt a megállapítást a két egyedszint genetikai mintázat elemzési módszer támasztotta alá.
 6. Az idős állomány térbeli-genetikai struktúrája tekintetében a teljes állományra határozott térbeli-genetikai strukturáltság volt jellemző. Ezzel szemben, a két nagyobb részarányban jelenlévő tölgyfaj, a molyhos tölgy komplex és a kocsányos tölgy egyedei esetében csupán gyenge korreláció volt kimutatható, és csupán a közeli távolságosztályokban. Ez a struktúra szintén az introgresszióval érintett egyedek nagyarányú jelenlétével függhet össze.
 7. A fenotípusos megjelenés ugyanakkor nem minden hibrid genotípussal rendelkező egyed esetében jelentkezik köztes morfológiai bélyegekként. Különös körtekintéssel kell kezelni az olyan állományok taxonómiai célú vizsgálatát, ahol a tölgy fajok

együttes jelenléte, valamint a mozaikos él helyeken kialakult, különböző mikrohabitátok következtében kimagasló lehet a hibridizációval érintett egyedek aránya. Ilyen jellegű állományok esetében végzett taxonómiai vizsgálatok során minél több szempontú, komplex elemzések alkalmazását szükséges alkalmazni.

8. Az elemzésre került négy, nagy variabilitású mikrosztellit marker segítségével az egyedek elkülönítése lehet vélt genetikai ujjlenyomatuk alapján, illetve az azonos genotípussal rendelkező klónok azonosíthatóak voltak. Ezáltal kimutathatóvá vált az állomány genetikai mintázatában is a régóta folyó sarjzattatás valós hatása, amely csupán 9%-os arányban jelezte a klónok jelenlétét. Ezek nagyrészt csokros növekedésű sarjak formájában jelentek meg, azonban két molyhos tölgy pár esetében megfigyelhető volt a nagyobb térbeli szeparáció, amely gyökérsarjak megjelenésére utal. A molyhos tölgyek csoportjáról általánosan elmondható, hogy nagyobb arányban és változatosabb formában jelent meg a vegetatív szaporodási stratégia. A két vizsgált újulattolt egyedei között is kimutathatóak voltak a klón eredetű egyedek. Az újulatban tehát a generatív szaporodási stratégián túl számolhatunk vegetatív eredetű egyedekkel is, amelyek vélhetőleg vagy egy idősebb egyed gyökérsarjaiként jelentek meg vagy vad általi visszarágás hatására alakultak ki.
9. A klón genotípusok nélkül végzett genetikai diverzitáselemzés arra mutatott rá, hogy a sarjzattatás hatására megjelenő klón egyedek nem okozták az állomány genetikai változatosságának számottevő csökkenését. A sarjzattatás ebben az esetben vélhetőleg épp az eredeti, természetes állomány fennmaradását segítette. Mindezek alapján, az *in situ* génrezervátum-hálózat kialakítása során, a morfológiailag és taxonómiailag diverz állományok esetében indokolt lehet az állományok kijelölése, abban az esetben is, ha a területen sarjzattatás folyt.
10. Az újulatfoltok genetikai mintázatuk alapján taxonómiailag is behatárolhatóak voltak az időskorú állomány taxonómiai csoportjaival történt összehasonlító vizsgálat során. Ugyanakkor a két újulatfolt vélhetőleg inkább a mintázott területen kívül eső egyedek utódaiból állt, mivel az idősebb egyedekkel vett összehasonlítás során a genetikai mintázatukban nagyobb elkülönülés volt kimutatható. Ez megfelel a térbeli helyzetüknek is tekintve, hogy a kijelölt terület határán helyezkedtek el.

8. Rövidítések jegyzéke

rob, robur	<i>Quercus robur</i> L.	kocsányos tölgy
pet, petraea	<i>Quercus petraea</i> (Matt.) Liebl.	kocsánytalan tölgy
poly	<i>Quercus polycarpa</i> Schur.	erdélyi kocsánytalan tölgy
pub, pubescens	<i>Quercus pubescens</i> Willd.	molyhos tölgy
virg, virgiliana	<i>Quercus virgiliana</i> Ten.	olasz molyhos tölgy
s.l.	sensu lato	tágan értelmezett (fajkomplex)
s.str.	sensu stricto	szűken értelmezett (faj)
PCR	polymerase chain reaction	polimeráz láncreakció
SSR	simple sequence repeat	<i>szin.</i> : mikroszatellit
RAPD	random amplified polymorphic DNA	
AFLP	amplified fragment length polymorphism	

9. Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni mindazoknak, akik segítettek e hosszúra nyúlt munka során:

El ször is köszönet témavezet mnek, Dr. Borovics Attilának, hogy az évek során mindvégig kiállt mellettem, támogatót és biztatót a legnagyobb kétségek közepette is.

Hálával tartozom Dr. Bordács Sándornak, aki küls konzulensként felajánlotta szakmai segítségét, a témával kapcsolatos eddigi eredményeibe teljeskör betekintést engedett és megosztotta velem meglátásait. Külön köszönet az irányomban tanúsított baráti támogatásáért.

Köszönöm egykori, egyetemi témavezet mnek és egyben els mentoromnak, Dr. Höhn Máriának, hogy segített elindulnom a kutatói pályán. Ugyancsak köszönet Dr. Pedric Andrzej-nek és Dr. Bisztray Györgynek, hogy a tanszékükön töltött egyetemi éveim során gyakorlatban is ismerkedhettem a molekuláris genetika módszereivel.

Köszönet a kollégáknak, Páli Lászlónak és Takács Rolandnak a terepi mintagy jtés során nyújtott pótolhatatlan segítségükért, valamint Ruminé Rózsikának, akivel igazi csapatot alkottunk a laborban.

Végül köszönetet kell mondanom a szívemhez legközelebb állóknak, akik mindvégig támogattak a háttérben: szeretteimnek és barátaimnak.

10. Irodalomjegyzék

- Aas G.** (1991): Kreuzungsversuche mit Stiel- und Traubeneichen (*Quercus robur* L. und *Q. petraea* (Matt.) Liebl.). Allgemeine Forst- und Jagdzeitung 162: 141-145.
- Aas G.** (1995): Die Behaarung der Blätter von Traubeneiche und Stieleiche (*Quercus petraea* und *Quercus robur*): Variabilität und taxonomische Bedeutung. Mitt. Forstl. Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz 34: 297-309.
- Aas G.** (1998): Morphologische und ökologische Variation mitteleuropäischer *Quercus*-Arten: Ein Beitrag zum Verständnis der Biodiversität. In Libri Botanici Vol. 19. Eching bei München, IHW-Verlag. p. 221.
- Ba i T.** (1981): Investigations of stomata of three oak species with light and scanning electron microscope. Acta Botanica Croatica 40: 85-90.
- Bacilieri R., Ducouso A., Kremer A.** (1995): Genetic, morphological, ecological and phenological differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. in a mixed stand of northwest of France. Silvae Genetica 44: 1-10.
- Bakker E.G., Van Dam B.C., Van Eck H.J., Jacobsen E.** (2001): The Description of Clones of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl. with Microsatellites and AFLP in an Ancient Woodland. Plant Biology 3 (6): 616–621.
- Bartha D.** (1997): Fa- és cserjehatározó. Mez gazda Kiadó, Budapest.
- Beyermann B., Nürnberg P., Weihe A., Meixner M., Epplen J.T., Börner T.** (1992): Fingerprinting plant genomes with oligonucleotide probes specific for simple repetitive DNA sequences. Theoretical and Applied Genetics 83 (6-7): 691-694.
- Bookstein F.L.** (1991): Morphometric Tools for Landmark Data. University Press, Cambridge.
- Borazan A., Babaç M.T.** (2003): Morphometric leaf variation in oaks (*Quercus*) of Bolu, Turkey. Annales Botanici Fennici 40: 233-242.
- Borbás V.** (1887): A magyar Nagy-Alföld tölgyei. Erdészeti Lapok 26: 710-743.
- Bordács S.** (1998): Tölgyfajok genetikai diverzitásának szintetikus térképezése, mint a genetikai er források meg rzésének és gyakorlati hasznosításának alapja. OMF B Kutatási Részjelentés.
- Bordács S., Korányi P.** (1993): Electrophoretic differentiation possibilities within the genus *Quercus* by means of protein monomers. Silvae Genetica 42: 285-288.

- Bordács S., Burg K.** (1997): Genetic differentiation by RAPD-markers of oak species in Hungary. Diversity and Adaptation in Oak Species. II. Conference of IUFRO Working Party on Genetics of *Quercus*, State College, Pennsylvania, USA 12–17 October 1997. pp. 121-131.
- Bordács S., Borovics A.** (1999): A tölgyek genetikai sajátosságai és génmegőrzése az európai kutatási eredmények tükrében. Erdészeti Kutatások 89:111-134.
- Bordács S., Popescu F., Slade D., Csaik U.M., Lesur I., Borovics A., Kézdy P., König A.O., Gömöry D., Brewer S., Burg K., Petit R.J.** (2002): Chloroplast DNA variation of white oaks in northern Balkans and in the Carpathian Basin. Forest Ecology and Management 156: 197-209
- Borhidi A.** (1998): A zárwatermék fejlődéstörténeti rendszertana. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest. pp. 28-29., 184.
- Borhidi A., Sánta A.** (szerk.) (1999): Vörös Könyv Magyarország Növénytakarásairól 2. kötet. TermészetBúvár Alapítvány Kiadó, Budapest. pp. 232-235.
- Borovics A.** (1997): A kocsánytalan tölgyek levélmorfológiai vizsgálata. Erdészeti Kutatások 86-87: 125-142.
- Borovics A.** (1998)a: Keresztezési kísérletek szonos tölgyfajaink között. Erdészeti Kutatások 88: 223-235.
- Borovics A.** (1998)b: A tölgyek hibridizációja, morfológiai és genetikai változatossága. Erdészeti Kutatások 88: 89-107.
- Borovics A.** (1999): A kocsányos tölgy és kocsánytalan tölgy fajcsoport elkülöníthetősége: adalékok a hibridek és kisfajok megítéléséhez. Erdészeti Kutatások 89: 93-110.
- Borovics A.** (2000): Keresztezési kísérletek és taxonómiai vizsgálatok az szonos tölgyek hazai alakkörében. PhD disszertáció. Nyugat-Magyarországi Egyetem, Sopron
- Bruschi P., Vendramin G.G., Bussotti F., Grossoni P.** (2000): Morphological and Molecular Differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. (*Fagaceae*) in Northern and Central Italy. Annals of Botany 85: 325-333.
- Buiteveld J., Koelewijn H.P.** (2006): CpDNA haplotype variation reveals strong human influence on oak stands of the Veluwe forest in the Netherlands. Forest Ecology and Management 228: 160-167.
- Buiteveld J., Vendramin G.G., Leonardi S., Kramer K., Geburek T.** (2007): Genetic diversity and differentiation in European beech (*Fagus sylvatica* L.) stands varying in management history. Forest Ecology Management 247: 98-106.
- Bussotti F., Grossoni P.** (1997): European and Mediterranean oaks (*Quercus* L.): SEM characterization of the micromorphology of the abaxial leaf surface. Botanical Journal of the Linnean Society 124: 183-199.

Camp N.J., Cox A. (ed.) (2002): Quantitative Trait Loci: Methods and Protocols. Humana Press, New Jersey.

Coart E., Lamote V., De Loose M., Van Bockstaele E., Lootens P., Roldán-Ruiz I. (2002): AFLP markers demonstrate local genetic differentiation between two indigenous oak species [*Quercus robur* L., and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.] in Flemish populations. *Theoretical and Applied Genetics* 105: 431–439.

Copini P., Buiteveld J., den Ouden J., Sass-Klaassen U.G.W (2005): Clusters of *Quercus robur* and *Q. petraea* at the Veluwe (The Netherlands). Centre for Genetic Resources Report 1. CGN/DLO Foundation, Wageningen. p.19.

Cottam W.P., Tucker J.M., Santamour F.S. (1982): Oak hybridization at the University of Utah State Arboretum of Utah Publ. No. 1.

Cottrell J., Samuel C.J.A., Sykes R. (2004): The species and Chloroplast DNA haplotype composition in the forest of Dean planted between 1720 and 1993. *Forestry* 77: 99-106.

Curtu A.L., Gailing O., Leinemann L., Finkeldey R. (2006): Genetic Variation and Differentiation Within a Natural Community of Five Oak Species (*Quercus* spp.). *Plant Biology* 9: 116-126.

Curtu A.L., Gailing O., Finkeldey R. (2007): Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community. *BMC Evolutionary Biology* 7: 218.

Curtu A.L., Moldovan I.C., Enescu M.C., Sofletea N., Cr ciunesc I. (2011)a: Genetic differentiation between *Quercus frainetto* and *Q. pubescens* in Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj* 39: 275-282.

Curtu A.L., Sofletea N., Toader A.V., Enescu M.C. (2011)b: Leaf morphological and genetic differentiation between *Quercus robur* L. and its closest relative, the drought tolerant *Quercus pedunculiflora* K. Koch. *Annals of Forest Science* 68 (7): 1163-1172.

Danzmann R.G. (1997): PROBMAX: A computer program for assigning unknown parentage in pedigree analysis from known genotypic pools of parents and progeny. *Journal of Heredity* 88: 333.

Dengler A. (1941): Bericht über Kreuzungsversuche zwischen Trauben- und Stieleiche (*Quercus sessiliflora* Smith. und *Q. pedunculata* Ehrh. bzw. *robur* L.) und zwischen europäischer und japanischer Lärche (*Larix europaea* D. bzw. *decidua* Miller und *L. leptolepis* Murray bzw. *Kämpferi* Sargent.). *Mitt. der H.-Görling-Akad. der Dt Forstwiss* 1: 87-109.

Dodd R.S., Afzal-Rafii Z. (2004): Selection and dispersal in a multispecies oak hybrid zone. *Evolution* 58: 261–269.

Doligez A., Baril C., Joly H.I. (1998): Fine-Scale Spatial Genetic Structure with Nonuniform Distribution of Individuals. *Genetics* 148: 905–919.

- Dow B.D., Ashley M.V., Hove H.F.** (1995): Characterization of highly variable (GA/CT)_n microsatellites in the bur oak *Quercus macrocarpa*. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 137-141.
- Dow B.D., Ashley M.V.** (1996): Microsatellite analysis of seed dispersal and parentage of saplings in bur oak, *Quercus macrocarpa*. *Molecular Ecology* 5: 615-627.
- Dumolin-Lapégue S., Demesure B., Fineschi S., Le Corre V., Petit R.J.** (1997): Phylogeographic structure of white oaks throughout the European continent. *Genetics* 146: 1475-1487.
- Dupouey J.L., Badeau V.** (1993): Morphological variability of oaks (*Quercus robur* L., *Q. petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd.) in northeastern France: preliminary results. *Annals of Forest Science* 50: 35-40.
- Durand J., Bodénès C., Chancerel E., Frigerio J-M., Vendramin G., Sebastiani F., Buonamici A., Gailing O., Koelewijn H-P., Villani F., Mattioni C., Cherubini M., Goicoechea P.G, Herrán A., Ikarán Z., Cabané C., Ueno S., Alberto F., Dumoulin P-Y., Guichoux E., de Daruvar A., Kremer A., Plomion C.** (2010): A fast and cost-effective approach to develop and map EST-SSR markers: oak as a case study. *BMC Genomics* 11: 570.
- Earl D.A., von Holdt B.M.** (2012): STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4 (2): 359-361.
- El Mousadik A., Petit R.J.** (1996): High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L) Skeels] endemic to Morocco. *Annals of Forest Science* 92: 832-839.
- Ellis J.R., Burke J.M.** (2007): EST-SSRs as a resource for population genetic analyses. *Heredity* 99:125-132.
- Enescu V.** (1995): Genetische Ressourcen der Eichenarten in Rumänien: Durchführung, Aussichten und Überwachung. *Mitteilungen aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz* 34: 219-233.
- Epperson B. K. and Li T.** (1997): Gene dispersal and spatial genetic structure. *Evolution* 51 (3): 672-681.
- Excoffier L., Smouse P.E., Quattro J.M.** (1992): Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: applications to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Fernández J.F., López J., Sork L.V., Bohorques A., Gallego G., Tohme J.** (2000): Cross-Amplification of Microsatellite Loci in a Neotropical *Quercus* Species and Standardization of DNA Extraction from Mature Leaves Dried in Silica Gel. *Plant Molecular Biology Reporter* 18: 397a-397e.

- Ferris C., Oliver R.P., Davy A.J., Hewitt G.M.** (1993): Native oak chloroplasts reveal an ancient divide across Europe. *Molecular Ecology* 2: 337-344.
- Franji J., Liber Z., Škvorc Ž., Idžojti M., Šoštari R., Stan i Z.** (2006): Morphological and molecular differentiation of the croatian populations of *Quercus pubescens* Willd. (*Fagaceae*). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 75 (2): 123-130.
- Gellini R., Bussotti F., Bettini D., Grossoni P., Bottacci A.** (1992): Species of the genus *Quercus* in Italy: characterization by means of leaf surface observation. *Giornale Botanico Italiano* 126: 481-504.
- Gencsi L., Vancsura R.** (1997): *Dendrológia*. Mez gazda Kiadó, Budapest. pp: 230-259.
- Georgescu C.C., Ciobanu I.R.** (1964): Cercetari asupra anatomiei petiolului la speciile de *Quercus* apartinand seriilor Lanuginosae si Sessiliflorae din R. P. R.. *Studii si cercetari de Biologie seria Botanica* 3: 195-203.
- Georgescu C.C., Ciobanu I.R.** (1965)a: Considerations géographiques et écologiques sur les espèces de *Quercus* des séries Lanuginosae et Sessiliflorae de Roumanie. *Revue Roumaine de Biologie série de Botanique* 3: 199-207.
- Georgescu C.C., Ciobanu I.R.** (1965)a: Materiale de *Quercus* din ierbarul institutului de Sistematica si Geobotanica al Universitatii din Budapesta. *Studii si cercetari de Biologie seria Botanica* 3: 237-253.
- Georgescu C.C., Dihoru G.H., Ciobanu I.R.** (1963): Consideratii taxonomice asupra unor specii de *Quercus* din ierbarul Muzeului de Istorie Naturala din Budapesta. *Studii si cercetari de Biologie seria Biologie Vegetala* 4: 433-452.
- Georgescu C.C., Moraru I.** (1948): *Monografija stjarilor din Romania*. TIP. Universul S. A., Bucuresti.
- Gerber S., Chabrier P., Kremer A.** (2003): FaMoz: a software for parentage analysis using dominant, codominant and uniparentally inherited markers. *Molecular Ecology Notes* 3 (3) 479-481.
- González-Rodríguez A., Arias D.M., Valencia S., Oyama K.** (2004): Morphological and RAPD analysis of hybridization between *Quercus affinis* and *Q. laurina* (*Fagaceae*), two Mexican red oaks. *American Journal of Botany* 91: 401–409.
- Goudet J.** (1995): FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-statistics. *Heredity* 86: 485-486.
- Grivet D., Merg K., Sork V.** (2003): A new approach to studying contemporary gene flow through seeds. Paper presented to the Society for the Study of Evolution Annual Meetings, Chico, California, US, June 20-24. P217.
- Gugerli F., Walser J.-C., Dounavi K., Holderegger R., Finkeldey R.** (2007): Coincidence of Small-scale Spatial Discontinuities is Leaf Morphology and Nuclear Microsatellite

Variation of *Quercus petraea* and *Qu. robur* in a Mixed Forest. *Annals of Botany* 99: 713-722.

Hamrick J.L., Godt J.W., Sherman-Broyles S.L. (1992): Factors influencing levels of genetic diversity in woody plants. *New Forests* 6: 95–124

Hamrick J.L., Godt J.W., Sherman-Broyles S.L. (1992): Factors influencing levels of genetic diversity in woody plants. *New Forests* 6: 95-124. *cit. in* Mátyás Cs. (2002): Erdészeti-természetvédelmi genetika. Mez gazda Kiadó. Budapest. pp. 218-222.

Hardin J. W. (1975): Hybridization and introgression in *Quercus alba*. *J. Arnold Arbor.* 56: 336-363.

Hedge I.C., Yaltirik F. (1994): The oaks of Turkey. *Journal of the International Oak Society* 5: 3-21.

Hertel H., Degen B. (2000): Distinguishing indigenous pedunculate and sessile oak (*Quercus robur* L. and *Q. petraea* [Mattuschka] Liebl.) using genetic and morphological traits. (Unterscheidung von Stiel- und Traubeneichen (*Quercus robur* L. und *Quercus petraea* [Mattuschka] Liebl.) mit Hilfe von genetischen und morphologischen Merkmalen). *Forest Snow and Landscape Research* 75 (1/2): 169-183.

Himrane H., Camarero J.J., Gil-Pelegrín E. (2004): Morphological and ecophysiological variation of the hybrid oak *Quercus subpyrenaica* (*Q. faginea* × *Q. pubescens*). *Trees - Structure and Function* 18 (5): 566-575.

Höltken A.M., Gregorius H-R. (2006): Detecting local establishment strategies of wild cherry (*Prunus avium* L.). *BioMed Central Ecology* 6: 13.

Jensen R.J., Eshbaugh W.H. (1976): Numerical taxonomic studies of hybridization in *Quercus*. I. Populations of restricted areal distribution and low taxonomic diversity. *Systematic Botany* 1: 1-10.

Jump A.S., Peñuelas J. (2007): Extensive spatial genetic structure revealed by AFLP but not SSR molecular markers in the wind-pollinated tree, *Fagus sylvatica*. *Molecular Ecology* 16 (5): 95-36.

Kalinowski S.T., Taper M.L., Marshall T.C. (2007): Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology* 16: 1099-1006.

Kampfer S., Lexer Ch., Glössl J., Steinkellner H. (1998): Characterization of (GA)_n microsatellite loci from *Quercus robur*. *Hereditas* 129: 183–186.

Kanalas P., Szilasi E., Oláh V., Borovics A., Mészáros I. (2008): Small-scale variability in phenological, leaf morphological properties and isoenzyme pattern of sessile oak complex (*Lepidobalanus* sub-genus) in a sessile oak - Turkey oak forest stand. *Acta Biologica Szegediensis* 52 (1): 221-223.

- Kätzel R., Hertel H., Höhne I., König A.O.** (2002): Forsthistorische und genetische Untersuchungen in einigen ausgewählten Naturwäldern Brandenburgs. Beiträge für Forstwirtschaft und Landschaftsökologie, Berlin 36: 160-164.
- Kézdy P.** (1997)a: Molyhos tölgyek (*Quercus pubescens* Willd. és *Qu. virgiliana* Ten.) ökológiai és taxonómiai összefüggései. (El adás) Magyar Ökológus Kongresszus. El adások és poszterek összefoglalói. Pécs, 1997. június 26-29.
- Kézdy P.** (1997)b: Morphological Diversity and the Differentiation of Pubescent Oaks (*Quercus virgiliana* Ten. and *Qu. pubescens* Willd.) in Hungary. (Poster). Diversity and Adaptation in Oak Species. Proceedings of the second meeting of Working Party 2.08.05, Genetics of *Quercus*, of the IUFRO. State College, Pennsylvania, USA. 1997. október. pp: 12.-17.
- Kézdy P.** (2000)a: Natural hybridization in sympatric populations of *Quercus pubescens* Willd. and *Q. robur* L. A Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem Közleményei 59: 99-104.
- Kézdy P.** (2000)b: Taxonómiai kérdések a tölgykutatásban. Erdészeti Lapok 135 (5): 134-136.
- Kézdy P.** (2001): Taxonómiai vizsgálatok a hazai molyhos tölgy alakkörön (*Quercus pubescens* s.l.) PhD disszertáció. Nyugat-Magyarországi Egyetem. Sopron
- Kézdy P.** (2002): Taxonómiai vizsgálatok a hazai molyhos tölgy alakkörön (*Quercus pubescens* s.l.) mikromorfológiai bélyegek segítségével. Kitaibelia 7 (2): 109-117.
- Kissling P.** (1977): Les poils des quatre espèces de chênes du Jura (*Quercus pubescens*, *Q. petraea*, *Q. robur* et *Q. cerris*). Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft 87: 1-18.
- Kissling P.** (1979): Clef de détermination des chênes médioeuropéens (*Quercus* L.). Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft 90 (1/2): 29-44.
- Kleinschmit J.R.G.** (1995): Vergleich morphologischer und genetischer Unterscheidungsmerkmale bei Stieleiche (*Q. robur* L.) und Traubeneiche (*Quercus petraea* [Matt.] Liebl. Mitt. Forstl. Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz 34: 327-349.
- Kleinschmit J.R.G., Bacilieri R., Kremer A., Roloff A.** (1995)a: Comparison of morphological and genetic traits of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) and sessil oak (*Q. petraea* [Matt.] Liebl.). Silvae Genetica 44: 256-269.
- Kleinschmit J.R.G., Kremer A., Roloff A.** (1995)b: Sind Stieleiche und Traubeneiche zwei getrennte Arten? AFZ/Der Wald 26: 1453-1456. Kleinschmit J., Elsner G., Schlums K. (1996): Interspecific variation between *Quercus robur* and *Quercus petraea* for leaf morphological traits. In: Kremer, A., Muhs, H. J. (eds): Inter- and Intraspecific Variation in European Oaks: Evolutionary Implications and Practical Consequences, Office for Official Publications of the European Communities, Brussels, 3-16.

- Kleinschmit J.R.G., Kleinschmit J.** (1996): Interspecific hybridization between *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *In*: Kremer A., Muhs H.J. (eds): Inter- and Intraspecific Variation in European Oaks: Evolutionary Implications and Practical Consequences, Office for Official Publications of the European Communities, Brussels. pp: 69-85.
- Kleinschmit J., Kleinschmit J.G.R.** (2000): *Quercus robur* – *Quercus petraea*: A critical review of the species concept. *Glasnik* 37: 441-451.
- Knops J.F., Jensen, R.J.** (1980): Morphological and phenolic variation in a three species community of red oaks. *Bull. Torr. Bot. Club* 107: 418-428.
- König A.O., Stauber T.** (2004): Haplotypenbestimmung als Hilfsmittel: Die Zuordnung von Eichenbeständen zu ihren nacheiszeitlichen Gründerpopulationen bzw. Herkunftsregionen. *In*: Berichte zur Fachtagung: Vitalität und genetische Variabilität der Eiche in NordrheinWestfalen.
- Kremer A., Petit R., Zanetto A., Fougère V., Ducouso A., Wagner D., Chauvin C.** (1991): Nuclear and organelle gene diversity in *Q. robur* and *Q. petraea*. *In*: Müller-Starck G., Ziehe M. (eds.): Genetic variation in European populations of forest trees. Sauerländer Verlag, Frankfurt am Main. pp: 141-166.
- Kremer A., Petit R., Ducouso A., Le Corre V.** (1998)a: General trends of variation of genetic diversity in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. Proceedings of the Conference of IUFRO Working Party on Genetics of *Quercus*, State College Pennsylvania, USA 12-17 October, 1997. pp: 81-89.
- Kremer A., Petit R., Ducouso A.** (1998)b: Structure of gene diversity, gene flow and gene conservation in *Quercus petraea*. *In*: Turok J, Kremer A., de Vries S. (comp.): Report of the first EUFORGEN Meeting on Social Broadleaves. IPGRI, Rome. pp: 133-144.
- Kremer A., Dupouey J.L., Deans J.D., Cottrell J., Csaikl U., Finkeldey R., Espinel S., Jensen J., Kleinschmit J., v. Dam B., Ducouso A., Forrest I., Lopez de Heredia U., Lowe A.J., Tutkova M., Munro R.C., Steinhoff S., Badeau V.** (2002): Leaf morphological differentiation between *Quercus robur* and *Quercus petraea* is stable across western European mixed oak stands. *Annals of Forest Science* 59 (7): 777-787.
- Lascoux M., Petit R.J.** (2010): The 'New Wave' in plant demographic inference: more loci and more individuals. *Molecular Ecology* 19: 1075-1078.
- Le Corre V., Roussel G., Zanetto A., Kremer A.** (1998): Geographic structure of gene diversity in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. III. Patterns of variation identified by geostatistical analyses. *Heredity* 80: 464-473.
- Lepais O., Petit R. J., Guichoux E., Lavabre J. E., Alberto F., Kremer A., Gerber S.** (2009): Species relative abundance and direction of introgression in oaks. *Molecular Ecology* 18 (10): 2228–2242.

- Lepais O., Gerber S.** (2011): Reproductive patterns shape introgression dynamics and species succession within the European white oak species complex. *Evolution* 65 (1): 156-170.
- Lexer C, Kremer A, Petit R** (2006): Shared alleles in sympatric oaks: recurrent gene flow is a more parsimonious explanation than ancestral polymorphism. *Comment. Molecular Ecology* 15: 2007-2012.
- Lexer C., Buerkle C.A., Joseph J.A., Heinze B., Fay M.F.** (2007): Admixture in European *Populus* hybrid zones makes feasible the mapping of loci that contribute the reproductive isolation and trait differences. *Heredity* 98: 74-84.
- Magi D.** (2000): Premenlivos dubov a niektoré ich nové taxóny na slovensku. *Arboréta a premenlivos a introdukcia drevin, Lesnícky vyskumny ustav, Zvolen*: 27-37.
- Majer A.** (1972): Az erdészeti term helyértékelés rendszere. Céllállományok jellemzése. *in: Danszky I (szerk) (1972): Erd m velés I. Erd felújítás, erd telepítés, fásítás. Mez gazdasági Könyvkiadó, Budapest. pp: 102-113.*
- Majer A.** (1987): A kocsánytalan tölgy fajokról Dr. Mátyás Vilmos emlékének. *Az Erd* 9: 390-397.
- Majer A.** (1989): Beteiligung der Kleinarten der Traubeneiche (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) in den Populationen Ungarns. *Folia Dendrologica* 16: 179-194.
- Manos P.S., Doyle J.J., Nixon K.C.** (1999): Phylogeny, biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (*Fagaceae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 12: 333-349.
- Mantel N.** (1967): The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27: 209-220.
- Mariette S, Cottrell J, Csaikl U M, Goikoechea P, Konig A, Lowe A J, Van Dam B C, Barreneche T, Bodenes C, Streiff R, Burg K, Groppe K, Munro R C, Tabbener H, Kremer A** (2002): Comparison of Levels of Genetic Diversity Detected with AFLP and Microsatellite Markers within and among Mixed *Q. petraea* (MATT.) LIEBL. and *Q. robur* L. *Stands. Silvae Genetica* 3 (2-3): 72-79.
- Markert C.L.** (1977): Isozymes: the development of a concept and its application. *in: Rattazzi M., Scandalios J., Whitt G. (eds.) Izoenzymes: current topics in biological and medical research Vol. 6, New York. pp: 1-16.*
- Markert C.L., Moller F.** (1959): Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic and species specific patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (45): 753–763.
- Mátyás Cs. (szerk.)** (1996): Erdészeti ökológia. *Mez gazda Kiadó, Budapest. pp: 129-131.*

- Mátyás Cs.** (szerk.) (1998): Az erdei fás növények génmegőrzési alapelveinek kidolgozása (Az erdészeti genetikai erőforrások megőrzése c. nemzeti program vázlata). Természetvédelmi Hivatal, Budapest (*mscr.*)
- Mátyás Cs.** (1999): Molekuláris markerek alkalmazása az erdészeti növények nemesítésében. *in:* Hajósné Novák M. (szerk.) (1999): Genetikai variabilitás a növénynemesítésben. Mezőgazda Kiadó, Budapest. pp: 65-66.
- Mátyás Cs.** (szerk.) (2002): Erdészeti – természetvédelmi genetika. Mezőgazda Kiadó, Budapest. pp: 272-273., 333.
- Mátyás V.** (1962): Tölgyeink virágzás- és termésbiológiája, mint a magtermés fokozásának alapja. Erdészeti Kutatások 58: 5-35.
- Mátyás V.** (1967)a: A tölgyek dendrológiai ismertetése *in:* Keresztesi B. (szerk.) (1967): A tölgyek. Akadémiai Kiadó, Budapest. pp: 51-71.
- Mátyás V.** (1967)b: Vizsgálatok a tölgyek virágzás- és termésbiológiájáról. Egyetemi doktori értekezés. EFE, Sopron.
- Mátyás V.** (1970)a: Einführung in die Kenntnis der Eichenarten Ungarns. Erdészeti Kutatások 66 (2): 61-68.
- Mátyás V.** (1970)b: *Genus Quercus*. *In:* Soó R.: *Synopsis Florae vegetationsisque Hungariae* (A magyar flóra és vegetáció rendszertani-növényföldrajzi kézikönyve) IV. Akadémiai kiadó, Budapest. pp: 507-540.
- Mátyás V.** (1970)c: *Taxa nova Quercuum Hungariae*. Acta Botanica Academiae Scientiarum Hungaricae 16 (3-4): 329-361.
- Mátyás V.** (1971)a: A magyarországi kocsánytalan tölgyfajok alakkörének kritikai elemzése. Erdészeti Kutatások 67 (I): 43-96.
- Mátyás V.** (1971)b: Short taxonomic review of the oaks of Hungary. Erdészeti Kutatások 67 (II): 55-68.
- Mátyás V.** (1973)a: A molyhos tölgy taxonjai, ökológiája és term. helye. Kutatási jelentés. ERTI, Budapest.
- Mátyás V.** (1973)b: Magyarország kocsányos tölgyeinek alakjai. Erdészeti Kutatások 69 (I): 223-249.
- Mátyás V.** (1975): Magyarország molyhos tölgyei. Erdészeti Kutatások. 71: 125-147.
- Mátyás V.** (1983): Indumentológia. – Kutatási jelentés, Sárvár. (*mscr.*)
- Mátyás V.** (1986): Tölgyfajok, -változatok és -hibridek Magyarországon. Az Erdészeti Kutatások 10: 429-433.

- Moreau F., Kleinschmit J., Kremer A.** (1994): Molecular differentiation between *Q. robur* and *Q. petraea* assessed by Random Amplified DNA Fragments. *Forest Genetics* 1: 51-64.
- Muir G., Schlötterer C.** (2005): Evidence for shared ancestral polymorphism rather than recurrent gene flow at microsatellite loci differentiating two hybridizing oaks (*Quercus* spp.). *Molecular Ecology* 14 (2): 549-561.
- Müller-Starck G., Ziehe M.** (1991): Genetic Variation in population of *Fagus sylvatica* L., *Quercus robur* L., and *Quercus petraea* Liebl. in Germany. *In: Müller-Starck G., Ziehe M.* (eds.) Genetic variation in European populations of forest trees. Sauerländer, Frankfurt. pp. 125-140.
- Nei M.** (1972): Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-92.
- Neophytou Ch., Dounavi A., Aravanopoulos F.A.** (2008): Conservation of Nuclear SSR Loci Reveals High Affinity of *Quercus infectoria* ssp. *veneris* A. Kern (*Fagaceae*) to Section *Robur*. *Plant Molecular Biology Reporter* 26: 133–141
- Nixon K.C.** (1993): Infrageneric classification of *Quercus* (*Fagaceae*) and typification of sectional names. *Annals of Forest Science* 50: 25-34.
- Oakflow** Final Report (2004): OAKFLOW: Intra and interspecific gene flow in oaks as mechanisms promoting diversity and adaptive potential. EU-programme: 5. Frame Research Programme 1.1.5 Sustainable agriculture, fisheries and forestry. EU project number: QLK5-2000-00960
- Peakall R., Smouse P.E.** (2006): GenAEx 6.4: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- Petit R.J., Kremer A., Wagner D.B.** (1993)a: Geographic structure of chloroplast DNA polymorphisms in European oaks. *Theoretical and Applied Genetics* 87: 122-128.
- Petit R.J., Wagner D.B., Kremer A.** (1993)b: Ribosomal DNA and chloroplast DNA polymorphisms in a mixed stand of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Annals of Forest Science* 50: 41-47.
- Petit R.J., Demesure B., Pineau E., Kremer A.** (1995): Genetische Differenzierung in lokalem und kontinentalem Ausmaß bei europäischen Eichenarten: die Bedeutung geschichtlicher Faktoren. *Mitt. Forstl. Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz* 34: 22-37.
- Petit R.J., Demesure B., Pineau E.** (1996): Chloroplast DNS (cpDNA) variation at a local and continental scale in European oak species: the importance of historical factors. *In: Kremer A., Muhs H. J.* (eds): Inter- and Intraspecific Variation in European Oaks: Evolutionary Implications and Practical Consequences, Office for Official Publications of the European Communities, Brussels. pp. 145-164.

- Petit R.J., Pineau E., Demesure B., Bacilieri R., Ducouso A., Kremer A.** (1997): Chloroplast DNA footprints of postglacial recolonization by oaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 94: 9996-10001.
- Petit R.J., El Mousadik A., Pons O.** (1998): Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* 12: 844-855.
- Petit R.J., Csaikl U.M., Bordacs S., Burg K., Coart E., Cottrell J., van Dam B., Deans J.D., Dumolin-Lapegue S., Fineschi S., Finkeldey R., Gillies A., Glaz I., Goicoechea P.G., Jensen J.S., Konig A.O., Lowe A.J., Madsen S.F., Matyas G., Munro R.C., Olalde M., Pemonge M.-H., Popescu F., Slade D., Tabbener H., Turchini D., de Vries S.G.M., Ziegenhagen B., Kremer A.** (2002): Chloroplast DNA variation in European white oaks - Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management* 56 (1): pp. 5-26.
- Podani J.** (1997): Bevezetés a többváltozós biológiai adatfeldtárás rejtelmeibe. *Scientia Kiadó*. Budapest. pp. 145, 264-271.
- Pons J., Pausas J.G.** (2007): Not only size matters: acorn selection by the European jay (*Garrulus glandarius*). *Acta Oecologica* 31: 353-360.
- Požgaj J.** (1986): Blätterverändlichkeit des Eichenindividuums in der Sektion *Dascia* KY. in der Slowakei. *Folia dendrologica* 13: 85-108.
- Požgaj J.** (1990): Vyšky semená ikov pôvodnych dubov slovenska na experimentálnom „Quercetáriu” ifáre a ich tie omilnost. *Lesnictvi* 36: 381-394.
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P.J.** (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Rushton B.S.** (1977): Artificial hybridization between *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl. *Watsonia* 11: 229-236.
- Salvini D., Bruschi P., Fineschi S., Grossoni P., Kjaer E.D., Vendramin G.G.** (2009): Natural hybridisation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. within an Italian stand as revealed by microsatellite fingerprinting. *Plant Biology* 11 (5): 758-765.
- Samuel R., Pinsker W., Ehrendorfer F.** (1995): Electrophoretic analysis of genetic variation within and between populations of *Quercus cerris*, *Q. pubescens*, *Q. petraea* and *Q. robur* (*Fagaceae*) from eastern Austria. *Botanica Acta* 108: 290-299.
- Schüte G.** (1995): Kontrollierte Kreuzungen und Entwicklung der Hybriden von Stiel- und Traubeneiche (*Quercus robur* L. und *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.). *Mitt. Forstl. Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz* 34: 38-49.
- Schwarz O.** (1936): Monographie der Eichen Europas und des Mittelmeergebietes. *Feddes Repetorium*, Dahlem-Berlin.

- Scotti-Saintagne C., Mariette S., Porth I., Goicoechea P.G., Barreneche T., Bodenes C., Burg K., Kremer A.** (2004): Genome scanning for interspecific differentiation between two closely related oak species (*Quercus robur* L. and *Qu. petraea* (Matt.) Liebl.). *Genetics* 168: 1615-1626.
- Simon T.** (1994): A magyarországi edényes flóra határozója. 2. Kiadás. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest. pp. 627-630.
- Simonkai L.** (1890): Hazánk tölgyfajai és tölgyerdei (*Quercus et Querceta Hungariae*). MTA Kiadvány, Budapest.
- Smouse PE, Peakall R** (1999): Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity* 82: 561-573.
- Soó R.** (1970): *Synopsis Florae vegetationsisque Hungariae* (A magyar flóra és vegetáció rendszertani-növényföldrajzi kézikönyve) IV.- Akadémiai kiadó, Budapest. pp. 507-540.
- Sork V, Grivet D, Smouse P** (2004): A new approach to the study of seed dispersal: a temperate example for tropical systems. Annual meeting of the Association for Tropical Biology and Conservation "Geographic and Conceptual frontiers of tropical biology", Miami, Florida, USA, July 12-16.
- StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104, phone: (918) 749-1119, fax: (918) 749-2217, email: info@statsoft.com, WEB: <http://www.statsoft.com>
- Steinhoff S.** (1998)a: Results of *Quercus* Hybridization Work from 1989-1996 at Escherode (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.). Proceedings of the Conference of IUFRO Working Party on Genetics of *Quercus*, State College Pennsylvania, USA 12-17 October, 1997. 156-164.
- Steinhoff S.** (1998)b: Kontrollierte Kreuzung zwischen Stiel- und Traubeneiche: Ergebnisse und Folgerungen. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung* 169: 163-168.
- Steinkellner H., Fluch S., Turetschek E., Lexer C., Steiff R., Kremer A, Burg K., Glössl J.**(1997): Identification and characterization of (GA/CT)_n microsatellite loci from *Quercus petraea*. *Plant Molecular Biology* 33: 1093-1096.
- Streiff R., Ducouso A., Lexer C., Steinkellner H., Gloessl J., Kremer A.** (1999): Pollen dispersal inferred from paternity analysis in a mixed oak stand of *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *Molecular Ecology* 8: 831-842.
- Valbuena-Carabaña M., González-Martínez S.C., Hardy O.J., Gil L.** (2007): Fine-scale spatial genetic structure in mixed oak stands with different levels of hybridization. *Molecular Ecology* 16 (6): 1207-19.
- Valbuena-Carabaña M., González-Martínez S.C., Sork V.L., Collada C., Soto A., Goicoechea P.G., Gil L.** (2005): Gene flow and hybridisation in a mixed oak forest (*Quercus*

pyrenaica Willd. and *Quercus petraea* (Matts.) Liebl.) in central Spain. *Heredity* 95 (6): 457-65.

Varshney R.K., Graner A., Sorrells M.E. (2005): Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends in Biotechnology* 23 (1): 48-55.

Vekemans X., Hardy O.J. (2004): New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology* 13: 921-935.

Viscosi V., Lepais O., Gerber S., Fortini P. (2009)a: Leaf morphological analyses in four European oak species (*Quercus*) and their hybrids: A comparison of traditional and geometric morphometric methods. *Plant Biosystems* 143 (3): 564-574.

Viscosi V., Fortini P., Slice D.E., Loy A., Blasi C. (2009)b: Geometric morphometric analyses of leaf variation in four oak species of the subgenus *Quercus* (*Fagaceae*). *Plant Biosystems* 143 (3): 575-587.

Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van Hornes D.L.T., Freijters M.A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. (1995): AFLP a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.

Weiser F. (1964): Probleme der Auswahl und Ergebnisse der Erkundung autochtoner Herkünfte von Stiel- und Traubeneiche (*Quercus robur* L. und *Quercus petraea* [Matt.] Liebl.) in der Volksrepublik Rumänien für Anlaga von Provenienzversuchen. *Archiv für Forstwesen* 8: 843-862.

Weising K., Nybom H., Wolff K., Kahl G. (2005): DNA Fingerprinting in Plants Principles, Methods and Applications. CRC Press, Boca Raton. pp. 7-14, 251, 270

White T.L., Adams W.T., Neal D.B. (2007): Forest genetics. CABI Publishing, Cambridge. pp. 179-181.

Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers *Nucleic Acids Research* 18: 6531-35.

Williams J.H., Boecklen W.J., Howard D.J. (2001): Reproductive processes in two oak (*Quercus*) contact zones with different levels of hybridization. *Heredity* 87: 680-690.

Zanetto A., Kremer A. (1995): Geographical structure of gene diversity in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. I. Monolocus patterns of variation. *Heredity* 75: 506-517.

Zanetto A., Roussel G., Kremer A. (1994): Geographic variation of interspecific differentiation between *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *Forest Genetics* 1: 111-123.

Online hivatkozások:

Erd térkép – Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal: <http://erdoterkep.mgszh.gov.hu/> (2012-06-15)

Erd törvény: 2009. évi XXXVII. törvény az erdőről, az erdő védelméről és az erdőgazdálkodásról – Bp.: Országgyűlés, 2009. május. 25. – V. Fejezet. http://net.jogtar.hu/jr/gen/hjegy_doc.cgi?docid=A0900037.TV#lajlparam (2012-06-19)

EVOLTREE SNP Database: <http://www.evoltree.eu/index.php/snp>. (2012-04-23)

Quercologist: Határozóprogram a Kárpát-medence tölgyfajainak meghatározásához: (<http://ngt-erdeszt.emk.nyme.hu/quercologist/default.htm>). (2012-04-23)

Quercus Portal EST Database: <https://w3.pierroton.inra.fr/QuercusPortal/index.php?p=est>). (2012-04-23)

