

SZENT ISTVÁN
EGYETEM



A. D. 1853

KERTÉSZETTUDOMÁNYI KAR, BUDAPEST

**AZ ERDEIFENYŐ (*PINUS SYLVESTRIS* L.)
FILOGEOGRÁFIÁJA ÉS ADAPTÍV GENETIKAI VARIABILITÁSA
A KÁRPÁTOKBAN ÉS A PANNON-MEDENCÉBEN**

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISE

TÓTH ENDRE GYÖRGY

TÉMAVEZETŐ: DR. MÁRIA HÖHN

BUDAPEST

2017

A DOKTORI (PH.D.) ISKOLA

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

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

.....
Zámboriné dr. Németh Éva

Iskolavezető

.....
Dr. Höhn Mária

Témavezető

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Az erdeifenyő (*Pinus sylvestris* L.) a Pinaceae család tagja és az Eurázsiai tajga növénytársulások domináns fenyőfaja (Pravdin 1969). Természetes elterjedésének nyugati és déli peremterületén populációi feldarabolódtak és elszigeteltek. A jelenlegi populációk a Negyedidőszak maradványainak tekinthetők, amikor a fenyők még Eurázsia szerte jóval elterjedtebbek voltak. Az erdeifenyő az utolsó glaciális maximum (LGM) idején számos dél-európai izolált refugiumban vészelt át a kedvezőtlen klimatikus időszakot.

Az erdeifenyő a Kárpátok és a Pannon-medence térségében kizárólag szigetszerű természetes populációkban él (Fekete és Blattny 1913). Az Alpokalja (Nyugat-Dunántúl) régiójában elegyes állományokat alkot más lombhullató fajokkal (Pócs 1960, Fekete *et al.* 2014). A Kárpátokban a Holocén posztglaciális klímaváltozása következtében kizárólag szélsőséges, edafikus élőhelyeken fordul elő, mint például hideg nedves tőzeglápokban vagy száraz sziklás élőhelyeken (Giertych és Mátyás 1991, Matias és Jump 2012). Az itt élő állományok genetikai mintázatát a populációkra ható genetikai sodródás, génáramlás és természetes szelekció következményei alakítják. Emellett, a jelenlegi mintázatra a történeti demográfiai események is kihatottak (Eckert *et al.* 2008).

Bernhardsson és mtsai (2016) molekuláris genetikai vizsgálatai alacsony szintű populációk közötti differenciáltságot és a Holocén idejében bekövetkező feldarabolódást mutatnak. Habár, korábbi pollen, makrofosszília és organellum DNS vizsgálatoknak sikerült glaciális refugiumot kimutatni a Pannon-medence és Duna régiójában, az alkalmazott mtDNS és cpDNS markerek nem tudtak genetikai struktúrát detektálni (Cheddadi *et al.* 2006, Bernhardsson *et al.* 2016). Čelepirović és mtsai (2009) vizsgálata szintén nem mutatott mtDNS variabilitást és filogeográfiai mintázatot.

A Kárpátok erdeifenyő populációit felhasználva, történeti demográfiai szempontú vizsgálatok még nem készültek. A rendelkezésre álló fosszilis eredmények alapján, a Holocén idején, Közép- és Kelet-Európában az erdeifenyő rendkívül komplex térbeli és időbeli történettel rendelkezik, amelyet klimatikus és antropogén hatások egyaránt befolyásoltak (Feurdean *et al.* 2007).

Kontinentális-európai erdeifenyő populációk korábbi adaptációs vizsgálatai, mérsékelt genetikai diverzitást és alacsony differenciáltságot mutattak. Emellett, a nukleotid variabilitáson demográfiai változások jeleit és negatív szelekció hatását figyelték meg (Pyhäjärvi *et al.* 2007, Wachowiak *et al.* 2009, 2011, Kujala és Savolainen 2012). Génjelölt

lókuszok elemzése teljes mértékben hiányzik a Kárpátok régiójából. Eredmények kizárólag Nyugat- és Dél-Európában születtek, ezáltal a közép-kelet-európai periférián élő állományok adaptív potenciálja egyelőre ismeretlen.

Célkitűzések:

- A közép-kelet-európai area perifériáján élő erdeifenyő populációk genetikai struktúrájának vizsgálata, különös tekintettel azon állományokra, amelyek nem képezték részét korábbi molekuláris genetikai vizsgálatoknak.
- A genetikai diverzitás, divergencia, génáramlás vizsgálata és a populációk közötti kapcsolatok feltárása.
- Történelmi demográfiai események (divergencia, expanzió és kontrakció) kimutatása, valamint Pleisztocéni refugiális eredet vizsgálata a Kárpátok régiójában.
- Adaptív nukleotid diverzitás és divergencia vizsgálata génjelölt lókuszokon a periférián élő állományokban.

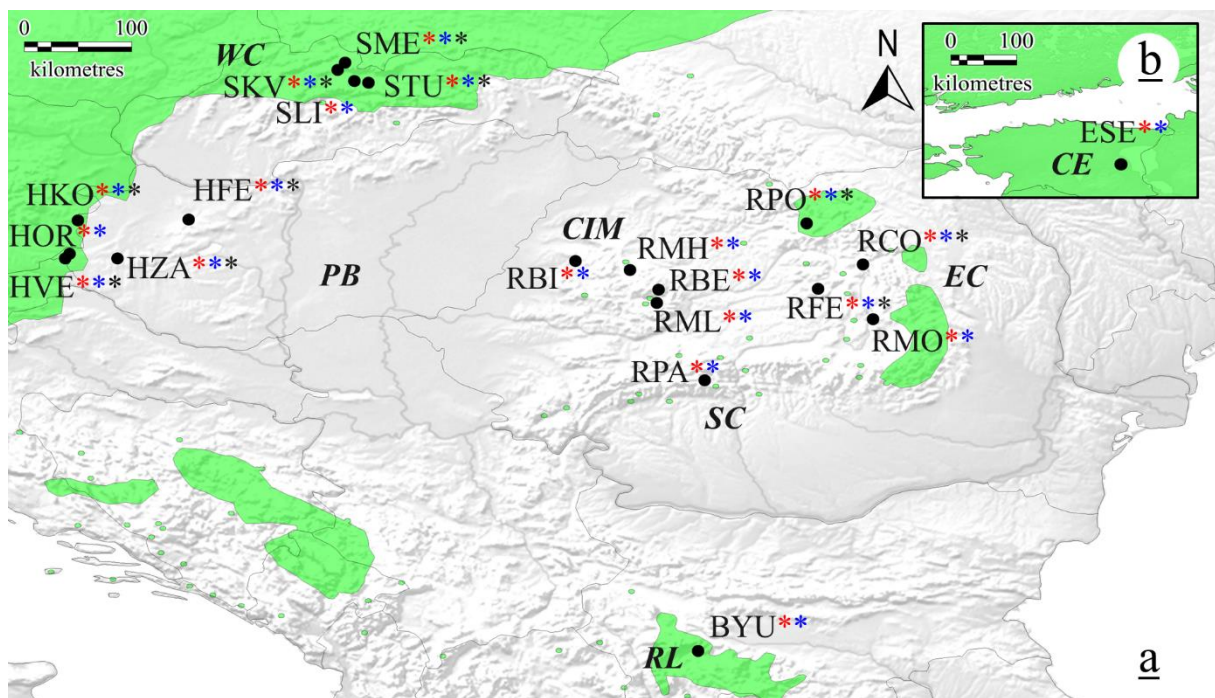
2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Növényanyag

Vizsgálatunk növényanyaga a közép-kelet-európai térségből, így Kárpátokból és a Pannon-medencéből származnak. Emellett, kulcsoportként („outgroup”-ként) egy populációt elemeztünk az elterjedés északi térségéből, Észtországból (központi populáció), valamint egy populációt délről a Balkán-félszigeti Bulgáriából.

Összesen 20 természetes és őshonos populáció begyűjtésére került sor. A teljes mintakészlet a nukleáris és a kloroplasztisz mikroszatellit (SSR) marker analízis esetében 421 egyed volt.

A neutrális és adaptív genetikai variabilitást (természetes szelekció hatására bekövetkező nukleotid variációt) 10 populáció 96 egyedén vizsgáltuk. A mintákat a magyarországi Pannon-medence, a szlovákiai Nyugati-Kárpátok és a romániai Keleti-Kárpátok térségéből gyűjtöttük be (**1. ábra**).



1. ábra: A vizsgált közép-kelet-európai erdeifenyő populációk földrajzi elhelyezkedése. (a): Közép-Kelet-Európa, (b): Észtország. A színes csillagok az alkalmazott molekuláris marker típusát jelölik (*; cpSSR, *; nSSR, *; SNP). Az erdeifenyő természetes elterjedését az EUFORGEN adatbázis alapján zöld szín jelzi (szerző által módosítva). RL: Rila-hegység, CE: Közép-észti-síkság, PB: Pannon-medence, WC: Nyugati-Kárpátok, EC: Keleti-Kárpátok, SC: Déli-Kárpátok és CIM: Erdélyi-Szigethegység (Apuseni).

A növényi minták analízise nyolc nukleáris mikroszatellit (nSSR) markerrel (Soranzo és mtsai (1998): SPAG 7.14, SPAC 11.4, Sebastiani és mtsai (2012): *psyl16*, *psyl17*, *psyl19*, *psyl36*, *psyl42*, *psyl57*) és négy kloroplasztisz mikroszatellit (cpSSR) markerrel (Vendramin és mtsai (1996): Pt-30204, Pt-15169, Pt-45002, Pt-26081) történt. A kijelölt lókusok mentén polimeráz láncreakcióval (PCR) fragmens hossz analízist (FLA) végeztünk. A vizsgálatban további 11 szárazság stresszben szerepet játszó génjelölt került kiválasztásra (Wachowiak és mtsai (2011): *abaR*, *ccoamt*, *chcs*, *dhn3*, *dhn7*, *dhy2PP*, *erd3*, González-Martínez és mtsai (2006): *cpk3*, *pal-1*, *ppap12*, *rd21A-like*), amelyeket az amplifikációt és szekvenálást követően, az egy pontos nukleotid-polimorfizmusok (SNP-k) alapján statisztikailag elemeztünk.

2.2. Statisztikai analízis

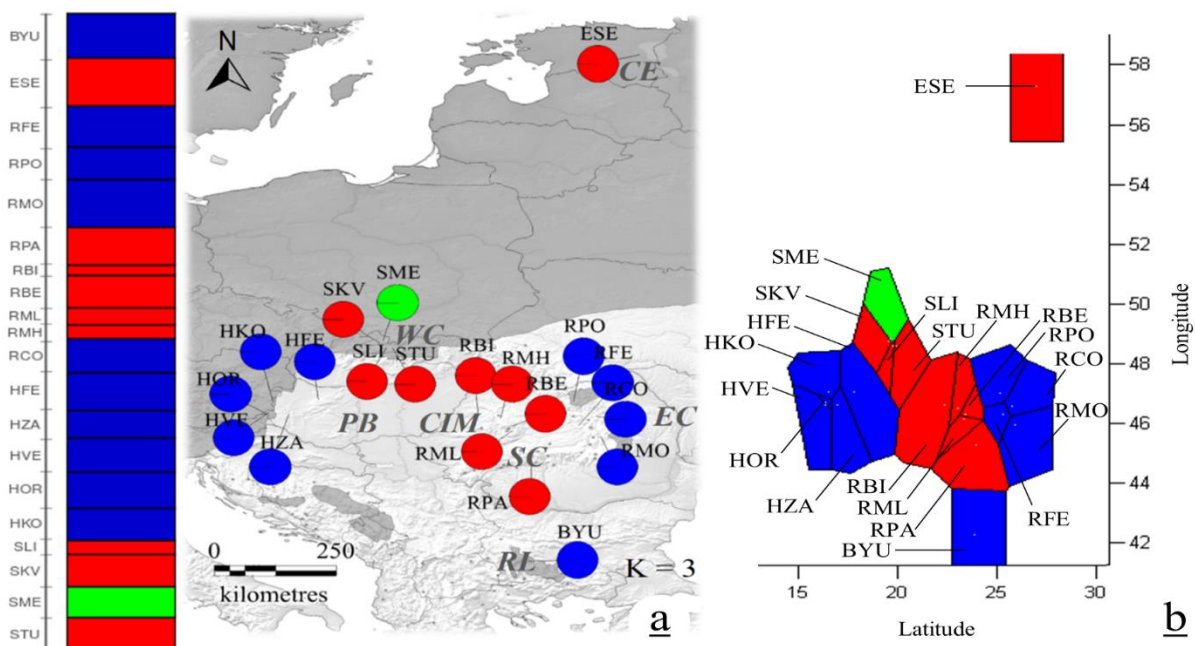
A standard populációgenetikai mutatókat GenAlEx v.6.5 (Peakall és Smouse 2006) segítségével vizsgáltuk. A haplotípus diverzitás számítását Haplotype Analysis (Eliades és Eliades 2009) szoftverrel végeztük el. A földrajzi (kilométer) és a genetikai távolság (páronkénti Nei) korrelációját a cpSSR és az nSSR adatsorok esetében Mantel tesztel (Mantel 1967) elemeztük az Isolation-by-Distance Web Service (IBDWS) 3.16 internetes szolgáltatás segítségével (Jensen *et al.* 2005). A Molekuláris Variancia Analízis (AMOVA) Arlequin v.3.5 (Excoffier és Lischer 2010) szoftverrel történt. A génáramlásban bekövetkező határvonalakat, ún. barriereket a cpSSR és az nSSR adatsorokon Barrier 2.2 (Manni *et al.* 2004) szoftverrel elemeztük. A cpSSR adatsor hierarchikus bayesi csoportelemzéséhez BAPS 6.0 (Corander és Mattinen 2006) szoftvert használtunk. Az nSSR adatsor esetében, STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard *et al.* 2000) segítségével vizsgáltuk a genetikai csoportok és alcsoportok előfordulásának a valószínűségét. Az effektív populációméretben hirtelen bekövetkező változásokat (palacknyak esemény, expanzió) BOTTLENECK 1.2.02 (Cornuet és Luikart 1996) szoftverrel teszteltük az nSSR adatsoron. A történeti demográfiai változások azonosítását és nyomon követését Approximate Bayesian Computation (ABC) módszerrel, DIYABC v2.0 (Cornuet *et al.* 2014) segítségével elemeztük.

A szekvencia diverzitási mutatókat az összes génjelölt lókus esetében DnaSP 5.10.1 (Librado és Rozas 2009) szoftverrel kalkuláltuk ki. A theta pi (θ_{π}) nukleotid diverzitási mutató esetében Arlequin-t használtunk. A szubsztitúciók (SNP-k) neutralitását, úgymint a neutrális szekvencia evolúció megvalósulását (Kimura 1983) és a szelekció irányát Tajima D (Tajima 1989) tesztel elemeztük. Emellett, Fu és Li D, és F (1993) statisztikai tesztjeivel is

megvizsgáltuk. Kísérletünkben a lókuszt szintű szelekción kívül, a SNP szintjén detektálható szelekciót is vizsgáltuk outlier (kiugró érték) analízisek alkalmazásával. A detektálást Arlequin v.3.5, Lositan (Antao *et al.* 2008) és BayeScan 2.1 (Foll és Gaggiotti 2008) szoftverekkel végeztük el. A polimorfikus pozíciók kapcsoltsági egyenlőtlenségének megszűnését (decay of linkage disequilibrium, LD) DnaSP szoftverrel értékeltük. Hasonlóan az SSR adatsorhoz, a populációstruktúra felderítéséhez STRUCTURE-t használtunk, valamint a molekuláris variancia megoszlását (AMOVA) és a páronkénti F_{ST} -t (mátrix) Arlequin v.3.5 szoftverrel számoltuk.

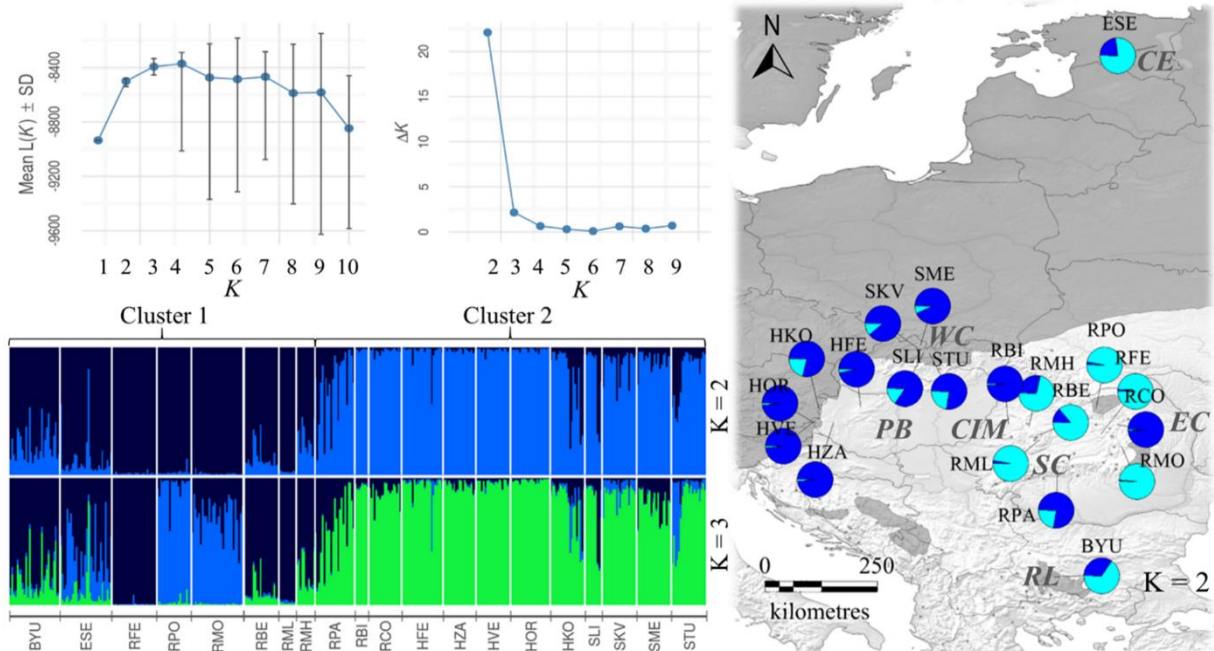
3. EREDMÉNYEK

Kloroplasztisz mikroszatellit (cpSSR) vizsgálatunk során lókuszonként 4-13 allélt és összesen 141 haplotípust azonosítottunk. A vizsgált populációk között a haploid genetikai diverzitás kiegyensúlyozott volt. Az átlag populáció specifikus allélszám az SME populációban volt a legmagasabb. A 20 leggyakoribb haplotípus frekvenciája eltérést mutatott a Keleti-Kárpátok, valamint az Erdélyi-Szigethegység (Apuseni) és a Déli-Kárpátok populációi között. A molekuláris variancia (AMOVA) PhiPT értéke 8%-ot mutatott ($\Phi_{PT}=0.081$, $p<0.001$). A Mantel teszt a földrajzi távolság és a genetikai távolság között negatív korrelációt eredményezett. A bayesi módszeren alapuló BAPS három genetikai csoportot azonosított ($K=3$), amelyek földrajzilag elkülönültek (**2. ábra**). A két legnagyobb csoport esetében, a Pannon-medence a Keleti-Kárpátokkal és a bulgáriai populációval alkotott egy csoportot (1), a Nyugati-Kárpátok az Erdélyi-Szigethegységgel (Apuseni) társult (2). Az tátrai SME populáció elkülönült és önálló csoportot alkotott. A Barrier szoftverrel a génáramlásban detektált határvonalak (barrier-ek) elválasztották a Keleti-Kárpátok populációit, több mint 99.5%-os támogatottsággal (bootstrap), a többi vizsgált állománytól.

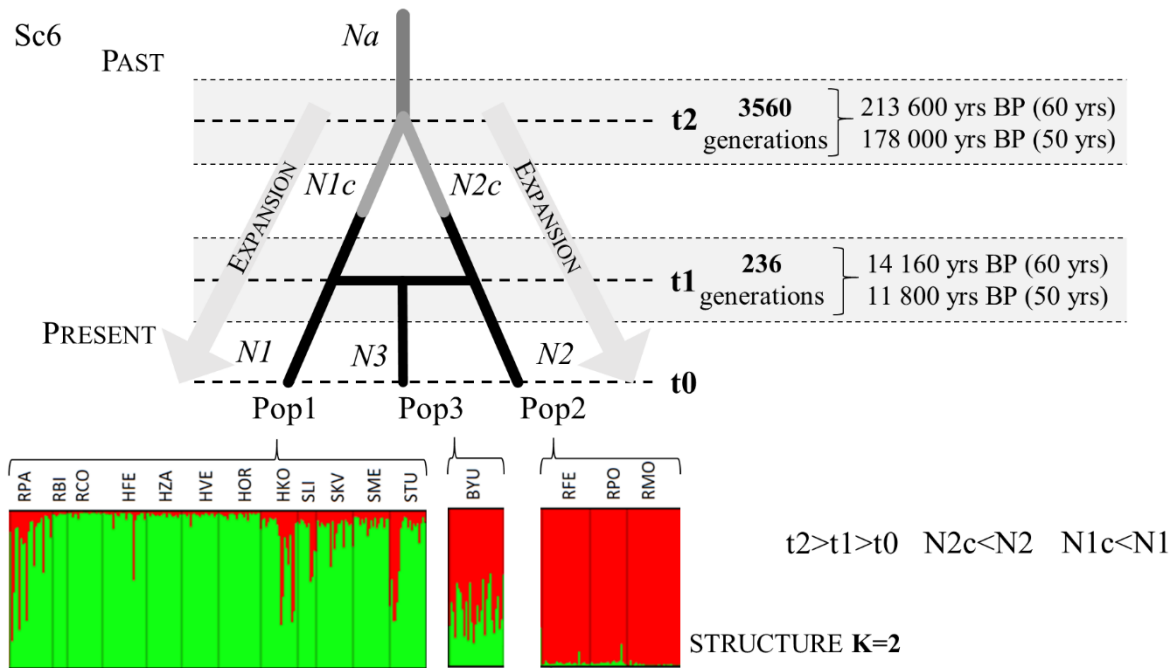


2. ábra: BAPS analízis során detektált populációstruktúra ($K=3$, **a** és **b**) a vizsgált közép-kelet-európai erdeifenyő állományokban. A legvalószínűbb csoportba való tartozást a populációk széles vonalának színe mutatja. Az erdeifenyő természetes elterjedését az EUFORGEN adatbázis alapján sötétszürke szín jelzi (szerző által módosítva). RL: Rila-hegység, CE: Közép-észti-síkság, PB: Pannon-medence, WC: Nyugati-Kárpátok, EC: Keleti-Kárpátok, SC: Déli-Kárpátok és CIM: Erdélyi-szigethegység (Apuseni).

Nukleáris mikroszatellit (nSSR) markerrel mérsékelt szintű populáción belüli variabilitást tapasztaltunk. Az összes lókuszt Hardy-Weinberg egyensúlyi (HWE) állapotot mutatott. Az AMOVA analízis magas egyeden belüli (90%), és alacsony egyedek közötti variációt (3%) tárt fel. A populációk között 7% variációt tapasztaltunk. Az összes populációt magába foglaló F_{ST} értéke 0.071 ($p < 0.001$) volt. A STRUCTURE analízis során két fő genetikai csoport detektálására került sor, amelyek: (1) a Pannon-medence (Nyugat Mo.) és a Déli-Kárpátok, valamint (2) a Keleti-Kárpátok a bulgáriai (BYU) és az észtországi (ESE) populációval (**3. ábra**). A Barrier analízis segítségével, a faj génáramlásában határvonalat detektáltunk a Keleti-Kárpátok mentén (70.9%-100%-os támogatottsággal). A BOTTLENECK elemzés nem mutatta ki a populációk heterozigóta többletét (excess of heterozygosity), így a múltban bekövetkezett palacknyak esemény nyomát nem tapasztaltunk. A történelmi demográfiai vizsgálat (ABC analízis) a legnagyobb posterior-i valószínűséggel, egy úgynevezett “admixture model” keveredési modellt (Sc6) azonosított (0.5670, 95% C.I.: 0.5307–0.6033). Az eredmények alapján, a két genetikai csoport (Pop1 és Pop2) t2 időben 3560 (95% C.I.: 1040–8810) generációval ezelőtt elvált az ősi populációtól. A divergenciát követően a csoportok folyamatos effektív populációméret növekedése (expanzió) volt mérhető. A genetikai csoportok keveredése (admixture) majd, az azt követő szétválás (Pop1, 2, 3) t1 időben 236 (95% C.I.: 29.4–876) generációval ezelőtt következhetett be (**4. ábra**).



3. ábra: STRUCTURE analízis során detektált populációstruktúra a vizsgált közép-kelet-európai erdefenyő állományokban. A legvalószínűbb genetikai csoportok száma $K=2$ és $K=3$, amelyek közül $K=2$ földrajzi térképen látható. A legvalószínűbb csoportba való tartozást az egyedek vékony vonalának színe mutatja. Az erdefenyő természetes elterjedését az EUFORGEN adatbázis alapján sötétszürke szín jelzi (szerző által módosítva). RL: Rilahegység, CE: Közép-észt-síkság, PB: Pannon-medence, WC: Nyugati-Kárpátok, EC: Keleti-Kárpátok, SC: Déli-Kárpátok és CIM: Erdélyi-Szigethegység (Apuseni).



4. ábra: Az ABC analízis során detektált legnagyobb posterior-i (utólagos) valószínűséggel rendelkező történeti demográfiai eseménysorozat (0.5670, 95% CI: 0.5307–0.6033). Az eseménysorozatban (scenario) t# a becsült idő generációs időben kifejezve, N# az effektív populációméret Pop1, Pop2 és Pop3 populáció esetében. N2c és N1c az ősi populáció expanzióját jelöli effektív populációméretben kifejezve ($N_a < N_{\#c} < N_{\#}$).

A 11 szárazság stresszben szerepet játszó génjelölt vizsgálata során 232 polimorfikus pozíciót (szegregálódó pozíciót) detektáltunk (**1. táblázat**). A legtöbb szubsztitúciót a *dhy2PP* és *rd21A* lokuszoknál figyeltük meg, az SME és az STU populációkban. A legtöbb populáció specifikus szubsztitúciót az SME populációnál kaptuk, ahol közel kétszer annyi volt, mint más populációnál. A nukleotid diverzitás (π) az összes lokuszon $\pi=0.0056$, a Theta pi ($\theta\pi$) nukleotid diverzitás $\theta\pi=2.15 \times 10^{-3}$. A haplotípus diverzitás (Hd) értéke 0.733. A haplotípusok (Nh) átlagos száma 22.63, ahol az SME populáció tartalmazta a legtöbb haplotípust (33). A polimorfikus pozíciók kapcsoltságának a megszűnése (decay of LD) 7 lokusz esetében volt tapasztalható, amelyek közül 4-nél (*abaR*, *dhn7*, *dhy2PP*, *pall1*) lassú ($R^2=0.01-0.02$), 3-nál (*ccoamnt*, *erd3*, *rd21A*) gyorsabb ($R^2=0.04-0.09$) megszűnést tapasztaltunk, 100-400, -600 és -800 bp távolságon. Az AMOVA analízis $F_{ST}=0.063$ -t ($p<0.001$) értéket eredményezett, amely magas populáción belüli (93.63%) és alacsony (6.36%) populációk közötti varianciát jelent. A STRUCTURE analízis két populációt (RFE és SME) különített el, a többi nagyfokú keveredést (admixture) mutatott. A neutralitási tesztek (Tajima D, Fu és Li D, és F statisztikák) többnyire negatív értékeket eredményeztek, statisztikai szignifikanciát csak az *erd3* és az *rd21A* lokuszok esetében tapasztaltunk. A *dhy2PP* lokusz ugyancsak szignifikánsnak bizonyult, azonban kizárólag a Fu és Li D tesztjében. Az outlier (kiugró érték) analízis 13 szelekciós nyomás alatt álló lokuszt detektált (a vizsgált 232-ből), eltérő szignifikancia szint mellett. A lokuszok 8

génjelöltben helyezkednek el, 6 nem-kódoló, 1 szinonim és 6 nem-szinonim báziscserét okoznak. Ezek közül hét lokusz negatív (kiegyensúlyozó vagy tisztító) hat pedig pozitív (diverzifikáló) szelekciós nyomás alatt áll.

1. táblázat: A nukleotid diverzitási vizsgálatban elemzett lokuszok és a detektált polimorfikus pozíciók.

Génjelölt	<i>n</i>	<i>ns</i>	Szűrt bázisok		<i>S</i>	<i>Sing</i>	
			Teljes	Kódoló szakasz			Nem-kódoló szakasz
<i>abaR</i>	95	190	378	321	57	17	5
<i>ccoaomt</i>	93	186	549	300	249	14	2
<i>chcs2</i>	95	190	341	231	110	16	2
<i>cpk3</i>	95	190	599	306	293	19	3
<i>dhn3</i>	61	122	268	216	52	11	4
<i>dhn7</i>	82	164	358	279	79	23	8
<i>dhy2PP</i>	96	192	454	357	97	34	13
<i>erd3</i>	95	190	679	474	205	14	9
<i>pal1</i>	96	192	459	276	183	15	4
<i>ppap12</i>	96	192	238	237	1	25	6
<i>rd21A</i>	80	160	1005	624	381	44	18
Teljes	984	1968	5328	3621	1707	232	74

n: vizsgált mintaszám

ns: haploid szekvenciák száma

S: polimorfikus pozíciók száma

Sing: „singleton” pontmutációk száma

4. KÖVETKEZTETÉSEK

A két mikroszatellit (cpSSR és nSSR) markerrel kapott egyedi mintázat ellenére, hasonlóságokat fedeztünk fel a faj térbeli genetikai struktúrájában. A BAPS és a STRUCTURE analízis elválasztotta Nyugati-Kárpátok populációit a Keleti-Kárpátok állományaitól. Az erdefenyő differenciálódását más fenyőfajok genetikai mintázata is alátámasztja, ilyen például a *Picea abies* vagy az *Abies alba*, amelyeknél a mitokondriális miniszatellit régiók és a nSSR lokuszok vizsgálata eltérő genetikai vonalakat detektált a Nyugati-Kárpátok és a Keleti-Kárpátok között. Ennek megfelelően, az eredmények eltérő glaciális refugium eredetre utaltak (Tollefsrud *et al.* 2008, Liepelt *et al.* 2009, Gömöry *et al.* 2012). Az erdefenyőnél detektált haplotípus mintázatunk ugyancsak hasonlóságot mutat Höhn és mtsai (2009) *Pinus cembra*-n végzett vizsgálatához, ahol a cpSSR markerek variabilitása a Nyugati- és Keleti-Kárpátok elkülönülését ugyancsak kimutatta. Elképzelhető, hogy a Kárpátok erdefenyő populációi legalább két eltérő Pleisztocén refugiumból származnak. Ezt támasztja alá Tribsch és Schönswetter (2003) eredménye is, aki magashegységi, alpesi fajok intraspecifikus genetikai mintázatát vizsgálta. Egy refugiális terület létezhetett a Keleti-Alpok, Pannon-medence és Duna régiójában (Cheddadi *et al.* 2006), és egy másik a Keleti-Kárpátok térségében, ezt alátámasztják palinológiai vizsgálatok is (Feurdean *et al.* 2011).

Kísérletünkben a Bernhardsson és mtsai (2016) által tapasztalt genetikai diverzitásnál magasabb értéket kaptunk és a cpSSR markerek az izolált populációkban szegregáció és fragmentáció jeleit mutatták. Emellett, a Barrier elemzésünk határvonalakat detektált a génáramlásban. Ezzel szemben, beltenyésztésre utaló jeleket nem tapasztaltunk, habár a kis populációméret és az izoláció beltenyésztés kialakulását eredményezheti (Ellstrand and Elam 1993). A BOTTLENECK elemzés nem tudta kimutatni recens palacknyak esemény jeleit, amelyek érzékeléséhez számos generáció szükséges, ami fás szárú fajok esetében hosszú időt igényel. Ráadásul, a palacknyak hatását a redukció mértéke és az időtartama is meghatározza (Busch *et al.* 2007, Peery *et al.* 2012). Ezért feltételezhető, hogy a populációk feldarabolódása és izolációja recens esemény volt.

Történeti demográfiai vizsgálatunkban (ABC analízis) egy keveredési (admixture) eseménysorozatot detektáltunk, amelyben a két genetikai csoport egyidőben vált el az ősi populációtól. Mindkét elvált csoport esetében, demográfiai expanziót detektáltunk, ami a populációk későbbi keveredéséhez vezethetett. Ha 50-60 éves generációs időt veszünk figyelembe, az első elválás (t_2) 178 és 213.6 ezer BP következett be. A keveredés (t_1), majd a

recens divergencia ideje 11.8 és 14.1 ezer BP-re becsülhető. Bizonyítékok támasztják alá, hogy diploxylon *Pinus* fajok domináltak a közép és felső Pleisztocén glaciális átmeneti időszakában, egészen a Holocén interglaciális időszakáig. A görögországi Tenaghi Philippon tőzegláp pollen vizsgálata folyamatos *Pinus* pollen jelenlétet és növekedést mutatott (Milner *et al.* 2013). Sadori és mtsai (2015) bulgáriai Ohrid tavi (Albánia) elemzése ugyancsak magas *Pinus* pollen koncentrációt mutatott ebben az időszakban. A pollen koncentrációja a közép Pleisztocén időszakon át, egészen az utolsó glaciális maximumig (LGM) magasan maradt. A detektált keveredési időben (11.8-14.1 ezer BP) az erdefenyő nagyterjedésű állományokat alkotott, mert a *Pinus* pollen akkumulációs adatok a fiatal Dryas és a korai Holocén idejében mutatják a legnagyobb koncentrációt (Feurdean *et al.* 2011). Ezt követően, a késői glaciális és Holocén átmeneti időszakot a fenyők erős visszahúzódása és a lombhullató fajok elterjedése jellemzi (Feurdean *et al.* 2012). A *Pinus* pollen csökkenését számos Kárpátokban meghúzódó élőhelyen detektálták (Tantau *et al.* 2003, 2006, Feurdean és Bennike 2004, Feurdean *et al.* 2007). A fosszilis eredmények alapján is, az erdefenyő populációk expanzióját és keveredést követően, a populációik feldarabolódtak és az állományok mérete lecsökkent.

A szárazság stresszben szerepet játszó génjelöltek szekvencia diverzitási vizsgálata szelekció hatását mutatta egyes lókuszokon és SNP pozíciókban. 13 szelekció alatt álló outlier SNP pozíciót detektáltunk, amelyek kódoló és nem-kódoló régiókban helyezkednek el. A hangsúlyosan kimutatható negatív szelekció (kiegyensúlyozó) gátolja a genetikai eróziót, fenntartva a populációk genetikai diverzitását. A neutralitási tesztek negatív értékeket mutattak, amit genetikai „hitchhiking” vagy demográfiai események (térbeli vagy demográfiai expanzió) okozhatnak. Az utóbbit erdészeti fafajok szárazság stressz génjeinél is kimutatták (Grivet *et al.* 2009, 2011, Homolka *et al.* 2013). Korábban erdefenyőnél és *Pinus mugo*-nál is történeti demográfiai változások hatását tapasztalták, dehidrin és más hidegtűrésben szerepet játszó génjelöltek szekvencia variabilitásában (Wachowiak *et al.* 2009, 2013, 2014). A polimorfikus pozíciók kapcsoltágának a megszűnése (decay of LD) lassú volt. Az LD értékét számos folyamat befolyásolja, mint például a szelekció, struktúra és történet. Emellett függ a vizsgált szekvenciák hosszától és a variabilitástól (Krutovsky és Neale 2005, Lalagüe *et al.* 2014). Hasonlóan, a kapcsoltág lassú megszűnését mérték a skóciai periférián élő erdefenyő populációknál (Wachowiak *et al.* 2011). A nukleotid diverzitás jelentősen magasabb volt, mint azt Dvornyk és mtsai (2002) korábban jelentette. Az általunk mért értékek megegyeztek vagy kissé magasabbak voltak, mint Wachowiak és mtsai (2011, 2014) skóciai, spanyolországi és közép-európai eredményei. Ezért elmondható, hogy az izoláció és a fragmentáció következtében fellépő genetikai erózió ellenére, a mi génjelölteink magas genetikai diverzitást

őriztek meg. A STRUCTURE analízis két populációt (SME és RFE) különített el, a többi, erősen keveredett (highly admixed) állománytól. Az SME populáció elkülönülése hibrid *Pinus rhaetica* (*P. sylvestris* x *Pinus mugo*) egyedek miatt valószínűsíthető, amelyek eltérő genetikai ujjlenyomattal rendelkeznek. Az RFE populáció eltérő csoportosulását számos tényező előidézheti, mint például idegen génanyag, nagyfokú genetikai sodródás vagy sajátos történeti háttér.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Az erdeifenyő (*Pinus sylvestris* L.) egész Euráziában elterjedt volt a Pleisztocén időszak alatt. Az eljegesedés időszakait valószínűsíthetően több elszigetelt refugiális területen vészelte át. Ilyen refugiumok feltehetőleg Európa központi kontinentális részén is voltak, így a Keleti-Alpok, a Pannon-medence és a Duna régiójában (Nyugat-Magyarország) vagy délebben, a szubmediterrán Balkán-félszigeten.

A Kárpátokban, az erdeifenyő genetikai mintázatának legdifferenciáltabb térsége a Romániai Kárpátok, beleértve a Keleti-Kárpátok és az Erdélyi-Szigethegység (Apuseni) területét. Eredményeink, palinológiai vizsgálatokkal összhangban, bizonyítékot szolgáltatnak arról, hogy ez a térség is Pleisztocén glaciális refugiumként szolgálhatott.

Az erdeifenyő demográfiai vizsgálata arra is rávilágított, hogy az eltérő genetikai csoportok (feltehetőleg eltérő refugiális eredetűek) a közép Pleisztocén idejében váltak el egy ősi populációtól és ezek a kedvező klimatikus feltételeknek köszönhetően kiterjedtek. A faj expanziója 11.8-14.1 ezer évvel ezelőtt (BP), a korai Holocénben a csoportok keveredését eredményezte.

A stressztűrésben szerepet játszó génjelöltek nukleotid polimorfizmusa ugyanakkor rámutatott arra is, hogy a Kárpátokban az elterjedés periférián élő populációk, a feldaraboltság és az elszigeteltség ellenére nagy genetikai változatosságot őriztek meg. A magas diverzitást a populációkra ható neutrális szelekció tartja fenn, amely megakadályozza a genetikai leromlás bekövetkezését.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- 1. Kombinált, nem-kódoló mikroszatellit markerek (nukleáris és kloroplasztisz) segítségével eltérő genetikai vonalakat és populációk közötti földrajzi struktúrát detektáltam a Kárpátok és a Pannon medence térségében.**
- 2. A korábbi vizsgálatokkal megegyezően kimutattam, hogy a fragmentáció és az izoláció ellenére a Kárpátok és a Pannon medence erdeifenyő populációi magas genetikai diverzitást őriztek meg.**
- 3. Nem-kódoló nukleáris mikroszatellit markerek alapján történeti demográfiai expanziót és recens fragmentációt mutattam ki a Kárpátok és a Pannon medence erdeifenyő populációinál.**
- 4. Génjelöltek vizsgálatával neutrális genetikai variabilitást detektáltam, amely az elterjedés periferián élő erdeifenyő populációk genetikai diverzitásának fenntartását teszi lehetővé.**

7. IRODALOM

- Antao, T., Lopes, A., Lopes, R. J., Beja-Pereira, A., & Luikart, G. (2008). LOSITAN: a workbench to detect molecular adaptation based on a F_{ST} -outlier method. *BMC bioinformatics*, 9(1), 323.
- Bernhardsson, C., Floran, V., Ganea, S. L., & García-Gil, M. R. (2016). Present genetic structure is congruent with the common origin of distant Scots pine populations in its Romanian distribution. *Forest Ecology and Management*, 361, 131-143.
- Busch, J. D., Waser, P. M., & De Woody, J. A. (2007). Recent demographic bottlenecks are not accompanied by a genetic signature in banner-tailed kangaroo rats (*Dipodomys spectabilis*). *Molecular Ecology*, 16(12), 2450-2462.
- Čelepirović, N., Ivanković, M., Gradečki-Poštenjak, M., Nagy, L., Borovics, A., Agbaba, S. N., & Littvay, T. (2009). Review of investigation of variability of nad1 gene intron B/C of mitochondrial genome in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Periodicum Biologorum*, 111(4), 453-457.
- Cheddadi, R., Vendramin, G. G., Litt, T., François, L., Kageyama, M., Lorentz, S., Laurent, J.-M., De Beaulieu, J.-L., Sadori, L., Jost, A., & Lunt, D. (2006). Imprints of glacial refugia in the modern genetic diversity of *Pinus sylvestris*. *Global Ecology and Biogeography*, 15(3), 271-282.
- Corander, J., & Marttinen, P. (2006). Bayesian identification of admixture events using multi-locus molecular markers. *Molecular Ecology*, 15(10), 2833-2843.
- Cornuet, J. M., & Luikart, G. (1996). Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144(4), 2001-2014.
- Cornuet, J. M., Pudlo, P., Veyssier, J., Dehne-Garcia, A., Gautier, M., Leblois, R., Marin, J. M., & Estoup, A. (2014). DIYABC v2. 0: a software to make approximate Bayesian computation inferences about population history using single nucleotide polymorphism, DNA sequence and microsatellite data. *Bioinformatics*, 30(8), 1187-1189.
- Eckert, C. G., Samis, K. E., & Loughheed, S. C. (2008). Genetic variation across species' geographical ranges: the central-marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology*, 17(5), 1170-1188.
- Eliades, N. G., Eliades, D.G. (2009). Haplotype Analysis: software for analysis of haplotype data. Georg-August University Göttingen, Germany. Available at: <http://www.uni-goettingen.de/en/134935.html>. [Accessed: 05.10.2016].
- Ellstrand, N. C., & Elam, D. R. (1993). Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual review of Ecology and Systematics*, 24(1), 217-242.
- Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567.
- Fekete, G., Molnár, Z., Magyari, E., Somodi, I., & Varga, Z. (2014). A new framework for understanding Pannonian vegetation patterns: regularities, deviations and uniqueness. *Community Ecology*, 15(1), 12-26.

- Fekete, L., Blattny, T. (1913). Az erdészeti jelentőségű fák és cserjék elterjedése a Magyar Állam területén (The distribution of forest trees and shrubs in Hungary). *Erdészeti Lapok*, 52:743-758.
- Feurdean, A., & Bennike, O. (2004). Late Quaternary palaeoecological and palaeoclimatological reconstruction in the Gutaiului Mountains, northwest Romania. *Journal of Quaternary Science*, 19(8), 809-827.
- Feurdean, A., Björkman, L., & Wohlfarth, B. (2012). A paleoecological reconstruction of the Late Glacial and Holocene based on multidisciplinary studies at Steregoiu site (Gutai Mts., Romania). *Studia UBB Geologia*, 46(2), 125-140.
- Feurdean, A., Tanțău, I., & Fărcaș, S. (2011). Holocene variability in the range distribution and abundance of *Pinus*, *Picea abies*, and *Quercus* in Romania; implications for their current status. *Quaternary Science Reviews*, 30(21), 3060-3075.
- Feurdean, A., Wohlfarth, B., Björkman, L., Tantau, I., Bennike, O., Willis, K. J., Farcas, S., & Robertsson, A. M. (2007). The influence of refugial population on Lateglacial and early Holocene vegetational changes in Romania. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 145(3), 305-320.
- Feurdean, A., Wohlfarth, B., Björkman, L., Tantau, I., Bennike, O., Willis, K. J., Farcas, S., & Robertsson, A. M. (2007). The influence of refugial population on Lateglacial and early Holocene vegetational changes in Romania. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 145(3), 305-320.
- Foll, M., & Gaggiotti, O. (2008). A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics*, 180(2), 977-993.
- Fu, Y.-X., & W.-H. Li. (1993). Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*, 133:693-709.
- Giertych, M., & Mátyás, C. (1991). *Genetics of Scots pine*. Amsterdam, Elsevier. 3:19-76.
- Gömöry, D., Paule, L., Krajmerová, D., Romšáková, I., & Longauer, R. (2012). Admixture of genetic lineages of different glacial origin: a case study of *Abies alba* Mill. in the Carpathians. *Plant Systematics and Evolution*, 298(4), 703-712.
- González-Martínez, S. C., Ersoz, E., Brown, G. R., Wheeler, N. C., & Neale, D. B. (2006). DNA sequence variation and selection of tag single-nucleotide polymorphisms at candidate genes for drought-stress response in *Pinus taeda* L. *Genetics*, 172(3), 1915-1926.
- Grivet, D., Sebastiani, F., Alía, R., Bataillon, T., Torre, S., Zabal-Aguirre, M., Vendramin G. G., & González-Martínez, S. C. (2011). Molecular footprints of local adaptation in two Mediterranean conifers. *Molecular Biology and Evolution*, 28(1), 101-116.
- Grivet, D., Sebastiani, F., González-Martínez, S. C., & Vendramin, G. G. (2009). Patterns of polymorphism resulting from long-range colonization in the Mediterranean conifer Aleppo pine. *New Phytologist*, 184(4), 1016-1028.
- Höhn, M., Gugerli, F., Abran, P., Bisztray, G., Buonamici, A., Cseke, K., Hufnagel, L., Quintela-Sabarís, C., Sebastiani, F., & Vendramin, G. G. (2009). Variation in the chloroplast DNA of Swiss stone pine (*Pinus cembra* L.) reflects contrasting post-glacial history of populations from the Carpathians and the Alps. *Journal of Biogeography*, 36(9), 1798-1806.
- Homolka, A., Schueler, S., Burg, K., Fluch, S., & Kremer, A. (2013). Insights into drought adaptation of two European oak species revealed by nucleotide diversity of candidate genes. *Tree Genetics & Genomes*, 9(5), 1179-1192.

- Jensen, J. L., Bohonak, A. J., & Kelley, S. T. (2005). Isolation by distance, web service. *BMC Genetics*, 6(1), 13.
- Kimura, M. (1983). *The neutral theory of molecular evolution*. Cambridge, Cambridge University Press. pp. 117-137.
- Krutovsky, K. V., & Neale, D. B. (2005). Nucleotide diversity and linkage disequilibrium in cold-hardiness-and wood quality-related candidate genes in Douglas fir. *Genetics*, 171(4), 2029-2041.
- Kujala, S. T., & Savolainen, O. (2012). Sequence variation patterns along a latitudinal cline in Scots pine (*Pinus sylvestris*): signs of clinal adaptation? *Tree Genetics & Genomes*, 8(6), 1451-1467.
- Lalagüe, H., Csilléry, K., Oddou-Muratorio, S., Safrana, J., de Quattro, C., Fady, B., González-Martínez, S. C., & Vendramin, G. G. (2014). Nucleotide diversity and linkage disequilibrium at 58 stress response and phenology candidate genes in a European beech (*Fagus sylvatica* L.) population from southeastern France. *Tree Genetics & Genomes*, 10(1), 15-26.
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25, 1451-1452.
- Liepelt, S., Cheddadi, R., de Beaulieu, J. L., Fady, B., Gömöry, D., Hussendörfer, E., Konnert, M., Litt, T., Longauer, R., Terhürne-Berson, R., & Ziegenhagen, B. (2009). Postglacial range expansion and its genetic imprints in *Abies alba* (Mill.)—a synthesis from palaeobotanic and genetic data. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 153(1), 139-149.
- Manni, F., Guérard, E., & Heyer, E. (2004). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human Biology*, 76(2), 173-190.
- Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27(2 Part 1), 209-220.
- Matías, L., & Jump, A. S. (2012). Interactions between growth, demography and biotic interactions in determining species range limits in a warming world: the case of *Pinus sylvestris*. *Forest Ecology and Management*, 282, 10-22.
- Milner, A. M., Müller, U. C., Roucoux, K. H., Collier, R. E., Pross, J., Kalaitzidis, S., Christanis, K., & Tzedakis, P. C. (2013). Environmental variability during the Last Interglacial: a new high-resolution pollen record from Tenaghi Philippon, Greece. *Journal of Quaternary Science*, 28(2), 113-117.
- Peakall, R. O. D., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 288-295.
- Peery, M. Z., Kirby, R., Reid, B. N., Stoelting, R., Doucet-Béer, E., Robinson, S., Vásquez-Carrillo, C., Pauli, N. J., & Palsbøll, P. J. (2012). Reliability of genetic bottleneck tests for detecting recent population declines. *Molecular Ecology*, 21(14), 3403-3418.
- Pócs, T. (1960). Die zonalen Waldgesellschaften Südwestungarns. (The zonal forest communities of southwestern Hungary) *Acta Botanica Hungarica*, 6, 75-105.
- Pravdin, L. F. (1969). *Scots pine: variation, intraspecific taxonomy and selection*. London, Ann Arbor Humphrey Science Publishers Ltd., p. 208.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945-959.

- Pyhäjärvi, T., Garcia-Gil, M. R., Knürr, T., Mikkonen, M., Wachowiak, W., & Savolainen, O. (2007). Demographic history has influenced nucleotide diversity in European *Pinus sylvestris* populations. *Genetics*, 177(3), 1713-1724.
- Sadori, L., Koutsodendris, A., Masi, A., Bertini, A., Combourieu-Nebout, N., Francke, A., Kouli, K., Joannin, S., Mercuri, A. M., Panagiotopoulos, K., Peyron, O., Torri, P., Wagner, B., Zanchetta, G., & Donders, T. H. (2015). Pollen-based paleoenvironmental and paleoclimatic change at Lake Ohrid (SE Europe) during the past 500 ka. *Biogeosciences Discussions*, 12(18), 15461-15493.
- Sebastiani, F., Pinzauti, F., Kujala, S. T., González-Martínez, S. C., & Vendramin, G. G. (2012). Novel polymorphic nuclear microsatellite markers for *Pinus sylvestris* L. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 231-234.
- Soranzo, N., Provan, J., & Powell, W. (1998). Characterization of microsatellite loci in *Pinus sylvestris* L. *Molecular Ecology*, 7(9), 1260-1261.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 585-595.
- Tantau, I., Reille, M., de Beaulieu, J. L., & Farcas, S. (2006). Late Glacial and Holocene vegetation history in the southern part of Transylvania (Romania): pollen analysis of two sequences from Avrig. *Journal of Quaternary Science*, 21(1), 49-61.
- Tantau, I., Reille, M., de Beaulieu, J. L., Farcas, S., Goslar, T., & Paterne, M. (2003). Vegetation history in the Eastern Romanian Carpathians: pollen analysis of two sequences from the Mohoš crater. *Vegetation History and Archaeobotany*, 12(2), 113-125.
- Tollefsrud, M. M., Kissling, R., Gugerli, F., Johnsen, Ø., Skrøppa, T., Cheddadi, R., van der Knaap, W. O., Latałowa, M., Terhürne-Berson, R., Litt, T., Geburek, T., Brochmann, C. & Sperisen, C. (2008). Genetic consequences of glacial survival and postglacial colonization in Norway spruce: combined analysis of mitochondrial DNA and fossil pollen. *Molecular Ecology*, 17(18), 4134-4150.
- Tribsch, A., & Schönswetter, P. (2003). Patterns of endemism and comparative phylogeography confirm palaeo-environmental evidence for Pleistocene refugia in the Eastern Alps. *Taxon*, 52(3), 477-497.
- Vendramin, G. G., Lelli, L., Rossi, P., & Morgante, M. (1996). A set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in *Pinaceae*. *Molecular Ecology*, 5(4), 595-598.
- Wachowiak, W., Balk, P. A., & Savolainen, O. (2009). Search for nucleotide diversity patterns of local adaptation in dehydrins and other cold-related candidate genes in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Tree Genetics & Genomes*, 5(1), 117.
- Wachowiak, W., Boratyńska, K., & Cavers, S. (2013). Geographical patterns of nucleotide diversity and population differentiation in three closely related European pine species in the *Pinus mugo* complex. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 172(2), 225-238.
- Wachowiak, W., Salmela, M. J., Ennos, R. A., Iason, G., & Cavers, S. (2011). High genetic diversity at the extreme range edge: nucleotide variation at nuclear loci in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Scotland. *Heredity*, 106(5), 775-787.
- Wachowiak, W., Wójkiewicz, B., Cavers, S., & Lewandowski, A. (2014). High genetic similarity between Polish and North European Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations at nuclear gene loci. *Tree Genetics & Genomes*, 10(4), 1015-1025.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Impakt faktoros folyóiratcikkek:

Tóth, E. Gy., Vendramin, G. G., Bagnoli, F., Cseke, K., & Höhn, M. (2017). High genetic diversity and distinct origin of recently fragmented Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations along the Carpathians and the Pannonian Basin. *Tree Genetics & Genomes*, 13(2), 47.

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

Lektorált folyóiratban megjelent közlemények:

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

Konferencia összefoglalók (absztrakt):

Höhn, M., Kőbölkuti, Z. A., **Tóth, E. Gy.** (2017). A Fenyőkúti tőzegláp erdeifenyves populációjának különleges helyzete molekuláris markerek vizsgálata alapján. IV. Transylvanian Horticulture and Landscape Studies Conference. Marosvásárhely. Romania.

Tóth, E., Höhn, M. (2016). A Kárpátok és a Pannon medence izolált erdeifenyő (*Pinus sylvestris* L.) populációinak molekuláris genetikai struktúrája és demográfiai története. XI. Aktuális flora- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében (11th International Conference „Advances in research on the flora and vegetation of the Carpato-Pannonian region”). Budapest, Hungary. pp. 7-8, ISBN 978-963-9877-25-2

Tóth, E., Höhn, M. (2016). Adaptive potential of fragmented Scots pine populations from the Carpathians. 5th Workshop of the AForGen network. Sacel. Romania.

Tóth, E., Vendramin, G. G., Bagnoli, F., Kőbölkuti, Z. A., Höhn, M. (2016). Filogeográfiai és adaptációs mintázat a közép-kelet-európai Erdeifenyő (*Pinus sylvestris* L.) populációkban. MTA DAB, Molekuláris biodiverzitás: taxonómia, filogenetika, filogeográfia konferencia. Debrecen, Hungary.

Tóth, E., Höhn, M. (2015). Further progresses in population genetic study of Carpathian pine populations: the case of Scots pine 4rd Workshop of the AForGen network. Bavaria, Berchtesgaden, Germany.

Tóth, E., Vendramin, G. G., Bagnoli, F., Cseke, K., Höhn, M. (2015). Genetic structure of relict and isolated Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations from Central-Eastern Europe: signals of recent population fragmentation? IUFRO Tree Biotechnology Conference 2015, Florence, Italy.

Tóth, E., Andrzej, P., Höhn, M. (2014). Diversity pattern of natural *Pinus sylvestris* L. populations from South-Western Hungary revealed by cpSSR markers. Horticulture in quality and culture of life conference. Lednice, Czech Republic.

Tóth, E., Cseke K., Höhn, M. (2014). Phylogeographic evaluation of *Pinus sylvestris* L. populations from East-Central Europe. 3rd Workshop of the AForGen network. Fafleralp canton, Valis, Switzerland.

Tóth, E., Andrzej, P., Höhn, M. (2014). Peremhelyzetű, közép-kelet európai erdeifenyő (*Pinus sylvestris* L.) populációk genetikai variabilitásának értékelése mikroszatellit markerekkel (Evaluation of genetic variability of situated Middle-Eastern-European Scots pine populations with microsatellite markers). X. Aktuális flora- és Vegetációkutatás a Kárpát-medencében. Sopron, Hungary.

Tóth, E., Andrzej, P., Höhn, M. (2013). Morphological and molecular evaluation of native Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations from south-eastern Europe. Biogeography of the Carpathians Conference. Krakow, Poland.

Tóth, E., Hufnagel, L., Höhn, M. (2012). Chloroplast microsatellite study reveal lower variability in *Pinus sylvestris* L. populations inhabiting sunny, dry habitats. Interdisciplinarity in Geoscience in the Carpathian Basin (IGCB) conference. Suceava, Romania.