

# **DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

**KOVÁCS ZSÓFIA**  
**BUDAPEST**  
**2023**



**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem**

**Óriás útifű, sárga len, valamint kései és balti szegfű *ex situ* és *in situ*  
állományainak morfológiai, citológiai és genetikai változatossága**

**Kovács Zsófia**

**Budapest  
2023**

## **A doktori iskola**

**Megnevezése:** Kertészettudományi Doktori Iskola

**Tudományága:** Növénytermesztési és kertészeti tudományok

**Vezetője:** Zámboriné Dr. Németh Éva  
egyetemi tanár, DSc  
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem  
Kertészettudományi Intézet, Gyógy- és Aromanövények  
Tanszék

**Témavezetők:** Dr. Höhn Mária  
egyetemi tanár, CSc  
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem  
Növénytermesztési-tudományok Intézet, Növénytan  
Tanszék

Dr. Csontos Péter  
c. egyetemi tanár, DSc  
ELKH, Agrártudományi Kutatóközpont, Talajtani Intézet,  
Talajbiológiai Osztály

.....  
Az iskolavezető jóváhagyása

.....  
A témavezetők jóváhagyása

# 1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK

A világon a növényi diverzitás csökkenése egyre komolyabb méreteket ölt. A Királyi Botanikus Kertek, Kew 2020-as jelentése szerint a mintegy 350 000 ismert edényes növényfaj közel 40%-a kihalással fenyegetett. A védett fajok megóvásának elsődleges módja az eredeti élőhelyen történő megőrzés (*in situ*), azonban számos biotikus és abiotikus tényező gátolhatja a populációk hosszútávú fennmaradását. Az eredeti élőhelyen kívül történő, úgynevezett *ex situ* megőrzés fontos kiegészítője az *in situ* módszernek. A Növényvilág Megőrzésének Világstratégiája (GSPC) a 2020-ig terjedő tervezési időszakra a védett fajok legalább 75%-nak *ex situ* gyűjteményekben történő megőrzését tűzte ki célul.

Az *ex situ* megőrzés célja a védett faj teljes genetikai állományának reprezentatív megőrzése. Ez a cél magában foglalja mind a morfo-fenológiai variabilitást, mind a taxonspecifikus, nagy genetikai variabilitású gyűjtemények biztosítását. A védett fajok morfo-fenológiai és populációgenetikai sajátosságaival kapcsolatban sok esetben nem rendelkezünk irodalmi adatokkal, ami a minél pontosabb és specifikusabb mintavételezést is akadályozza. Mindemellett a gyűjteményeskertekben kialakított *ex situ* állományokról is kevés adat áll rendelkezésünkre. A gyűjteményekben felléphetnek kedvezőtlen folyamatok, így például a genetikai variabilitás jelentős mértékű csökkenését okozhatja a genetikai sodródás és a beltenyésztéses leromlás. A genetikai sodródás különösen jelentős kis egyedszámú és izolált állományokban. A gyűjteményeskerti állományok sok esetben az eredeti élőhelyüktől távol, eltérő élőhelyi viszonyok közé kerülnek. Az új környezeti viszonyokhoz történő adaptáció morfo-fenológiai változásokat okozhat, ami gátolhatja a későbbi visszatelepítési (ún. repatriációs) folyamatokat. Ezzel egyidejűleg a rendszeres kertészeti fenntartás is kedvezőtlenül hathat a megőrzött génanyagra, csökkent szelekciós nyomást vagy éppen nem kívánt szelekciót előidézve.

A hazai flóra fokozottan védett tagja az óriás útifű (*Plantago maxima* Juss. ex Jacq.). Magyarországi populációi a faj elterjedési területének legnyugatibb állományait képviselik. Természetes populációinak morfofenológiai, citológiai és populációgenetikai ismeretei ezidáig hiányosak voltak. A populációk fennmaradását veszélyezteti az élőhelyek fokozatos átalakulása a túlzott mértékű folyószabályozás következtében, az invazív fajok terjedése és a katonai tevékenység nyomán fokozott tűzveszély. A faj *ex situ* állományát 2016-ban létesítettem a Soroksári Botanikus Kert területén, állományainak konzervációbiológiai értékelése ezért rendkívül időszerű.

A sárga len (*Linum flavum* L.) Magyarországon védett faj, védelmét élőhelyének fokozatos eltűnése indokolja. Az *ex situ* állományt a Soroksári Botanikus Kertben 1987-1993 között telepítették be Alsószentivánról. A kutatás során nem csak az *in situ* populációk háttérdiverzitásának feltárására nyílik lehetőség, de egyúttal a hosszútávú fenntartás hatásának értékelésére is.

A kései szegfű (*Dianthus serotinus* W. et K.) hazánk endemikus, védett faja. A *Plumaria* szekció tagja. Az *ex situ* állományt 1975-1976 között telepítették

a Soroksári Botanikus Kertbe a Dunaharaszti határában található Kápolnadombról. Az eredeti élőhely azóta megsemmisült, így a botanikus kert területén megtalálható állomány őrzi ennek a populációnak az utolsó lenyomatát. A szekció másik homoki területen előforduló, védett tagja a balti szegfű (*Dianthus arenarius* L.). A faj előfordulását hazánk területéről recens filogenetikai vizsgálatok alapján egyedül a Fenyőfői Ösfenyves területéről igazolták (Somogyi 2014). A két taxon morfológiai, kromoszóma alapú és populációgenetikai értékelése az *ex situ* megőrzés kidolgozásának fontos feltétele.

### **Célkitűzések:**

1. A vizsgált növény taxonok *in situ* és *ex situ* állományainak fenotípusos bélyeg változásának értékelése. A természetes állományok morfológiai variabilitásának meghatározása. Az *ex situ* állományokban jellemző morfológiai változatosság értékelése és összevetése az *in situ* állományokkal.
2. Az óriás útifű és a sárga len taxonok *in situ* és *ex situ* populációinak összehasonlítása céljából élőhelyi fajlista készítése.
3. Az óriás útifű, valamint a kései szegfű és balti szegfű populációk kromoszómaszámának meghatározása és a kromoszómák fluoreszcens *in situ* hibridizációja az *in situ* populációk természetes variabilitásának feltárása céljából.
4. Az óriás útifű állományok genetikai diverzitásának feltárásához ISSR és cpDNS markerezés. A kloroplasztisz DNS haplotípusok összevetése egy kazahsztáni állomány mintáival, hogy feltérképezzük a potenciálisan unikális hazai haplotípusokat a centrális populációhoz képest a hazai állományokban.
5. Univerzális és saját fejlesztésű cpDNS markerek alkalmazása a kései és balti szegfű állományokban a haplotípusok feltérképezésére.

## 2. ANYAG ÉS MÓDSZER

### A vizsgálatba vont fajok, élőhelyeik és a vizsgált morfológiai bélyegek

A vizsgált taxonokhoz kapcsolódó terepi felmérések helyszíneit, és *in situ/ex situ* státusait az 1. táblázat tartalmazza. A morfometriai vizsgálatok során a négy taxon esetében igyekeztünk a fajokat leginkább jellemző, a populációk elkülönülését jól leíró vegetatív és generatív bélyegeket vizsgálni.

1. táblázat: A vizsgált taxonok populációinak földrajzi helye és *in situ/ex situ* státusa.

| Taxon                                    | Populáció (státus)   |
|--|--|
| <i>Plantago maxima</i><br>Juss. ex Jacq. | Kakucs ( <i>in situ</i> ),<br>Táborfalvai Katonai Lőtér ( <i>in situ</i> )<br>Tatárszentgyörgy ( <i>in situ</i> )<br>Kunpeszérei Szalag-erdő ( <i>in situ</i> )<br>Soroksári Botanikus Kert (3 szubpop. üde,<br>mezofil, sztyeppe) ( <i>ex situ</i> )<br>Kazahsztán ( <i>in situ</i> ) |
| <i>Linum flavum</i> L.                   | Pócalja ( <i>in situ</i> )<br>Érd-Kakukk-hegy ( <i>in situ</i> )<br>Érd-mészkő plató ( <i>in situ</i> )<br>Soroksári Botanikus Kert ( <i>ex situ</i> )   |
| <i>Dianthus serotinus</i><br>W. et K.    | Szigetmonostor ( <i>in situ</i> )<br>Farmos ( <i>in situ</i> )<br>Tatárszentgyörgy ( <i>in situ</i> )<br>Soroksári Botanikus Kert ( <i>ex situ</i> )   |
| <i>Dianthus arenarius</i> L.             | Fenyőfő<br>(szubpop. Anyafás újulat,<br>Kurucerdő, Hangosrét) ( <i>in situ</i> )<br>Lettország (Jaunupe, Tārgale Parish) ( <i>in situ</i> )  |
| <i>Dianthus plumarius</i> L.             | Balatongyörök ( <i>in situ</i> )   |

Az óriás útifű esetében az összes hazai populációt értékeltük és összehasonlítottuk egymással, valamint az általunk 2016-ban létrehozott *ex situ* állományokkal. A hazai, periferiális populációk mellé a kloroplasztisz vizsgálatba egy kazahsztáni mintát is bevontunk.

A vizsgált sárga len állományok kijelölése során egyrészt védett területeken előforduló populációkat választottunk ki, másrészt olyan területeket is kijelöltünk, ahol már az emberi hatások is jobban érvényesülnek, hogy a populációk között potenciálisan fennálló plaszticitást is értékelni tudjuk.

A *Dianthus* nemzetség *Plumaria* szekcióján belül a fajhatár kérdés nehézsége, valamint az elkülönítő morfológiai bélyegek hiánya miatt a vizsgálni kívánt állományok kijelölését a Magyarország edényes növényfajainak online adatbázisára és Somogyi (2014) korábbi molekuláris vizsgálataira alapozottan végeztük el. A balti szegfű hazai előfordulását Baksay (1972) jelezte először morfológiai és citológiai alapon. Somogyi (2014) molekuláris vizsgálatokkal

megerősítette a fenyőfői ősfenyves területén a faj jelenlétét. Mivel a balti szegfű hazánkban vélhetően reliktum jellegű faj, emiatt tartottuk indokoltnak, hogy ezt az állományt is bevonjuk a vizsgálatokba.

### **Csírázásbiológiai vizsgálatok**

Csírázásbiológiai vizsgálatot a sárga len és a kései szegfű fajokkal állítottunk be. A csírátatás a Soroksári Botanikus Kert üvegházában (47°24' - 19°09') zajlott, természetes fényviszonyok között 2019 tavaszán. A magokat itatóspapírral bélelt Petri-csészékbe vetettük. A csírázást hetente egyszer értékeltük 2019.04.24-06.11 között. A csírázási százalékot az alábbi formula alapján számítottuk ki: Csírázási % = Csírázott magok száma/Összes elvetett mag x 100

### **A vizsgált fajokkal együtt előforduló növényzet értékelése**

Az óriás útifű és a sárga len *in situ* és *ex situ* populációk élőhelyén a teljes fajkészlet felvételezését is végeztünk. Az óriás útifűnél a felmérést 2020-ban végeztük el, minden populációban 5 db 1x1 m-es kvadrátban felvettük az előforduló fajokat. A sárga len populációknál populációnként egy fajlista felvételt készítettünk. A fajlisták alapján a fajokhoz tartozó indikátor értékeket a FLÓRA adatbázisból gyűjtöttük ki (Horváth *et al.* 1995). A vizsgált attribútumok az alábbiak voltak: Borhidi-féle relatív hőigény – TB, relatív talajvíz, ill. talajnedvesség igény – WB, és talajreakció – RB. Az élőhelyek florisztikai hasonlóságát a Jaccard-indexszel mértük (Jaccard 1908).

### **Metafazisos kromoszóma preparáció és FISH**

Kromoszóma vizsgálatokat az óriás útifű, a kései és balti szegfű fajokkal végeztünk, populációnként 5-20 véletlenszerűen kiválasztott egyedről összegyűjtött magmintával. A kromoszóma preparálást Mlinarec *et al.* (2006) munkája nyomán végeztünk. FISH (fluoreszcens *in situ* hibridizáció) vizsgálatot a *Plantago maxima*, *Dianthus serotinus* (Szigetmonostor) és *Dianthus arenarius* (Fenyőfő/Hangosrét) egyedeken Mlinarec *et al.* (2012) munkája szerint végeztük kisebb módosításokkal. Az 5S rDNS próbaként alkalmazott pTa794 klón tartalmazta a teljes 410-bp BamHI fragmenst a búza 5S rRNS gén és spacer régiójából. A 2,4 kb HindIII fragmens a részleges 18S rDNS és ITS1 *Cucurbita pepo* fajból származott, pUC19 vektorban került klónozásra, amit a 35S rDNS próbaként alkalmaztunk.

### **Az óriás útifű hazai *in situ* és *ex situ* állományainak ISSR- vizsgálata**

A *Plantago maxima* faj összes hazai populációjából származó mintából, összesen 100 egyedén végeztünk el ISSR vizsgálatot. Az ISSR régiók felszaporításához 8 primerpárt (UBC 807, 808, 809, 811, 816, 818, 835)

választottunk ki. A géleképeket GelAnalyzer 19.1 szoftverrel értékeltük. Az ISSR markerek bináris adatait domináns markerként elemeztük GenAlEx 6.51b2 segítségével.

### **cpDNS-vizsgálat *Plantago maxima*, *Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* fajoknál**

A *Plantago* nemzetségben sikeresen alkalmazott kloroplasztisz markerek közül a *trnL-trnF* markert használtuk a hazai és kazah populációk közötti összehasonlításhoz (Ronsted *et al.* 2002). A gyűjtött mintákon kívül a GenBank-ból származó mintákat is felhasználtunk. A *Dianthus* taxonok esetében univerzális kloroplasztisz markereket (*5'rps12-rpL20*, *rpoB-trnCGCAR*, *psbM-trnDGUC*, és *ycf1b*) és hat új primerpárt teszteltünk a két taxon egyedein, továbbá bevontuk a vizsgálatba a *Dianthus plumarius* fajt is, a primerek szekción belüli variabilitásának tesztelésére. A hat új primerpárt a *Dianthus caryophyllus* (GenBank KU904222.1) és *Dianthus superbus* var. *longicalycinus* (GenBank KM668208.1) fajok kloroplasztisz genomjainak variábilis régióira fejlesztettük.

### **Morfometria változók és a csírázási százalék statisztikai értékelése**

A vegetatív és generatív paraméterekre vonatkozó statisztikai értékeléshez az IBM SPSS 27 szoftver segítségével többváltozós varianciaanalízist (MANOVA) alkalmaztunk, valamint diszkriminancia analízist is futtattunk. A csírázási százalék adatokat egyváltozós varianciaanalízissel (ANOVA) értékeltük.

### **Molekuláris markerek értékelése**

Az ISSR bináris adat mátrixot a GenAlEx 6.51b2. szoftver segítségével értékeltük. A populációk térbeli genetikai struktúrájának értékelését Bayes klaszterezési elven alapuló STRUCTURE 2.3.4. szoftverrel végeztük.

A kloroplasztisz szekvenciák szerkesztésére és megjelenítésére, valamint az SNP-k és indelek elemzésére a BioEdit Sequence Alignment Editor 7.2.5 szoftvert alkalmaztuk. A *Dianthus* fajok esetében a filogenetikai kapcsolatok értékelésére maximum likelihood (ML) és Bayes analízist végeztünk a 10 primer tesztelése során, a kiválasztott 5 primerre ML analízist futtattunk. A *Plantago* és *Dianthus* szekvenciák közötti leszármazási kapcsolatok értékelésére haplotípus hálózat elemzést alkalmaztunk. A haplotípus hálózatokat a PopART szoftver segítségével készítettük el, Templeton–Crandall–Singh (TCS) analízissel.



### 3. EREDMÉNYEK ÉS AZOK MEGBESZÉLÉSE

#### *Plantago maxima* fajjal kapcsolatos eredmények

##### Morfometriai vizsgálatok

Morfometriai vizsgálataink során 2018 és 2020 években az *in situ* és *ex situ* állományok között a levélszám stabil volt, emiatt taxonspecifikus bélyegként is értékelhető. A levélszám a különböző élőhelyek között is nagyobb stabilitást mutat. Fontos kiemelni, hogy a mért morfológiai paraméterek mentén az *ex situ* állomány illeszkedett az *in situ* állományokban tapasztalt morfológiai variabilitáshoz. Ez az eredmény jelezheti az *ex situ* állományok stabilizálódását, ami a hosszabb távú fenntartás szempontjából kedvező.

2016-2020 vizsgálati periódusban az *ex situ* állomány három szubpopulációja (üde, mezofil és sztyeppe) között a 2016-os telepítés évéhez képest megfigyelhető volt egy stabilizálódási folyamat mind a levelek méretében, mind a levelek számában. A levelek száma 2017-ben jelentősen visszaesett, ami magyarázható az új környezetbe való telepítés okozta stresszel. Az évek során fokozatosan növekedett a levelek száma, ami a szubpopulációk stabilizálására utalhat. A 2019-2020-as évben megfigyelhető volt a levelek hosszúságának csökkenése, ami a levelek számának növekedésével párosult. A sztyeppe és üde állományok egyedeit nagyobb levélparaméterek jellemezték, mint a mezofil szubpopuláció egyedeit. Ez a méretbeli különbség magyarázható a kompetíciós nyomással, mivel mind a két szubpopulációban előforduló fajok jelentősebb árnyékoló hatást fejtettek ki az óriás útifű tövekre. Az üde állomány egyedei szignifikánsan több levelet fejlesztettek a másik két szubpopulációhoz képest. Ez az eredmény összefüggésben lehet a faj környezeti adaptálódásával és a generatív fázis megjelenésével. A morfometriai vizsgálatok mellett fontos kiemelni azt az eredményt is, hogy az *ex situ* állomány üde szubpopulációjában 2019-ben három tő, 2020-ban már négy tő fejlesztett virágzatot, ami fontos indikátora a szubpopuláció stabil alkalmazkodásának az új környezethez.

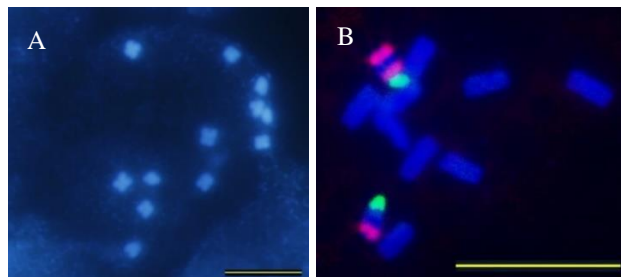
##### A vizsgált fajokkal együtt előforduló növényzet értékelése

Az élőhelyek fajlistáinak prezencia-abszencia adatai alapján a Jaccard-index szerint többváltozós, hierarchikus (UPGMA – Unweighted pair-group average) osztályozást végeztünk. Két nagyobb csoport alakult ki: az egyik csoportot a 4 *in situ*, míg a másikat a 3 *ex situ* állomány alkotja. Az *ex situ* állományok elkülönülése az *in situ* állományoktól és az e mögött álló eltérő társulási viszonyok magyarázatot adhatnak a két *ex situ* állományban a virágzás elmaradására, az üde *ex situ* állományban pedig a kis egyedszámú virágzó egyedekre. Ugyanakkor fontos kiemelni, hogy számos faj, ami az *in situ* populációkban megjelenik megtalálható a Soroksári Botanikus Kert képerjés láprétjén is, csak az *ex situ* állományok közvetlen környezetében nem. Ez az

eredmény fontos információval szolgálhat új *ex situ* állományok élőhelyének kijelöléséhez a jövőben. Az *in situ* populációk földrajzi távolság szerint képeznek további alcsoportokat. Ez alól kivételt csak a lőtéri állomány képez, aminek a fajkészlete jelentősen szegényebb az erős kompetíciós nyomás (*Solidago* spp., *Phragmites australis*), valamint a legeltetésből adódó taposás és a katonai tevékenység miatt.

## Kromoszóma alapú vizsgálatok

Az összes vizsgált hazai óriás útifű állományban megerősítettük a  $2n=2x=12$  kromoszóma számot és először közöltük a faj 35S és 5S rDNS régióira vonatkozó FISH mintázatot (1. ábra). A faj öt metacentrikus és egy akrocentrikus kromoszómapárral rendelkezik, kariotípus formulája  $5m+1a$ . A FISH térképezés alapján a 35S és 5S rDNS régiók a 6-os számú, akrocentrikus kromoszómán helyezkednek el. A kromoszómapár heteromorf. 35S rDNS próba egy pozícióban, szubterminálisan helyezkedik el. Az 5S rDNS régió két pozícióban, a hosszú karon a centromer régióhoz képest proximálisan és szubterminálisan lokalizált. A centromer régióhoz képest proximálisan elhelyezkedő 5S rDNS lókuszt kisebb méretű.

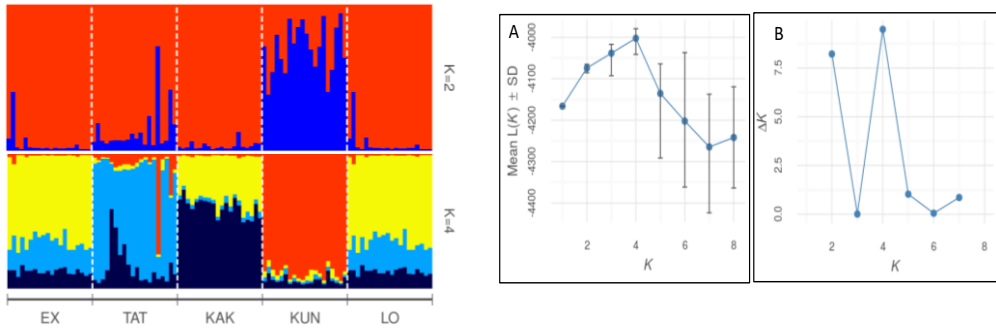


1. ábra: A) Az óriás útifű metafázisos kromoszóma preparátuma ( $2n=2x=12$ ). B) FISH térképezés 35S rDNS próba (zöld) és (B) 5S rDNS próba (piros). Skála = 10  $\mu$ m (Fotók: Jelena Mlinarec).

## ISSR- vizsgálat

A 8 ISSR primer a 100 vizsgálatba vont egyedre 100 egyértelmű és reprodukálható elektroforetikus sávot eredményezett 280-2000 bp közötti tartományban, 87,0 %-os polimorfizmus értékkel. A legmagasabb polimorfizmus a kunpeszéri populációban jelentkezett, ahol két privát sávot is detektáltunk. A legalacsonyabb Nei-féle genetikai diverzitás a kakucsi és *ex situ* állományokban volt ( $H_e = 0,206$ ), a legmagasabb érték pedig a kunpeszéri populációban ( $H_e = 0,257$ ). A Nei-féle genetikai diverzitás az *ex situ* állomány és a kakucsi populáció relációjában teljesen megegyezik, ami alátámasztja, hogy az *ex situ* állomány a kakucsi populációból származik és közel áll hozzá. Az AMOVA analízis alapján megállapítható, hogy a teljes genetikai diverzitás 8%-a a populációk közötti, a fennmaradó 92%-a pedig a populációkon belüli összefüggésekre vezethető vissza. A STRUCTURE analízis a klaszterek között az egyedek közti génkicserélődést (admixture) jelzi. Populációgenetikai struktúra a STRUCTURE analízis alapján a

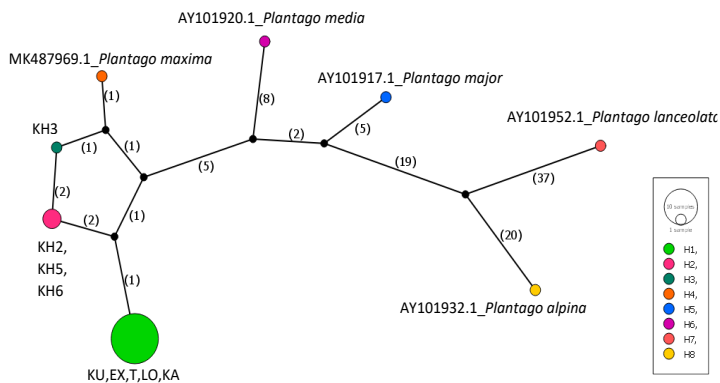
kunpeszéri populáció elkülönülését és külön klaszterben való elhelyezkedését mutatja, amit a 2. ábra szemléltet.



2. ábra. A STRUCTURE analízis által feltárt *Plantago maxima* populációk becsült genetikai populációszerkezete az ISSR markerek alapján K = 2 és K = 4 esetén. STRUCTURE HARVESTER eredménye. A) lnK valószínűség átlaga és (B) delta K. EX - Soroksári Botanikus Kert – ex situ, TAT - Tatárszentgyörgy, KAK - Kakucs, KUN - Kunpeszér, LO - Táborfalva Katonai Lő- és Gyakorlótér.

### cpDNS-vizsgálat a *Plantago maxima in situ* és *ex situ* állományaiban

A *trnL-trnF* szekvencia teljes hossza 837 bázispár. A haplotípus hálózat négy *Plantago maxima* haplotípust tartalmaz (H1-H4), a H5-H8 haplotípusok más *Plantago* fajokhoz tartoznak (3. ábra). A hazai populációk egyedeinek szekvenciái között nem találtunk polimorfizmust, egy közös haplotípussal jellemezhetőek (H1). A magyarországi és kazahsztáni minták között két polimorf pozíció van: mononukleotid mikroszatelit (A) a 226-236 bp pozícióban, mononukleotid mikroszatelit (T) az 589-597 bp pozícióban. A kazahsztáni populációban két haplotípus található meg (H2-H3) a két mikroszatelit régió hosszúsága alapján. Az NCBI-ről letöltött *Plantago maxima* minta két SNP-vel a 38 és 247 bp pozícióban képviseli a negyedik haplotípust (H4).



3. ábra: A *Plantago* minták *trnL-trnF* cpDNS régiójának Templeton–Crandall–Singh elemzése alapján kapott haplotípus hálózata. A fekete pontok hiányzó köztes haplotípusokat jeleznek, amelyeket nem figyelték meg az elemzett mintákészletben. Az ágakon lévő számok a mutációs lépéseket (bázispár-változások számát) mutatják a haplotípusok között.

## ***Linum flavum* fajjal kapcsolatos eredmények**

### **Morfometriai vizsgálatok**

2018-2020 között összehasonlító értékelést végeztünk három *in situ* és egy *ex situ* sárga len populációban. A MANOVA alapján az egyedmagasságra, szíromszélességre és a virágok számára erősen hatott az évjárat. A levél hosszúság paraméterre az évjáratnak nem volt hatása, azonban az állományok között szignifikáns eltérést tapasztaltunk, így ez a bélyeg alkalmas az állományok közötti diverzitás feltárására. A botanikus kerti *ex situ* állomány a legtöbb morfológiai bélyeg mentén elkülönül az *in situ* állományoktól. A kerti állomány egyedei magasabbak voltak és nagyobb leveleket fejlesztettek az *in situ* populációk egyedeinél, ami a faszor miatti árnyékoltsággal magyarázható. Ez a természetes variabilitástól való elkülönülés egy adaptációs folyamatot jelezhet a kerti körülményekhez, ami a későbbi visszatelepítési törekvéseket kedvezőtlenül befolyásolhatja. A diszkriminancia analízis alapján az első tengely szerint (ami a variancia 89,5%-át magyarázta), két nagyobb csoport alakult ki. Ez az *in situ* és *ex situ* populációk elkülönülését mutatja, ami megerősíti a MANOVA során kapott eredményeket.

### **Csírázásbiológiai vizsgálatok**

A végső csírázási százalékokban az ANOVA szignifikánsan tért el a vizsgált populációk között ( $F(3, 16) = 23,065$ ,  $p < 0,001$ ). A legnagyobb csírázási százalék a botanikus kerti populációban jelentkezett (45,6%), a legalacsonyabb pedig a pócaljai populációban (3,6%). A botanikus kerti állomány a csírázás lefutásában eltért a többi populációtól. Már az adatfelvétel első időpontjában magas csírázási százalékot ért el (42,40%), ami szignifikánsan elkülönült a lassabb lefutású *in situ* populációk csírázásától ( $F(3, 16) = 55,711$ ,  $p < 0,001$ ).

### **A vizsgált fajokkal együtt előforduló növényzet értékelése**

Állományonként a fajszámok az alábbiak szerint alakultak: Soroksári Botanikus Kert: 31 faj, Érd, Szarmata mészke plató: 58 faj, Érd, Kakukk-hegy: 40 faj, Pócalja: 66 faj. Az élőhelyek fajlistáinak prezencia-abszencia adatai alapján a Jaccard-index szerint többváltozós, hierarchikus (UPGMA – Unweighted pair-group average) osztályozást végeztünk. A klaszterezés alapján az Érdi Kakukk-hegy populáció vált külön, ami a legkevésbé bolygatott élőhely és számos védett faj található a területen úgy, mint a *Himantoglossum jankae* és a *Dactylorhiza viridis*. A három emberi tevékenységnek jobban kitett állomány, köztük az *ex situ* populáció közös csoportot alkotott.

### ***Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* fajokkal kapcsolatos eredmények**

## Morfometriai vizsgálatok

A három év során (2018-2020) az *in situ* populációk között a MANOVA az év, mint blokkhatás esetében szignifikáns különbséget hozott minden vizsgált paraméter esetében, kivéve a szírom hosszúság paramétert ( $F(2, 163) = 0,467$ ,  $p=0,628$ ). Az élőhelyek között két morfológiai bélyeg kivételével (csésze szélesség ( $F(2, 163) = 0,479$ ,  $p=0,620$ ) és szíromszélesség ( $F(2, 163) = 0,195$ ,  $p=0,823$ ), minden további vizsgált bélyeg esetében szignifikáns különbség alakult ki.

A két éves vizsgálat során az *ex situ* és *in situ* állományok között a MANOVA teszt szignifikáns évjárat hatást mutatott ki a párna átmérő ( $F(1, 138) = 16,664$ ,  $p<0,001$ ), a levél hosszúság ( $F(1, 138) = 4,825$ ,  $p<0,05$ ) és a csésze hosszúság ( $F(1, 138) = 27,852$ ,  $p<0,001$ ) paraméterekre nézve. Az élőhelyek között szignifikáns eltérés csak a csésze hosszúság ( $F(3, 138) = 1,460$ ,  $p=0,228$ ) esetében nem volt.

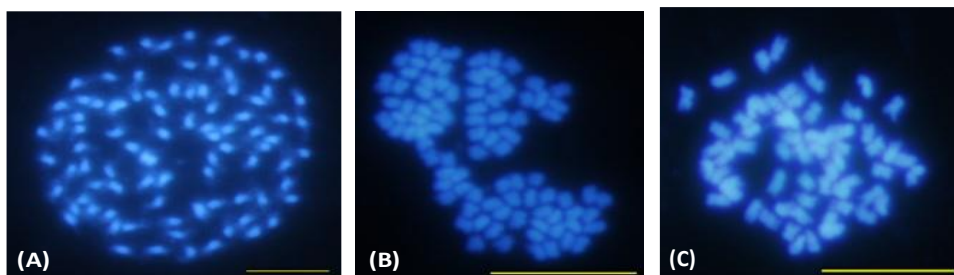
A *Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* fajok állományainak morfológiai alapú összehasonlítását 2018-ban végeztük el. A 2018-as évben az *ex situ* populáció egyedei a kis egyedszám miatt nem kerültek felmérésre. A MANOVA szignifikáns különbséget mutatott ki az állományok között a párnaátmérő ( $F(3, 74) = 5,775$ ,  $p<0,01$ ), a csésze szélesség ( $F(3, 74) = 5,936$ ,  $p<0,01$ ), a levelek hosszúsága ( $F(3, 74) = 4,127$ ,  $p<0,01$ ), a szíromlevél hossza ( $F(3, 74) = 7,530$ ,  $p<0,001$ ) és a virágszám ( $F(3, 74) = 8,508$ ,  $p<0,001$ ) bélyegeket esetében. A 2020-as évben a nádusz méret alapján hasonlítottuk össze a populációkat. A vizsgálat során az összes általunk vizsgált *Dianthus serotinus* populációban szignifikánsan nagyobb nádusz méretet tapasztaltunk ( $F(6, 108) = 41,466$ ,  $p<0,001$ ), mint a *Dianthus arenarius* fenyőfői szubpopulációkban. A nádusz méret lehet taxonómiai szempontból stabil bélyeg, ugyanakkor fontos megemlíteni annak a lehetőségét is, hogy ezt a különbséget csupán élőhelyek közötti különbség okozza.

## Csírázásbiológiai vizsgálatok

A kései szegfűvel végzett csírázásbiológiai vizsgálat során Debrecenből és Bernből *ex situ* gyűjteményekből származó tételekkel folytattuk le a vizsgálatokat, a soroksári botanikus kerti egyedek 2018-ban tapasztalt alacsony magprodukciója, valamint rovarkártétel miatt. A csírázási százalékokban nem volt egyértelmű *in situ* és *ex situ* elkülönülés, ugyanakkor az állományok között az ANOVA szignifikáns különbséget mutatott ki a végső csírázási százalékok alapján ( $F(4, 16) = 21,401$ ,  $p<0,001$ ). A legalacsonyabb csírázási százalékokat a farmosi (29,60%) és a debreceni (40,50%) mintákban mutattuk ki. A berni populáció produkálta a legmagasabb értéket (94,71%). A csírázás lefutásában megfigyelhető, hogy a magas csírázási százalékot elérő populációk már az első adatfelvételnél szignifikánsan magasabb csírázási százalékokat produkáltak.

## Kromoszóma alapú vizsgálatok

A *Dianthus arenarius* fenyőfői populáció mind három szubpopulációja vizsgálatunk alapján hexaploid  $2n=6x=90$  kromoszómaszámú. A vizsgálatba vont *Dianthus serotinus* populációk is hexaploidok ( $2n=6x=90$ ), kevert citotípusú állományt nem sikerült kimutatnunk a kromoszóma számlálás során. A lettországi *Dianthus arenarius* állományezzel szemben tetraploid  $2n=4x=60$ . A metafázisos kromoszóma preparátumokat az 4. ábra szemlélteti.



4. ábra: Metafázisos kromoszóma preparátumok (A) *Dianthus arenarius* Fenyőfő (Hangosrét)  $2n=6x=90$ , (B) *Dianthus serotinus* Szigetmonostor  $2n=6x=90$ , és (C) *Dianthus arenarius*, Lettország  $2n=4x=60$ . A skála 10  $\mu\text{m}$ -nek felel meg.

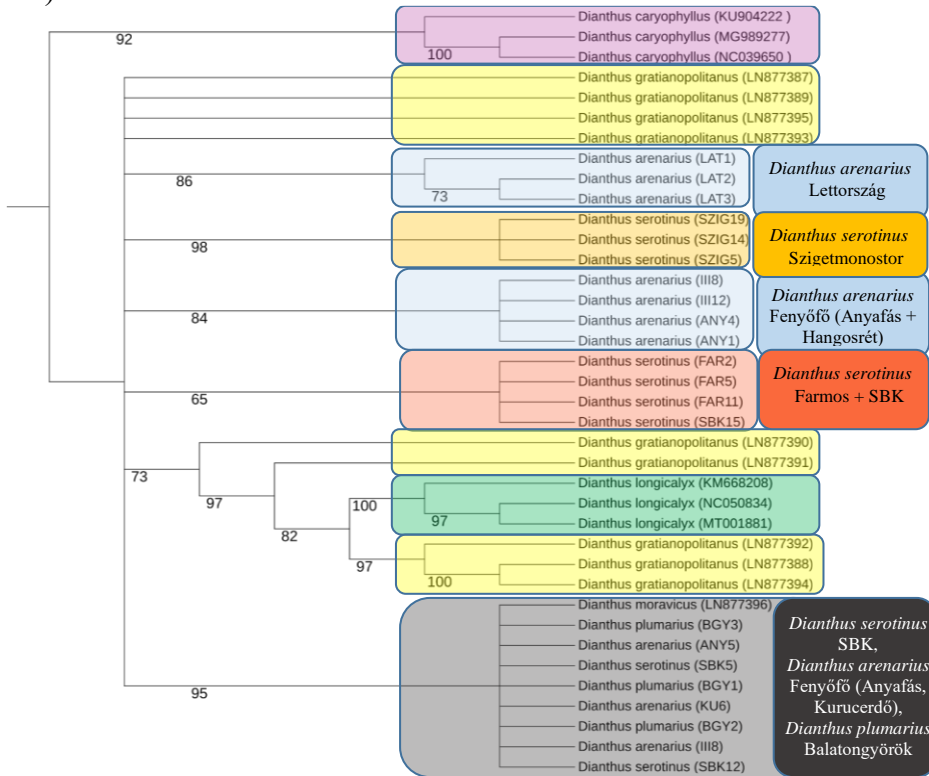
A FISH vizsgálat alapján elmondható, hogy a magyarországi *Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* minta kariológiai és citogenetikai szempontból is nagy hasonlóságot mutat. A fenyőfői és szigetmonostori minták között kismértékű különbséget találtunk a FISH jelek számában, de a lókuszek számában és pozíciójában nem volt különbség. Mind a két minta esetében négy 35S rDNS és egy 5S rDNS lókuszt volt detektálható. A 35S rDNS lókuszt terminálisan, az 5S rDNS lókusznál két 5S rDNS régió terminálisan, négy intersticiálisan helyezkedik el.

### cpDNS-vizsgálat *Dianthus* taxonoknál

Az előzetes vizsgálatok alapján kiválasztottunk a 10 primerből ötöt (P7, P15, P16, P19, P20), amit polimorfnak véltünk nagyobb mintaszám és további taxonok bevonásához és teszteléséhez. A kapott törzsfá alapján egyértelmű taxonómiai elkülönülést nem sikerült kimutatni a vizsgált fajok között. Több faj esetében is megfigyelhető, hogy különböző kládokba tagozódtak a törzsfán. Például a *Dianthus gratianopolitanus* faj egyedei külön kládokba rendeződtek. A *Dianthus serotinus* esetében populációk szerint megfigyelhető csoportosulás, a szigetmonostori és farmosi minták egyedei külön kládokba rendeződtek. A lettországi *Dianthus arenarius* minták is egy külön kládba csoportosultak. A soroksári és fenyőfői mintáknál azonban nem volt ilyen egyértelmű csoportosulás, az egyedek a törzsfán különböző kládokba tagozódtak.

A szürkével jelzett kládba egy nagy politómikus ágon a soroksári és fenyőfői minták mellett, az összes *Dianthus plumarius* minta is becsortosult, valamint a

*Dianthus plumarius* subsp. *lumnitzeri* (syn. *Dianthus moravicus*) minta is (5.ábra).



5. ábra: Az öt kiválasztott cpDNS régió alapján készített maximum likelihood (ML) törzsfá. A *Dianthus caryophyllus* fajt külsoporként alkalmaztuk.

A 22 szekvenciát tartalmazó TCS analízis 9 haplotípust eredményezett. A lettországi minták két haplotípussal (H1 és H2) elváltak a többi csoporttól. A fenyőfői minták két haplotípussal voltak jellemezhetőek. A H3 haplotípusba az anyafás és a hangosréti szubpopulációk csoportosultak. Azonban a H8 haplotípusba is bekerült anyafás és hangosréti szubpopulációból származó minta. Az ábrán a jobb érthetőség kedvéért csak fenyőfői minta szerepel, a szubpopulációk megjelenítésétől a jobb áttekinthetőség miatt eltekintettem. A farmosi minták két haplotípushoz tartoznak (H5 és H6). A szigetmonostori minták egy haplotípussal (H3) jellemezhetőek. A soroksári *ex situ* minták három haplotípushoz sorolhatók (H7, H8 és H9). A balatonyöröki *Dianthus plumarius* minták a H8 haplotípushoz sorolhatók.

## 4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS A JAVASLATOK

### Az óriás útifűvel kapcsolatos vizsgálatok összegzése, javaslatok

A morfológiai alapú vizsgálatok esetében kedvező, ha az *ex situ* állományokat az eredeti *in situ* populációkkal is összehasonlítjuk. Ilyen jellegű kutatás azonban ma még igen kis számban érhető el. Ensslin és Godefroid (2020) 12 fajjal végzett morfológiai alapú összehasonlító vizsgálatokat *in situ* és *ex situ* relációban. Vizsgálataik során megállapították, hogy a fenotípusos bélyegekben jelentős változás következett be és a morfológiai tulajdonságok variabilitása is csökkent az *ex situ* gyűjteményekben a kultivációs idő növekedésével egyenes arányban. Sandner *et al.* (2022) a *Digitalis lutea* vizsgálata során egy 30 éves *ex situ* állományt hasonlított össze két *in situ* populációval, amelyből az egyik az *ex situ* állomány eredeti élőhelye volt. A kerti egyedek korábban virágoztak és a generatív bélyegekben is eltértek a természetes populációtól, ugyanis az önbeporzáshoz adaptálódtak és a poszméhek kevesebbszer látogatták a virágokat. A nagyobb mértékű morfológiai elkülönülés ezért kedvezőtlen adaptációs és genetikai folyamatokat jelezhet. Morfológiai vizsgálataink során az óriás útifű esetében, az *in situ* és *ex situ* állományok között a levél hosszúság és levél szélesség paraméterek mentén szignifikáns különbséget tapasztaltunk az állományok között. Fontos kiemelni, hogy a viszonylag fiatalnak tekinthető *ex situ* állományban a természetes populációkban jellemző morfológiai variabilitást tapasztaltuk. Ez az eredmény kedvező, mivel az evolúciós potenciált a gyűjteményes génanyag magában hordozza. Ugyanakkor fontos kiemelni, hogy a szubpopulációk már külön csoportokra váltak a levél hosszúság és levél szélesség paraméterek mentén, ami egy lokális akklimatizációként értékelhető. Az *ex situ* populációk stabilizálódásának egyik fontos indikátora a generatív fázis megjelenése. Antonovics és Primack (1982) vizsgálata során a *Plantago lanceolata* faj esetében például csak az ötnél több levelet fejlesztő egyedek jutottak generatív fázisba és fejlesztettek virágzatot. Az óriás útifű esetében is azt tapasztaltuk, hogy a szignifikánsan nagyobb levélszámot mutató üde szubpopulációban jelentek meg virágzó egyedek a teljes vizsgálati időszak alatt.

A természetes élőhelyeken végzett fajlista felvételezés által közelebbi képet kaphatunk a faj környezeti viszonyairól és igényeiről. Jelenlegi tudásunk szerint az *in situ* és *ex situ* populációk cönológiai viszonyainak összehasonlításában nem áll rendelkezésre részletes tanulmány a védett fajok kapcsán. A repatriáció sikerességének biztosítása szempontjából végeztek *in situ* populációkban környezeti paraméterekkel kapcsolatos és cönológiai felmérést a *Salix lapponum* fajnál. A visszatelepítés a kiválasztott területre sikeresnek bizonyult és az élőhelyi adatok bővítése további adatokkal egészítheti ki a faj biológiájával és ökológiájával kapcsolatos ismereteket (Pogorzelec *et al.* 2020). Az élőhelyi felvételezés során az óriás útifű *in situ* és *ex situ* állományok fajlistái az UPGMA alapú osztályozás során két külön csoportba kerültek, ami magyarázattal szolgálhat a virágzás elmaradására a két szubpopuláció esetében.



Ez a különbség inkább a fajkompozíció különbözőségével, mintsem a fajszámmal magyarázható. Ugyanakkor a morfológiai eredményekkel összevetve ez a különbség nem eredményezett detektálható morfológiai adaptációt, ami kedvező a faj hosszútávú megőrzése szempontjából. Újabb *ex situ* állományok létesítése során az *in situ* populációkhoz hasonló társulási viszonyok közé javasolt telepíteni a fajt, amihez a felvett fajlisták segítséget nyújthatnak a továbbiakban.

A *Plantago* nemzetségen belül az intraspecifikus citotípusbeli variabilitás több faj esetében is előfordul. Az óriás útifű hazai kromoszómaszámaival kapcsolatban Soó Rezső közölt korábban adatot és a fajt diploidnak ( $2n=2x=12$ ) írta le (Soó 1970). Magulaev (1982) ezzel szemben a centrális populációból  $2n=2x=24$  adatot közölt. Kutatásom során az összes hazai populációban felmértem a kromoszóma számot és eredményem a Soó (1970) által közölt értékkel egyezett meg, citotípusbeli különbség nem volt a populációk között. A FISH térképezés a *Plantago* nemzetségen belül fajspecifikus mintázatot mutat. Az óriás útifű FISH térképezése során eddigi ismereteink szerint először közöltünk adatot, a fajra egyedi mintázatot mutattunk ki.

Az óriás útifű hazai állományai a vizsgálataink alapján hasonló genetikai diverzitást mutatnak (átlag érték  $H_e=0,220$ ) más védett és endemikus *Plantago* fajokkal. Ez az eredmény vélhetően a populációk közötti génáramlással és a recens izolációval magyarázható. Az AMOVA analízis alapján a diverzitás 92%-a a populációkon belül található. Az alacsony populációk közötti differenciálódás a kis földrajzi távolsággal magyarázható, amit az *Adonis vernalis* fajnál is tapasztaltak a németországi exklávéban (Kropf *et al.* 2020).

Az óriás útifű *ex situ* állománya közel azonos genetikai diverzitást mutat, mint az *in situ* populációk ( $H_e = 0,206$ ) és a kakucsi populációval azonos Nei-féle genetikai diverzitás jellemzi. Ez az eredmény kedvező a genetikai reprezentativitás szempontjából. Ugyanakkor fontos kiemelni, hogy a populációk között tapasztalható genetikai variabilitás különbség miatt (8%) javasolt további *ex situ* gyűjtemények létrehozása a kakucsi populáción felül a többi hazai populációból való génanyag bevonásával.

Az óriás útifű hazai populációiban a *trnL-trnF* cpDNS régió alapján egy haplotípust találtunk. Ugyanakkor a kazahsztáni populációban két, a hazaitól eltérő haplotípust találtunk. A centrális *versus* marginális populációk közötti haplotípusbeli különbséget a *Poa badensis* (Plenk *et al.* 2019).

Az óriás útifű *ex situ* megőrzésével kapcsolatban a jövőben fontosnak tartom, hogy az összes hazai populációból megvalósuljon maggyűjtés és új *ex situ* populációk létesítése a minél szélesebb genetikai diverzitás megőrzése céljából. Az *ex situ* állomány kialakításakor alkalmazott maggyűjtési, csíráztatási és kitelepítési protokoll alkalmasnak tűnik a további állományok kialakításához. Ugyanakkor érdemes lenne a jövőben a direkt vetést is tesztelni a faj magjaival a láprét egy kijelölt foltjában. Vizsgálataim alapján a Soroksári Botanikus Kert kékperjés láprétje alkalmas lehet újabb állományok telepítéséhez, azonban a területek kijelölése során javasolom az üdebb helyekre való betelepítést, ahol már tapasztaltunk generatív fázist a már meglévő *ex situ* szubpopulációban.

## A sárga lennel kapcsolatos vizsgálatok összegzése, javaslatok

A sárga len *ex situ* gyűjtemény egy hosszútávú megőrzés alatt álló, történeti *ex situ* állomány, amit több mint 35 éve telepítettek a kertbe. A soroksári botanikus kerti állomány a vizsgált morfológiai paraméterek mentén elkülönült a három *in situ* állománytól. Az elkülönülés feltételezhetően a hosszabb ideje fennálló lokális adaptáció eredménye. Ez az eredmény összhangban van Rauschkolb *et al.* (2019) eredményeivel, ahol az *ex situ* gyűjteményben megőrzött egyedek fitness paramétereinek csökkenését és az *in situ* populációktól történő gyors differenciálódását írták le. Ezeket az eredményeket részben a kerti körülményekhez történő lokális adaptációval, valamint a genetikai változásokkal (genetikai sodródás és beltenyésztési depresszió) magyarázták a szerzők. A botanikus kerti sárga len állomány erőteljesebb növekedését magyarázhatja, hogy amíg a természetes populációkban kismértékű árnyékoltság jellemző, addig az *ex situ* állomány egy gyümölcsfa sor alatt magasfüvű vegetációban, jelentős árnyékolás alatt növekszik.

Csírázásbiológiai vizsgálataink során az *ex situ* állományból származó magok csírázási lefutása elkülönült az *in situ* populációkétól, mivel az *ex situ* populációból származó magok már az első értékelési időpontban szignifikánsan magasabb csírázási százalékot értek el az *in situ* populációkhoz képest. Később ez a különbség egy *in situ* populációval szemben eltűnt, azonban még így is igen magas végső csírázási százalékot figyelhettünk meg. Ez az eredmény összhangban van Ensslin *et al.* (2017) kutatásával is. A 72 lágyszárú fajjal végzett csírázásbiológiai vizsgálat során megállapították, hogy az *ex situ* állományokból származó magok jelentősen magasabb csírázási százalékot értek el és a dormancia elvesztését is mutatták a vad populációkhoz képest. Ez a dormancia veszteség különösen a rövid életű fajoknál volt jelentős.

A versengés hatására alkalmazkodnak az egyedek a stresszhez és az interspecifikus kompetíció által adaptív tulajdonságokat vehetnek fel. A sárga len populációkban felvételezett fajlisták alapján az *ex situ* állomány két *in situ* populációval került egy csoportba (Pócalja és Érd, Szarmata mészkő plató). A bolygatás hatása a fajkompozícióban is látható ennél a három állománynál, így eredményünket leginkább erre vezetjük vissza. Az érdi Kakukk-hegy csak engedéllyel látogatható, így ebben az állományban a bolygatás mértéke minimális. Az *in situ* és *ex situ* állományok élőhelyei között a kompetíciós nyomás mértéke is eltérhet, ami bélyeg alapú változásokat is kiválthat. Morfológiai és csírázásbiológiai alapon is elkülönülést tapasztaltunk az *ex situ* állományban, amit a bolygatott élőhely és az erősebb kompetíció is magyarázhat.

Eredményeinket genetikai vizsgálatokkal is érdemes lenne kiegészíteni a jövőben. Mivel az eredeti *in situ* állomány megsemmisült, az *ex situ* állomány fenntartását indokoltnak tartjuk, mivel a populáció utolsó genetikai ujjlenyomatát hordozza. Azonban mivel jelentősebb adaptációt tapasztaltunk a kerti körülményekhez, visszatelepítésre kevésbé tartjuk alkalmasnak ezt az állományt. Emiatt fontosnak tartjuk újabb *ex situ* állomány létesítését is, ami alkalmas lehet későbbi repatriációs tevékenységekre.

## A kései szegfűvel és a balti szegfűvel kapcsolatos vizsgálatok összegzése, javaslatok

A kései szegfű a *Plumaria* szekció honos és védett tagja, így a faj megőrzésének kidolgozása kiemelten fontos. Ugyanakkor a szekció tagjai morfológiailag közelálló fajok, valamint a fajok közötti alacsony szekvencia variabilitás és ennek következtében csekély filogenetikai struktúrálódás tovább nehezíti a taxonazonosítást. A Fenyőfői Ósfenyves területéről korábban Baksay (1972) jelezte a *Dianthus arenarius* jelenlétét, amit Somogyi (2014) AFLP vizsgálattal megerősített. Vizsgálataink során szeretnénk volna a Soroksári Botanikus Kert területén létesített kései szegfű állomány természetvédelmi szempontú értékelését elvégezni. Terveztük a Fenyőfői Ósfenyves területén előforduló *Dianthus arenarius* populációt morfológiai, citológiai és molekuláris genetikai alapon értékelni és összehasonlítani a *Dianthus serotinus* fajjal, ezzel megalapozva a balti szegfű állomány megőrzésének kidolgozását.

A kései szegfű vizsgálata során a természetes populációk között is nagyobb morfológiai variabilitást tapasztaltunk a 2018-20-as időszakban. Az SBK *ex situ* populáció a 2019-2020-as vizsgálati időszakban a farmosi és tatárszentgyörgyi populációkkal csoportosult. Ez egy kedvező eredménynek tekinthető, mivel az *ex situ* állomány beleilleszkedett a természetes populációk közötti morfológiai variabilitásba. A kései szegfű és a balti szegfű *in situ* morfológiai összehasonlító vizsgálata során a két taxon populációi a vizsgált paraméterek mentén nem váltak el egymástól. Ez az eredmény Somogyi (2014) eredményeivel összhangban van, az általa vizsgált makro- és mikromorfológiai bélyegek mentén a *Plumaria* szekción belül inkább környezeti háttértényezőkre vezethetőek vissza a vizsgált bélyegek közötti különbségek. A nádusz méret volt az egyetlen perspektivikusnak tekinthető bélyeg, ami a fenyőfői balti szegfű populációt (két szubpopulációnál) elválasztotta a kései szegfű populációktól. Ugyanakkor ezt a bélyeget is befolyásolhatja a fenyők általi árnyékolás, szemben a kései szegfű populációk direkt fénynek való kitettsége.

Csírázásbiológiai vizsgálataink során a kései szegfű *ex situ* és az *in situ* populációiból származó magok között szignifikáns csírázási különbséget tapasztaltunk. Ez a különbség nem *in situ* és *ex situ* populációk között mutatkozott meg, ugyanis a farmosi *in situ* és a debreceni *ex situ* populációkban szignifikánsan alacsonyabb csírázási százalékot tapasztaltunk, mint a berni *ex situ* és a szigetmonostori és tatárszentgyörgyi *in situ* populációknál. Ez a különbség összhangban van David Cevallos González (2021) doktori értekezésében közölt eredményekkel, ahol a gyűjtési helyszín és a magtömeg, valamint a csírázási százalékkértékek között pozitív korrelációt tapasztalt.

A *Dianthus* nemzetség taxonómiai szempontból számos komplex fajsocporttal jellemezhető, és egyben az egyik legmagasabb fajdiverzifikációs rátával rendelkezik (Valente *et al.* 2010, Fassou *et al.* 2022). A nemzetségben belül alacsony genetikai távolságok figyelhetőek meg, ami a fajsintű filogenetikai felbontást korlátozza. A szerzők az okát a gyors radiációval magyarázták (Valente *et al.* 2010). A fajok közötti alacsony mutációs ráta (Fassou *et al.* 2022)

taxonómiai nehézségeket is okoz, ami a megőrzési tevékenységek megvalósítását is jelentősen megnehezíti.

A *Dianthus* nemzetségen belül, a fajok populációi közötti citotípusbeli variabilitása mellett, kevert citotípusú populációk is előfordulnak (Weiss *et al.* 2002). A kromoszóma vizsgálat során a hazai populációkban mind a két taxonnál a  $2n=6x=90$  kromoszóma számot sikerült kimutatni. Ez az eredmény összhangban van Soó Rezső munkájával, aki a kései szegfűnél felhívja a figyelmet a  $2n=4x=60$  adat bizonytalanságára (Soó 1970). Ugyanakkor a fenyőfői balti szegfű populációban a hexaploid citotípus meglepő eredmény, mivel korábban Baksay (1972)  $2n=4x=60$  kromoszóma számot írt le. A lettországi *Dianthus arenarius* minta ezzel szemben valóban tetraploid  $2n=4x=60$ . Ez az eredmény a fenyőfői populációban zajló introgresszióra hívhatja fel a figyelmet. A FISH jelöléssel kapcsolatban a *Dianthus* nemzetségen belül nem találtam irodalmi adatot, ugyanakkor fontos kiindulási pontja lehet a nemzetségen belül zajló poliploidizációs folyamatok felderítésének. A *Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* mintáknál a hexaploid minták FISH mintázatában nem találtunk a lókuszek számában és elhelyezkedésében különbséget, ami szintén a recens evolúciót, a gyors radiációt és a közeli rokonságot jelezheti a szekción belül.

A *Dianthus* nemzetségen belül alacsony mutációs ráta jellemző recens vizsgálatok alapján (Fassou *et al.* 2022). A *Dianthus* sect. *Plumaria* fajai feltételezhetően polifiletikus eredetűek (Somogyi 2014). A korábban alkalmazott cpDNS régiók (*3'trnK-matK*, *trnH-psbA* és *psbA-3'trnK*) a két faj között nem mutattak variabilitást. Vizsgálataink során olyan markereket szeretünk volna fejleszteni, amik segítik a két faj azonosítását, és segítségükkel a populációkon belüli haplotípus diverzitás is detektálható. Összességében nagyobb szekvencia variabilitást tapasztaltunk, mint a korábban alkalmazott markerekkel, de ez a szekvenciavariabilitás sem volt alkalmas a filogenetikai feloldásra, ami újból alátámasztja a taxonok között zajló gyors radiációt (Valente *et al.* 2010, Somogyi 2014, Fassou *et al.* 2022).

A haplotípus fán látható, hogy a vizsgált fajok között is találtunk közös haplotípusokat. Ezt az eredményt írták le a *Dianthus gratianopolitanus* és *Dianthus orientalis* fajoknál, ahol eltérő populációkból származó minták számos eltérő vonalat képviseltek a nagy kládon belül (Fassou *et al.* 2022). Ezt az eredményt a közös ősi variációk kombinációjával és a folyamatos másodlagos genetikai kontakt zónák meglétével magyarázták (Fassou *et al.* 2022). A soroksári mintákban megjelent közös haplotípusok utalhatnak a kerten belül zajló, fajok közötti potenciális hibridizációs folyamatokra.

A kései szegű *ex situ* állománya a természetes *in situ* populáció utolsó genetikai ujjlenyomata, ugyanakkor a genetikai vizsgálatok során detektált potenciális introgresszió a kertben található *Dianthus* taxonokkal egy kedvezőtlen genetikai folyamatot jelez. A jövőben fontos lenne *Dianthus serotinus* és a Fenyőfői Ösfenyves területén található *Dianthus arenarius* taxonokkal új *ex situ* állományok létesítése azonban a génanyagok elkülönült gondozása a kerten belül felmerült introgresszió miatt kiemelten fontos.

## 5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Hazánkban négy védett növényfaj összehasonlító vizsgálata során értékeltem az *in situ* és *ex situ* populációk konzervációbiológiai és természetvédelmi értékét:

1.1. A morfológiai vizsgálatok eredményei nyomán megállapítottam, hogy az óriás útifű és a kései szegfű *ex situ* állományai beleilleszkedtek a természetes populációkban tapasztalt morfológiai variabilitásba. A sárga len esetében markáns elkülönülést mutattam ki, mely az *ex situ* hosszútávú megőrzés következménye.

1.2. A kései szegfű és a sárga len esetében a csírázásbiológiai vizsgálatok során kimutattam az *ex situ* megőrzés hosszútávú csírázásbiológiai tulajdonságokra kifejtett hatását. A sárga len esetében az *ex situ* állományból származó magok dormanciájának hiányát, a kései szegfű esetében pedig az *ex situ* állományok eltérő csírázási tulajdonságait állapítottam meg.

1.3. Az óriás útifű, a kései szegfű és a balti szegfű esetében először végeztem a fajok kromoszómáin fluoreszcens *in situ* hibridizációt, továbbá pontosítottam a vizsgált populációk kromoszóma számát a háttérdiverzitás feltárásának céljából.

2. Először közöltem a hazai óriás útifű populációk genetikai diverzitását ISSR markerezés alapján. Megállapítottam, hogy a természetes populációk közül a kunpeszéri populáció rendelkezik a legnagyobb genetikai variabilitással és az *ex situ* állományok közel hasonló genetikai diverzitással rendelkeznek, mint az *in situ* populációk.

3. Az óriás útifű hazai populációi és egy kazahsztáni populáció relációjában a *trnL-trnF* cpDNS régió alapján a hazai populációkban elkülönülő haplotípust detektáltam a centrális, kazahsztáni populációhoz képest. Ez az eredmény a hazai perifériális populációk természetvédelmi biológiai értékét emeli ki.

4. A kései szegfű és a balti szegfű fajoknál taxonozonositásra alkalmas morfológiai bélyeget nem találtam. A kromoszóma számban a hazai populációk nem különböztek egymástól ( $2n=90$ ), viszont a lettországi balti szegfű minták elkülönültek ( $2n=60$ ). Hasonló eredményt kaptam a cpDNS régió vizsgálat alapján, ahol elkülönülést csak a lettországi és a hazai populációk között találtam. Eredményeim szerint feltételezhető, hogy a fenyőfői balti szegfű populációban introgresszió zajlik.

## 6. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

### Impakt faktoros folyóiratcikkek

- Kovács, Zs.,** Csergő, A. M., Csontos, P., Höhn, M. (2021): Ex situ conservation in botanical gardens – challenges and scientific potential preserving plant biodiversity. *NOTULAE BOTANICAE HORTI AGROBOTANICI CLUJ-NAPOCA* 49 : 2 Paper: 12334 , 21 p. [Q2, IF 1,168]
- Csontos, P., Tamás, J., **Kovács, Zs.,** Schellenberger, J., Penksza, K., Szili-Kovács, T., Kalapos, T. (2022): Vegetation dynamics in a loess grassland: plant traits indicate stability based on species presence, but directional change when cover is considered. *PLANTS-BASEL* 11:6 , Paper: 763. [Q1, IF 4,658]
- Kovács, Zs.,** Mlinarec, J., Höhn, M. (2023): Living on the edge: morphological, karyological and genetic diversity studies of the Hungarian *Plantago maxima* populations and established ex situ collection. *BOTANICAL STUDIES* 64:2 pp. 1-15. [Q2, IF: 2,673]

### Lektorált folyóiratban (MTA listás) megjelent közlemények

- Kovács, Zs.,** Barabás, S., Höhn, M. (2018): Az óriás útifű (*Plantago maxima* Juss. ex Jacq.) csírázásbiológiai vizsgálata. *BOTANIKAI KÖZLEMÉNYEK* 105 : 2 pp. 243-252. [Q4]
- Kovács, Zs.,** Barabás, S., Csontos, P., Höhn, M., Honfi, P. (2019): Az óriás útifű (*Plantago maxima* Juss. ex Jacq.) ex situ védelembe vonása II.: Élőhelypreferencia-vizsgálat. *BOTANIKAI KÖZLEMÉNYEK* 106 : 2 pp. 157-172. [Q4]
- Kovács, Zs.,** Tillyné Mándy, A. (2019): In vitro steril magvetés és mikroszaporítás az ex situ konzerváció szolgálatában. *KERTGAZDASÁG* (1998) 51 : 3 pp. 19-30.

### Tudományos könyvrészletek

- Höhn, M., Papp, L. ifj., **Kovács, Zs.,** Németh, A., Pándi, I., Papp, L., Radvánszky, A., Zsigmond, V. (2020): Ex situ növénymegőrzés – Gyűjteményes kertek a növényvilág megőrzésért Budapest, Magyarország: Magyar Arborétumok és Botanikus Kertek Szövetsége. ISBN: 9786158175302

### Konferencia összefoglalók („abstract”)

- Kovács, Zs.,** Barabás, S. (2016): Csírázásbiológiai vizsgálatok az óriás útifű (*Plantago maxima* Juss.) ex-situ védelembe vonásához. In: XI. Aktuális

Flóra- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében nemzetközi konferencia pp. 180-182.

- Kovács, Zs.,** Barabás, S. (2017): Ex-situ conservation of the giant plantain (*Plantago maxima* Juss.) in Soroksár Botanical Garden In: 3rd Conference of Eastern and Central European Botanic Gardens: Botanic Gardens - delivering public goods and supporting society Budapest, Magyarország 40 p. pp. 31-32.
- Kovács, Zs.,** Barabás, S., Honfi, P., Höhn, M. (2018): Az óriás útifű (*Plantago maxima* Juss.) csírázásbiológiai vizsgálatai és ex situ védelembe vonása. BOTANIKAI KÖZLEMÉNYEK 105 : 2 pp. 288-289.
- Kovács, Zs.,** Höhn, M. (2018): *Dianthus arenarius* és *Dianthus serotinus* chorológiai jellemzői, morfológiai és diverzitásvizsgálata a Pannonicum területén. In: Bodor, Péter; Fodor, Marietta (szerk.) Ifjú Tehetségek Találkozója Budapest, Magyarország : Szent István Egyetem 169 p.
- Kovács, Zs.** (2019): Az óriás útifű (*Plantago maxima* Juss.) ex-situ fenntartásának első eredményei a Soroksári Botanikus Kertben In: Komlósi, István; Juhász, Csaba; Juhász, Lajos; Gyüre, Péter; Vári, Erzsébet (szerk.) XXXIV. Országos Tudományos Diákköri Konferencia. Agrártudományi Szekció. Előadáskivonatok. Debrecen, Magyarország: Debreceni Egyetem Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar pp. 309-309.
- Kovács, Zs.,** Csontos, P., Höhn, M. (2019). Ex situ conservation: problems and future perspectives with some examples from the Hungarian flora In: Benedek, Klára Vth Horticulture and Landscape Planning Conference from Transylvania pp. 12-12.
- Kovács, Zs.,** Höhn, M., Csontos, P. (2020): Az ex situ konzerváció lehetőségei és korlátai, nemzetközi és hazai példák bemutatásával: Magyar Biológiai Társaság, Botanikai Szakosztály, 1499. szakülésének kivonata BOTANIKAI KÖZLEMÉNYEK 107 : 2 p. 250
- Kovács, Zs.,** Mlinarec, J., Höhn, M. (2021): Chromosome-based comparison of *Dianthus arenarius* L. and *Dianthus serotinus* Waldst. & Kit. Populations In: Fodor, Marietta; Bodor-Pesti, Péter; Deák, Tamás (szerk.) SZIENTific Meeting for Young Researchers 2020 : ITT Ifjú Tehetségek Találkozója 2020 Budapest, Magyarország : Szent István University pp. 249-250.
- Kovács, Zs.,** Höhn, M. (2022): Experiences in the ex situ conservation of the giant plantain (*Plantago maxima* Juss. ex Jacq.) in Soroksár Botanical Garden. In: Höhn, Mária (szerk.) Abstract Booklet of the 9th European Botanic Gardens Congress (EuroGard IX) Budapest, Magyarország: MABOSZ 131 p.
- Höhn, M., Miklósi, Sz., Bottlik, G., **Kovács, Zs.** (2022): Conserving natural forest steppe within the territory of the Soroksár Botanical Garden. In: Höhn, Mária (szerk.) Abstract Booklet of the 9th European Botanic Gardens Congress (EuroGard IX) Budapest, Magyarország MABOSZ (2022) 131 p.

## 7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Antonovics, J., Primack, R.B. (1982): Experimental ecological genetics in *Plantago*: VI. The demography of seedling transplants of *P. lanceolata*. *The Journal of Ecology*, pp. 55-75.
2. Baksay, L. (1972): Biosystematik der *Dianthus plumarius* L. (sensu lato) in Ungarn. In: *Symposia Biologica Hungarica* 12. 149-161.
3. Cevallos González, J. D. (2021): Delineation of seed transfer zones based on ecological knowledge and testing based on seed traits from different provenance for ecological restoration use. 113 p. Egyetemi doktori értekezés, ELTE.
4. Ensslin, A., Godefroid, S. (2020): Ex situ cultivation impacts on plant traits and drought stress response in a multi-species experiment. *Biological Conservation*, 248: 108630.
5. Ensslin, A., Van de VyVer, A., Vanderborght, T., Godefroid, S. (2018): Ex situ cultivation entails high risk of seed dormancy loss on short-lived wild plant species. *Journal of Applied Ecology*, 55(3): 1145-1154.
6. Horváth, F., Dobolyi, Z. K., Morschhauser, T., Lőkös, L., Karas, L., Szerdahelyi, T. (1995): FLÓRA adatbázis 1.2: Taxonlista és attribútum-állomány. Flóra munkacsoport. Vácrátót, Magyarország: MTA Ökológiai és Botanikai Kutatóintézete 267 p
7. Jaccard, P. (1908): Nouvelles recherches sur la distribution florae. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, 44, 223-270
8. Kropf, M., Bardy, K., Höhn, M., Plenk, K. (2020): Phylogeographical structure and genetic diversity of *Adonis vernalis* L. (Ranunculaceae) across and beyond the Pannonian region. *Flora*, 262, 151497.
9. Magulaev, A. Y. (1982): The number of chromosomes of the species of Asteraceae, Caryophyllaceae and Plantaginaceae of the North Caucasus. *Scientific Reports of Higher School for Biological Sciences*, 11(227), 74-79.
10. Mlinarec, J., Papeš, D. A., Besendorfer, V. (2006): Ribosomal, telomeric and heterochromatin sequences localization in the karyotype of *Anemone hortensis*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 150, 177-186.
11. Mlinarec, J., Šatović, Z., Mihelj, D., Malenica, N., & Besendorfer, V. (2012): Cytogenetic and phylogenetic studies of diploid and polyploid members of tribe Anemoninae (Ranunculaceae). *Plant Biology*, 14(3), 525-536.
12. Plenk, K., Bardy, K., Höhn, M. and Kropf, M. (2019): Long-term survival and successful conservation? Low genetic diversity but no evidence for reduced reproductive success at the north-westernmost range edge of *Poa badensis* (Poaceae) in Central Europe. *Biodiversity and conservation*, 28, 1245-1265.
13. Pogorzelec, M., Bronowicka-Mielniczuk, U., Serafin, A., Parzymies, M. (2020): The importance of habitat selection for the reintroduction of the endangered *Salix lapponum* L. in eastern Poland. *Journal for Nature Conservation*, 54, 125785.
14. Rauschkolb, R., Szczeparska, L., Kehl, A., Bossdorf, O., Scheepens, J. F. (2019): Plant populations of three threatened species experience rapid evolution under ex situ cultivation. *Biodiversity and Conservation*, 28, 3951-3969.
15. Rønsted, N., Chase, M.W., Albach, D. C., Bello, M. A. (2002): Phylogenetic relationships within *Plantago* (Plantaginaceae): evidence from nuclear ribosomal ITS and plastid trnL-F sequence data. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 139(4), 323-338.



16. Sandner, T.M., Gemeinholzer, B., Lemmer, J., Matthies, D., Ensslin, A. (2022): Continuous inbreeding affects genetic variation, phenology, and reproductive strategy in ex situ cultivated *Digitalis lutea*. *American Journal of Botany*, 109(10), 1545-1559.
17. Somogyi, G. (2014). A *Dianthus* sect. *Plumaria* (Opiz) Asch. et Graebn. közép-európai fajainak komplex molekuláris taxonómiai értékelése= Taxonomical evaluation of Central-European *Dianthus* species of sect. *Plumaria* (Opiz) Asch. et Graebn based on molecular evidences. (Egyetemi doktori értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem).
18. Soó, R. (1970): A magyar flóra és vegetáció rendszertani-növényföldrajzi kézikönyve IV. Akadémiai Kiadó. Budapest. 594 pp.
19. Valente, L. M., Savolainen, V., Vargas, P. (2010): Unparalleled rates of species diversification in Europe. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277, 1489–1497.
20. Weiss, H., Dobeš, C., Schneeweiss, G. M., Greimler, J. (2002): Occurrence of tetraploid and hexaploid cytotypes between and within populations in *Dianthus* sect. *Plumaria* (Caryophyllaceae). *New Phytologist*, 85-94.