

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

A PLATÁNLEVÉL-SÁTOROSMOLY (*PHYLLONORYCTER PLATANI* STAUDINGER 1870)

POPULÁCIÓGENETIKAI VIZSGÁLATA

KÉSZÜLT A NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM

ROTH GYULA ERDÉSZETI ÉS VADGAZDÁLKODÁSI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLÁJA

E1 ERDEI ÖKOSZISZTÉMÁK ÖKOLÓGIÁJA ÉS DIVERZITÁSA PROGRAM KERETÉBEN

TÓTH VIKTÓRIA

TÉMAVEZETŐ: DR. LAKATOS FERENC

SORSZÁM: 338

SOPRON, 2014

**A PLATÁNLEVÉL-SÁTOROSMOLY (*PHYLLONORYCTER PLATANI* STAUDINGER 1870)
POPULÁCIÓGENETIKAI VIZSGÁLATA**

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében,
a Nyugat-magyarországi Egyetem Roth Gyula Erdészeti és Vadgazdálkodási Tudományok Doktori
Iskolája, E1 Erdei ökoszisztémák ökológiája és diverzitása programjához tartozóan.

Írta:
Tóth Viktória

Témavezető: Dr. Lakatos Ferenc

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:

Kivonat	3
Abstract	4
Bevezetés	5
2. Célkitűzések	7
3. Szakirodalmi áttekintés	8
3.1. A platánlevél-sátorosmoly elterjedése és tápnövényválasztása	8
3.2. A platánlevél-sátorosmoly parazitoidjai, és az ellenevaló védekezés lehetőségei	13
3.3. A platánlevél-sátorosmoly genetikai vizsgálata	14
3.4. Populációgenetikai vizsgálatok molekuláris módszerei	15
4. Anyag és módszer	20
4.1. A platánlevél-sátorosmoly morfológiája és életmenete	20
4.2. Mintavételezés és molekuláris biológiai módszerek	22
4.3. Adatelemzés	27
5. Eredmények	33
5.1. A 28S rDNS szekvenciák vizsgálata	33
5.2. A COI szekvenciák vizsgálatának általános eredményei	35
5.3. A platánlevél-sátorosmoly populációgenetikája	39
6. Megvitatás	60
6.1. Genetikai markerek	60
6.2. Itra- és interspecifikus divergencia	60
6.3. Populációgenetika	61
7. Összefoglaló, tézisek	67
Köszönetnyilvánítás	71
Irodalom jegyék	72
Elektronikus hivatkozások jegyzéke	83
Melléklet	85

Kivonat

A jelölt a disszertációban a platánlevél-sátorosmoly (*Phyllonorycter platani* STAUDINGER 1870) 26 populációjának földrajzi és genetikai mintázatát vizsgálta. A COI gén 1243bp hosszú szakaszán 227 egyed alapján 20 haplotípust lehetett elkülöníteni. A 28S rDNS 530 bp hosszú szakaszán 35 egyed alapján két allélt sikerült kimutatni. A COI, és a 28S rDNS markerekkel kapott divergencia értékek alapján a *P. platani* valamennyi vizsgált populációja genetikai értelemben is egy fajnak tekinthető.

A *P. platani* populációk térbeli genetikai mintázatán a génáramlás múltbeli és jelenkori eseményei egyaránt kimutathatóak. Jelen adatok két refugium terület (Balkán-félsziget és a Kaukázus) létezését támogatják. A kis-ázsiai refugium terület és az átmeneti haplotípusok felderítéséhez további mintavételezés szükséges. A faj valószínűleg Törökországon át jutott el a Közel-Keletre és a Kaukázusba. A kis-ázsiai populáció haplotípus összetétele alapító hatásra utal. A közép-ázsiai populációk homogenitása és a kaukázusi populáció magas diverzitásából feltételezhető, hogy a *P. platani* napjainkban a Kaukázus térségéből terjeszkedik Közép-Ázsiába. A *P. platani* Európán belüli populációdinamikájára a kis effektív populációméretből induló gyors demográfiai expanzió hatása a legmarkánsabb. Az észak-amerikai populáció esetén az elemzések jelenkori gyors demográfiai expanzióra utalnak. Ennél a populációnál megerősítésre került, hogy a faj a közelmúltban Európából kerülhetett át.

Abstract

The population genetic study of the plane leaf miner (*Phyllonorycter platani* STGR. 1870)

In this study we analysed the phylogenetical pattern of 227 individuals from 26 populations of the plane leafminer (*Phyllonorycter platani*). 20 haplotypes were detected on the 1243bp long fragment of the mitochondrial DNA (COI gene). On the 530bp long fragment of the 28S rDNA 2 alleles were identified. The influence of recent and past gene flow were detected on the phylogeographical pattern of the plane leaf miner. The genetic patterns revealed at least two refugia during the last ice-age, one of them is located in the Southern part of the Balkan Peninsula, the other in the Caucasus. Population from Asia Minor shown up founder effect. The diversity pattern of the asian clade suggests a recent colonization of Central Asia from the Caucasus. The rapid expansion from a small effective population is the most important demographical effect on the european population. For the North American population our analyses suggest a recent rapid demographic expansion. The European origin of this population has been confirmed.

1. Bevezetés

Napjainkban egyre nagyobb gazdasági és természetvédelmi problémát jelent a jövevényfajok emelkedő száma. A DAISIE 2008-as adatai szerint az Európába behurcolt gerinctelen állatfajok száma meghaladja az 1500-at, melynek túlnyomó többsége a rovarok közül kerül ki (több mint 1300 faj). A tendenciákat tekintve Európában 2000-2008 között évente átlagosan 19,6 újonnan betelepült vagy behurcolt idegenhonos faj jelent meg, ebből átlagosan 1,9 az új lepkefajok száma. Tovább súlyosbítja a helyzetet, hogy ez a szám folyamatosan emelkedik és a század közepén mért értékhez képest, mintegy megduplázódott. (Lopez-Vaamonde *et al.* 2010; Roques 2010)

A hazai viszonyokra vonatkozó legfrissebb elemzés szerint, az utóbbi 30 évben több erdei rovarfaj jelent meg, mint az azt megelőző száz évben, illetve a fa- és cserjefajokhoz kötődő jövevényfajok több mint 20%-a Európán belülről származik (Csóka *et al.* 2012).

Az európai invázió ízeltlábúak 6,1-10%-a a *Lepidoptera* rendből kerül ki (2008-ban ez 97 fajt jelentett) (Lopez-Vaamonde *et al.* 2010). A DAISIE listáján szereplő jövevény lepke fajok közül Magyarországon több mint 86 faj van jelen (Pastoralis 2010; Varga 2010), ami a hazai invázió rovarok 26%-át teszi ki (Tuba *et al.* 2012). Az adatbázis készítése óta eltelt időszakban számuk tovább emelkedett.

Az európai jövevény lepkefajok 28,9%-a ázsiai, 21,6%-a afrikai, 16,5%-a észak-amerikai, 7,2%-a ausztráliai és 5,2%-a trópusi eredetű. Ezen fajok 20 családból kerülnek ki, melyeket az alábbi fajszerzőkkel lehet jellemezni: *Pyralidae* (30), *Tortricidae* (10), *Gracillariidae* (8), *Tineidae* (7), *Noctuidae* (6), *Gelechiidae* (6), *Blastobasidae* (5), *Yponomeutidae* (4), *Oecophoridae* (4), *Cosmopterigidae* (3), *Saturniidae* (3), *Pterophoridae* (2), *Nymphalidae* (2), valamint a *Bucculatricidae*, *Agonoxenidae*, *Lycaenidae*, *Geometridae*, *Arctiidae*, *Nolidae* és a *Castniidae* családok 1-1 fajjal. (Lopez-Vaamonde *et al.* 2010)

A *Gracillariidae* család több mint 1900 fajt számlál. Ezek közül az egyik legfajgazdagabb a *Phyllonorycter* nemzetség a maga közel 400 fajával. A nemzetség az egész világon elterjedt, főként a mérsékelt övben fordul elő. Közös jellemzőjük, hogy lárvastádiumban aknázó életmódot folytatnak. Gazdanövényeik köre igen változatos, tápnövényeik több mint 30 növény családból kerülnek ki, zömmel oligofágok. (De Prins *et al.* 2009; Davis & De Prins 2011)

A család 8 inváziós faja közül az egyik jelentősebb a platánlevél-sátorosmoly (*Phyllonorycter platani* STAUDINGER 1870) (Šefrová 2003; Lopez-Vaamonde *et al.* 2010). Inváziójának

története Európában jól dokumentált, kezdetét a 19. század második felére teszik (3.6-1. ábra) (Šefrová 2001, 2003). Magyarországon 1918-ban figyelték meg először, de hazánkban már ekkor is stabil populációval rendelkezett (Kadocsa 1922).

A korai felismerés, a terjedési mechanizmusok pontos megismerése és az ismeretek terjesztése segíthet a jövevényfajok terjedésének lassításában, kártételük mérséklésében (Hrubík & Kollár 2007; Roques *et al.* 2009; Csóka *et al.* 2012).

A populáció ökológiai vizsgálatok fontos részét képezi a genetikai diverzitás mérése, melynek jellemzése klasszikus és molekuláris biológia módszerekkel egyaránt történhet (Bereczki 2008; Forister *et al.* 2008; Vila *et al.* 2009; Hickerson *et al.* 2010; Avtzis & Aravanopoulos 2011; Kress & Erickson 2012). A *Phyllonorycter platani* genetikai kutatottsága alacsony, elsősorban a nemzetség filogenetikai elemzésével összefüggésben vannak génbanki (*web1*) adatai. A dolgozat a fent említett modell szervezet populáció genetikai vizsgálatával kíván hozzájárulni az invázió biológiai ismeretek bővítéséhez.

2. Célkitűzések

1. A *Phyllonorycter platani* genetikai struktúrájának feltárása.
2. Hozzájárulni a faj filogeográfiai viszonyainak feltárásához.
3. A *P. platani* őshonos elterjedési területének tisztázása. Európából hurcolták be Észak-Amerikába, vagy pedig Észak-Amerikából került át Európába? Kimutathatóak-e refúgium területek?
4. Tisztázni, hogy mely faktorok játszottak szerepet a napjainkban tapasztalható genetikai diverzitás kialakításában. Van-e a populációk között földrajzi izoláció? Amennyiben kimutatható izoláció, milyen térléptékben valósul meg?

3. Szakirodalmi áttekintés

3.1. A platánlevél-sátorosmoly elterjedése és tápnövényválasztása

A fajt *Lithocolletis platani* néven Staudinger írta le 1870-ben a Comoi-tó partjáról (Staudinger 1870), illetve *Lithocolletis felinella* néven Észak-Amerikából is leírásra került *Platanus racemosa* NUTT. taxonról (Heinrich 1920), ahol ezen kívül több platán faj is megtalálható (Feng *et al.* 2005; Lozada 2007).

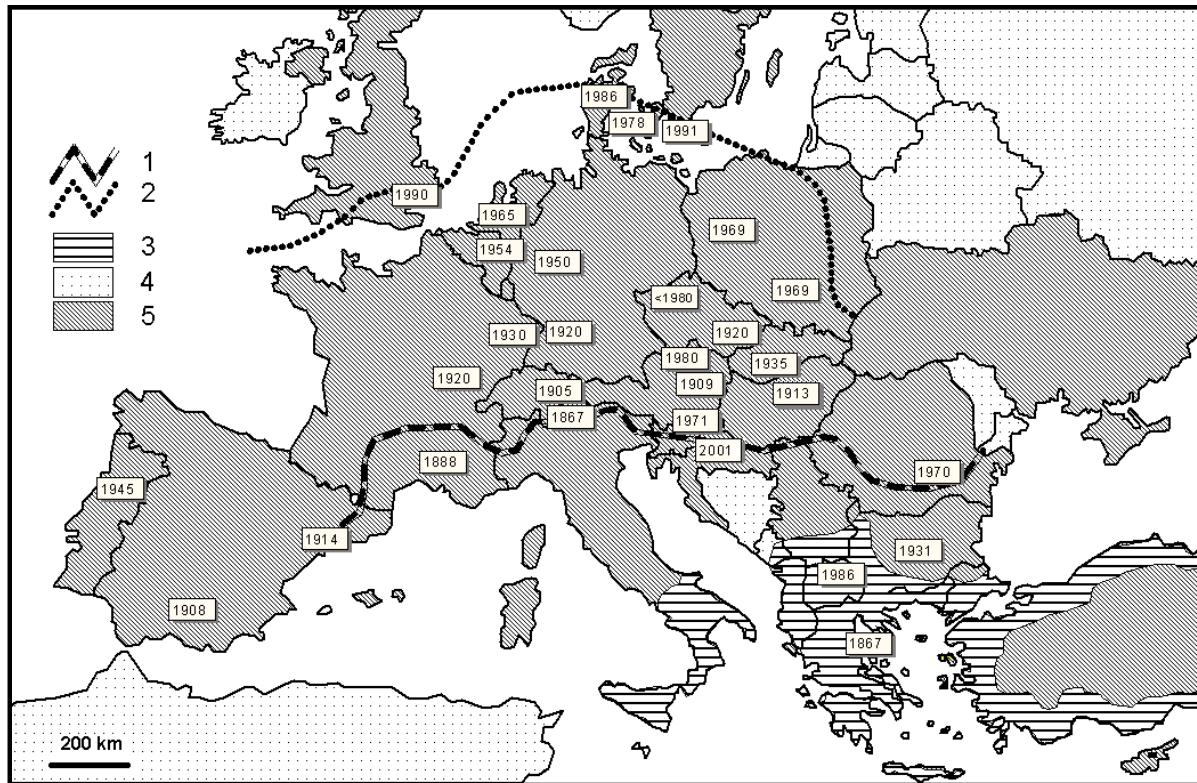


3.1-1. ábra: A nemi (fotó: Ian Kimber, web7)

Inváziójának története Európában jól dokumentált (3.1-2. ábra), kezdetét a 19. század második felére teszik (Šefrová 2001). Az inváziós folyamat lefolyása több ugrással északi és északnyugati irányban történt (Šefrová 2003). A *P. platani* átlagos terjedési sebességét 10km/évre becsülik (Šefrová 2001). Terjeszkedése anemochor, antropochor úton (a bábokat tartalmazó platán levelekkel, vagy a csemeték elszállításával) valósul meg (Šefrová 2001). Ezt erősen limitálják a klimatikus viszonyok, a parazitoidok és az ember (Šefrová 2001, 2003).

Európán kívül kimutatták Észak-Afrikából, a Kaukázusból, Közép-Ázsiából (Kazahsztán, Tadzsisztán, Türkmenisztán), Kis-Ázsiából (Izrael, Irán, Szíria), a Krími-félszigetről (Vasil'eva & Shkarlet 1989; Kuznetsov 1990; Deschka 1995; Lees 2010), valamint az USA-ból. Az amerikai kontinensről kizárólag Kaliforniából származnak irodalmi adatai (Heinrich 1920; Burke 1933; Koehler & Campbell 1968; Gates *et al.* 2002). Valószínűleg Észak-Amerikában nem okoz számottevő problémát, mert a Forest Pest of North America adatbázis nem tartja nyilván a platán kártevői között (web 9). A Discover Life (web 10) 8 adata és a BOLD (web 8) adatbázisban szereplő 2 amerikai minta is kizárólag Kaliforniából származik.

Deschka (1995) holarktikus fajnak tekinti. Šefrová (2001) szerint a platánlevél-sátorosmoly Dél-Európában őshonos. A 2010-es BIORISK kiadványában ismeretlen eredetű fajként jelölik, mivel amerikában is megtalálható, és az ott őshonos *Platanus occidentalis*-t szintén világszerte ültetik (Lopez-Vaamonde *et al.* 2010). Az ellentmondás tisztázását részben a tápnövény választás kapcsán tesszük meg, részben a genetikai vizsgálatok is erre irányulnak.



3.1-2. ábra: A platánlevél-aknázómoly inváziója Európában (Šefrová 2001 után módosítva)

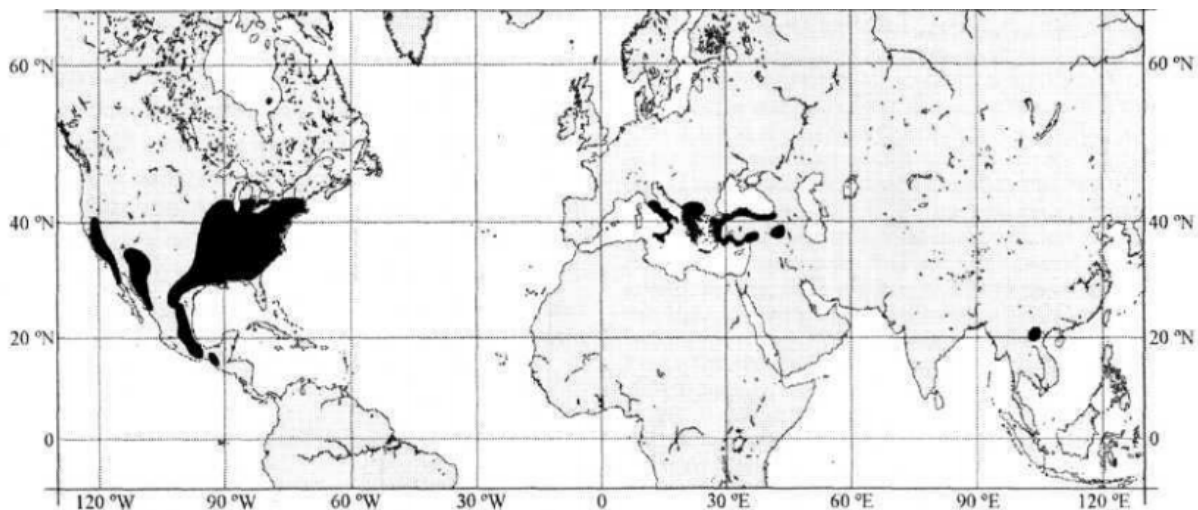
Jelmagyarázat: 1: platánlevél-aknázómoly terjeszkedése 1900-as évekig, 2: terjeszkedése 1990-es évekig, 3: *Platanus orientalis* természetes areája Európában, 4: ahonnan még nem mutatták ki a platánlevél-sátorosmolyt, 5: igazolt jelenlét

A platánlevél-sátorosmoly monofág faj, és a *Phyllanorycter* nemzetségen belül ritkák a tápnövény váltások. Ha be is következnek, akkor is csak az eredeti tápnövény közeli rokonsági körén belül történik (Lopez-Vaamonde *et al.* 2006). A specializációt csak növeli, hogy aknázó rovar lévén a tápnövény "belső-élősködője" (internal feeders), ezért meglehetősen kifinomult interakció van a gazdanövény és herbivor rovar között. A tápnövények kérdése azért is érdekes, mert Észak-, és Közép-Amerika területén több platán faj fordul elő, míg Európában

mindössze csak egy faj őshonos (Feng *et al.* 2005; Lozada 2007). Továbbá rendkívül széleskörben ültetik őket.

A gazdanövény választás kapcsán kiegészítettük a Global Taxonomic Database of Gracillariidae (web 3) adatait, így módon a platánlevél-sátorosmoly tápnövényére 71 adatot nyertünk ki, ebből 55 faj szintű közlés 15 pedig csak nemzetséget jelöl (*melléklet 1. táblázat*). A továbbiakban ebből az 55 fajszintű hivatkozásból számoltunk fajonkénti hivatkozási gyakoriságot.

Gazdanövényei a platán (*Platanus*) nemzetségből kerülnek ki, eddig *Platanus orientalis* L., *P. occidentalis* L., *Platanus acerifolia* (AIT.) WILLD., valamint *P. racemosa* NUTT. taxonokról mutatták ki (Lees 2010).



3.1-3. ábra: A *Platanus* nemzetség elterjedési térképe (Feng *et al.* 2009)

A *Platanus* nemzetségben 7-9 fajt tartanak nyilván (3.1-3. ábra) a különböző szerzők (Feng *et al.* 2005; Grimm & Denk 2008). A platánok a mérsékeltövi és szubtrópusi városok egyik legjelentősebb dísz, illetve sor fái (Liu & Bao 2003) - Párizsban az ültetett fák 40%-át képezik, Londonban pedig jóval e fölött van az arányuk (Besnard *et al.* 2002). Ezért is okoz különös gondot platánlevél-sátorosmoly támadásának következtében a fák esztétikai károsodása és korai lombvesztése (Heinrich 1920; Györfi 1941; Halperin 1990).

A *P. orientalis* (3.1-4. ábra) Kelet-Európa mediterrán régiójában, Törökországban (Feng *et al.* 2005), valamint Közép-Ázsiában egészen Kasmírig honos, azonban elterjedési területét

pontosan megadni lehetetlen, mivel az ókortól ültetik (Santamour & Jackot McArdle 1986). Elterjedésének legnyugatibb határát Olaszországban (Szicíliában, Calabriában, Apuliában és Campaniában) húzzák meg a mediterrán régióban (Caruso *et al.* 2008). Sok helyen kultikus faként tisztelik, és a természetgyógyászatban is felhasználják, ami tovább nehezíti az őshonosság tisztázását (Dafni 2006; Tashev & Tsavko 2008). Ezeken a területeken folyó- és patakmenti ligeterdőkben állományalkotó vagy elegyfaj, ezen kívül bükkösök, feketefenyvesek, és láperdők elegyfajja (Evrendilek & Doygun 2000; Uzunov *et al.* 2000; Lozada 2007; Imeri *et al.* 2010; Uysal 2010). A platánlevél-sátorosmollyal foglalkozó szakirodalomban leggyakrabban (42%) ezt a fajt említik tápnövényeként (3.1-5. ábra). Gyakorlatilag a *P. orientalis* természetes areáját (3.1-2. ábra) tartják a platánlevél-sátorosmoly potenciális természetes elterjedési területének (Šefrová 2001, 2003).



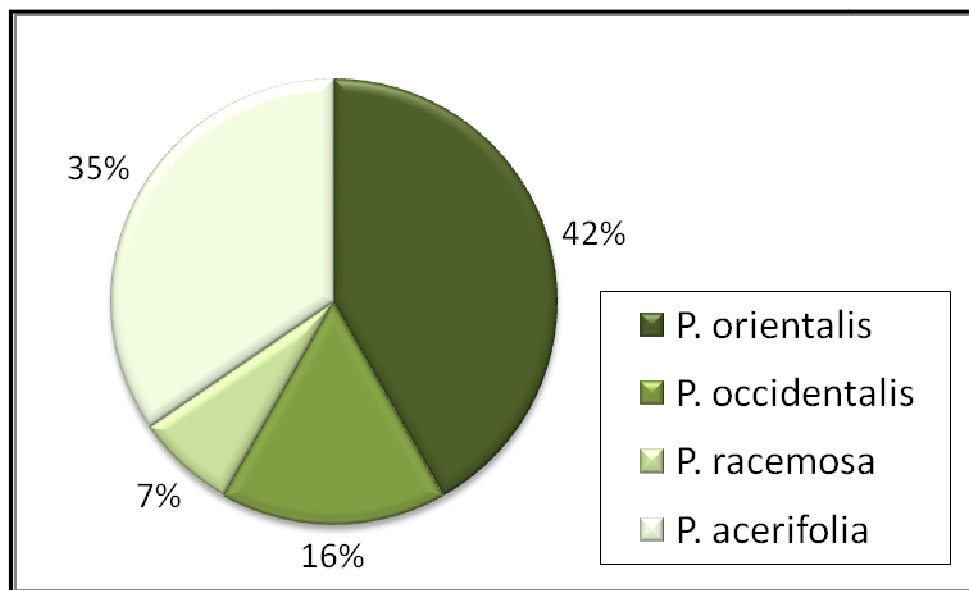
3.1-4. ábra: A *Platanus orientalis* által képviselt élőhelyek (a szerző saját felvételei)

A *P. occidentalis* Észak-Amerika keleti felében őshonos, a Préri keleti felétől Main, Ontario, Minnesota, Texas és Florida államokban elterjedt (Santamour & Jackot McArdle 1986; Feng *et al.* 2005), ugyanakkor világszerte széles körben ültetik (Warrick & Williams 1991; Anonymous 2000; Wu *et al.* 2003). A platánlevél-sátorosmoly tápnövényeire vonatkozó hivatkozások mindössze 16%-a jelöli meg tápnövényként (3.1-5. ábra).

A *P. racemosa* Észak-Amerika nyugati felében – Közép- és Dél-Kaliforniában – őshonos (Santamour & Jackot McArdle 1986; Feng *et al.* 2005). Kizárólag Észak-Amerikából említik a platánlevél-sátorosmoly tápnövényeként - európai adata nincsen. A tápnövények közül a platánlevél-sátorosmollyal foglalkozó szerzők ezt a fajt jelölik meg legkevesebbszer

gazdanövényként (7%, 3.1-5. ábra) (Heinrich 1920; Burke 1933; Koehler & Campbell 1968; Gates *et al.* 2002). Bár ezen alacsony érték összefügg azzal is, hogy a rovar észak-amerikai elterjedése még nem kikutatott. Valószínűsíthető, hogy ezt a platán fajt kolonizálta legkésőbb.

A *Platanus acerifolia*-t a világ mérsékeltövi és szubtrópusi területein mindenütt ültetik (Liu & Bao 2003). Taxonómiai helyzete a mai napig nem tisztázott egyértelműen. Az egyik elmélet szerint a *P. orientalis* és a *P. occidentalis* között Amerika felfedezését követően megszűnt a földrajzi izoláció, és Európa, ill. Észak-Amerika több pontján képeztek hibrideket, és meglehetősen változatos átmeneti alakjaik jöttek létre (Besnard *et al.* 2002). Az első hibrideket herbáriumai anyagok alapján az 1670-es évekből azonosították az Oxford Botanic Garden-ből (Santamour & Jackot McArdle 1986; Besnard *et al.* 2002). A tápnövények közül, az egyik szülőfaj (*P. orientalis*) után a leggyakrabban említett tápnövény (35%, 3.1-5. ábra). Számos fajtája (cultivar) létezik, melyek különböző rezisztenciával rendelkeznek egy-egy kórokozóval, vagy károsítóval szemben (Santamour & Jackot McArdle 1986).



3.1-5. ábra: A platánlevél-sátorosmoly tápnövény választásának gyakoriság megoszlása különböző platán taxonok (*Platanus spp.*) esetén

Kimutatták, hogy a különböző platán taxonoknak (*Platanus spp.*) eltérő a platánlevél-sátorosmoly fertőzöttsége (Halperin 1990, Lakatos *et al.* 2012, Szallay 1980). Izraelben például összehasonlító vizsgálatokat végeztek három platán fajon, és megállapították, hogy a *Platanus acerifolia* fertőzöttsége négyszerese a *P. orientalis* fertőzöttségének, míg a *P.*

occidentalis fertőzöttsége jóval alacsonyabb volt a két fajhoz képest (Halperin 1990). Szallay (1980) megfigyelései szerint „még a platán változatok között is különbséget tesz”. Később ezt célzott kutatásokkal is alátámasztották, különböző *P. acerifolia* fajtáknak is eltérő a fogékonysága a károsítókkal szemben (Lakatos *et al.* 2012).

Mivel a platánlevél-sátorosmoly szoros kapcsolatban áll gazdanövényével, a legjobban preferált fajhoz tudott legjobban alkalmazkodni, valószínűleg ezt hosszabb ideje is kolonizálta. A platánlevél-sátorosmolyt eddig összesen 4 platán taxonról írták le, és az elemzés szerint a platánlevél-aknázómoly az Európában őshonos keleti platánon (*Platanus orientalis*), illetve az ehhez kémiai és fiziológiai tulajdonságaiban is leginkább hasonló (Rieseberg & Soltis 1987) juharlevelű platánon (*P. acerifolia*) fordul elő leggyakrabban. A moly eredeti elterjedési területe feltételezhetően megegyezik a *P. orientalis* természetes elterjedési területével. A hibrid taxon (*P. acerifolia*) széleskörű kertészeti alkalmazását követően, erre, az eredeti tápnövényhez legközelebbi rokonsági viszonyban álló tápnövényre váltott.

A tápnövény preferencia ismerete lényeges, mivel új területre kerülve a monofág fajok is képesek bizonyos fokú gazdanövényváltásra a tápnövény szűk rokonsági körén belül (Lopez-Vaamonde 2004). Ez Észak-Amerikában be is következett, amikor is *P. racemosa*-ról mutatták ki. Valószínűsíthető, hogy Észak-, illetve Közép-Amerikában található további platán fajok szintén megfelelő tápnövényként szolgálnak számára.

3.2. A platánlevél-sátorosmoly parazitoidjai és az ellenevaló védekezés lehetőségei

A *P. platani* leggyakoribb parazitoidjai a *Minotetrastichus platanellus* Mercet., *Pedobius saulius* Walker és a *Minotetrastichus frontalis* Nees (Girardoz *et al.* 2007; Marković & Stojanović 2012). A *P. platani* parazitáltsága Szerbiában 15,0- 37,8 %, Bulgáriában (10 faj) 18,33 – 28,49 %, Svájcban (9 faj) 1,1 – 27,3%, Nagy-Britanniában (16 faj) 37%, Németországban (19 faj) 7-45%, Izraelben (9) 2-42% (Halperin 1990; Godfray *et al.* 1995; Girardoz *et al.* 2007; Marković & Stojanović 2012). A rokon fajok parazitáltsága igen eltérő, pl. a *Cameraria ohridella* parazitáltsága maximum 10%, ugyanakkor 80% feletti a *Phyllonorycter leucographella* esetén (Šefrová 2003; Girardoz *et al.* 2007). A parazitáltság mértéke összefügghet azzal, hogy a *P. leucographella* terjeszkedése már régebben befejeződött, a *P. platani*-é viszont csak mostanra érhetett el Európában az elterjedési terület maximumát (Šefrová 2003).

Šefrovà (2003) szerint azonban elsősorban a téli mortalitás és nem a parazitáltság szabályozza leghatékonyabban a platánlevél-sátorosmoly populációinak nagyságát, ezt támasztja alá Bürgés és mts. (1997) eredménye is az 50%-os téli mortalitást illetően.

Mivel báb formájában telet át az avarban (Movsesyan 1980; Szalay 1980; Kuznetsov 1990; Bürgés *et al.* 1997; Šefrovà 2001, 2003), a legegyszerűbb és mind a mai napig legeredményesebb módszer a lehullott levelek összegyűjtése és megsemmisítése, égetéssel, vagy komposztálással (Györfi 1941; Bürgés *et al.* 1997). Korábban történtek kísérletek a kémiai védekezés alkalmazására, de ezek vagy kevésbé hatásosak, mint az egyszerű mechanikai módszerek, vagy környezetvédelmi szempontok miatt már nem engedélyezett a használatuk (Koehler & Campbell 1968; Movsesyan 1980; Bürgés *et al.* 1997). Ugyanakkor biztató, hogy a biológiai védekezés jegyében a szintetikus (Z10)-tetradecenyl acetát tartalmú feromoncsapdákat eredményesen alkalmazták terepi vizsgálatok során (Mircheva & Subchev 2007).

3.3. A platánlevél-sátorosmoly genetikai vizsgálata

A faj genetikai kutatottsága alacsony. A GenBank-ban (web1) mindössze 3 nukleotid szekvencia szerepel. A citokróm-oxidáz I. (továbbiakban COI) génjére 2 egyed (Rougerie *et al.* 2011), és a 28S riboszómális RNS génjére 1 egyed (Lopez-Vaamonde *et al.* 2003). Míg az előbbi parazitoid darazsak gyomortartalmát analizálta és a vizsgálat a fő gazda szervezet azonosítására irányult, addig a második cikk a *Phyllonorycter* genus filogenetikai távolságát és a tápnövény filogenetikai távolságát elemezte a tápnövény váltásokkal összefüggésben.

A 'Barcode of Life Database' (BOLD, web8) adatbázisában összesen 18 szekvencia szerepel a COI 5'-vég felőli szakaszára.

A *P. platani* 31 egyedből álló európai és amerikai mintái alapján (Lakatos *et al.* 2008) 4 haplotípust (a továbbiakban HT) különítettek el a COI gén 3'-vég felőli 520 bp hosszú szakaszának vizsgálata alapján.

3.4. Populációgenetikai vizsgálatok molekuláris módszerei

A '90-es évek közepétől a különböző PCR alapú eljárások váltak elterjedté, melyek közül a nem-klasszikus (humán, ecet muslica, egér...) modellszervezetek populáció genetikai vizsgálatához a mikroszatellita elemzések, és a DNS szekvenálás a leghatékonyabbak (Schlötterer 2004).

3.4.1. Mikroszatellita elemzés

Rövid ismétlődő (1-6 nukleotid) motívumokból épülnek fel (pl. CTCTCTCT...) (Zhang 2004). A nukleáris genomban nagy számban vannak jelen, és az ismétlődések számában megjelenő magas polimorfizmus teszi őket kedvelté a populáció genetikai vizsgálatokhoz (Schlötterer 2004).

Alkalmazhatóságuk különböző taxonok esetén erősen eltérő (Nevè & Meglécz 2000). Lepkéknél (Lepidoptera) kevésbé alkalmazhatóak, mivel rengeteg nehézségbe ütközik a mikroszatellita lokuszok izolációja (Nevè & Meglécz 2000; Zhang 2004; Vila *et al.* 2009). Ez elsősorban abból adódik, hogy a mikroszatelliták kis kópiaszámában vannak jelen, és más taxonokhoz képest a markert szegélyező szakasz (flanking régió) több lokuszon is egyforma (Nevè & Meglécz 2000). Ezek a tulajdonságok arra utalnak, hogy a Lepidoptera genomban található mikroszatellita lokuszok evolúciósan korai fejlődési stádiumban vannak (Zhang 2004).

A Gracillariidae családban 6 mikroszatellita lokuszt írtak le, melyet *Cameraria ohridella* fajra dolgoztak ki és ezen kívül 20 fajra tesztelték le a családból, köztük az általunk is vizsgált *P. platani*-ra is (Mari Mena *et al.* 2008).

3.4.2. DNS szekvenálás

A szekvencia elemzés adja a legfinomabb léptékű genetikai információt, valamint teljes információt ad az analizált régióról (Schlötterer 2004).

Számos mitokondriális és sejtmagi gént használnak filogenetikai és filogeográfiai munkákra. A kétszárnyúak (Diptera) esetén a különböző PCR amplifikációhoz alapvetően 11 mitokondriális és sejtmagi gént használnak (Gibson *et al.* 2011). A lepkéknél (Lepidoptera) (mtDNS 3; nDNS 14): mitokondriális COI, CR, ND1, sejtmagi arginin-kináz (ArgK), CAD,

DDC, GAPDH, IDH, MDH, RpS5, RpS2, elongation faktor-1 alfa (EF-1 α), wingless (Wg), 28S rDNS, 18S rDNS, ITS1, ITS2 gént alkalmazzák genetikai markerként (Guillén *et al.* 2001; Vila & Björklund 2004; Katoh *et al.* 2005; Lopez-Vaamonde *et al.* 2006; Mahendran *et al.* 2006; Wahlberg & West Wheat 2008; Kawakita & Kato 2009; Mutanen *et al.* 2010; Wan *et al.* 2011).

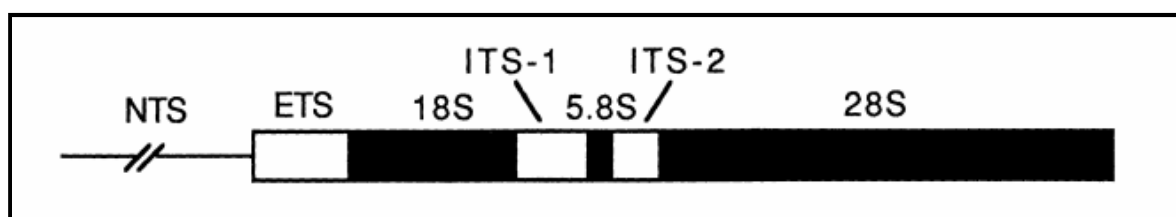
Amit szem előtt kell tartani a genetikai vizsgálatok során, hogy bármely genetikai markert (gént) vizsgáljuk, a gének saját fejlődéstörténettel, evolúcióval rendelkeznek és történetük bár összekapcsolódik az adott élőlényel, de nem feltétlenül egyezik meg teljesen a faj, vagy populáció történetével (Ballard & Whitlock 2004). A gén egyedi történetéből adódó hibát esetleg ki lehet küszöbölni a sokgénese, multilókuszos vizsgálatokkal, ez esetben robusztusabb eredményeket kapunk (Lin & Danforth 2004; Hajibabaei *et al.* 2007; Wahlberg & West Wheat 2008; Hickerson *et al.* 2010).

Bizonyos esetekben mégis egyetlen genetikai marker használatát támogatják, például a „barcode” (*web8*) program esetén, ennek oka, hogy ebben az esetben a cél minél több élőlényről költség és idő takarékos, jól használható információ nyerése (Hajibabaei *et al.* 2007; Frézal & Leblois 2008).

a, Sejtmagi rDNS

A sejtmagi riboszomális DNS (rDNS) a riboszomális RNS-t kódoló gének (18S, 5.8S és 28S alegységet kódoló gének) és a köztes („spacer”) régiók (ITS1, ITS2, ETS és NTS) közös neve (3.8-1. ábra) (Hillis & Dixon 1991).

Maga a riboszóma rRNS-ből és a hozzákapcsolódó fehérjékből épül fel, feladata a fehérjék szintézise, ezért esszenciális a sejtműködés szempontjából (Hillis & Dixon 1991). A különböző alegységek eltérő sebességgel változnak. A 18S és az 5.8S viszonylag konzervatívak (Hillis & Dixon 1991).



3.4-1. ábra: A sejtmagi rDNS gének (Hillis & Dixon 1991)

A 28S különböző, eltérő sebességgel fejlődő alegységekből (doménekből) épül fel (Hillis & Dixon 1991). A D1-D12 alegységek erősen konzerváltak (Houge *et al.* 1995), a D1-D3 alegységet Hymenoptera-k és Lepidoptera-k esetén is használják filogenetikai vizsgálatokra (Lopez-Vaamonde *et al.* 2001a; Lopez-Vaamonde *et al.* 2003; Lopez-Vaamonde *et al.* 2006).

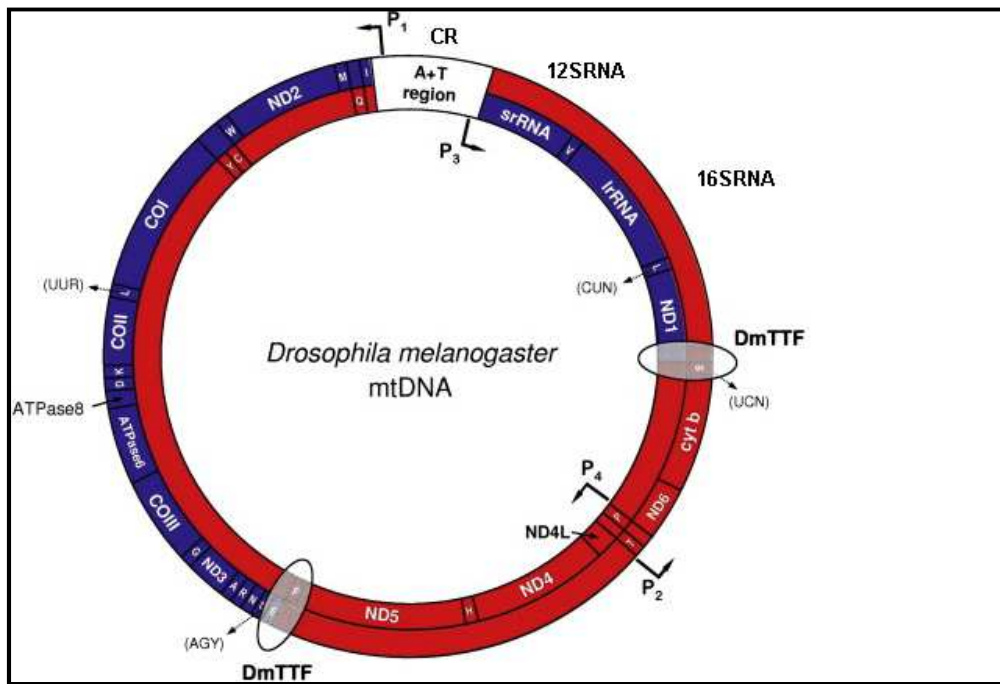
Az ITS szekvenciák fejlődése viszonylag gyors, ezért szívesen alkalmazzák közel rokon fajok filogenetikai kutatására, valamint populációgenetikai vizsgálatokra (Schlötterer *et al.* 1994; Ji *et al.* 2003; Mahendran *et al.* 2006; Cech 2011).

A riboszomális DNS több kópiában, „tandem repeat” formában van jelen a genomban, az egyes kompartmenteken bekövetkező mutációnak előbb el kell terjednie az összes kópián, azaz homogenizálódniuk kell (Schlötterer *et al.* 1994; Cech 2011). Ebből adódik az ITS régió alkalmazási korlátja is, ha az új mutációk gyorsabban jelennek meg, mint ahogyan elterjednének a tandem repeatek között, akkor, egyetlen egyedben belül is sokszoros ITS variánsokat találhatunk (Schlötterer *et al.* 1994; Cech 2011).

b, Mitokondriális markerek

A mitokondriális DNS (mtDNS) gyűrű alakú (cirkuláris) és duplaszálú. Hossza hozzávetőlegesen 15 000 – 17 000 bázispár (a továbbiakban bp). Ez kb. 1/10 000 része a legkisebb emlős genomoknak. Összesen 36 gént kódol, ebből 24 az mtDNS saját transzlációjáért felelős rendszert kódolja, a többi a glükóz oxidatív foszforilációjáért felelős enzimrendszereket. (Ballard & Whitlock 2004)

A mitokondriális DNS markerek (3.4-2. ábra) kedveltek a populációgenetikai, filogeográfiai kutatásokban, mivel nagy kópiaszámban találhatóak meg a sejtekben, általában uniparentális öröklődésűek, és nem érinti őket a rekombináció (Elias *et al.* 2007; Hajibabaei *et al.* 2007; Hickerson *et al.* 2010). A mitokondriumok nagy kópiaszáma különösen olyan problémás élőlények, vagy szövetek esetén jelent előnyt, ahol a kinyerhető sejtmagi DNS mennyisége csekély. Ennek oka lehet, hogy az adott élőlény erősen szklerotinizált (pl. rovarok), esetleg a mintául használt szövet erősen elszarusodott (toll, szőr), illetve nagy zsírtartalommal rendelkezik. Fontos lehet még az igen kicsiny, vagy régi (múzeumi gyűjtemények) mintáknál is.



3.4-2. ábra: A mitokondriális DNS gén térképe (Roberti *et al.* 2009)

A fent említett kedvező tulajdonságok azonban nem minden élőlény esetén valósulnak meg (Ballard & Whitlock 2004; Hickerson *et al.* 2010), ami az eredmények hibás interpretációjához is vezethet. Az állatvilágban például a mtDNS a legtöbb esetben nem rekombinálódik. Ez alól azonban kivétel a *Mytilus galloprovincialis* kagyló (Ballard & Whitlock 2004), vagy részleges bipaternális öröklődés lép fel a harmatlegyeknél, madaraknál és az embernél (Ballard & Whitlock 2004). Az mtDNS divergenciájának sebessége rovaroknál átlagosan 2-9x gyorsabb – mivel a javító (repair) mechanizmusok kevésbé hatékonyan működnek a mitokondrumban –, és homopláziára hajlamosabb, mint a fehérjét kódoló nDNS (Lin & Danforth 2004; Larsen *et al.* 2005).

A mitokondriális DNS szekvenciaeredmények értelmezésekor figyelembe kell venni egy másik potenciális hibaforrást, nevezetesen a sejtmagi pszeudogének (numts) jelenlétének lehetőségét. Ezek nem mások, mint a mtDNS-nek bizonyos szomatikus mutációja, mely megjelenik a sejtmagi DNS-ben (Ballard & Whitlock 2004). Az egyedekben szövet specifikus szomatikus mutációk halmozódhatnak fel az életciklus alatt és meghamisítják a genetikai diverzitás értelmezését (Ballard & Whitlock 2004). Főleg filogeográfiai kutatásokban jelenthetnek hibaforrást, mint, ahogyan azt *Ips typographus* esetén feltárták (Bertheau *et al.* 2011). A nukleáris pszeudogének speciális esetben mindössze 1-3 bp-ban térnek el a valódi

haplotípusoktól és általában a kodon 3. pozícióra esnek (Bertheau *et al.* 2011). Jelentős részük a szekvenciákon kettős leolvasás („double peak”) formájában jelentkezik, ez segíthet a kiszűrésükben (Bertheau *et al.* 2011).

A mitokondriális markerek érzékenyebbek az effektív populáció méret, a terjedő képesség, szaporodási stratégia megadására, palacknyak hatás kimutatására stb. (Kerdelhué *et al.* 2002).

Összességében pro és kontra számos tanulmány szól a mtDNS alkalmazhatósága mellett és ellen, azonban nem szabad elfelejteni, hogy tökéletesen alkalmazható, univerzális módszer még nem született. Az eredmények interpretálásánál mindenkor figyelembe kell vennünk az adott módszer korlátait és csak ennek alapos ismeretében nyilatkozhatunk nyugodt lelkiismerettel saját adataink felől.

COI (Citokróom-oxidáz C I-es alegység, 3.4-2. ábra)

Ez a mitokondriális marker számos felhasználási területtel bír. Állatfajok esetén ez a leggyakrabban használt „barcode” szakasz, azaz sikerrel alkalmazható faji azonosításra. Alkalmas filogenetikai vizsgálatokra, de olyan speciális filogeográfiai, populáció genetikai kérdések tisztázására is, mint például a tápnövény-herbivor rovar együttesek genetikai diverzitásának elemzése különböző földrajzi régiók között (Lunt *et al.* 1996; Ritzlerow *et al.* 2004; Elias *et al.* 2007; Hajibabaei *et al.* 2007; Frézal & Leblois 2008; Craft *et al.* 2010; Avtzis & Aravanopoulos 2011; Dinca *et al.* 2011). Ugyanakkor faji azonosításra történő alkalmazásánál fokozott körültekintéssel kell használni, mert a fragment méretétől és lokalizációjától függően változhat a divergencia értéke, illetve bizonyos nemzetségek esetén átfedés lehet az intra- és interspecifikus szekvencia divergenciák értéktartományában (Roe & Sperling 2007; Wiemers & Fiedler 2007). Azonban hosszabb fragmentek (1000 bp felett) használatával minimalizálni lehet a taxonok közötti varianciában (divergenciában) a véletlen szerepét (Roe & Sperling 2007).

4. Anyag és módszer

4.1. A platánlevél-sátorosmoly morfológiája és életmenete

A Gracillariidae családra jellemző módon az imágók fején előre álló sárgás fejszőrzet található (3.1-1. ábra). Az első pár szárnyon hosszanti világos tősvan. A szárnyak felső és belső szegélyén is 4-4 ékecske található. A tősvan és az első pár ékecske feketén szegélyezett, ezüstös színű. A szárnyak alapszíne sárgásbarna. Az első pár szárny csúcán fekete pont van. Szárnyfesztávolsága 9-10mm. (Gozmány 1956; Mészáros & Szabóky 2005)



4.1-1. ábra: A *P. platani* L2-es (bal oldali kép) és L6-os (jobb oldali kép) lárva stádiumai (a szerző saját felvételei)

Tenyésztési vizsgálatokban 6 lárva stádiumot különítettek el (Zilahy-Sebess 1942). **L1:** a fiatal hernyó hossza 0,5 mm, lábai nincsenek, a fej háromszög alakú, a száj prognath. Csak a szivacsos-parenchimából táplálkozik és 3-4 mm átmérőjű foltaknát rág. **L2-L3:** a potrohgyűrűk olyan szélesek, mint a fej, és a test elkeskenyedése a tornál kezdődik (4.1-1. ábra). Kígyóaknát rág. **L4:** megjelennek a láb dudorok, mely jobb mozgást tesz lehetővé, ezért a kígyóaknát is magába foglaló foltaknát készít. **L5:** a toron kifejlett ízeltlábak és a 3., 4., 5. valamint 9. portohgyűrűn állábak jelennek meg. Legfontosabb morfológiai változás, hogy a száj hypognath állású lesz, így az állat képes lesz az oszlopos-parenchimát is elfogyasztani. Az ürülék az akna közepén helyezkedik el. **L6:** az előző lárva stádiumhoz képest nem történik morfológiai változás (4.1-1. ábra). Mivel az oszlopos réteg nagy részét is elfogyasztja, ezért a megtámadott részekben a levél elhal. Az epidermisz összeráncolását szövedékével segíti elő, így alakul ki a nemzettségre jellemző sátorakna (4.1-2. ábra). A kifejlet hernyó 6-8 mm hosszú. (Györfi 1941; Zilahy-Sebess 1942)

A lárvák aknázó életmódot folytatnak. Az általuk okozott kárkép jellegzetes. Az aknák általában a levél fonákján (4.1-2. ábra) helyezkednek el (Zilahy-Sebess 1942; Kuznetsov

1990). Számuk extrém esetben a 90-100-at is elérheti egyetlen levélen (van Frankenhuyzen 1983; Halperin 1990; Šefrová 2001, 2003), területük átlagosan 1-6 cm² között változik, de feljegyeztek 14 cm² nagyságú aknát is (Győrfi 1941). Egy átlagos méretű levél esetén 25 db átlagos nagyságú aknával számolva 37,5%-át károsítja a levélnek (Győrfi 1941).



4.1-2. ábra: A *P. platani* lárva által okozott kárkép tipikus sátor aknával a levél fonákján (a szerző saját felvételei)

A nemzetségen belül a báb morfológiája alapján viszonylag jól el lehet különíteni a fajokat. A potroh dorsalis felszíne teljesen egyenetlen, kisebb gödrök vannak az elülső szegélyen és néhány nagyobb a hátsón, ez jó néhány más *Phyllonorycter* fajhoz hasonló tulajdonság. A cremasteren két pár horgos van (4.1-3. ábra), melynek segítségével a báb rögzíti magát a kokonhoz. A horgok egyenlő nagyságúak és egyenlő távolságban helyezkednek el egymástól néhány esetben a belső horgok disztális vége nem görbül be. Laza, lencseszerű kokont sző, ebben bábozódik. A báb 4-5 mm, esetleg 4-6 mm hosszú. (Győrfi 1941; Zilahy-Sebess 1942; De Prins *et al.* 2003)



4.1-3. ábra: A *P. platani* bábja és a cremaster a horog szerű képletekkel (a szerző saját felvételei)

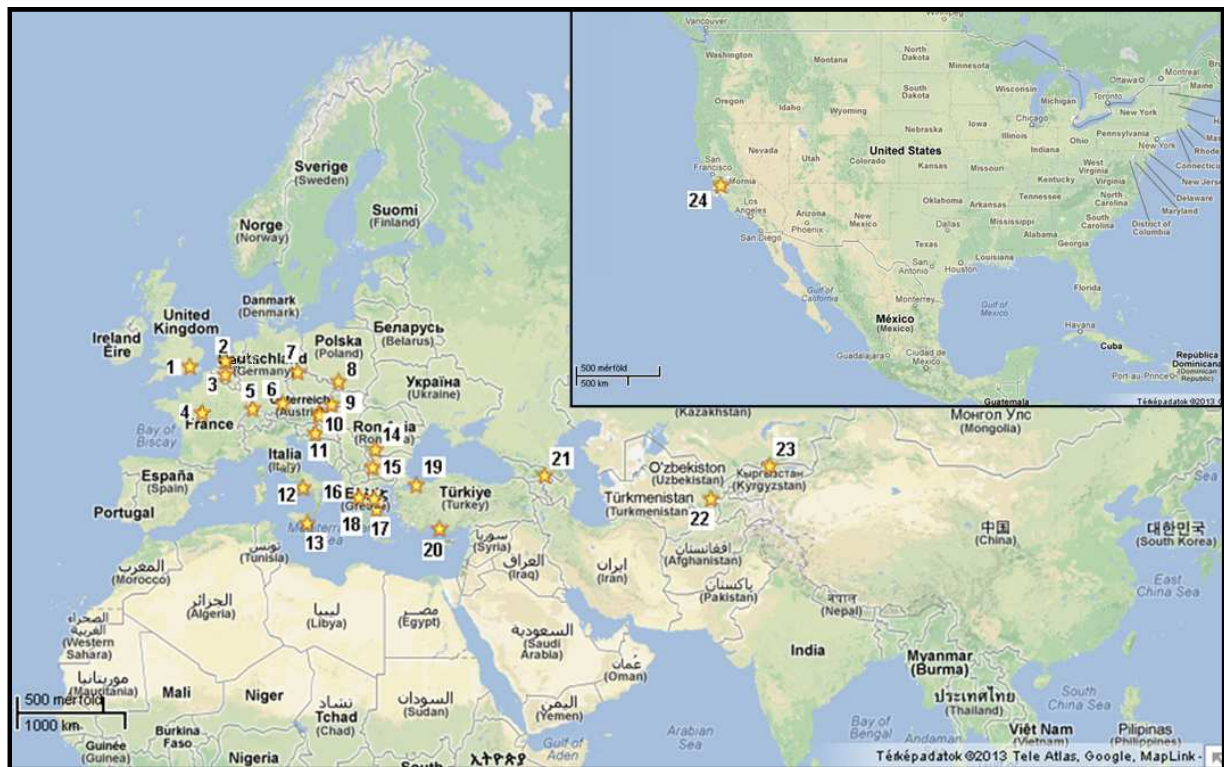
Az éghajlat függvényében Európában évente 2-4 generációja lehet (Šefrová 2001, 2003; Marković & Stojanović 2012). Izraelben, ahol hosszabb a vegetációs periódus, évente 6, átfedő generációját figyelték meg (Halperin 1990). Hazánkban 2 nemzedékben rajzanak (VI-VII. és VIII-XI.) (Csóka 2003; Mészáros & Szabóky 2005). Tömegszaporodása esetén károsítása korai lombhulláshoz vezet (Heinrich 1920; Györfi 1941; Halperin 1990).

4.2. Mintavételezés és molekuláris biológiai módszerek

4.2.1. Mintavételezés

A mintavételezés 2007-2013 között zajlott. Mintáinkat 13 európai, 1 kaukázusi (Grúzia), 2 közép-ázsiai országból (Üzbegisztán, Kirgizisztán), Kis-Ázsiából (Törökország), valamint Észak-Amerikából (USA, Kalifornia) gyűjtöttük (4.2-1. ábra, valamint melléklet 2. táblázat). Összesen 26 populáció egyedeiből vettünk mintát. A faji azonosítás kárkép (akna elhelyezkedése és alakja) és a gazdanövény alapján történt. Az aknákból lárva és báb alakban gyűjtöttük az egyedeket. Törekedtünk arra, hogy egy-egy helyen több faegyedről legalább 10-20 egyedet gyűjtsünk be. Szabályszerű mintavételezés Biskek, Brüsszel, Csongrád, Dávod, Diósvizsló, Hajós, Milopotamos, Rotterdam populációk esetén nem volt kivitelezhető, mivel a helyszínen 10-nél kevesebb egyedet lehetett begyűjteni, továbbá Antalya esetén egyetlen fa egyedről történt a mintavételezés. Az elemzésekhez kulcsoportként a *Phyllonorycter issikii* (Kumata 1963) fajt választottuk, melyet a genust érintő filogenetikai vizsgálatokban a *P. platani* egyik legközelebbi rokonának tartanak (Lopez-Vaamonde *et al.* 2006).

A lárvákat és bábokat feldolgozásig 4°C-on, 99,7%-os etanolban tároltuk.



4.2-1. ábra: Mintavételi helyek

Ábramagyarázat: 1. London (UK), 2. Rotterdam (NL), 3. Brüsszel (BE), 4. Sèvres (FR), 5. Freiburg (DE), 6. Freising (DE), 7. Drezda (DE), 8. Katowice (PL), 9. Nyitra (SK), 10. Sopron (HU), 11. Zágráb (CR), 12. Pompei (IT), 13. Pantalica (IT), 14. Craiova (SR), 15. Szófia (BG), 16. Kastraki (GR), 17. Steni Dyrfis (GR), 18. Milopotamos (GR), 19. Isztambul (TR), 20. Antalya (TR), 21. Telavi (GE), 22. Szamarkand (UZ), 23. Biskek (KY), 24. Monterey (CA, USA); Térképek forrása: Google Maps

4.2.2. DNS izolálás

A DNS kivonása és a PCR reakciók kivitelezése a Nyugat-magyarországi Egyetem Erdőmérnöki Kar, Erdőművelési és Erdővédelmi Intézet Genetika laboratóriumában történt. Az elemzésekhez 227 egyedből vontunk ki DNS-t.

A DNS kivonásához minden esetben egész példányt használtunk. A DNS kivonását GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich) segítségével hajtottuk végre Mammalian Tissue Preparation protokoll szerint. A DNS-t 50 µl leoldó folyadékban vettük fel az oszlopról. Kivételt képez 4 egyed melyből a DNS izolálás E.Z.N.A.® Tissue DNA Kit-tel, illetve 3 egyed, melyekből AquaGenomic Kit-tel történt. A DNS mintákat további felhasználásig -20°C-on tároltuk.

A tisztított DNS detektálása 2%-os agarózon gélelektroforézissel történt.

4.2.3. PCR (Polymerase Chain Reaction, polimeráz lánreakció)

A kiválasztott DNS szakaszt Eppendorf Matercycler PCR készüléken szaporítottuk fel. 35 ciklust használtunk. A kétirányos szekvenálathoz felhasznált reakcióelegy összetételét a 4.1-1. táblázat tartalmazza.

Mivel egyetlen molekuláris marker evolúciója sem feleltethető meg maradéktalanul az adott taxon, vagy populáció evolúciós eseményeivel ezért célszerű több markert is megvizsgálni (Lopez-Vaamonde *et al.* 2001a; Lopez-Vaamonde *et al.* 2003; Ballard & Whitlock 2004).

4.2-1. Táblázat: A PCR reakciók során alkalmazott reagensek („master mix”)

ddH ₂ O	15,525 µl
Colorless Go Taq Flexi Buffer (Promega)	7,000 µl
MgCl ₂ (Promega)	2,100 µl
dNTPs (10mM) (Fermentase)	0,700 µl
F (10µM) (Bio-Science)	3,500 µl
R (10µM) (Bio-Science)	3,500 µl
Go Taq DNS polimeráz (Promega)	0,175 µl
DNS	2,500 µl
végtérfogat	35,000 µl

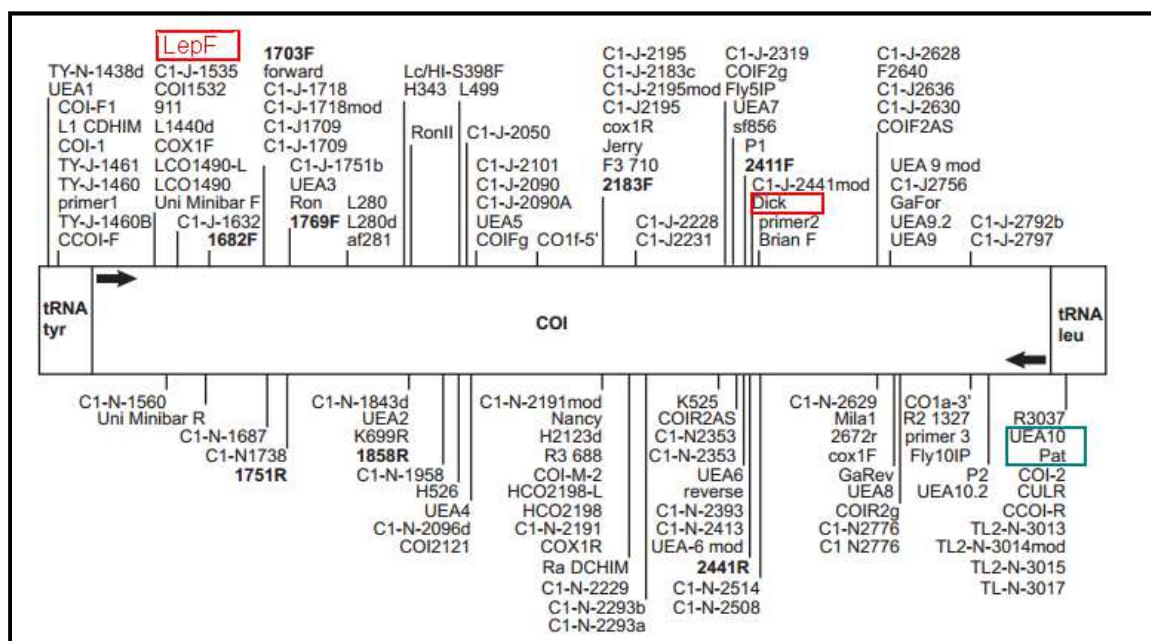
a, 28S rDNS

A *P. platani* 35 egyedét választottuk ki, úgy, hogy lehetőleg több eltérő COI haplotípust reprezentáljanak (melléklet 2. táblázat). Külső kontrollként a *Phyllonorycter isikii* 5 - általunk megmintázott-, egyedét használtuk fel. A PCR reakcióhoz a 4.2-2. táblázatban szereplő primer párt használtuk fel a Lopez-Vaamonde és mts. (2001) által megadott termociklus paraméterekkel.

b, COI

A mitokondriális DNS (továbbiakban mtDNS) citokrom-oxidáz génjének I. alegységét mintáztuk meg. A kutatás során több primer szettet is leteszteltünk (4.2-2. táblázat, 4.2-2. ábra).

Kezdetben a Pat/Dick primer párt használtuk, mely 550bp (bázispár) hosszúságú szekvenciákat adott, azonban erre a szakaszra mindössze 3 pozícióban esik variabilitás. A Pat/Pc6F primerpárral már kb. 1200 bp hosszúságú a kapott szakasz, melyen 9 pozícióban tapasztalunk változatosságot, azaz a COI gén elején illetve közepén található a legnagyobb variabilitás. A Lepidoptera barcode programból (Dinca *et al.* 2011) jól ismert Lep2F primer sikerrel alkalmazható *Phyllonorycter platani* esetén is, így Pat primerrel alkalmazva 1400 b-nyi szakaszt érhetünk el, mely több mint duplája a „barcode” szakasznak (650 bp). A további elemzésekhez ezzel a primer párral nyert adatokat használtuk fel.



4.2-2. ábra: Primerek elhelyezkedésének térképe a COI génen (Gibson *et al.* 2011)

Termo ciklus Dick/Pat, valamint Pc6F/Pat primer párra: kezdeti denaturációs lépés 2 perc 94 °C, denaturálás 30 másodperc 94 °C, annealing 1 perc 48 °C, polimerizáció 1 perc 68°C, utolsó polimerizációs lépés 10 perc 68 °C, 34 ciklus.

A polimeráz láncreakció termo ciklusa Pat/LepF primer párra: kezdeti denaturációs lépés 2 perc 94 °C, denaturálás 30 másodperc 94 °C, annealing 1 perc 47 °C, polimerizáció 1 perc 30 sec 72 °C, utolsó polimerizációs lépés 10 perc 72 °C, 34 ciklus.

4.1.5. Bázissorrend meghatározása

A PCR reakció eredményességéről a minták agaróz gélelektroforézisen történő vizuális értékelés után küldtük tovább szekvenáltatásra. A szekvenálást az Eurofin Laboratóriumában végezték.

4.1-2. táblázat: A PCR reakciók és a fragment analízis során alkalmazott primerek

gén	név	irány	szekvencia 5'-3' irányban	hivatkozás
COI	Dick = C1-J-2441	R	CCAACAGGAATTTAAAATTTTATAGATGA	(Simon <i>et al.</i> 1994)
	LepF	F	ATTCAACAATCATAAAGATATTGG	(Dinca <i>et al.</i> 2011)
	Pc6F	F	GCCCCAGATATAGCATTTC	(Avtzis <i>et al.</i> 2006)
	UEA10 = Pat=A10= TL2-N-3014	R	TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA	(Lunt <i>et al.</i> 1996)
28S rRNA	D1F	F	ACCCGCTGAATTTAAGCATAT	(Lopez-Vaamonde <i>et al.</i> 2001b)
	D3R	R	TAGTTCACCATCTTTCGGGTC	(Lopez-Vaamonde <i>et al.</i> 2001b)

4.3. Adatelemzés

A szekvencia leolvasás eredményét minden esetben Sequence Scanner program (web2) segítségével ellenőriztük és az esetlegesen előforduló hibákat manuálisan javítottuk.

A COI gén esetén kétirányos leolvasást végeztettünk. Ugyanis az 1000 bp-nál rövidebb szakaszok olvashatók le nagy biztonsággal, az ennél hosszabb szakaszok sok leolvasási bizonytalanságot tartalmaznak. Ezért minden egyes mintát két szekvencia (forward, reverse) eredményből kellett összeraknunk. A szekvenciákat az átfedő részekben ClustalX programmal illesztettük (Thompson *et al.* 1994). Az egyes egyedek esetén a leolvasás eredményességétől függően 1450-1260 bp hosszúságú szakaszt kaptunk. Ezt követően az egyes egyedek szekvencia szakaszait meghatározott motívum mentén egyenlő hosszúságúra (1243 bp) vágtuk és ezt követően ismételtén illesztettük őket. Minden, csak egyetlen példányban előkerült új haplotípust képviselő egyedeket legalább 2 független szekvenálási eredményből fogadtunk el. Mitokondriális marker esetén a „double peak” tartalmú szekvenciákat kiszűrtük, mint hibás leolvasást, ezzel csökkentve a rejtett pszeudogének (Bertheau *et al.* 2011) bekerülésének esélyét az elemzésbe. Külső kontrollként *P. issikii* saját szekvencia eredményeit, illetve a génbankból (web1) az AF477544 *Cameraria ohridella* szekvenciáját használtuk fel.

28S rNS D1-D3 régióját kódoló szakasz esetén egyirányos leolvasást végeztettünk, a szekvenciák illesztése után 530 bp hosszú szakaszokat kaptunk. Külső kontrollként *P. issikii* saját szekvencia eredményit, valamint a génbankból (web1) az alábbi szekvenciákat választottuk ki: AF477559 *P. aemula*, AF477569 *P. esperella*, AY521521 *P. issikii*, AF477565 *P. platani*, AY521507 *P. pygmaea*, AF477562 *P. nicellii*.

4.3.1. A 28S rDNS adatainak elemzése

A 28S rDNS-t kódoló gének leszármazási viszonyainak elemzéséhez Neighbour-Joining (NJ) módszert Kimura2 (K2) (Kimura 1980) modellel 5000-szeres bootstrap módszerrel, „pairwise-deletion” beállítással, gamma eloszlás mellett végeztük. Az egyes taxonok között (between group average distance), valamint a csoportokon belül genetikai (within group average distance) távolságokat ugyanezzel a beállítással végeztük el. Az elemzésekhez a MEGA 5.02 (Tamura *et al.* 2011) szoftvert használtuk.

4.3.2. A haplotípusok filogenetikai leszármazásviszonyainak rekonstrukciója

Neighbour-Joining (NJ) módszert Kimura2 (K2) (Kimura 1980) modellel 5000-szeres bootstrap metódussal, „pairwise-deletion” beállítással, gamma eloszlás mellett végeztük.

A haplotípusok leszármazási viszonyainak elemzéséhez MP fát 5000-szeres ismétlésben végeztük.

Maximum likelihood (ML) algoritmust GTR+I szubsztitúciós modell mellett futattuk a MEGA5 programmal. A megfelelő szubsztitúciós modell kiválasztásához a jModeltest 2.1.2 (Guindon & Gascuel 2003; Darriba *et al.* 2012) programot alkalmaztuk, és a AIC (Akaike Information Criterion) (Akaike 1974) által legjobbnak választott modellt alkalmaztuk.

A Bayesian inference (BI) fa a TOPALi v.2 programmal készült (Milne *et al.* 2008). A Bayesian fa készítéséhez GTR+I szubsztitúciós modellel MCMCMC (Metropolis-coupled Markov Chain Monte Carlo) analízist futtatunk 2.000.000 generáción keresztül, a mintavételi sűrűség 1000 volt, a „burn in”-t 25 %-ra állítottuk, és 2 független futtatást végeztünk.

4.3.3. Populáció struktúra elemzése

Intrapopulációs szinten az alábbi indexeket számoltuk ki: nukleotid diverzitás (π) (Nei 1987), tranzíciók-transzverziók száma, haplotípus diverzitás (h), a polomorfikus szájtok (S) alapján kalkulált θ értéke (Ewens 1972; Zouros 1979), és a k páronkénti átlagos különbséget (mean number of pairwise differences) Arlequin 3.5.1.2 szoftver (Excoffier & Lischer 2010) segítségével számítottuk ki. Továbbá PAST (Hammer *et al.* 2001) szoftver segítségével Shannon-féle diverzitást számoltunk.

nukleotid diverzitás (π , nucleotide diversity average over loci): Annak valószínűségét adja meg, hogy két random kiválasztott homológ nukleotid szájtkülönbözik egymástól.

$$\pi_n = \frac{\sum_{i=1}^k \cdot \sum_{j < i} p_i p_j d_{ij}}{L},$$

ahol n a minta szám, k a haplotípusok száma, p_i az i-ik haplotípus frekvenciája, d_{ij} a nukleotid szubsztitúciók száma i és j haplotípus között, L a lokuszok száma (Nei 1987; Excoffier & Lischer 2010).

haplotípus diverzitás (h, genetikai diverzitás): Diploid adatoknál megegyezik az elvárt heterozigóciával. Annak a valószínűségét adja meg, hogy mintából random kiválasztott két

haplotípus különbözik. Felfogható úgy is, mint a Simpson diverzitás módosított verziója, így ez is a gyakori haplotípusokra érzékeny.

$$h = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 \right),$$

ahol n a haplotípusok száma a mintában, k a haplotípusok száma, p_i az i -ik haplotípus frekvenciája (Nei 1987; Excoffier & Lischer 2010).

Általánosan elfogadott, hogy a refugium területek magasabb genetikai-/nukleotid diverzitással jellemezhetőek a ritka allélek (haplotípusok) felhalmozódásának ill. konzerválódásának köszönhetően (Fry & Zink 1998; Avtzis & Aravanopoulos 2011). Ugyanakkor a haplotípus- és nukleotid diverzitás egymáshoz való viszonyából következtetni lehet populáció dinamikai eseményekre is. A közepesen nagy/nagy haplotípus diverzitás ($h > 0,5\%$), kis nukleotid diverzitási értékkel ($\pi > 0,5\%$) párosulva kis effektív populációméretből induló (pl. palacknyak-hatás után) rapid expanzió hatására jön létre (Grant & Bowen 1998; Valade *et al.* 2009; de Jong *et al.* 2011). Az alacsony haplotípus diverzitás, alacsony nukleotid diverzitással párosulva alapító hatásra utal (Grant & Bowen 1998).

A demográfiai expanzió

A demográfiai expanzió szekvencia adatok alapján történő kiszámításához a Tajima-féle D -t (Tajima 1989), a Fu-féle F_s értéket és a „mismatch” eloszlást (Rogers & Harpending 1992) 50.000-szeres ismétlésben Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier & Lischer 2010) szoftverrel számoltuk. Az R_2 értékét DnaSp 5.10 (Librado & Rozas 2009) szoftverrel számoltuk.

Tajima-féle D (Tajima's test of selective neutrality): Kis mintaelemszám esetén statisztikailag érzékenyebb a teszt, mint nagy mintaelemszámnál (Tajima 1989). Nullhipotézis: a DNS polimorfizmust neutrális mutáció magyarázza. Különböző mintaelemszámokhoz különböző konfidencia intervallumokat rendel. Ha D adott konfidencia intervallumba esik ($P < 0,05$) szignifikánsan eltér 0-tól, akkor elvetjük a nullhipotézist, azaz a polimorfizmust nem neutrális mutáció okozza. Ha nem neutrális a populáció, akkor az előjeltől függően az alábbi következtetéseket vonhatjuk le: Ha D értéke negatív, akkor a populáció növekszik, pl. múltbeli palacknyak hatást követően, mivel több száj lesz alacsonyabb frekvenciával jelen, mint az elvárt szint ezért lesz negatív az előjel. Ha D pozitív értéket vesz fel, akkor (esetleg csökkenő populáció méretre) természetes szelekcióra utal, ekkor kicsi a kis és a nagyon nagy frekvenciával rendelkező polimorfizmusok aránya (Tajima

1989). A Tajima-féle D teszt a mutációk frekvenciájával kalkulál, ez az egyik legtöbbet alkalmazott teszt.

Fu-féle Fs már a haplotípusok eloszlását is figyelembe veszi, ez az egyik legerősebb teszt a populáció növekedés kimutatására (az R2-vel együtt). Legtöbbször a p-értéket a hagyományos 0,05-nél alacsonyabbra kell beállítani (Fu-féle Fs-nél $p < 0,02$). Míg az Fs a nagy mintákra érzékenyebb, addig az R2 a kis mintákra (Ramos-Onsins & Rozas 2002). Az R2 kiszámolására alkalmas DnaSP szoftver nem tudja a nagy mintákat megfelelően kezelni, ezért hosszabb szekvenciák esetén az R2 értéket 50-60 szekvenciánál nagyobb mintára nem lehet használni ($n \times k = 180 \times 180$ karakter, ahol n a minták száma, k pedig a szekvenciák hossza). Kis mintákra inkább az R2 értékét kell figyelembe venni, nagyobbakra pedig az Fs-t.

„Különbözőségi eloszlásgörbe” (mismatch ditribution): A mintában található haplotípusok páronkénti különbségeiből számol eloszlási értéket, ezen felül a váratlan demográfiai, vagy térbeli expanzió számítására a legkisebb-négyzetek módszerét használja (Schneider & Excoffier 1999). Folyamatos demográfiai expanzióknál (akár palacknyak hatást követően) egy csúcsú a görbe és közel Poisson eloszlást mutat, a sok csúcsú görbe a differenciált populációkra jellemző (Slatkin & Hudson 1991; Rogers & Harpending 1992). A teszt nullhipotézise, hogy a genetikai minta állandó létszámú random párosodó populációból származik. A „mismatch” eloszlás csak kevés információ tartalmat használ fel az alapadatokról, ezek erőssége a legcsekélyebb a demográfiai tesztek közül, és a legérzékenyebb a populációk növekedésére (Ramos-Onsins & Rozas 2002). A modell valószínűségének megadására a p (SSD) értéket használtuk.

4.2.4. Filogeográfiai elemzések

A molekuláris variancia térbeli elrendeződésének kimutatására (SAMOVA = Spatial Analysis of MOlecular VAriance) SAMOVA v1.0 (Dupanloup *et al.* 2002) szoftver használtunk. A módszer lényege, hogy a felhasználó által definiált populációkat az általa megadott számú (földrajzilag szomszédos) csoportba rendezi (K). A csoportokat a szoftver generálja le úgy, hogy megfeleljenek az alábbi feltételeknek: (i) az egyes csoportok genetikailag homogének, és genetikailag maximálisan differenciálódtak egymástól (magas FCT index). (ii) a szimulációt 1023-szoros ismétlésben hajtja végre a szoftver, 100-as csoportokba rendezve. (iii) az egymástól független futási eredmények közül a populációknak azt a csoportosítást fogadja el a legjobb eredménynek, ahol az FCT érték a legmagasabb. (iv) a K értéket 2-10

intervallumban teszteltük, mindaddig, amíg a FCT el nem érte a plató értéket. (Chiari *et al.* 2012)

A molekuláris variancia térbeli elrendeződésének kimutatására egy másik megközelítése, hogy az általunk feltételezett alternatív földrajzi csoportokat teszteljük. Ehhez AMOVA (Analysis of Molecular Variance) (Weir & Cockerham 1984; Excoffier *et al.* 1992; Weir 1996) elemzést hajtottunk végre Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier & Lischer 2010) szoftver segítségével 1000-szeres permutációs beállítással. Ezt a módszert a genetikai variancia particionálására használtuk, a varianciát az egyes földrajzi régiók között, a populációk között (régiókon belül), valamint a populációkon belül néztük a két fő haplocsoport között. Ennél a módszernél a populációkból saját intuíciónk alapján létrehozott csoportok (G) létjogosultságát tesztelhetjük le.

A földrajzi távolság alapján történő izoláció kimutatására Mantel-tesztet (Mantel 1967) a MANTEL NON-PARAMETRIC CALCULATOR ver. 2.0 (Liedloff 1999) szoftver segítségével futtattuk le. Ez egyfajta regressziós analízis, ahol a populációk közti km-ben mért földrajzi távolságok (Google Earth-ben végeztük a mérést) természetes alapú logaritmusát vetettük össze a MEGA 5.0 programmal számolt Tamura-Nei-féle genetikai távolságokkal (Tamura & Nei 1993). A számítások során 1000 szeres random iterációt alkalmaztunk, $\alpha=1\%$ érték mellett. Az elemzések során g (standard normális valószínűségi változó), a Z (Mantel-féle koefficiens) és az r (regressziós együttható) értékeket kapjuk meg. A g értékekhez kritikus értékeket ad meg (CV: critical value) a különböző szignifikancia szinteken ($p = 0,025$, $p = 0,01$, $p = 0,05$ stb.) (Liedloff 1999). A teszt nullhipotézise (H_0), hogy nincsen kapcsolat a két távolság mátrix között (Mantel 1967). A nullhipotézis elvethető adott p szignifikancia szint mellett, ha g nagyobb, mint a szignifikancia szinthez megadott CV kritikus érték (Mantel 1967). Az r együttható értéke $+1$ és -1 között változhat, ha az érték nulla, akkor nincs korreláció, ha tart $+1$ -hez, akkor pozitív a korreláció, ha tart -1 -hez akkor negatív az összefüggés.

A haplotípusok földrajzi elterjedés történetének (mechanizmusának) felderítésére nyújt lehetőséget az NCPA (Nested Clade Phylogeographic Analysis). Először statisztikus parszimónia (SP) hálózatot készítettünk 95%-os összeköttetési határral (Templeton *et al.* 1992) a TCS 1.2.1 program (Clement *et al.* 2000) segítségével. Majd a haplocsoportok térbeli differenciálódására a Templeton által (Templeton *et al.* 1995; Templeton 1998) meghatározott szabályok szerint, 5.000-szeres permutációval, NCPA-t futtattunk le a GeoDis 2.6 (Posada *et*

al. 2000) szoftver segítségével. A geográfiai teszt nullhipotézise, hogy nincs térbeli összefüggés.

Az alap térképeket valamint a földrajzi távolságokat a Google Earth v. 6.0.1 (Google Inc.) szolgáltatta. A térképeket az ArcView 3.1 (ESRI) program segítségével szerkesztettük tovább. A grafikonokat Microsoft Excel 2010 program segítségével készítettük el.

5. Eredmények

Többféle genetikai markert (ITS1, ITS2, mikroszatellit) kipróbáltunk, melyek közül a COI és a 28S rDNS bizonyult alkalmasnak az általunk feltett kérdések vizsgálatára.

5.1. A 28S rDNS szekvenciák vizsgálata

A 28S rDNS gén 5' vég felőli 530 bp hosszú szakaszára 35 minta alapján egyetlen nukleotid pozícióban találtunk variabilitást, azaz összesen két allélt lehet elkülöníteni. Inszerciókat, deléciókat nem tartalmaz. A 441-es pozícióban T-G csere történt. A Továbbiakban E (Europe) allél néven szerepelnek a 441-es pozícióban T-t tartalmazó szekvenciák, C (Central-Asia) allél néven pedig a G tartalmúak (5.1-1. táblázat, melléklet 2. táblázat). C allélt kizárólag a közép-ázsiai minták képviselik. Az eddig vizsgálatba vont egyedek egyértelműen és kizárólag homozigóták voltak. Az átlagos nukleotid összetétel az alábbiak szerint alakul: T 21,3%, C 27,8%, A 20,4%, G 30,5%.

5.1-1. táblázat: A 28S rDNS génen található allélek

E allél	C allél
PPGKH6, PPGKA10, PPUSA11, PPPKA8, PPIPA3, PPIPA6, PPUSA10, PPGKT5, PPPKA11, PPNRO1, PPUSA8, PPUSA9, PPGMI1, PPSLN1, PPDFS4, PPHCS4, PPBBR1, PPHDA1, PPHEG1, PPUSM1, PPPKA5, PPDFB4, PPDFS3, PPDFS5, PPFOL1	PPSAM5, PPSAM11, PPSAM9, PPSAM8, PPTTEL8, PPTTEL7, PPTTEL10, PPTTEL5, PPTTEL2, PPSAM3

5.1-2. táblázat: A 28S rDNS gén szekvenciák divergenciája (%) *Phyllonorycter* fajok között (between group average distance)

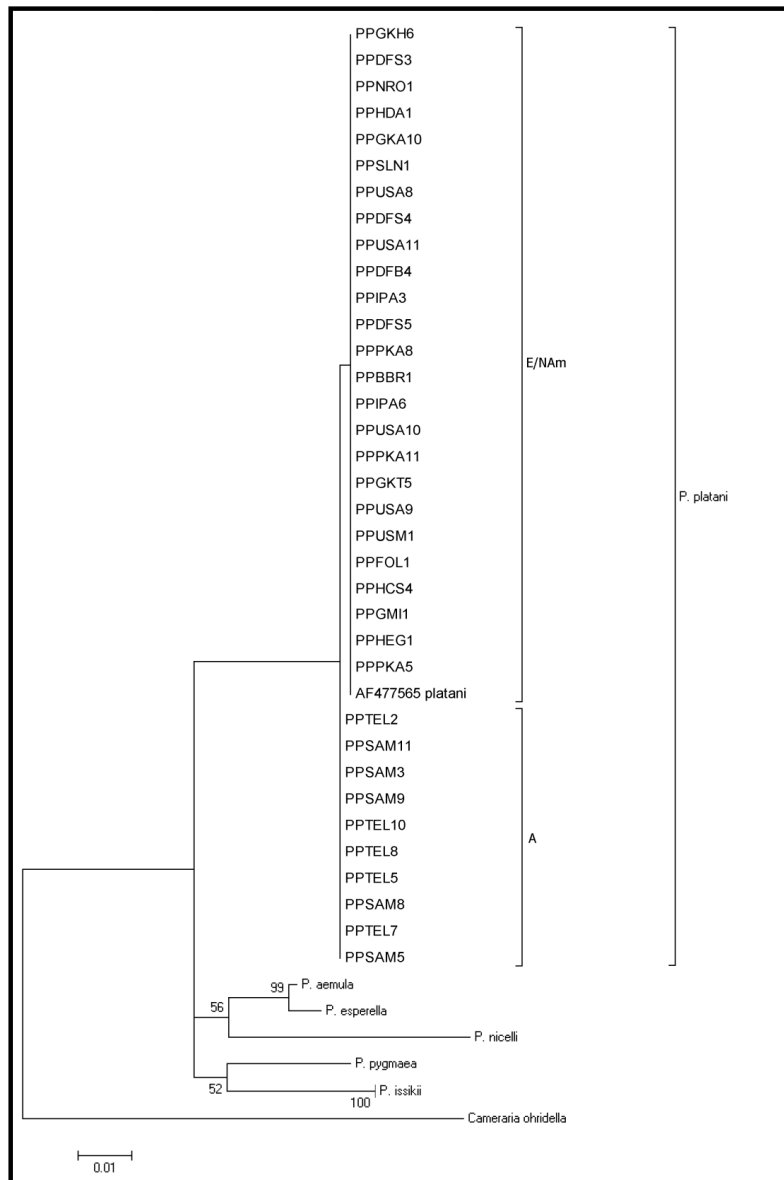
Jelmagyarázat: A szürke cellák a csoporton belüli átlagos távolság értékeket tartalmazza (within group average distance), (K2 szubsztitúciós modell, gamma estimation rate) a *P. platani* különböző populációira vonatkozó adatok Asi: ázsiai, NAm: észak-amerikai, Eur: európai minták, sum: teljes

	Eur	Nam	Asi	plat	iss	aem	esp	pyg	nic
<i>P.platani</i> _Eur	0,00								
<i>P.platani</i> _Nam	0,00	0,00							
<i>P.platani</i> _Asi	0,19	0,19	0,00						
<i>P.platani</i> _sum	n/c	n/c	n/c	0,08					
<i>P.issikii</i>	6,24	6,24	6,03	5,68	0,13				
<i>P.aemula</i>	4,66	4,66	4,45	5,10	5,60	n/c			
<i>P.esperella</i>	5,09	5,09	4,88	4,30	6,04	0,77	n/c		
<i>P.pygmaea</i>	5,57	5,57	5,56	4,68	5,13	5,34	6,24	n/c	
<i>P.nicellii</i>	8,05	8,05	7,83	7,13	7,67	5,77	6,21	9,25	n/c

Finomabb populáció genetikai összefüggések feltárására nem alkalmazható, viszont nagyobb térléptékű filogeográfiai kérdések tisztázására alkalmas lehet.

A NJ bootstrap konszenzus fa (5.1-1. ábra) alapján az ázsiai és európai minták egyértelműen egy fajhoz tartoznak. A két haplocsoport elkülönülése statisztikailag nem erős, mivel mindössze egy bázispáryi különbségben térnek el egymástól.

A közép-ázsiai és az európai, valamint a közép-ázsiai és az amerikai minták között 0,19% a divergencia (5.1-2. táblázat). Az európai és amerikai mintákat is ugyanaz az allél képviseli. A fajon belüli divergencia értéke 0,08%. A különböző *Phyllonorycter* fajok között ez az érték 0,77 – 9,25% változik. A *P. platani* és a különböző *Phyllonorycter* fajok között 4,45 – 8,05%-os a divergencia értéke.



5.1-1. ábra: A 28S rDNS szekvenciái értékei alapján rajzolt NJ bootstrap konszenzus fa
 Ábramagyarázat: A: ázsiai, E: európai, NAm: észak-amerikai minták

5.2. A COI szekvenciák vizsgálatának általános eredményei

Az általunk vizsgált 1243bp hosszú szakaszon 227 egyed alapján 20 haplotípust (HT) írtunk le (5.2-1. táblázat), melyből 39 pozíció volt variábilis (3,1%). A különböző haplotípusú egyedek átlagos nukleotid összetétel a következő képen alakul: T 41,3%, C 13,7%, A 30,9%, G 14,1%. A haplotípusok zöme (60,0%) egyetlen bázist érintő mutációs esemény (SNP) következménye. Mindössze három olyan haplotípus van, amelyik két lokuszos (HT7, HT9, HT10) és négy olyan amelyik multilokuszos variabilitás (HT13, HT14, HT15, HT16) eredménye (5.2-1. táblázat).

A szekvencia 414 aminosavat kódol (5.2-3. táblázat). A mutációk túlnyomó többsége a triplet harmadik kodonjára esik, ezért aminosav szinten nem okoz változást, azaz csendes mutáció (87,2%). A HT20, HT12 esetén 1, a HT16 esetén 2, valamint az ázsiai HT13, HT14, HT15 esetén azonban 3-3 aminosav csere is történik.

A szubsztitúciók 80,49 %-a tranzíció (33 db), 19,51 %-a pedig transzverzió (8 db).

Az európai és ázsiai haplotípusok közti Nei-féle genetikai távolság értéke 0,1 - 2,2 % között változik (5.1-2. táblázat). Az európai és ázsiai haplotípusok között tapasztalható genetikai távolság értéke viszonylag nagy (1,9 - 2,2%). A neighbor-joining (NJ) konszenzus fa (5.1-1. ábra) alapján a kontroll csoporttól jól elválnak a minták.

A genetikai marker elég változatosságot mutat ahhoz, hogy a továbbiakban felhasználjuk a populációs szintű változások elemzéséhez.

5.2-1. táblázat: A COI 1243bp hosszú szakaszán megfigyelt haplotípusok

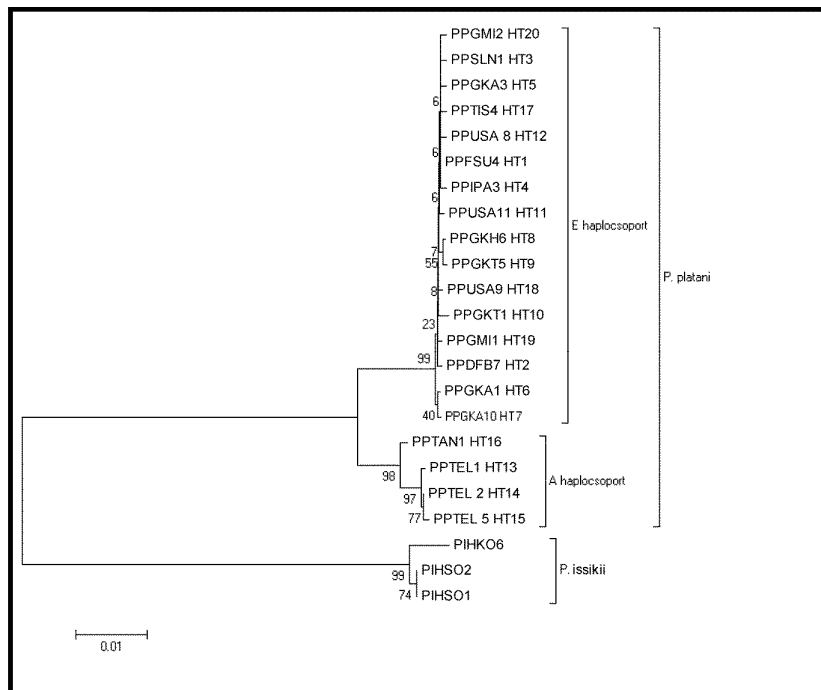
	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	4	4	5	5	5	5	7	7	7	7	7	8	8	8	8	9	9	9	9	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1					
	4	7	9	9	1	1	1	4	4	7	7	9	5	6	7	2	3	0	4	7	9	1	2	4	7	9	3	5	8	3	3	5	8	8	8	8	3	4	6	9									
	7	8	2	8	1	3	6	0	6	6	9	1	2	9	2	6	8	4	6	9	4	7	3	1	4	9	4	5	8	3	6	4	0	4	9	4	0	1	2										
HT1	T	A	G	A	G	A	C	T	A	T	A	A	G	C	A	A	T	G	G	A	T	T	T	T	T	A	A	G	T	C	T	G	G	T	T	A	C	A											
HT17	G				
HT20	A			
HT12	A			
HT5	G			
HT4	G			
HT3	G		
HT11	G		
HT8		
HT9	C		
HT19	C	
HT10	T	
HT18	A	
HT2
HT6	G
HT7	G
HT14	C	G	A	G	.	C	T	.	.	A	G	.	.	G	.	.	A	T	.	.	.	C	C	C	.	.	G	A	C	T	C	.	A	A	A	G	T	T											
HT15	C	G	A	G	.	C	T	.	.	A	G	.	.	G	.	.	A	T	.	C	.	C	C	C	.	.	G	A	C	T	C	.	A	A	A	G	T	T											
HT13	C	G	A	G	.	C	T	.	.	A	G	.	.	G	.	.	A	T	.	.	.	C	C	C	.	.	G	A	C	T	A	.	A	A	A	G	T	T											
HT16	C	.	A	.	.	C	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.	A	T	.	.	.	C	C	C	C	.	G	A	C	T	C	.	A	A	A	G	T	T											

5.2-2. táblázat: A haplotípusok közti Nei-féle genetikai távolság a nukleotid sorrend alapján (%)

	HT1	HT2	HT3	HT4	HT5	HT6	HT7	HT8	HT9	HT10	HT11	HT12	HT13	HT14	HT15	HT16	HT17	HT18	HT19	HT20	kontroll
HT1																					
HT2	0,10																				
HT3	0,10	0,20																			
HT4	0,10	0,20	0,20																		
HT5	0,10	0,20	0,20	0,20																	
HT6	0,10	0,20	0,20	0,20	0,20																
HT7	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,10															
HT8	0,10	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20													
HT9	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,30	0,10													
HT10	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,30	0,20	0,30												
HT11	0,10	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20											
HT12	0,10	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20										
HT13	2,00	2,10	2,10	2,10	2,10	2,10	2,00	2,10	2,00	2,20	1,90	2,10									
HT14	2,00	2,10	2,10	2,10	2,10	2,10	2,00	2,10	2,00	2,20	1,90	2,10	0,10								
HT15	2,10	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20	2,10	2,20	2,10	2,30	2,00	2,20	0,20	0,10							
HT16	1,80	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,80	1,90	1,80	1,90	1,90	1,90	0,50	0,40	0,50						
HT17	0,10	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	2,10	2,10	2,20	1,90					
HT18	0,10	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	2,00	2,00	2,10	1,80	0,20				
HT19	0,10	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	2,10	2,10	2,20	1,90	0,20	0,20			
HT20	0,10	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	2,10	2,10	2,20	1,90	0,20	0,20	0,20		
P. issikii1	9,80	9,70	9,90	9,90	9,90	9,80	9,70	9,90	9,80	9,80	9,90	9,90	9,70	9,60	9,60	9,50	9,90	9,80	9,70	9,90	
P. issikii2	9,80	9,70	9,90	9,90	9,90	9,80	9,70	9,90	9,80	9,80	9,90	9,90	9,70	9,60	9,60	9,50	9,90	9,80	9,70	9,90	0,00
P. issikii3	10,10	10,10	10,20	10,20	10,20	10,10	10,10	10,20	10,10	10,10	10,20	10,20	10,00	9,90	9,90	9,80	10,20	10,10	10,10	10,20	0,60 0,60

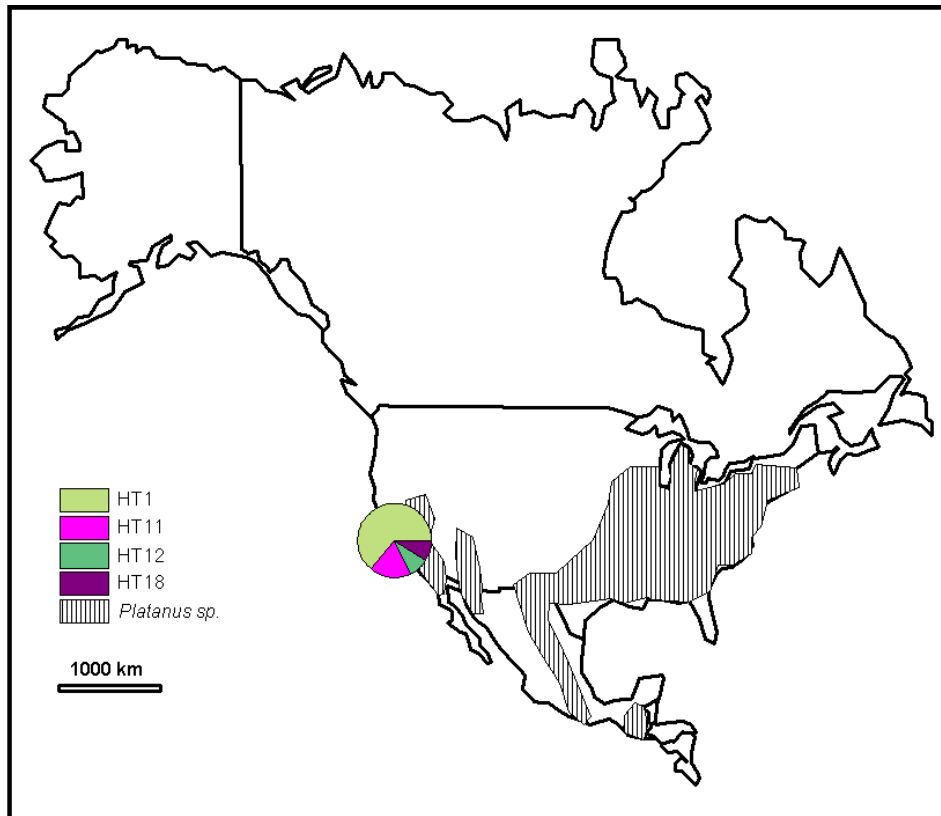
5.2-3. táblázat: A COI 1243bp szakaszát érintő aminosav cserék

	1	3	3
	6	7	1 6 9
	0	1	8 2 8
HT1	I	V	G V T
HT2	.	.	.
HT3	.	.	.
HT4	.	.	.
HT5	.	.	.
HT6	.	.	.
HT7	.	.	.
HT8	.	.	.
HT9	.	.	.
HT10	.	.	.
HT11	.	.	.
HT12	.	.	S . .
HT13	V	.	. I S
HT14	V	.	. I S
HT15	V	.	. I S
HT16	.	.	. I S
HT17	.	.	.
HT18	.	.	.
HT19	.	.	.
HT20	.	M	.

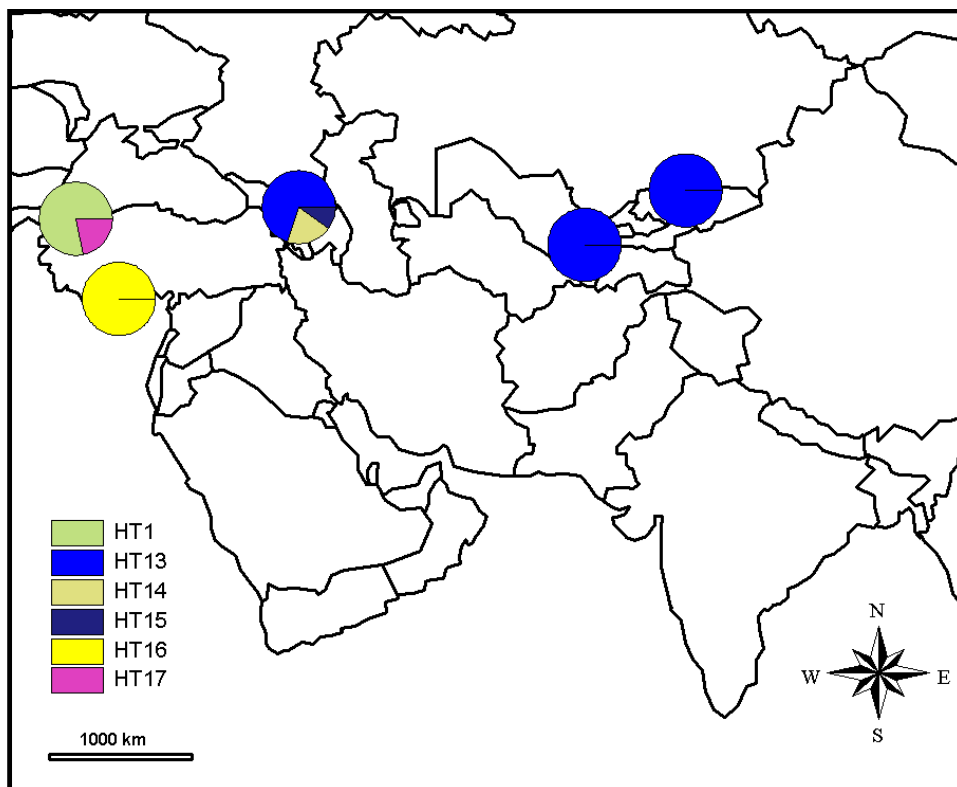


5.2-1. ábra: A COI haplotípusok genetikai távolsága (NJ algoritmus, Kimura 2 szubsztitúciós modell, bootstrap konszenzus fa)

Ábramagyarázat: E haplocsoport Európából és Amerikából származó haplotípusok, A haplocsoport: Ázsiából származó haplotípusok



5.3-1. b. ábra: A *P. platani* amerikai haplotípusainak megoszlása



5.3-1. c. ábra: A *P. platani* ázsiai haplotípusainak megoszlása

Az „ázsiai” és „európa–észak-amerikai” haplocsoport közti divergencia (5.3-1.a. táblázat) jóval magasabb (2,04%) az egyes csoportokon belül tapasztalható divergencia értéknél, ez támogatja a két haplocsoport elkülönítésének létjogosultságát. Az „ázsiai” haplocsoporton belüli divergencia is magasabb (0,21%), mint európai belüli (0,06%), ez arra utal, hogy az ázsiai populáció genetikailag nem egységes. Az Ázsián belüli további izolációt támogatja, hogy az egyetlen kis-ázsiai haplotípus (HT16) divergenciája a „kaukázus–közép-ázsiai” haplotípusoktól (HT13-15) jóval magasabb (0,48%), mint a két földrajzi régió belüli, ugyanakkor magasabb az európai haplotípusok között (5.1-2. táblázat) mérhető értékeknél is. A „kis-ázsiai” populációt divergencia értékek alapján a „kaukázus–közép-ázsiai” populációhoz közelebb esik (0,48%), mint az európaiakhoz (1,80%).

A szekvenciák divergenciája alapján az amerikai és az európai populáció között tapasztalható 0,06%-os divergencia érték nagyságrendileg megfelel (5.3-1.b. táblázat) csoportokon belül tapasztalható divergencia értékeknek (0,05%, ill. 0,06%). Ezért nem indokolt az amerikai minta elkülönítése az európaiaktól; az amerikai minta része a többi elemzés által is támogatott „európai” haplocsoportnak. Ez azt sejteti, hogy az amerikai populáció nem régebben különült el, mint akármelyik Európán belüli populáció.

5.3-1.a. táblázat: A COI szekvenciák divergenciája (%) az európai-, ázsiai-, valamint észak-amerikai populációk között (between group average distance).

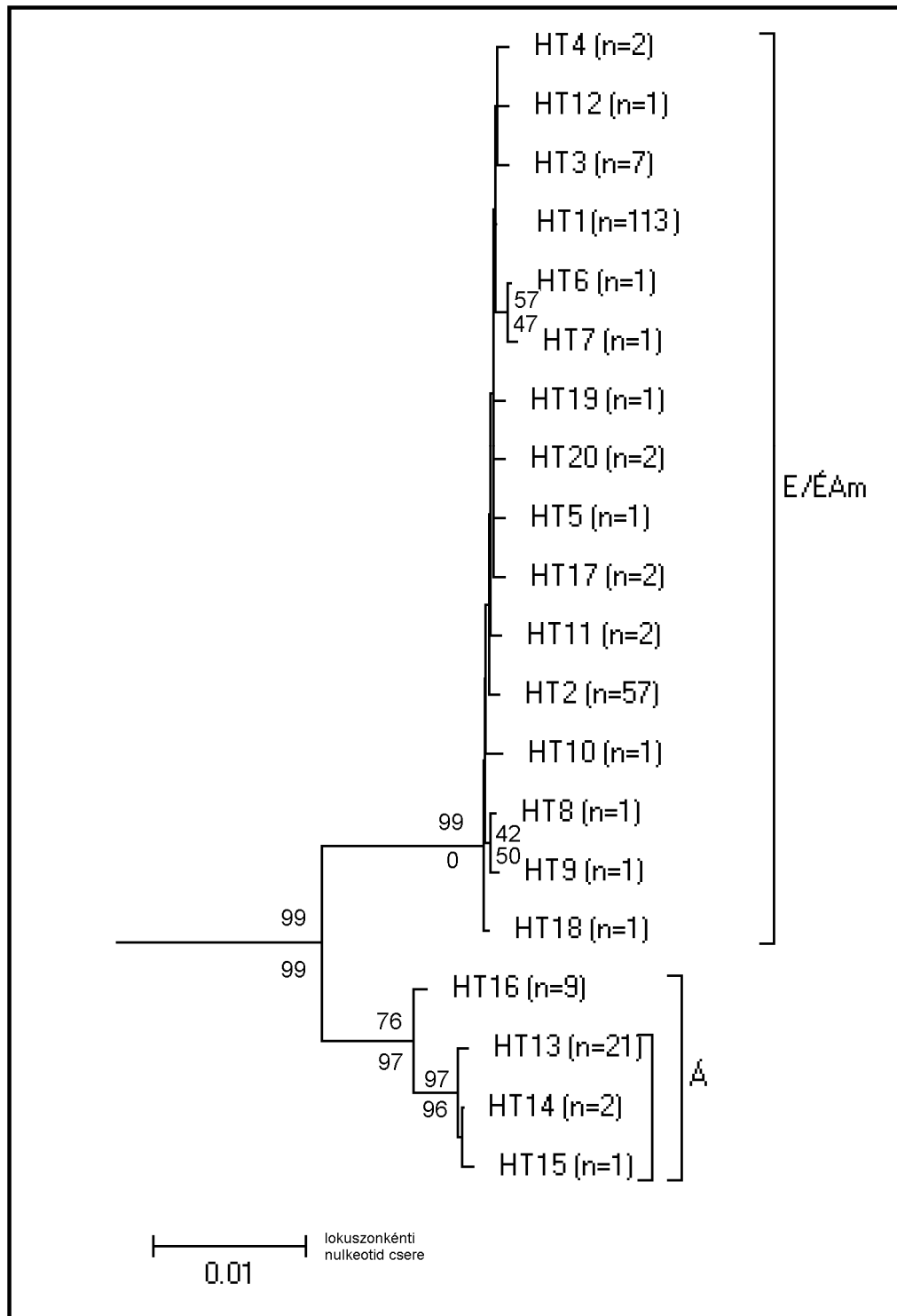
Jelmagyarázat: A szürke cellák a csoporton belüli átlagos távolságértékeket tartalmazza (within group average distance).

	Á	E	<i>platani</i>	<i>issikii</i>
„ázsiai” haplocsoport	0,21%			
„európa–észak-amerikai” haplocsoport	2,04%	0,06%		
<i>P. platani</i> _sum	n/c	n/c	0,55%	
<i>P. issikii</i>	11,27%	11,54%	11,50%	0,43%

5.3-1.b. táblázat: A COI szekvenciák divergenciája (%) az európai-, ázsiai-, valamint észak-amerikai populációk között (between group average distance).

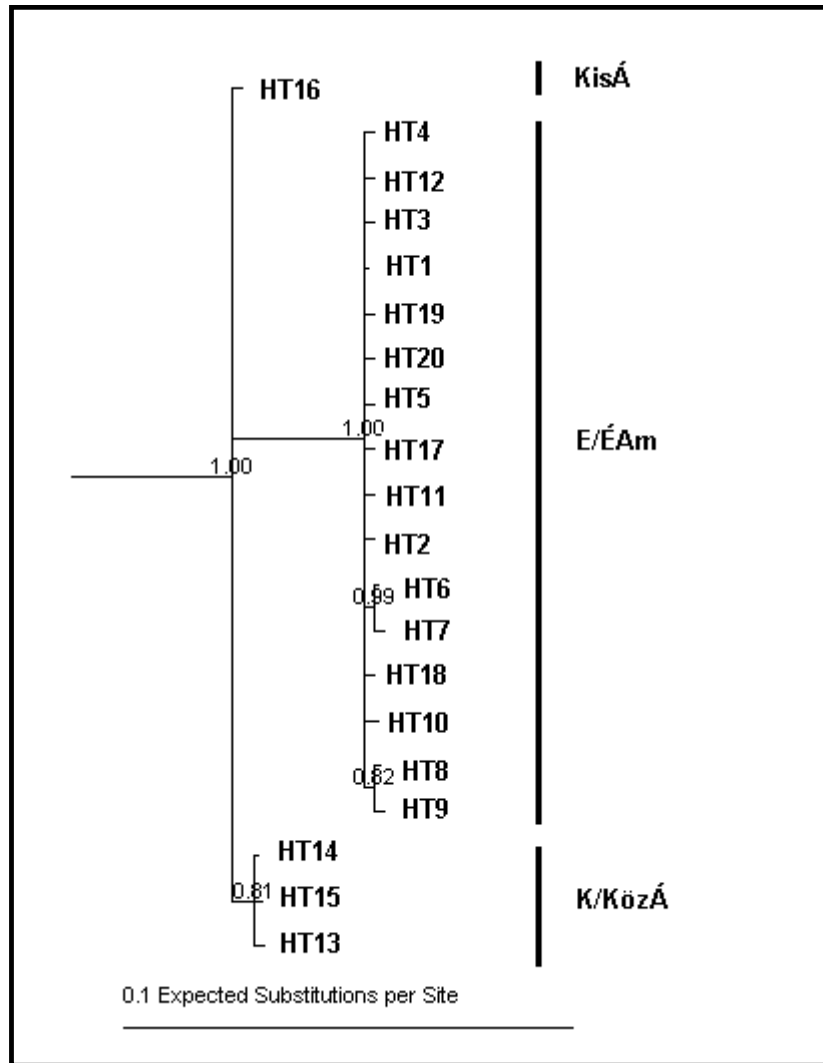
Jelmagyarázat: A szürke cellák a csoporton belüli átlagos távolságértékeket tartalmazza (within group average distance). E: európai, Á: ázsiai, ÉAm: észak-amerikai minták

	Kis-Á	Közép-Á	E	ÉAm
Kis-Ázsia	0,00%			
Közép-Ázsia, Kaukázus	0,48%	0,03%		
Európa	1,80%	2,05%	0,05%	
Észak-Amerika	1,79%	2,01%	0,06%	0,06%



5.3-2. ábra: ML fa

Ábramagyarázat: az ágak fölött szereplő számok az ML bootstrap koonszenzus fa által megadott érték, az alsó érték pedig az MP fa által megadott valószínűség %-ban kifejezve; A: ázsiai haplocsoport; E/ÉAm: európai és észak-amerikai haplotípusokat magába foglaló haplocsoport



5.3-3. ábra: BI fa

A ML és MP módszerrel számolt fák (5.3-2. ábra) 2 haplocsoport elkülönítését 99%-os valószínűséggel támogatják, a BI fa ennél árnyaltabb képet ad, miszerint egy harmadik haplocsoport feltételezhető a dél-törökországi (Antalyai HT16) haplotípus képvisletében (100%-os valószínűséget ad). Azaz a BI-fa (5.3-3. ábra) az általunk „ázsiai” haplocsoportként kezelt populációkat ketté bontja, egy „kis-ázsiai” és egy „kaukázus–közép-ázsiai” haplocsoportra. Ennek megerősítésére további mintavételezés szükséges Törökország északi részéből, illetve a Kaukázus térségéből. Az ML és MP „bootstrap” konszensus fák a „kis-ázsiai” és a „kaukázus–közép-ázsiai” csoportot 97%, ill 96%-os valószínűséggel különítik el (5.3-2. ábra). A két módszer a haplotípusok „európa–észak-amerikai” haplocsoporton belüli leszármazását eltérő módon valószínűsíti, mivel csak néhány pozícióban térnek el egymástól.

5.3.1.2. Molekuláris diverzitási indexek

A diverzitási indexek közül a haplotípus diverzitás értékeiben nincsen nagy különbség az európa–észak-amerikai és az ázsiai haplocsoport között ($E/\acute{E}Am=0,575$ és $\acute{A}=0,532$), viszont a Shannon-diverzitás értéke magasabb az európa–észak-amerikai haplocsoport ($E/\acute{E}Am=1,228$, $\acute{A}=0,918$) esetén (5.3-2. táblázat). Mindkét haplocsoportban viszonylag kisszámú, nagyon gyakori haplotípus van jelen és kevés a ritka haplotípus (általában 1 egyeddel képviseltetik magukat). A nukleotid diverzitás értéke az ázsiai haplocsoporton belül majdnem négyszerese (0,208%) az európa–észak-amerikai haplocsoporton (0,056%) belül tapasztaltnak, ez annak köszönhető, hogy az ázsiai haplocsoport genetikailag nem egységes. Mindezek ellenére mind két haplocsoportban alacsony a nukleotid diverzitás értéke ($\pi < 0,5\%$). A teljes mintasorra levetítve 20 haplotípus 39 polimorf lokuszról került elő, ami az európa–észak-amerikai- és ázsiai haplocsoport közötti különbségekből adódik. Mind a haplotípus-, mind a nukleotid diverzitás értéke közepesen nagy ($h > 0,5\%$, illetve $\pi > 0,5\%$). A tranzíciók és transzverziók arányából is az derül ki, hogy a teljes mintasoron belül tapasztalt 8 transzverzió a két haplocsoport között jön létre.

Ha az európa–észak-amerikai haplocsoportot megkíséreljük további két csoportra bontani, az észak-amerikai minták és az európai minták diverzitás értékei hasonlóan alakulnak, a haplotípus diverzitás közepesen magas ($h > 0,5\%$), a nukleotid diverzitás ($\pi > 0,5\%$), viszont mind két esetben kifejezetten alacsony.

Az ázsiai haplocsoportot tovább bontva, a kis-ázsiai minták teljesen homogének, a kaukázusi–közép-ázsiai csoport alacsony haplotípus diverzitással (0,236), és nukleotid diverzitással (0,025%) rendelkezik.

5.3-2. táblázat: molekuláris diverzitási indexek

Jelmagyarázat: n: szekvenciák száma, No.:haplotípusok száma, S: polimorflokuszok száma, h: genetikai diverzitás vagy haplotípus diverzitás, π : nukleotid diverzitás (lokuszonkénti átlaga(average over loci), ts tranzíciók száma, tv transzverziók száma, Shannon diverzitás

	n	No.	S	ts/tv	h \pm SD	π (%) \pm SD	Shannon
Európa	183	13	13	12/1	0,5685 \pm 0,0282	0,0547 \pm 0,0464	1,152
Észak-Amerika	11	4	3	3/0	0,6000 \pm 0,1539	0,0556 \pm 0,0513	1,034
Kis-Ázsia	9	1	0	n.a.	0,0000 \pm 0,0000	0,0000 \pm 0,0000	0,000
Közép-Ázsia+Kaukázus	24	3	2	1/1	0,2355 \pm 0,1093	0,0251 \pm 0,0297	0,456
Kaukázus	10	3	2	1/1	0,5111 \pm 0,1643	0,0536 \pm 0,0506	0,802
Közép-Ázsia	14	1	0	n.a.	0,0000 \pm 0,0000	0,0000 \pm 0,0000	0,000
E/ $\acute{E}Am$ haplocsoport	194	16	16	15/1	0,5754 \pm 0,0289	0,0557 \pm 0,0470	1,228
\acute{A} haplocsoport	33	4	7	6/1	0,5322 \pm 0,0751	0,2078 \pm 0,1271	0,918
összes minta	227	20	39	33/8	0,6805 \pm 0,0253	0,5390 \pm 0,2823	1,597

5.3.1.3. „Különbözőségi eloszlásgörbe” (mismatch ditribution) és neutralitás tesztek

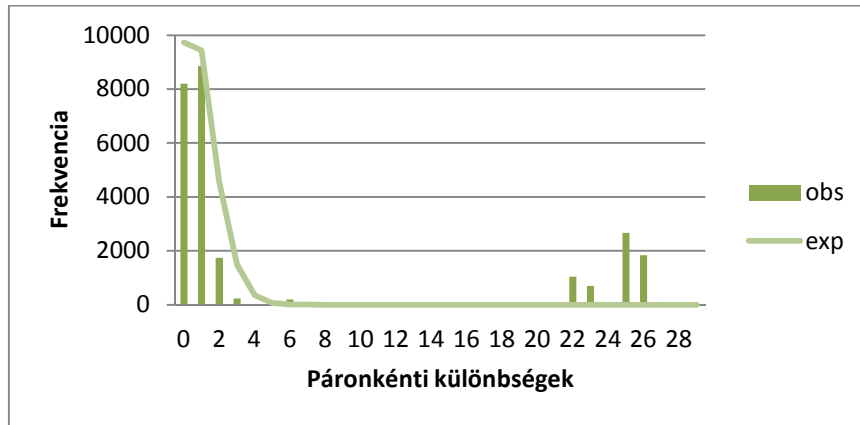
A teljes adatsorra mismatch eloszlás szerint szignifikáns ($p < 0,01$) az eredmény (5.3-3. táblázat). Az eloszlási görbe több csúcsú (5.3-4.a. ábra), ami arra utal, hogy az elterjedési területen hosszú idő óta egyensúlyban van a faj, és kialakulhattak „izolálódott populációk”. A neutrális tesztek eredménye nem szignifikáns (5.3-4. táblázat).

Az „európa–észak-amerikai” haplocsoport esetén az eloszlási modell szignifikáns ($p < 0,02$) (5.3-3. táblázat). Egycsúcsú (unimoduláris) görbét kaptunk (5.3-4. b. ábra), ez például palacknyak-hatást követő hosszú idejű folyamatos növekedés, vagy egy egyszeri populációs növekedés eredménye egyaránt lehet (Harpending 1994). A haplocsoport expanziójának kezdetét az utolsó jégkorszakra teszi (18 ezer év). Mind a Tajima-féle D-teszt, mind a Fu-féle FS eredménye szignifikáns (5.3-4. táblázat), múltbeli palacknyak hatást követő jelenkori, gyors demográfiai expanziót támogat ($D = -1,931$, $F_s = -14,098$).

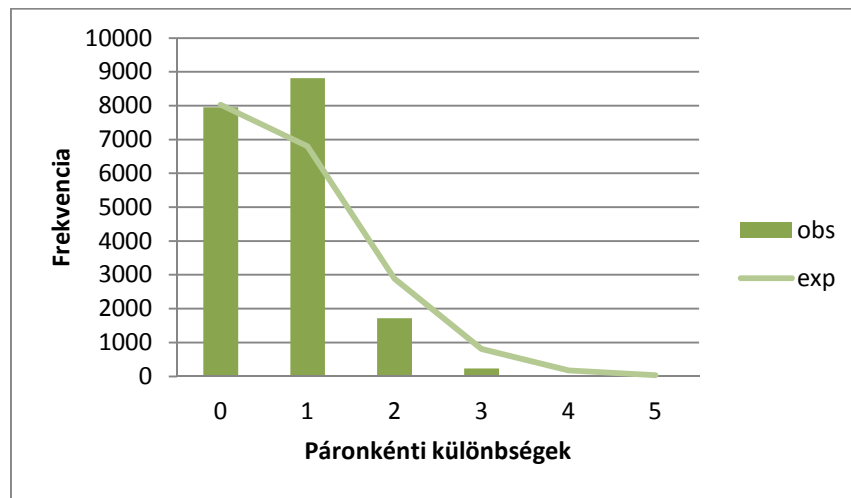
Az ázsiai haplocsoport esetén is a különbözőségi eloszlásgörbe modellje szignifikáns ($p < 0,01$) (5.3-3. táblázat). A haplocsoport esetén kétcsúcsú görbét tapasztalunk, ez differenciált populációszerkezetre utal, azaz volt ideje felhalmozódni a rész populációk között a mutációs különbségeknek pl. izolációs hatásra (5.3-4.c ábra). A neutralitás tesztek eredménye nem szignifikáns (5.3-4. táblázat).

Tovább bontva az egyes haplocsoportokat az alábbi eredményeket kapjuk:

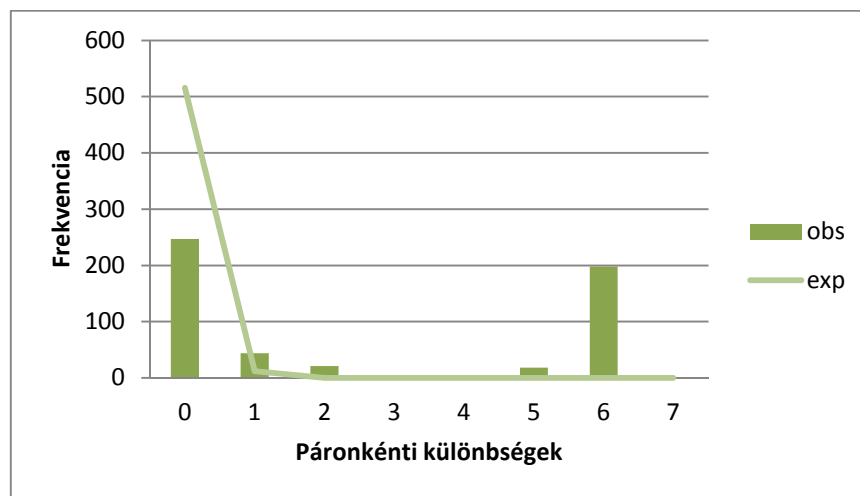
a kis-ázsiai populációra nem lehet lefuttatni a teszteket, mivel teljesen homogén. A kaukázus–közép-ázsiai csoport esetén egyik teszt eredménye sem szignifikáns (5.3-3. és 5.3-4. táblázat). Az észak-amerikai populáció esetén a mismatch eloszlás és a Tajima-féle D nem hoz szignifikáns eredményt, viszont a jóval érzékenyebb Fu-féle F_s értéke közel szignifikáns ($p = 0,029$) értéket ad, az R_2 eredménye viszont szignifikáns, és mivel kis mintaelemszámmal dolgoztunk, itt az R_2 eredményét kell nagyobb súllyal figyelembe venni ($R_2 = 0,188$, $p < 0,02$). Ez az érték az amerikai-populáció jelenkori expanziójára utal (5.3-3. és 5.3-4. táblázat). Az európai minták (5.3-3. és 5.3-4. táblázat) esetén valamennyi teszt eredménye szignifikáns (R_2 -t nem lehetett kiszámolni, mivel túl nagy a mintaelemszám). Európai mintákra egycsúcsú eloszlás görbét kapunk, ez palacknyak hatást követő rapid expanzióra utal, ezt erősíti meg a Tajima-féle D ($-1,744$) és Fu-féle F_s ($-9,430$) értéke is.



5.3-4.a. ábra: Mismatch eloszlás a teljes adatsorra (obs. tapasztalt, exp. elvárt érték)



5.3-4.b. ábra: Mismatch eloszlás az európa-észak-amerikai haplocsoportra



5.3-4.c. ábra: Mismatch eloszlás az ázsiai haplocsoportra

5.3-3. táblázat: A mismatch eloszlás eredményei

	n	S	p (SSD)
Európa	183	13	0,024
Észak-Amerika	11	3	0,175
Kis-Ázsia	9	0	n.r.
Közép-Ázsia+Kaukázus	24	2	0,472
E/ÉAm haplocsoport	194	16	0,015
Á haplocsoport	33	7	0,002
teljes	227	39	0,001

5.3-4. táblázat: A neutralitás tesztek eredményei

	Tajima-féle D	p	Fu-féle FS	p	R2	p
Európa	-1,744	0,011	-9,430	0,001	n.r.	n.r.
Észak-Amerika	-1,114	0,199	-1,525	0,029	0,188	0,000
Kis-Ázsia	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Közép-Ázsia+Kaukázus	-0,920	0,187	-0,960	0,169	0,153	0,191
E/ÉAm haplocsoport	-1,931	0,003	-14,098	0,000	n.r.	n.r.
Á haplocsoport	1,438	0,930	3,662	0,936	0,120	0,932
teljes	0,088	0,619	1,974	0,753	n.r.	n.r.

5.3.1.4. Földrajzi struktúra – Mantel-teszt

A teljes adatsor kapcsán a földrajzi izolációs mintázatra („isolation-by-distance”) használt Mantel-teszt alapján (*melléklet 1.a. ábra*) el kell vetnünk a null hipotézist („Nincs összefüggés a populációk közötti genetikai távolságok és a földrajzi távolságok között”), mivel g értéke ($g=3,766$) jóval magasabb a kritikus értéknél ($p=0,5\%$ esetén $CV=-2,575$). A regressziós együttható ($r=0,4525$) értéke alapján a földrajzi izoláció közepesen erős szerepet játszik a platánlevél-sátorosmoly genetikai struktúrájának kialakításában.

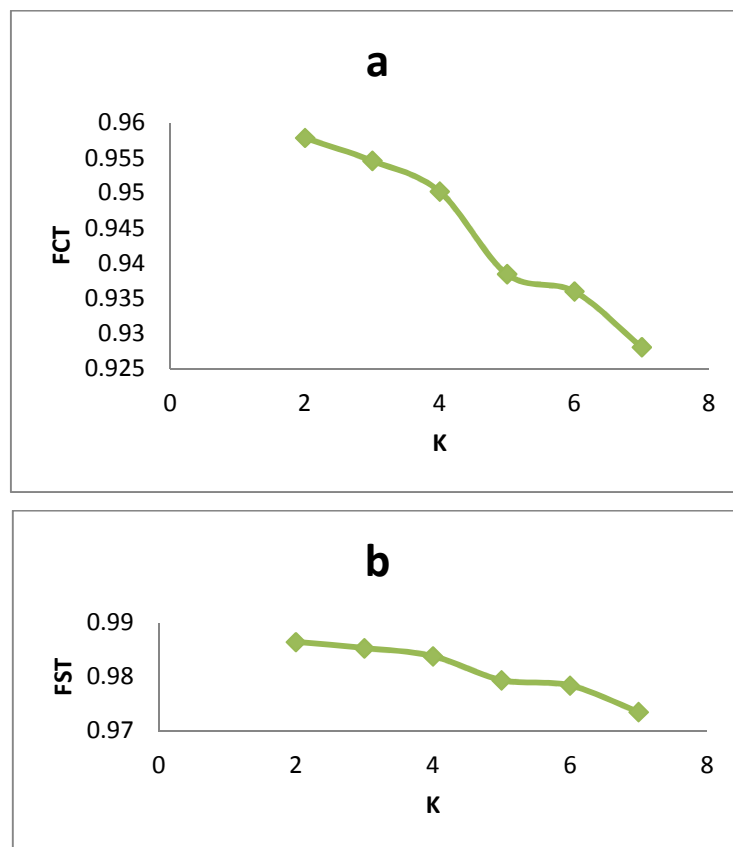
Az ázsiai haplocsoportot vizsgálva (*melléklet 1.b. ábra*) a nullhipotézis elvethető ($p=0,5\%$ esetén $CV=-2,575$, $g=1,7488$). A regressziós együttható ($r=0,5126$) értéke alapján Ázsiában a földrajzi izoláció közepesen erős szerepet játszik a platánlevél-sátorosmoly genetikai struktúrájának kialakításában.

Az európa–észak-amerikai haplocsoportot vizsgálva (*melléklet 1.c. ábra*) a nullhipotézis elvethető ($p=0,5\%$ esetén $CV=-2,575$, $g=1,7851$). A regressziós együttható ($r=0,1875$), a földrajzi izoláció szerepe alacsony.

Alacsonyabb térleptékekben csak az európai populáció mintaelemszáma éri el a tesztelhető mennyiséget (*részletesen lásd 5.3.2.4. fejezet*).

5.3.1.5. Genetikai struktúra (SAMOVA)

Az összes mintára lefuttatva a SAMOVA-t az FCT és FSC érték is K2 csoportosításnál éri el a maximumát (*5.3-5.a-b. ábra*, *5.3-5. táblázat*, *melléklet 4.a. táblázat*). Ez a két csoport megegyezik a TCS által (*5.3.1.7. fejezet*) definiált 2 fő haplocsoporttal (*lásd melléklet 4.a. táblázat*). Az összvariancia több, mint 95%-ért a két haplocsoport közti különbség a felelős, míg kevesebb, mint 2%-a származik a populációkon belüli varábilitásból. Az földrajzi izoláció szerepe jelentős, nincs génáramlás a két régió között.



5.3-5. a-b. ábra: Összes populációra végrehajtott SAMOVA

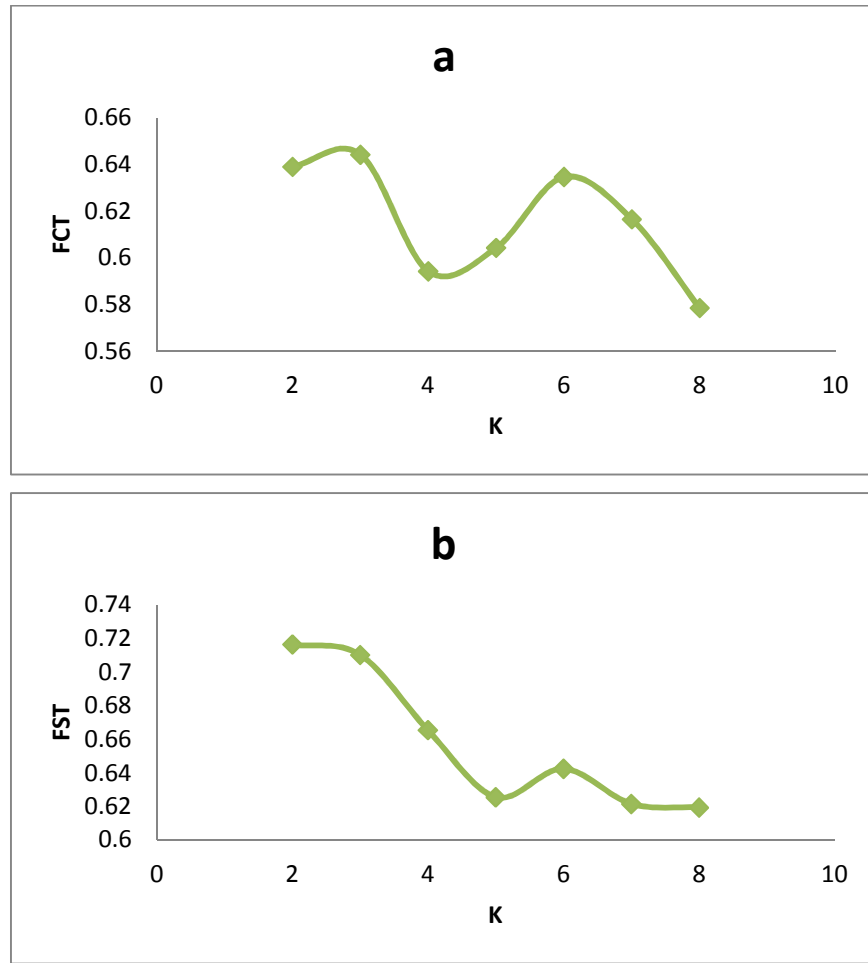
Ábramagyarázat: a: FCT csoportok közötti variabilitás alakulása a K csoportok számának függvényében; b: FST populációkon belüli fixációs index alakulása a K csoportok számának függvényében

5.3-5. táblázat: SAMOVA a teljes adatsorra, a támogatott felbontáshoz:

variancia komponensei	var	var (%)	Fixációs index	p
régiók között	11,4457	v_a 95,79	FCT= 0,9579	0,000
populációk között (régióon belül)	0,34117	v_b 2,86	FSC= 0,6774	0,000
populációkon belül	0,16249	v_c 1,36	FST= 0,9864	0,000

Az ázsiai haplocsoporton külön lefuttatva az elemzést (*melléklet 4.b. táblázat*), mind az FCT mind az FST érték, az alábbi két csoport létjogosultságát támogatja: Kis-Ázsia és „Kaukázus–Közép-Ázsia” (elemzések részletes eredményeit lásd *melléklet 4.b. táblázat*). Az így kapott régiók közötti variabilitás a haplocsoporton belüli összvariancia 95,7%-ért felelős, míg a populációkon belüli variabilitás mindössze csak 3,5%-ban járul hozzá az összvariabilitáshoz, a régiókon belül a populációk közötti különbség kevesebb, mint 1%-át adja az összvarianciának. A haplocsoporton belül a földrajzi izoláció hatása erős, a régiók között nincs génáramlás.

Az európa–észak-amerikai haplocsoporton belül (*5.3-6.a-b. ábra, 5.3-6. táblázat, melléklet 4.c. táblázat*) az FCT és FST érték alapján is 2 régió elkülönítése indokolt. A két csoport közül az egyik "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Katowice, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb, Monterey, Miliopotamos " a másik pedig "Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam". Szembetűnő, hogy az amerikai populációt (a vizsgált összes felbontásban) a „dél-délkelet –európai” minták közé sorolja (lásd még *melléklet 4.c. táblázat*). Egy Dél-Európa–Észak-Amerika irányú kolonizációt valószínűsít. Így az európa–észak-amerikai haplocsoporton belüli összvariancia 63,9%-ért a régiók közötti variabilitás felelős, míg a populációk között 7,7%, az összvariabilitás 28,3%-ért a populációkon belüli variabilitás felelős. A földrajzi távolság közepesen magas szerepet játszik a genetikai mintázat kialakításában a haplocsoporton belül.



5.3-6.a-b. ábra: Európa–észak-amerikai haplocsoport végrehajtott SAMOVA

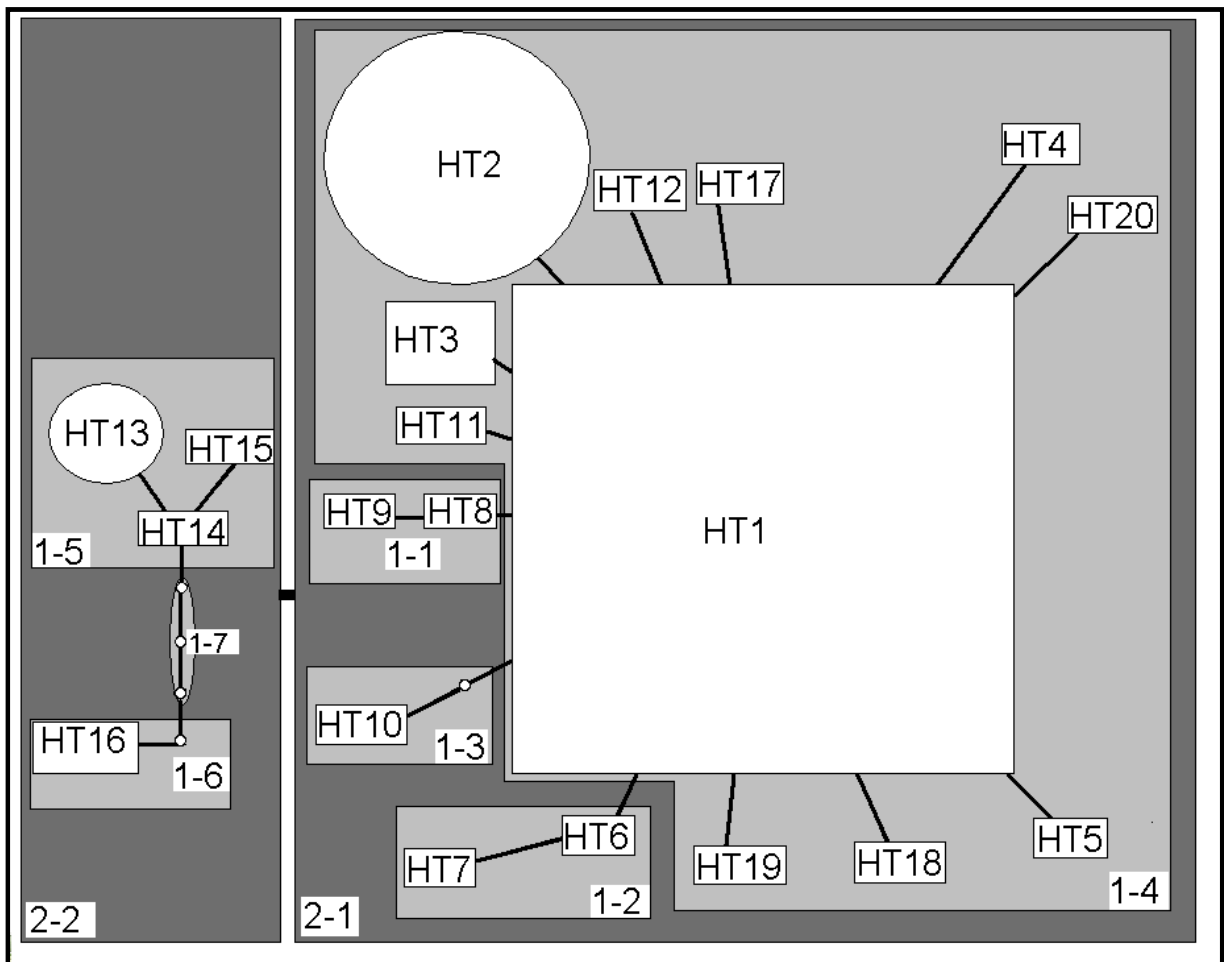
Ábramagyarázat: a: FCT csoportok közötti variabilitás alakulása a K csoportok számának függvényében; b: FST populációkon belüli fixációs index alakulása a K csoportok számának függvényében

5.3-6. táblázat: Haplocsoportonkénti SAMOVA eredmények (K2 csoportokra):

variancia komponensei	E/ÉAm haplocsoport				Á haplocsoport			
	variancia	var %	p	F-statisztika	variancia	var%	p	F-statisztika
régiók között	0,3889	63,9	0,000	FCT= 0,639	2,859	95,7	0,000	FCT=0,957
populációk között	0,047	7,76	0,000	FSC = 0,215	0,025	0,84	0,053	FSC =0,195
populációkon belül	0,172	28,34	0,000	FST = 0,717	0,103	3,46	0,000	FST =0,965

5.3.1.7. Haplotípus hálózat (NCPA)

A haplotípus hálózat (NCPA) felépítése során a 20 HT-t 2 fő haplocsoportba különítettük el (haplocsoport 2-1 és haplocsoport 2-2) (5.3-7. ábra). A közép-ázsiai és kis-ázsiai minták olyan nagy távolságra esnek az európai és amerikai mintáktól, hogy a köztük lévő mutációs lépések száma (20 teoretikus, vagy hiányzó haplotípus) már nem értelmezhető a statisztikai parszimónia 95%-os kritériumszintjén (Templeton 1998). A 2-1 fő haplocsoportba kizárólag európai és amerikai minták kapnak helyet, míg a 2-2 fő haplocsoportban egyöntetűen kaukázusi, kis-, és közép-ázsiai elterjedési területtel rendelkező haplotípusok találhatóak.



5.3-7. ábra: COI haplotípusok statisztikus parszimónia hálózata a haplocsoportokra

Jelmagyarázat: Az üres karikák a feltételezett (teoretikus), de nem mintázott köztes haplotípusokat jelölik. Az ellipszisek, ill. négyzetek mérete az adott haplotípus gyakoriságára utal. A világosszürke színnel határolt csoportok az első-lépéses haplocsoportokat (pl. 1-1, 1-2), a sötétszürke színnel határolt csoportok a fő haplocsoportokat (második-lépéses haplocsoportokat) (2-1, 2-2) jelölik. A két második-lépéses haplocsoport között húzott sötét vonal a 95%-os parszimonia kitétel által (17-nél több mutációs lépés) nem támogatott kapcsolat.

5.3-7. táblázat: Az NCPA elemzés eredményei.

Jelmagyarázat: Dc haplocsoport távolság, Dn nested haplocsoport távolság, I-T értéket akkor nem lehet számolni, ha a végső (tip) haplocsoport, vagy a közbülső (interior) haplocsoport nincsen jelen. K szignifikánsan kicsi, N szignifikánsan nagy a földrajzi távolság (5%).

Haplotípusok			1-ik lépéses haplocsoportok			2-ik lépéses haplocsoportok		
Haplocsoport	Dc	Dn	Haplocsoport	Dc	Dn	Haplocsoport	Dc	Dn
HT1	1109	1182						
HT2	456 (K)	710(K)						
HT3	185 (K)	691						
HT4	0	883						
HT5	0	1579						
HT11	0	9836(N)						
HT12	0	9836						
HT17	0	1456						
HT18	0	9836						
HT19	0	1112						
HT20	0	1112						
<i>I-T</i>	750	-58	1-4	1144	1139			
HT6	0	0						
HT7	0	0	1-2	0	1547			
HT8	0	9						
HT9	0	8						
<i>I-T</i>	0	2	1-1	9	1176			
HT10	-	-	1-3	0	1174			
			<i>I-T</i>	-1126	408	2-1	0	0
HT13	837	903						
HT14	0	1398						
HT15	0	1398						
<i>I-T</i>	-799	472	1-5	0	0			
HT16	-	-	1-6	0	0	2-2	0	0

A 2-1 fő haplocsoportot további 4 haplocsoportra lehetett felosztani. Ezen a szinten az észak-amerikai haplotípusok az európai mintákkal egy haplocsoportot alkotnak (haplocsoport 1-4), azaz 1-1 mutációs lépésben térnek el, egyetlen haplotípus van, amely Amerikában is és Európában is általánosan elterjedt (HT1). A többi haplocsoportot a platán feltételezett őshonos areájából származó (görög) szekvenciák alkotják (haplocsoport 1-1; HT8, HT9; haplocsoport 1-3 HT10; haplocsoport 1-2 HT6, HT7) itt egyetlen teoretikus haplotípus ékelődik be a haplocsoportokba (HT10 és a HT1 között).

A 2-2 haplocsoportba két haplocsoportot sikerült kimutatnunk, viszont az ágvégi (tip clad) haplocsoportok közé egy teoretikus haplotípusokat magábfoglaló haplocsoport (1-7) is beékelődik. A középázsiai (HT13, HT14, HT15) és a kis-ázsiai (HT16) között 4-5 mutációs lépés van 4 teoretikus (feltételezett, hiányzó köztes HT) haplotípussal. Azaz a

közép-ázsiai 1-5 és kisázsiai areával rendelkező 1-6 haplocsoport között nem csak a földrajzi, hanem a genetikai távolság is viszonylag nagy.

A genetikai és földrajzi variabilitás mindössze az 1-1 haplocsoporton belül 3 haplotípus esetén volt szignifikáns (HT2, HT3, HT11). A HT2-n belül (Dc) a földrajzi távolság szignifikánsan alacsony (azaz viszonylag nagyszámú minta jól körülhatárolható helyen belül van), az 1-1 haplocsoporton belül mért (Dn) távolság is szignifikánsan alacsony érték. HT3-on belül (Dc) mért távolság is szignifikánsan alacsony érték, ez egy jól körülhatárolhatóan közép-európai haplotípus (5.3-7. táblázat).

5.3-8. táblázat: a NCPA elemzés eredményeinek interpretálása Templeton-féle (1998) határozó kulccsal

haplocsoport	határozás menete	eredmény
1-1	2-11-17 Nem	nem számottevő eredmény
1-2	2-11-17 Nem	nem számottevő eredmény
1-3	nincs értelme	
1-4	1-2-3-5-6-7-8 Igen	korlátozott génáramlás/diszperzió nagy távolságú terjedéssel a köztes területeken át
1-5	2-11-17 Nem	nem számottevő eredmény
1-6	nincs értelme	
2-1	2-11-17 Nem	nem számottevő eredmény
2-2	19-20-Nem	nem elegendő a földrajzi mintavételezés

Az 1-1 haplocsoporton esetén a határozó kulcs (Templeton 1998) azt az eredményt adta, hogy a haplocsoportra jellemző a nagy távolságra történő terjedés, mely során a faj nem töltötte be a köztes alkalmas területeket (5.3-8. táblázat). Azt támogatja, hogy Észak-Amerikába emberi közvetítéssel került a faj.

A NCPA elemzés adatai alapján (5.3-7. és 5.3-8. táblázat) a *P. platani* populáció történetének feltárásához további helyszínekről szükséges mintát venni Kis-Ázsiából (Templeton 1998). Ezt sugallja az a tény is, hogy az ázsiai és európa-észak-amerikai minták közti genetikai variabilitás nem értelmezhető a statisztikai parszimónia 95%-os szintjén, mivel minimum 20 hiányzó, vagy teoretikus haplotípus ékelődik közéjük (5.3-7. ábra).

5.3.2. A *P. platani* Európán belüli populációgenetikai viszonyai

A populációk európai térbeli mintázatára több alternatív hipotézisünk volt, melyeket több módszerrel teszteltünk (az alternatív csoportokat lásd *melléklet 4.e. táblázat*). Az alábbiakban a legtöbb módszerrel támogatott földrajzi eloszlásra kapott eredményeket mutatjuk be.

5.3.2.1. A haplotípusok filogenetikai leszármazási viszonyainak rekonstrukciója

Az északi és dél–délkeleti-i csoport közti divergencia (0,08%) jóval magasabb, mint a csoportokon belüli (0,00 illetve 0,04%) érték, ez a csoportosítás jogosultságát támogatja (5.3-9. táblázat).

5.3-9. táblázat: A COI szekvenciák divergenciája (%) az európai populációk között (between group average distance).

Jelmagyarázat: A szürke cellák a csoporton belüli átlagos távolsértékeket tartalmazza (within group average distance). (K2 szubsztitúciós modell, gamma estimation rate) D/DK: dél–délkelet-európai, É: észak-európai minták

	É	D/DK
É	0,00	
D/DK	0,08	0,04

5.3.2.2. Molekuláris diverzitási indexek

Az „északi” populáció homogén (5.3-10. táblázat), kis haplotípus diverzitás (0,000) alacsony nukleotid diverzitással (0,000%) párosul, ez alapítóhatás következménye lehet. A „dél–délkeleti” populáció haplotípus diverzitása közepes (0,436), a nukleotid diverzitás kifejezetten alacsony (0,042%), gyors demográfiai növekedést sejtet (5.3-10. táblázat).

5.3-10. táblázat: molekuláris diverzitási indexek

Jelmagyarázat: n: szekvenciák száma, No.:haplotípusok száma, S: polimorf lokuszok száma, k: az átlagos nukleotid különbségek száma (mean number of pairwise differences), h: genetikai diverzitás vagy haplotípus diverzitás, π : nukleotid diverzitás (lokuszonkénti átlaga(average over loci), ts:tranzíciók száma, tv: transzverziók száma

	n	No.	S	ts/tv	h \pm SD	π (%) \pm SD	Shannon-féle div.
É Eu	40	1	0	n.a.	0,0000 \pm 0,0000	0,0000 \pm 0,0000	0
D/DK	143	13	13	12/1	0,4361 \pm 0,0496	0,0424 \pm 0,0395	1,045
Eur összes	183	13	13	12/1	0,5685 \pm 0,0282	0,0547 \pm 0,0464	1,152

5.3-11. táblázat: A mismatch eloszlás eredménye:

	n	S	p (SSD)	τ	ezer év
Észak-Európa	40	0	n.r.	n.r.	n.r.
D/DK-Európa	143	13	0,394	0,564 (0,088-1,221)	n.r.
Európa összes	183	13	0,024	0,805 (0,398-1,465)	18(9-33)

5.3-12. táblázat: A neutralitás tesztek eredményei:

	Tajima-féle D	p	Fu-féle FS	p	R2	p
Észak-Európa	0	1.000	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
D/DK-Európa	-1.996	0.002	-12.395	0.000	n.r.	n.r.
Európa összes	-1.744	0.011	-9.430	0.001	n.r.	n.r.



5.3-8. ábra: Mismatch eloszlás az európai mintákra

5.3.2.3. Mismatch eloszlás és neutralitás tesztek

Az európai teljes adatsorra szignifikánsak a mismatch eloszlásra és a neutralitás tesztek eredménye szignifikáns (5.3-11 és 5.3-12. táblázat). A mismatch eloszlás egycsúcsú görbét ad, ami expanzióra utal, ez lehet múltbeli palacknyak hatást követő folyamatos növekedés, vagy egyszeri expanziós kitörés eredménye (5.3-8. ábra). A Tajima-féle D és a Fu-féle F_s érték is múltbeli palacknyak hatást követő jelenkori expanzióra utal értéke szignifikáns ($D=-1,743$, $F_s=-9,43$).

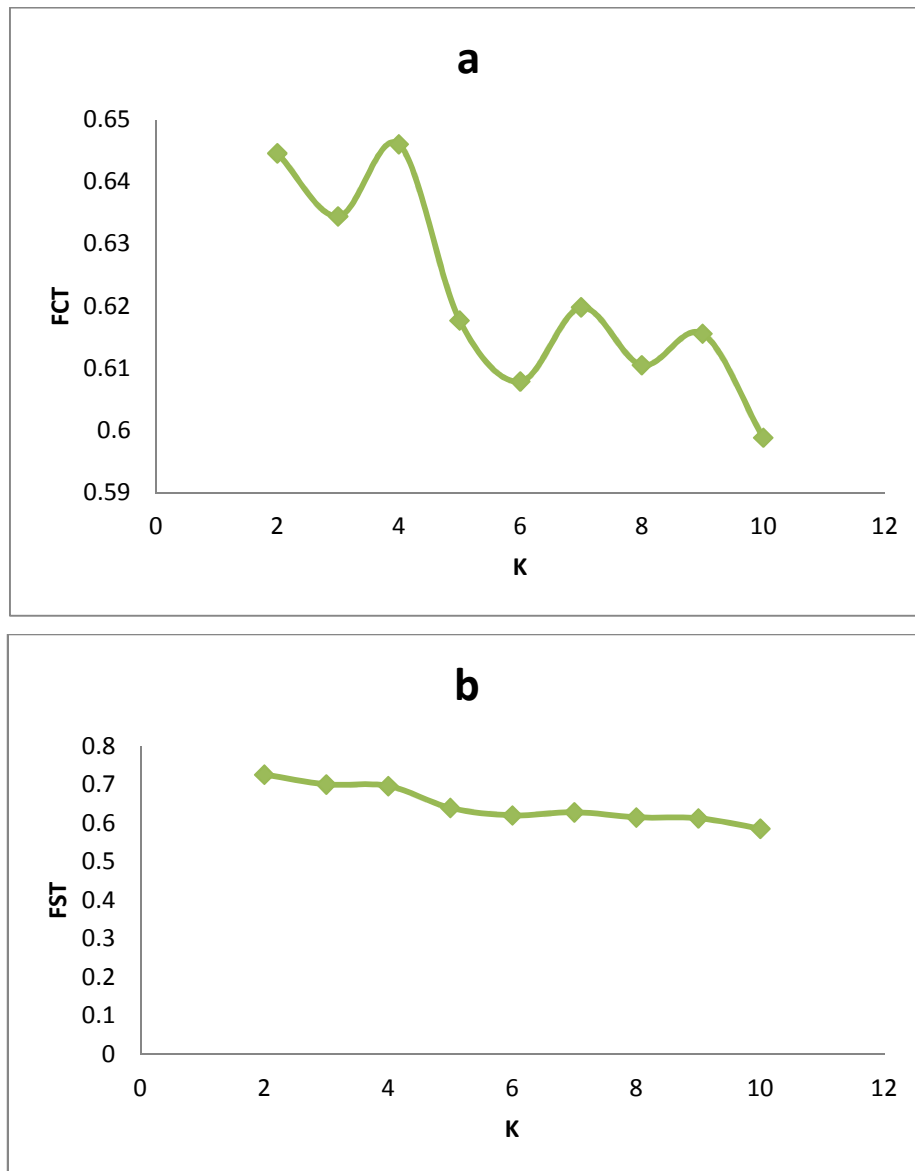
Az északi régióra nem lehet a tesztek lefuttatni, mivel teljesen homogén. A dél-délkelet-európai régióra a mismatch eloszlás kivételével szignifikáns eredményt adtak a tesztek. A Tajima-féle D és a Fu-féle F_s érték ($D=-1,996$, $F_s=-12,395$) alapján palacknyak hatást követő jelenkori demográfiai expanzióra lehet következtetni.

5.3.2.4. Genetikai struktúra (Mantel-teszt)

Európán belül a földrajzi izolációs mintázatra („isolation-by-distance”) használt Mantel teszt alapján (melléklet 1.d. ábra) el kell vetnünk a null hipotézist (hogy nincsen összefüggés a populációk közötti genetikai távolságok és a földrajzi távolságok között), mivel g értéke ($g=2,728$) jóval magasabb a kritikus értéknél ($p=0,5\%$ esetén $CV=-2,575$). A korrelációs koefficiens ($r=0,2049$) értéke alapján, Európán belül a földrajzi izoláció szerepe viszonylag kicsi a platánlevél-sátorosmoly genetikai struktúrájának kialakításában (lásd melléklet 1.d. ábra).

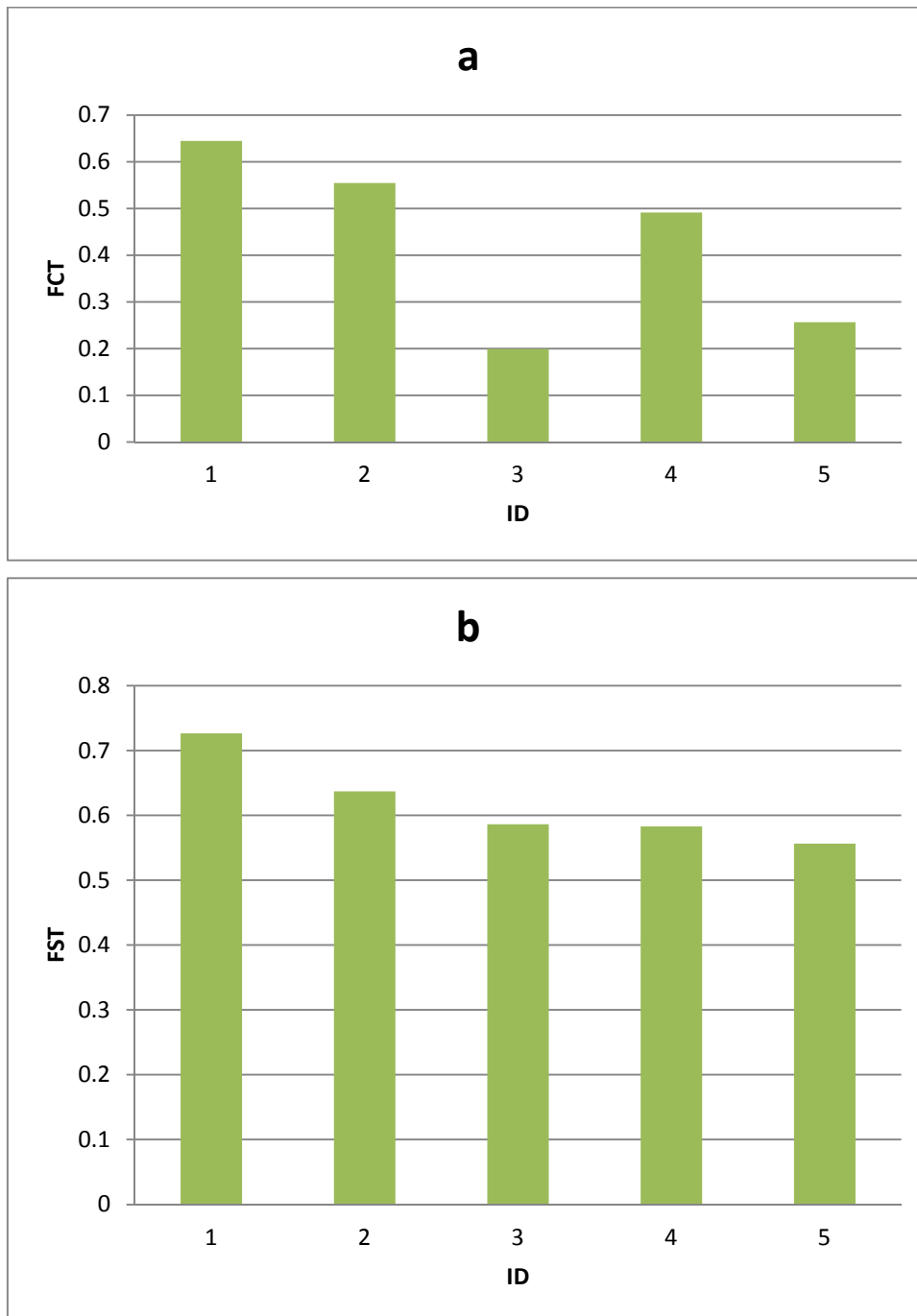
5.3.2.5. Genetikai struktúra (AMOVA, SAMOVA)

Az európai mintákra nézve a SAMOVA a FCT értékek inkább 4 csoport jelenlétét (esetleg 2-ét), az FST értékek egyértelműen két csoport elkülönítését támogatják (5.3-9. a-b. ábra, melléklet 4.d. táblázat). A K4 csoportosítás esetén a dél-magyarországi mintákat és a lengyelországi mintákat is külön-külön önálló régióknak tekinti, valamint a haplotípus összetételében hasonló szlovákiai mintát egy harmadik régióba sorolja (lásd melléklet 4.c. táblázat), ezért a 4 régió léte ilyen formában elvethető. A K2 csoportosítás által létrehozott két régió az alábbi populációkat tartalmazza: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Miliopotamos, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Katowice, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb" és "Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam". Ez egy dél-délkeleti irányú elkülönülést jelent (5.3-11. ábra).



5.3-9. a-b. ábra: Európai populációra végrehajtott SAMOVA

Ábramagyarázat: a: FCT csoportok közötti variabilitás alakulása a K csoportok számának függvényében; b: FST populációkon belüli fixációs index alakulása a K csoportok számának függvényében

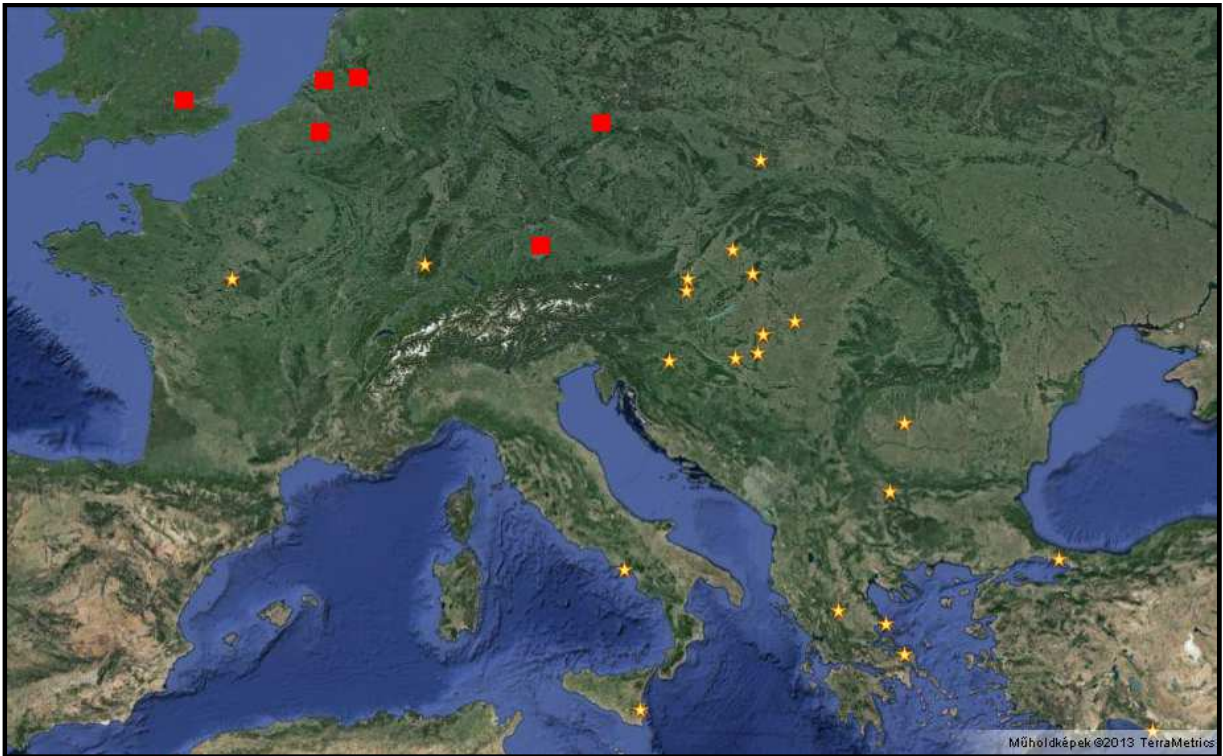


5.3-10.a-b. ábra: populációk differenciálódásának lehetőségei SAMOVA/AMOVA

Ábramagyarázat: a, FCT értékek b, FST értékek alapján (ID az egyes csoportosítások, 1: a SAMOVA által optimálisnak ítélt felosztás É/D-DK, 2:É/D/Közép, 3:őshonos/nem őshonos, 4: 5:ÉNy/Közép/K/D (kiv. őshonos)/őshonos)

A populációk földrajzi régiókra bontására több alternatív összeállítást teszteltünk AMOVA elemzéssel, ezek eredményeit a SAMOVA által legjobbnak ítélt csoporttal vetettük össze (5.3-10.a-b. ábra, melléklet 4.e. táblázat). Az ábrákról is leolvasható, hogy mind az FCT, mind az FST értékek tekintetében a SAMOVA által legjobbnak ítélt modell a

legkedvezőbb. Az őshonos/nem őshonos populációk szerinti elkülönülést nem támogatják az eredmények (5.3-10.a-b. ábra).



5.3-11. ábra: A SAMOVA által legjobbnak tartott két európai csoport
(ábramagyarázat: piros négyzet északi, és sárga csillag dél-délkeleti csoport)

5.3-13. táblázat: Európa SAMOVA K2 csoportosítás adatai:

var	var %	Fixációs index	p
0,38124	64,46	FCT= 0,64461	0,0000
0,04842	8,19	FSC= 0,23036	0,0000
0,16177	27,35	FST= 0,72648	0,0000

A SAMOVA/AMOVA elemzések által legjobbnak ítélt csoportosítás szerint a két nagy régió közötti variabilitás az összvariabilitás több, mint 64%-ért felelős, az egyes populációkon belüli variabilitás az összvariabilitás kicsivel több, mint 27%-ért felelős (5.3-13. táblázat). Ez alapján a földrajzi differenciálódás közepesen erős. A populációk közötti génáramlás viszonylag csekély.

6. Megvitatás

6.1. Genetikai markerek

A COI szekvenciák átlagos AT tartalma a rovarok mitokondriális DNS-ére (Lehrian *et al.* 2010) jellemzően magas (72,2%). A markert széles körben alkalmazzák különböző filogenetikai, populációgenetikai kérdések megválaszolására (Lunt *et al.* 1996; Ritzlerow *et al.* 2004; Elias *et al.* 2007; Hajibabaei *et al.* 2007; Frézal & Leblois 2008; Craft *et al.* 2010; Avtzis & Aravanopoulos 2011; Dinca *et al.* 2011). Mivel egyértelmű, tiszta szekvencia eredményeket kaptunk, és a pozíciók 3,1% variábilis, ezért a markert alkalmasnak találtuk részletes filogeográfiai elemzések végzésére, valamint taxonómiai kérdések megválaszolására.

28S rDNS erősen konzervált (Houge *et al.* 1995), ezért is elsősorban nagyobb léptékű taxonómiai kérdések megválaszolására alkalmazzák (Lopez-Vaamonde *et al.* 2001a; Lopez-Vaamonde *et al.* 2003; Lopez-Vaamonde *et al.* 2006).

Számos kutató érvel a multigénes elemzés (Lin & Danforth 2004; Hajibabaei *et al.* 2007; Wahlberg & West Wheat 2008; Hickerson *et al.* 2010; Cech 2011) mellett, de legalább ugyanennyien érvelnek az egyetlen genetikai marker alkalmazása mellett is (Hajibabaei *et al.* 2007; Frézal & Leblois 2008; Avtzis & Aravanopoulos 2011; Avtzis & Cognato 2013). Dai és mts. (Dai *et al.* 2012) elemzése bizonyítja, hogy a COI magyarázó értéke önmagában erősebb, mint az ITS1 és ITS2 önmagában, vagy a három marker együttesen.

Véleményem szerint meg kell próbálni a multigénes elemzést és amennyiben bebizonyosodik, hogy adott rendszertani csoportra, vagy kérdésre nem elég nagy a magyarázó értéke, akkor meg kell elégedni egyetlen marker alkalmazásával. A *P. platani* esetében a taxonómiai kérdés tisztázására két gén alkalmazását tartjuk megfelelőnek, a populációgenetikai vizsgálatokhoz pedig elegendő a COI genetikai marker alkalmazása.

6.2. Inter- és intraspecifikus divergencia

P. platani esetén a COI 1243 bp szakaszán a fajon belül tapasztalt divergencia 0,55%, ez nagyságrendileg hasonló a *Cameraria ohridella*-nál (0,49%) tapasztaltnak (Valade *et al.* 2009), de jelentősen alatta marad a *Polyommatus amandus* (3,8%) vagy *Polyommatus icarus* (5,7–6,8%) fajokon belül mért divergenciáknak (Wiemers & Fiedler 2007).

Az ázsiai és európai valamint az ázsiai és amerikai minták között a COI genetikai markeren mért genetikai távolság értéke jóval alacsonyabb (2,0%) a kontrollként választott *Phyllonorycter issikii*-hez képest (11,27%). Alatta marad a *Lycaenidae* családban a fajok között tapasztalt divergencia értéknek (5,0-5,1%), vagy a más lepke családok esetén kimutatott átlagos genetikai távolságnak is (Roe & Sperling 2007; Wiemers & Fiedler 2007).

A *Gracillariidae* családban a fajon belüli átlagos genetikai távolság értékek *Macrosaccus* fajoknál 0,0 – 0,6%, *Conopomorpha cramerella* esetén 0,0 – 0,3% között mozognak (Shapiro *et al.* 2008; Davis & De Prins 2011). A *Phyllonorycter* nemzetségre általában a fajok közötti genetikai távolság – más lepke családokhoz viszonyított – magasabb értéke a jellemző, átlagosan 6,04%, de pl. *P. salictella* és *P. obandai* között 19,6% (De Prins *et al.* 2009; De Prins *et al.* 2013). Ugyanez igaz a fajon belüli átlagos divergenciára (0,94%) (De Prins *et al.* 2013). Ehhez képest az európai és amerikai haplotípusok között egészen csekély a genetikai távolság (0,2 %). Mindezek alapján az európai és amerikai haplotípusok egy fajhoz tartoznak, valamint az ázsiai minták faji szintű elkülönítése sem indokolt.

Szakirodalmi adatok szerint 28S rDNS esetén a *Phyllonorycter* fajok között 0,2 – 25,0%, fajokon belül 0,5% alatti a divergencia érték (Lopez-Vaamonde *et al.* 2003). Az ázsiai és európai allélek között 0,2% a divergencia értéke, hosszabb szakaszt vizsgálva valószínűleg alacsonyabb lenne a divergencia érték (Roe & Sperling 2007), ezért a második marker adatai alapján sem érdemes faji szinten elkülöníteni az ázsiai populációkat.

6.3. Populációgenetika

A populációk térbeli genetikai mintázatát a génáramlás múltbeli, és a jelenkori eseményei együttesen határozzák meg (Excoffier *et al.* 2009). Az egyik ilyen fontos esemény a jégkorszak, a másik a jelenkori földrajzi expanzió (invázió). Mindkét hatás jól kimutatható a *P. platani* populációin. A filogeográfiai, populáció dinamikai elemzéseket több térléptékben végeztük el.

A faj teljes haplotípus diverzitása ($0,6805 \pm 0,0253$) más lepke fajokhoz képest közepesen magas (*Aglaia urticae* 0,9647;) (Vandewoestijne *et al.* 2004). A teljes nukleotid diverzitás ugyancsak ($0,5390 \pm 0,2823\%$) közepesen magas értéknek számít más lepkefajokhoz (*Dioryctria* fajok 0,03-0,35%, *Hyles* nemzetség fajai 0,03-2,71%, *Papilio* fajok 0,26-

2,71%) képest (Vandewoestijne *et al.* 2004; Roe & Sperling 2007; Valade *et al.* 2009). Ugyanakkor az Európán belül tapasztalható 0,05%-os nukleotid diverzitás a közeli rokon *Cameraria ohridella* szakirodalmi adataihoz viszonyítva ($\pi = 0,09\%$ az egyéb európai helyek, $\pi = 0,17\%$ az őshonos areában) jóval alacsonyabb (Valade *et al.* 2009).

6.3.1. Jégkori refúgiumok

A koaleszcens elmélet szerint a leggyakoribb haplotípus valószínűleg a legősibb (Fry & Zink 1998). A haplotípusok közül a HT1 (0,498), a HT2 (0,251) HT13 (0,093), HT3 (0,031) és HT16 (0,040) haplotípusok előfordulási gyakorisága a legnagyobb a mintában. A HT2 és HT3 esetén a populációdinamikai elemzéseket, és földrajzi megoszlást tekintve valószínűleg az eredeti elterjedési terület szegélyén (Balkán-félsziget) egy-egy ritkább haplotípust képviselhetek, melyek a terjeszkedés folyamán fixálódhattak az újabban kolonizált területeken (Excoffier *et al.* 2009). Szintén a populáció dinamikai elemzések tükrében a Kis-Ázsia déli részén megmintázott populáció feltehetőleg jelenkori expanzió eredménye. A frekvencia adatok alapján, a jelenlegi mintaelemszámmal két refúgium terület létezése támogatott biztosan (Délkelet-Európa mediterrán térsége és a Kaukázus). A kis-ázsiai refúgium terület és az átmeneti haplotípusok felderítéséhez további mintavételezésre lesz szükség.

Mint az előző fejezetben részletesen kifejtésre került, az Ázsiából és Európából származó minták között nagyfokú genetikai különbség tapasztalható. Az ML, valamint az MP módszerrel lefuttatott fák 99%-os valószínűséggel támogatják a minták két fő haplocsoportra történő elkülönülését. Az ázsiai haplocsoportot 76% (ML) és 97%-os (MP) valószínűséggel tovább bontják kis-ázsiai- és kaukázus-közép-ázsiai csoportra. A Bayes interference (BI) fa nem támogatja ezt az elrendezést, ez utóbbi módszer három haplocsoportot különít el. A jelenlegi minta elemszámmal a BI fa kivételével az alkalmazott módszerek mindegyike (divergencia értékek, SAMOVA, mismatch eloszlás) két főhaplocsoport létezését és az ázsiai-haplocsoport további differenciálódását támogatja. Az európa-észak-amerikai- és az ázsiai-haplocsoport közt kimutatható genetikai távolság viszonylag magas (1,98%), de megfelelnek a családra jellemző intraspecifikus variabilitás (*Phyllonorycter* nemzetség fajaira átlagosan 0,94%-os divergencia érték jellemző) értékeinek (Davis & De Prins 2011; De Prins *et al.* 2013). Az ázsiai-haplocsoport esetén a haplotípus diverzitás közepesen magas (0,5322), a nukleotid diverzitás értéke alacsony

($\pi=0,2078\%$). az európai-haplocsoport esetén hasonló arányok tapasztalhatóak a molekuláris diverzitási értékekben ($h=0,5754$, $\pi=0,0557\%$). A közepesen nagy haplotípus diverzitás, kis nukleotid diverzitási értékkel párosulva palacknyak-hatás utáni rapid expanzió hatására jöhetett létre (Grant & Bowen 1998; Durka *et al.* 2005; Valade *et al.* 2009). Ezt a palacknyak hatást előidéző esemény feltehetőleg az utolsó eljegesedésnek köszönhető. Számos munka szól a jégkorszakok diverzitás és effektív populációméretet csökkentő hatásáról (Hewitt 1999, 2000; Petit *et al.* 2003; Durka *et al.* 2005). Ezt a mismatch eloszlással kapott eredmény is támogatja az európa–észak-amerikai haplocsoport esetén. A faj feltehetőleg több kisebb refugium területen maradhatott fent a jégkorszakok alatt, mivel a tápnövényül szolgáló *Platanus* sp. Tercier reliktum (Feng *et al.* 2005). A glaciálisok alatt a platánokhoz hasonló meleg igényes lombos fafajok (és így a hozzájuk kötődő herbivor rovarok) elterjedési területe, néhány refúgium területre korlátozódott Európa déli nagy félszigetein (Ibériai-félsziget, Appennini-félsziget, Pindosz-hegység), Kis-Ázsia északi részén, a Fekete-tenger keleti partján, valamint a Kaszpi-tenger déli partvidékén, (Tzedakis *et al.* 2002; Leroy & Arpe 2007; Schmitt 2007; Médail & Diadema 2009). Ez a mediterrán refúgium, azonban nem tekinthető egységes, egybefüggő területnek, hanem több, kisebb kiterjedésű, meleg, relatíve nedvesebb mikroklímával rendelkező élőhelyekre korlátozódhatott, pl. folyók közelébe, 400-800 m tszf. magasságokba, tengerpartokra, mély völgyekre stb. (Tzedakis *et al.* 2002; Leroy & Arpe 2007; Médail & Diadema 2009). Európában összesen 52 mediterrán növényi refúgiumot azonosítottak (Médail & Diadema 2009). Ez magyarázatot adhat arra, hogy a Kaukázusban, vagy Európa mediterrán térségében miért csak bizonyos helyeken magas a populációk diverzitása és a köztes helyeken esetleg miért homogén.

A Kis-Ázsiában talált haplotípus (HT16) közelebb áll a grúziai haplotípusokhoz (HT13, HT14, HT15), mint az európaiakhoz, ez azt valószínűsíti, hogy a faj Törökországon át jutott el a Közel-Keletre és a Kaukázusba.

A Mantel-teszt és az SAMOVA elemzések szintén a faj több, jégkori refugium területen való fennmaradását támogatják, mivel a két fő haplocsoport közti különbségek kialakításában közepesen erős ($r=0,4525$), ill. erős ($V_a=95,79\%$) a földrajzi izoláció hatása. Ázsián belül további jelentős földrajzi izolációs hatást lehet kimutatni SAMOVA elemzéssel ($V_a=95,7\%$). Ez alapján kis-ázsiai és kaukázus–közép-ázsiai csoport közti nincs génáramlás ($F_{ST}=0,965$).

6.3.2. Észak-amerikai őshonosság kérdése

Mivel a *P. platani* megtalálható Észak-Amerikában és Európában is, ezért felmerül a kérdés, hogy hol, melyik kontinensen őshonos a faj és honnan terjedt szét? Európából hurcolták be Észak-Amerikába, vagy pedig Észak-Amerikából került át Európába?

A *P. platani* észak-amerikai őshonossága ellen több érv szolgál, annak ellenére, hogy magas diverzitási értékekkel ($h=0,600$, $\pi=0,056\%$) rendelkezik a helyi populáció. Az észak-amerikai publikációkban, és az Európában és Ázsiában őshonos tápnövényként (Walsingham 1908; Heinrich 1920; Burke 1933; Kuznetzov 1960; Koehler & Campbell 1968; Noreika & Puplesis 1992; Gates *et al.* 2002) megjelölt platán fajok szétválásának idejét minimum 15 millió évre becsülik (Feng *et al.* 2005). Ezért, ha a *P. platani*-nak Észak-Amerikában és Ázsiában lenne refúgium területe, és csak másodlagosan került volna át Európába, ez az útvonal nem magyarázná meg a köztes haplotípus (HT16) kialakulását. Ezen kívül a 28S rDNS adatok sem támogatják ezt, ugyanis a kimutatott két allél mindössze egyetlen pont mutációban tér el egymástól.

Az „európa–észak-amerikai” haplocsoporton belül a földrajzi izolációnak kis, vagy közepesen erős szerepe van a mintázat kialakításában (Mantel-teszt $r=0,1875$, SAMOVA $V_a=63,9\%$). Az elvégzett elemzések (populációk közötti és populáción belüli divergencia érték $0,06\%$; SAMOVA) egyike sem támogatja az észak-amerikai populáció elkülönítését az európai populációktól. Az észak-amerikai populáció esetén a neutralitás tesztek ($R^2=0,188$) és a diverzitás értékek ($h=0,600$, $\pi=0,056\%$) is gyors demográfiai expanzióra utalnak, azaz Észak-Amerika nyugati részébe még a 19. század folyamán juthatott el valamelyik kedvelt kereskedelmi útvonalon Dél-Európa mediterrán régiójából. Legalábbis az első amerikai publikáció (Heinrich 1920) dátumából erre lehet következtetni.

6.3.3. Jelenkori expanzió

Az ázsiai haplocsoport jól differenciálódott ezért érdemes az alcsoportok populációdinamikáját részletesen tárgyalni. A kis-ázsiai populáció, homogén haplotípus összetétellel rendelkezik, ami alapító hatásra utal, ezért nem valószínű, hogy Antalya közelében volt a kis-ázsiai refúgium területe, bár Anatólia több pontján leírtak mediterrán növényi refúgiumokat (Médail & Diadema 2009). Klimatikus szimulációkkal kapott

eredmények alapján leginkább Törökország északi részén valószínűsítenek a tápnövény számára alkalmas refúgium területeket (Leroy & Arpe 2007). A kérdés tisztázására Kis-Ázsiából további mintavételezés szükséges. A „kaukázus–közép-ázsiai” csoport esetén szintén alacsonyak a diverzitásértékek. Ha külön-külön megvizsgáljuk a populációkat, akkor a közép-ázsiai populációk (Szamarkand, Biskek) homogenitása és a kaukázusi (Telavi) populáció magas diverzitásából ($h=0,5111$, $\pi=0,0536\%$) feltételezhető, hogy a *P. platani* napjainkban a Kaukázus térségéből terjeszkedik Közép-Ázsiába.

Az NCPA elemzés szerint az „európa–észak-amerikai” haplocsoportra jellemző a nagy távolságra történő terjedés, mely során a faj nem töltötte be a köztes alkalmas területeket. Önmagában a haplotípus-hálózat csillag alakú mintázata is kis effektív populációméretből induló jelenkori expanzióra utal (Excoffier *et al.* 2009; Valade *et al.* 2009). Ez összhangban van Šefrová (2001, 2003) megállapításával, miszerint a faj Európán belül ugrásszerűen terjedt szét.

Azt, hogy az őshonos és nem őshonos területek közti különbségek nem jelentek meg a *P. platani*-nál olyan markánsan, mint ahogyan azt a *Cameraria ohridela* populációiban tapasztalták (Valade *et al.* 2009), összefüggésbe hozható azzal, hogy a *C. ohridela* expanziójának kezdete körülbelül 30 évvel, míg a *P. platani*-é közel 150 évvel ezelőttre tehető (Šefrová 2001, 2003; Valade *et al.* 2009). A *Gracillariidae* családra jellemző a gyors terjedési sebesség (Gilbert *et al.* 2004), ezért hosszabb idő alatt több alapító egyed és több hullamba juthatott el a *P. platani* közép-európai populációiba.

A *P. platani* Európán belüli populációdinamikájára kis effektív populációméretből (palacknyak hatás után) induló gyors demográfiai expanzió hatása a legmarkánsabb (mismatch eloszlás, neutralitás tesztek $D=-1,744$, $F_s=-9,430$). A klasszikus közép-európai szekunder kontakt zónákhoz hasonló mintázat rajzolódik ki (Schmitt 2007) az SAMOVA által támogatott két európai populáció („északi”, „dél-délkeleti”) esetén (5.3-12. ábra). Az „északi” populáció elterjedési területének határait a francia-német határvidék, az Alpok keleti szegélye és Németország keleti határvidéke alkotja. Az „északi” populáció alacsony diverzitásértékei ($h=0$, $\pi=0$) alapító hatás következménye (Grant & Bowen 1998). A XX. század elejére a dél-délkelet európai régióban szinte mindenütt kimutatták a *P. platani* jelenlétét (2.6-1. ábra) (Šefrová 2001, 2003). „Dél-délkeleti” populáció esetén kis effektív populációméretből (palacknyak hatás után) induló gyors demográfiai expanzióra utal (Grant & Bowen 1998; de Jong *et al.* 2011) a viszonylag magas haplotípus diverzitáshoz

(0,436) társuló alacsony nukleotid diverzitás (0,042%). A szakirodalom alapján (Šefrová 2001) Északnyugat-Európa kolonizációjának dátumát a 30-50-es évekre tehetjük (2.6-1. ábra). A HT2 és HT3 valószínűleg az elterjedési terület szegélyein megjelent új mutációk, melyek széles körben szétterjedhettek a kialakulási területüktől távol és fixálódhattak (Excoffier *et al.* 2009).

A *P. platani* terjeszkedésének története és a genetikai mintázatának felderítése az inváziós útvonalak és az antropogén hatás szerepére hívja fel a figyelmet. Lombhullató díszfa és -cserjefajok szaporító anyagának körültekintőbb szállítása csökkenthetné az inváziós fajok terjedésének ütemét, amennyiben a kereskedelem elsősorban a lombtalan állapotban történő szállításra korlátozódna.

7. Összefoglaló, tézisek

Napjainkban egyre nagyobb gazdasági és természetvédelmi problémát jelent a jövevényfajok emelkedő száma. A disszertáció egy terjeszkedő rovarfaj, a platánlevél-sátorosmoly (*Phyllonorycter platani*) populáció genetikai vizsgálatával, genetikai szerkezetének feltárásával kíván hozzájárulni az invázióbiológiai ismeretek bővítéséhez. A dolgozatban kiemelten vizsgáltam, hogy mely faktorok játszottak szerepet a napjainkban tapasztalható genetikai diverzitás kialakításában, illetve a *P. platani* mely területeken lehet őshonos.

A kérdések megválaszolásához 26 populáció genetikai elemzésére került sor. Vizsgálataink során több genetikai marker került tesztelésre. A COI gén 1243bp hosszú szakaszán 227 egyed alapján 20 haplotípust lehetett elkülöníteni, a lokuszok 3,1% volt variábilis. A 28S rDNS 530 bp hosszú szakaszáról 35 egyed alapján két allélt sikerült kimutatni, ezek mindössze egyetlen pozícióban tértek el egymástól.

A COI, és a 28S rDNS markerekkel kapott divergencia értékek alapján a *P. platani* valamennyi vizsgált populációja genetikai értelemben is egy fajnak tekinthető. Az európai és amerikai COI haplotípusok között egészen csekély a genetikai távolság (0,2 %) a kontrollként választott *Phyllonorycter* fajok között tapasztalható 5,2 – 12,4%-os értékhez képest. Az ázsiai és európai valamint az ázsiai és amerikai minták szekvenciái között is alacsony a kontrollhoz viszonyított genetikai távolság értéke (2,0%). A 28S rDNS marker esetén két allél volt kimutatható, az ázsiai és európai allélek között a divergencia érték alacsony (0,2%), az amerikai és európai minták pedig egyöntetűen ugyanazt az allélt képviselték.

A populációgenetikai vizsgálatok különböző statisztikai módszerekkel, több térléptékben kerültek elemzésre.

A *P. platani* populációk térbeli genetikai mintázatán a génáramlás múltbeli és jelenkori eseményei egyaránt kimutathatóak. A haplotípusok frekvencia adatai, a filogenetikai fák (ML 99%, MP 99%), valamint a Mantel-tesz ($r=0,4525$), és az SAMOVA elemzések ($V_a=95,79\%$) alapján, a jelenlegi mintaelemszámmal két refugium terület létezését támogatja (Balkán-félsziget és a Kaukázus). Ázsián belül további jelentős földrajzi izolációs hatást lehet kimutatni (SAMOVA: $V_a=95,7\%$). Eredményeink alapján a kis-ázsiai és kaukázus–közép-ázsiai csoport közti nincs génáramlás (SAMOVA: $F_{ST}=0,965$).

A kis-ázsiai refugium terület és az átmeneti haplotípusok felderítéséhez ebből a térségből további mintavételezésre lesz szükség.

A Kis-Ázsiában talált haplotípus (HT16) közelebb áll a grúziai haplotípusokhoz (HT13, HT14, HT15), mint az európaiakhoz, ez azt valószínűsíti, hogy a faj Törökországon át jutott el a Közel-Keletre és a Kaukázusba.

Ennek az ázsiai és észak-amerikai (európai) haplotípusok mellett megjelenő köztes haplotípusnak (HT16) a léte cáfolja annak lehetőségét is, hogy a faj csak másodlagosan került volna át Európába. Az észak-amerikai populáció esetén a neutralitás tesztek ($R^2=0,188$) is és a diverzitás értékek ($h=0,600$, $\pi=0,056\%$) is jelenkori gyors demográfiai expanzióra utalnak.

Az alcsoportok populációdinamikájára az alábbi megállapítások tehetők: A kis-ázsiai populáció, homogén haplotípus összetétellel rendelkezik, ami alapító hatásra utal. A közép-ázsiai populációk (Szamarkand, Biskek) homogenitása és a kaukázusi (Telavi) populáció magas diverzitásából ($h=0,5111$, $\pi=0,0536\%$) feltételezhető, hogy a *P. platani* napjainkban a Kaukázus térségéből terjeszkedik Közép-Ázsiába. A *P. platani* Európán belüli populációdinamikájára a kis effektív populációméretből induló gyors demográfiai expanzió hatása a legmarkánsabb (mismatch eloszlás, neutralitás tesztek $D=-1,744$, $F_s=-9,430$).

A kutatás eredményei alapján a disszertáció Tézisei a következők:

1. tézis: A szerző feltárta a faj genetikai szerkezetét.

COI gén 1243bp hosszú szakaszán 227 egyed alapján 20 haplotípus volt azonosítható, összesen 38 pozíció volt variábilis (3,1%). A szekvencia 414 aminosavat kódol. A különböző haplotípusú egyedek átlagos nukleotid összetétel a következő képen alakul: T 41,3%, C 13,7%, A 30,9%, G 14,1%. A mutációk 87,2%-a csendes mutáció.

A 28S rDNS gén 530 bp hosszú szakaszán 35 minta alapján két allélt sikerült kimutatni, melyek egyetlen variábilis nukleotid pozícióban térnek el egymástól. Nukleotid összetétel: T 21,3%, C 27,8%, A 20,4%, G 30,5%.

2. tézis: A *P. platani* valamennyi vizsgált populációja genetikai értelemben is egy fajnak tekinthető.

Az európai és amerikai COI haplotípusok között egészen csekély a genetikai távolság (0,2 %) a *Phyllonorycter* fajok között tapasztalható 5,2 – 12,4%-os értékhez képest. A 28S rDNS marker esetén pedig nincsen köztük genetikai különbség.

Az ázsiai és európai valamint az ázsiai és amerikai minták COI szekvenciái között a genetikai távolság értéke jóval alacsonyabb (2,0%) a kontrollként választott *Phyllonorycter* fajokhoz képest (5,2 – 12,4%).

A 28S rDNS ázsiai és európai alléljai között a divergencia 0,2%-os, a nemzetségben a fajon belüli divergencia értékek ennél magasabbak (0,5%).

3. tézis: Két fő haplocsoport („ázsiai” - és „európa–észak-amerikai” haplocsoport) különíthető el COI gén alapján.

Az „ázsiai”- és „európa–észak-amerikai” haplocsoport közti divergencia jóval magasabb (1,98%), mint az egyes csoportokon belül tapasztalható divergencia értékek (0,21%; 0,06%). A kis-ázsiai populációt divergencia értékek alapján a „kaukázus–közép-ázsiai” populációhoz közelebb esik (0,48%), mint az európaiakhoz (1,80%). A ML és MP módszerével számolt filogenetikai fák a két haplocsoport elkülönítését 99%-os valószínűséggel támogatják.

4. tézis: Az „ázsiai”- és „európa–észak-amerikai” haplocsoport közötti nagy genetikai távolság kialakulásában a földrajzi izoláció szerepe közepesen erős. A Pleisztocén folyamán legalább két jelentősebb refúgium területen maradt fenn a faj, Délkelet-Európa mediterrán térségében és a Kaukázusban.

A frekvencia adatok alapján, a jelenlegi mintaelemszámmal két refúgium terület létezése támogatott biztosan (Délkelet-Európa mediterrán térsége és a Kaukázus).

A 2 fő haplocsoport közti különbségek kialakításában közepesen erős (Mantel-teszt $r=0,4525$), ill. erős (SAMOVA a haplocsoportok közötti különbségek az összvariancia 95%-ért felelősek) a földrajzi izoláció hatása.

5. tézis: Európán belül a populációk közötti genetikai távolság kialakításában a földrajzi izoláció szerepe viszonylag alacsony, a genetikai mintázatot elsősorban a jelenkori expanzió határozza meg.

A földrajzi távolság szerepét a Mantel-teszt ($r=0,2049$) alacsonynak, az SAMOVA ($V_a=64,46\%$) közepesnek értékeli. A *P. platani* Európán belüli populációdinamikájára kis effektív populációméretből (palacknyak hatás után) induló gyors demográfiai expanzió hatása a legmarkánsabb (mismatch eloszlás, neutralitás tesztek $D=-1,744$, $F_s=-9,430$). Erre utal a haplotípushálózat (NCPA) csillag mintázata is.

6. tézis: Az „észak-amerikai populáció” jelenkori terjeszkedés eredménye, a *P. platani* Észak-Amerikai őshonossága elvethető.

Az ázsiai és észak-amerikai (európai) haplotípusok mellett megjelenő köztes haplotípus (HT16) léte cáfolja annak lehetőségét, hogy a faj csak másodlagosan került volna át Európába. Az észak-amerikai populáció esetén a neutralitás tesztek ($R^2=0,188$) és a diverzitás értékek ($h=0,600$, $\pi=0,056\%$) a közelmúltban bekövetkezett gyors demográfiai expanzióra utalnak.

7. tézis: A Kis-Ázsia déli részén és Közép-Ázsiában a faj jelenkori expanziója mutatható ki.

A „kaukázus–közép-ázsiai” csoporton belül a közép-ázsiai populációk (Szamarkand, Biskek) homogenitása és a kaukázusi (Telavi) populáció magas diverzitásából feltételezhető ($h=0,511$, $\pi=0,054\%$), hogy a *P. platani* napjainkban a Kaukázus térségéből terjeszkedik Közép-Ázsiába.

8. tézis: A faj Törökországon át jutott el a Közel-Keletre és a Kaukázusba.

A Kis-Ázsiában talált haplotípus (HT16) közelebb áll a grúziai haplotípusokhoz (HT13, HT14, HT15), mint az európaiakhoz.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás anyagi háttérének megteremtéséért köszönet a TÁMOP – 4.2.1.B-09/1/KONV és a TÁMOP – 4.2.2.B – 10/1 – 2010 – 0018, COST-STSM-FP1002-10569 programoknak.

Külön köszönet illeti témavezetőmet Prof. Dr. Lakatos Ferencet, azért, hogy lehetőséget biztosított a disszertáció megírására.

A szakmai eszmecserékért köszönet Prof. Dr. Lakatos Ferencnek, Dr. Tuba Katalinnak, Horváth Bálintnak, Mészáros Bálintnak, Velekei Balázsnak, Sárándi-Kovács Juditnak, Coralie Bertheau-nek, Dr. Sipos Györgynek, Dr. Christian Stauffer-nek, Susanne Krumböck-nek, Dr. Winkler Dánielnek.

Külön köszönet Dr. Christian Stauffer-nek (BOKU, University of Natural Resources & Life Sciences, Institute of Forest Entomology, Forest Pathology and Forest Protection Department of Forest- and Soil Sciences), hogy rendelkezésre bocsátotta laboratóriumát a mikroszatellita vizsgálatokhoz. Susanne Krumböck-nek a szigorú és precíz laboratóriumi munkálatokért.

A minták begyűjtéséért: Prof. Dr. Lakatos Ferencnek, Boris Hrasovec-nek, Ralf Petercord-nak, Carlos Lopez-Vaamonde-nak, Dimitrios Avtzis-nek, Wojciech Grodzki-nek, Jan Kollar-nak, Dr. Tuba Katalinnak, Velekei Balázsnak, Sárándi-Kovács Juditnak, Bender Ferencnek, Komlós Máriának, Nótári Krisztinának, Evia-sziget erdészeinek, valamint a Nyugat-magyarországi Egyetem Erdőmérnöki Karának hallgatóinak.

IRODALOM JEGYZÉK:

- Aguilar, A. M. F. - Karsholt, O. 2006: Systematic catalogue of the entomofauna of the Madeira archipelago and selvagens islands Lepidoptera. *Boletim do Museu Municipal do Funchal (Historia Natural)*, 1(9): 5-189.
- Akaike, H. 1974: A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19: 716–723.
- Anonymous 2000: Distribution of the main forest trees and shrubs on the territory of the former USSR, European and Mediterranean Plant Protection Organisation pp. 38.
- Avtzis, D. N. - Aravanopoulos, F. A. 2011: Host tree and insect genetic diversity on the borderline of natural distribution: a case study of *Picea abies* and *Pityogenes chalcographus* (Coleoptera, Scolytinae) in Greece. *Silva Fennica*, 45(1): 157–164.
- Avtzis, D. N. - Arthofer, W. - Stauffer, C. 2006: Identifying haplotypes of *Pityogenes chalcographus*(Col., Scolytidae) by Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie*, 15: 173-176.
- Avtzis, D. N. - Cognato, A. I. 2013: Genetic structure of *Curculio elephas* Gyll. (Coleoptera, Curculionidae) in Greece: an important pest of sweet chestnut. *Journal of Pest Science*, 86(837): 1-7.
- Baeta-Neves, C. M. 1945: Nota sobre a *Lithocolletis platani* Stgr. (Lepidoptera-Gracilariidae), espécie nova para a Entomofauna de Portugal. *Arquivos do Museu Bocage*, 16: 65-88.
- Ballard, J. W. O. - Whitlock, M. C. 2004: The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology*, 13: 729 – 744.
- Baric, I. - Diminik, D. - Glavas, M. - Hrasovec, B. 2008: Zdravestveno stanje drveca u gradu Pakracu s posenim osvrtnom na bolesti i stetnike lisca. *Sumar. inst. Jastrebar*, 43(1): 59-70.
- Beiger, M. 1979: Materials to the knowledge of mining insects of Bulgaria. *Polskie Pismo Entomologiczne*, 49: 485-534.
- Bereczki, J. 2008: A genetikai variabilitás szerkezete a *Maculineaalcon*-fajcsoport (Lepidoptera: Lycaenidae) Kárpát-medencei populációiban. Ph.D., Debreceni Egyetem, Debrecen, 101 pp.
- Bertheau, C. - Schuler, H. - Krumböck, S. - Arthrofer, W. - Stauer, C. 2011: Hit or miss in phylogeographic analyses: the case of the cryptic NUMTs. *Molecular Ecology Resources*: 1-4.
- Besnard, G. - Tagmount, A. - Baradat, P. - Vigouroux, A. - Berville, A. 2002: Molecular approach of genetic affinities between wild and ornamental *Platanus*. *Euphytica*, 126: 401–412.
- Borkowski, A. 1973: Areal ausweitung bei einigen minierenden Lepidopteren durch anthropogene Pflanzenverbreitung. *Polskie Pismo Entomologiczne*, 43.
- Buhl, O. - Karsholt, O. - Larsen, K. - Palm, E. - Schnack, K. 1988: Fund af småsommerfugle fra Denmark (1986) Lepidoptera. *Entomologiske Meddeleiser*, 56(2): 99-112.
- Burke, H. E. 1933: Some important Insect Enemies of Shade Trees in central and southern California., Proceedings of the National Shade Tree Conference, 9th 1933 New York Botanical Garden, New York, pp. 49-59.
- Bürgés, G. - Czencz, K. - Fischl, G. - Töröcsik, P. 1997: Platánfák levél-kártevőivel kapcsolatos vizsgálatok és eredmények. *Növényvédelem*, 33: 23-27.

- Caruso, G. - Gangale, C. - Uzunov, D. - Pignotti, L. 2008: Chorology of *Platanus orientalis* (Platanaceae) in Calabria (S Italy). *Phytologia Balcanica*, 14(1): 51–56.
- Cech, G. 2011: Molekuláris biológiai módszerek használata a Lumbricidae és az Enchytraeidae (Annelida) családok taxonómiai problémáinak megoldásában. Ph.D., ELTE, Budapest, 131 pp.
- Chiari, Y. - van der Meijden, A. - Mucedda, M. - Lourenc_o, J. M. - Hochkirch, A. - Veith, M. 2012: Phylogeography of Sardinian Cave Salamanders (Genus *Hydromantes*) Is Mainly Determined by Geomorphology. *PLoS ONE*, 7(3): e32332.
- Clement, M. - Posada, D. - Crandall, K. A. 2000: TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9(10): 1657-1660.
- Codina, A. 1918: Heteróceros de Cataluña. Segunda serie. *Boln Soc. aragon. Cienc. nat.*, 17: 75-84.
- Corley, M. V. F. 2005: Further additions to the Lepidoptera of Algarve, Portugal. II. (Insecta: Lepidoptera). *SHILAP Revista de Lepidopterología*, 33(131): 347-364.
- Craft, J. K. - Pauls, S. U. - Darrow, K. - Miller, S. E. - Hebert, P. D. N. - Helgen, L. E. - Novotny, V. - Weiblen, G. D. 2010: Population genetics of ecological communities with DNA barcodes: An example from New Guinea Lepidoptera. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(11): 5041–5046.
- Csóka, G. 2003: Levélaknák és levélaknázók. Leaf mines and leaf miners. Agroinform, Budapest.
- Csóka, G. - Hirka, A. - Szócs, L. 2012: Rovarglobalizáció a magyar erdőkben. *Erdészettudományi Közlemények*, 2(1): 187-198.
- Dafni, A. 2006: On the typology and the worship status of sacred trees with a special reference to the Middle East. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2(26): 1-14.
- Dai, Q.-Y. - Gao, Q. - Wu, C.-S. - Chesters, D. - Zhu, C.-D. - Zhang, A.-B. 2012: Phylogenetic Reconstruction and DNA Barcoding for Closely Related Pine Moth Species (*Dendrolimus*) in China with Multiple Gene Markers. *PLoS ONE*, 7(4): e32544.
- Darriba, D. - Taboada, G. L. - Doallo, R. - Posada, D. 2012: jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9: 772.
- Davis, D. R. - De Prins, J. 2011: Systematics and biology of the new genus *Macrosaccus* with descriptions of two new species (Lepidoptera, Gracillariidae). *ZooKeys*, 98: 29–82.
- de Jong, M. A. - Wahlberg, N. - Eijk, M. - Brakefield, P. M. - Zwaan, B. J. 2011: Mitochondrial DNA Signature for Range-Wide Populations of *Bicyclus anynana* Suggests a Rapid Expansion from Recent Refugia. *PLoS ONE*, 6(6): e21385.
- De Prins, J. - De Prins, W. - De Coninck, E. 2003: The pupal morphology of *Cameraria ohridella* compared with that of the genus *Phyllonorycter* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Journal of Pest Science*, 76: 145–150.
- De Prins, J. - De Prins, W. - De Coninck, E. - Kawahara, A. Y. - Milton, M. A. - Hebert, P. D. N. 2013: Taxonomic history and invasion biology of two *Phyllonorycter* leaf miners (Lepidoptera: Gracillariidae) with links to taxonomic and molecular datasets. *Zootaxa*, 3709(4): 341–362.
- De Prins, J. - Mozūraitis, R. - Lopez-Vaamonde, C. - Rougerie, R. 2009: Sex attractant, distribution and DNA barcodes for the Afrotropical leaf-mining moth *Phyllonorycter melanosparta* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Zootaxa*, 2281: 53–67.

- Derra, G. 1986: Records of the Lepidoptera of Greece based on the collections of G. Christensen and L. Gozmany: XI, Lithocolletidae. *Annales Musei Goulandris*, 7: 359-367.
- Deschka, G. 1965: Lithocolletis platani Stgr., neu für die Steiermark und das Burgenland. *Zeitschrift der Wiener Entomologische Gesellschaft*, 50: 58-59.
- Deschka, G. 1983: Phyllonorycter (= Lithocolletis) platani (Staudinger 1870) in Oberösterreich. *Jber. Steyrer Ent. Runde*: 21-31.
- Deschka, G. 1995: Schmetterlinge als Einwanderer. Einwanderer - Neue Tierarten erobern Österreich., 37. Landes Museum in Linz, 67-125 pp.
- Dinca, V. - Zakharov, E. V. - Hebert, P. D. N. - Vila, R. 2011: Complete DNA barcode reference library for a country's butterfly fauna reveals high performance for temperate Europe. *Proceedings of the Royal Society B*, 278: 347-355.
- Draghia, I. 1970: Nouvelles contribution a la connoissance des insectes mineurs de Bucharest et de ses environs. *Travaux du Museum d'Histoire Naturelle'Grigore Antipa'*, 10: 235-240.
- Dupanloup, I. - Schneider, S. - Excoffier, L. 2002: A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11(12): 2571-2581.
- Durka, W. - Babik, W. - Ducroz, J. F. - Heidecke, D. - Rosell, F. - Samjaa, R. - Saveljev, A. P. - Stubbe, A. - Ulevicus, A. - Stubbe, M. 2005: Mitochondrial phylogeography of the Eurasian beaver *Castor fiber* L. *Molecular Ecology*, 14: 3843-3856.
- Elias, M. - Hill, R. I. - Willmott, K. R. - Dasmahapatra, K. K. - Brower, A. V. Z. - Mallet, J. - Jiggins, C. D. 2007: Limited performance of DNA barcoding in a diverse community of tropical butterflies. *Proceedings of the Royal Society B*, 274: 2881-2889.
- Emmet, A. M. 1991: Description of the adult early stages of Phyllonorycter platani (Staudinger, 1870) (Lepidoptera, Gracillariidae). *Entomologist's Record and Journal of Variation*, 103: 279-282.
- Evrendilek, F. - Doygun, H. 2000: Assessing Major Ecosystem Types and the Challenge of Sustainability in Turkey. *Environmental Management*, 26(5): 479 - 489.
- Ewens, W. J. 1972: The sampling theory of selectively neutral alleles. *Theoretical Population Biology*, 3: 87-112.
- Excoffier, L. - Foll, M. - Petit, R. J. 2009: Genetic Consequences of Range Expansions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40: 481-501.
- Excoffier, L. - Lischer, H. E. L. 2010: Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567.
- Excoffier, L. - Smouse, P. - Quattro, J. 1992: Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.
- Feng, Y. - Oh, S.-H. - Manos, P. S. 2005: Phylogeny and Historical Biogeography of the Genus Platanus as Inferred From Nuclear and Chloroplast DNA. *Systematic Botany*, 30(4): 786-799.
- Forister, M. L. - Nice, C. C. - Fordyce, J. A. - Gompert, Z. - Shapiro, A. M. 2008: Considering evolutionary processes in the use of single-locus genetic data for conservation, with examples from the Lepidoptera. *Journal of Insect Conservation*, 12: 37-51.
- Frézal, L. - Leblois, R. 2008: Four years of DNA barcoding: Current advances and prospects. *Infection, Genetics and Evolution*, 8: 727-736.

- Fry, A. J. - Zink, R. M. 1998: Geographic analysis of nucleotide diversity and song sparrow (Aves: Emberizidae) population history. *Molecular Ecology*, 7: 1303–1313.
- Gates, M. W. - Heraty, J. M. - Schauff, M. E. - Wagner, D. L. - Whitfield, J. B. - Wahl, D. B. 2002: Survey of the parasitic Hymenoptera on Leafminers in California. *Journal of Hymenoptera Research*, 11(2): 213-270.
- Gibson, J. F. - Kelso, S. - Jackson, M. D. - Kits, J. H. - L., M. G. F. - Skevington, J. H. 2011: Diptera-Specific Polymerase Chain Reaction Amplification Primers of Use in Molecular Phylogenetic Research. *Annals of the Entomological Society of America*, 104(5): 976-997.
- Gilbert, M. - Grégoire, J.-C. - Freise, J. F. - Heitland, W. 2004 Long-distance dispersal and human population density allow the prediction of invasive patterns in the horse chestnut leafminer *Cameraria ohridella*. *Journal of Animal Ecology*, 73: 459–468.
- Girardo, S. - Volter, L. - Tomov, R. - Quicke, D. L. J. - Kenis, M. 2007: Variations in parasitism in sympatric populations of three invasive leaf miners. *Journal of Applied Entomology*, 131(9-10): 603-612.
- Godfray, H. C. J. - Agassiz, D. J. L. - Nash, D. R. - Lawton, J. H. 1995: The recruitment of parasitoid species to two invading herbivores. *Journal of Animal Ecology*, 64(3): 393-402.
- Gozmány, G. 1956: Molylepkék II., Microlepidoptera II./3. füzet. Magyarország Állatvilága. Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 136.
- Grant, W. A. S. - Bowen, B. W. 1998: Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89(5): 415-426.
- Grimm, G. W. - Denk, T. 2008: ITS Evolution in Platanus (Platanaceae): Homoeologues, Pseudogenes and Ancient Hybridization. *Annals of Botany*, 101: 403-419.
- Guillén, M. - Davis, D. R. - Heraty, J. M. 2001: Systematics and biology of a new, polyphagous species of Marmara (Lepidoptera : Gracillariidae) infesting grapefruit in the Southwestern United States. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 103(3): 636-654.
- Guindon, S. - Gascuel, O. 2003: A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. *Systematic Biology*, 52: 696-704.
- Gyórfi, J. 1941: A *Lithocolletis platani* Stgr. és parazitái. *Erdészeti Kísérletek*, 42: 224-235.
- Hajibabaei, M. - Singer, G. A. C. - Hebert, P. D. N. - Hickey, D. A. 2007: DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *TRENDS in Genetics* 23(4): 167-172.
- Halperin, J. 1990: Arthropod fauna and main insect pests of plane trees in Israel. *Phytoparasitica*, 18(4): 309-319.
- Hammer, Ř. - Harper, D. A. T. - Ryan, P. D. 2001: PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1): 1-9.
- Harpending, H. C. 1994: Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*, 66: 591-600.
- Heinrich, C. 1920: On some forest Lepidoptera with descriptions of new species, larvae, and pupae. *Proceedings of the United States National Museum*, 57(2305): 53-96, 1-33.
- Hering, E. M. 1932: Die Schmetterlinge nach ihren Arten dargestellt. In: Brohmer, P. - Ehrmann, P. - Ulmer, G. (eds.): Die Tierwelt Mitteleuropas. Quelle und Meyer, Leipzig.

- Hewitt, G. M. 1999: Post-glacial re-colonization of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68: 87–112.
- Hewitt, G. M. 2000: The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405: 907–913.
- Hickerson, M. J. - Carstens, B. C. - Cavender-Bares, J. - Crandall, K. A. - Graham, C. H. - Johnson, J. B. - Rissler, L. - Victoriano, P. F. - Yoder, A. D. 2010: Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54: 291–301.
- Hillis, D. M. - Dixon, M. T. 1991: Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology*, 66(4): 411–453.
- Houge, G. - Robaye, B. - Eikhom, T. S. - Golstein, J. - Mellgren, G. - Gjertsen, B. T. - Lanotte, M. - Døskeland, S. O. 1995: Fine Mapping of 28S rRNA Sites Specifically Cleaved in Cells Undergoing Apoptosis. *Molecular and Cellular Biology*, 15(4): 2051–2062.
- Hrubík, P. 2007: Alien insect pests on introduced woody plants in Slovakia. *Acta entomologica serbica*, 12(1): 81–85.
- Hrubík, P. - Kollár, J. 2007: The non-indigenous insect pests of woody plants in city environment conditions in Slovakia, Alien Arthropods in South East Europe – crossroad of three continents. University of Forestry 19–21 September 2007, Sofia, Bulgaria, pp. 88–94.
- Hrubý, K. 1964: Prodroraus Lepidopterorum Slovaciae. . SAV, Bratislava, 962 pp.
- Imeri, A. - Mullaj, A. - Gjeta, E. - Kalajnxhiu, A. - Kupe, L. - Shehu, J. - Dodona, E. 2010: Preliminary results from the study of flora and vegetation of Ohrid lake. *Natura Montenegrina*, 9(3): 253–264.
- Jaworski, T. 2009: Gracillariidae (Lepidoptera) of the "Skarpa Ursynowska" nature reserve in Warsaw. *Wiadomosci Entomologiczne*, 28(1): 53–60.
- Ji, Y.-J. - Zhang, D.-X. - He, L.-J. 2003: Evolutionary conservation and versatility of a new set of primers for amplifying the ribosomal internal transcribed spacer regions in insects and other invertebrates. *Molecular Ecology Notes*, 3: 581–585.
- Kadocsa, G. 1922: Újabb megfigyelések és adatok a magyar lepkefauna köréből. *Rovartani Lapok*, 26(1–3): 127–131.
- Katoh, T. - Chichvarkhin, A. - Yagi, T. - Omoto, K. 2005: Phylogeny and evolution of butterflies of the genus *Parnassius*: inferences from mitochondrial 16S and ND1 sequences. *Zoological Science*, 22: 343–351.
- Kawakita, A. - Kato, M. 2009: Repeated independent evolution of obligate pollination mutualism in the Phyllanthae – Epicephala association. *Proceedings of the Royal Society B*, 276: 417–426.
- Kerdelhué, C. - Rox-Morabito, G. - Forichon, J. - Chambon, J.-M. - Robert, A. - Lieutier, F. 2002: Population genetic structure of *Tomicus piniperda* L. (Curculionidae: Scolytinae) on different pine species and validation of *T. destruens* (Woll.). *Molecular Ecology*, 11: 483–494.
- Kimura, M. 1980: A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16: 111–120.
- Klimes, J. 1986: Die Lepidopterenfauna Mazedoniens. Microlepidoptera, pp. 1–203.
- Koehler, C. S. - Campbell, R. L. 1968: Trunk-Implanted Systemics for Control of Foliage Insects on Shade Trees in California. *Journal of Economic Entomology*, 61(3): 778–783.
- Kollár, J. 2007: The harmful entomofauna of woody plants in Slovakia. *Acta Entomologica Serbica*, 12(1): 67–79.

- Kress, W. J. - Erickson, D. L. 2012: DNA Barcodes: Methods and Protocols. In: Kress, W. J. - Erickson, D. L. (eds.): DNA Barcodes: Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology. Humana Press, New York Dordrecht Heidelberg London, pp. 3-10.
- Kuznetsov, V. J. 1990: Gracillariidae (Lithocolletidae). In: Medvedev, G. S. (ed.): Keys to the insects of the European part of the USSR. E. J. Brill., Leiden, pp. 199-411.
- Kuznetsov, V. J. 1960: On the fauna and biology of Lepidoptera of the western Kopet-Dagh. *Fauna i Ekologiya Nasekomykh Turkmenii*, 27: 11-93.
- Lakatos, A. - Molnár, B. P. - Bozsik, G. - Ifju, Z. - Szócs, G. 2012: A platánlevél-sátorosmoly (*Phyllonorycter platani* Staudinger) és a platán-csipkésposloska (*Corythuca ciliata* Say) károsításának összehasonlítása platán fajtákon 2009 és 2011 között. *Növényvédelem*, 48(4): 147-152.
- Lakatos, F. - Augustin, S. - Lopez-Vaamonde, C. 2008: Genetic patterns of *Phyllonorycter platani* - an invasive leaf miner moth with Mediterranean origin, International Congress of Entomology, 6-12 July 2008 Durban, South-Africa.
- Larsen, K. 1981: Two Microlepidoptera new to the Danish fauna *Trifurcula amani* (Swensson 1964) and *Phyllonorycter platani* (Staudinger 1870) (Lepidoptera). *Entomologiske Meddeleiser*, 49(2): 71-75.
- Larsen, N. B. - Rasmussen, M. - Rasmussen, L. J. 2005: Nuclear and mitochondrial DNA repair: similar pathways? *Mitochondrion*, 5(2): 89-108.
- Le Marchand 1936: Cle ou table analitique pour la determination des especes francaises de *Lithocolletis* (Famille des Gracillariidae {sic!}). *L'Amateur de Pappillon*, 8(6-8): 83-118.
- Lees, D. 2010: *Phyllonorycter platani* (Staudinger, 1870) (Lepidoptera, Gracillariidae). In: Roques, A. *et al.* (eds.): Alien terrestrial arthropds of Europe. BioRisk, Sofia - Moscow, pp. 1002-1003.
- Lehrian, S. - Bálint, M. - Haase, P. - Pauls, S. U. 2010: Genetic population structure of an autumn-emerging caddisfly with inherently low dispersal capacity and insights into its phylogeography. *Journal of North American Benthological Society*, 29(3): 1100-1118.
- Leroy, S. A. G. - Arpe, K. 2007: Glacial refugia for summer-green trees in Europe and south-west Asia as proposed by ECHAM3 time-slice atmospheric model simulations. *Journal of Biogeography*, 34: 2115-2128.
- Lhomme, L. 1934: Excursion au pays des mines et description d'une espece nouvelle de *Lithocolletis*. *L'Amateur de Pappillons*, 7(8): 108-112, 113-121, 129-138, 161-169.
- Librado, P. - Rozas, J. 2009: DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451-1452.
- Liedloff, A. C. 1999: Mantel Nonparametric Test Calculator. Version 2.0. School of Natural Resource Sciences, Queensland University of Technology, Australia.
- Lin, C.-P. - Danforth, B. N. 2004: How do insect nuclear and mitochondrial gene substitution patterns differ? Insights from Bayesian analyses of combined datasets. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30: 686-702.
- Liu, G. - Bao, M. 2003: Adventitious shoot regeneration from in vitro cultured leaves of London plane tree (*Platanus acerifolia* Willd.). *Plant Cell Report*, 21: 640-644.
- Lopez-Vaamonde, C. 2004: The evolution of host plant use in *Phyllonorycter* leaf-mining moths. In: Hoskovec, M. (Editor), 1st International Cameraria Symposium. *Cameraria ohridella* and other invasive leaf-miners in Europe March 24-27, 2004. Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Prague, pp. 49.
- Lopez-Vaamonde, C. - Agassiz, D. - Augustin, A. - De Prins, J. - De Prins, W. - Gomboc, S. - Ivinskis, P. - Karsholt, O. - Koutroumpas, A. - Koutroumpa, F. - Laštůvka, Z. -

- Marabuto, E. - Olivella, E. - Przybyłowicz, L. - Roques, A. - Ryrholm, N. - Šefrová, H. - Šima, P. - Sims, I. - Sinev, S. - Skulev, B. - Tomov, R. - Zilli, A. - Lees, D. 2010: Lepidoptera. In: Roques, A. *et al.* (eds.): Alien terrestrial arthropods of Europe. *BioRisk*. Pensoft, Sofia–Moscow, pp. 603–668.
- Lopez-Vaamonde, C. - Godfray, H. C. J. - Cook, J. M. 2003: Evolutionary dynamics of host-plant use in a genus of leaf-mining moths. *Evolution*, 57(8): 1804-1821.
- Lopez-Vaamonde, C. - Rasplus, J. Y. - Weiblen, G. D. - Cook, J. M. 2001a: Molecular Phylogenies of Fig Wasps: Partial Coclادogenesis of Pollinators and Parasites. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 21(1): 55-71.
- Lopez-Vaamonde, C. - Rasplus, J. Y. - Weiblen, G. D. - Cook, J. M. 2001b: Molecular Phylogenies of Fig Wasps: Partial Coclادogenesis of Pollinators and Parasites. . *Molecular Phylogenetics and Evolution* 21(1): 55-71.
- Lopez-Vaamonde, C. - Winkström, N. - Labandeira, C. - Godfray, H. C. J. - Goodman, S. J. - Cook, J. M. 2006: Fossil-calibrated molecular phylogenies reveal that leaf-mining moths radiated millions of years after their host plants *Journal of Evolutionary Biology*, 19(4): 1314-1326.
- Lozada, G. J. A. 2007: Biologia, distribuzione e sistematica molecolare del genere *Platanus* L. nel mondo. Candidato, Università Degli Studi di Napoli “Federico II, Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche E Naturali, Napoli, 129 pp.
- Lunt, D. H. - Zhang, D.-X. - Szymura, J. M. - Hewitt, G. M. 1996: The insect COI gene: Evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. *Insect Molecular Biology*, 5: 153-165.
- Mahendran, B. - Ghosh, S. K. - Kundu, S. C. 2006: Molecular Phylogeny of Silk Producing Insects Based on Internal Transcribed Spacer DNA1. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 39(5): 522-529.
- Mantel, N. 1967: The Detection of Disease Clustering and a Generalized Regression Approach. *Cancer Research*, 27(2): 209-220.
- Mari Mena, N. - Valade, R. - Magnoux, E. - Augustin, S. - Lopez-Vaamonde, C. 2008: Microsatellites for the highly invasive *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and their amplification in related species. *European Journal of Entomology*, 105: 945–948.
- Marković, Č. - Stojanović, A. 2012: Parasitoids of *Phyllonorycter platani*(Staudinger) (Lepidoptera, Gracillariidae) in Serbia. *Journal of Plant Studies*, 1(1): 79-84.
- Matosevic, D. 2004: Stetni kukci drvenastih biljnih vrsta zelenila Zagreba. *Rad. Sumar. Inst.*, 39(1): 37-50.
- McLachlan, R. 1882: Abundance of *Lithocolletis platani* Stgr., at Pallanza. *Entomologist's Monthly Magazine*, 19: 94.
- Médail, F. - Diadema, K. 2009: Glacial refugia influence plant diversity patterns in the Mediterranean Basin. *Journal of Biogeography*, 36: 1333–1345.
- Mészáros, Z. - Szabóky, C. 2005: A magyarországi molyepkéék gyakorlati albuma. *Növényvédelem, Különszám*.
- Milevoj, L. 2004: The occurrence of some pests and diseases on horse chestnut, plane tree and Indian bean tree in urban areas of Slovenia. *Acta Agriculturae Slovenica*, 83(2): 297 - 300.
- Milne, I. - Lindner, D. - Bayer, M. - Husmeier, D. - McGuire, G. - Marshall, D. F. - Wright, F. 2008: TOPALi v2: a rich graphical interface for evolutionary analyses of multiple alignments on HPC clusters and multi-core desktops. *Bioinformatics*, 25: 126-127.

- Mircheva, A. - Subchev, M. 2007: Mating behaviour and sex pheromone communication of two alien Gracillariid species (Lepidoptera: Gracillariidae), Alien Arthropods in South East Europe – crossroad of three continents, Sofia, pp. 10-16.
- Movsesyan, L. I. 1980: Pests and diseases of plane. *Zashchita Rastenii*, 1: 39-40
- Mutanen, M. - Wahlberg, N. - Kaila, L. 2010: Comprehensive gene and taxon coverage elucidates radiation patterns in moths and butterflies. *Proceedings of the Royal Society B*: 1-10.
- Nash, D. R. - Agassiz, D. J. L. - Godfray, H. C. J. - Lawton, J. H. 1995: The pattern of spread of invading species: two leafmining moths colonizing Great Britain. *Journal of Animal Ecology*, 64: 225-233.
- Nei, M. 1987: Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York.
- Nevè, G. - Megléc, E. 2000: Microsatellite frequencies in different taxa. *Trends in Ecology & Evolution*, 15: 376-377.
- Noreika, R. - Puplesis, R. 1992: Review of the Gracillariidae (Lepidoptera) of the Gissarskiy Ridge (Central Asia, Tajikistan) with the description of new species of hyllonorycter. *Nota Lepidopterologica*, 15: 123-147.
- Olivella, E. 2002: Aportació al coneixement dels insectes minadors del Montseny. *V Trobada d'Estudiosos del Montseny*, 33: 55-58.
- Pages, J. - Almanzor, J. 1965: Remarques sur la morphologie des chenilles de *Lithocolletis platani* Stgr. microlepidoptere mineurdes feuilles de platanes. *Bulletin de la Société Entomologique de France*, 89(4): 535-546.
- Pastorális, G. 2010: Magyarország területén előforduló molylepkefajok (Microlepidoptera) jegyzéke (1.4 verzió). *e-Acta Naturalia Pannonica*, 1(1): 5-88, 89-170.
- Petit, R. J. - Aguinagalde, I. - de Beaulieu, J.-L. - Bittkau, C. - Brewer, S. - Cheddadi, R. - Ennos, R. - Fineschi, S. - Grivet, D. - Lascoux, M. - Mohanty, A. - Gerhard Müller-Starck, G. - Demesure-Musch, B. - Palmé, A. - Martín, J. P. - Rendell, S. - Vendramin, G. G. 2003: Glacial Refugia: Hotspots But Not Melting Pots of Genetic Diversity. *Science*, 300(6): 1563-1565.
- Posada, D. - Crandall, K. A. - Templeton, A. R. 2000: GeoDis: A program for the Cladistic Nested Analysis of the Geographical Distribution of Genetic Haplotypes. *Molecular Ecology*, 9(4): 487-488.
- Puplesis, R. - Diskus, A. - Noreika, R. - Saparmamedova, N. 1996: Revised check list of mining Lepidoptera (Nepticuloidea, Tischerioidea and Gracillarioidea) from Central Asia. *Tijdschrift voor Entomologie*, 139: 191-200.
- Ragnot, E. L. 1888: Note relative aux dégâts causés aux Platanes par la chenille du *Lithocolletis platani* et du *Tortrix rosana*. *Annales de la Société Entomologique de France*, 56(1): 113.
- Ramos-Onsins, S. E. - Rozas, J. 2002: Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth. *Molecular Biology and Evolution*, 19(12): 2092-2100.
- Rieseberg, L. H. - Soltis, D. E. 1987: Flavonoids of fossil Miocene *Platanus* and its extant relatives. *Biochemical Systematics and Ecology*, 15: 109-112.
- Ritzerow, S. - Konrad, H. - Stauffer, C. 2004: Phylogeography of the Eurasian pine shoot beetle *Tomicus piniperda* (Coleoptera: Scolytidae). *European Journal of Entomology*, 101: 13-19.
- Roberti, M. - Polosa, P. L. - Bruni, F. - Manzari, C. - Deceglie, S. - Gadaleta, M. N. - Cantatore, P. 2009: The MTERF family proteins: Mitochondrial transcription regulators and beyond. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1787(5): 303-311.

- Roe, A. D. - Sperling, F. A. H. 2007: Patterns of evolution of mitochondrial cytochrome c oxidase I and II DNA and implications for DNA barcoding. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44: 325–345.
- Rogers, A. R. - Harpending, H. 1992: Population Growth Makes Waves in the Distribution of Pairwise Genetic Differences. *Molecular Biology and Evolution*, 9(3): 552-569
- Roques, A. 2010: Taxonomy, time and geographic patterns. Chapter 2. In: Roques, A. *et al.* (eds.): Alien terrestrial arthropods of Europe. BioRisk. Pensoft, Sofia-Moscow, pp. 11–26.
- Roques, A. - Rabitsch, W. - Rasplus, J. Y. - Lopez-Vaamonde, C. - Nentwig, W. - Kenis, M. 2009: Alien Terrestrial Invertebrates of Europe. In: Drake, J. A. (ed.): Handbook of Alien Species in Europe. Invaading Nature Springer Series in Invasion Ecology. Springer, Berlin, pp. 63-79.
- Rougerie, R. - Smith, M. A. - Fernandez-Triana, J. - Lopez-Vaamonde, C. - Ratnasingham, S. - Hebert, P. D. N. 2011: Molecular analysis of parasitoid linkages (MAPL): gut contents of adult parasitoid wasps reveal larval host. *Molecular Ecology*, 20(1): 179-186.
- Santamour, F. S. - Jackot McArdle, J. A. 1986: Checklist of cultivated Platanus (planetree). *Journal of Arboriculture*, 12(3): 79-83.
- Schlötterer, C. 2004: The evolution of molecular markers - just a matter of fashion? *Nature Reviews*, 5: 63-69.
- Schlötterer, C. - Hauser, M.-T. - von Haeseler, A. - Tautz, D. 1994: Comparative Evolutionary Analysis of rDNA ITS Regions in *Drosophila*. *Molecular Biology and Evolution*, 11(3): 513-522.
- Schmitschek, E. 1939: Beiträge zur Forstentomologie der Türkei. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 25: 291-31.
- Schmitt, T. 2007: Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. *Frontiers in Zoology*, 4(11): 1-13.
- Schneider, S. - Excoffier, L. 1999: Estimation of demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: Application to human mitochondrial DNA. *Genetics*, 152: 1079-1089.
- Šefrová, H. 2001: *Phyllonorycter platani* (Staudinger) - A review of its dispersal history in Europe (Lepidoptera, Gracillariidae). *Acta Universitatis agriculturae et silviculturae Mendeliana Brunensis*, 49(8): 71-75.
- Šefrová, H. 2003: Invasions of Lithocollatinae species in Europe – causes, kinds, limits and biological impact (Lepidoptera, Gracillariidae). *Ekológia (Bratislava)*, 22(2): 132-142.
- Šefrová, H. 2005: Mining Lepidoptera of woody plants in the Arboretum of Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno – species composition, origin and their influence on the health condition of plants. *Acta Universitatis agriculturae et silviculturae Mendeliana Brunensis*, 53(2): 133-142.
- Šefrová, H. - Laštůvka, Z. 2005: Catalogue of alien animal species in the Czech Republic. *Acta Universitatis agriculturae et silviculturae Mendeliana Brunensis*, 53(4): 151-170.
- Shapiro, L. H. - Scheffer, S. J. - Maisin, N. - Lambert, S. - Purung, H. B. - Sulistyowati, E. - Vega, F. E. - Gende, P. - Laup, S. - Rosmana, A. - Djam, S. - Hebbbar, P. K. 2008: *Conopomorpha cramerella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Malay Archipelago: Genetic Signature of a Bottlenecked Population? *Annals of the Entomological Society of America*, 101(5): 930-938.
- Simon, C. - Frati, F. - Beckenbach, A. - Crespi, B. - Liu, H. - Flook, P. 1994: Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a

- compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87: 651-701.
- Skala, H. 1938: Einiges über Falter-minen aus Mediterranengebiet. *Zeitschrift des Österreichischen Entomologen-Vereins*, 23: 8-10, 30-31, 43-46.
- Skala, H. 1951: Minien aus Steiermark, gesammelt von Fritz Hoffmann. *Zeitschrift der Wiener Entomologische Gesellschaft*, 36(7-9): 119-126.
- Slatkin, M. - Hudson, R. R. 1991: Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, 129: 555-562.
- Sruoga, V. - Poplesiene, J. 1998: Contribution to the knowledge of Central Asiatic microlepidoptera with description of new species. *Acta Zoologica Lituanica. Entomologia*, 8(3): 38-48.
- Staudinger, O. 1870: Beitrag zur Lepidopteren Fauna Griechenlands. *Hor. Soc. Ent. Ross.*, 7: 277-279.
- Subchev, M. - Mircheva, A. - Pickett, J. - Wadhams, L. - Woodcock, C. - Dos Santos, A. - Franke, S. - Francke, W. 2003: Sex pheromone of the leaf-miner *Phyllonorycter platani*: (Z 10)-tetradecenyl acetate. *Journal of Chemical Ecology*: 93-98.
- Szalay, L. 1980: Adatok néhány aknázó moly-faj átteleléséhez. *Állattani Közlemények*, 67: 113-117.
- Szócs, J. 1981: Angaben über die minierenden Moten aus Budapest umgebung. *Folia Entomologica Hungarica = Rovartani Közlemények (Series nova)*, 42 (34).(2): 209-220.
- Tajima, F. 1989: The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics*, 123: 597-601.
- Tamura, K. - Nei, M. 1993: Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3): 512-526.
- Tamura, K. - Peterson, D. - Peterson, N. - Stecher, G. - Nei, M. - Kumar, S. 2011: MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10): 2731-2739.
- Tashev, A. N. - Tsavko, E. I. 2008: Medicinal plants of the Bulgarian dendroflora. *Phytologia Balcanica*, 14(2): 269-278.
- Templeton, A. R. 1998: Nested clade analysis of phylogeographic data: testing hypothesis about gene flow and population history. *Molecular Ecology*, 7: 381-397.
- Templeton, A. R. - Crandall, K. A. - Sing, C. F. 1992: A Cladistic Analysis of Phenotypic Associations With Haplotypes Inferred From Restriction Endonuclease Mapping and DNA Sequence Data. III. Cladogram Estimation. *Genetics*, 132: 619-633.
- Templeton, A. R. - Routman, E. - Phillips, C. A. 1995: Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographic distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* 140: 767-782.
- Thompson, J. D. - Higgins, D. G. - Gibbson, T. J. 1994: Clustal W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680.
- Tuba, K. - Horváth, B. - Lakatos, F. 2012: Inváziós rovarok fás növényeken. Nyugat-magyarországi Egyetem Kiadó, Sopron, 120 pp.
- Tzedakis, P. C. - Lawson, I. T. - Frogley, M. R. - Hewitt, G. M. - Preece, R. C. 2002: Buffered Tree Population Changes in a Quaternary Refugium: Evolutionary Implications. *Science*, 297: 2044-2047.

- Uysal, I. 2010: An overview of plant diversity of Kazdagi (Mt. Ida) Forest National Park, Turkey. *Journal of Environmental Biology*, 31: 141-147.
- Uzunov, D. - Gussev, C. - Apostolov, K. 2000: Chorological data for some plant species with conservation value in the eastern Rhodopes Mt. /South-East Bulgaria/ 6th Symposium on Flora of the Southeastern Serbia, Sokobanja, pp. 47-55.
- Valade, R. - Kenis, M. - Hernandez-Lopez, A. - Augustin, S. - Mari Mena, N. - Magnoux, E. - Rougerie, R. - Lakatos, F. - Roques, A. - Lopez-Vaamonde, C. 2009: Mitochondrial and microsatellite DNA markers reveal a Balkan origin for the highly invasive horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae). *Molecular Ecology*, 18: 3458–3470.
- van Frankenhuyzen, A. 1983: *Phyllonorycter platani*(Staudinger, 1870) (Lep.: Gracillariidae), een bladmineerder op Plataan in Nederland. *Entomologische Berichten (Amsterdam)*, 43: 19-25.
- Vandewoestijne, S. - Baguette, M. - Brakefield, P. M. - Saccheri, I. J. 2004: Phylogeography of *Aglais urticae* (Lepidoptera) based on DNA sequences of the mitochondrial COI gene and control region. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31(2): 630-646.
- Varga, Z. (ed.), 2010: Magyarország nagylepkéi. Heterocera Press, Budapest, 253 pp.
- Vasil'eva, E. A. - Shkarlet, O. D. 1989: *Lithocolletis platani* in the Crimea. *Lesnoe Khozyaistvo*, 11: 47.
- Vila, M. - Björklund, M. 2004: The Utility of the Neglected Mitochondrial Control Region for Evolutionary Studies in Lepidoptera (Insecta). *Journal of Molecular Evolution*, 58: 280–290.
- Vila, M. - Latasa, T. - Pino, J. P. - Verhulst, G. 2009: Characterization of ten polymorphic microsatellite markers for the endemic Chapman's ringlet, *Erebia palarica* (Lepidoptera: Nymphalidae). *European Journal of Entomology*, 106: 485–490.
- Wahlberg, N. - West Wheat, C. 2008: Genomic Outposts Serve the Phylogenomic Pioneers: Designing Novel Nuclear Markers for Genomic DNA Extractions of Lepidoptera. *Systematic Biology*, 57(2): 231–242.
- Walsingham, L. T. d. G. 1908: Microlepidoptera of Tenerife. *Proceedings of the Zoological Society of London*: 911-1034.
- Wan, X. - Li, J. - Kim, M. J. - Kang, T. H. - Jin, B. R. - Kim, I. 2011: Population genetic structure of the migratory rice leaf roller, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae), inferred from the mitochondrial A+T-rich region and nuclear ITS2 sequences. *Genetics and Molecular Research*, 10(1): 273-294.
- Warrick, R. B. - Williams, C. F. 1991: Checklist of the cultivated trees of St. George, Washington county, Utah. *Great Basin Naturalist*, 51(3): 296-299.
- Weir, B. S. 1996: Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data. Sinauer Assoc., Inc., Sunderland, MA, USA, 377 pp.
- Weir, B. S. - Cockerham, C. C. 1984: Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.
- Wiemers, M. - Fiedler, K. 2007: Does the DNA barcoding gap exist? – a case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). *Frontiers in Zoology*, 4(8): 1-16.
- Wu, Z. Y. - Raven, P. H. - Hong, D. Y. (eds.) 2003: Flora of China. (Pittosporaceae through Connaraceae), 9. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis., 44–45 pp.
- Zhang, D.-X. 2004: Lepidopteran microsatellite DNA: redundant but promising. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(10): 507-509.
- Zilahy-Sebess, G. 1942: A *Lithocolletis platani* Stgr. fejlődéséről. *Állattani Közlemények*, 39: 208-215.

Zouros, E. 1979: Mutation rates, population sizes and amounts of electrophoretic variation of enzyme loci in natural populations. *Genetics*, 92: 623-646.

ELEKTRONIKUS HIVATKOZÁSOK:

web 1: GenBank – National Center for Biotechnology Information

Megtalálható: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Hivatkozva: 2012.12.29

web 2: Sequence Scanner Software; Peak Scanner Software

Megtalálható: <http://www.lifetechnologies.com/global/en/home/technical-resources/software-downloads/sequence-scanner-software.html>

Hivatkozva: 2012.11.08

web 3: De Prins, J. - De Prins, W. (2012): Global Taxonomic Database of Gracillariidae (Lepidoptera)

Megtalálható: <http://www.gracillariidae.net>

Hivatkozva: 2012.08.02

web 4: European and Mediterranean Plant Protection Organisation

Megtalálható: <http://www.eppo.int>

Hivatkozva: 2012.12.29

web 5: Fauna Europaea Database

Megtalálható: <http://www.faunaeur.org/>

Hivatkozva: 2012.12.29

web 6: The International Organization for Plant Information

Megtalálható: www.bgbm.fu-berlin.de/IOPI/GPC/query.htm

Hivatkozva: 2012.12.29

web 7: UKmoths

Megtalálható: <http://ukmoths.org.uk/show.php?bf=321a>

Hivatkozva: 2013.01.17

web 8: Barcode of Life Data Systems (BOLD)

Megtalálható: <http://www.barcodinglife.com/>

Hivatkozva: 2013.02.02

web 9: Forest Pest of North America

Megtalálható: <http://www.forestpests.org/Hardwood/sycamore.html>

Hivatkozva: 2013.03.04.

web 10: Discover Life - University of Kalifornia, Berkeley

Megtalálható: <http://pick4.pick.uga.edu/mp/20m?kind=Phyllonorycter+felinelle>

Hivatkozva: 2013.03.04.

web 11: PAST

Megtalálható: <http://folk.uio.no/ohammer/past>

Hivatkozva: 2008.03.02.

MELLÉKLETEK

MELLÉKLETEK JEGYZÉKE

Rövidítések és definíciók

1. táblázat: A *Phyllonorycter platani* Stgr. (Lepidoptera) tápnövény használata és földrajzi elterjedése
2. táblázat: A vizsgálat során felhasznált minták
3. táblázat: Haplotípusok populációnkénti frekvencia értékei
- 4.a. táblázat: SAMOVA elemzés eredményei az összes mintára
- 4.b. táblázat: SAMOVA elemzés eredményei az ázsiai haplocsoportra
- 4.c. táblázat: SAMOVA elemzés eredményei az európa–észak-amerikai haplocsoportra
- 4.d. táblázat: SAMOVA elemzés eredményei az európai mintákra
- 4.e. táblázat: AMOVA/SAMOVA eredmények az európai mintákra
- 1.a. ábra: Mantel-teszt eredménye az összes mintára
- 1.b. ábra: Mantel-teszt eredménye az ázsiai haplocsoportra
- 1.c. ábra: Mantel-teszt eredménye az európa–észak-amerikai haplocsoportra
- 1.d. ábra: Mantel-teszt eredménye az európai mintákra

RÖVIDÍTÉSEK/DEFINÍCIÓK

Aminosavak rövidítései:

A: Alanin
C: Cisztein
D: Aszparaginsav
E: Glutaminsav
F: Fenil-alanin
G: Glicin
H: Hisztidin
I: Izoleucin
K: Lizin
L: Leucin
M: Metionin
N: Aszparagin
P: Prolin
Q: Glutamin
R: Arginin
S: Szerin
T: Treonin
V: Valin
W: Triptofán
Y: Tirozin
U: Szelenocisztein
O: Pirrozin

Nukleotidok IUPAC kódja:

A: adenin
T: timin
G: guanin
C: citozin
R: A+G
Y: C+T
S: G+C
W: A+T
K: G+T
M: A+C
B: C vagy G vagy T
D: A vagy G vagy T
H: A vagy C vagy T
V: A vagy C vagy G
N: bármelyik bázis
-: gap, hiányzó bázis

aplifikáció: a DNS megsokszorozása

bp : (base pair) bázis pár

„barcode”: a fajok gyors és pontos azonosítása, standard eljárással egy meghatározott genetikai markeren (Frézal & Leblois 2008). A DNA barcode a COI gén 5'-végén a 58–705 bp között helyet (referencia az egér genom) foglaló 648 bp hosszú szakasz.

COI: citokróm-oxidáz-c I. alegységét kódoló gén

ETS: external transcribed spacer,

F: (forward) 3' -> 5' irányú nukleotid szál

HT: haplotípus, mitokondriális allélok

ITS: internal tran-scribed spacer

K2 (K2P): Kimura2 nukleotid szubsztitúciós modell, egyenlő egyensúlyi gyakoriságokat feltételez, továbbá minden tranzíció (A↔T, C↔G) rátája azonos

mtDNS: mitokondriális DNS

nDNS: sejtmagi DNS

NUMT: sejtmagi pszeudogének

NJ: Neighbour-Joining kladisztikai módszer . Ez az un. szomszéd-összevonós módszerek egyike.

NTS: Non-transcribed spacer

Nukleotid szubsztitúció: nukleotid csere

PCR : (Polymerase Chain Reaction), polimeráz lánreakció, a kiválasztott DNS szakasz megsokszorozásának elterjedt módszere

polomorfikus szájtok (S, segregating sites, polymorphic sites): azoknak a lokuszoknak a száma, melyeken egynél több allél/lokusz van. (A variabilis lokuszok száma.)

R: (reverse) 5' -> 3' irányú nukleotid szál

SNP: (Single Nucleotide Polymorphism) pontmutáció, egyetlen bázist érintő mutációs esemény

TrN: Tamura-Nei nukleotid szubsztitúciós modell, feltételezi, hogy minden transzverzió rátája azonos

tranzíció (ts): purin-purin, vs primidin-pirimidin csere ($A \leftrightarrow G$, $C \leftrightarrow T$)

transzverzió (tv): purin-pirimidin csere ($A \leftrightarrow C$, $T \leftrightarrow G$, $A \leftrightarrow T$, $C \leftrightarrow G$)

ts/tv: tranzicók és transzverziók aránya.

1. táblázat: A *Phyllonorycter platani* Stgr. (Lepidoptera) tápnövény használata és földrajzi elterjedése (Global Taxonomic Database of Gracillariidae (Lepidoptera) után módosítva)

	Tápnövény	Megjegyzés	Lelóhely	Hivatkozás
1	<i>Platanus acerifolia</i>		Izrael	(Halperin 1990)
2	<i>Populus sp.</i>	feltehetőleg elírás	Közép-Ázsia	(Puplesis et al. 1996)
3	<i>Platanus sp.</i>		Közép-Ázsia	(Puplesis et al. 1996)
4	<i>Platanus acerifolia</i>		Magyarország	(Kadocsa 1922)
5	<i>Platanus acerifolia</i>		Magyarország	(Kadocsa 1922)
6	<i>Platanus orientalis</i>		Izrael	(Halperin 1990)
7	<i>Platanus occidentalis</i>		Izrael	(Halperin 1990)
8	<i>Platanus racemosa</i>		USA (Kalifornia)	(Heinrich 1920)
9	<i>Platanus acerifolia</i>		Portugália	(Baeta-Neves 1945)
10	<i>Platanus acerifolia</i>		Lengyelország	(Borkowski 1973)
11	<i>Platanus acerifolia</i>		Dánia	(Larsen 1981)
12	<i>Platanus acerifolia</i>		Ausztria	(Deschka 1965)
13	<i>Platanus acerifolia</i>		Szlovákia	(Hrubý 1964)
14	<i>Platanus acerifolia</i>		Franciaország	(Pages & Almanzor 1965)
15	<i>Platanus acerifolia</i>		Nagy Britannia	(Nash et al. 1995)
16	<i>Platanus acerifolia</i>		Lengyelország	(Jaworski 2009)
17	<i>Platanus acerifolia</i>		Madeira	(Aguilar & Karsholt 2006)
18	<i>Platanus acerifolia</i>		Portugália	(Corley 2005)
19	<i>Platanus occidentalis</i>		Ausztria	(Deschka 1965)
20	<i>Platanus occidentalis</i>		Spanyolország	(Hering 1932)
21	<i>Platanus occidentalis</i>		Törökország	(Schmitschek 1939)
22	<i>Platanus occidentalis</i>		Szlovákia	(Hrubý 1964)
23	<i>Platanus orientalis</i>		Ausztria	(Deschka 1965)
24	<i>Platanus orientalis</i>		Macedónia	(Klimes 1986)
25	<i>Platanus orientalis</i>		Görögország	(Derra 1986)
26	<i>Platanus orientalis</i>		Franciaország	(Le Marchand 1936)
27	<i>Platanus orientalis</i>		Bulgária	(Beiger 1979)
28	<i>Platanus orientalis</i>		Nagy Britannia	(Nash et al. 1995)
29	<i>Platanus orientalis</i>		Tadzsikisztán	(Noreika & Puplesis 1992)
30	<i>Platanus orientalis</i>		Spanyolország	(Olivella 2002)
31	<i>Platanus orientalis</i>		Türkmenisztán	(Kuznetzov 1960)
32	<i>Platanus orientalis</i>		Románia	(Draghia 1970)
33	<i>Platanus orientalis</i>		Olaszország	(McLachlan 1882)
34	<i>Platanus orientalis</i>		Kanári-szigetek	(Walsingham 1908)
353	<i>Platanus orientalis</i>		Spanyolország (Malaga)	(Walsingham 1908)
36	<i>Platanus orientalis</i>		Törökország	(Schmitschek 1939)
37	<i>Platanus sp.</i>		Franciaország	(Ragnot 1888)
38	<i>Platanus sp.</i>		Magyarország	(Szócs 1981)

	Tápnövény	Megjegyzés	Lelőhely	Hivatkozás
39	<i>Platanus sp.</i>		Korzika	(Skala 1938)
40	<i>Platanus sp.</i>		Dánia	(Buhl et al. 1988)
41	<i>Platanus sp.</i>		Ausztria	(Skala 1951)
42	<i>Platanus sp.</i>		Madeira	(Aguilar & Karsholt 2006)
43	<i>Platanus orientalis</i>		Franciaország	(Lhomme 1934)
44	<i>Platanus racemosa</i>		USA (Kalifornia)	(Burke 1933)
45	<i>Platanus orientalis</i>		USA (Kalifornia)	(Burke 1933)
46	<i>Platanus racemosa</i>		USA (Kalifornia)	(Koehler & Campbell 1968)
47	<i>Platanus sp.</i>		Ausztria	(Deschka 1983)
48	<i>Platanus occidentalis</i>	fotó alapján <i>P. acerifolia</i>	Magyarország	(Gyórfi 1941)
49	<i>Platanus orientalis</i>		Magyarország	(Gyórfi 1941)
50	<i>Platanus occidentalis</i>		Szlovákia	(Hrubík 2007)
51	<i>Platanus orientalis</i>		Szlovákia	(Hrubík 2007)
52	<i>Platanus acerifolia</i>		Szlovákia	(Hrubík 2007)
53	<i>Platanus acerifolia</i>		Szlovákia	(Kollár 2007)
54	<i>Platanus occidentalis</i>		Szlovákia	(Kollár 2007)
55	<i>Platanus sp.</i>		Horvátország	(Matosevic 2004)
56	<i>Platanus acerifolia</i>		Szlovénia	(Milevoj 2004)
57	<i>Platanus orientalis</i>		Spanyolország	(Codina 1918)
58	<i>Platanus sp.</i>		Csehország	(Šefrová & Laštůvka 2005)
59	<i>Platanus acerifolia</i>		Csehország	(Šefrová 2005)
60	<i>Platanus orientalis</i>		Türkmenisztán	(Sruoga & Poplesiene 1998)
61	<i>Platanus sp.</i>		Olaszország	(Staudinger 1870)
62	<i>Platanus sp.</i>		Görögország (Attica)	(Staudinger 1870)
63	<i>Platanus orientalis</i>		Bulgária	(Subchev et al. 2003)
64	<i>Platanus sp.</i>		Magyarország	(Szalay 1980)
65	<i>Platanus orientalis</i>		Magyarország	(Zilahy-Sebess 1942)
66	<i>Platanus occidentalis</i>		Magyarország	(Zilahy-Sebess 1942)
67	<i>Platanus sp.</i>		Magyarország	(Bürgés et al. 1997)
68	<i>Platanus racemosa</i>		USA (Kalifornia)	(Gates et al. 2002)
69	<i>Platanus acerifolia</i>		Horvátország	(Baric et al. 2008)
70	<i>Platanus acerifolia</i>		Nagy Britannia	(Emmet 1991)
71	<i>Platanus sp.</i>		Franciaország	(Mari Mena et al. 2008)

2. táblázat: A vizsgálat során felhasznált minták (jelmagyarázat: P- PCR termék, HT haplotípus)

	származási hely		azonosító	DNS extrakció dátuma	felhasznált anyag	COI (1243bp)	HT	COI barcode	28S rDNS	allél	ITS1	ITS2	Mikroszatellita
	város	ország											
001	Brüsszel	Belgium	PPBBR_1	2011.04.20	Sigma	P	2	P	P	E			
002	Brüsszel	Belgium	PPBBR_2	2011.08.29	Sigma	P	2						
003	Brüsszel	Belgium	PPBBR_3	2011.09.15	Sigma	P	2						
004	Brüsszel	Belgium	PPBBR_4	2011.09.15	Sigma	P	2						
005	Brüsszel	Belgium	PPBBR_5	2012.01.04	Sigma	P	2						
006	Brüsszel	Belgium	PPBBR_6	2012.01.04	Sigma	P	2						
007	Szófia	Bulgária	PPSO2	2007.11.21	Sigma	P	1						
008	Szófia	Bulgária	PPSO3	2007.11.21	Sigma	P	1						
009	Szófia	Bulgária	PPSO4	2007.11.21	Sigma	P	1						
010	Szófia	Bulgária	PPSO_5	2011.09.15	Sigma	P	1						
011	Szófia	Bulgária	PPSO_6	2011.09.15	Sigma	P	1						
012	Szófia	Bulgária	PPSO_7	2011.09.15	Sigma	P	1						
013	Szófia	Bulgária	PPSO_8	2011.09.15	Sigma	P	1						
014	Szófia	Bulgária	PPSO_10	2011.09.23	Sigma	P	1						
015	Szófia	Bulgária	PPSO_12	2012.01.04	Sigma	P	1						
016	Zágráb	Horvátország	PPZA2	2008.03.19	EZNA	P	1						
017	Zágráb	Horvátország	PPHRZ_1	2011.04.18	Sigma	P	1						
018	Zágráb	Horvátország	PPHRZ_2	2011.04.18	Sigma	P	2						
019	Zágráb	Horvátország	PPHRZ_3	2011.08.29	Sigma	P	2						
020	Zágráb	Horvátország	PPHRZ_4	2011.08.29	Sigma	P	1						
021	Zágráb	Horvátország	PPHRZ_5	2011.09.23	Sigma	P	2						
022	Zágráb	Horvátország	PPHRZ_6	2011.09.23	Sigma	P	2						
023	Zágráb	Horvátország	PPHRZ_7	2012.01.04	Sigma	P	1						
024	Zágráb	Horvátország	PPHRZ_8	2012.01.04	Sigma	P	2						
025	Suevres	Franciaország	PPFSU_4	2011.08.29	Sigma	P	1						
026	Suevres	Franciaország	PPFSU_5	2011.08.29	Sigma	P	1						

	származási hely		azonosító	DNS extrakció dátuma	felhasznált anyag	COI (1243bp)	HT	COI barcode	28S rDNS	allél	ITS1	ITS2	Mikroszatellita
	város	ország											
027	Suevres	Franciaország	PPFSU_6	2011.09.15	Sigma	P	1						
028	Suevres	Franciaország	PPFSU_7	2011.09.15	Sigma	P	1						
029	Suevres	Franciaország	PPFSU_8	2011.09.15	Sigma	P	1						
030	Suèvres	Franciaország	PPFSU1	2008.07.28	Sigma	P	1						
031	Suèvres	Franciaország	PPFSU2	2008.07.29	Sigma	P	1						
032	Suèvres	Franciaország	PPFSU3	2008.07.29	Sigma	P	1						
033	Suevres	Franciaország	PPFSU_11	2012.01.04	Sigma	P	1						
034	Suevres	Franciaország	PPFSU_12	2012.01.04	Sigma	P	1						
035	Telavi	Grúzia	PPTEL_1	2011.12.19	Sigma	P	13						
036	Telavi	Grúzia	PPTEL_2	2011.12.19	Sigma	P	14	P	P	C	P		
037	Telavi	Grúzia	PPTEL_3	2011.12.19	Sigma	P	13						
038	Telavi	Grúzia	PPTEL_4	2011.12.19	Sigma	P	13						
039	Telavi	Grúzia	PPTEL_5	2012.01.06	Sigma	P	15	P	P	C			
040	Telavi	Grúzia	PPTEL_6	2012.01.06	Sigma	P	13						
041	Telavi	Grúzia	PPTEL_7	2012.01.06	Sigma	P	13	P	P	C			
042	Telavi	Grúzia	PPTEL_8	2012.01.06	Sigma	P	13	P	P	C			
043	Telavi	Grúzia	PPTEL_9	2012.01.09	Sigma	P	13						
044	Telavi	Grúzia	PPTEL_10	2012.01.09	Sigma	P	14	P	P	C			P
045	Drezda	Németország	PPDDR_1	2011.02.28	Sigma	P	2						
046	Drezda	Németország	PPDDR_2	2011.04.18	Sigma	P	2						
047	Drezda	Németország	PPDDR_3	2011.04.18	Sigma	P	2						
048	Drezda	Németország	PPDDR_4	2011.04.19	Sigma	P	2						
049	Drezda	Németország	PPDDR_5	2011.04.19	Sigma	P	2						
050	Drezda	Németország	PPDDR_6	2011.04.19	Sigma	P	2						
051	Drezda	Németország	PPDDR_7	2011.06.06	Sigma	P	2						
052	Drezda	Németország	PPDDR_8	2011.06.06	Sigma	P	2						
053	Drezda	Németország	PPDDR_9	2011.08.29	Sigma	P	2						

	származási hely		azonosító	DNS extrakció dátuma	felhasznált anyag	COI (1243bp)	HT	COI barcode	28S rDNS	allél	ITS1	ITS2	Mikroszatellita
	város	ország											
054	Drezda	Németország	PPDDR_10	2011.08.29	Sigma	P	2						P
055	Freiburg	Németország	PPDFB_1	2011.04.19	Sigma	P	1						
056	Freiburg	Németország	PPDFB_12	2012.01.04	Sigma	P	1						
057	Freiburg	Németország	PPDFB_2	2011.04.19	Sigma	P	1						
058	Freiburg	Németország	PPDFB_3	2011.04.20	Sigma	P	2						
059	Freiburg	Németország	PPDFB_4	2011.04.20	Sigma	P	1	P	P	E			
060	Freiburg	Németország	PPDFB_7	2011.06.06	Sigma	P	2						
061	Freiburg	Németország	PPDFB_8	2011.08.29	Sigma	P	1						
062	Freiburg	Németország	PPDFB_9	2011.08.29	Sigma	P	1						P
063	Freiburg	Németország	PPDFB_10	2011.08.29	Sigma	P	1						
064	Freising	Németország	PPDFS_1	2011.04.19	Sigma	P	2						
065	Freising	Németország	PPDFS_2	2011.04.19	Sigma	P	2						
066	Freising	Németország	PPDFS_3	2011.04.20	Sigma	P	2	P	P	E			
067	Freising	Németország	PPDFS_4	2011.04.20	Sigma	P	2	P	P				
068	Freising	Németország	PPDFS_5	2011.04.20	Sigma	P	2	P	P	E			
069	Freising	Németország	PPDFS_6	2011.06.03	Sigma	P	2						
070	Freising	Németország	PPDFS_8	2011.06.06	Sigma	P	2						
071	Freising	Németország	PPDFS_9	2011.08.29	Sigma	P	2						
072	Freising	Németország	PPDFS_10	2011.08.29	Sigma	P	2						
073	Freising	Németország	PPDFS_11	2012.01.04	Sigma	P	2						
074	Kastraki	Görögország	PPGKA_5	2011.08.29	Sigma	P	1				P		
075	Kastraki	Görögország	PPGKA_6	2011.08.29	Sigma	P	1				P		
076	Kastraki	Görögország	PPGKA_7	2011.09.15	Sigma	P	1						
077	Kastraki	Görögország	PPGKA_8	2011.09.15	Sigma	P	1						
078	Kastraki	Görögország	PPGKA_9	2011.09.15	Sigma	P	1						
079	Kastraki	Görögország	PPGKA1	2008.07.28	Sigma	P	6						P
080	Kastraki	Görögország	PPGKA2	2008.07.29	Sigma	P	1						

	származási hely		azonosító	DNS extrakció dátuma	felhasznált anyag	COI (1243bp)	HT	COI barcode	28S rDNS	allél	ITS1	ITS2	Mikroszatellita
	város	ország											
081	Kastraki	Görögország	PPGKA3	2008.07.28	Sigma	P	5				P		
082	Kastraki	Görögország	PPGKA4	2008.07.29	Sigma	P	1						
083	Kastraki	Görögország	PPGKA_10	2011.09.15	Sigma	P	7	P	P	E			P
084	Paralia Chiliadou	Görögország	PPGKH_3	2011.12.19	Sigma	P	1						
085	Paralia Chiliadou	Görögország	PPGKH_4	2011.12.19	Sigma	P	1				P		
086	Paralia Chiliadou	Görögország	PPGKH_5	2011.12.19	Sigma	P	1						
087	Paralia Chiliadou	Görögország	PPGKH_6	2011.12.19	Sigma	P	8	P	P	E			
088	Paralia Chiliadou	Görögország	PPGKH_7	2012.01.10	Sigma	P	1						
089	Paralia Chiliadou	Görögország	PPGKH_8	2012.01.10	Sigma	P	1						
090	Kathenoi	Görögország	PPGKT_1	2011.11.18	Sigma	P	10						
091	Kathenoi	Görögország	PPGKT_2	2011.11.18	Sigma	P	1						
092	Kathenoi	Görögország	PPGKT_3	2011.11.18	Sigma	P	1						
093	Kathenoi	Görögország	PPGKT_4	2011.11.18	Sigma	P	1				P		
094	Kathenoi	Görögország	PPGKT_5	2012.01.06	Sigma	P	9	P	P	E	P		
095	Kathenoi	Görögország	PPGKT_10	2012.01.10	Sigma	P	1						
096	Mylopotamos	Görögország	PPGMI1	2008.07.28	Sigma	P	19	P	P	E			
097	Mylopotamos	Görögország	PPGMI2	2008.07.29	Sigma	P	20						
098	Mylopotamos	Görögország	PPGMI3	2008.07.29	Sigma	P	20						
099	Steni Dirfys	Görögország	PPGSD_4	2011.11.18	Sigma	P	1						
100	Steni Dirfys	Görögország	PPGSD_5	2011.11.18	Sigma	P	1						
101	Steni Dirfys	Görögország	PPGSD_6	2011.11.18	Sigma	P	1						
102	Steni Dirfys	Görögország	PPGSD_8	2012.01.09	Sigma	P	1						
103	Stropones	Görögország	PPGST_8	2012.01.10	Sigma	P	1						
104	Stropones	Görögország	PPGST_9	2012.01.10	Sigma	P	1						
105	Stropones	Görögország	PPGST_10	2012.01.10	Sigma	P	1						
106	Csongrád	Magyarország	PPHCS_1	2011.02.28	Sigma	P	1						
107	Csongrád	Magyarország	PPHCS_4	2011.04.20	Sigma	P	1	P	P	E			

	származási hely		azonosító	DNS extrakció dátuma	felhasznált anyag	COI (1243bp)	HT	COI barcode	28S rDNS	allél	ITS1	ITS2	Mikroszatellita
	város	ország											
108	Dávod	Magyarország	PPHDA_1	2011.06.06	Sigma	P	1	P	P	E			
109	Dávod	Magyarország	PPHDA_2	2011.08.29	Sigma	P	1						
110	Diósvizsló	Magyarország	PPHDV_1	2011.02.28	Sigma	P	1						
111	Esztergom	Magyarország	PPHES_1	2011.02.28	Sigma	P	1						
112	Hajós	Magyarország	PPHHA_1	2011.04.18	Sigma	P	3						
113	Hajós	Magyarország	PPHHA_2	2011.04.18	Sigma	P	1						
114	Kőszeg	Magyarország	PPHKO_3	2011.08.29	Sigma	P	2						
115	Kőszeg	Magyarország	PPHKO_4	2011.08.29	Sigma	P	2						
116	Kőszeg	Magyarország	PPHKO_5	2011.08.29	Sigma	P	2						
117	Sopron	Magyarország	PPSOP_3	2010.11.17	Aqua genomic kit	P	1						
118	Sopron	Magyarország	PPSOP_5	2010.11.17	Aqua genomic kit	P	1						
119	Sopron	Magyarország	PPSOP_6	2010.11.17	Aqua genomic kit	P	2						
120	Sopron	Magyarország	PPSOP_7	2010.11.12	Sigma	P	2						
121	Sopron	Magyarország	PPSOP_8	2010.11.12	Sigma	P	1						
122	Sopron	Magyarország	PPSOP_9	2010.11.03	Sigma	P	1						
123	Pantalica	Olaszország	PPIPA_1	2011.12.19	Sigma	P	1						
124	Pantalica	Olaszország	PPIPA_2	2011.12.19	Sigma	P	1						
125	Pantalica	Olaszország	PPIPA_3	2011.12.19	Sigma	P	4	P	P	E			
126	Pantalica	Olaszország	PPIPA_4	2012.01.06	Sigma	P	1						
127	Pantalica	Olaszország	PPIPA_5	2012.01.06	Sigma	P	1						
128	Pantalica	Olaszország	PPIPA_6	2012.01.06	Sigma	P	4	P	P	E			P
129	Pantalica	Olaszország	PPIPA_7	2012.01.09	Sigma	P	1						
130	Pantalica	Olaszország	PPIPA_9	2012.01.09	Sigma	P	1						
131	Pantalica	Olaszország	PPIPA_10	2012.01.09	Sigma	P	1						
132	Pantalica	Olaszország	PPIPA_11	2012.01.10	Sigma	P	1						
133	Pompei	Olaszország	PPIPO_1	2011.11.18	Sigma	P	1						

	származási hely		azonosító	DNS extrakció dátuma	felhasznált anyag	COI (1243bp)	HT	COI barcode	28S rDNS	allél	ITS1	ITS2	Mikroszatellita
	város	ország											
134	Pompei	Olaszország	PPIPO_2	2011.11.18	Sigma	P	1						
135	Pompei	Olaszország	PPIPO_3	2011.12.19	Sigma	P	1						
136	Pompei	Olaszország	PPIPO_4	2011.12.19	Sigma	P	1						
137	Pompei	Olaszország	PPIPO_5	2012.01.06	Sigma	P	1						
138	Pompei	Olaszország	PPIPO_6	2012.01.06	Sigma	P	1						
139	Pompei	Olaszország	PPIPO_7	2012.01.06	Sigma	P	1						
140	Pompei	Olaszország	PPIPO_8	2012.01.09	Sigma	P	1						
141	Pompei	Olaszország	PPIPO_9	2012.01.09	Sigma	P	1						
142	Pompei	Olaszország	PPIPO_10	2012.01.09	Sigma	P	1						
143	Biskek	Kirgizisztán	PPBIS_1	2012.05.22	Sigma	P	13						
144	Biskek	Kirgizisztán	PPBIS_2	2012.05.22	Sigma	P	13						
145	Biskek	Kirgizisztán	PPBIS_3	2012.05.22	Sigma	P	13						
146	Biskek	Kirgizisztán	PPBIS_4	2012.05.22	Sigma	P	13						
147	Rotterdam	Hollandias	PPNRO1	2008.07.28	Sigma	P	2	P P		E			
148	Rotterdam	Hollandias	PPNRO2	2008.07.29	Sigma	P	2						
149	Rotterdam	Hollandia	PPNRO_3	2011.08.29	Sigma	P	2			E			
150	Rotterdam	Hollandia	PPNRO_4	2012.01.04	Sigma	P	2						
151	Katowice	Lengyelország	PPPKA_1	2011.02.28	Sigma	P	1						
152	Katowice	Lengyelország	PPPKA_2	2011.04.19	Sigma	P	2						
153	Katowice	Lengyelország	PPPKA_3	2011.04.19	Sigma	P	2						
154	Katowice	Lengyelország	PPPKA_5	2011.04.20	Sigma	P	2	P P		E			
155	Katowice	Lengyelország	PPPKA_7	2011.06.03	Sigma	P	2						
156	Katowice	Lengyelország	PPPKA_8	2011.06.06	Sigma	P	3	P P		E			
157	Katowice	Lengyelország	PPPKA_9	2011.08.29	Sigma	P	3						
158	Katowice	Lengyelország	PPPKA_10	2011.08.29	Sigma	P	3				P		
159	Katowice	Lengyelország	PPPKA_11	2011.12.19	Sigma	P	3	P P		E			
160	Craiova	Románia	PPCR1	2007.11.21	Sigma	P	1						
161	Craiova	Románia	PPCR2	2007.11.21	Sigma	P	1						

	származási hely		azonosító	DNS extrakció dátuma	felhasznált anyag	COI (1243bp)	HT	COI barcode	28S rDNS	allél	ITS1	ITS2	Mikroszatellita
	város	ország											
162	Craiova	Románia	PPCR3	2007.11.21	Sigma	P	1						
163	Craiova	Románia	PPCR_5	2012.01.06	Sigma	P	1						
164	Craiova	Románia	PPCR_8	2012.01.09	Sigma	P	1						
165	Craiova	Románia	PPCR_9	2012.01.09	Sigma	P	1						
166	Craiova	Románia	PPCR_12	2012.05.22	Sigma	P	1						
167	Craiova	Románia	PPCR_13	2012.05.22	Sigma	P	1						
168	Craiova	Románia	PPCR_14	2012.05.22	Sigma	P	1						
169	Nyitra	Szlovákia	PSSLN_1	2011.02.28	Sigma	P	3	P P	E				
170	Nyitra	Szlovákia	PSSLN_3	2011.04.14	Sigma	P	1						
171	Nyitra	Szlovákia	PSSLN_4	2011.04.14	Sigma	P	1						
172	Nyitra	Szlovákia	PSSLN_5	2011.04.18	Sigma	P	2						
173	Nyitra	Szlovákia	PSSLN_6	2011.04.18	Sigma	P	1						
174	Nyitra	Szlovákia	PSSLN_7	2011.06.03	Sigma	P	1						
175	Nyitra	Szlovákia	PSSLN_9	2011.06.03	Sigma	P	1						
176	Nyitra	Szlovákia	PSSLN_11	2011.08.29	Sigma	P	3						P
177	Nyitra	Szlovákia	PSSLN_12	2011.12.19	Sigma	P	1						
178	Nyitra	Szlovákia	PSSLN_13	2012.01.04	Sigma	P	3						
179	Antalya	Törökország	PPTAN_1	2012.10.24	Sigma	P	16						
180	Antalya	Törökország	PPTAN_2	2012.10.24	Sigma	P	16						
181	Antalya	Törökország	PPTAN_3	2012.10.24	Sigma	P	16						
182	Antalya	Törökország	PPTAN_4	2012.10.24	Sigma	P	16						
183	Antalya	Törökország	PPTAN_5	2012.10.24	Sigma	P	16						
184	Antalya	Törökország	PPTAN_6	2012.10.24	Sigma	P	16						
185	Antalya	Törökország	PPTAN_7	2012.10.24	Sigma	P	16						
186	Antalya	Törökország	PPTAN_8	2012.10.24	Sigma	P	16						
187	Antalya	Törökország	PPTAN_9	2012.10.24	Sigma	P	16						
188	Antalya	Törökország	PPTAN_10	2012.10.24	Sigma	P	16						
189	Isztambul	Törökország	PPTIST_1	2012.10.24	Sigma	P	1						
190	Isztambul	Törökország	PPTIST_2	2012.10.24	Sigma	P	1						

	származási hely		azonosító	DNS extrakció dátuma	felhasznált anyag	COI (1243bp)	HT	COI barcode	28S rDNS	allél	ITS1	ITS2	Mikroszatellita
	város	ország											
191	Isztambul	Törökország	PPTIST_3	2012.10.24	Sigma	P	1						
192	Isztambul	Törökország	PPTIST_4	2012.10.24	Sigma	P	17						
193	Isztambul	Törökország	PPTIST_5	2012.10.24	Sigma	P	1						
194	Isztambul	Törökország	PPTIST_6	2012.10.24	Sigma	P	1						
195	Isztambul	Törökország	PPTIST_7	2012.10.24	Sigma	P	1						
196	Isztambul	Törökország	PPTIST_8	2012.10.24	Sigma	P	1						
197	Isztambul	Törökország	PPTIST_9	2012.10.24	Sigma	P	1						
198	Isztambul	Törökország	PPTIST_10	2012.10.24	Sigma	P	17						
199	London	Egyesült Királyság	PPUHP1	2008.07.28	Sigma	P	2						
200	London	Egyesült Királyság	PPUHW1	2008.07.29	Sigma	P	2						
201	London	Egyesült Királyság	PPUOP1	2008.07.29	Sigma	P	2						
202	London	Egyesült Királyság	PPULO_4	2012.01.04	Sigma	P	1						
203	London	Egyesült Királyság	PPULO_5	2012.01.04	Sigma	P	2						
204	London	Egyesült Királyság	PPULO_6	2012.01.04	Sigma	P	2						
205	London	Egyesült Királyság	PPULO_7	2012.01.06	Sigma	P	2						
206	London	Egyesült Királyság	PPULO_8	2012.01.06	Sigma	P	2						
207	London	Egyesült Királyság	PPULO_9	2012.01.06	Sigma	P	2						
208	London	Egyesült Királyság	PPULO_10	2012.01.06	Sigma	P	2						
209	Monterey	USA	PPUSM_1	2011.02.28	Sigma	P	1	P	P	E			
210	Monterey	USA	PPUSM_2	2012.05.22	Sigma	P	1						
211	Monterey	USA	PPUSM_3	2012.05.22	Sigma	P	11						
212	Monterey	USA	PPUSA4	2008.03.06	EZNA	P	1						
213	Monterey	USA	PPUSA6	2008.03.19	EZNA	P	1						
214	Monterey	USA	PPUSA7	2008.03.19	EZNA	P	1						
215	Monterey	USA	PPUSA8	2008.08.10	Sigma	P	12	P	P	E			
216	Monterey	USA	PPUSA9	2008.08.10	Sigma	P	18		P	E			
217	Monterey	USA	PPUSA10	2008.08.10	Sigma	P	1		P	E			
218	Monterey	USA	PPUSA11	2008.08.10	Sigma	P	11		P	E			

	származási hely		azonosító	DNS extrakció dátuma	felhasznált anyag	COI (1243bp)	HT	COI barcode	28S rDNS	allél	ITS1	ITS2	Mikroszatellita
	város	ország											
219	Monterey	USA	PPUSA12	2008.08.10	Sigma	P	1						
220	Szamarkand	Üzbegisztán	PPSAM_1	2011.08.29	Sigma	P	13						
221	Szamarkand	Üzbegisztán	PPSAM_2	2011.09.15	Sigma	P	13						
222	Szamarkand	Üzbegisztán	PPSAM_3	2011.09.15	Sigma	P	13		P	C			
223	Szamarkand	Üzbegisztán	PPSAM_4	2011.09.15	Sigma	P	13						
224	Szamarkand	Üzbegisztán	PPSAM_5	2011.09.15	Sigma	P	13		P	C			
225	Szamarkand	Üzbegisztán	PPSAM_8	2011.10.14	Sigma	P	13		P	C			
226	Szamarkand	Üzbegisztán	PPSAM_9	2011.10.14	Sigma	P	13		P	C			
227	Szamarkand	Üzbegisztán	PPSAM_10	2011.10.14	Sigma	P	13						
228	Szamarkand	Üzbegisztán	PPSAM_11	2012.02.16	Sigma	P	13		P	C			P
229	Szamarkand	Üzbegisztán	PPSAM_12	2012.02.16	Sigma	P	13						

3. táblázat: Haplotípusok populációnkénti frekvencia értékei

lelőhely	ország	db	HT1	HT2	HT3	HT4	HT5	HT6	HT7	HT8	HT9	HT10	HT11	HT12	HT13	HT14	HT15	HT16	HT17	HT18	HT19	HT20
Antalya	Törökország	9																1,000				
Craiova	Románia	9	1,000																			
Brüsszel	Belgium	6		1,000																		
Biskek	Kirgizisztán	4													1,000							
Drezda	Németország	10		1,000																		
Kelet-Evia	Görögország	10	0,900							0,100												
Nyugat-Evia	Görögország	9	0,778								0,111	0,111										
Freiburg	Németország	9	0,778	0,222																		
Freising	Németország	10		0,100																		
Kastraki	Görögország	10	0,700				0,100	0,100	0,100													
Miliopotamos	Görögország	3																			0,333	0,667
Nyugat-Magyarország	Magyarország	10	0,500	0,500																		
Isztambul	Törökország	9	0,778																0,222			
Katowice	Lengyelország	9	0,111	0,444	0,444																	
London	Egyesült Királyság	10		1,000																		
Monterey	USA (CA)	11	0,636										0,182	0,091							0,091	
Nyitra	Szlovákia	9	0,667	0,111	0,222																	
Pantolica	Olaszország	10	0,800			0,200																
Pompei	Olaszország	10	1,000																			
Rotterdam	Hollandias	4		1,000																		
Szamarkand	Üzbegisztán	10													1,000							
Suevres	Franciaország	10	1,000																			

lelőhely	ország	db	HT1	HT2	HT3	HT4	HT5	HT6	HT7	HT8	HT9	HT10	HT11	HT12	HT13	HT14	HT15	HT16	HT17	HT18	HT19	HT20
Szófia	Bulgária	10	1,000																			
Telavi	Grúzia	10													0,700	0,200	0,100					
Zágráb	Horvátország	9	0,444	0,556																		
Dél-Magyarország	Magyarország	7	0,857		0,143																	
teljes		227	0,498	0,251	0,031	0,009	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,009	0,004	0,093	0,009	0,004	0,040	0,009	0,004	0,004	0,009

4.a. táblázat: SAMOVA elemzés eredményei az összes mintára:

(Va: variabilitás a csoportok közötti variabilitás, Vb: az egyes csoportokon belüli variabilitás, Vc= populációkon belüli variabilitás; FCT: csoportok közötti fixációs index, FST: csoportokon belüli fixációs index, FST: populációkon belüli fixációs index)

K	var	var %	Fixációs index	p
2	11.4457 Va	95.79	FCT= 0.95785	0,0000
	0.34117 Vb	2.86	FSC= 0.67738	0,0000
	0.16249 Vc	1.36	FST= 0.9864	0,0000
3	10.5172 Va	95.46	FCT= 0.95459	0,0000
	0.33784 Vb	3.07	FSC= 0.67524	0,0000
	0.16249 Vc	1.47	FST= 0.98525	0,0000
4	9.50598 Va	95.02	FCT= 0.95022	0,0000
	0.33549 Vb	3.35	FSC= 0.67371	0,0000
	0.16249 Vc	1.62	FST= 0.98376	0,0000
5	7.37225 Va	93.85	FCT= 0.93846	0,0000
	0.32095 Vb	4.09	FSC= 0.66389	0,0000
	0.16249 Vc	2.07	FST= 0.97932	0,0000
6	7.02037 Va	93.6	FCT= 0.93599	0,0000
	0.31763 Vb	4.23	FSC= 0.66156	0,0000
	0.16249 Vc	2.17	FST= 0.97834	0,0000
7	5.67482 Va	92.81	FCT= 0.92805	0,0000
	0.27744 Vb	4.54	FSC= 0.63065	0,0000
	0.16249 Vc	2.66	FST= 0.97343	0,0000

- K2 elrendezés: "Craiova, Brüsszel, Drezda, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Freising, Kastraki, Miliopotamos, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Katowice, London, Nyitra, Pantalica, Pompei, Rotterdam, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb, Monterey"; "Antalya, Biskek, Szamarkand, Telavi"
- K3 elrendezés: "Craiova, Brüsszel, Drezda, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Freising, Kastraki, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Katowice, London, Nyitra, Pantalica, Pompei, Rotterdam, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb, Monterey"; "Antalya, Biskek, Szamarkand, Telavi"; "Miliopotamos"
- K4 elrendezés: "Craiova, Brüsszel, Drezda, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Freising, Kastraki, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Katowice, London, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb, Monterey"; "Rotterdam"; "Antalya, Biskek, Szamarkand, Telavi"; "Miliopotamos"
- K5 elrendezés: "Craiova, Brüsszel, Drezda, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Freising, Kastraki, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Katowice, London, Miliopotamos, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb, Monterey"; "Rotterdam"; "Brüsszel"; "Antalya, Biskek, Szamarkand, Telavi"; "Drezda"
- K6 elrendezés: "Craiova, Brüsszel, Drezda, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Freising, Kastraki, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Katowice, London, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb, Monterey"; "Rotterdam"; "Brüsszel"; "Drezda"; "Miliopotamos"; "Antalya, Biskek, Szamarkand, Telavi"
- K7 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Miliopotamos, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Katowice, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb, Monterey"; "Antalya, Biskek, Szamarkand, Telavi"; "London"; "Freising"; "Drezda"; "Brüsszel"; "Rotterdam"

6.b. SAMOVA az ázsiai haplocsoportra:

(Va: variabilitás a csoportok közötti variabilitás, Vb: az egyes csoportokon belüli variabilitás, Vc= populációkon belüli variabilitás; FCT: csoportok közötti fixációs index, FST: csoportokon belüli fixációs index, FST: populációkon belüli fixációs index)

K	var		var %	Fixációs index	p
2	2,85852	Va	95,7	FCT= 0,95697	0,000
	0,0251	Vb	0,84	FSC= 0,19523	0,053
	0,10345	Vc	3,46	FST= 0,96537	0,000
3	1,78244	Va	95,43	FCT= 0,95431	0,168
	-0,0181	Vb	-0,97	FSC= -0,2121	0,000
	0,10345	Vc	5,54	FST= 0,94461	0,000

K2 elrendezés: "Antalya"; "Biskek, Szamarkand, Telavi"

K3 elrendezés: "Antalya"; "Biskek, Szamarkand"; "Telavi"

4.c. SAMOVA az európa–észak-amerikai haplocsoportra:

(Va: variabilitás a csoportok közötti variabilitás, Vb: az egyes csoportokon belüli variabilitás, Vc= populációkon belüli variabilitás; FCT: csoportok közötti fixációs index, FST: csoportokon belüli fixációs index, FST: populációkon belüli fixációs index)

K	var		var %	Fixációs index	p
2	0,38868	va	63,9	FCT= 0,63899	0,0000
	0,04720	vb	7,76	FSC= 0,21496	0,0000
	0,17239	vc	28,34	FST= 0,71659	0,0000
3	0,38337	va	64,42	FCT= 0,64419	0,0000
	0,03936	vb	6,61	FSC= 0,18590	0,0000
	0,17239	vc	28,97	FST= 0,71033	0,0000
4	0,30624	va	59,42	FCT= 0,59421	0,0000
	0,03675	vb	7,13	FSC= 0,17571	0,0000
	0,17239	vc	33,45	FST= 0,66551	0,0000
5	0,27818	va	60,43	FCT= 0,60427	0,0000
	0,00979	vb	2,13	FSC= 0,05376	0,0000
	0,17239	vc	37,45	FST= 0,62554	0,0000
6	0,30601	va	63,46	FCT= 0,63463	0,0000
	0,00379	vb	0,79	FSC= 0,02153	0,0000
	0,17239	vc	35,75	FST= 0,64249	0,0000
7	0,28080	va	61,65	FCT= 0,61651	0,0000
	0,00228	vb	0,5	FSC= 0,01305	0,0000
	0,17239	vc	37,85	FST= 0,62152	0,0000
8	0,26199	va	57,85	FCT= 0,57849	0,0000
	0,01851	vb	4,09	FSC= 0,09695	0,0000
	0,17239	vc	38,06	FST= 0,61936	0,0000

K2 elrendezés: "Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam"; "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Miliopotamos, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Katowice, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb, Monterey"

K3 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Katowice, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb, Monterey"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam"; "Miliopotamos"

K4 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Miliopotamos, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Zágráb, Monterey"; "Katowice"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam"; "Dél-Magyarország"

K5 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Miliopotamos, Isztambul, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Monterey"; "Kastraki"; "Nyugat-Magyarország, Zágráb"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam"; "Katowice"

K6 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Isztambul, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Monterey"; "Katowice"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London"; "Miliopotamos"; "Nyugat-Magyarország, Zágráb"; "Rotterdam"

- K7 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Freiburg, Kastraki, Isztambul, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Monterey"; "Miliopotamos"; "Nyugat-Magyarország, Zágráb"; "Nyugat-Evia"; "Rotterdam"; "Katowice"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London"
- K8 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Miliopotamos, Isztambul, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Monterey"; "Brüsszel"; "Dél-Magyarország"; "Rotterdam"; "Katowice", "Drezda, Freising, London"; "Zágráb"; "Nyugat-Magyarország"

4.d. táblázat: SAMOVA elemzés eredményei az európai mintákra

(Va: variabilitás a csoportok közötti variabilitás, Vb: az egyes csoportokon belüli variabilitás, Vc= populációkon belüli variabilitás; FCT: csoportok közötti fixációs index, FST: csoportokon belüli fixációs index, FST: populációkon belüli fixációs index)

K	var		var %	Fixációs index	p
2	0,38124	Va	64,46	FCT= 0,64461	0,0000
	0,04842	Vb	8,19	FSC= 0,23036	0,0000
	0,16177	Vc	27,35	FST= 0,72648	0,0000
3	0,34335	Va	63,45	FCT= 0,63446	0,0000
	0,03605	Vb	6,66	FSC= 0,18223	0,0000
	0,17177	Vc	28,89	FST= 0,70107	0,0000
4	0,34460	Va	64,61	FCT= 0,64607	0,0000
	0,02702	Vb	5,06	FSC= 0,14310	0,0000
	0,16177	Vc	30,33	FST= 0,69672	0,0000
5	0,27747	Va	61,77	FCT= 0,61768	0,0000
	0,00997	Vb	2,22	FSC= 0,05808	0,0000
	0,16177	Vc	36,01	FST= 0,63988	0,0000
6	0,25920	Va	60,79	FCT= 0,60787	0,0000
	0,00544	Vb	1,28	FSC= 0,03253	0,0000
	0,16177	Vc	37,94	FST= 0,62063	0,0000
7	0,27004	Va	61,98	FCT= 0,61981	0,0000
	0,00388	Vb	0,89	FSC= 0,02340	0,0000
	0,16177	Vc	37,13	FST= 0,62871	0,0000
8	0,25680	Va	61,05	FCT= 0,61050	0,0000
	0,00207	Vb	0,49	FSC= 0,01263	0,0000
	0,16177	Vc	38,46	FST= 0,61543	0,0000
9	0,25729	Va	61,56	FCT= 0,61556	0,0000
	-0,0011	Vb	-0,26	FSC= -0,00671	0,0000
	0,16177	Vc	38,7	FST= 0,61298	0,0000
10	0,23401	Va	59,88	FCT= 0,59881	0,0000
	-0,005	Vb	-1,28	FSC= -0,03178	0,0000
	0,16177	Vc	41,39	FST= 0,58606	0,0000

K2 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Miliopotamos, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Katowice, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam"

K3 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Miliopotamos, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb"; "Katowice", "Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam"

K4 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb"; "Miliopotamos"; "Katowice"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam"

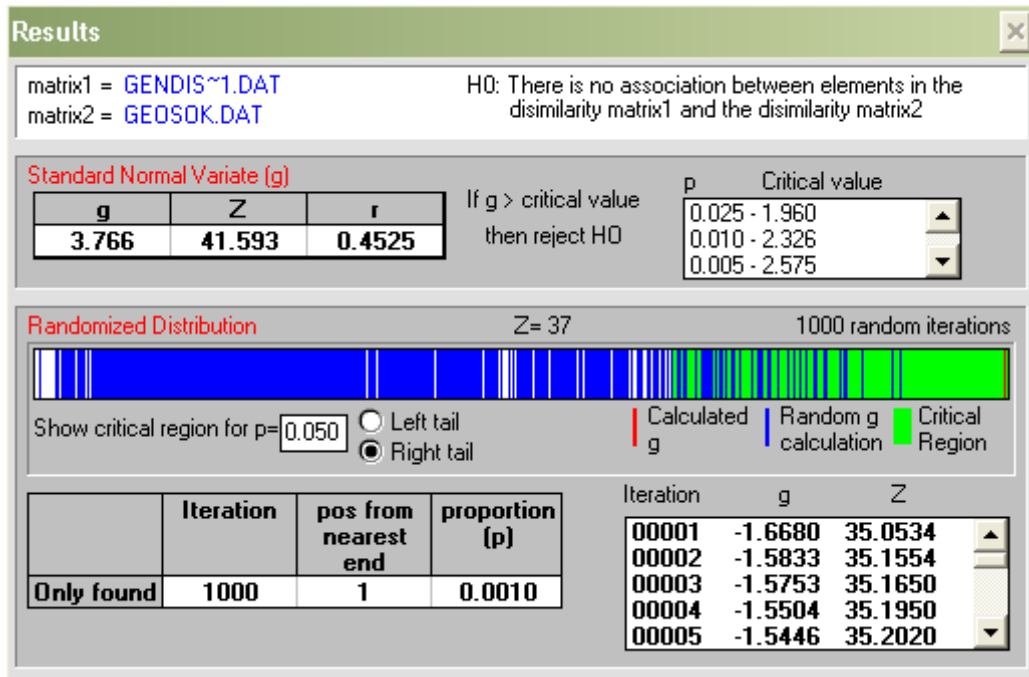
- K5 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Miliopotamos, Nyugat-Magyarország, Isztambul, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország, Zágráb"; "Nyugat-Magyarország, Zágráb"; "Nyitra"; "Katowice"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam"
- K6 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Kastraki, Isztambul, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország"; "Nyugat-Magyarország, Katowice, Zágráb"; "Freiburg", "Nyitra"; "Miliopotamos"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam";
- K7 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Freiburg, Kastraki, Isztambul, Nyitra, Pantalica, Pompei, Szófia, Dél-Magyarország"; "Katowice"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London"; "Miliopotamos"; "Rotterdam"; "Suevres"; "Nyugat-Magyarország, Zágráb"
- K8 elrendezés: "Kelet-Evia, Freiburg, Kastraki, Isztambul, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország"; "Craiova"; "Miliopotamos"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London"; "Rotterdam"; "Katowice"; "Nyugat-Evia"; "Nyugat-Magyarország, Zágráb"
- K9 elrendezés: "Craiova, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Isztambul, Nyitra, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország"; "Miliopotamos"; "Rotterdam"; "Kastraki"; "Zágráb"; "Katowice"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London"; "Nyugat-Magyarország"; "Freiburg"
- K10 elrendezés: "Kastraki", "Craiova, Nyugat-Evia, Freiburg, Pantalica, Pompei, Suevres, Szófia, Dél-Magyarország"; "Isztambul"; "Kelet-Evia", "Katowice"; "Brüsszel, Drezda, Freising, London", "Rotterdam"; "Nyitra"; "Miliopotamos"; "Nyugat-Magyarország, Zágráb"

4.e. táblázat: AMOVA/SAMOVA eredmények az európai mintákra:

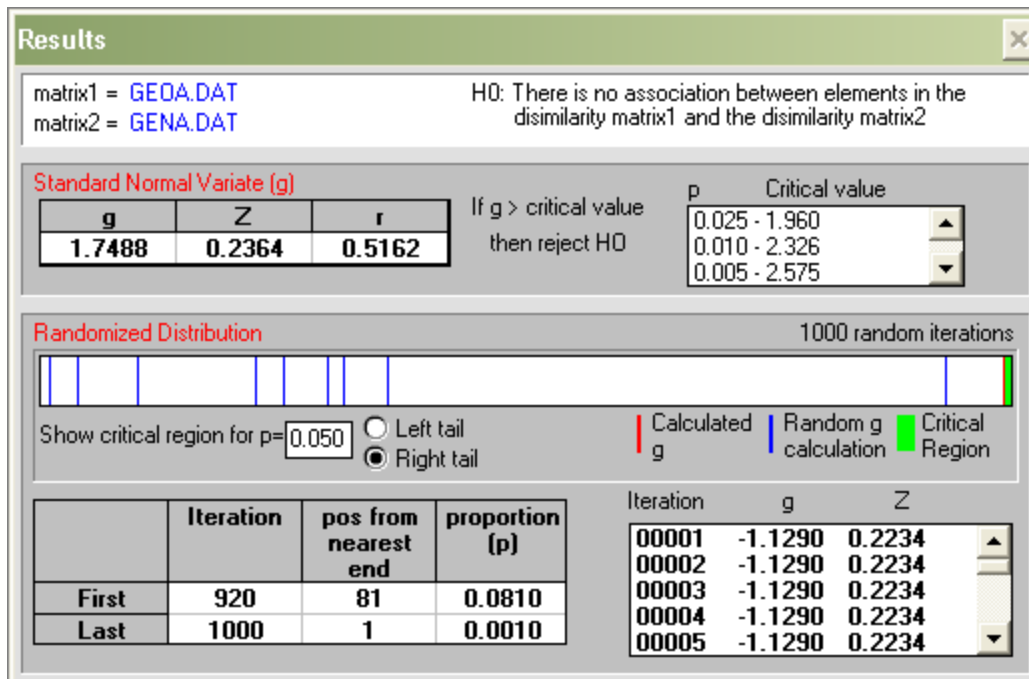
(FCT: csoportok közötti fixációs index, FST: csoportokon belüli fixációs index, FST: populációkon belüli fixációs index)

ID	régió	AMOVA/SAMOVA			
		var	var %	Fixációs index	p
1	SAMOVA K2 Észak; Dél-Délkelet	0,38124	64,46	FCT= 0,64461	0,0000
		0,04842	8,19	FSC= 0,23036	0,0000
		0,16177	27,35	FST= 0,72648	0,0000
2	Észak; Közép; Dél	0,24851	55,45	FCT= 0,55452	0,0000
		0,03688	8,23	FSC= 0,18472	0,0000
		0,16277	36,32	FST= 0,63681	0,0000
3	őshonos; nem őshonos	0,07839	19,93	FCT= 0,19931	0,0216
		0,15213	38,68	FSC= 0,48311	0,0000
		0,16277	41,39	FST= 0,58613	0,0000
4	Észak; Közép; őshonos, egyéb	0,19174	49,13	FCT= 0,49133	0,0000
		0,03574	9,16	FSC= 0,18005	0,0000
		0,16277	41,71	FST= 0,58292	0,0000
5	Ény; Közép; Dél; Kelet; őshonos	0,09410	25,65	FCT= 0,25650	0,0107
		0,10999	25,65	FSC= 0,40326	0,0000
		0,16277	44,37	FST= 0,55632	0,0000

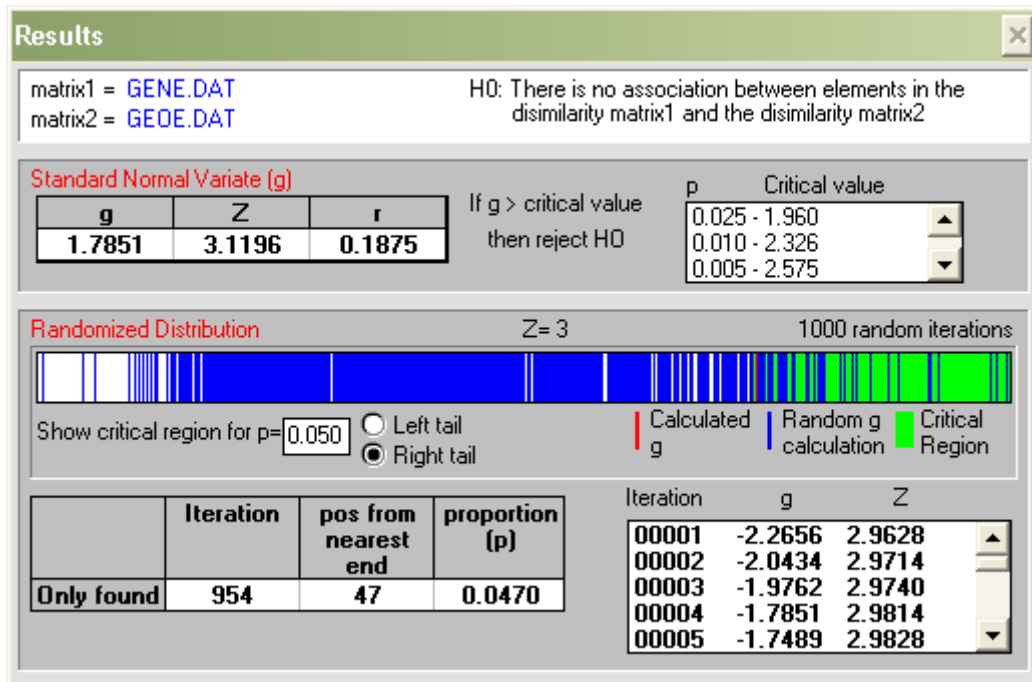
1. elrendezés: Észak-Európa: „Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam”, Dél-Délkelet-Európa: "Pantalica, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Miliopotamos, Kastraki, Isztambul, Suevres, Freiburg, Craiova, Szófia, Pompei, Zágráb, Katowice, Nyitra, Nyugat-Magyarország, Dél-Magyarország"
2. elrendezés: Észak-Európa: „Brüsszel, Drezda, Freising, London, Rotterdam”; Dél-Európa: "Pantalica, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Miliopotamos, Kastraki, Isztambul, Suevres, Freiburg, Craiova, Szófia, Pompei, Zágráb"; Közép-Európa: „Katowice, Nyitra, Nyugat-Magyarország, Dél-Magyarország”
3. elrendezés: őshonos: "Pantalica, E-Evia, Nyugat -Evia, Miliopotamos, Kastraki, Isztambul", nem őshonos: "London, Brüsszel, Rotterdam, Freising, Suevres, Freiburg, Craiova, Szófia, Pompei, Zágráb, Katowice, Nyitra, Nyugat-Magyarország, Dél-Magyarország "
4. elrendezés: Észak-Európa: "London, Brüsszel, Rotterdam, Freising”, Közép-Európa: „Katowice, Nyitra, Nyugat-Magyarország, Dél-Magyarország”; Óshonos: Pantalica, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Miliopotamos, Kastraki, Isztambul”; Egyéb: "Craiova, Szófia, Pompei, Zágráb, Suevres, Freiburg”
5. elrendezés: Észak-Európa: „London, Suevres, Brüsszel, Rotterdam, Freiburg, Freising, Drezda”; Közép-Európa: Katowice, Nyitra, Nyugat-Magyarország, Dél-Magyarország”; Dél-Európa (kivéve őshonos területek): "Pompei, Zágráb", Kelet-Európa: „Craiova, Szófia”, őshonos területek: „Pantalica, Kelet-Evia, Nyugat-Evia, Miliopotamos, Kastraki, Isztambul”



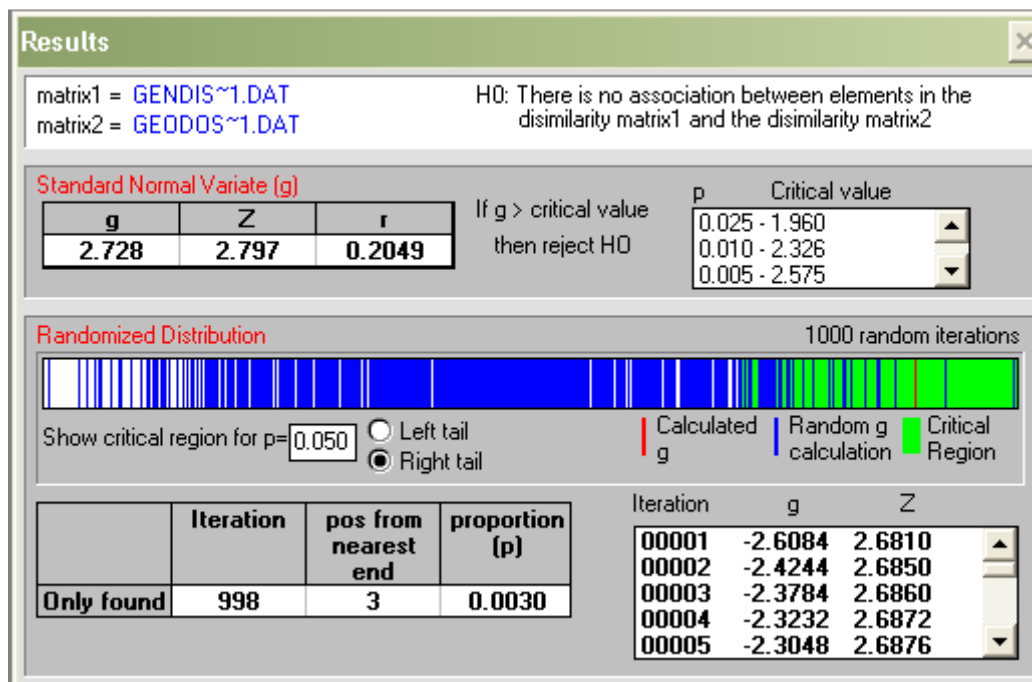
1.a. ábra: Mantel-teszt eredménye az összes mintára



1.b. ábra: Mantel-teszt eredménye az ázsiai haplocsoportra



1.c. ábra: Mantel-teszt az európa–észak-amerikai haplocsoportra



1.d.ábra: Mantel-teszt eredménye az európai mintákra