



**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**

DOI: 10.54598/003720

**Kovács Zsófia**

**Budapest**

**2023**

## **A doktori iskola**

**Megnevezése:** Kertészettudományi Doktori Iskola

**Tudományága:** Növénytermesztési és kertészeti tudományok

**Vezetője:** Zámboriné Dr. Németh Éva  
tanszékvezető, egyetemi tanár, DSc  
MATE  
Kertészettudományi Intézet, Gyógy- és Aromanövények Tanszék

**Témavezetők:** Dr. Höhn Mária  
egyetemi tanár, CSc  
MATE  
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

*"An understanding of the natural world is a source of not only great curiosity, but great fulfilment."  
Sir David Attenborough*



## TARTALOMJEGYZÉK

Jelölések, rövidítések jegyzéke .....	7
<b>1. BEVEZETÉS .....</b>	<b>8</b>
<b>2. CÉLKITŰZÉSEK .....</b>	<b>10</b>
<b>3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS .....</b>	<b>11</b>
3.1. Növényi biodiverzitás védelem a világon és hazánkban .....	11
3.2. Védett növény taxonok megőrzése.....	14
3.3. Globális kihívások a védett növény taxonok megőrzésében.....	15
3.3.1. Periferiális populációk speciális helyzete .....	15
3.4. <i>Ex situ</i> megőrzés .....	16
3.4.1. Történeti áttekintés .....	16
3.4.2. Módszerek az <i>ex situ</i> megőrzésben.....	17
3.4.2.1. Magbank .....	17
3.4.2.2. Élő növénygyűjtemény .....	18
3.4.2.3. <i>In vitro</i> megőrzés .....	18
3.4.2.4. DNS bank .....	18
3.4.3. Botanikus kertek szerepe és a megőrzés lehetőségei.....	19
3.5. Az <i>ex situ</i> megőrzés lehetséges korlátai.....	20
3.5.1. Fenotípusos bélyeg („trait”) változások.....	20
3.5.2. Nem kívánt genetikai változások: genetikai sodródás, beltenyésztéses leromlás, alapító hatás és hibridizáció .....	22
3.5.3. Megoldási javaslatok az <i>ex situ</i> megőrzés korlátainak leküzdésére .....	23
3.6. A vizsgálatba vont fajok .....	24
3.6.1. Az óriás útifű ( <i>Plantago maxima</i> Juss. ex Jacq.).....	24
3.6.1.1. Taxonómiája .....	24
3.6.1.2. Elterjedése .....	24
3.6.1.3. Élőhelye és cönológiai viszonyai .....	26
3.6.1.4. Morfológiai jellemzői.....	26
3.6.1.5. Élőhelyét, fennmaradását veszélyeztető tényezők .....	27
3.6.1.6. Rokon fajok változatossága .....	27
3.6.2. A sárga len ( <i>Linum flavum</i> L.).....	28
3.6.2.1. Taxonómiája .....	28
3.6.2.2. Elterjedése .....	28
3.6.2.3. Élőhelye.....	29
3.6.2.4. Morfológiai jellemzői.....	29
3.6.2.5. Élőhelyét, fennmaradását veszélyeztető tényezők .....	30
3.6.2.6. A sárga len és közel rokon fajok változatossága.....	30
3.6.3. A kései szegfű ( <i>Dianthus serotinus</i> W. et K.) és a balti szegfű ( <i>Dianthus arenarius</i> L.) .....	30
3.6.3.1. Taxonómiájuk.....	30

3.6.3.2. Elterjedésük .....	31
3.6.3.3. Termőhelyi és cönológiai viszonyok .....	31
3.6.3.4. Morfológiai jellemzőik .....	31
3.6.3.5. Élőhelyüket, fennmaradásukat veszélyeztető tényezők .....	31
3.6.3.6. A vizsgált taxonok és közel rokon fajok morfológiai változatossága .....	32
3.7. A diverzitás feltárására alkalmazott molekuláris markerek .....	32
3.7.1. FISH – 5S és 35S rDNS .....	32
3.7.1.1. <i>Plantago</i> és <i>Dianthus</i> nemzetségben végzett FISH vizsgálatok .....	33
3.7.2. ISSR .....	33
3.7.3. cpDNS .....	33
<b>4. ANYAG ÉS MÓDSZER .....</b>	<b>35</b>
4.1. A helyszínek kiválasztásának előzményei, jellemzésük .....	35
4.1.1. Az óriás útifű vizsgált populációi .....	35
4.1.2. A sárga len vizsgált populációi .....	35
4.1.3. A kései szegfű és a balti szegfű vizsgált populációi .....	36
4.2. Morfometriai vizsgálatok .....	36
4.3. Csírázásbiológiai vizsgálatok .....	38
4.4. A vizsgált fajokkal együtt előforduló növényzet értékelése .....	38
4.5. Kromoszóma alapú vizsgálatok .....	39
4.5.1. Metafázisos kromoszóma preparáció .....	39
4.5.2. FISH jelölés .....	40
4.6. DNS- alapú vizsgálatok .....	40
4.6.1. DNS kivonás .....	40
4.6.2. ISSR- vizsgálat .....	41
4.6.3. cpDNS-vizsgálat .....	42
4.6.3.1. cpDNS-vizsgálat <i>Plantago maxima</i> fajnál .....	42
4.6.3.2. cpDNS-vizsgálat <i>Dianthus serotinus</i> és <i>Dianthus arenarius</i> fajoknál .....	43
4.6.3.3. A PCR-termékek tisztítása és szekvenálása, primer szelekció .....	45
4.7. Statisztikai analízis .....	46
4.7.1. Morfometria változók és a csírázási százalék statisztikai értékelése .....	46
4.7.2. Molekuláris markerek értékelése .....	47
4.7.2.1. ISSR .....	47
4.7.2.2. cpDNS .....	47
<b>5. EREDMÉNYEK .....</b>	<b>48</b>
5.1. <i>Plantago maxima</i> fajjal kapcsolatos eredmények .....	48
5.1.1. Morfometriai vizsgálatok .....	48
5.1.1.1. Az <i>ex situ</i> és az <i>in situ</i> populációk morfológiai összehasonlítása 2018 és 2020 között mért adatok alapján .....	48
5.1.1.2. A három <i>ex situ</i> szubpopuláció monitoringja a telepítés évétől (2016) kezdve 2020-ig .....	49

5.1.2. A vizsgált állományokban előforduló növényzet értékelése .....	51
5.1.3. Kromoszóma alapú vizsgálatok .....	54
5.1.3.1. Metafázisos kromoszóma preparáció .....	54
5.1.3.2. FISH jelölés .....	55
5.1.4. DNS- alapú vizsgálatok .....	56
5.1.4.1. <i>Plantago maxima</i> ISSR vizsgálat .....	56
5.1.4.2. cpDNS -vizsgálat <i>Plantago maxima in situ</i> és <i>ex situ</i> állományaiban .....	59
5.2. <i>Linum flavum</i> fajjal kapcsolatos eredmények .....	60
5.2.1. Morfometriai vizsgálatok .....	60
5.2.2. Csírázásbiológiai vizsgálatok .....	62
5.2.3. A vizsgált állományokban előforduló növényzet értékelése .....	63
5.3. <i>Dianthus serotinus</i> és <i>Dianthus arenarius</i> fajokkal kapcsolatos eredmények .....	66
5.3.1. Morfometriai vizsgálatok .....	66
5.3.1.1. <i>Dianthus serotinus</i> 2018-2020 <i>in situ</i> populációk morfológiai alapú vizsgálata .....	66
5.3.1.2. 2019-2020 <i>in situ</i> és <i>ex situ</i> <i>Dianthus serotinus</i> állományok morfológiai alapú összehasonlítása .....	67
5.3.1.3. <i>Dianthus arenarius</i> és <i>Dianthus serotinus</i> fajok morfológiai összehasonlítása .....	67
5.3.2. Csírázásbiológiai vizsgálatok .....	69
5.3.3. Kromoszóma alapú vizsgálatok .....	70
5.3.3.1. Metafázisos kromoszóma preparáció .....	70
5.3.3.2. FISH jelölés .....	71
5.3.4. cpDNS-vizsgálat <i>Dianthus</i> taxonoknál .....	74
<b>6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK .....</b>	<b>79</b>
6.1. Az óriás útifűvel kapcsolatos vizsgálatok összegzése, javaslatok .....	79
6.2. A sárga lennel kapcsolatos vizsgálatok összegzése, javaslatok .....	81
6.3. A kései szegfűvel és a balti szegfűvel kapcsolatos vizsgálatok összegzése, javaslatok .....	83
<b>7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK .....</b>	<b>86</b>
<b>8. ÖSSZEFOGLALÁS .....</b>	<b>87</b>
<b>9. SUMMARY .....</b>	<b>89</b>
<b>10. MELLÉKLETEK .....</b>	<b>92</b>
<b>M1. IRODALOMJEGYZÉK .....</b>	<b>92</b>
<b>M2. STATISZTIKAI TÁBLÁZATOK .....</b>	<b>113</b>
<b>M3. KIEGÉSZÍTŐ ÁBRÁK ÉS TÁBLÁZATOK .....</b>	<b>131</b>
<b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....</b>	<b>142</b>

## Jelölések, rövidítések jegyzéke

AMOVA	analysis of molecular variance - molekuláris variancia-analízis
BGCI	Botanic Gardens Conservation International - Botanikus Kertek Nemzetközi Természetvédelmi Szervezete
bp	bázispár
COST	European Cooperation in Science and Technology – Európai együttműködés a tudományos és műszaki kutatások területén
CWR	Crop Wild Relatives – Kultúrnövény vad rokonfajai
cpDNA	Chloroplast DNA – kloroplasztisz DNS
DNA	deoxiribonukleinsav
ENSCOBASE	ENSCONET online adatbázisa
ENSCONET	European Native Seed Conservation Network - Európai Természetes Magbank Hálózat
EUCARPIA	European Association for Research on Plant Breeding- Európai Növénynevelési Kutatási Szervezet
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations - Egyesült Nemzetek Szervezetének Élelmiszerügyi és Mezőgazdasági Szervezete
FISH	fluorescence in situ hybridization - fluoreszcens <i>in situ</i> hibridizáció
GSPC	Global Strategy for Plant Conservation - Növényvilág Megőrzésének Világstratégiája
IABG	International Association of Botanic Gardens - Botanikus Kertek Nemzetközi Szövetsége
IBPGR	International Board for Plant Genetic Resources - Növénygenetikai Erőforrások Nemzetközi Intézete
IGS	intergenic spacer - gének közötti elválasztó (szakasz)
IPGRI	International Plant Genetic Resources Institute - Nemzetközi Növényi Genetikai Erőforrások Intézete
ISSR	inter simple sequence repeat - köztes egyszerű szekvencia ismétlődés
ITS régió	internal transcribed spacers - belső átíródó elválasztó (szakasz)
IUCN	International Union for Conservation of Nature - Természetvédelmi Világszövetség
ML	maximum likelihood - maximum valószínűség
MABOSZ	Magyar Arborétumok és Botanikus Kertek Szövetsége
NTS	non-transcribed spacer – nem átíródó régió
PCR	Polymerase Chain Reaction – polimeráz láncreakció
RNS	ribonukleinsav
rRNS	riboszomális RNS
SSC	saline–sodium citrate – trinátrium–citrát és nátrium–klorid oldat keveréke
SSR	Simple Sequence Repeat – mikroszatellit régió
T <sub>a</sub>	annealing temperature - tapadási hőmérséklet

## 1. BEVEZETÉS

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 és ritka növénytaxonok természetes állományainak hosszútávú fennmaradását számos humán tevékenység veszélyezteti. A védett fajok megővésének elsődleges módja az eredeti élőhelyen történő megőrzés (*in situ*), azonban számos biotikus és abiotikus tényező gátolhatja a populációk hosszútávú fennmaradását. Az eredeti élőhelyen kívüli vagy *ex situ* megőrzés fontos kiegészítője az *in situ* módszernek. Lehetőséget biztosít a védett fajok megőrzésének kidolgozásában és hosszabb távú fennmaradásában, távol a populációkat veszélyeztető tényezőktől. Az *ex situ* növénymegőrzés arborétumokban és botanikus kertekben, élő növénygyűjtemények létesítésével és hosszútávú fenttartásával zajlik. 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. A stratégia következő tervezési időszakában újabb fordulóponthoz érkezett, ahol fontos cél az *ex situ* gyűjteményekben megőrzött génanyag többszempon্তু értékelése.

Az *ex situ* módszer egyik fontos célja a védett faj teljes genetikai állományának reprezentatív megőrzése. Ez a cél magában foglalja mind a morfo-fenológiai variabilitást, mind a taxonspecifikus, nagy genetikai diverzitású 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 gyűjteményes kertekben kialakított *ex situ* állományokról is kevés adat áll rendelkezésünkre.

A gyűjteményekben felléphetnek kedvezőtlen folyamatok, amik káros hatással lehetnek a megőrzött génanyagra. A genetikai variabilitás jelentős mértékű csökkenését okozhatja a genetikai sodródás és a beltenyésztéses leromlás. A genetikai sodródás különösen jelentős kis egyedszámú és izolált állományokban (Schoen és Brown 2001). A megfelelő izolációs távolság hiányában felléphet hibridizáció (keresztbeporzás más fajokkal) és introgresszió (beporzás azonos faj más populációból származó egyedeivel) (Maunder *et al.* 2004).

A gyűjteményes kerti állományok sok esetben az eredeti élőhelyüktől távol, eltérő élőhelyi és környezeti 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 állományai. Természetes populációinak morfo-fenológiai, citológiai és populációgenetikai ismeretei ezidáig hiányosak voltak. A populációk fennmaradását számos tényező veszélyezteti, így élőhelyeinek fokozatos átalakulása a túlzott mértékű folyószabályozás következtében, invazív fajok terjedése, 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, így a hosszútávú fenntartás hatásának értékelésére is lehetőség nyílt.

A kései szegfű (*Dianthus serotinus* W. et K.) hazánk endemikus, védett faja. A *Plumaria* szekció tagja. A minél precízebb és pontosabb taxonspecifikus megőrzési mód kidolgozásához állományainak molekuláris genetikai és citológiai vizsgálata rendkívül aktuális téma napjainkban. 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 Ósfenyves területéről igazolták (Somogyi 2014). Morfológiai, kromoszóma alapú és populációgenetikai értékelése az *ex situ* megőrzés kidolgozásának fontos feltétele.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

Doktori disszertációmban négy, hazánkban védett növényfaj *ex situ* megőrzésének megalapozását és kidolgozását, továbbá a megőrzött génanyag többszemponútú vizsgálatát tűztem ki célul:

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 feltárása ISSR és cpDNS markerezéssel. A kloroplasztisz DNS haplotípusok összevetése egy kazahsztáni állomány mintáival, hogy feltérképezzük a potenciálisan unikális 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.

### 3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

#### 3.1. Növényi biodiverzitás védelem a világon és hazánkban

A növények fontos szerepet töltenek be az ökoszisztémában és az emberi életben: kihatnak a légkör, a talaj és a víz összetételére, csökkentik a környezeti károk (pl. erózió) kockázatát, éghajlat szabályozó szerepük van, élelmiszer- és gyógyszeripari alapanyagok, ezen felül pedig a környezetünk szépítésére is szolgálhatnak (Raven és Wackernagel 2020). A biodiverzitás megőrzése a jövő generációk számára kiemelt jelentőséggel bír. Bizonyított tény, hogy a negatív hatásokkal szemben a diverzebb rendszerek jelentősen ellenállóbbak (Chapin *et al.* 2000). A növénytaxonok kihalásával kapcsolatos fenyegetések kisebb figyelmet kapnak szemben az állatokkal, és számos faj esetében hiányzik egy globális kihalási kockázatelemzés is (BGCI 2020, IUCN 2022, Nic Lughadha *et al.* 2020). A londoni Királyi Botanikus Kert, Kew (Royal Botanic Gardens, Kew) State of the World's Plants and Fungi 2020-as jelentése alapján a jelenleg ismert ~350 000 edényes növényfaj közül, ötből kettő kihalással veszélyeztetett (Antonelli *et al.* 2020). Az egyik legátfogóbb növényi kihalásokkal kapcsolatos kutatás szerint 1750 óta közel 571 növényfaj halt ki a Földön (Humphreys *et al.* 2019), és a jelenleg ismert fajoknak közel 40%-a kihalással fenyegetett (Antonelli *et al.* 2020). Az európai Green Deal és az EU Biodiverzitás Stratégiája 2030-ig azt a célt fogalmazta meg, hogy a biodiverzitás csökkenését el kell kerülni, és helyre kell állítani az ökoszisztémákat (Csákvári *et al.* 2021)

A növényvilág védelmének és hosszútávú megőrzésének érdekében számos nemzetközi és hazai egyezmény és ehhez kapcsolódó jogszabály került elfogadásra, amit részletesen az *Ex situ* növénymegőrzés – Gyűjteményes kertek a növényvilág megőrzéséért (Höhn *et al.* 2020) kiadvány tárgyal. Röviden a legfontosabb egyezményeket, jogszabályokat és azok fontos tartalmi összegzését a 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat: A növényvilág védelmével kapcsolatos hazai és nemzetközi egyezmények, jogszabályok táblázatos összefoglalása és rövid tartalmi összegzése.

Egyezmény/jogszabály	Rövid tartalmi összegzés
Biológiai Sokféleség Egyezmény (CBD – Convention on Biological Diversity)	Fő célkitűzés a biológiai sokféleség megőrzése, a genetikai erőforrások fenntartható használata, a javak méltányos és igazságos elosztása, hozzáférhetőség biztosítása (CBD 1992).
Növényvilág Megőrzésének Világstratégiája (GSPC- Global Strategy for Plant Conservation)	CBD COP6 2002 – 2010: 16 eredményorientált cél megfogalmazása az első tervezési időszakra - a veszélyeztetett növényfajok 60%-nak megőrzése <i>ex situ</i> gyűjteményben, és legalább 10% elérhetővé tétele rekonstrukciós és visszatelepítési programokban (CBD COP6 2002). CBD COP10 (Nagoya) 2011-2020 a stratégia megújítása – a veszélyeztetett növényfajok 75%-nak megőrzése <i>ex situ</i> gyűjteményben, és legalább 20% elérhetővé tétele rekonstrukciós és visszatelepítési programokban (CBD COP10 2010).

Egyezmény/jogszabály	Rövid tartalmi összefoglalás
European Plant Conservation Strategy (EPCS)	Planta Europa és az Európa Tanács 2002-2007-es időszakra elfogadott dokumentuma (Smart <i>et al.</i> 2002). A stratégia célja a GSPC célok végrehajtásához szükséges regionális hozzájárulás volt. Később 2008-2014 (-2020) - as időszakra megújításra került (Anderson <i>et al.</i> 2008).
Élőhelyvédelmi Irányelv [(EU Habitats Directive - 43/92/EGK) (Directive, H. (1992)].	A kedvezőtlen természetvédelmi helyzetben lévő fajok helyzetének javítása, a biológiai diverzitás megóvása, a fajok és élőhelytípusok hosszú távú fennmaradásának biztosítása, természetes elterjedésük szinten tartásával vagy növelésével. Rendelkezik a Natura 2000 hálózat kiépítéséről, fenntartásáról is.
Egyesült Nemzetek Szervezete (ENSZ) – 2030 Ütemterv a fenntartható fejlődésért Fenntartható fejlődési célok (Sustainable Development Goals - SDG)	A 15. cél a biológiai sokféleség csökkenésének megállítása (ENSZ 2019).
Magyarország Alaptörvénye	A biológiai sokféleség megőrzését fontos célként fogalmazza meg, mely nemcsak az állam, hanem mindenki kötelezettsége. Hangsúlyozza továbbá a Magyarországon őshonos növényfajok megőrzésének fontosságát (Magyarország Alaptörvénye (2011. április 25.)).
Az 1995. évi LXXXI. törvény	Kihirdeti a Biodiverzitás Egyezményt. A 9. cikkely foglalkozik az <i>ex situ</i> védelemmel, és az <i>in situ</i> intézkedés kiegészítéseként jelöli meg azt. Prioritás a megőrzés megvalósítása a származási országban. Előírja a megőrzéshez szükséges keretek megteremtését és fenntartását. A megőrzés fontos, szerves céljaként említi a vissztelepítési programokat a természetes élőhelyekre. A szerződő felek támogatásokat nyújtanak a fejlődő országok számára.
Az 1996. évi LIII. törvény a természet védelméről	Általános rendelkezéseket fogalmaz meg a biológiai sokféleség védelméről, megismeréséről és fenntartható használatáról. Minden <i>ex situ</i> megőrzés-tevékenység engedélyhez kötött és a törvény az ezzel kapcsolatos rendelkezéseket is tartalmazza. Ide tartozik mindennemű gyűjtési tevékenység, a birtoklás, kereskedelmi tevékenység és a megőrzés helyére pl: botanikus kertbe történő telepítés.

Egyezmény/jogszabály	Rövid tartalmi összefoglalás
95/2003. (VIII. 14.) FVM rendelet	Az <i>ex situ</i> megőrzés definícióját, továbbá a megőrzéshez szükséges feltételrendszert is magába foglaló rendelet. Felügyelő és döntő szerve a Génbank Tanács.
2014. évi VIII. törvény	Kapcsolódik a Biológiai Sokféleség Egyezményhez és a Nagoyai Jegyzőkönyv kihirdetéséhez. A genetikai erőforrásokhoz való hozzáférhetőséget biztosítja az <i>ex situ</i> létesítményekbe és adatbázisokba való bejutással.
Lejárt határozatok	
Az Országgyűlés 28/2015. (VI. 17.) határozata a biológiai sokféleség megőrzésének 2015–2020 közötti időszakra szóló nemzeti stratégiájáról.	
Az Országgyűlés 27/2015. (VI. 17.) OGY határozata a 2015-2020 közötti időszakra szóló Nemzeti Környezetvédelmi Programról	

Az *ex situ* megőrzés szempontjából az egyik legjelentősebb stratégiai megállapodás a Növényvilág Megőrzésének Világstratégiája (GSPC), amit részletesebben tárgyalunk a továbbiakban. A GSPC 8. célkitűzése: „A veszélyeztetett növényfajok legalább 75%-a legyen elérhető *ex situ* gyűjteményekben – lehetőleg a származási országban –, és legalább 20%-uk legyen elérhető rekonstrukciós és visszatelepítési programok számára” (CBD 2002, Höhn *et al.* 2020). A célkitűzések megvalósulási folyamatának követéséhez fontos volt kialakítani egy adatbázist, amelyben taxon szintű keresések indíthatók a gyűjteményekre vonatkozóan (élő növény, magbank, szövettenyészet stb.). A Botanikus Kertek Nemzetközi Természetvédelmi Szervezete (BGCI) által létrehozott PlantSearch adatbázist erre a célra alakították ki, ami rávilágított arra, hogy az ismert növényfajok 30%-a már megőrzésre került élő növénygyűjteményként/magbankban (O’Donnell és Sharrock 2018). Az új tervezési időszak kezdete előtt számos fontos szempontot rögzítettek a tagok, amelyek a cél megvalósulását támogatják (Pain *et al.* 2020):

- A védett és veszélyeztetett fajok aránya a botanikus kerti hálózat kapacitásának mindössze 10%-a (Mounce *et al.* 2017), ennek az arálynak a növekedése javasolt.
- Az európai vad fajok természetes populációinak diverzitása sok esetben alulreprezentált a gyűjteményekben (Ferrando-Pardo *et al.* 2016).
- Intézmények közötti szorosabb kollaboráció (pl. botanikus kert és csíraplazma bankok és mag rezervoárok) (Pain *et al.* 2020).
- Genetikai diverzitás maximalizálása és a gyűjtemények számának növelése botanikus kertekben és magbankokban (Pain *et al.* 2020).
- Mounce *et al.* (2017) ugyanakkor tanulmányában kiemeli, hogy a botanikus kertek nagy többsége a mérsékelt égövi régióban található és ez hátrányt jelent a melegégyi növényfajok megőrzése szempontjából.

Magyarország a GSPC 2011-2020-as időszakában kiemelkedően teljesített. A gyűjteményes kertekben megőrzött fajok száma 50%-al megnőtt az elmúlt évtizedben. Ez a növekedés azt eredményezte, hogy a védett és veszélyeztetett fajok 77,9%-a *ex situ* gyűjteményben megtalálható (Zsigmond *et al.* 2020). A stratégia megújítása a 2030-ig terjedő időszakra a biodiverzitás

csökkenését okozó folyamatok megállítását, 2050-re pedig a természetes ökoszisztémák helyreállítását célozza meg. További cél az *ex situ* megőrzés kiterjesztése a populáció szintű megőrzés irányába (Höhn *et al.* 2020).

### 3.2. Védett növény taxonok megőrzése

A védett és veszélyeztetett növénytaxonok hosszútávú megőrzése fontos cél és csak összehangolt tevékenységekkel valósítható meg. Az előző fejezetben a védett növények megőrzése kapcsán nemzetközi és hazai egyezmények kerültek bemutatásra. Ebben a fejezetben nemzetközi és hazai szervezeteket, programokat kívánunk röviden bemutatni.

A növényi diverzitás védelem szempontjából az egyik legfontosabb globális szervezet az IUCN (International Union for Conservation of Nature - Természetvédelmi Világszövetség). Az IUCN akciótervekkel és útmutatókkal segíti a megőrzési tevékenységeket (Miller *et al.* 2006, 2007). Az IUCN Vörös listája 1964 óta fontos információt szolgáltat adott taxon védelmi státuszáról (Callmander *et al.* 2005), ezzel lehetőséget nyújt a biodiverzitás változásainak visszakövetésére a fajok állapotának, kihalási kockázatuk szerinti értékelésével (Mace és Lande 1991, IUCN 2001, Miller *et al.* 2006, 2007). A Vörös lista a védett fajokkal kapcsolatban olyan információkat tartalmaz, mint például elterjedési terület, populáció méret, élőhelyi adatok és ökológia, növényfelhasználás, illetve kereskedelem, valamint a fajt érintő veszélyek. Ezek az információk segítik a tervezést és a politikai döntéshozatal irányítását, továbbá segítik a veszélyeztetett fajok kijelölését globális, regionális és nemzeti szinten (Butchart *et al.* 2006, IUCN 2022).

A védett és veszélyeztetett fajok megőrzésében fontos szerepet vállal a BGCI (Botanic Gardens Conservation International - Botanikus Kertek Nemzetközi Természetvédelmi Szervezete), ami a botanikával foglalkozó intézmények hálózatát alakította ki több mint 100 ország bevonásával. Tevékenységük kiterjed a botanikus kertek szerepének népszerűsítésére a döntéshozók és támogatók körében, innovatív és stratégiai projektek vezetésére, valamint tudásközpontként is működik a legjobb gyakorlatok kialakítása és tanfolyamok szervezésének céljából (Gratzfeld 2016).

A COST (European Cooperation in Science and Technology- Európai együttműködés a tudományos és műszaki kutatások területén) 2019-ben alakult akció csoportja a ConservePlants fő célja az európai növényfajok védelmének fejlesztése egy kutatókból és további érdekelt felekből álló hálózat kiépítésével, hogy taxonómiai, ökológiai, genetikai, fiziológiai és reprodukív biológiai problémákra tudjanak választ adni. A kettes számú munkacsoport feladata a „Tapasztalatok megosztása a növények *ex situ* megőrzésével kapcsolatban” (Fišer *et al.* 2021).

A European Native Seed Conservation Network (ENSCONET- Európai Természetes Magbank Hálózat) projekt célja az európai magbank hálózat kiépítése, valamint a mag megőrzési gyakorlat minőségének javítása, koordinálása és integrációja volt (Müller *et al.* 2012, Höhn *et al.* 2020). A konzorcium maggyűjtési, tárolási és adatkezelési útmutatókat készített kilenc nyelven (ENSCONET 2009 a, b). Az ENSCONET maggyűjtési kézikönyv felhasználásával Maggyűjtési kézikönyv és útmutató készült (Zsigmond 2009, 2011). 2005-ben létrehozták az ENSCOBASE-t, ami egy szabadon hozzáférhető adatbázis, ahova a tagok a saját magbankjukban megtalálható honos fajokról adatokat tölthetnek fel (ENSCOBASE 2016). Az ENSCONET más magbanki hálózatokkal összekapcsolódva elérte, hogy az európai védett növényfajok 62,7%-a hosszútávú megőrzésre került (Rivière 2018). Magyarországon 2010-2014 között a projekt nyomán megvalósult a Pannon Magbank. A projekt célja legalább 800, a Pannon Biogeográfiai Régióban

őshonos növényfaj megőrzése volt. A projekt zárásakor 910 faj megőrzése valósult meg, ebből 204 hazánkban védett növényfaj (Höhn *et al.* 2020).

Magyarországon a botanikus kerteket és arborétumokat összefogó szervezet a Magyar Arborétumok és Botanikus Kertek Szövetsége (MABOSZ). Fél száz tagkertje együttesen 1000 hektárt is meghaladó területen, több mint 20 000 növényfaj megőrzését koordinálja (Höhn *et al.* 2020). A tagkertek hosszú évtizedek óta hozzájárulnak a növényi biodiverzitás megőrzéséhez, a védett és veszélyeztetett fajok megőrzésének kidolgozásához és az ismeretterjesztéshez. 2020-ig a védett fajok 77,5%-a, a fokozottan védett fajok 80%-a került be *ex situ* gyűjteménybe és megtalálható legalább egy hazai MABOSZ tagkertben (Höhn *et al.* 2020, Zsigmond *et al.* 2020).

### 3.3. Globális kihívások a védett növény taxonok megőrzésében

Az emberi tevékenység az IUCN Vörös Listán szereplő fajok 80%-át érinti (Maxwell *et al.* 2016). A növényfajok hosszú távú fennmaradását számos tényező negatívan befolyásolja. A veszélyeztető tényezők között megemlíthető a jelentős mértékű természetes élőhely csökkenés, átalakulás, fragmentáció és degradáció (Pain *et al.* 2020). Az élőhely fragmentáció hatására megváltozhat a fajkészlet, az ökológiai interakciók, a génáramlás és genetikai diverzitás (DiBattista 2008, Vranckx *et al.* 2012, Breed *et al.* 2015, González *et al.* 2020). Az élőhely degradáció hatására is megváltozhat a genetikai diverzitás és génáramlás, a megporzók és magterjesztő fajok viselkedésének, egyedsűrűségének és diverzitásának átalakulásával (Fontúrbel *et al.* 2017, González *et al.* 2020).

A klímaváltozás a biodiverzitás védelem szempontjából vélhetően a 21. század legnagyobb fenyegetése. Hatással van a növényfajok elterjedési területeinek változására és csökkenésére (Thuiller *et al.* 2005, Bellard *et al.* 2012, Wang *et al.* 2016). Az elterjedési területek változása mellett hatást gyakorol a növények fiziológiai és fenológiai tulajdonságaira is (Hughes 2000), ennek köszönhetően pedig számos faj kerülhet a kihalás szélére.

Az invazív fajok előretörése komoly hatást gyakorol az ökoszisztéma szolgáltatásokra, úgymint tápanyag ellátottság, versengés a vízért, és tűzveszélyesség fokozódása (Vitousek és Walker 1989, Zavaleta 2000, Brooks *et al.* 2004, Hejda *et al.* 2009). Az invazív fajok rövid idő alatt nagy területeken képesek elszaporodni, terjedni és képesek dominánssá válni (Carey *et al.* 2012). Élőhelyátalakító hatásuk miatt a honos fajok kiszorulását okozhatják, ami a honos flóra diverzitásának csökkenéséhez vezethet (Schwartz *et al.* 2006, Kühn és Klotz 2006).

A mezőgazdasági tevékenység terjedésének és egyre intenzívebbé válásának hatására bekövetkező változások a globális biodiverzitás csökkenés egyik fő mozgatói (Matson *et al.* 1997, Tilman *et al.* 2001, Pain *et al.* 2020). A mezőgazdasági területek nagymértékű ténygerése miatt számos élőhely fragmentálódott, valamint a nagyfokú csatornázási tevékenység miatt a vizes élőhelyek is átalakultak (Kovács *et al.* 2018).

#### 3.3.1. Periferiális populációk speciális helyzete

A védett fajok megőrzése során fontos cél a faj teljes genetikai variabilitásának megőrzése, így a periferiális populációk védelme is. A periferiális populációk gyakran kisebb kiterjedésűek és kevésbé optimális élőhelyi körülmények között találhatóak meg, izolálódva a centrális és kontinuus populációktól (Lesica és Allendorf 1995). Ezek a kis, fragmentált populációk sokkal jobban ki vannak téve a genetikai sodródás és beltenyésztési leromlás káros következményeinek, ami tovább csökkentheti a genetikai diverzitásukat (Lesica és Allendorf 1995, Wagner *et al.* 2012).

Azonban, a periferiális populációk természetvédelmi szempontból rendkívül értékes evolúciós potenciált hordoznak, hiszen a klímaváltozás hatására az elterjedési területükben bekövetkező változás esetén fontos szerepet játszhatnak például az új területek kolonizálásában és ezzel összefüggésben a faj fennmaradásában (Lesica és Allendorf 1995, Gibson *et al.* 2009, Razgour *et al.* 2013). A leszakadó, periferiális populációk a lokális adaptáció miatt jelentős mértékben elkülönülhetnek a centrális populációktól, az eltérő szelekciós nyomás következtében. Emiatt egyedi ökológiai és genetikai variabilitást (unikális genotípusokat) is hordozhatnak (Hampe és Petit 2005, Osborne *et al.* 2012). Recens filogeográfiai kutatások is azt támasztják alá, hogy a fajon belüli genetikai diverzitás fontos centrumai a periferiális populációk (García-Ramos és Kirkpatrick 1997, Lenormand 2002). A periferiális populációk megőrzésével az evolúciós folyamatok és a lehetséges evolúciós diverzitás segíthető (Lesica és Allendorf 1995).

### **3.4. *Ex situ* megőrzés**

#### **3.4.1. Történeti áttekintés**

Az *ex situ* megőrzés története arra az időre nyúlik vissza, amikor megnőtt a mezőgazdasági igény a magasabb hozamú növények iránt. Ezzel párhuzamosan csökkent a hagyományos növényfajták és tájfajták száma. A nagyobb hozamú növényfajták használata felgyorsította a genetikai erózió folyamatát, ezért a figyelem az *ex situ* megőrzési törekvésekre irányult (Scarascia-Mugnozza és Perrino 2002). A diverzitásvesztés felismerése óta nagy erőfeszítések történtek a kultúrnövények és a vadon élő rokonaik (CWR-Crop Wild Relatives) *ex situ* megőrzése érdekében. Európában a modern génbankokat Vavilov alapozta meg, aki expedíciói során mintegy 50 000 magmintát gyűjtött (Plucknett *et al.* 1987). Az Európai Növénynevelési Kutatási Szervezet (EUCARPIA) volt az első olyan szervezet, amely ökoregionális génbankok alapítását javasolta, és figyelmeztetett a genetikai erőforrások elvesztésének veszélyére. Az Egyesült Nemzetek Szervezetének Élelmészügyi és Mezőgazdasági Szervezete (FAO) kulcsszerepet játszott a genetikai erőforrások megőrzésében. Az 1967-es FAO/IBP konferencián globális stratégiát dolgoztak ki a növényi genetikai erőforrások megőrzésére. Széleskörű egyetértés volt az *in situ* és *ex situ* módszerek általános fejlesztésében, és ettől kezdve az *ex situ* megőrzés egyre dominánsabb és támogatottabb stratégiává vált. Új irányelvek születtek egy globális hálózat kiépítésére az *ex situ* hosszú távú megőrzés támogatásának érdekében. Létrejött az *ex situ* gyűjtemények kategorizálása is: a hosszú távú megőrzést szolgáló alapgyűjtemények, a kutatást támogató aktív gyűjtemények és a többnyire növénynevelési intézmények által fenntartott munkagyűjtemények. 1973-ban újabb FAO/IBP konferenciát tartottak, ahol optimális mintavételi stratégiákat és technikákat dolgoztak ki az *ex situ* gyűjteményekhez (Frankel és Hawkes 1975). A Növénygenetikai Erőforrások Nemzetközi Intézete (IBPGR) 1974-ben alakult meg és a génbankok koordinációs központjává vált. A legtöbb génbankot 1970 és 1980 között alapították, 1984-re pedig az IBPGR-hez tartozó génbankok száma 30 országból 40 gyűjteményt foglalt magába. 1991-ben megalakult a Nemzetközi Növényi Genetikai Erőforrások Intézete (IPGRI), ami közel 220 000 csiraplazma gyűjteményt koordinál, ami a főbb élelmiszernövények nagyrészt veszélyeztetett tájfajtáinak és vadon élő rokonainak gyűjtését és tárolását teszi lehetővé világszerte (Engels 2004).

A védett növényfajokkal kapcsolatos *ex situ* megőrzés az IUCN megalapításával vette kezdetét 1948-ban. Mivel a botanikus kertek fontos háttér intézmények voltak az *ex situ* fajmegőrzés megvalósításában megalakult a Botanikus Kertek Nemzetközi Szövetsége (IABG). A



szövetség koordinálta a mentési programokat és a védett fajokkal kapcsolatos biológiai, ökológiai kutatásokat, valamint a megőrzési mód kidolgozását. Az IUCN 1960-ban kiadott Vörös Listája tovább növelte az *ex situ* védelem szükségességét (Isépy *et al.* 2013, Höhn *et al.* 2020). A nemzetközi botanikus kerti kongresszus 1985-ben a botanikus kertek változó szerepéről, és az *in situ* és *ex situ* megőrzési módok lehetőségeiről, meghatározta a kertekre váró feladatokat (Given 1987, Höhn *et al.* 2020). A megfelelő fajvédelmi tevékenységek összehangolása a kertek között egy szorosabb együttműködést kívánt meg, ezért 1987-ben megalakult a Botanikus Kertek Nemzetközi Természetvédelmi Szervezete (BGCI), ami a mai napig egyike a legmeghatározóbb koordinátor szervezeteknek. 1993-ban a Biológiai Diverzitás Egyezmény külön fejezetben foglalkozott az *ex situ* megőrzés létesítési, kutatási, fenntartási, gazdasági és kooperációs kérdéseivel (CBD 1992, Isépy *et al.* 2013). A Növényvilág Megőrzésének Világstratégiája (GSPC) 2002-ben készült el több mint 800 botanikus kert részvételével. Fő célja a növényi diverzitás csökkenésének megállítása volt. 2010-ben megújításra került a stratégia és a 8. célkitűzés kapcsán külön az *ex situ* megőrzésre helyezték a hangsúlyt „A veszélyeztetett növényfajok legalább 75 százaléka legyen elérhető *ex situ* gyűjteményekben – lehetőleg a származási országban – és legalább 20 százalékuk legyen elérhető rekonstrukciós és visszatelepítési programok számára” (CBD 2010, Mounce *et al.* 2017, O’Donnell és Sharrock 2017). Ez a tervezési időszak 2020-ban járt le, jelenleg is folyik az újabb stratégia előkészítése 2020-2030 (2050)-re. A 2030-ig tartó fő célkitűzés a biodiverzitás csökkenését okozó folyamatok megállítása, 2050-re pedig a természetes ökoszisztémák helyreállítása. Az *ex situ* megőrzés esetében fontos változtatási terv az egyed szintű megőrzés kiterjesztése a populáció szintjére, ami a visszatelepítési programokat és élőhely helyreállításokat is támogatni tudja (Höhn *et al.* 2020).

### 3.4.2. Módszerek az *ex situ* megőrzésben

Az *ex situ* megőrzés fő célja nem az *in situ* megőrzés leváltása, hanem válaszok, megoldások nyújtása a természetvédelmi megőrzési gyakorlatban felmerülő kérdésekre. Továbbá fontos cél a meglévő vadon élő populációk hosszútávú fennmaradásának támogatása (Maunder *et al.* 2004, Given 1987). Az *ex situ* megőrzés széles skálán mozgó módszertani megoldásokat foglal magába. A választást a rendelkezésre álló növényi anyag (vegetatív és/vagy generatív növényi rész), a fenntartás intenzitásának mértéke és az anyagi korlátok együttesen határozzák meg (Maunder *et al.* 2004, Hawkes *et al.* 2012). Amennyiben lehetőség van rá, több módszer együttes használata javasolt a minél szélesebb körű és nagyobb biztonságot nyújtó megőrzés érdekében. A módszerek Maunder *et al.* (2004) összegzése alapján az alábbiak:

#### 3.4.2.1. Magbank

A magok hosszú távú megőrzése hideg ( $-18 \pm 3$  °C) és száraz ( $15\% \pm 3$  relatív páratartalom) környezetben történik (FAO 2014), ez az egyik leggyakrabban alkalmazott módszer a vad fajok *ex situ* megőrzésére (Schoen és Brown 2001, Linington és Pritchard 2001, Volis és Blecher 2010). Az orthodox (kiszáradástűrő) magok tárolására alkalmazható módszer (Wyse *et al.* 2018), ami egyszerűen hozzáférhetővé és gazdaságosan tárolhatóvá teszi a magokat, alacsony a fenntartási költsége, a tételek védettek a kórokozókkal és kártevőkkel szemben (Ashton 1987, Roberts 1991, Schoen és Brown 2001, Volis és Blecher 2010). Negatívumként említhető meg, hogy azoknak a taxonoknak a magja nem őrizhető meg magbankban, amelyeknek rekalitráns (kiszáradásra érzékeny) magjaik vannak vagy nyugalmi periódussal nem rendelkeznek és gyorsan kicsíráznak

(Volis és Blecher 2010, Li és Pritchard 2009). Továbbá a spórák érzékenyek a fagyasztásra, így a magbanki megőrzés számukra sem optimális (Walters 2015, Pence *et al.* 2020).

### 3.4.2.2. Élő növénygyűjtemény

- quasi *in situ* (*inter-situ*): Híd az *in situ* és *ex situ* megőrzés között: Az *ex situ* gyűjteményt természetes vagy közel természetes környezetbe telepítik, így a semleges és adaptív genetikai diverzitás is megőrizhető (Volis és Blecher 2010).
- termesztés speciális természetvédelmi célú létesítményben: A veszélyeztetett fajok termesztés és szaporítás céljából, taxon-specifikus kertészeti rendszerben termesztése.
- speciális termesztés ellenőrzött környezetben: Mesterséges környezetben termesztett növények (pl.: trópusi fajok megőrzése fűtött üvegházakban a mérsékelt égövi régióban). Nagy beruházási és fenntartási költség jellemzi.
- termesztés bemutató- vagy referenciagyűjteményben (botanikus kerti megőrzés): Referenciagyűjtemény részeként termesztett növények, a gyűjteményes kert természetes környezeti feltételei mellett. A botanikus kertekben és arborétumokban sok esetben a gyűjtemények taxonómiai egységekben kerülnek bemutatásra.
- szabadföldi génbank: Szabadtéri, extenzív fenntartás a fajon belüli genetikai sokféleség megőrzésére, leggyakrabban fás szárú kereskedelmi fajok esetében alkalmazott módszer.

### 3.4.2.3. *In vitro* megőrzés

Szövetkultúra esetében laboratóriumi steril, kontrollált körülmények között, szabályozott hőmérsékleti és fényviszonyok mellett lehetőség van a hosszútávú tárolásra, ebben az esetben a lassú növekedési ütem elérése a cél. Az *in vitro* génbankok fő célja a védett fajok növényi mintáinak hosszú távú tárolása és fenntartása, ami lassú növekedésű tenyészetekkel érhető el. A mikroszaporítás során ezzel szemben a cél nem a hosszú távú tárolás, hanem a gyors felszaporítás. Ezzel a technikával nagy mennyiségben előállítható növényi anyag, rövid idő alatt pl. visszatelepítési célra (Maunder *et al.* 2004). Sokféle növényi szövet használható *in vitro* tenyészetek indítására: hajtások, náduszok, levelek, gyökerek, virágrészek, zigóta, embrió, magvak, spórák (Pence *et al.* 2020). Negatívumként említhető még ennél a típusú megőrzési módnál a klonális szaporításból adódó genetikai diverzitás beszűkülése. Ez a kockázat a steril magvetéssel jobban elkerülhető. Valamint fontos tényező a szomaklonális variabilitás is, ez a változás azonban kedvező is lehet a nagymértékben beszűkült genetikai bázissal rendelkező fajok esetében (Pence 2004, Jacobsen és Dohmen 1990).

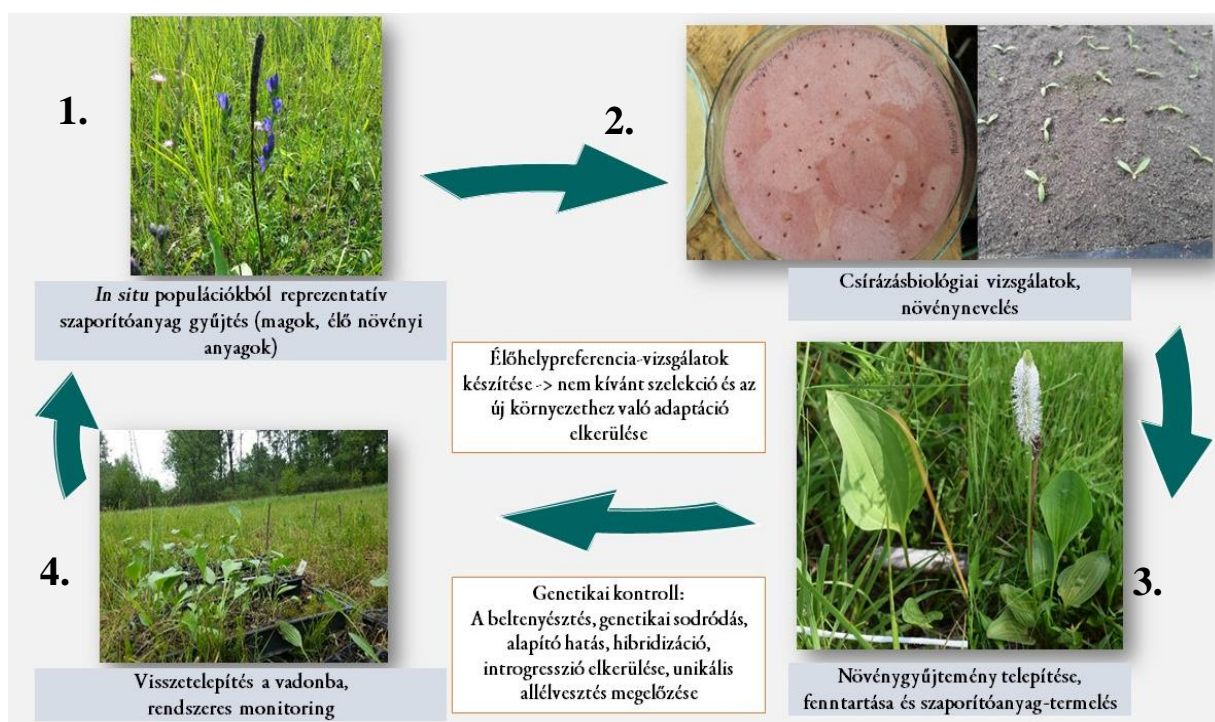
A krioprezerváció egy olyan fagyasztásos eljárás, ahol folyékony nitrogénben magok, pollen vagy növényi szövet hosszútávú megőrzése valósítható meg. Leginkább mezőgazdasági és kertészeti taxonok hosszútávú tárolására szolgál, emellett egyre gyakrabban használják vadon élő fajoknál is.

### 3.4.2.4. DNS bank

Teljes DNS vagy genom fragmensek (genom könyvtárak) hosszútávú tárolása. A jelentős genetikai információtartalom miatt a gén és genom megőrzésben fontos szerepük van (Andersson 2004, Ebert *et al.* 2006). A minta könnyebben és alacsonyabb költséggel szállítható, mint például az élő növények. Evolúciós és összehasonlító genomikai vizsgálatok bázisaként szolgálhatnak

konzervációbiológiai kutatásokhoz. Limitáló tényező a jelentős infrastrukturális háttér és a szakképzett humán erőforrás iránti igény (Ebert *et al.* 2006).

Az *ex situ* megőrzés legfontosabb lépéseit az 1. ábra mutatja be. A megőrzés kezdeti lépése a növényanyag begyűjtése az *in situ* populációkból olyan mértékben, hogy az ne akadályozza a természetes populáció fennmaradását. Ugyanakkor fontos követelmény, hogy a begyűjtött génanyagból genetikailag reprezentatív állomány kialakítása valósuljon meg. Ez a megőrzési módtól függően történhet vegetatív- vagy generatív növényi szerv gyűjtésével. A begyűjtött szervek egy rövid tárolási, majd előkészítési (pl. magok megtisztítása, felületi sterilizálása) időszak után regenerációs (első sorban a szövettenyésztési módszerek esetében) és/vagy felszaporítási fázison mennek keresztül. Ebben az időszakban lehetőség van csírázásbiológiai kísérletek beállítására is. Ezek az eredmények az *in situ* állományok kezeléséhez is fontos információt nyújthatnak. A fenntartási szakaszban a növényanyag életképességének, vigorának, vitalitásának és egészségi állapotának értékelésére is lehetőség nyílik. Ezek a vizsgálatok az alkalmazott *ex situ* megőrzési módszer sikerességének értékelésében is szerepet játszanak. Az utolsó fázis a szaporítóanyag gyűjtés, mikroszaporítás esetén az akklimatizációs fázis. Az utolsó lépés a visszatelepítés az eredeti élőhelyre állomány erősítés céljából vagy új állomány létrehozása (Zsigmond *et al.* 2020, Pineda *et al.* 2007).



1. ábra: Az *ex situ* megőrzés gyűjteményes kert folyamatábrája a *Plantago maxima* példáján (Kovács *et al.* 2021 nyomán)

### 3.4.3. Botanikus kertek szerepe és a megőrzés lehetőségei

Az első gyűjteményes kertek az ókori időkben származnak, Egyiptom és Mezopotámia területéről (O'Donnell és Sharrock 2018, Faraji és Karimi 2022). Ezek a kertek elsősorban gazdasági és esztétikai célokat szolgálták (Greene 1910). A klasszikus értelemben vett botanikus kertek (oktatási és tudományos célt szolgálva) Olaszországból indultak, az első kertek az orvosi egyetemekhez tartozó gyógynövénykertek voltak, az elsőt Pisában alapították 1543-ban (Britton 2016, Faraji és Karimi 2022). Hazánk első botanikus kertje a Fűvészkert, amit 1771-ben alapítottak

(Höhn *et al.* 2020). Ma már a BGCI GardenSearch felületén ([https://tools.bgci.org/garden\\_search.php](https://tools.bgci.org/garden_search.php)) 3757 botanikai intézet található. Az IUCN definíciója alapján a botanikus kert olyan kert, amely tudományosan rendezett és fenntartott, megfelelően jelölt és dokumentált növények gyűjteményét tartalmazza, rekreációs, oktatási és kutatási céllal látogatható a nagyközönség számára (Griffiths és Huxley 1992).

A botanikus kertek számos szerepet látnak el, így helyet adnak tudományos kutatásoknak, az *in* és *ex situ* megőrzés és fenntartás helyszínei, valamint a közösségi tudomány és tudománynépszerűsítés fontos szereplői (Chen és Sun 2018). A botanikus kertek nagy biológiai diverzitás megőrzésére képesek. Jelenleg a világon több mint 6 millió élőnövény gyűjtemény található, melyekben 80 000 taxon megőrzése valósul meg (Wyse Jackson 2001, O'Donnell és Sharrock 2017). A gyűjtemények alkalmasak növényi funkcionális bélyeg alapú vizsgálatokra, növényi fenológiai vizsgálatokra, a klímaváltozás növényekre gyakorolt hatásának monitorozására (Primack *et al.* 2021). Ezen felül fontos szerepük van a fajok hosszútávú megőrzésében restaurációs és rehabilitációs céllal. A restaurációs ökológia számára populációgenetikai és taxonómiai vizsgálatok értékes helyszínei. Növények és állatok közötti interakciók megfigyelésére is alkalmas helyszín, úgymint megporzó ökológiai, magterjesztési vizsgálatok. Inváziós fajok biológiájával kapcsolatos kutatások helyszíne. Ezen felül a botanikus kertekben fontos magbiológiai és magbank ökológiai kutatások is zajlanak (Hardwick *et al.* 2011).

A botanikus kertek a védett fajok megőrzésének fontosságát és a megőrzési módokat is bemutatják szélesebb körű hallgatóság előtt. Emellett a növények szerepére, azok humán vonatkozású funkciójára is feltudják hívni a figyelmet, ezzel megőrizve a hagyományos és lokális ismereteket, valamint a növényi erőforrások fenntartható felhasználásának ösztönzését is lehetővé teszik (Hurka 1994).

### **3.5. Az *ex situ* megőrzés lehetséges korlátai**

#### **3.5.1. Fenotípusos bélyeg („trait”) változások**

Az *ex situ* gyűjteményekben megőrzött génanyag fontos kritériuma, hogy a természetes élőhelyre történő visszatelepítésre alkalmas maradjon. Ennek fontos indikátorai a fenotípusos bélyeg (trait) változások, úgy, mint fenológiai eltérések, fitnessz csökkenés, életmenethez kapcsolódó bélyegek változása, csírázásbiológiai változások (csírázási idő eltolódása, csírázási erély változás) (Ensslin és Godefroid 2019).

A természetes élőhelytől eltérő környezeti és társulástani viszonyok jelentős evolúciós adaptációt okozhatnak a hosszú távú *ex situ* megőrzés során. Az intenzív kertészeti fenntartás a rendszeres öntözés, gyomlálás és növényvédelmi kezelések alkalmazásával, a nem tudatos szelekció (unconscious selection) további nyomást gyakorol a megőrzött génanyagra (Ensslin és Godefroid 2019). Ennek eredményeként a fajok toleranciája szélsőségesebb élőhelyek esetében jelentősen lecsökken, a gyommentesen tartás pedig a kompetíciós képesség csökkenését eredményezheti, ami a visszatelepítés megghiúsulásával is járhat. A genetikai sodródás és a beltenyésztéses leromlás a fitnessz paraméterekben bekövetkezett negatív változásokat okozhat (Ellstrand és Elam 1993), úgymint csökkent biomassza produkciót vagy magméret csökkenést (Ensslin *et al.* 2018, Ensslin *et al.* 2019). A fenotípusos bélyegek rendszeres nyomonkövetése tehát a genetikai változások indikációjára is alkalmazható.

A morfo-fenológiai tulajdonságok szignifikáns változásáról több tanulmány beszámol, ugyanakkor fontos kiemelni a bélyeg alapú vizsgálatok jelentősen kisebb számát a genetikai

vizsgálatokhoz képest. Ensslin *et al.* (2015) vizsgálatukban arról számoltak be, hogy az *ex situ* gyűjteményekben megőrzött egyedek jelentősen alacsonyabb fitnessz paraméterekkel rendelkeztek, mint *in situ* társaik. Ezt a különbséget a genetikai sodródással magyarázták. Hasonló eredmény született Rauschkolb *et al.* (2019) vizsgálatában, ahol fajsztípus változások következtek be a morfológiai bélyegeken. Az *ex situ* egyedek csökkent teljesítménnyel rendelkeztek, és a genetikai sodródás, a beltenyésztési depresszió, valamint a kerti körülményekhez való gyors adaptáció következtében a differenciálódás gyorsan megtörtént.

Az *Oenothera organensis* faj *ex situ* gyűjteményben megőrzött egyedeinél is változást tapasztaltak a fenotípusos bélyegeken. A gyűjteményes kerti egyedek virágmorfológiai bélyegei nagyobb variabilitást mutattak az *in situ* állományok egyedével összehasonlítva, továbbá fenotípusbeli eltolódást is kimutattak, amit a csökkent szelekciós nyomással magyaráztak (Li *et al.* 2023).

Az *ex situ* megőrzés során az eltérő környezetbe ültetett fajok egyedeinek ökofiziológiai bélyegeken bekövetkezett változásával igen kevés tanulmány foglalkozik. Sun *et al.* (2022) fa és cserjefajok vizsgálata során több paraméter mentén (pl: fényválasz görbe, CO<sub>2</sub> válasz görbe, klorofill tartalom, levelek vízpotenciálja) vizsgálták a fajok egyedeinek az új környezethez történő adaptációját. Az *in situ* egyedek jobb vízhasznosítási és fényhasznosítási mutatókkal rendelkeztek a gyűjteményes kerti egyedekhez képest, amit az eltérő környezettel, mint faktor tényezővel magyaráztak.

Solberg *et al.* (2015) a *Trifolium pratense* L. *in situ* és *ex situ* populációinak összehasonlítása során pozitív fitnessz változást mutattak ki az *ex situ* gyűjteményben (nagyobb biomassza produkció), amit a kertben megtalálható kertészeti fajták jelenlétével és a génáramlással, valamint a pozitív szelekcióval magyaráztak. Az *ex situ* gyűjteményben tehát nem csak negatív, hanem pozitív irányban is eltolódhatnak a morfológiai tulajdonságok.

A környezeti stresszel szembeni tolerancia fenntartása fontos szempont a megőrzés során. Ensslin és Godefroid (2020) több fajra kiterjedő kísérletet végeztek, ahol a morfológiai tulajdonságok változékonyságának csökkenését (csírázási arány, biomassza és levélhossz) és a rosszabb szárazságstressz tűrést tapasztalták. A változás nagyobb volt a szárazságtűrő, mint a szárazságra érzékeny fajok esetében. A természethez közeli élőhelyviszonyok biztosítása a megőrzés során kiemelten fontos, mert eltérő környezeti viszonyok között a faj evolúciós potenciálja csökkenhet, ami veszélyeztetheti a fajok túlélési képességét az újratelepítést követően. Az *ex situ* gyűjteményben fennálló stresszt vizsgálta Asgher *et al.* (2020) a *Valeriana wallichii* DC. faj esetében. A fotoszintetikus és növekedési tulajdonságok csökkentek, a prolin, az ornitin aminoszferáz, a pirrolin-5-karboxilát reduktáz emelkedett, és a reaktív oxigénfajták (ROS) nagyobb felhalmozódása oxidatív stresszre utalt és nagyobb metabolit akkumulációt eredményezett az *ex situ* gyűjtemény egyedeinél.

A csírázásbiológiai tulajdonságokban bekövetkező változások közül az egyik fontos bélyeg a csírázási arány, amire a nem tudatos szelekció nagy hatást gyakorolhat. A csírázásbiológiai vizsgálatok során a korai csírázású egyedek megőrzése és kiültetése szelekciós hatást fejt ki a magnyugalommal szemben (Basey *et al.* 2015). A *Cynoglossum officinale* L. populációinak vizsgálata során az *in situ* és az *ex situ* állományokban is hasonló volt a maghozam, de a kisebb diverzitású *ex situ* állomány kisebb átlagos magtömeget és szignifikánsan magasabb csírázási százalékot mutatott (Ensslin *et al.* 2011). Ensslin *et al.* (2018) 72 faj csírázási jellemzőinek vizsgálata során az *ex situ* körülmények között fejlődő növények magasabb csírázási százalékát és alacsonyabb dormancia indexét mutatták ki a vadon élő populációk egyedeihez képest. A rövid

életű fajok esetében jelentős mértékben növekedett a csírázási erély és a magok nyugalmi állapotának (dormancia) elvesztése botanikus kerti megőrzés során az élő fajokhoz képest. A gyors generációváltással jellemezhető rövid életű fajok esetében a csírázási tulajdonságok megőrzése, a magok hűtve tárolásával és a rövid távú megőrzési idővel javasolt (Ensslin *et al.* 2018).

Egy friss tanulmányban (Ensslin *et al.* 2023) a csírázásbiológiai tulajdonságokban bekövetkezett változások repatriációra és fitnessz paraméterekre gyakorolt hatását vizsgálták a *Digitalis lutea* fajnál. A kutatás során egy 30 éves gyűjteményes kerti, magbanki és *in situ* állományból származó génanyagot vizsgáltak. A gyűjteményes kerti és magbanki tételek egy *in situ* populációból származtak, az *in situ* populáció pedig az eredeti vad populációhoz közeli állományból származott. Az *ex situ* gyűjteményből származó magok laboratóriumi körülmények között hideg sztratifikáció nélkül is csíráztak, ugyan akkor a kültéri tenyészedényes kísérletnél csak pár mag csírázott tél előtt, és minden mag dormans állapotban maradt amikor az eredeti termőhelyre vetették el. A visszatelepítési kísérlet során a vad populációból származó egyedeket, valamint *ex situ* élő gyűjteményből és magbanki mintából nevelt egyedeket telepítettek ki az eredeti élőhelyre és 3 éven keresztül nyomon követték az állományokat. Ebben a kísérletben a vad populációból származó egyedek minden fitnessz paraméterben felülmúlták a két *ex situ* gyűjteményből (élő gyűjtemény és magbank) származó egyedeket a hároméves vizsgálati periódus alatt. Ezek az eredmények megerősítik azt a feltételezést, hogy az *ex situ* megőrzés során fellépő adaptációs változásokat megtartják az adaptálódott populációk és negatívan hathatnak a visszatelepítés sikerességére is. Ugyan akkor a laboratóriumi körülmények között tapasztalt változások a csírázásbiológiai tulajdonságokban, nem feltétlenül ültethetők át a természetes környezeti viszonyokra.

### **3.5.2. Nem kívánt genetikai változások: genetikai sodródás, beltenyésztéses leromlás, alapító hatás és hibridizáció**

Az *ex situ* gyűjteményekkel szemben támasztott egyik fontos kritérium a genetikai reprezentativitás, ami egyben fontos paraméter a megőrzési stratégia sikerességének értékeléséhez (Maunder és Byers 2005, Cibrian-Jaramillo *et al.* 2013). Az *ex situ* megőrzés egyik komoly limitáló tényezője a rendelkezésre álló terület mérete. Emiatt sok esetben kis egyedszámú és izolált populációkként tekinthetünk a gyűjteményekre (Maunder *et al.* 2001), amelyek eredendően ki vannak téve olyan genetikai kockázatoknak, mint a genetikai sodródás, a beltenyésztéses leromlás vagy az alapító hatás (Lande 1994, Husband és Campbell 2004).

A genetikai sodródás (genetic drift) az allélgyakoriság véletlenszerű változását okozza generációról generációra, véletlenszerűen meghatározott események miatt (Allendorf *et al.* 2013). A hatás igen erőteljes a Hardy-Weinberg egyensúlytól eltérő populációk esetében (Allendorf *et al.* 2013), így a kis egyedszámú *ex situ* populációk esetében is. A káros allélok fixációja miatt a fitnessz paraméterek leromlása is bekövetkezhet, valamint a nagyobb mértékű feldúsulásuk esetén a populáció kihalását is okozhatják (Wright 1931, Kimura *et al.* 1963, Lynch és Gabriel 1990, Whitlock 2003). A beltenyésztéses leromlás rokon egyedek szaporodása során jelentkezik. A folyamat növeli a homozigóták arányát, allélvesztést okoz és fitnessz csökkenést eredményez a genetikai sodródáshoz hasonlóan (Charlesworth és Charlesworth 1999). Jelentős genetikai diverzitás csökkenésről és az *in situ* és *ex situ* populációk közötti differenciálódásról több kutatás is beszámol (Ensslin *et al.* 2011, Rucińska és Puchalski 2011, Brütting *et al.* 2012, Lauterbach *et al.* 2012, Christe *et al.* 2014, Wilson *et al.* 2017, Li *et al.* 2018, Aguiar *et al.* 2020, Chacón-Vargas



*et al.* 2019). Az *ex situ* gyűjtemények többsége Wei és Jiang (2021) kutatása alapján nem őrzi meg a vad populációk genetikai variabilitását. A kutatás szerint ez az eredmény a rossz gyűjtési protokollnak és az *ex situ* megőrzés során fellépő genetikai erózióknak tudható be. Ugyanakkor fontos kiemelni, hogy pozitív példákat bemutató kutatási eredményeket is ismerünk magas genetikai diverzitással és ritka, unikális allélokkal rendelkező *ex situ* gyűjteményekről (Etisham-Ul-Haq *et al.* 2001, Li *et al.* 2002, Namoff *et al.* 2010, Chen *et al.* 2013, Christe *et al.* 2014, Miao *et al.* 2015, Guimarães *et al.* 2019, Gargiulo *et al.* 2019, Tong *et al.* 2020)

A kis egyedszám mellett a szaporodási stratégia és a beporzás módja nagyban befolyásolja a lehetséges beltenyésztettség arányát (Charlesworth és Charlesworth 1999, Frankham *et al.* 2017, Ensslin és Godefroid 2019). Az alapító hatás kis egyedszámmal létesített populációkban jelentkezik, ahol a ritka és unikális allélok eltűnhetnek. Ez az eredeti populációvariabilitás alulreprezentáltságát okozhatja, emellett pedig káros allélok feldúsulásához is vezethet (Allendorf *et al.* 2013, Guerrant *et al.* 2004).

A keresztbeporzás során nem kívánt génáramlás következhet be rokon fajok között, ami hibridek kialakulásához vezethet. Ez a folyamat a taxonómiai gyűjteményekben gyakran felléphet, de a gyűjteményes kertben vadon előforduló rokon fajok is okozhatnak problémát (Maunder *et al.* 2004, Ensslin és Godefroid 2019). Az introgresszió során azonos fajba tartozó, de eltérő populációkból származó egyedek között fellépő génáramlásról van szó, a hibridek pedig visszakereszteződhetnek az egyik vagy mindkét szülőpartnerrel (Rhymer és Simberloff 1996).

A veszélyeztetett fajok populációira jellemző lehet az intraspecifikus kromoszómaszám variabilitás. Az eltérő kromoszóma számú egyedek között fellépő keresztbeporzás során az utódokban teljes vagy részleges sterilitás tapasztalható (Bruneau és Anderson 1988, Ramsey és Schemske 1998, 2002, Burton és Husband 2001, Levin 2002). Ez később a visszatelepítés sikertelenségéhez is vezethet a csökkent fitnessz következtében (Severns és Liston 2008). Emiatt azokban az esetekben, ahol nincs irodalmi adat, vagy a populációk közötti ploidiaszint különbség feltételezhető, fontos számolni ennek a kockázatával.

### 3.5.3. Megoldási javaslatok az *ex situ* megőrzés korlátainak leküzdésére

Ahogy egyre több kutatás és tanulmány jelenik meg az *ex situ* megőrzéssel kapcsolatosan, úgy fogalmazódik meg egyre több és részletesebb javaslat a megőrzés finomhangolására vonatkozóan (Havens *et al.* 2004, Ensslin és Godefroid 2019, Hoban 2019, 2020, Kovács *et al.* 2021). Az adaptációs változások elkerülése érdekében fontos, hogy a korai és kései csírázású egyedek is megőrzésre kerüljenek, ezzel a dormancia elvesztését is nagymértékben csökkenthetjük (Basey *et al.* 2015). A természetes élőhelyi körülményekhez minél hasonlóbb környezetbe telepítés (*quasi in situ* / *inter situ*) szintén csökkentheti a rossz adaptációs mechanizmusokat (Volis és Blecher 2010). A rövid életű fajoknál a megőrzési idő lerövidítésével és a generációk számának limitálásával az evolúciós változások mértékét csökkenthetjük, ilyenkor a magbanki fenntartás előnyösebb (Schoen és Brown 2001, Havens *et al.* 2004).

A nem kívánt genetikai változások elkerülése érdekében javasolt a nagyobb effektív populáció méret kialakítása (Volis 2017, Ensslin és Godefroid 2019). A minimális méret meghatározásánál fontos figyelembe venni a faj beporzási tulajdonságait, reprodukív stratégiáit (Basey *et al.* 2015, Ensslin *et al.* 2015). Azonos nemzetségbe tartozó taxonok között is nagyobb eltérések lehetnek a genetikailag reprezentatív minimum gyűjteményméretek között. Ezért javasolt lehetőleg az összes vad populációból, minél több egyedről magot gyűjteni (Hoban *et al.* 2020). A genetikai sodródással és beltenyésztési depresszióval szemben az effektív populáció

méret alkalmazása mellett javasolt a rendszeres időközönként történő új génanyag betelepítése az eredeti populációból (Ensslin és Godefroid 2019), a kontrollált pollináció és megporzók hiányában beporzók telepítése a gyűjtemény környezetébe (Xiao *et al.* 2019). A hibridizáció és introgresszió elkerülése érdekében fontos a megfelelő izolációs távolság kialakítása (Basey *et al.* 2015, Ensslin és Godefroid 2019).

### **3.6. A vizsgálatba vont fajok**

#### **3.6.1. Az óriás útifű (*Plantago maxima* Juss. ex Jacq.)**

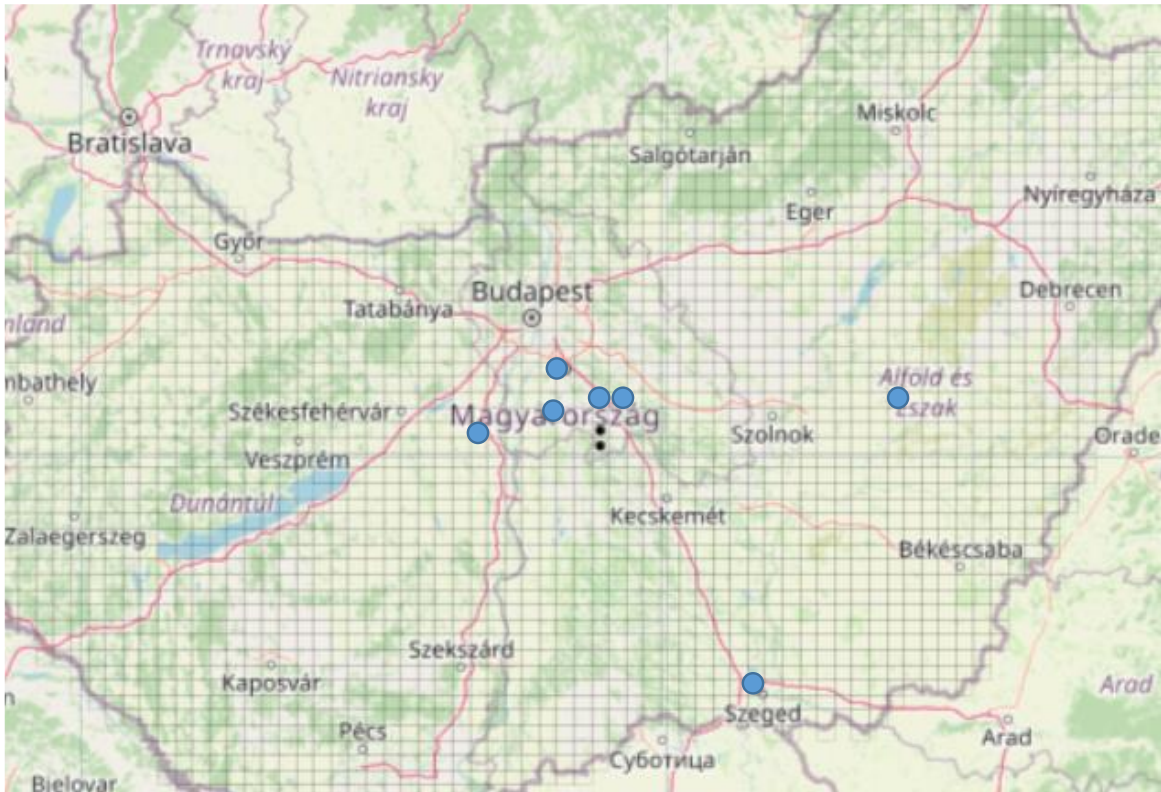
##### **3.6.1.1. Taxonómiája**

Az óriás útifű (*Plantago maxima* Juss. ex Jacq.) az ajakosvirágúak (*Lamiales*) rendjébe, az útifűfélék (*Plantaginaceae*) családjába, azon belül az útifű (*Plantago*) nemzetségbe tartozó faj (Chase *et al.* 2016). A taxont korábban Rahn (1996) a subg. *Plantago*, ezen belül a *Plantago* szekcióba helyezte, azonban újabb filogenetikai vizsgálatok alapján jelenleg a sect. *Lamprosantha*-ba sorolják (Hassemer *et al.* 2019). A faj kromoszómaszámaival kapcsolatban eltérő adatokkal találkozunk. Magulaev (1982)  $2n=2x=24$  számot közölt, és az EFlora adatbázisban is ez a szám szerepel. Rahn (1965) és Soó (1970) azonban  $2n=2x=12$  értékről számolt be.

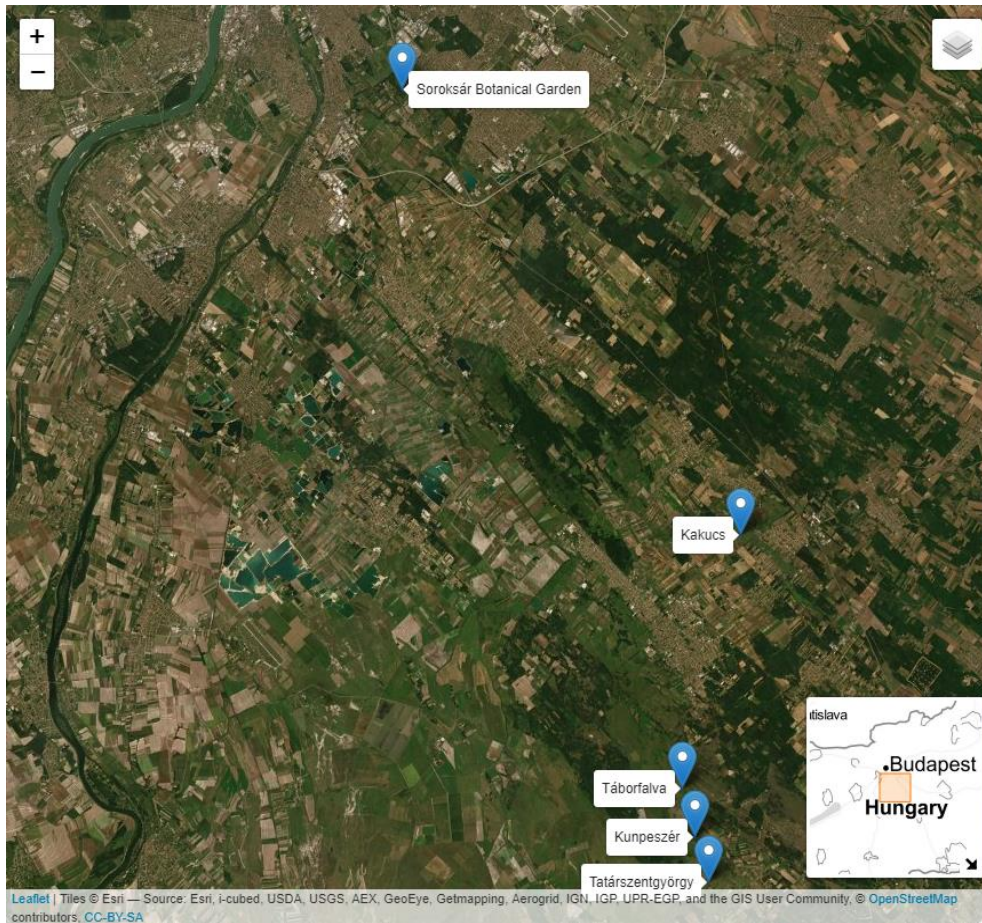
##### **3.6.1.2. Elterjedése**

Pontusi-pannon, délnyugat-szibériai elterjedésű faj (Schneider-Binder 1978), areája Kelet-Európától Nyugat-Ázsiáig húzódik és viszonylag összefüggőnek tekinthető. Legnyugatabbi elterjedési területei Bulgáriában és Magyarországon található, ahol a faj izolált populációkkal rendelkezik (Tzonev és Karakiev 2007, Kovács *et al.* 2019). Irodalmi adatok szerint Romániában Nagyszeben környékén is előfordul (Ball 1976, Pauca 1961, Schneider - Binder 1970, 1974, 1978), azonban egy recens kutatás megerősítette, hogy ezek a populációk eltűntek az élőhely nagyfokú degradációja miatt (Alec 2010). Bulgáriában egy állománya található Tsruklevtsi falu keleti részén, 800-1000 egyeddel (Tzonev és Karakiev 2007). Magyarországon korábbi adatok 10 előfordulásról számolnak be a Duna-menti síkról (Vidéki és Máté 2003), jelenleg négy előfordulása ismert a Duna-Ipoly Nemzeti Park Igazgatóság és a Kiskunsági Nemzeti Park Igazgatóság területéről (2. ábra és 3. ábra). Soó (1968) eurázsiai fajként ír róla, mely a hazai flórában vélhetően posztglaciális reliktum (Vidéki és Máté 2003).





2. ábra: Az óriás útifű hazai előfordulási adatai az online Flóraatlasz alapján (kék pont: 1950 előtti őshonos előfordulás, fekete pont: 1990 utáni őshonos előfordulás).



3. ábra. Az óriás útifű hazai *in situ* és *ex situ* (Soroksári Botanikus Kert) populációi.



### 3.6.1.3. Élőhelye és cönológiai viszonyai

A faj populációi nedves élőhelyhez köthetőek (láprétek és mocsaras élőhelyek), ahol agyagos és vályogos talajon fordul elő (Soó 1968, Schneider-Binder 1978, Vidéki és Máté 2003). Hazánkban és Bulgáriában is kétkerjés láprétekhez kötődő (ún. *Molinion*) faj (Vidéki és Máté 2003, Tzonev és Karakiev 2007). Kakucsi élőhelyét a 4. ábra mutatja be.



4. ábra: Az óriás útifű élőhelye Kakucson (Duna-Tisza köze).

### 3.6.1.4. Morfológiai jellemzői

Hemikriptofita faj, 60-100 (-120) cm magas, erőteljes növekedésű és nagytermetű növény. Tőlevélrózsát fejleszt, amiben a levelek bőrneműek, tőállóak, húsos tapintásúak és többnyire felállóak. A levél széles vagy hosszúkás-tojásdad és 9-11 érű. A levél hossza a tőkocsány fele, a levélszél ép vagy ritkán fogas (Vidéki és Máté 2003, Király 2009, Simon 2000). A levélszűcs röviden kihegyezett vagy tompa. A levéllemez nyélbe keskenyedő-ékvállú, színe kopasz, fonáka gyéren molyhos, a levélér feltűnő. A levélnyél általában hosszabb a levéllemezénél és fele a tőkocsánynak, csatornás és kívülről rovátkolt (Vidéki és Máté 2003). A levelek szárazság hatására vörösesen színeződnek (Tzonev és Karakiev 2007).

Virágzata feltűnő, hosszú füzérvirágzat 5-15 cm (-20 cm) hosszú, tömött, hengeres és megközelítőleg 1 cm vastag. A tőkocsány egyenesen álló, hengeres és feltűnően barázdált, finom szőrözöttség jellemzi. A füzér hossza a tőkocsány hosszúságának az 1/3-át nem haladja meg. A murvalevelek hosszúkásak vagy széles tojásdadok. A csészecimpák alakja elliptikus 2-3 mm hosszú. A párta fehér vagy fehéres-rózsaszín. A pártacimpa hosszúkás-ovális vagy tojásdad. A porzósálak fehér színűek, kinyúlnak a virágzattól (5. ábra). Június-augusztus között virágzik, termése négymagvú tok, a tokok 3-4 mm hosszúak, hosszúkás-elliptikusak (Király 2009, Simon 2000, Tzonev és Karakiev 2007, Vidéki és Máté 2003). A magok hossza 2 mm, ezermagtömegük 0,2673 g (Kovács 2015).



5. ábra: Az óriás útifű virágzó egyede a kakucsi állományban (bal) és közeli kép a fűzér virágzatról (jobb).

### 3.6.1.5. Élőhelyét, fennmaradását veszélyeztető tényezők

A Duna-Tisza közti csatornázás révén jelentős mértékben átalakultak és degradálódtak a hazai élőhelyek, ami a populációk izolálódásához is vezetett (Vidéki és Máté 2003). A kiszáradás igen nagy problémát okoz a populációkban, hatására jelentős egyedszám pusztulást is megfigyeltünk az elmúlt években. A Táborfalvai Katonai Lő- és Gyakorlótéren található állományt egyrészt az aktív katonai lögyakorlatokból származó tűzkár (Molnár-Baji 2013), másrészt az erőteljes kompetíciós nyomás (*Phragmites australis*, *Solidago* spp., *Aster* sp.) szorítja vissza. A kompetíciót legeltetéssel próbálták enyhíteni, azonban a szarvasmarhák taposási kárt okoztak, és a védett faj leveleit is nagymértékben visszarágták a 2019-es évben. A többi állományban kaszálást folytatnak, amit a magok érésének csúcsához igyekeznek igazítani. A magántulajdonban lévő területek esetében azonban a kaszálás ideje nem mindig a faj optimuma szerint történik meg. Korábban gyógynövényként is gyűjtötték, ami jelentősen csökkentette az egyedszámot (Vadász Csaba *ex verb.*). Az IUCN Vörös Listán az EU-27-ben veszélyeztetett fajként szerepel (Allen *et al.* 2014). Magyarországon a legmagasabb kiszabható eszmei értékkel rendelkezik, fokozottan védett faj (250 000 Ft) (13/2001. (V.9.) KöM rendelet).

### 3.6.1.6. Rokon fajok változatossága

Az óriás útifűvel kapcsolatos diverzitás vizsgálatok hiánya miatt a rokon fajok morfológiai diverzitásával kapcsolatos tanulmányokat foglaltam össze. A *Plantago major* 19 iráni populációját kvantitatív és kvalitatív morfológiai bélyegek mentén hasonlították össze. A vizsgálat célja az ökológiai faktorok feltárása volt, amelyek hatással lehetnek a morfológiai diverzitásra. A vizsgálat alapján a morfológiai bélyegek nagyfokú variabilitást mutattak (kvantitatív bélyegek változatossága nagyobb volt, mint a kvalitatív bélyegeké) és nagyban függtek a vizsgálat helyszínétől (Keivani *et al.* 2021). Wolff (1991) tanulmányában a *Plantago major*, *Plantago coronopus* és a *Plantago lanceolata* fajokkal végzett morfológiai variabilitás vizsgálatot. A



*Plantago major* és a *Plantago lanceolata* fajok populációi nagyfokú morfológiai elkülönülést mutattak. Az idegentermékenyülő *Plantago lanceolata* produkálta a legmagasabb teljes diverzitást és populáción belüli diverzitást is. Az öntermékenyülő *Plantago major* a legalacsonyabb populáción belüli diverzitást és a legmagasabb populációk közötti diverzitást mutatta. A *Plantago coronopus* esetében nem tapasztaltak a populációk között differenciálódást, amit a faj nagyfokú adaptív plaszticitásával magyaráztak.

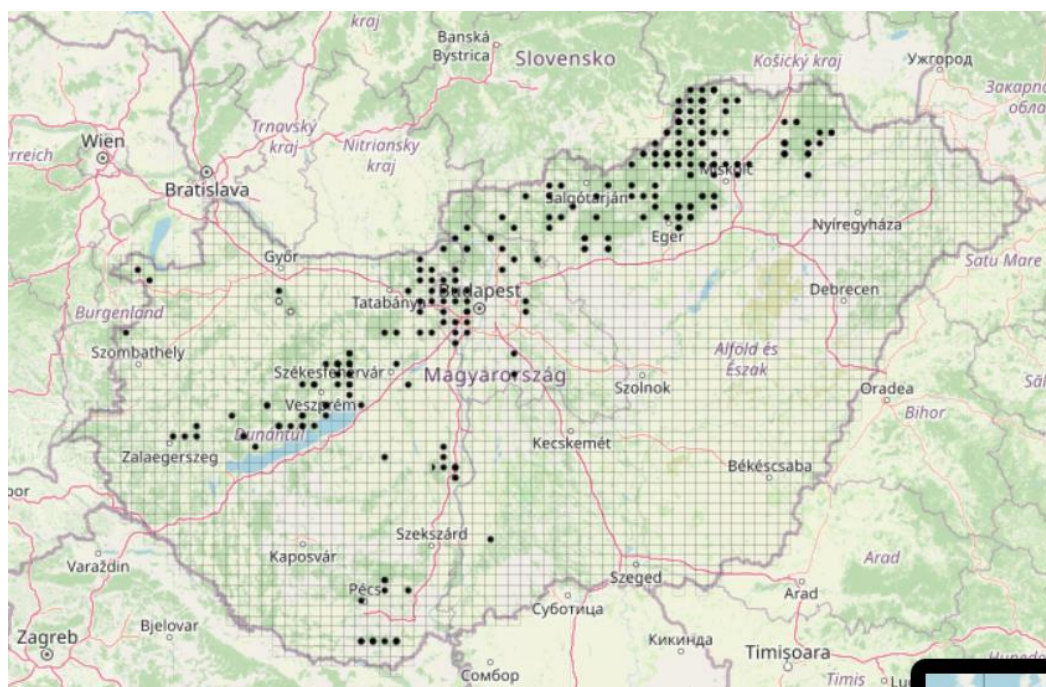
### 3.6.2. A sárga len (*Linum flavum* L.)

#### 3.6.2.1. Taxonómiája

A sárga len (*Linum flavum* L.) a *Malpighiales* rendbe, a lenfélék (*Linaceae*) családjába, azon belül a len (*Linum*) nemzetségbe tartozó faj (Chase *et al.* 2016). A faj kromoszómaszáma az irodalmi adatok alapján nem egyértelmű  $2n=30$  (Bari és Godward 1970, Májovský 1970, Pogan *et al.* 1988) és  $2n=28$  (Chennaveeraiah és Joshi 1983, Dobes *et al.* 1997), továbbá B-kromoszómák jelenlétét is közlik  $2n=28+1-3B$  (Nosova 2005). Az irodalmak közti eltérést okozhatja a B-kromoszómák jelenléte, amelyek egyenetlenül oszlanak el a sejtek között. A hazai állományokban Soó (1970) munkája alapján a kromoszómaszámok az alábbiak szerint alakulnak  $2n=32$ ,  $30$   $28$ .

#### 3.6.2.2. Elterjedése

Kontinentális (pontusi-pannon-balkán) flóraelem (Plenk *et al.* 2017). A faj elterjedési területe a szubmediterrán, balkán, pontusi, pannon és kelet-európai régiókban van (Meusel *et al.* 1978). Dél-Németországban éri el elterjedési területének legnyugatibb határát (Plenk *et al.* 2017). Hazánkban sziklagyepeken és sztyepréteken fordul elő, löszjelző faj. Az Alföldön és a Dunántúlon ritkulóban vannak állományai, a középhegységekben szórványos (Király 2009, Simon 2000). Populációinak hazai elterjedését a 6. ábra mutatja be.



6. ábra: A sárga len hazai elterjedése az online Flóratlasz adatbázis alapján.

### 3.6.2.3. Élőhelye

Mészkedvelő, sziklagyepekben, sztyepréteken, bokorerdőkben és erdőszegélyek mentén fordul elő (Király 2009). A sárga len pócaljai élőhelyét a 7. ábra mutatja be.



7. ábra: A sárga len élőhelye Pócalján.

### 3.6.2.4. Morfológiai jellemzői

A tövén meddő levélrózsa kevés vagy teljesen hiányzik. Az alsó levelek lapát alakúak 20-35 mm hosszúak. Levelei szálalakúak vagy lándzsásak, enyhén kékes árnyalatúak (hamvasak), hegyes csúcsúak, ép szélűek. Egy tő 25-35 virágot fejleszt. A csésze 6-8 mm hosszú, a szirmok sárga 15-20 mm hosszú, a tövükön eleinte összefüggenek. 10-40 cm magas. Virágai élénksárgák, a szirmok vége lekerekített, termése gömbölyű tok (8. ábra). Június-augusztusban virágzik (Király 2009, Simon 2000).



8. ábra: Virágzó sárga len egyed a Soroksári Botanikus Kertben (balra) és termést érlelő egyed az érdi mészkőplaton (jobb).

### 3.6.2.5. Élőhelyét, fennmaradását veszélyeztető tényezők

A mezőgazdaság térnyerése miatt a sztyepp jellegű élőhelyek visszaszorultak, így a sárga len élőhelyei is beszűkültek. A populációk ennek köszönhetően fragmentálódtak és izolálódtak egymástól, ami indokoltá tette a faj védelmét (Meindl 2012, Plenk *et al.* 2017). Hazánkban védett státuszt kapott, eszmei értéke 10 000 Ft (13/2001. (V.9.) KöM rendelet). Tőlünk nyugatabbra haladva Ausztriában már regionálisan veszélyeztetett (sérülékeny), Németországban pedig már veszélyeztetett a státusza (Korneck *et al.* 1996, Niklfeld és Schratt-Ehrendorfer 1999, Plenk *et al.* 2017).

### 3.6.2.6. A sárga len és közel rokon fajok változatossága

A sárga len hazai populációinak változatosságát AFLP és cpDNA alapon Plenk *et al.* (2017) vizsgálta. Tanulmányukban az általuk vizsgált hazai populációk közepes mértékben elkülönültek egymástól (13,4%). Az ausztriai, valamint a hazai populációk között közös haplotípusokat is kimutattak. Az alacsonyabb nukleotid és haplotípus diverzitás vélhetően egy recens palacknyak effektusra vezethető vissza a hazai populációkban. Morfológiai alapú variabilitás vizsgálatokat rokon fajokkal végeztek. A *Linum album* 20 populációjában a vizsgált kvalitatív és kvantitatív morfológiai bélyegek mentén, igen jelentős morfológiai diverzitást és elkülönülést mutattak ki (Sheidai *et al.* 2014). Hasonló eredményt kaptak 16 *Linum austriacum* populáció morfológiai alapú vizsgálatával. A populációk morfológiai differenciálódása és a földrajzi távolság között pozitív korrelációt mutattak ki, valamint új ökotípusokat is kijelöltek a vizsgálatok alapján (Afshar *et al.* 2015).

### 3.6.3. A kései szegfű (*Dianthus serotinus* W et. K.) és a balti szegfű (*Dianthus arenarius* L.)

#### 3.6.3.1. Taxonómiájuk

A két taxon a szegfűvirágúak (*Caryophyllales*) rendjébe, a szegfűfélék (*Caryophyllaceae*) családjába, azon belül a szegfű (*Dianthus*) nemzetségbe tartozik (Chase *et al.* 2016). A fajok poliploidok, de a kromoszómaszám az irodalmi adatok alapján fajon belül és populációk között is eltérő lehet. A *Dianthus serotinus* populációk citológiai vizsgálatok alapján tetraploid,  $2n=4x=60$  (Majovský 1970, Weiss *et al.* 2002), és hexaploid,  $2n=6x=90$  citotípussal jellemezhető (Baksay 1972, Borhidi 1968, Kmet'ová 1982, Kovanda 1984). Soó Rezső a  $2n=4x=60$  eredményt tévesnek ítélte (Soó 1970). A *Dianthus arenarius* esetében  $2n=2n=30$  (Andersson-Kottö és Gairdner 1931) és  $2n=6x=90$  (Puch 1941) értékek mellett a legtöbbször  $2n=4x=60$  adatot közöltek (Rohweder 1929, Andersson-Kottö és Gairdner 1931, Rohweder 1934, Genčev 1937, Carolin 1957, Kovanda 1984, Dmitrieva 1985, Semerenko 1990). Baksay (1972)  $2n=4x=60$  kromoszóma számot írt le a hazai, fenyőfői populációból.

A *Dianthus arenarius* 5 alfajjal rendelkezik: *Dianthus arenarius* subsp. *arenarius*, *Dianthus arenarius* subsp. *bohemicus* (Novák) O. Schwarz, *Dianthus arenarius* subsp. *borussicus* Vierh., *Dianthus arenarius* subsp. *pseudoserotinus* (Blocki) Tutin, *Dianthus arenarius* subsp. *pseudosquarrosus* (Novák) Kleopow. Az alfajokkal kapcsolatos taxonómiai bizonytalanságok tisztázására mikroszatelit markerezéssel próbálták feltárni a genetikai elkülönülés mértékét, azonban a vizsgálat alapján az alfajok nem különültek el egymástól (Kerov 2014). Hazánkban a



fenyőfői ősfenyves területéről a *Dianthus arenarius* subsp. *borussicus* fajt írta le Baksay Leóna (1972), azonban az alfajokkal kapcsolatos taxonómiai bizonytalanságok miatt disszertációmban a továbbiakban csak az alapfaj nevét szerepeltetem.

### 3.6.3.2. Elterjedésük

A kései szegfű egy pannon endemizmus, a hazai homokterületek nagy részén előforduló taxon (Gödöllői-dombvidék, Pilis, Gerecse, Bakony, Belső-Somogy, Duna-Tisza köze és Nyírség) (Somogyi 2014, Király 2009). A balti szegfű ezzel szemben észak-eurázsiai flóraelem, hazánkban egy szűk elterjedésű, reliktum jellegű taxon, amelynek egyetlen előfordulását recens molekuláris vizsgálatok alapján a fenyőfői ősfenyves területén erősítették meg (Király 2009, Somogyi 2014).

### 3.6.3.3. Termőhelyi és cönológiai viszonyok

A balti szegfű homoki erdeifenyvesekhez, homokpusztákhoz, nyílt és zárt homoki gyepekhez kötődő faj (Farkas 1999). A kései szegfű meszes homokpuszták, homoki rétek, homoki tölgyesek és telepített fenyvesek növénye (Farkas 1999, Király 2009). A két faj *in situ* állományait és élőhelyeit a 9. ábra szemlélteti.



9. ábra. A kései szegfű élőhelye Tatárszentgyörgy határában (bal) (fotó: Höhn Mária), a balti szegfű élőhelye a Fenyőfői Ósfenyves (jobb).

### 3.6.3.4. Morfológiai jellemzőik

A kései szegfű szürkészöld színű, szára erőteljes, heverő, majd felemelkedő. A szárcsomók feltűnően duzzadtak, a levelek derékszögben állók. 3-15 virágú, a szirm fehér, lemeze közepéig sallangos. A balti szegfű morfológiai szempontból közelálló taxon (Baksay 1972, Somogyi 2014). A növény élénkzöld (ősszel szürkés színezetű), a szár vékony, és egyenesen felálló. A levelek hegyesszögben felálló. 1-6 virágú, a szirm fehér vagy halványrózsaszínes, lemeze közepén túl sallangos (Király 2009).

### 3.6.3.5. Élőhelyüket, fennmaradásukat veszélyeztető tényezők

Veszélyeztető tényezőként elsősorban élőhelyeik megszűnése, fragmentálódása és leromlása említhető. A hazai élőhelyek csökkenését legnagyobb arányban a beszántás okozza, valamint a legeltetés felhagyása és a beerdősülés (Biró 2011). A homoki területek akáccal és erdei fenyővel történő fásítása komoly problémát okozhat az élőhelyek fennmaradása szempontjából. A területeken megjelenő bálványfa és akác az élőhelyek elgyomosodásához és sarjakkal való

felverődéséhez, cserjésedéséhez és inváziós fajok betelepüléséhez vezethet. Ezek a folyamatok hátráltatják vagy gátolhatják a regenerációt, ami hosszabb távon a populációik visszaszorulását és kipusztulását vonhatja maga után (Bölöni *et al.* 2011). Hazánkban mind a két taxon védett státuszt kapott, eszmei értékük 5 000 Ft (13/2001. (V.9.) KöM rendelet).

### 3.6.3.6. A vizsgált taxonok és közel rokon fajok morfológiai változatossága

A két faj és a *Plumaria* szekció fajainak taxonómiai szempontú vizsgálatával Somogyi (2014) doktori disszertációjában foglalkozott, ugyan akkor a fajok populációinak morfológiai variabilitásáról nem áll rendelkezésre részletesebb tanulmány. A rokon fajok közül a *Dianthus sylvestris* a Balkán-félszigeten hat alfajjal rendelkezik. Igen nagy morfológiai variabilitás jellemzi, amit az ökológiai és evolúciós folyamatok is nagyban meghatároznak. Terlević *et al.* (2023) tanulmányukban 25 morfológiai bélyeg mentén 97 populációt vizsgált és egy folyamatosságot mutattak ki a kvantitatív bélyegekben, az alfajok között pedig nem tudtak kimutatni egyértelmű elkülönítő bélyeget. Két populáció vált el élesen két morfológiai bélyeg mentén a többitől, amit a környezeti tényezőkre vezettek vissza. Fu *et al.* (2008) három faj (*Dianthus chinensis*, *Dianthus barbatus*, *Dianthus superbus*) gyűjteményes kerti tételeit vizsgálta morfológiai bélyegek segítségével. Az interspecifikus különbségek jól mutatkoztak, de a gyűjteményes kerti egyedek és a vad egyedek elkülönítése, továbbá a származásuk szerinti elkülönítésre a morfológiai bélyegek nem voltak alkalmasak.

## 3.7. A diverzitás feltárására alkalmazott molekuláris markerek

### 3.7.1. FISH – 5S és 35S rDNS

A fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) egy olyan citogenetikai módszer, aminek segítségével filogenetikai kapcsolatok feltárására, poliploidizációs folyamatok megismerésére, kromoszóma térképezésre nyílik lehetőség (Devi *et al.* 2005). A technika általában repetitív DNS- vagy RNS-szekvenciák hibridizálásával, és a jelölt molekuláris markerek (Pita *et al.* 2014) specifikus hibridizációs mintázatának detektálásával lehetővé teszi a célzott DNS genomi lokalizálását (Tessadori *et al.* 2004), a kromoszómák azonosítását (Schwarzacher és Heslop-Harrison 2000). A FISH technika alapjait Gall és Pardue (1969) és John *et al.* (1969) írták le, melynek lényege a kromoszomális DNS denaturálása és hibridizálása *in situ* radioaktívan jelölt próbákkal (Schwarzacher 2003). A technikai fejlesztéseknek köszönhetően ma már a próbák jelölése fluorokrómmal precíz és tiszta lokalizálást tesz lehetővé (Schwarzacher 2003). A jelöléshez több módszer is alkalmazható úgy, mint random priming, nick-transzláció és PCR (Schwarzacher és Heslop-Harrison 2000, Schwarzacher 2003).

A repetitív DNS szakaszok értékes citogenetikai markerek, mivel különböző pozíciókban helyezkedhetnek el távoli kromoszomális régiókon (Heslop-Harrison 1991). Az 5S és 35S rDNS régiók a leggyakrabban alkalmazott kromoszomális markerek, melyeket az evolúciós folyamatok kariotípusok differenciálódására gyakorolt hatásának feltárására, hibridek és poliploid fajok őseinek azonosítására is sikeresen alkalmaznak (Weiss-Schneeweiss *et al.* 2013, Rosselló *et al.* 2022). Az 5S és 35S rDNS régiók a fajok elkülönítésére, populációk közötti differenciálódások értékelésére is alkalmas markerek (Guerra 2012).

Az 5S rDNS régiók a legtöbb magasabbrendű eukariótánál tandem pozíciókban helyezkednek el egy vagy több kromoszomális lókuszon (Fedoroff 1979, Kitamura *et al.* 2001).



Az 5S rDNS egy kódoló szekvenciát tartalmaz és egy NTS (nem átíródó) régiót. A kódoló régió variabilitása és rövidege miatt kevésbé alkalmas a filogenetikai kapcsolatok tisztázására (Halanych 1991, Steele *et al.* 1991, Kitamura *et al.* 2001), ezzel szemben az NTS régió szekvenciája közeli rokonságban lévő fajoknál is nagyobb elkülönülést mutat (Xie *et al.* 1994, Kellogg és Appels 1995, Cronn *et al.* 1996, Kitamura *et al.* 2001). A 35S (18S-5,8S-26S) rDNS régió tartalmazza a 18 S, 5,8 S és 26 S rDNS géneket, ITS régiókat (átírt köztes szekvencia) és egy IGS-t (gének közötti elválasztó szakasz). Az ITS régió gyors fejlődésének köszönhetően a filogenetikai analízisekben gyakran használt marker (Feliner és Rosselló 2007).

### 3.7.1.1. *Plantago* és *Dianthus* nemzetségben végzett FISH vizsgálatok

A *Plantago* nemzetségben az rDNS régiók jellemzését és fizikai térképezését, a nemzetségen belüli filogenetikai kapcsolatok feltárására alkalmazták. Az irodalmi adatok alapján elmondható, hogy a vizsgált *Plantago* fajok FISH mintázata fajspecifikus. Az egyedi rDNS mintázatnak köszönhetően a fajok elkülönítésére is alkalmazható módszer (Dhar *et al.* 2006, Wong és Murray 2014, Dhar *et al.* 2017). Az óriás útifüvel kapcsolatos FISH térképezésre és az rDNS régiók lokalizálására vonatkozó irodalmi adat eddigi ismereteink szerint nem ismert.

A *Silene* nemzetségen belül különböző szekciókból származó fajokkal végeztek FISH hibridizációval kapcsolatos kutatást, és az eredmények alapján a *Silene* nemzetségben jelentős variabilitást tapasztaltak az rDNS lókuszek számában és elhelyezkedésében. Az eredmények alapján a *Silene* nemzetségben magas diverzifikáció jellemző a számos transzlokáció következtében (Široký *et al.* 2001). A *Dianthus* nemzetségen belül elsősorban kromoszómaszámlálást és áramlási citometriás vizsgálatokat végeztek (Weiss *et al.* 2002, Balao *et al.* 2009), fluoreszcens *in situ* hibridizációt az eddig ismert irodalmak alapján a nemzetségen belül nem végeztek.

### 3.7.2. ISSR

Az egyszerű szekvencia ismétlődések közötti régiók (ISSR) markerezése, egy olyan molekuláris technika, amelynek segítségével két mikroszatellit régió közti szekvencia amplifikálható (Godwin *et al.* 1997). A technika PCR-en alapuló módszer, primerként mikroszatellitek (di-, tri-, tetra-, penta- vagy hexanukleotidok) alkalmazhatóak az- egyszerű szekvencia ismétlődések (SSR) közötti régiók amplifikálására. Ezek a primerek lehetnek rögzíthetetlenek (Gupta *et al.* 1994, Meyer *et al.* 1993, Wu *et al.* 1994), vagy rögzítettek 1-4 degenerált bázissal a 3' vagy 5' végnél (Zietkiewicz *et al.* 1994, Pradeep Reddy *et al.* 2002). A PCR termékek detektálása agaróz gélelektroforézissal történik, a termékek jellemzően 200-2000 bp hosszúak (Pradeep Reddy *et al.* 2002). A módszer előnye a mikroszatellit (SSR) markerezéssel szemben, hogy nem szükséges információ a genom szekvenciáról. Multilokuszos, domináns marker és igen magas polimorfizmussal rendelkező mintázat produkálható (Zietkiewicz *et al.* 1994, Tsumura *et al.* 1996, Nagaoka *et al.* 1997), amit DNS ujjlenyomat készítésre (Zietkiewicz *et al.* 1994, Shen *et al.* 2006), diverzitás vizsgálatokhoz, géntérképezésre és filogenetikai vizsgálatokhoz is felhasználhatunk (Godwin *et al.* 1997, Ng és Tan 2015).

### 3.7.3. cpDNS

A kloroplasztisz genom egy szülő által öröklődik (zárvatermők esetén anyai ágon), aminek köszönhetően a populációk filogeográfiai struktúráldás jól jellemezhető (Comes és Kadereit

1998). A nukleáris genomhoz képest alacsonyabb mutációs rátával rendelkezik (Dong *et al.* 2021, Dong *et al.* 2022). A kloroplasztisz genom sok egy nukleotidos polimorfizmust (SNP), mikroszatellit és indelt tartalmaz itraspecifikus szinten, amit a populációk differenciálódásának értékelésére, genetikai diverzitás vizsgálatokban, a génáramlás tanulmányozására és biogeográfiai struktúrállódás értékelésére is használnak a természetvédelmi genetikai kutatásokban (Huang *et al.* 2014, Van Der Merwe *et al.* 2014, Perdereau *et al.* 2017). A védett fajokkal kapcsolatos kutatások során a megőrzés sikerességének értékeléséhez is használják, a védett fajok genetikai struktúrállódásának felmérése és a haplotípus diverzitás értékelése céljából (Szandar *et al.* 2022, Bouza *et al.* 2023). Az *ex situ* gyűjtemények értékelése során fontos információt szolgáltat a haplotípus diverzitás megoszlásáról *in situ* és *ex situ* populációk között. A *Zelkova abelicea* (Lam.) Boiss és *Zelkova carpinifolia* (Pall.) K. Koch *ex situ* gyűjteményei a cpDNS vizsgálat során alacsonyabb variabilitással rendelkeztek a természetes populációkhoz képest. Ezen felül a *Zelkova abelicea* esetében 2 haplotípust detektáltak a 33 természetes populációban megtalálható haplotípusból, ami fontos információ a gyűjtemény génanyagának erősítése szempontjából (Christe *et al.* 2014).

Kloroplasztisz markereket sikeresen alkalmaznak rokon fajok filogenetikai leszármazási útvonalainak feltárására is. A *Plantago* nemzetségben jellemző a felgyorsult szerkezeti evolúció a plasztómában és a rendkívül gyors szubsztitúciós ráta az egész genomban (Cho *et al.* 2004, Mower *et al.* 2021). A *Plantago* nemzetségen belül alkalmazták a *trnL-trnF* markert rokonsági kapcsolatok feltárására (Rønsted *et al.* 2002). Ugyancsak a *trnL-trnF* markert alkalmazták a *Plantago brutia* és *Plantago media* populációk haplotípus diverzitásának értékelésére is (Palermo *et al.* 2010). A *Dianthus* nemzetségen belül korábban végzett kloroplasztisz marker (*trnK-matK* intron, a *psbA-trnK* spacer, *trnH-psbA* intergénikus spacer) alapú vizsgálatok során csekély filogenetikai struktúrállódást tártak fel, amit a recens evolúcióra és a csoport fiatal korára vezettek vissza (Valente *et al.* 2010, Somogyi 2014). Jól látható a fenti példákból, hogy a marker alapú vizsgálatoknak megvannak a lehetőségeik és a korlátaik is, ugyanakkor fontos eszközt jelentenek az *ex situ* gyűjtemények többszemponú értékelése során.

## 4. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 4.1. A helyszínek kiválasztásának előzményei, jellemzésük

#### 4.1.1. Az óriás útifű vizsgált populációi

Az óriás útifű hazai populációinak genetikai értékelése a faj hosszútávú megőrzése szempontjából vált különösen aktuálissá. Vizsgálataink során ezért az összes hazai populációt szeretnénk volna értékelni és összehasonlítani egymással, valamint az általunk 2016-ban létrehozott *ex situ* állományokkal. A populációk GPS koordinátáit és élőhelytípusát a 2. táblázatban foglaltam össze. Az összes hazai populáció kékperjés lápréten fordul elő. Az élőhelyek a vízellátottság és humán behatás következtében kismértékben eltérnek egymástól. A kakucsi populációnál a kiszáradó láprét átmenetet mutat mocsárrét és sztyepprét felé, a tatárszentgyörgyi populáció kékperjés kiszáradó lápréten, a táborfalvai populáció kékperjés kiszáradó lápréten és degradátumaiban, a kunpeszéri populáció kékperjés lápréten fordul elő (Csáky 2018). A Soroksári Botanikus Kert területén található egy 12 hektáros területen fennmaradt, meszes talajú, kiszáradó kékperjés láprét (*Succiso–Molinietum*), ami lehetőséget adott a faj *ex situ* megőrzésének megvalósítására természetes élőhelyi viszonyok között. A 2016-os évben három szubpopulációt alakítottunk ki a láprét területén a kakucsi állományból gyűjtött magokból felnevelt növényekkel. A három szubpopulációt a tavaszi vízborítás függvényében neveztük el üde (higrofil), mezofil és sztyepei szubpopulációnak, amely elnevezéseket dolgozatomban a későbbiek során is alkalmazni fogok (Kovács *et al.* 2019).

Az óriás útifű hazai állományai, a faj elterjedési területének legnyugatibb, periferiális populációi. Természetvédelmi jelentőségük értékeléséhez egy centrális, kazahsztáni populációt is vizsgálatba vontunk. A populáció a Koktau-hegységben található (GPS koordinátái N 49,431944 E 82,610833), 783 m magasan egy lápréten.

#### 4.1.2. A sárga len vizsgált populációi

A vizsgált sárga len állományok kijelölése során törekedtünk arra, hogy védett területeken előforduló populációkat válasszunk ki, ahol kevésbé érvényesülnek az emberi hatások. Emellett pedig olyan területeket is kijelöltünk, ahol már az emberi hatások is jobban érvényesülnek, hogy a populációk között potenciálisan fennálló plaszticitást is értékelni tudjuk. A populációk GPS koordinátáit és élőhelytípusát a 2. táblázatban foglaltam össze. A Kakukk-hegy a Duna-Ipoly Nemzeti Park Igazgatóság területén található természetvédelmi terület, amely az egykori löszvegetáció maradványát hordozza és 29 védett, és egy fokozottan védett növényfajnak ad otthont, és csak eseti engedéllyel látogatható (9/2007. (III. 30.) KvVM rendelet az érdei Kakukk-hegy természetvédelmi terület létesítéséről). Az érdei mészkő platón található populáció Érd-Tétényi platóhoz tartozik, a mészkőfennsíkot lajta és szarmata mészkő alkotja, amit lösz réteg borít. A populáció ezen a területen már az emberi tevékenységnek jobban ki van téve az agglomeráció közelsége miatt (Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület 2023a). A pócaljai populáció szintén védett területen található, ami intenzív mezőgazdasági területekkel körbevett löszgyep. Az agglomerációtól nagyobb távolságra található, emiatt a humán beavatkozásnak kevésbé kitett terület (Csontos *et al.* 2022). A sárga len állományt a Soroksári Botanikus Kertbe 1987-1993 között telepítették be Alsószentivánról, a kert egy gyümölcsfa ligetes zónájába (Balog 2018). Az *ex situ* populáció környezete a természetes társulási viszonyoktól

jelentősen eltér, így lehetőséget nyújt a hosszútávú megőrzés génanyagra gyakorolt hatásának tanulmányozására.

### 4.1.3. A kései szegfű és a balti szegfű vizsgált populációi

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 populációk GPS koordinátáit és élőhelytípusát a 2. táblázatban foglaltuk össze. A három kései szegfű *in situ* populáció és az *ex situ* populáció is mészkedvelő homoki gyepen található. A szigetmonostori populáció a humán hatásoknak leginkább kitett állomány, a Szentendrei-szigeten a homoki gyepek jelentős részben fragmentálódtak, közvetlen szomszédságában kertek találhatóak (Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület 2023b). A farmosi és tatárszentgyörgyi populációk ezzel szemben a humán behatásnak kevésbé kitett területek. A Soroksári Botanikus Kerti állomány 1975-1976 között telepítették a kertbe a Dunaharaszti határában található Kápolnadombról. A kertben megtalálható csenkeszes-homokpusztagyep társulást a kert alapítása előtti években akác telepítésekkel majdnem teljesen kipusztították, 1974-ben kezdődtek meg a tarvágást követően a rekonstrukciós munkálatok (Höhn 2013). Az eredeti állomány a kápolna felújítása során (1995-2000 között) teljesen megsemmisült, így a megőrzött génanyag értékelése ezért is kiemelten fontos (Bogya *ex verb.*).

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, azonban a korábban közölt savanyú homok területekről származó mintákat *Dianthus serotinus*-ként azonosította. Mivel a balti szegfű hazánkban vélhetően reliktum jellegű faj, ezért a fenyőfői génanyag további vizsgálata relációban a kései szegfűvel fontos információval szolgálhat a további *ex situ* megőrzés kidolgozásához. Emiatt tartottuk indokoltnak, hogy ezt az állományt is bevonjuk a vizsgálatokba. A fenyőfői populációban három szubpopulációt (Kurucerdő, Anyafás újulat és Hangosrét) vontam vizsgálatba. A Kurucerdő és Anyafás szubpopulációk az emberi behatástól mentes területeken helyezkednek el, a hangosréti szubpopuláció mellett azonban friss fenyő telepítés zajlott, ezáltal egy bolygatottabb populációnak tekinthető.

## 4.2. Morfometriai vizsgálatok

A terepi felmérések helyszíneit, élőhelyi jellemzőit és GPS koordinátáit a 2. táblázat tartalmazza, fajonként csoportosítva. A morfometriai vizsgálatok során a négy vizsgálatba vont taxon esetében igyekeztünk a fajokat leginkább jellemző, a populációk elkülönülését jól detektáló vegetatív és generatív bélyegeket vizsgálatba vonni. A fajonként listázott bélyegeket a 3. táblázat foglalja össze.

2. táblázat: A morfolometriai vizsgálatba vont taxonok, populációik és GPS koordinátájuk.

Taxon	Populáció	GPS koordináta	Megőrzés módja	Élőhely
<i>Plantago maxima</i> Juss. ex Jacq.	Kakucs	N 47.2209, E 19.3615	<i>in situ</i>	Kékperjés láprét
	Táborfalvai Katonai Lőtér	N 47.1188, E 19.3262	<i>in situ</i>	Kékperjés láprét
	Tatárszentgyörgy	N 47.0809, E 19.3420	<i>in situ</i>	Kékperjés láprét
	Kunpeszérei Szalag-erdő	N 47.0991, E 19.3341	<i>in situ</i>	Kékperjés láprét
	Soroksári Botanikus Kert	N 47.4004, E 19.1582	<i>ex situ</i>	Kékperjés láprét
<i>Linum flavum</i> L.	Pócalja	N 47.47013, E 18.6564	<i>in situ</i>	Pannon lejtősztyepp (lőszgyep)
	Érd-Kakukk-hegy	N 47.3491, E 18.9413	<i>in situ</i>	Pannon lejtősztyepp (lőszgyep)
	Érd-mészkő plató	N 47.4280, E 18.8677	<i>in situ</i>	Pannon lejtősztyepp (lőszgyep)
	Soroksári Botanikus Kert	N 47.3971, E 19.1596	<i>ex situ</i>	Felhagyott gyümölcsös
<i>Dianthus serotinus</i> W. et K.	Szigetmonostor	N 47.7030, E 19.1097	<i>in situ</i>	Pannon homoki gyep
	Farmos	N 47.3758, E 19.7698	<i>in situ</i>	Pannon homoki gyep
	Tatárszentgyörgy	N 47,0593, E 19,4052	<i>in situ</i>	Pannon homoki gyep
	Soroksári Botanikus Kert	N 47.4003, E 19.1539	<i>ex situ</i>	Pannon homoki gyep
<i>Dianthus arenarius</i> L.	Fenyőfő (szubpop. Anyafás újulat, Kurucerdő, Hangosrét)	N 47.3572, E 17.7690	<i>in situ</i>	Homoki erdefenyves

3. táblázat: A védett taxonok vizsgált morfológiai bélyegeinek listája és a vizsgálati időszak.

Taxon	Vizsgált bélyegek	Vizsgálati időszak
<i>Plantago maxima</i> Juss. ex Jacq.	Legnagyobb levél hossza (cm), legnagyobb levél szélessége (cm), levelek száma (db)	2016-2020
<i>Linum flavum</i> L.	Egyed magasság (cm), 5. levél hossza (cm), 5. levél szélessége (cm), szíromlevél hosszúsága (cm), szíromlevél szélessége (cm), virágok száma a száron (db)	2018-2020
<i>Dianthus serotinus</i> W. et K. és <i>Dianthus arenarius</i> L.	Párna átmérője (cm), levél hosszúság (virágok alatti 2. nódusznál eredő levél) (cm), levél szélesség (virágok alatti 2. nódusznál eredő levél) (cm), szíromlevél hosszúsága (cm), szíromlevél szélessége (cm), csésze hosszúsága (cm), csésze szélessége (cm), virágok száma a száron (db), egyed magasság (cm), belső csészepikkely hossza (cm)	2019-2020

#### 4.3. Csírázásbiológiai vizsgálatok

Csírázásbiológiai vizsgálatot a sárga len és a kései szegfű fajokkal állítottunk be. Az óriás útifű esetében az *ex situ* állományban és az *in situ* állományok közül a lőteri és tatárszentgyörgyi populációkban nagyon kevés mag fejlődött, ami statisztikai értékelésre nem lett volna alkalmas. Ugyan akkor az óriás útifű csírázásbiológiai vizsgálatát a kakucsi állományból gyűjtött magokkal 2015-ben elvégeztük, így a faj csírázásbiológiai tulajdonságairól már rendelkezünk információval (Kovács *et al.* 2018). A kései szegfű esetében az *ex situ* állományban szintén kevés magot tudtunk fogni, ezért Debrecenből és Bernből származó *ex situ* állományokból magcserével kért magokat vontunk a vizsgálatba. A csíráztatás a Soroksári Botanikus Kert üvegházában (47°24' - 19°09') zajlott természetes fényviszonyok között 2019 tavaszán. A magokat itatóspapírral bélelt Petri-csészékbe vetettük, populációnként 5 ismétlésben (kivétel a berni (2 ismétlés) és debreceni (4 ismétlés) a kisebb magmennyiség miatt), ismétlésenként 50 db maggal. A magokat folyamatosan nedvesen tartottuk. A csírázást hetente egyszer értékeltük 2019.04.24-06.11 között. A csírázási százalékot az alábbi formula alapján számítottuk ki (International Seed Testing Association-ISTA 1985):

$$\text{Csírázási \%} = \frac{\text{Csírázott magok száma}}{\text{Összes elvetett mag}} \times 100$$

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

Az óriás útifű és a sárga len *in situ* és *ex situ* populációkban fajlista felvételezést is végeztünk az élőhelyek pontosabb megismerése végett. Az óriás útifűnél a felmérést 2020-ban, a morfológiai vizsgálatokkal egy időben végeztük el. Minden populációban 5 db 1 x 1m-es kvadrátban felvettük a kvadráton belül előforduló fajok listáját. A sárga len populációnál populációnként 1 fajlista felvételt készítettünk. Mivel az állományok mérete és kiterjedése nagyban eltért egymástól, így pontosabbnak ítéltük meg a kvadrátok helyett populációnként felvenni a fajlistát.

A kvadrátokban megjelenő növényfajokat Király (2009) határozókulcsa segítségével meghatároztuk. A fajlisták alapján a fajokhoz tartozó attribútumokat a FLÓRA adatbázisból

(Horváth *et al.* 1995) gyűjtöttük ki. A vizsgált attribútumok az alábbiak voltak: Borhidi-féle ökológiai indikátor értékek (relatív hőigény – TB, relatív talajvíz, ill. talajnedvesség – WB, talajrekáció – RB (Borhidi 1995). Az óriás útifű esetében a fajokhoz 1-5-ig hozzárendeltünk egy értéket, aszerint, hogy a faj hány kvadrátban fordult elő (konstancia érték) és ezekkel az értékekkel súlyoztuk a faj populációnkénti előfordulását. Az élőhelyek florisztikai hasonlóságának kifejezésére a Jaccard-indexet (J, Jaccard 1908) használtuk és az alábbi képlet segítségével számítottuk ki:

$$S_{\text{Jaccard}} = a/(a+b+c)$$

ahol az **a** a két összehasonlítandó populációban egyaránt előforduló fajok száma,

a **b** és a **c** pedig a csak az egyik, illetve csak a másik populációban előforduló fajok száma (Magurran 2004).

A Jaccard-indexek mátrixai alapján a klaszteranalízist a PAST (PAleontological STatistics Version 4.03 Hammer *et al.* 2001) szoftverben végeztük el. A klaszteranalízis során a programcsomagban a Paired Group UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean – csoportátlag eljárás) analízist használtuk euklideszi középtávolsággal.

## 4.5. Kromoszóma alapú vizsgálatok

### 4.5.1. Metafázisos kromoszóma preparáció

Kromoszóma vizsgálatokat az óriás útifű, a kései és balti szegfű fajokkal kapcsolatban végeztünk. A sárga len magok alacsony csírázási százaléka miatt kevés egyeden tudtuk kipróbálni a preparálási protokollt, ami nem bizonyult sikeresnek, így ezt a fajt kizártuk a vizsgálatokból. A kromoszóma vizsgálatokhoz az *in situ* populációkból és *Dianthus serotinus* esetében az *ex situ* állományból is maggyűjtés történt a 2018-2020-ig terjedő időszakban. Populációnként 5-20 véletlenszerűen kiválasztott egyedről összegyűjtött magmintákat nedves szűrőpapíron, Petri-csészében szobahőmérsékleten csíráztattam 2-10 napig, a taxon csírázási igényeinek függvényében. A molekuláris citogenetikai vizsgálatokat a Zágrábi Egyetem Biológia Tanszékének Molekuláris biológiai osztályának laborjában végeztük Jelena Mlinareccal. A csíranövények gyökércsúcsait a *Dianthus* taxonok esetében Weiss *et al.* (2002) módszertana alapján 0,002 M 8-hidroxikinolinnal 3 h szobahőmérsékleten sötétben, 3 h 4 °C hűtőszekrényben kezeltem. A *Plantago maxima* fajnál a gyökércsúcsokat jeges vízben kezeltük 24 órán keresztül. Ezt követően 24 h-ig 3:1 etanol–ecetsav fixáló oldatba helyeztük a mintákat, majd hűtőszekrényben tároltuk feldolgozásig. A kromoszóma preparálást Mlinarec *et al.* (2006) munkája nyomán végeztük. A gyökércsúcsokat 1% (w/v)-os kárminecetsavas festékekkel megfestettük, amit 45%-os ecetsavban történő macerálás után a tárgylemezen szétnyomtunk mitotikus dörzspreparátumot készítve. A preparátumok minőségét fáziskontraszt-mikroszkóp alatt ellenőriztük. A megfelelő minőségű preparátumokról a fedőlemezt folyékony nitrogén vagy CO<sub>2</sub> segítségével távolítottuk el. Ezt a minták 24 órás levegőn száradása követte. A kromoszómákat 2 µg ml<sup>-1</sup> 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) fluoreszcens festékekkel jelöltük és 20 percig, fénytől elzárt dobozban, szobahőmérsékleten festettük. Ezt követően desztillált vízzel lemostuk és FluoromountG Mounting Medium-mal (ThermoFischer Scientific) kezeltük a mintákat a kifakulás mértékének csökkentésére. 4°C-on egy éjszakára hűtőszekrénybe helyeztük a preparátumokat. A képek egy CCD kamerával (Olympus DP70) felszerelt Olympus BX51 mikroszkóppal készültek.

A képek utómunkáit Adobe Photoshop 6.0 program segítségével kiviteleztek. Átlagosan 10 db, jó minőségű metafázist vizsgáltunk egy egyednél.

#### 4.5.2. FISH jelölés

FISH (fluoreszcens *in situ* hibridizáció) vizsgálatot a *Dianthus serotinus* (szigetmonostori populációból származó egyedeken) és *Dianthus arenarius* (Fenyőfő/Hangosrét) esetében Mlinarec *et al.* (2012) munkája szerint végeztük kisebb módosításokkal az alábbiak szerint. Az 5S rDNS próbaként alkalmazott pTa794 klón tartalmazta a teljes 410-bp BamHI fragmenst a búza 5S rRNS gén és spacer régiójából (Gerlach és Dyer 1980). A 2,4 kb HindIII fragmens a részleges 18S rDNS és ITS1 *Cucurbita pepo* fajból származott, pUC19 vektorban került klónozásra (Torres-Ruiz és Hemleben 1994), amit a 35S rDNS próbaként alkalmaztunk. A próbák direkt jelölést kaptak a nick-transzlációs kit alkalmazásával a gyártó utasítása alapján (Abbott Molecular Inc., United States) kisebb módosításokkal vagy Aminoallil-dUTP-Cy3-mal (Jena Bioscience GmbH, Jena, Németország), vagy Green-dUTP-vel (Abbott Molecular Inc., Egyesült Államok). 500 ng próbát 25 ml teljes reakcióterfogóban jelöltünk 2,5 ml enzimkeverék felhasználásával 6 órán át 15 °C-on.

A lemezeket 10 percig fixáltuk 3,7%-os formaldehidben 2X SSC-ben (sós Na-citrát) 0,1% (w/v) nátrium-dodecil-szulfáttal. A hibridizációs mix (20 µL) 50% formamid 10% dextranszulfát, 0,6% nátrium-dodecil-szulfát 2X SSC és 2 ng µl<sup>-1</sup> jelölt próbát tartalmazott. A hibridizációs mixet 96 °C-on 3 percig denaturáltuk és közvetlenül utána jégen hűtöttük le a mintákat. A hibridizációs keveréket a preparátumra juttattuk és 24 x 32 mm-es fedőlemezzel buborékmentesen lefedtük. A kromoszóma preparátumokat a hibridizációs mix hozzáadása után 73 °C-on 5 percig denaturáltuk. A minták poszthibridizációs átmosása (a nem specifikusan hibridizálódott szekvenciák eltávolítására) 42 °C-on az alábbi oldatokkal történt (5 perces kezelési idő oldatonként): 2 × SSC, 0,1 × SSC, 2 × SSC, 4 × SSC/Tween. A preparátumok kontrasztfestésére DAPI festéket alkalmaztunk (2 µg ml<sup>-1</sup>) 20 percig, szobahőmérsékleten. A preparátumokat Dako Fluorescence Mounting Medium-mal kezeltük (Dako North America Inc., United States) és 4 °C-on tároltuk egy éjszakán át. A jelek vizualizálására egy CCD kamerával (Olympus DP70) felszerelt Olympus BX51 mikroszkópot használtunk. Átlagosan 10 db, jó minőségű metafázist vizsgáltunk egy egyednél. A képek utómunkáit (kontrasztolás) Adobe Photoshop 6.0 program segítségével végeztük.

Fluoreszcens *in situ* hibridizációt a *Plantago maxima* taxonra vonatkozóan is végeztünk. A *Dianthus* fajok esetében leírt protokollt alkalmaztuk a hibridizációs hőfok változtatásával. A fajok eltérő denaturációs hőfok optimuma miatt, az óriás útifű minta esetében a denaturáció a hibridizációs mix hozzáadása után 71°C-on 5 percig zajlott.

#### 4.6. DNS- alapú vizsgálatok

##### 4.6.1. DNS kivonás

A mintavételezés során fiatal leveleket (*Plantago maxima* esetében), valamint tölevélrózsákat (*Dianthus serotinus*) gyűjtöttünk szilika gélt tartalmazó papírzacsokba és felhasználásig ebben tároltuk. A növények teljes genomi DNS-tartalmát 20-25 mg növényanyagból E.Z.N.A.® SP Plant DNA kit (Omega Bio-tek, Inc., Norcross, GA, USA) segítségével vontuk ki, a gyártó által megadott protokoll alapján. A DNS-kivonatok mennyiségi



és minőségi paramétereit Nanodrop ND-1000 spektrofotométer (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA) készülékkal ellenőriztük. A DNS-kivonatokat -20°C-on fagyasztva tároltuk.

#### 4.6.2. ISSR- vizsgálat

A *Plantago maxima* faj összes hazai populációjából származó mintából, összesen 100 egyedben (populációnként 20-20 egyeddel) végeztünk el ISSR vizsgálatot. Az amplifikációt Aeris™ Thermal Cycler (Esco Micro Pte. Ltd., Singapore) típusú PCR készülékben végeztük a közölt protokoll alapján (4. táblázat). Az ISSR régiók felszaporításához 25 primerpárt teszteltünk (CACB, ACAD, UBC 807, 808, 809, 811, 812, 816, 817, 818, 823, 825, 826, 827, 835, 840, 841, 857, 861, 873, 881, 885, 887, 888, 889), amiből 8 primerpárt (ISSR primer set 9, University of British Columbia, <http://www.michaelsmith.ubc.ca>) választottunk ki a további vizsgálatokhoz (5. táblázat). A primerek kiválasztásánál figyelembe vettük a reprodukálhatóságot, a sávok tisztaságát, illetve az azonos PCR beállítással történő futtathatóságot. A PCR-reakció 15 µL végtérfogatban készült 50-100 ng DNS, (10x) DreamTaq Green PCR puffer (ThermoFisher, Waltham, MA, USA), 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,02 mM dNTP mix (ThermoFisher, Waltham, MA, USA), 5-5 µmol az adott primerekből, 0,25 U DreamTaq Green DNS-polimeráz (ThermoFisher, Waltham, MA, USA) és Milli-Q víz (Merck Millipore, Billerica, MA, USA) felhasználásával. A PCR termékek amplifikációs hatékonyságának javítása érdekében BSA (1%) (ThermoFisher) és DMSO (2%) is a reakció elegyhez került.

A PCR termékek minőségét etidium-bromiddal festett 1,5% (w/v)-os 1xTBE agaróz gélen ellenőriztük. A PCR termékek primertől függően 60-150 percen keresztül futottak 110 V-on. A géleképeket UV fény alatt készítettük gëldokumentációs rendszer segítségével (Bio-Rad Gel Doc XR, system Bio-Rad, CA, USA). A termékek méretének megállapítására GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder (Thermo Scientific) markert alkalmaztunk, majd a géleképeket GelAnalyzer 19.1 szoftverrel értékeltük. Az amplifikált fragmenseket vizuálisan értékeltük a homológ sávok jelenlétére (1) vagy hiányára (0), és az eredményeket MS Excel táblázatban foglaltuk össze. Az ISSR markerek bináris adatait domináns markerként elemeztük GenA1Ex 6.51b2 segítségével (Peakall és Smouse 2006, 2012, Smouse *et al.* 2017).

4. táblázat: A PCR-reakció körülményei az ISSR vizsgálat során.

Lépés	Kezelés	Hőmérséklet	Időtartam	Ciklus
1.	Elődenaturálás	94°C	5 perc	1
2.	Denaturálás	94°C	30 másodperc	40
	Primerek kötődése	49°C	60 másodperc	
	Polimerizálás	72°C	90 másodperc	
3.	Polimerizálás	72°C	7 perc	1

5. táblázat: Az általunk kiválasztott 8 primer pár szekvenciája és a primerek kötődési hőmérséklete (Ta).

Primer ID	Szekvencia (5'→3')	Ta (° C)
UBC 807	5' - AGA GAG AGA GAG AGA GT – 3'	49
UBC 808	5' - AGA GAG AGA GAG AGA GC – 3'	49
UBC 809	5' - AGA GAG AGA GAG AGA GG – 3'	49
UBC 811	5' - GAG AGA GAG AGA GAG AC – 3'	49
UBC 816	5' - CAC ACA CAC ACA CAC AT – 3'	49
UBC 818	5' - CAC ACA CAC ACA CAC AG – 3'	49
UBC 835	5' - AGA GAG AGA GAG AGA GYC – 3'	49
UBC 857	5' - ACA CAC ACA CAC ACA CYG – 3'	49

### 4.6.3. cpDNS-vizsgálat

#### 4.6.3.1. cpDNS-vizsgálat *Plantago maxima* fajnál

A *Plantago* nemzetségben sikeresen alkalmazott kloroplasztisz markerek közül a *trnL-trnF* markert használtuk (Taberlet *et al.* 1991) a hazai és kazah populációk közötti összehasonlításhoz (Rønsted *et al.* 2002, Hassemer *et al.* 2019). A vizsgálathoz a hazai *in situ* és *ex situ* populációkból populációnként 4-4 db mintát gyűjtöttünk, valamint a kazahsztáni populációból is 4 db mintát használtunk fel. A gyűjtött mintákon kívül a GenBank-ból származó mintákat is felhasználtunk: *Plantago maxima* MK487969, *Plantago media* AY101920, *Plantago major* AY101917, *Plantago lanceolata* AY101952, *Plantago alpina* AY101932 (NCBI adatbázis, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). A primerpárhoz tartozó szekvenciákat és az optimális tapadási hőmérsékletet a 6. táblázatban foglaltuk össze. A kloroplasztisz szekvenciák amplifikálásához használt reakcióelegy 25 µL végtérfogatban az alábbi összetevőket tartalmazta: 20-30 ng DNS, 10x Dream Taq Green PCR puffer (ThermoFisher, Waltham, MA, USA), 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,02 mM dNTP mix, 2,5 µmol primerenként (Biocenter Kft., Szeged, Hungary), 0,5 unit Dream Taq Green DNS polimeráz (ThermoFisher), 1% BSA (ThermoFisher), 2% DMSO (Reanal, Budapest, Hungary) és Milli-Q víz (Merckmillipore, Billerica, MA, USA). A PCR amplifikációt Aeris™ Thermal Cycler (Esco Micro Pte. Ltd., Singapore) típusú PCR készülékben végeztük Taberlet *et al.* 1991 munkája alapján, kisebb módosítások mellett a 7. táblázatban foglaltak szerint.

6. táblázat: Az óriás útifű molekuláris vizsgálatához használt cpDNS primerpár jellemzői.

Primer név	Forward/ Reverse	Szekvencia (5'→3')	Ta (° C)	Hivatkozás
trnL <sup>5'UAAF</sup>	F	CGA AAT CGG TAG ACG CTA CG	53	Taberlet <i>et al.</i> 1991
trnF <sup>GAA</sup>	R	ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG		

Ta – tapadási hőmérséklet (annealing temperature)

7. táblázat: A PCR-reakció körülményei a *trnL-trnF* cpDNS vizsgálat során.

Lépés	Kezelés	Hőmérséklet	Időtartam	Ciklus
1.	Elődenaturálás	94 °C	5 perc	1
2.	Denaturálás	94 °C	30 másodperc	35
	Primerek kötődése	53 °C	40 másodperc	
	Polimerizálás	72 °C	2,5 perc	
3.	Polimerizálás	72 °C	7 perc	1

#### 4.6.3.2. cpDNS-vizsgálat *Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* fajoknál

A *Dianthus* nemzetség *Plumaria* szekciójában korábban két cpDNS szakaszt vizsgáltak Valente *et al.* (2010) és Somogyi (2014). A két vizsgálatba vont régió a 3' *trnK-matK* (Johnson és Soltis 1994) és a *trnH-trnK* (Demesure *et al.* 1995) voltak, azonban a két taxon között alacsony variabilitást mutattak. Ezért újabb régiók vizsgálatának bevonásával szeretnénk volna a két taxon közötti szekvencia különbségeket feltárni. Univerzális kloroplasztisz markereket (5' *rps12-rpL20*, *rpoB-trnCGCAR*, *psbM-trnDGUC*, és *ycf1b*) és hat új primerpárt teszteltünk a két taxon egyedein, továbbá bevontuk ebbe a vizsgálatba a *Plumaria* szekció még egy tagját a *Dianthus plumarius*-t is a primerek szekción belüli variabilitásának tesztelésére. A kloroplasztisz DNS vizsgálatba a morfológiai vizsgálatoknál ismertett populációkon felül további mintákat vontunk be, a vizsgálatba vont taxonokat, származási helyüket és GPS koordinátáikat a 8. táblázat foglalja össze.

8. táblázat: A cpDNS vizsgálatba vont *Dianthus* taxonok, származási helyük és GPS koordinátáik.

Taxon	Populáció	Élőhely	GPS koordináta
<i>Dianthus arenarius</i> L.	Lettország (Jaunupe, Tārgale Parish)	<i>in situ</i>	N 57.5211, E 21.6715
<i>Dianthus plumarius</i> L.	Balatongyörök	<i>in situ</i>	N 46.7677, E 17.3537

A hat új primerpárt a *Dianthus caryophyllus* (GenBank KU904222.1) (Li *et al.* 2019) és *Dianthus superbus* var. *longicalycinus* (GenBank KM668208.1) (Gurusamy *et al.* 2014) fajok kloroplasztisz genomjainak variábilis régióira fejlesztettük. A két taxon kloroplasztisz genom szekvenciáját letöltöttük az NCBI adatbázisból (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> 2021.08.20.). A szekvenciákat illesztettük és megkerestük a variábilis lókuszeket. A variábilis régiók esetében kiemeltük a konszenzus szekvenciákat, meghosszabbítottuk 100 nukleotiddal a két végét és ezekre a területekre terveztük a primereket. A primertervezést a Primer 3 Plus szoftverrel végeztük el (<https://primer3plus.com/cgi-bin/dev/primer3plus.cgi>) és a Primer-BLAST toolkit (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi>) segítségével *in silico* teszteltük, hogy elkerüljük a paralóg lókuszek egyidejű amplifikációját.

A PCR amplifikáció során alkalmazott reakcióelegy és a PCR-reakciók körülményei megegyeztek az óriás útifű cpDNS vizsgálatnál ismertett körülményekkel, a primerek optimális kötődési hőmérsékletét a 9. táblázat tartalmazza.

9. táblázat: A *Dianthus* taxonokon tesztelt 10 primerpár szekvenciája és a primerek kötődési hőmérséklete.

ID	Primer	Forward/ Reverse	Primer szekvencia (5'→3')	Ta (° C)	Hivatkozás
<b>P6</b>	5' rps12	F	ATT AGA AAN RCA AGA CAG CCA AT	53	Hamilton (1999)
	rpL20	R	CGY YAY CGA GCT ATA TAT CC		
<b>P7</b>	rpoB	F	CKA CAA AAY CCY TCR AAT TG	52	Shaw <i>et al.</i> (2005)
	trnC <sup>GCA</sup> R	R	CAC CCR GAT TYG AAC TGG GG		
<b>P14</b>	psbM	F	AGC AAT AAA TGC RAG AAT ATT TAC TTC CAT	53	Shaw <i>et al.</i> (2005)
	trnDGUC	R	GGG ATTGTA GYT CAA TTG GT		
<b>P15</b>	ycf1bF	F	TCT CGA CGA AAA TCA GAT TGT TGT GAA T	53	Dong <i>et al.</i> (2015)
	ycf1bR	R	ATA CAT GTC AAA GTG ATG GAA AA		
<b>P16</b>	DI1-380	F	GGG CGA ACG ACG GGA A	56	új primer
		R	TTG GTA TGG AAG TTA TGC ACG AA		
<b>P17</b>	DI2850-0-29100	F	ACT CTC ATA TCA ATT CGC CGT C	56	új primer
		R	GTT CGA GCC CCG CCA G		
<b>P19</b>	DI5100-5660	F	TGA GCA GTC TCA AAT ACC CTT TGT	56	új primer
		R	TGA GCT ATT TCT CAA GGG AGA GG		
<b>P20</b>	DI6690-0-67420	F	CCA AGC GAT CTT TTC GTA GGC	56	új primer
		R	CGG AGT TTA TTC TCC GGG AGT C		
<b>P21</b>	DI7310-0-73780	F	AGT TCC AAC TAA AAA GGT GAA ATG A	56	új primer
		R	AAG AAA TTT CGC GAT CGA ACT ACC		
<b>P22</b>	DI8068-0-81320	F	TTT ATG GTT TGT TCC GCC ATC C	56	új primer
		R	GAT AGA ATT GCT ATG CTT AGT GTG T		

#### 4.6.3.3. A PCR-termékek tisztítása és szekvenálása, primer szelekció

Minden termék tisztítása és szekvenálása azonos módszerrel történt. A PCR termékeket etidium-bromiddal festett 1,5% (w/v)-os 1xTBE agaróz gélen ellenőriztük. A géleképeket UV fény alatt készítettük géldokumentációs rendszer segítségével (Bio-Rad Gel Doc XR, system Bio-Rad, CA, USA). A termékek méretének megállapítására GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific) markert alkalmaztunk. A PCR termékeket a primerek függvényében 40-55 percig futtattuk 100 V-on. A markerekhez tartozó géleképek az M3 mellékletben (M1-M4. ábra) találhatóak. Az amplifikált termékeket CleanSweep PCR Purification (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) kit segítségével tisztítottuk a gyártó utasításai szerint. Szekvenálási reakcióban használt primerek megegyeztek azokkal, amelyeket a PCR amplifikáció során használtunk. A szekvenálás automatizált DNS szekvenáló ABI PRISM 3100 genetikai analizátor készülékkel történt (Biocenter Kft., Szeged, Hungary) mind a két irányból.

A nyers szekvenciákat a BioEdit 7.2.5 (Hall 1999) szoftver segítségével szerkesztettük. A forward és reverse szekvenciákból konszenzus szekvenciát készítettünk, a kromatogramok alapján a szekvenálási hibákat javítottuk és vizuálisan ellenőriztük a polimorf pozíciókat. A szerkesztett szekvenciák illesztését a BioEdit szoftverbe integrált ClustalW (Thompson *et al.* 1994) programmal végeztük el. A gap-ek kódolását az egyszerű indel kódolási algoritmus alapján (gap jelenléte esetén 1, gap hiányában 0 kódolással, Simmons és Ochoterena 2001), a FastGap 1.2 programmal készítettük el (Borchsenius 2009). Az értékelés során figyelembe vettük az indelek hosszának variabilitását is. A *Dianthus* taxonok esetében alkalmazott 10 primer sikeres amplifikációját követően kisebb mintaelemszámmal szelektáltunk azért, hogy a nem variábilis, vagy a nagyon alacsony polimorfizmust mutató lókuszokat kizárjuk. A tíz primerből a végső vizsgálatba öt primer került (P7, P15, P16, P19, P20). A szelekció során alkalmazott mintákat és a végső vizsgálathoz felhasznált mintákat a 10. táblázat foglalja össze. A *Dianthus* szekvenciák esetében az alkalmazott öt plasztisz szekvenciából egy egységes mátrixot hoztunk létre a szekvenciák összefűzésével a SeaView 4.6.4 programban (Gouy *et al.* 2010).

10. táblázat: A primer szelekció és végül a kiválasztott öt primer során felhasznált minták megnevezése és mintaszámai.

Szelekció		
Taxon	Populáció	Mintaszám
<i>Dianthus arenarius</i> L. agg.	Lettország	1
	Fenyőfő - Hangosrét	1
	Fenyőfő - Kurucerdő	1
	Fenyőfő – Anyafás újulat	1
<i>Dianthus serotinus</i> W. et K	Farmos	1
Végső vizsgálat (5 db primerrel)		
<i>Dianthus arenarius</i> L. agg.	Lettország (LAT)	3
	Fenyőfő – Anyafás újulat (ANY)	3
	Fenyőfő – Hangosrét (III)	3
	Fenyőfő – Kurucerdő (KU)	1
<i>Dianthus serotinus</i> W. et K	Soroksári Botanikus Kert	3
	Szigetmonostor	3
	Farmos	3
<i>Dianthus plumarius</i> L.	Balatongyörök	3

GenBank-ból származó taxonok		
Taxon	ID	Mintaszám
<i>Dianthus caryophyllus</i> L.	KU904222 MG989277 NC039650	3
<i>Dianthus gratianopolitanus</i> Vill.	LN877387 LN877388 LN877389 LN877390 LN877391 LN877392 LN877393 LN877394 LN877395	9
<i>Dianthus moravicus</i> Kovanda	LN877396	1
<i>Dianthus longicalyx</i> Miq.	KM668208 MT001881 NC050834	3

#### 4.7. Statisztikai analízis

##### 4.7.1. Morfometria változók és a csírázási százalék statisztikai értékelése

A vegetatív és generatív paraméterekre vonatkozó statisztikai értékelést az IBM SPSS 27 szoftver segítségével végeztük el. Többváltozós variancia analízist (MANOVA) alkalmaztunk, blokkhatásként kezeltük az éveket (évjárathatást), a faktor a populáció volt, a vizsgált morfológiai paraméterek pedig a függő változók. A csírázási százalék értékeléséhez egyváltozós varianciaanalízist (ANOVA) alkalmaztunk. Függő változóként a csírázási százalékot, faktorként a populációkat adtuk meg. A MANOVA és ANOVA feltételeként először kiugróérték vizsgálatot végeztünk Mahalanobis távolságra alapozva. A reziduumok normalitását a Saphiro-Wilk (Shapiro és Wilk 1965), illetve Kolmogorov-Smirnov (Berger és Zhou 2014) tesztekkel igazoltuk. Amennyiben a tesztek alapján a normalitás nem teljesült a ferdeség és csúcsosság vagy D'Agostino teszt alapján (Tabachnick 2007) fogadtuk el a normalitást. Kevés esetben szükség volt adattranszformációra és a kiugró értékek eltávolítására is. A szóráshomogenitást Levene-teszttel ellenőriztük és abban az esetben, ahol a feltétel sérült ( $p < 0.05$ ) Games-Howell post hoc tesztet alkalmaztunk. A szóráshomogenitás teljesülése esetén Tukey tesztet használtunk a szignifikánsan eltérő csoportok elkülönítéséhez. A statisztikai értékelést 95%-os szignifikancia szint mellett végeztem. A statisztikai értékelések részletes táblázatait a mellékletek M2 Statisztikai táblázatok fejezete tartalmazza. Diszkriminancia analízist is alkalmaztunk a morfológiai bélyeg alapú csoportok detektálásához, valamint a kategóriákat meghatározó változók predikciójához és a változók alkalmasságának értékeléséhez a kategória kapcsoltság szempontjából. Az analízist lépésenkénti módszerrel (stepwise-method) végeztük el, a csoporton belüli csoportméretek kiszámításával.

## 4.7.2. Molekuláris markerek értékelése

### 4.7.2.1. ISSR

A bináris adat mátrixot a GenAlEx 6.51b2. (Peakall és Smouse 2006, 2012, Smouse *et al.* 2017) szoftver segítségével értékeltük. Megadtuk a polimorf lókusok számát, a polimorf lókusok százalékos arányát, a Nei féle genetikai diverzitást ( $h$ ) (Nei 1973) és a Shannon Információs Indexet ( $I$ ) (Lewontin 1972). A GenAlEx 6.51b2 szoftverbe integrált AMOVA-t (analysis of molecular variance) használtuk a populáción belüli és populációk közötti genetikai variabilitás megoszlásának becslésére. A varianciakomponensek szignifikanciáját permutációs teszttel határoztuk meg (999 ismétlés). A populációk térbeli genetikai struktúrájának értékelését Bayes klaszterezési elven alapuló STRUCTURE 2.3.4. szoftverrel végeztük (Pritchard *et al.* 2000). Az analízist korrelált allélfrekvenciájú admixture modellel hajtottuk végre (Falush *et al.* 2003) LOCPRIOR beállítással (előzetes próbafuttatások alapján) (Hubisz *et al.* 2009). A  $K$  (klaszter) értékeket 1-8-ra állítottuk, minden számítás 10-szer ismételve, a burn-in periódus 100 000 volt, 500 000 MCMC (Markov Chain Monte Carlo) generációval alkalmazva. Az optimális klaszterszám meghatározásának céljából a STRUCTURE HARVESTER-t (Earl és Vonholdt 2012) használtuk az Evanno-módszer alkalmazásával (Evanno *et al.* 2005). A futtatások legjobb  $K$  értékeinek átlagolását és vizualizálását a Pophelper webes applikációval végeztük el (Francis 2017).

### 4.7.2.2. cpDNA

A *Dianthus* fajok esetében a filogenetikai kapcsolatok értékelésére maximum likelihood (ML) és Bayes analízist végeztünk a 10 primer tesztelése során. Az ML analízist a RAxML-NG web szerveren futtattuk (<http://embnet.vital-it.ch/raxml-bb/>) (Kozlov *et al.* 2019), a konszenzus törzsfát 10 véletlenszerűen induló fa (random starting trees) és autoMRE bootstrap kereséssel 0,03 határérték beállításával készítettük. Az összefűzött és illesztett szekvenciákat particionált adatkészletként kezeltük, így lehetőség volt primerenként megadni az optimális evolúciós modelleket és a gap kódolt régiót. Az evolúciós modelleket a PhyML (<http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/>) (Guindon *et al.* 2010) program segítségével választottuk ki. Primerenként az optimális evolúciós modellt az M3. Kiegészítő ábrák és táblázatok melléklet M3. táblázata tartalmazza. Ezen felül készítettünk egy csak GTR modellre alapozott törzsfát is, ahol az adatkészletet nem particionáltuk. Mivel a GTR modellre alapozott törzsfá nem tért el jelentősen az eltérő evolúciós modellekre alapozott törzsfától, a kiválasztott 5 primerre már csak GTR modellel végeztünk ML analízist. A Bayes analízist a MrBayes v.3.2.7a szoftverrel végeztük el (Ronquist *et al.* 2012). Az általános időreverzibilis szubsztitúciós modellt (General Time Reversible, GTR) alkalmaztuk, a szubsztitúciós arányokra vonatkozóan gamma-eloszlást feltételezve. A Markov Chain Monte Carlo (MCMC) szimulációt 10.000.000 generáción keresztül futtattuk, minden 100-ik lépést mintázva 25%-os burn-in értékkel. A 10 primerre futtatott Mr. Bayes és ML törzsfá nem tért el jelentősen egymástól (mellékletek M6. és M7. ábra), így az 5 szelektált primerre Bayes analízist már nem futattunk.

A *Plantago* és *Dianthus* szekvenciák közötti leszármazási kapcsolatok értékelésére (Clement *et al.* 2002) haplotípus hálózat elemzést alkalmaztunk. A haplotípus hálózatokat a PopART szoftver segítségével készítettük el (Leigh és Bryant 2015), Templeton–Crandall–Singh (TCS) analízissel. Minden inszerciót és deléciót egy mutációs eseményként kezeltünk és minden indelt egyedüli pozícióként kódoltunk a végső illesztésnél, a kapcsolatokat 95%-on limitáltuk.

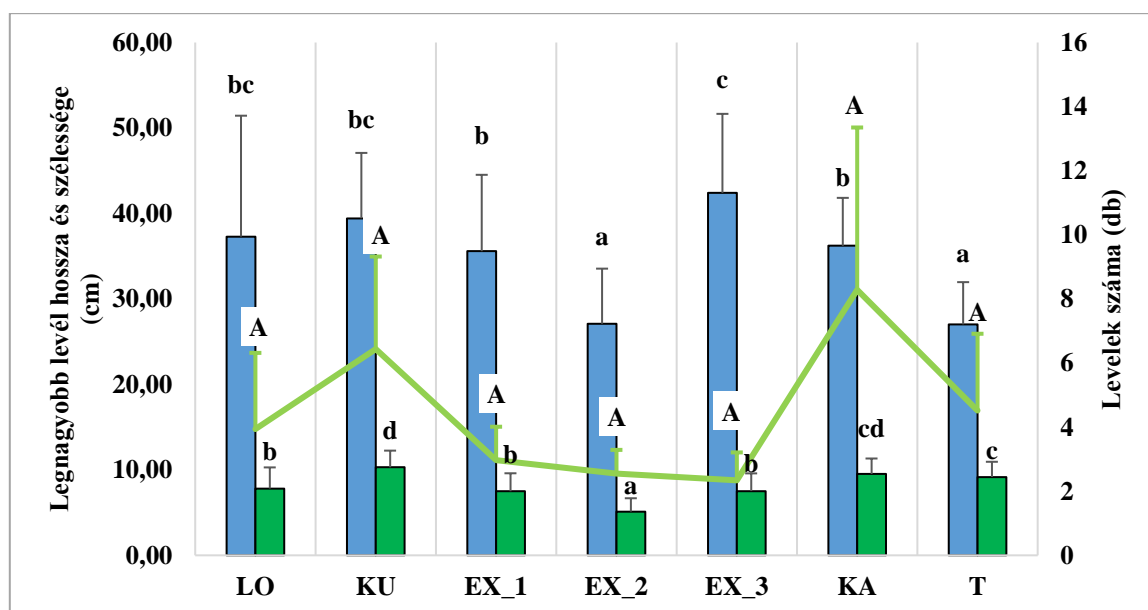
## 5. EREDMÉNYEK

### 5.1. *Plantago maxima* fajjal kapcsolatos eredmények

#### 5.1.1. Morfometriai vizsgálatok

##### 5.1.1.1. Az *ex situ* és az *in situ* populációk morfológiai összehasonlítása 2018 és 2020 között mért adatok alapján

Morfometriai vizsgálatunkat 2018 és 2020 között, 3 éven keresztül, azzal a céllal végeztük, hogy az óriás útifű hazai populációinak morfológiai variabilitását és az *in situ* és *ex situ* populációk esetében potenciálisan fennálló morfológiai különbségeket feltárjuk. A MANOVA során szignifikáns különbséget kaptunk mind a három vizsgált változónál az évek között: levelek hosszúsága ( $F(2, 366) = 57,366, p < 0,001$ ), levelek szélessége ( $F(2, 366) = 5,450, p < 0,01$ ), levelek száma ( $F(2, 366) = 0,143, p < 0,001$ ). Az élőhelynek a levelek hosszára ( $F(6, 366) = 36,315, p < 0,001$ ) és szélességére is hatása volt ( $F(6, 366) = 45,104, p < 0,001$ ) (10. ábra), ugyanakkor a levelek számában nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést ( $F(6, 366) = 1,961, p = 0,07$ ). A levélszám stabil bélyegnek tekinthető és értékelhető taxonspecifikus bélyegként, ami a különböző élőhelyek között is nagyobb stabilitást mutat.



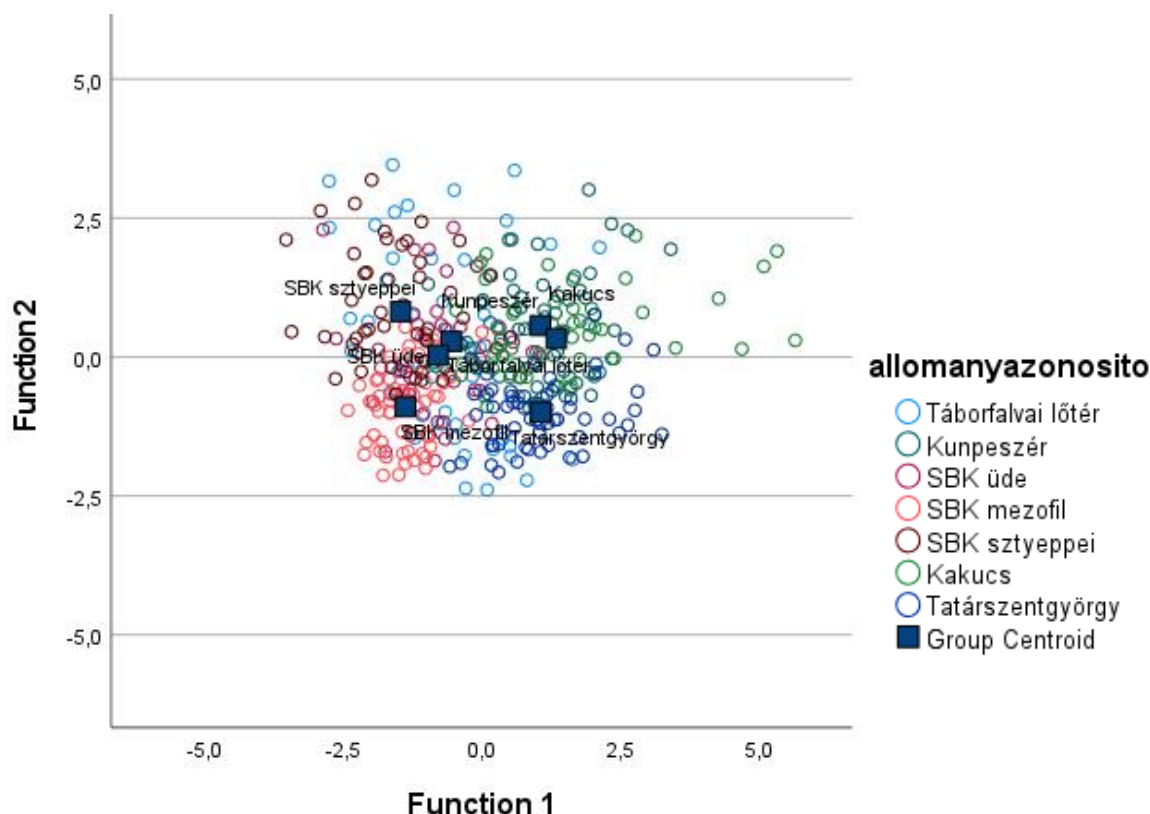
10. ábra: A vizsgált morfometriai változók (levelek száma (zöld vonal), legnagyobb levél hossza (kék) és szélessége (zöld)) a *Plantago maxima* hazai populációiban és *ex situ* állományaiban. Az ábra 3 év átlagát mutatja be. LO= Táborfalva Lótér, KU=Kunpeszér, EX= Soroksári Botanikus Kert– szubpopuláció 1 (üde), 2 (mezofil) és 3 (sztyeppe), KA=Kakucs, T=Tatárszentgyörgy. A különböző betűk a populációk közötti szignifikáns különbségekre utalnak a Tukey (levélszám) és Games-Howell (levél hossz és szélesség) post hoc teszt alapján ( $p < 0,05$ ).

A diszkriminancia analízis során az első függvény (Function 1) a variancia 69%-át magyarázza. A populációk két nagyobb csoportra oszlanak: a kakucsi, kunpeszéri és tatárszentgyörgyi állományok alkotják az első csoportot, az *ex situ* állományok (SBK üde, mezofil



és sztyeppei) és táborfalvai populáció pedig a második csoportot. A levél szélesség az első függvény diszkrimináló tényezője. A második függvény (Function 2) a variancia 23,3%-át magyarázza, ennek köszönhetően az *ex situ* populációk két részre szakadtak: SBK sztyeppei és SBK üde a kunpeszéri populációval alkot csoportot, az SBK mezofil pedig elvált tőlük és közelebb helyezkedik el a tatárszentgyörgyi populációhoz. Továbbá a kakucsi és lőtéri populációktól a tatárszentgyörgyi állomány is elkülönült. A második függvényenél a levél hosszúság volt a diszkrimináló tényező (11. ábra).

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.



11. ábra: Kanonikus diszkriminancia analízis a *Plantago maxima in situ* és *ex situ* állományai között, a három vizsgált levélmorfológiai bélyeg alapján.

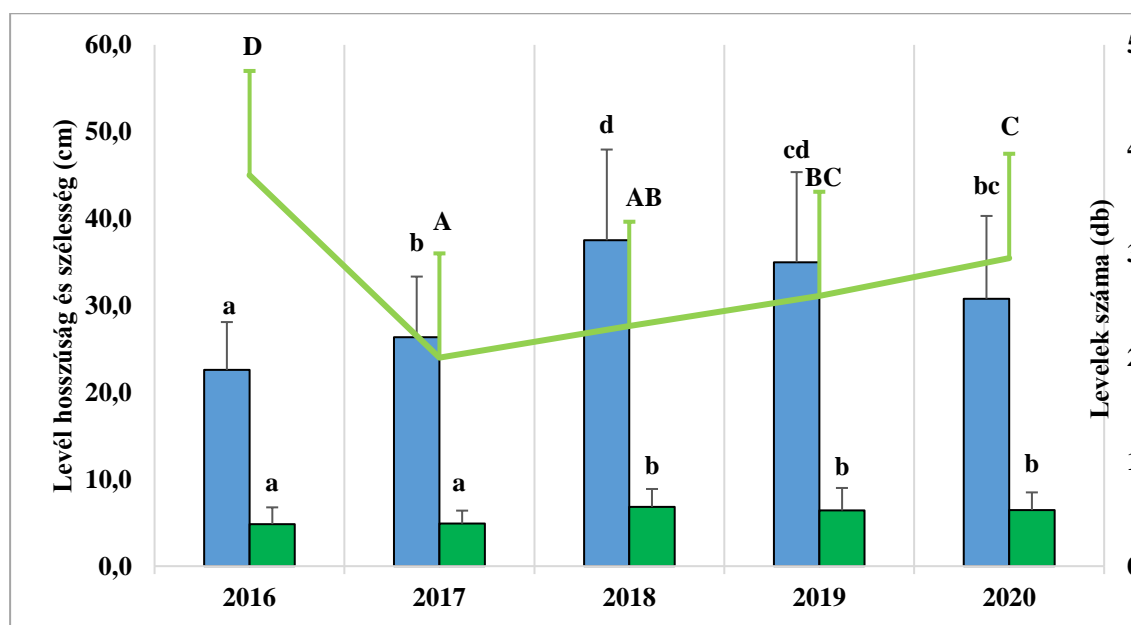
### 5.1.1.2. A három *ex situ* szubpopuláció monitoringja a telepítés évétől (2016) kezdve 2020-ig

2016-2020 között az *ex situ* állomány három szubpopulációját (üde, mezofil és sztyeppei) évente morfometriai monitoring módszerrel vizsgáltuk, hogy felmérjük az évek hatását a vizsgált egyedek morfológiai paramétereire. Továbbá, hogy a szubpopulációk közötti differenciálódást és a potenciálisan fellépő különbségeket detektáljuk. A MANOVA során szignifikáns különbséget kaptunk mind a három vizsgált változó esetében az évek között: levelek hosszúsága ( $F(4, 258) = 38,907, p < 0,001$ ), levelek szélessége ( $F(4, 258) = 14,501, p < 0,01$ ), levelek száma ( $F(4, 258) = 41,779, p < 0,001$ ). A 2016-os telepítés évéhez képest megfigyelhető egy stabilizálódási folyamat mind a levelek méretében, mind a levelek számában. A levelek száma 2017-ben jelentősen visszaesett (12. ábra), ami magyarázható az új környezetbe való telepítés okozta stresszel. Az évek során fokozatosan növekedett a levelek száma, ami a szubpopulációk stabilizálódására utalhat. A 2019-2020-as évben megfigyelhető a levelek hosszúságának csökkenése, ugyan akkor a levelek

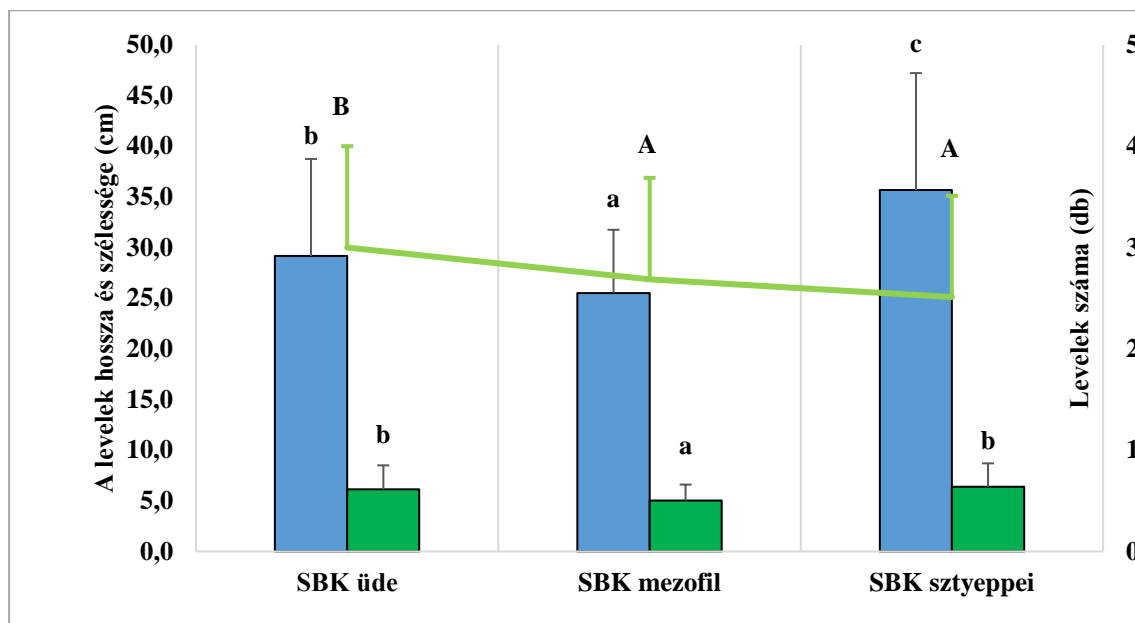
számának növekedése, ami magyarázza a levelek méretének csökkenését a levelek számának növelése érdekében.

Az állománynak szintén mind a három változóra szignifikáns hatása volt: a levelek hosszára ( $F(2, 258) = 46,207, p < 0,001$ ) és szélességére ( $F(2, 258) = 14,792, p < 0,001$ ), és a levelek számára is ( $F(2, 258) = 7,134, p < 0,01$ ). A sztyeppei és üde állományok egyedei nagyobb levélparaméterekkel voltak jellemezhetőek, mint a mezofil szubpopuláció egyedei. Ez a méretbeli különbség magyarázható a kompetíciós nyomással, mivel mind a két szubpopulációban előforduló fajok jelentősebb árnyékoló hatást fejtettek ki az óriás útifű tövekre. A levelek számában szintén szignifikáns eredményt tapasztaltunk, az üde állomány egyedei szignifikánsan több levelet fejlesztettek a másik két szubpopulációhoz képest. Ez az eredmény összefüggésben lehet a faj környezeti stabilizálódásával és a generatív fázis megjelenésével. Az évjáratok hatását a 12. ábra mutatja be. A morfológiai paraméterek szerinti elkülönüléseket a 13. ábra szemlélteti.

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.



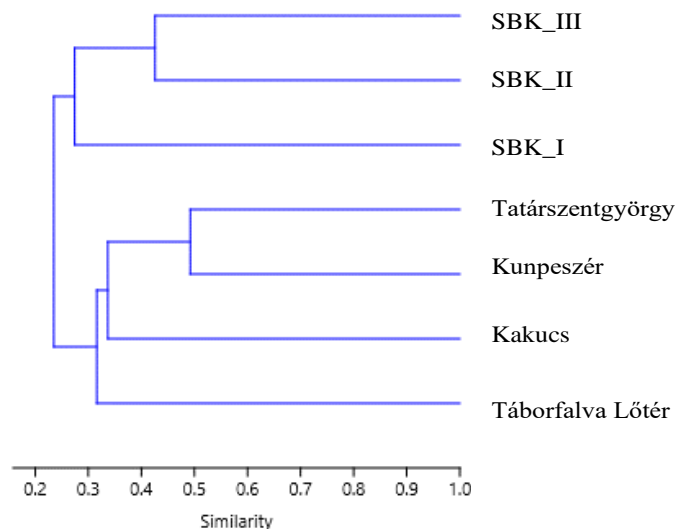
12. ábra: Az évek hatása a levelek számára (zöld vonal), levelek hosszúságára (kék) és szélességére (zöld) a *Plantago maxima ex situ* állományban. A különböző betűk az évek közötti szignifikáns különbségekre utalnak a Games-Howell post hoc teszt alapján, a nagy betűvel jelzett csoportok a levelek számához tartoznak ( $p < 0,05$ ).



13. ábra: A levelek számának (zöld vonal), hosszának (kék) és szélességének (zöld) alakulása a 2016-2020 között felvett összes adat alapján a *Plantago maxima* három soroksári (SBK) *ex situ* szubpopulációjában. A különböző betűk a populációk közötti szignifikáns különbségekre utalnak a Games-Howell post hoc tesztek alapján ( $p < 0,05$ ).

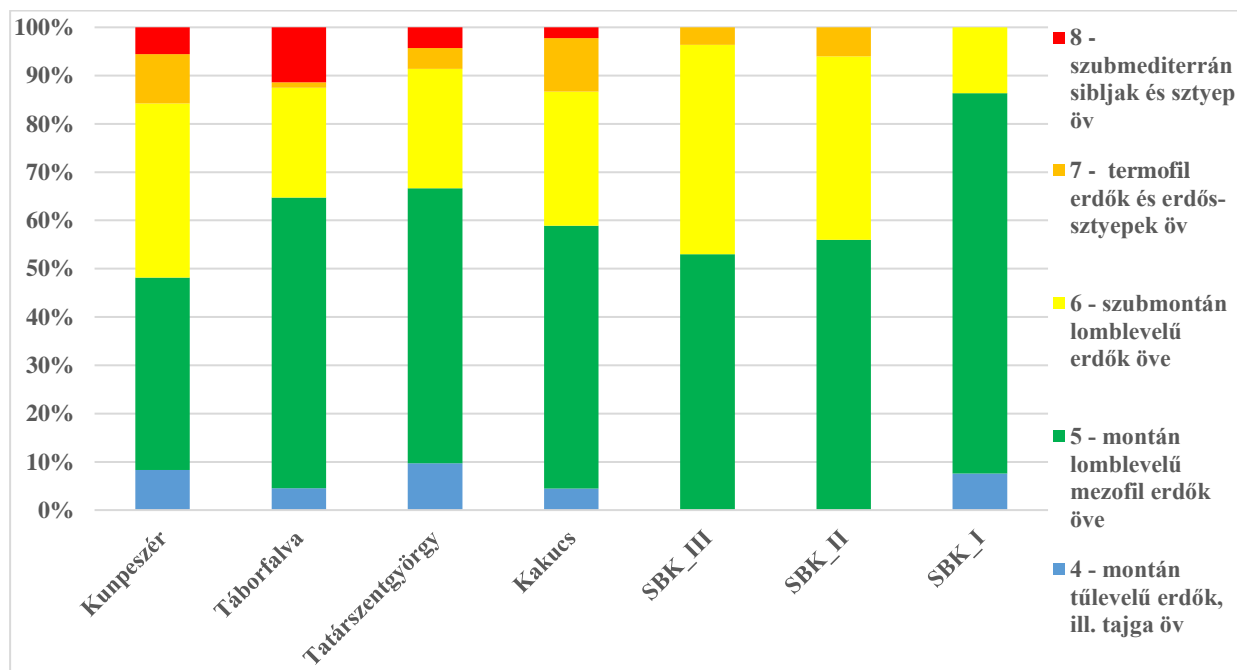
### 5.1.2. A vizsgált állományokban előforduló növényzet értékelése

Az óriás útifű vizsgált állományaiban felvételezett fajlistákat az M3 Kiegészítő ábrák és táblázatok melléklet M2. táblázata tartalmazza. Az élőhelyek fajlistáinak prezencia-abszencia adatai alapján a Jaccard-index szerint többváltozós, hierarchikus (UPGMA – Unweighted pair-group average, Saitou és Nei 1987) osztályozást végeztünk, amit a 14. ábra szemléltet. Az állományok fajsza az alábbiak szerint alakult: SBK(I): 27 faj, SBK(II): 41 faj, SBK(III): 36 faj, Kunpeszér: 54 faj, Kakucs: 40 faj, Tatárszentgyörgy: 40 faj, Táborfalva: 36 faj. Két nagyobb csoport figyelhető meg az ábrán, az egyiket 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. A kunpeszéri és tatárszentgyörgyi állományok például 0,492 szimilaritási indexel nagyobb arányban hordoznak azonos fajokat, ami a kis földrajzi távolságból adódó hasonló fajkészlettel magyarázható. 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 taposási kár miatt. Emellett az aktív katonai tevékenység is jelentős mértékben formálja a lőtéri állomány fajkészletét.



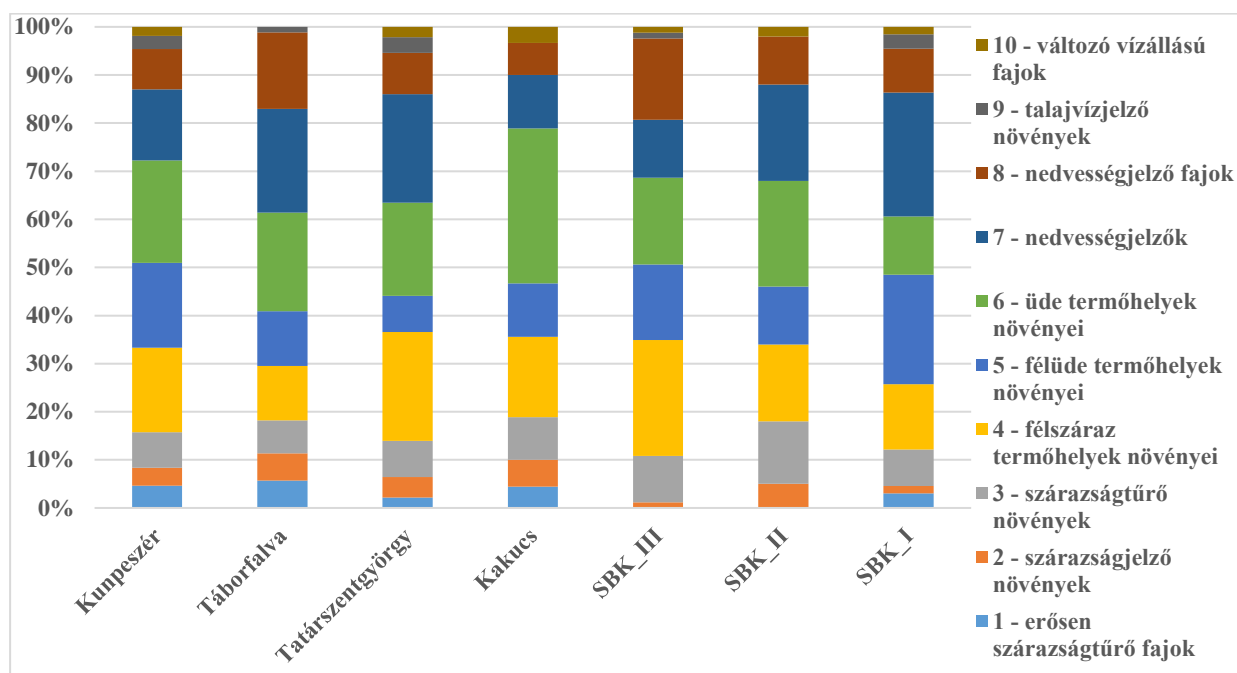
14. ábra: Az óriás útifű állományokkal együttélő növényzet klasszifikációs értékelése Jaccard-index alapján, UPGMA klaszterezési algoritmus alapján.

Vizsgáltuk az élőhelyeket a Borhidi-féle relatív ökológiai indikátor értékek (relatív hőigény – TB, relatív talajvíz, ill. talajnedvesség – WB, talajrekáció – RB) alapján is. A fajok hőmérsékleti igényei (TB értékek) alapján elmondható, hogy az *ex situ* állományokból hiányoznak a meleg klímát jelző (8-as kategóriájú) fajok, amik az *in situ* állományokban jelen vannak (pl.: *Centaurea sadleriana*, *Chrysopogon gryllus*, *Plantago altissima*). Emellett az SBK\_III és SBK\_II szubpopulációkból a hidegigényesebb (4-es kategóriájú) fajok is hiányoznak (pl.: *Veratrum album*, *Galium boreale*, *Deschampsia flexuosa*), amit a 15. ábra szemléltet.



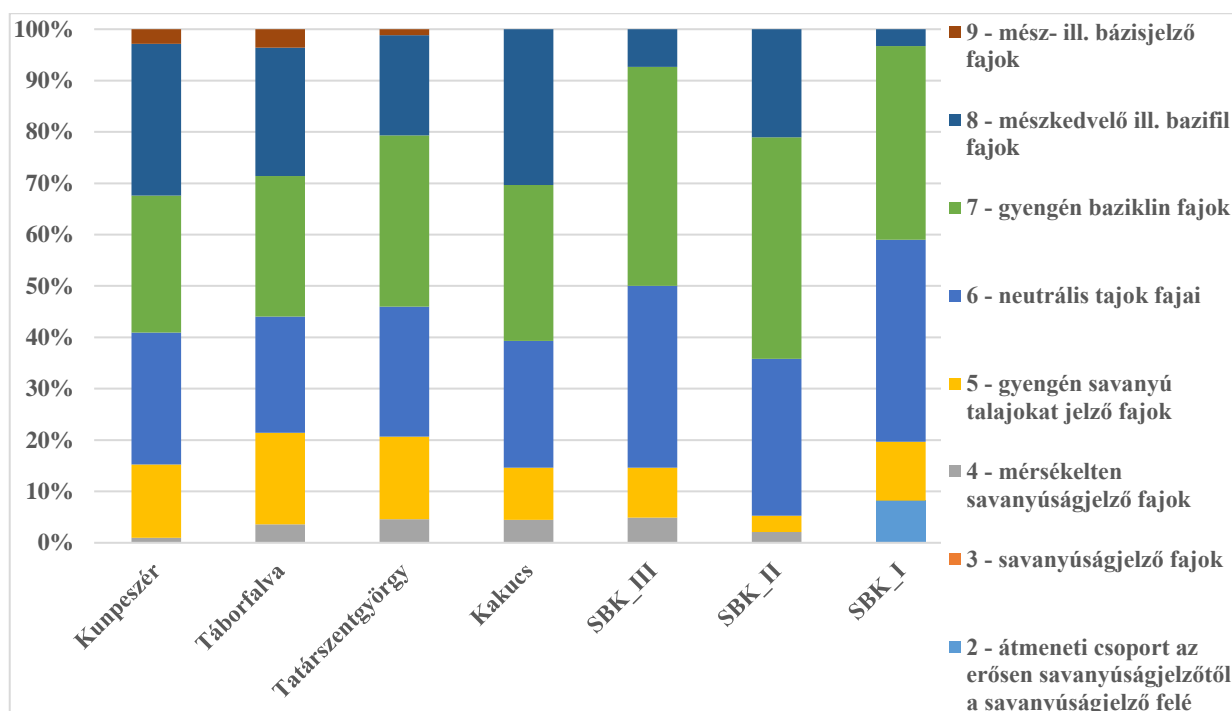
15. ábra: Az óriás útifű állományokban felmért fajok relatív hőmérsékleti igény (TB érték) szerinti megoszlása.

A WB értékek alapján elmondható, hogy szárazságtűrő és szárazságjelző fajok (1-4. kategória) mindegyik vizsgált állományban nagyobb arányban fordulnak elő. Az *ex situ* állományok közül az SBK\_I (üde) állományban vannak a legkisebb arányban jelen a szárazságjelző fajok, valamint a 9-10. kategóriájú változó vízállású és talajvizet jelző fajok nagyobb arányban fordulnak elő. Ezért feltételezhető, hogy ez a szubpopuláció a legüdebb termőhellyel rendelkezik és az *in situ* populációk közül leginkább a kunpeszéri állományhoz hasonlít a vízellátottság tekintetében. Ezzel szemben az SBK\_III (sztyeppei) állomány nagy arányban tartalmaz szárazságtűrő elemeket, ami a tatárszentgyörgyi állományra is jellemző, amit a 16. ábra mutat be.



16. ábra: Az óriás útifű állományokban felmért fajok relatív vizigény (WB érték) szerinti megoszlása.

A talajreakció értékek (RB értékek) alapján a kunpeszéri, tatárszentgyörgyi és táborfalvai állományok különülnek el a mészben gazdag talajokat jelző fajok (9-es kategória) miatt. Az SBK\_I (üde) szubpopulációban savanyúságot jelző fajok is jelen vannak (pl.: *Schoenus nigricans*, *Allium moschatum*, *Euphorbia lucida*), amit a 17. ábra szemléltet.



17. ábra: Az óriás útifű állományokban felmért fajok talajreakció (RB érték) szerinti megoszlása.

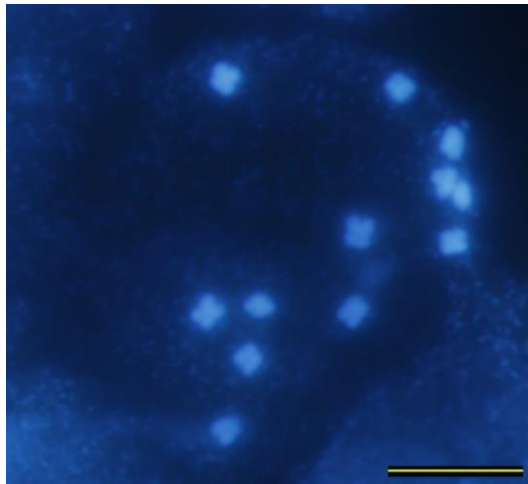
### 5.1.3. Kromoszóma alapú vizsgálatok

#### 5.1.3.1. Metafázisos kromoszóma preparáció

Az állományokat, a vizsgált egyedszámokat és a metafázisos kromoszóma számokat a 11. táblázatban foglaltuk össze. Az összes vizsgált hazai óriás útifű állományban megerősítettük a  $2n=2x=12$  kromoszóma számot (18. ábra). A faj öt metacentrikus és egy akrocentrikus kromoszómárral rendelkezik, kariotípus formulája  $5m+1a$ .

11. táblázat: Az óriás útifű kromoszóma analízisbe bevont populációinak nevét, az analízis során vizsgált egyedszámot és a diploid kromoszóma számot ( $2n$ ) összefoglaló táblázat.

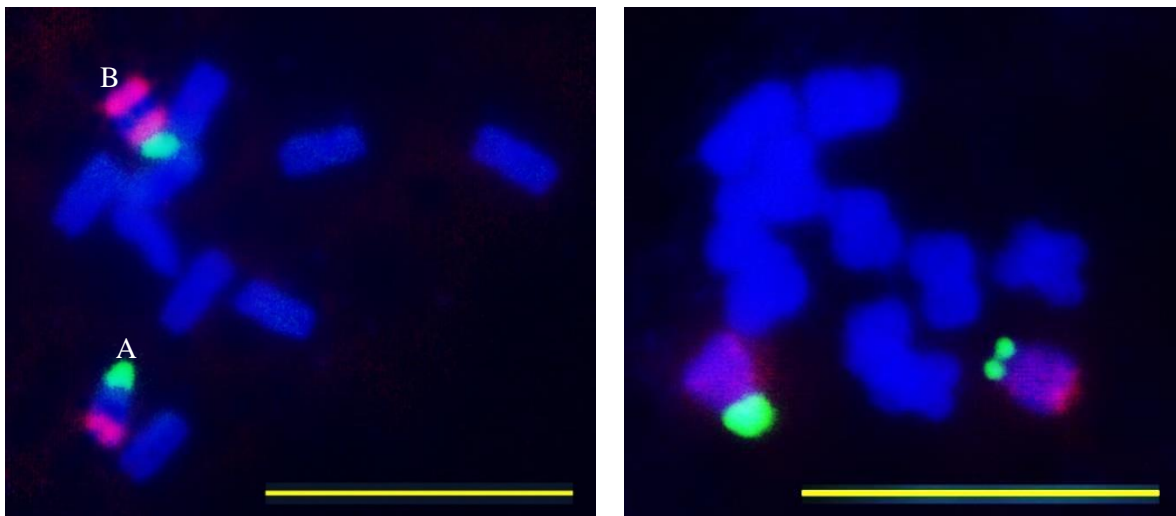
Populáció	Vizsgált egyedszám	$2n$
Kakucs	12	12
Kunpeszér	16	12
Tatárszentgyörgy	10	12
Táborfalva Lőtér	8	12



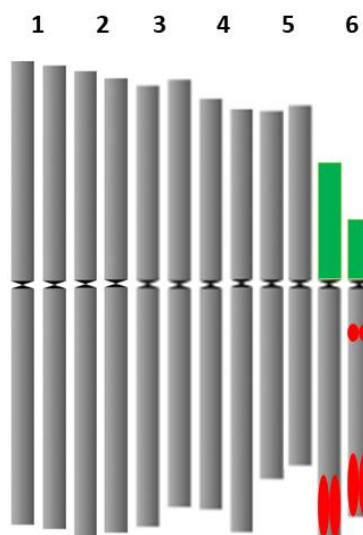
18. ábra: *Plantago maxima* metafázisos kromoszóma preparátuma ( $2n=2x=12$ ). A skála 10  $\mu$ m-nek felel meg.

### 5.1.3.2. FISH jelölés

A *Plantago maxima* 35S és 5S rDNS régiói a 6-os számú, akrocentrikus kromoszómán helyezkednek el (19. ábra). 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. Az óriás útifű idiogramját a 20. ábra mutatja be.



19. ábra: FISH térképezés *Plantago maxima* szomatikus metafázisos kromoszóma preparátumokon. (A) 35S rDNS próba (zöld) és (B) 5S rDNS próba (piros) ( $2n = 2x = 12$ ). Skála = 10  $\mu$ m (Fotók: Jelena Mlinarec).



20. ábra: Az óriás útifű ideogramja. A színek az alkalmazott próbáknak megfelelőek: 5S rDNS (piros) és 35S rDNS (zöld).

#### 5.1.4. DNS- alapú vizsgálatok

##### 5.1.4.1. *Plantago maxima* ISSR- vizsgálat

A primerenkénti és populációk közötti genetikai variabilitás megoszlását a 12. és 13. táblázatok foglalják össze. A 8 ISSR primer a 100 vizsgálatba vont egyedre 100 egyértelmű és reprodukálható elektroforetikus sávot eredményezett 280-2000 bp közötti tartományban, héttől 16 sávig változó mennyiségben a primerek függvényében átlagosan 12,5 sáv/primer értékben. Nyolcvanhét sáv (87,0 %) volt polimorf az összes minta összehasonlításakor. A polimorf lokuszok 69-85% között mozogtak a populációk között. A legmagasabb polimorfizmus a kunpeszéri populációban volt, ahol két privát sávot (private band) is detektáltunk. A legkisebb Nei-féle genetikai diverzitás a kakucsi és *ex situ* állományokban ( $He = 0,206$ ), a legnagyobb érték pedig a kunpeszéri populációban ( $He = 0,257$ ) volt. 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.

12. táblázat: A genetikai diverzitás értékeléshez használt ISSR primerek polimorfizmus indexei az óriás útifűnél.

Primer	Sávok mérete (bp)	Összes sáv	Polimorf sávok	Polimorfizmus (%)
UBC 807	520-1270	13	12	92,31
UBC 808	480-1240	15	12	80,00
UBC 811	640-1450	13	11	84,62
UBC 857	280-790	9	4	44,44
UBC 835	420-760	7	6	85,71
UBC 816	680-2000	16	15	93,75
UBC 818	420-990	11	11	100
UBC 809	700-1585	16	16	100
Átlagos diverzitás	280-2000	100	87	87



13. táblázat. A *Plantago maxima* populációk közötti genetikai diverzitási mutatók.

Populáció	<i>N</i>	<i>n</i>	PPL	<i>N<sub>a</sub></i>	<i>N<sub>e</sub></i>	<i>I</i>	<i>H<sub>e</sub></i> (S.E.)	<i>uH<sub>e</sub></i> (S.E.)
<i>Ex situ</i>	20	69	69,00	1,610	1,337	0,317	0,206 (0,018)	0,211 (0,019)
Tatárszentgyörgy	20	74	74,00	1,680	1,365	0,344	0,223 (0,018)	0,229 (0,019)
Kakucs	20	72	72,00	1,670	1,337	0,320	0,206 (0,018)	0,212 (0,019)
Kunpeszér	20	85	85,00	1,850	1,422	0,396	0,257 (0,017)	0,264 (0,018)
Lótér	20	73	73,00	1,650	1,338	0,324	0,209 (0,018)	0,214 (0,018)
Átlagos diverzitás		74,60	74,60	1,692	1,360	0,340	0,220 (0,008)	0,226 (0,008)

*N*, mintaszám, *n*, polimorf lókuszok száma, PPL, polimorf lókuszok százalékos megoszlása (%), *N<sub>a</sub>*, lókuszonkénti átlagos allélszám, *N<sub>e</sub>*, lókuszonkénti átlagos effektív, *I*, Shannon információs index, *H<sub>e</sub>*, Nei-féle genetikai diverzitás, S.E., standard hiba, *uH<sub>e</sub>*, heterozigotitás torzítatlanul (unbiased) becült aránya

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 (14. táblázat).

14. táblázat. A GenAlEx szoftverrel végzett AMOVA vizsgálat összefoglaló táblázata.

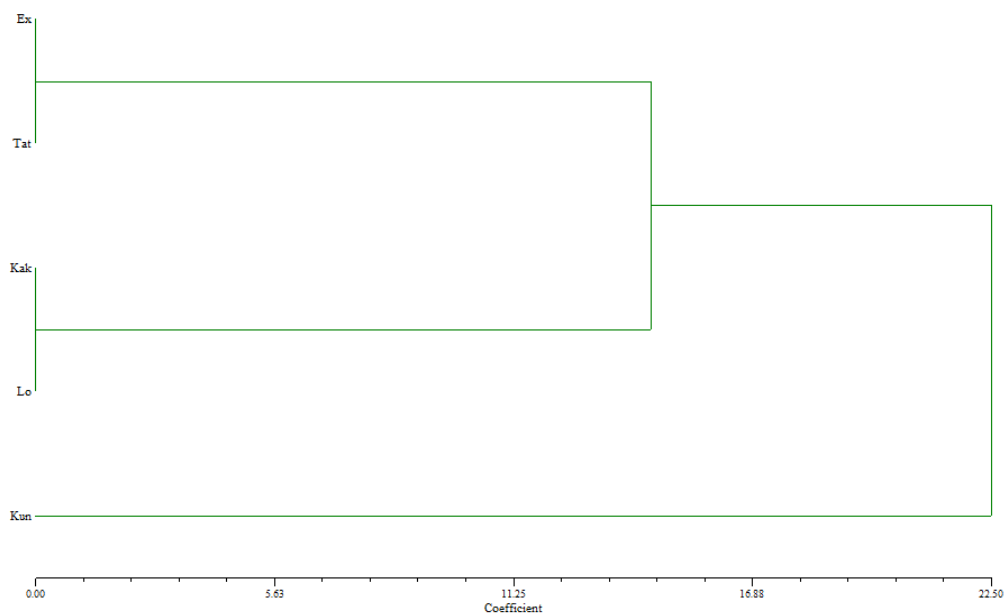
Variabilitás forrása	d.f.	Négyzetek összege (sum of squares)	Becsült variancia	Teljes variancia (%)	$\Phi$	Szignifikancia ( <i>p</i> )
Populációk között	4	140,920	1,130	8	0,082	<0.001
Populáción belül	95	1199,000	12,621	92		
Teljes	99	1339,920	13,752	100		

$\Phi$  PhiPT érték

A Nei-féle genetikai távolság mátrixra alapozott (15. táblázat) UPGMA dendrogram (21. ábra) alapján három alcsoport körvonalazódott: egy klád tartalmazza az *ex situ* és a tatárszentgyörgyi, a második klád a kakucsi és lóteri populációkat. A harmadik klád a kunpeszéri populációval jelentősebb mértékben elkülönült a többi populációtól.

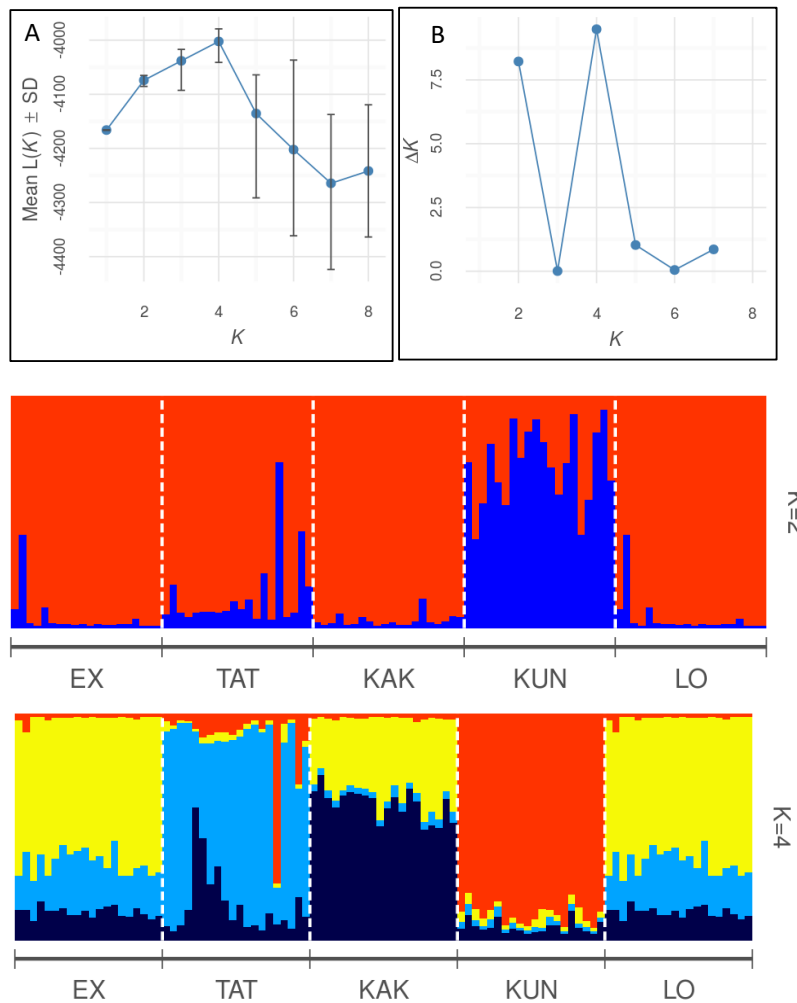
15. táblázat. Az óriás útifű populációk Nei-féle genetikai távolságának páronkénti populáció mátrixa 8 ISSR marker alapján.

Ex situ	Tatárszentgyörgy	Kakucs	Kunpeszér	Lőtér	
0,000					Ex situ
0,038	0,000				Tatárszentgyörgy
0,025	0,036	0,000			Kakucs
0,050	0,048	0,041	0,000		Kunpeszér
0,033	0,040	0,025	0,041	0,000	Lőtér



21. ábra A vizsgált óriás útifű populációk UPGMA dendrogramja a Nei-féle genetikai távolság mátrix alapján.

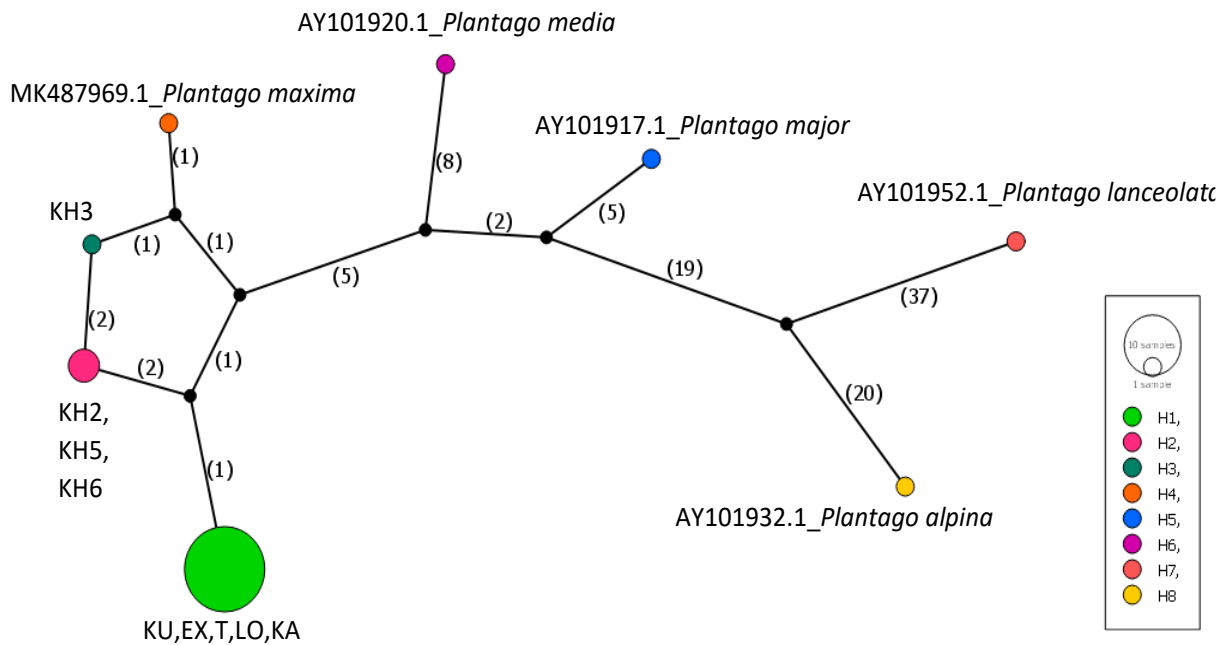
A populációgenetikai struktúralódás a STRUCTURE HARVESTER alapján a K=4 és K=2 csoportokat valószínűsíti (22. ábra). A STRUCTURE analízis a klaszterek között az egyedek közti génkicserélődést (admixture) jelzi. Populációgenetikai struktúra a STRUCTURE analízis alapján a kunpeszéri populáció elkülönülését és külön klaszterben való elhelyezkedését mutatja.



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

#### 5.1.4.2. cpDNS-vizsgálat a *Plantago maxima* in situ és ex situ állományokban

A *trnL-trnF* szekvencia teljes hossza 837 bázispár. A haplotípus hálózathoz a hazai és kazahsztáni populációkból 4-4 db mintát, összesen 24 mintát használtunk fel. További öt mintát pedig a GenBankból töltöttünk le. A haplotípus hálózat négy *Plantago maxima* haplotípust tartalmaz (H1-H4), a H5-H8 haplotípusok más *Plantago* fajokhoz tartoznak (23. 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).



23. 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 figyeltek meg az elemzett mintakészletben. Az ágakon lévő számok a mutációs lépéseket (bázispár-változások számát) mutatják a haplotípusok között.

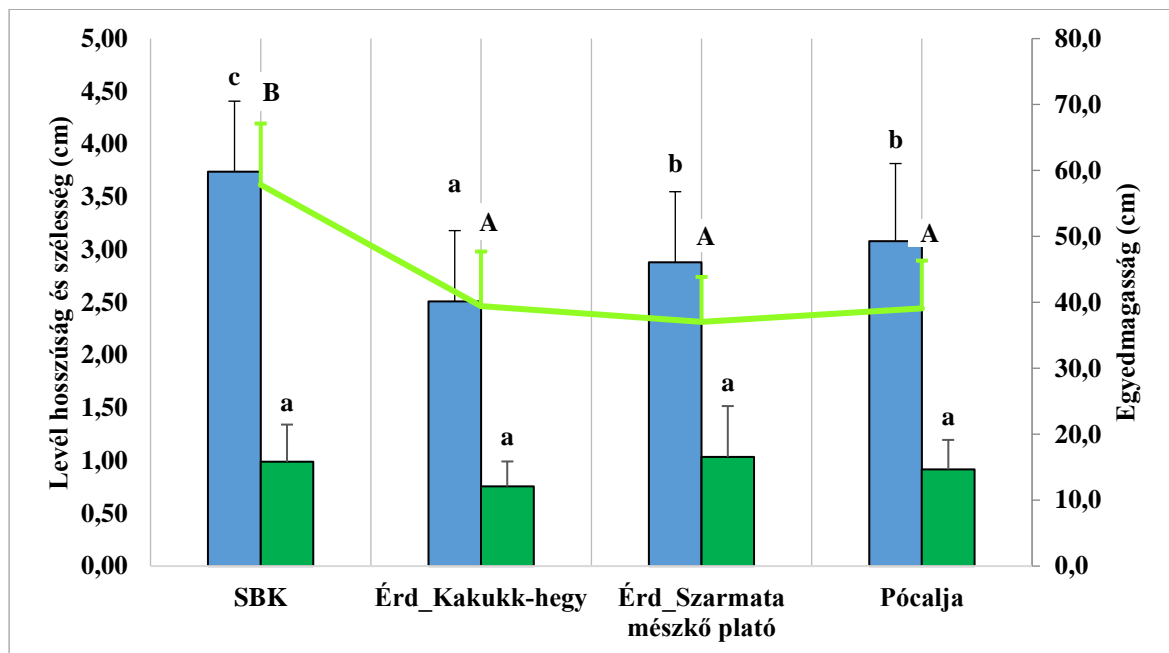
## 5.2. *Linum flavum* fajjal kapcsolatos eredmények

### 5.2.1. Morfometriai vizsgálatok

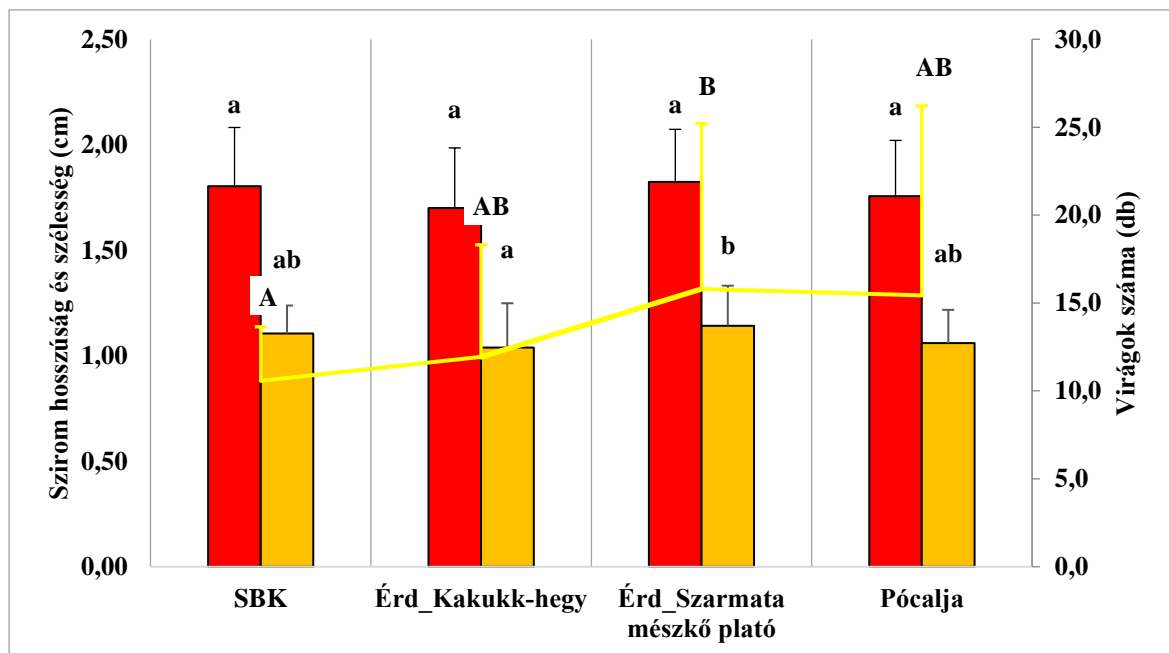
2018-2020 között összehasonlító értékelést végeztünk három *in situ* és egy *ex situ* sárga len populációban. A MANOVA során az év, mint blokkhatás tekintetében szignifikáns különbséget kaptunk az egyedmagasság ( $F(2, 225) = 3,498, p < 0,05$ ), a szírom hosszúság ( $F(2, 225) = 28,827, p < 0,001$ ) és szírom szélesség ( $F(2, 225) = 11,048, p < 0,001$ ) és a virágok száma ( $F(2, 225) = 54,794, p < 0,001$ ) bélyegekre nézve. A levelek szélességére ( $F(2, 225) = 1,786, p = 0,170$ ) és a levelek hosszúságára ( $F(2, 225) = 2,093, p = 0,126$ ) az éveknek nem volt szignifikáns hatása. Az élőhelyek között (állomány faktor) szignifikáns hatást tapasztaltunk az egyedmagasság ( $F(3, 225) = 86,490, p < 0,001$ ), a levél hosszúság ( $F(3, 225) = 31,952, p < 0,001$ ), a szírom szélesség ( $F(3, 225) = 4,854, p < 0,01$ ), valamint a virágok száma ( $F(3, 225) = 4,989, p < 0,01$ ) változókra nézve. A szírom hosszúságban nem volt szignifikáns különbség a csoportok között ( $F(3, 225) = 2,820, p = 0,067$ ). A levél szélesség ( $F(3, 225) = 0,042, p = 0,988$ ) esetén nem volt szignifikáns az eltérés és mivel az évjáratnak sem volt erre a paraméterre hatása, stabil bélyegnek tekinthető. 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 morfológiai paraméterek szerinti elkülönülést a 24-25. ábrák szemléltetik. Jól látható, hogy 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 fásor miatti árnyékoltsággal magyarázható. Ez a természetes

variabilitástól való elkülönülés egy adaptációs folyamatot jelezhet a kerti körülményekhez, ami a későbbi visszatelepítési törekvéseket kedvezőtlenül befolyásolhatja.



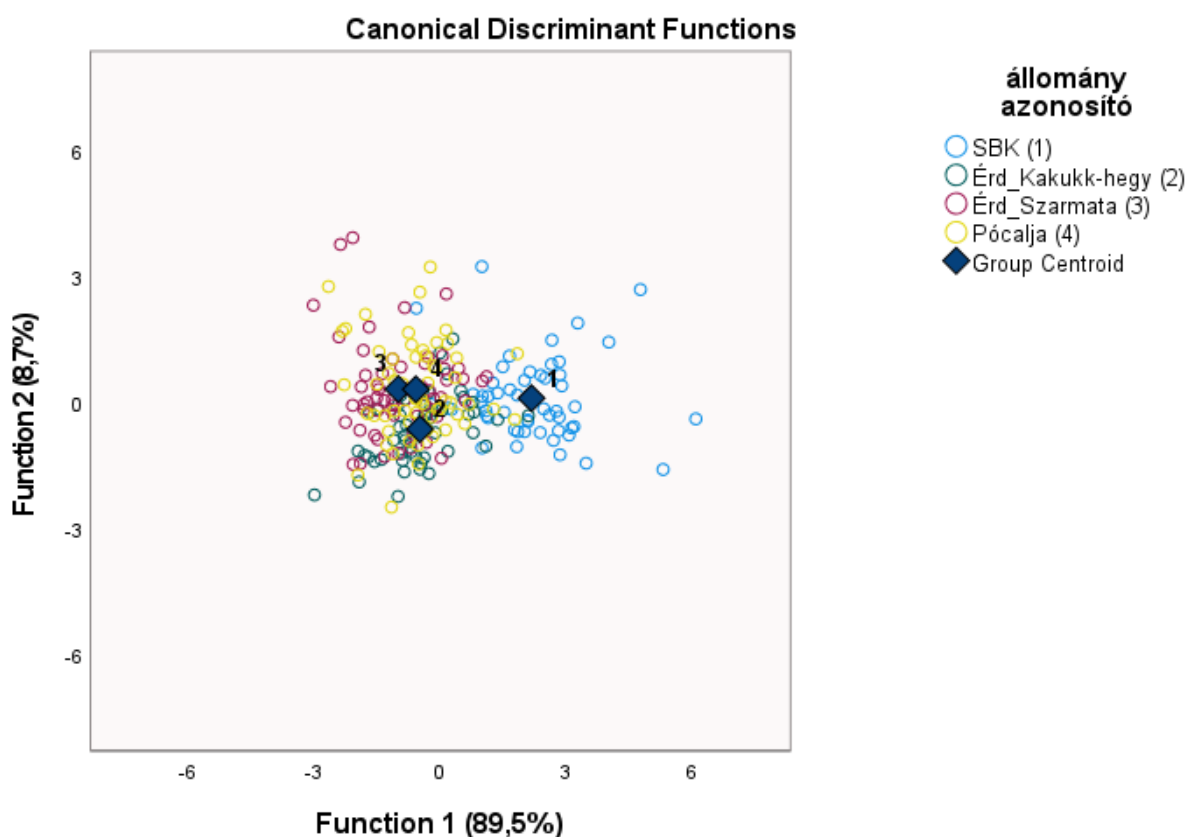
24. ábra: A sárga len egyedmagasságának (zöld vonal), levél hosszúságának (kék) és levél szélességének (zöld) alakulása az *in situ* és *ex situ* állományokban a három év összesített adata alapján. A különböző betűk a populációk közötti szignifikáns különbségekre utalnak a Tukey post hoc teszt alapján ( $p < 0,05$ ).



25. ábra: A sárga len *in situ* és *ex situ* állományok közötti virágszám (sárga vonal), szirom hosszúság (piros) és szirom szélesség (narancssárga) alakulása a három év összesített adata alapján. A különböző betűk a populációk közötti szignifikáns különbségekre utalnak a Games-Howell (virágok száma) és Tukey post hoc tesztek alapján ( $p < 0,05$ ).

A diszkriminancia analízis alapján az első függvény mentén (Function 1), ami a variancia 89,5%-át magyarázta, két nagyobb csoport alakult ki (26. ábra). Ez az *in situ* és *ex situ* populációk

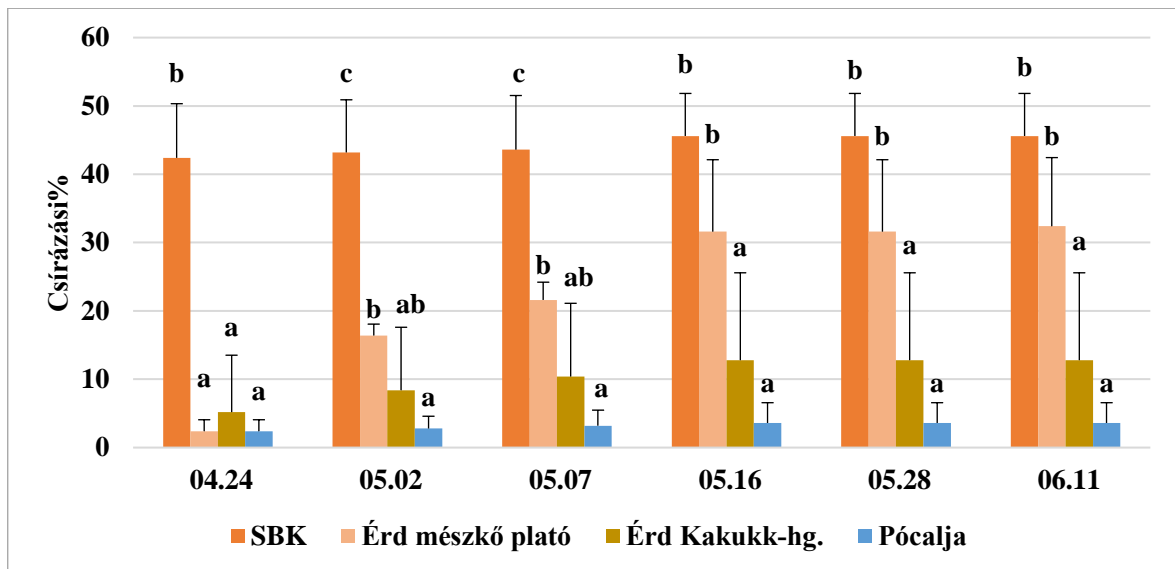
elkülönülését mutatja. A második függvény (Function 2), ami a variancia 8,7%-át magyarázza a 2 és 3, 4, 1 populációk elkülönülését mutatja. A diszkriminancia analízis is elkülönülést mutat a botanikus kerti populáció és az *in situ* populációk között, ami potenciálisan fennálló domesztikációs hatást jelezhet és adaptációt a kerti körülményekhez.



26. ábra: Kanonikus diszkriminancia analízis a *Linum flavum in situ* és *ex situ* állományai között, vegetatív és generatív morfológiai bélyegek alapján

### 5.2.2. Csírázásbiológiai vizsgálatok

A végső csírázási százalékokban az ANOVA szignifikáns eltérést mutatott a vizsgált populációk között ( $F(3, 16) = 23,065$ ,  $p < 0,001$ ). A legnagyobb csírázási százalék a botanikus kerti populációban jelentkezett (45,60%), a legalacsonyabb pedig a pócaljai populációban (3,60%), amit a 27. ábra szemléltet. A botanikus kerti állomány a csírázás lefutásában eltért a többi populációtól. Az adatfelvétel első időpontjában már igen magas csírázási százalékot ért el (42,40%), ami szignifikáns elkülönülést eredményezett az állományok között ( $F(3, 16) = 55,711$ ,  $p < 0,001$ ), amit az *in situ* populációk lassabb csírázási lefutása követett.

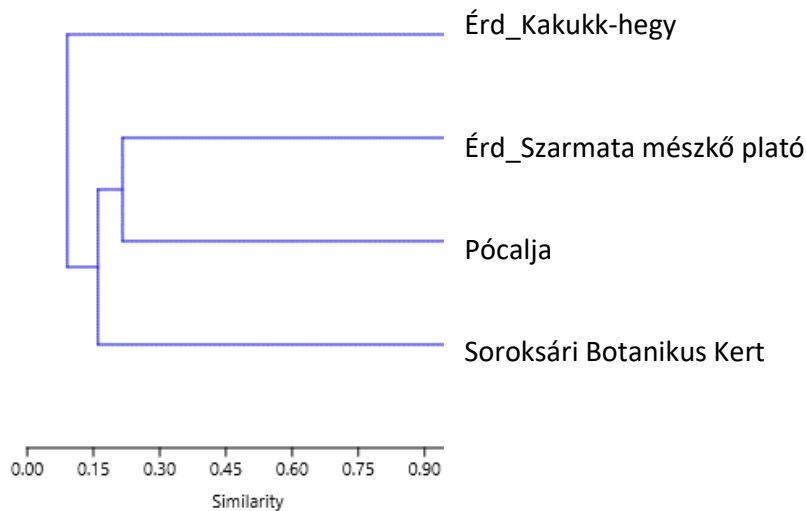


27. ábra: A sárga len magtétel csírázásának időbeli lefutása a szórás értékekkel. A vizsgálat kezdő napja április 10. volt. A különböző betűk a populációk közötti szignifikáns különbségekre utalnak a Tukey post hoc teszt alapján ( $p < 0,05$ ).

### 5.2.3. A vizsgált állományokban előforduló növényzet értékelése

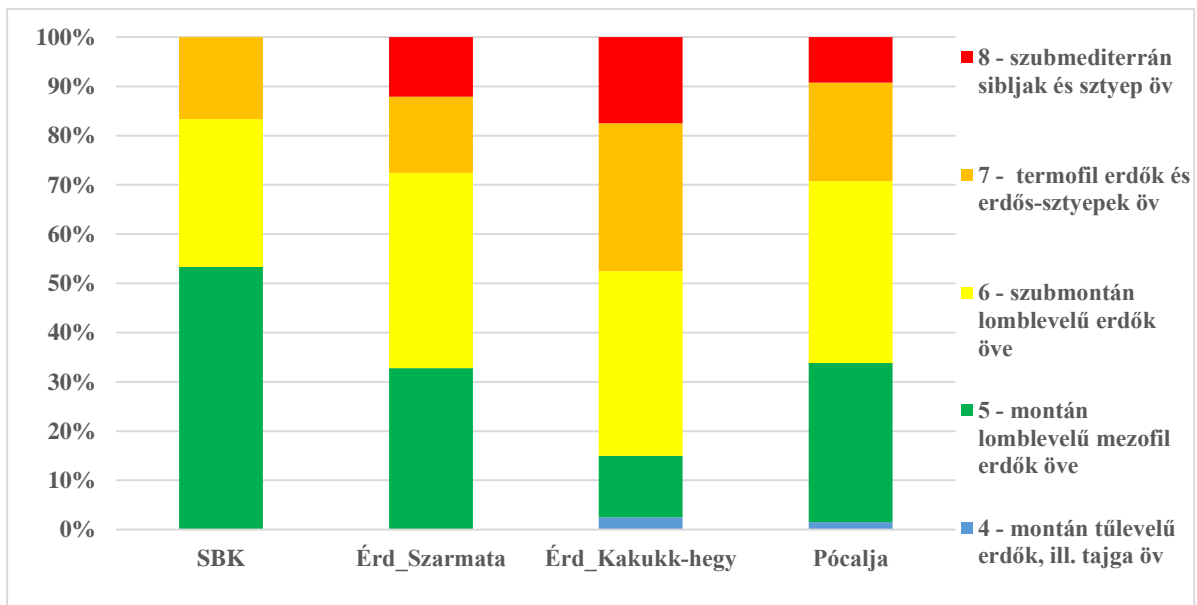
A sárga len populációkhoz tartozó fajlistát az M3. Kiegészítő ábrák és táblázatok melléklet M1. táblázata tartalmazza. Állományonként a fajszámok az alábbiak szerint alakultak: Soroksári Botanikus Kert: 31 faj, Érd, Szarmata mészkő plató: 58 faj, Érd, Kakukk-hegy: 40 faj, Pócalja: 66 faj. Az élőhelyek fajlistáinak prezencia-abszencia adatai alapján a Jaccard-index szerint többváltozós, hierarchikus (UPGMA – Unweighted pair-group average, Saitou és Nei 1987) osztályozást végeztünk, amit a 28. ábra szemléltet. 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* (syn. *Coeloglossum viride*). A három emberi tevékenységnek jobban kitett állomány, köztük az *ex situ* populáció közös csoportot képeztek.

Az élőhelyek közti különbségek feltárására vizsgáltuk a Borhidi-féle relatív ökológiai indikátor értékeket (relatív fényigény – LB, talajvíz – WB, talajrekáció – RB).



28. ábra: A sárga len állományok befogadó vegetáció klasszifikációs értékelése Jaccard-index alapján, UPGMA klaszterezési algoritmus alapján

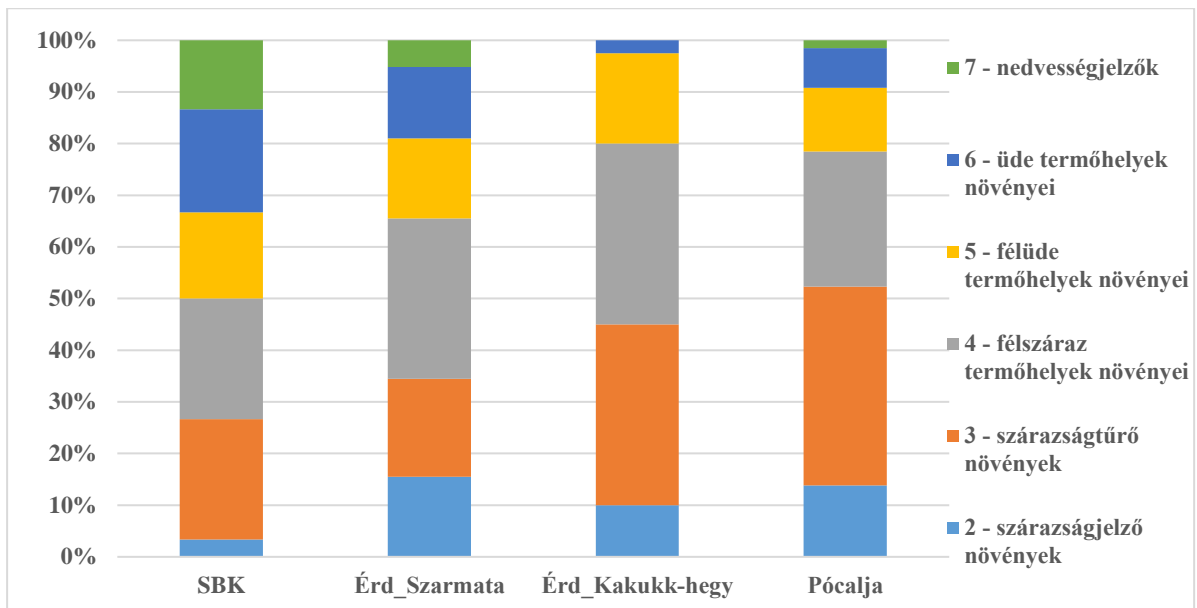
A fajok hőmérsékleti igénye alapján elmondható, hogy az *in situ* populációkban fordulnak elő a leginkább meleg klímát jelző fajok (Borhidi-féle 8-as kategória). Az *ex situ* állományban dominánsan az 5-ös kategória fajai jellemzők, amelyek a montán lomblevelű mezofil erdők övének megfelelő fajok. A 6-7-es kategória nagyobb arányban van jelen az *in situ* populációkban, ezek a fajok a szubmontán, termofil és erdősztyepp fajok (29. ábra).



29. ábra: A sárga len állományokban felmért fajok hőmérsékleti igény (TB érték) szerinti megoszlása

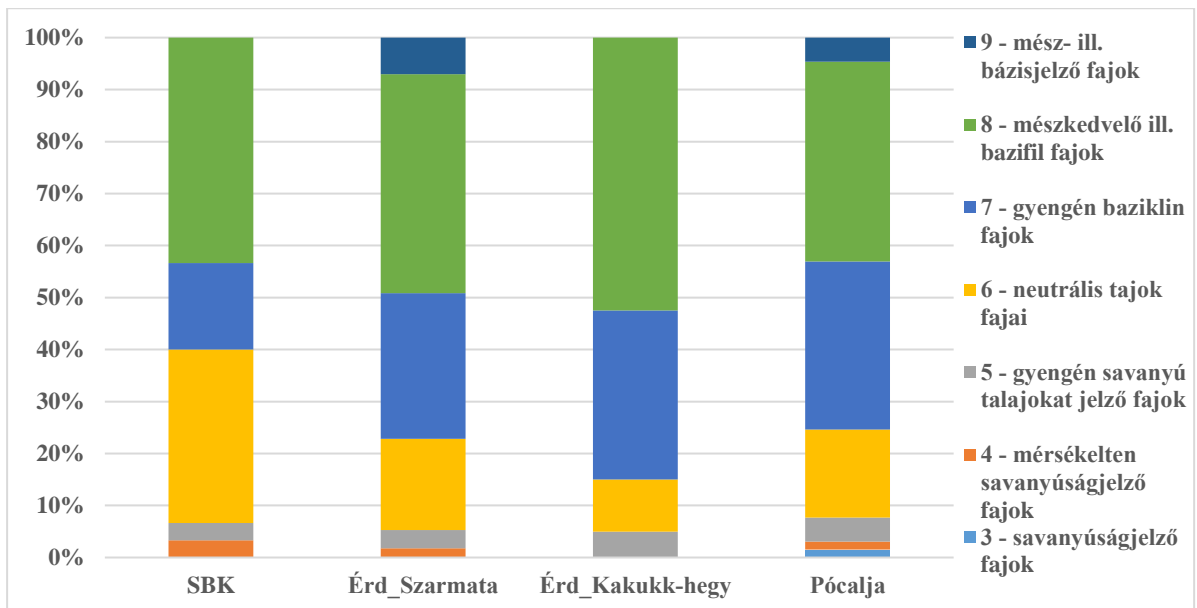
A relatív vízigény alapján jól látható, hogy a Soroksári Botanikus Kert állományában a vízigényes fajok (6-7 kategóriák) aránya jelentősebb, ezzel szemben a három *in situ* állományban a 2-es kategória (igen száraz élőhelyre jellemző fajok) is megjelennek a fajkészletben (30. ábra).





30. ábra. A sárga len állományokban felmért fajok relatív vízigény (WB érték) szerinti megoszlása

A fajok talajreakció mutatója alapján az *ex situ* (SBK) és az Érd Kakukk-hegy állományok elkülönülnek a másik két populációtól, mivel a mészben gazdag talajokon előforduló fajok (9-es kategória) hiányoznak a fajokészletből. Mérsékelt savanyúságot jelző fajok is előfordulnak a fajokészletben, de dominánsan neutrális és mészkedvelő fajok vannak jelen az állományokban (31. ábra).



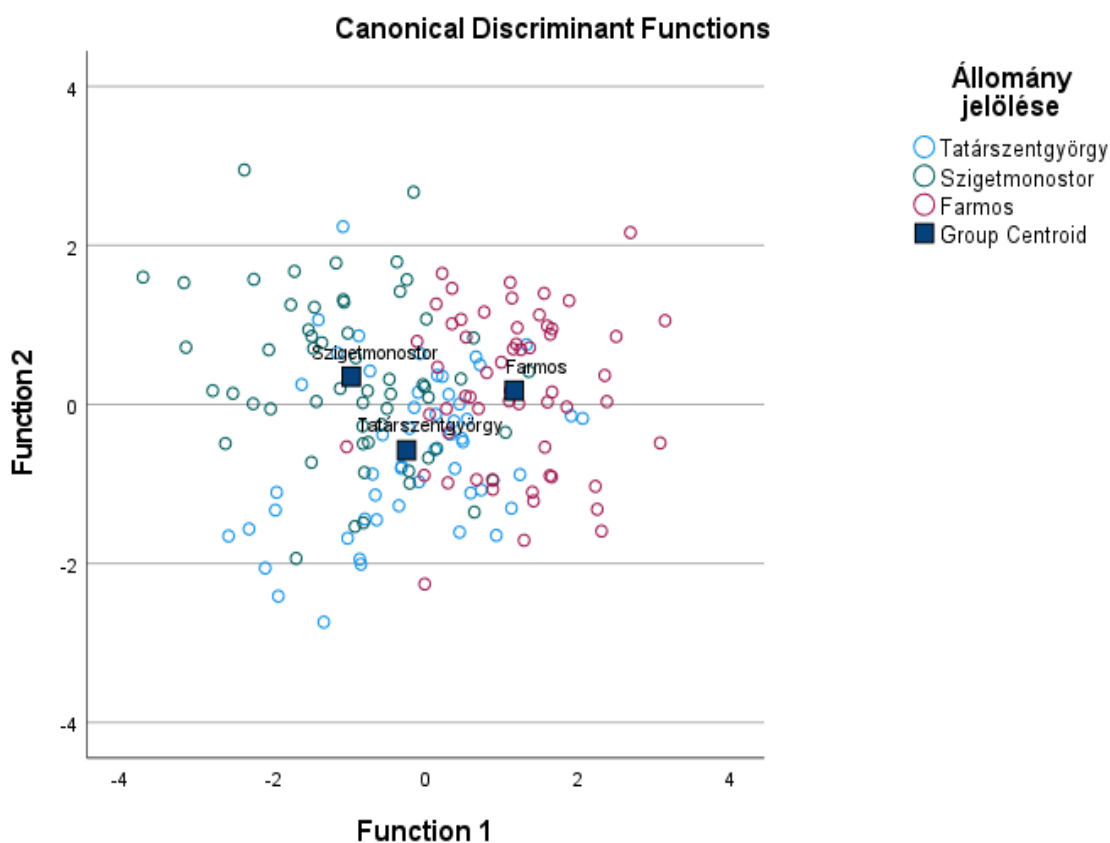
31. ábra: A sárga len állományokban felmért fajok talajreakció (RB érték) szerinti megoszlása

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

#### 5.3.1. Morfometriai vizsgálatok

##### 5.3.1.1. *Dianthus serotinus* 2018-2020 *in situ* populációk morfológiai alapú vizsgálata

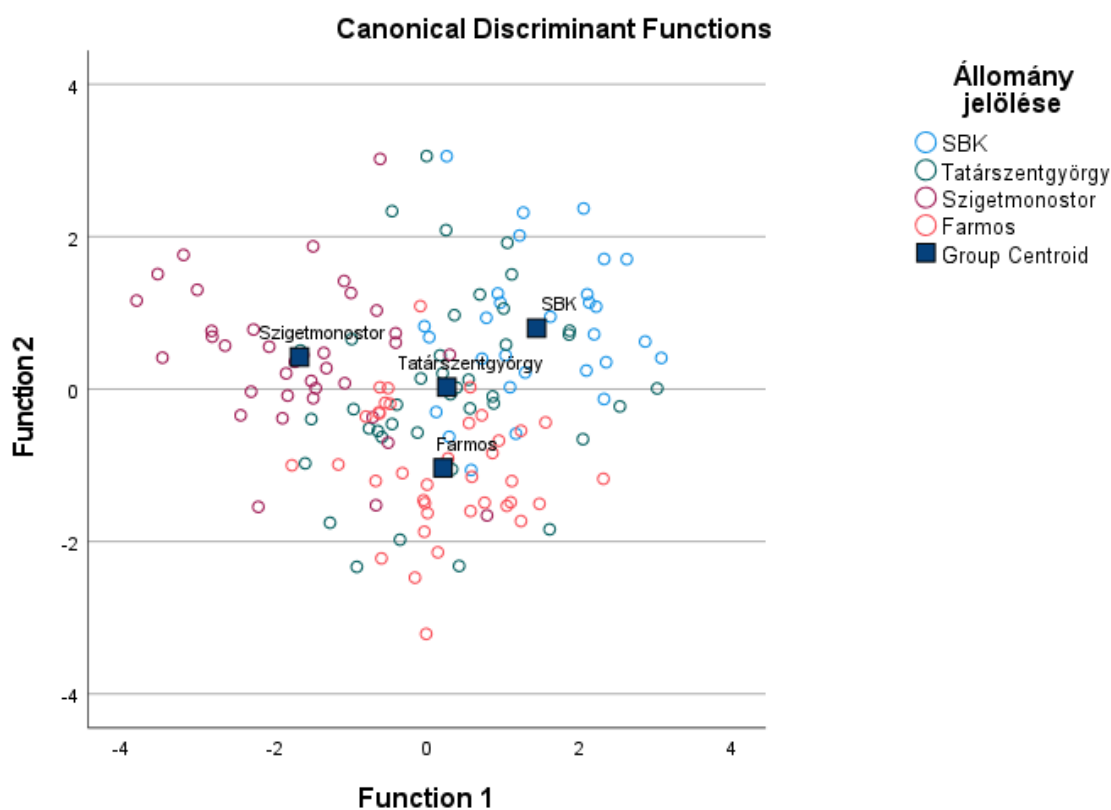
A három év során (2018-2020) az *in situ* populációk között a MANOVA az év, mint blokkhatás esetében szignifikáns különbséget hozott minden vizsgált paraméter esetében, kivéve a szírom hosszúság paramétert ( $F(2, 163) = 0,467, p=0,628$ ). Az élőhelyek között két morfológiai bélyeg kivételével (csésze 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. Mivel összesen tíz morfológiai bélyeg mentén végeztük a vizsgálatokat, ezért ábraként csak a diszkriminancia analízis eredmény ábráit közöljük. A diszkriminancia analízis alapján az első függvény (Function 1) mentén, ami a variancia 84%-át magyarázta, két nagyobb csoport alakult ki (32. ábra), a farmosi populáció elkülönülését mutatja a tatárszentgyörgyi és szigetmonostori populációktól. A generatív paraméterek közül a szírom hossz, a virágok száma és a csésze hossza, míg a vegetatív paraméterek közül a párna átmérő, az egyedmagasság és a levelek szélessége képezi a Function 1 diszkrimináló változóit. A második függvény (Function 2), ami a fennmaradó variancia 16%-át magyarázza, a szigetmonostori és tatárszentgyörgyi populációk elkülönülését mutatja.



32. ábra: Kanonikus diszkriminancia analízis a *Dianthus serotinus in situ* populációi között, vegetatív és generatív morfológiai bélyegek alapján.

### 5.3.1.2. 2019-2020 *in situ* és *ex situ* *Dianthus serotinus* állományok morfológiai alapú összehasonlítása

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. Az élőhelyek közötti elkülönülést diszkriminancia analízissel vizsgáltuk és ábrázoltuk (33. ábra). Az első függvény (Function 1) a variáciának a 66,6%-át magyarázza (külső csészepikkely hossza és egyed magasság), és két nagyobb csoportra választja az állományokat: Farnos, Tatárszentgyörgy az *ex situ* SBK állománnyal csoportosul, míg Szigetmonostor külön válik. A második függvény (Function 2) a variancia 26,5%-át magyarázza (az összes többi bélyeg a levél hossz kivételével) és ez alapján a farmosi populáció is külön válik.

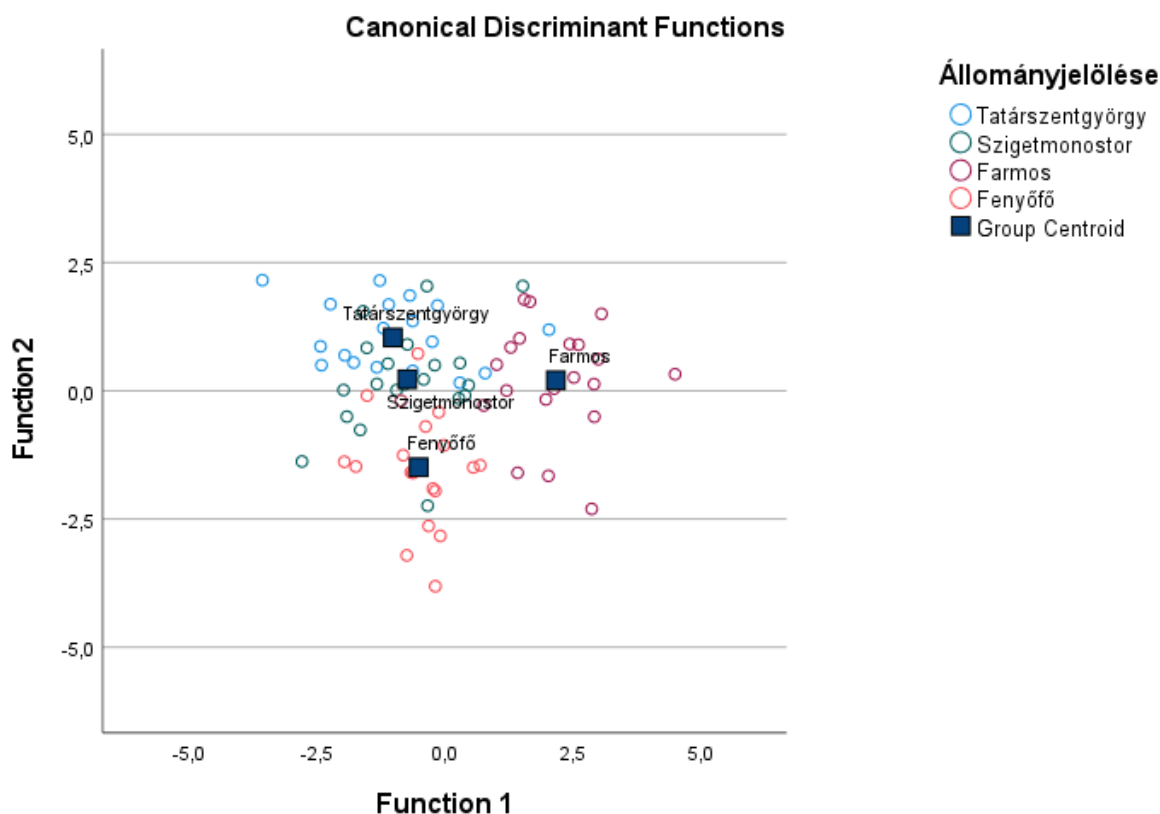


33. ábra: Kanonikus diszkriminancia analízis a *Dianthus serotinus in situ* és *ex situ* populációi között, vegetatív és generatív morfológiai bélyegek alapján.

### 5.3.1.3. *Dianthus arenarius* és *Dianthus serotinus* fajok morfológiai összehasonlítása

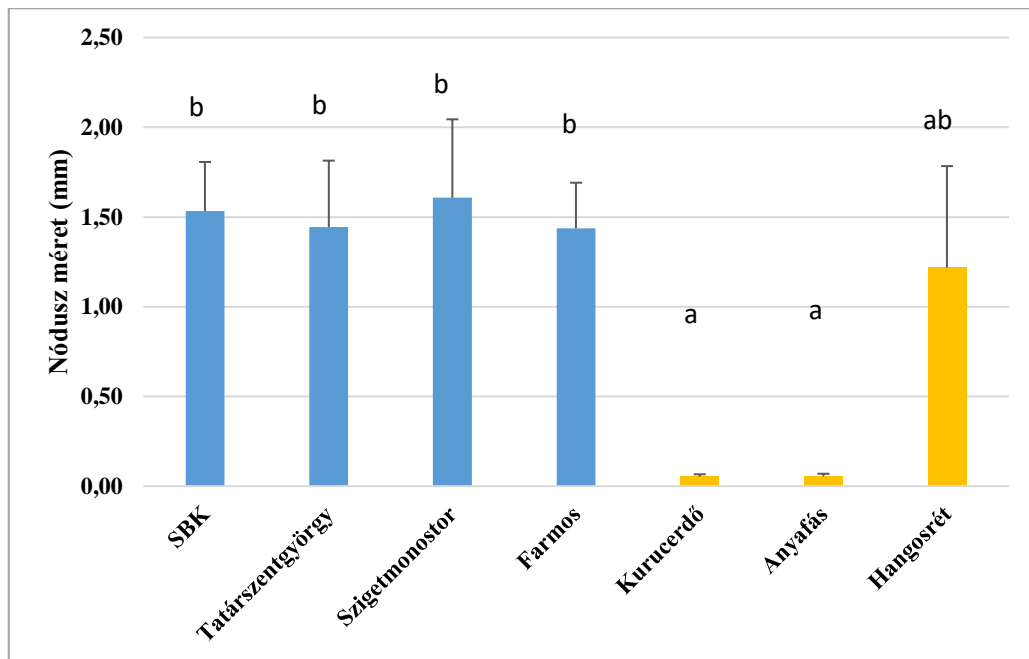
A két faj populációinak morfológiai alapú összehasonlítását 2018-ban végeztük el. A 2018-as évben az *ex situ* populáció egyedei a kis egyedszám miatt nem kerültek felmérésre, így ez a populáció nem szerepel az ábrákon. A MANOVA szignifikáns különbséget mutatott ki az állományok között a párnaátmérő ( $F(3, 74) = 5,775, p < 0,01$ ), 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 ( $F(3, 74) = 8,508, p < 0,001$ ) bélyegek esetében. A diszkriminancia analízis során az első függvény (Function1) a variáciának a 63,6%-át magyarázza (virágok

száma, szírom hossz, párna átmérő, levélszélesség), amiben két csoportra oszlanak az állományok: Fenyőfő, Szigetmonostor és Tatárszentgyörgy képezi az egyik, míg Farnos a másik csoportot. A második függvény (Function2) a varianciának a 31,8%-át magyarázza (csészelevél szélessége és hosszúsága, szíromszélesség és levél hosszúság) és így Fenyőfő is külön válik Szigetmonostortól és Tatárszentgyörgytől (34. ábra).



34. ábra: Kanonikus diszkriminancia analízis a *Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* hazai, vizsgált populációi között, vegetatív és generatív morfológiai bélyegek alapján.

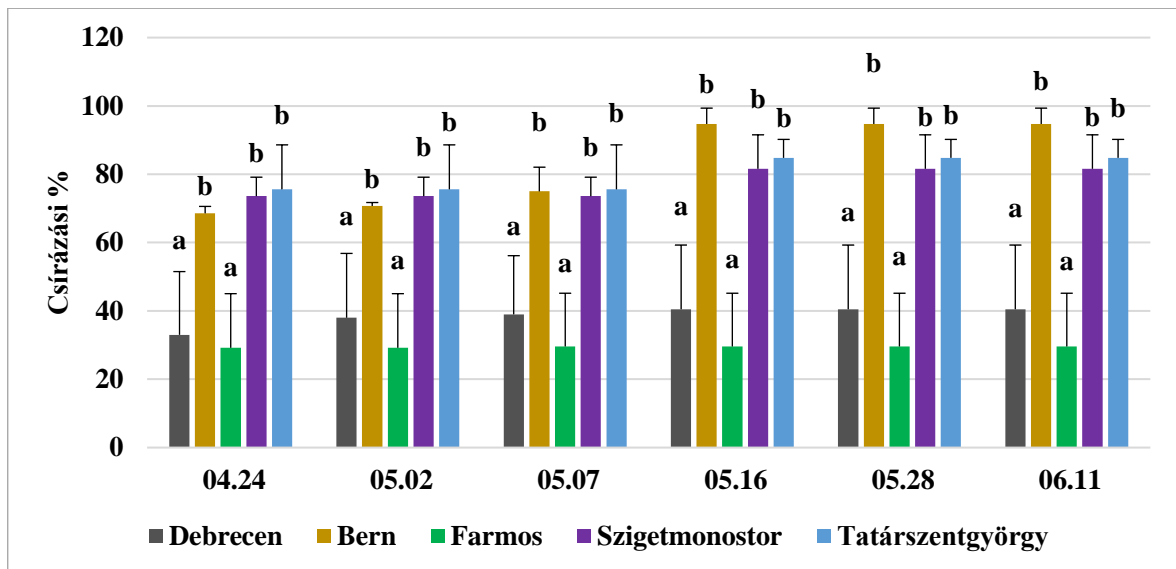
A 2020-as évben a nódusz méret alapján hasonlítottuk össze a populációkat. A vizsgálat során az összes általunk vizsgált *Dianthus serotinus* populációban szignifikánsan nagyobb nóduszméretet tapasztaltunk ( $F(6, 108) = 41,466, p < 0,001$ ), mint a *Dianthus arenarius* fenyőfői szubpopulációkban, amit a 35. ábra szemléltet. A fenyőfői populációt három szubpopulációra osztottuk, két populáció (Kurucerdő és Anyafás újulat) humán tevékenységtől mentes, míg a Hangosrét szubpopuláció egy fenyves telepítés közelében lévő állomány. A két fenyőfői szubpopuláció esetében (Kurucerdő és Anyafás újulat) azonban a legkisebb méretű nóduszt tapasztaltuk. A fenyőfői Hangosrét szubpopuláció egy átmeneti méretet képviselt a *Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* populációk között. A nóduszméret lehet taxonómiai szempontból stabil bélyeg, ugyanakkor fontos megemlíteni annak a lehetőségét is, hogy ezt a különbséget csupán élőhelyek közötti különbség okozza. A két állomány, ahol a legkisebb nóduszméretet mértük a fenyves által árnyékolt részen fordul elő, szemben a kései szegfű populációkkal, amik direkt fénynek vannak kitéve. A hangosréti, közepes nódusz méretet mutató szubpopuláció nincs teljesen árnyékolva, nagyobb fény éri, mint a másik két szubpopuláció egyedeit.



35. ábra: Nódusz méretek alakulása a vizsgált hazai *Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* populációkban. A különböző betűk a populációk közötti szignifikáns különbségekre utalnak a Games-Howell post hoc teszt alapján ( $p < 0,05$ ). A kék szín a *Dianthus serotinus* vizsgált populációit, a sárga szín a *Dianthus arenarius* fenyőfői populáció szubpopulációit ábrázolja.

### 5.3.2. Csírázásbiológiai vizsgálatok

A kései szegfűvel végzett csírázásbiológiai vizsgálat során Debrecenből és Bernből *ex situ* gyűjteményekből származó tétélekkel 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%), amit a 36. ábra szemléltet. A csírázás lefutásában megfigyelhető, hogy a magas csírázási százalékot elérő populációk már az első adatfelvételnél szignifikánsan magasabb csírázási százalékot produkáltak ( $F(4, 16) = 13,378$ ,  $p < 0,001$ ).



36. ábra: A kései szegfű magtétélek csírázásának időbeli lefutása a csírázási százalékokkal. A vizsgálat kezdő napja április 10. volt. A különböző betűk a populációk közötti szignifikáns különbségekre utalnak a Tukey post hoc teszt alapján ( $p < 0,05$ ).

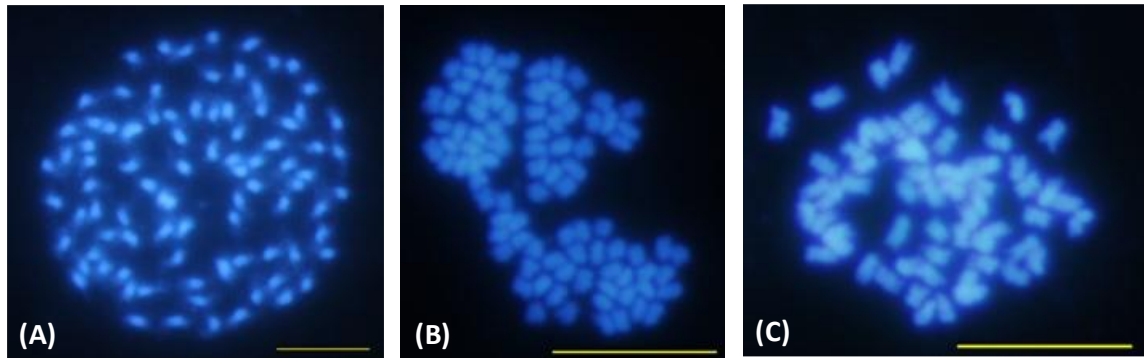
### 5.3.3. Kromoszóma alapú vizsgálatok

#### 5.3.3.1. Metafázisos kromoszóma preparáció

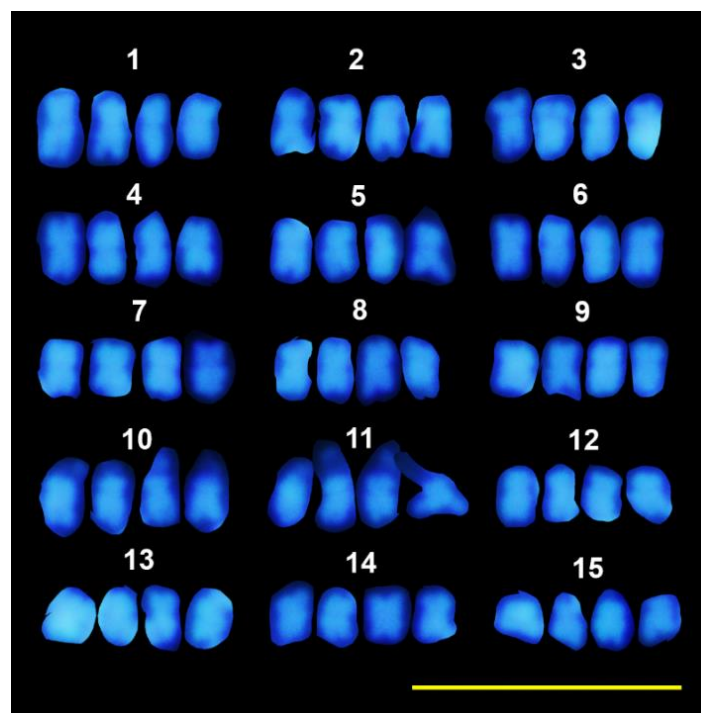
A két fajhoz tartozó állományokat, a vizsgált egyedszámokat és a metafázisos kromoszóma számokat a 16. táblázatban foglaltuk össze. A metafázisos kromoszómákat a 37. ábra szemlélteti. A *Dianthus arenarius* fenyőfői populáció mind három szubpopulációja vizsgálataink alapján hexaploid  $2n=6x=90$  kromoszómaszámú. A vizsgálatba vont *Dianthus serotinus* populációkat is hexaploidnak ítéltük meg ( $2n=6x=90$ ), kevert citotípusú állományt nem sikerült kimutatnunk a kromoszóma számlálás során. A lettországi *Dianthus arenarius* állomány tetraploid  $2n=4x=60$ , a metafázisos kromoszóma preparátumból kariogramot készítettünk, ami a 38. ábrán látható.

16. táblázat: A *Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* taxonok populációi, a vizsgált egyedek száma és a kromoszóma számok összegzése.

Taxon	Populáció	Vizsgált egyedszám	Kromoszóma szám ( $2n$ )
<i>Dianthus serotinus</i> Waldst. & Kit.	Farnos	35	90
	Szigetmonostor	45	90
	Tatárszentgyörgy	19	90
	Soroksári Botanikus Kert	16	90
<i>Dianthus arenarius</i> L.	Fenyőfő – Anyafás újulat	15	90
	Fenyőfő - Hangosrét	18	90
	Fenyőfő - Kurucerdő	6	90
	Lettország	20	60



37. 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.

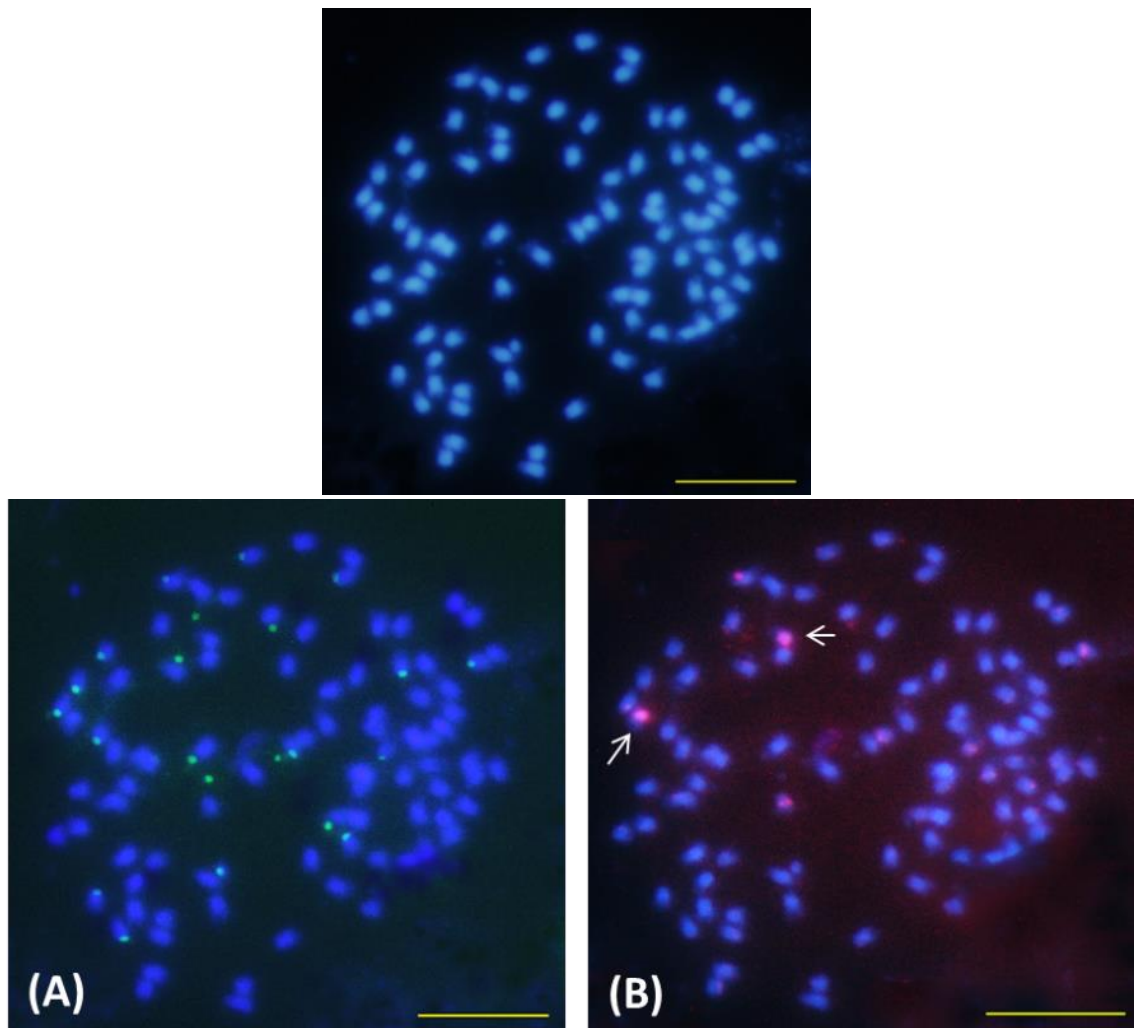


38. ábra: *Dianthus arenarius* (Lettország) kariogramja. A skála  $10\ \mu\text{m}$ -nek felel meg. (Fotó: Jelena Mlinarec).

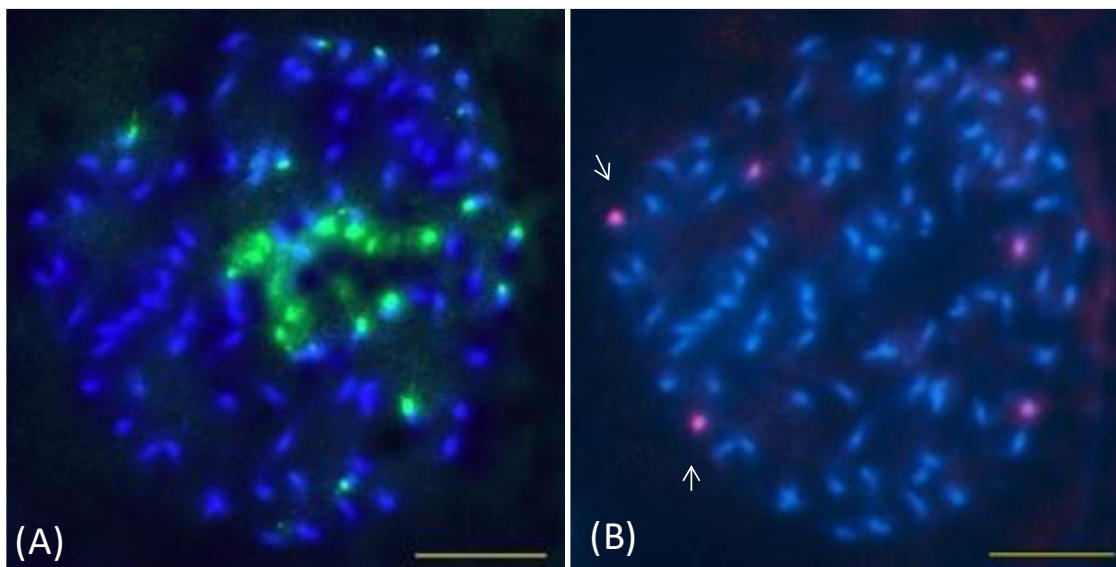
### 5.3.3.2. FISH jelölés

A FISH vizsgálat alapján elmondható, hogy a magyarországi *Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* minta kariológiai és citogenetikai szempontból is nagy hasonlóságot mutat, különbséget a ploidiaszintben sem találtunk. A fenyőfői *Dianthus arenarius* minta FISH mintázata a 39. ábrán látható. A hazai *Dianthus serotinus* (Szigetmonostor) minta a 40 és 41. ábrákon látható. 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. A fenyőfői és szigetmonostori minták között kismértékű különbséget találtunk a FISH jelek számában, de a lókusztok számában és pozíciójában nem volt különbség. A FISH jelekkel ellátott kariogram a 42. ábrán látható. A két faj citogenetikai tulajdonságait a 17. táblázat foglalja össze.

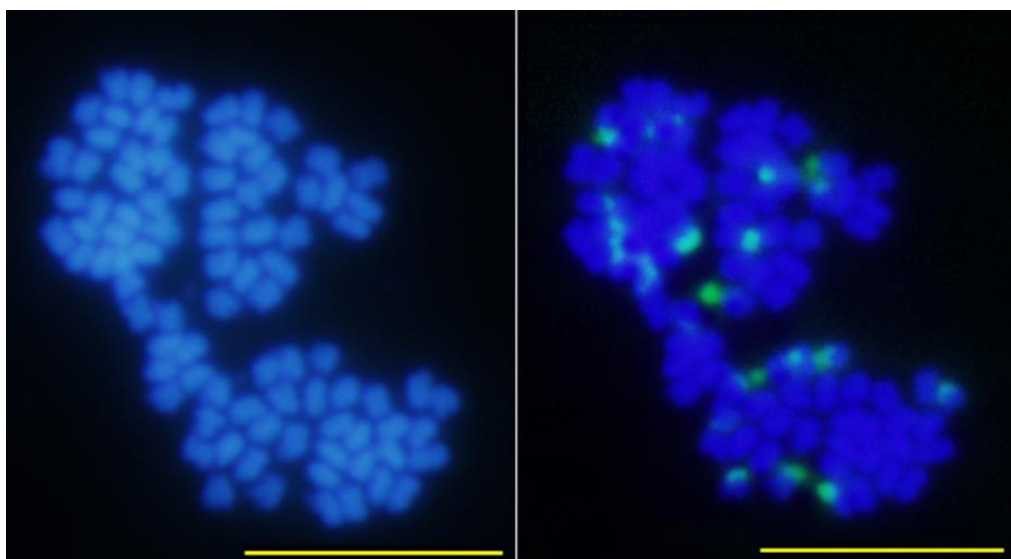




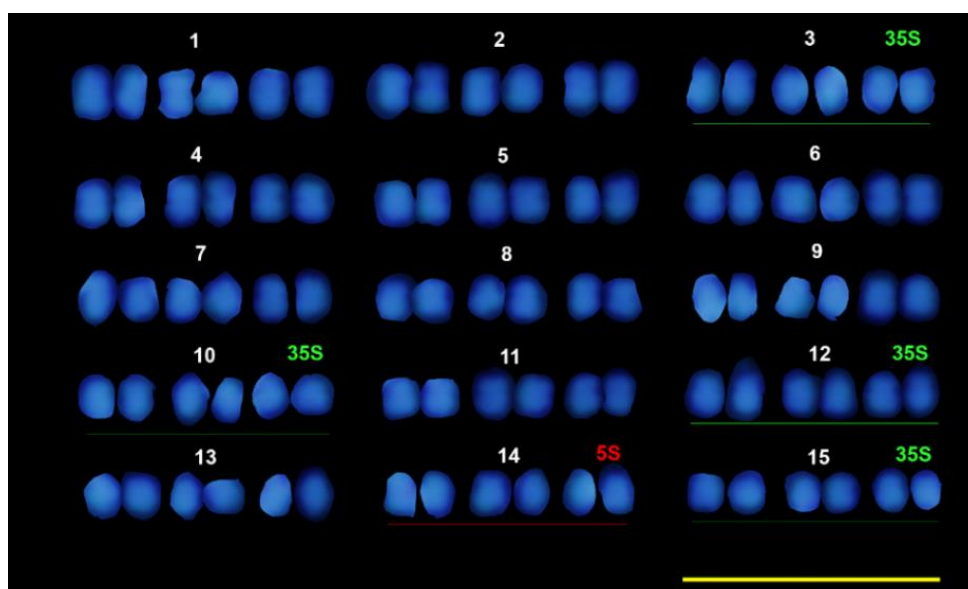
39. ábra. FISH térképezés *Dianthus arenarius* (Fenyőfő - szubpop.: Hangosrét) szomatikus metafázisos kromoszóma preparátumon. (A) 35S rDNS próba (zöld) és (B) 5S rDNS próba (piros) ( $2n = 6x = 90$ ). Skála = 10  $\mu\text{m}$  (Fotó: Jelena Mlinarec).



40. ábra: FISH térképezés *Dianthus serotinus* (Szigetmonostor) szomatikus metafázisos kromoszóma preparátumon. (A) 35S rDNS próba (zöld) és (B) 5S rDNS próba (piros) ( $2n = 6x = 90$ ). Skála = 10  $\mu\text{m}$  (Fotó: Jelena Mlinarec).



41. ábra: FISH térképezése a 35S rDNS régióknak (zöld) *Dianthus serotinus* (Szigetmonostor) szomatikus metafázisos kromoszóma preparátumon. ( $2n = 6x = 90$ ). Skála = 10  $\mu$ m (Fotó: Jelena Mlinarec)



42. ábra: *Dianthus serotinus* (Szigetmonostor) kariogramja. A skála 10  $\mu$ m-nek felel meg. (Fotó: Jelena Mlinarec).

17. táblázat: A *Dianthus arenarius* és *Dianthus serotinus* hazai mintáinak citogenetikai tulajdonságai.

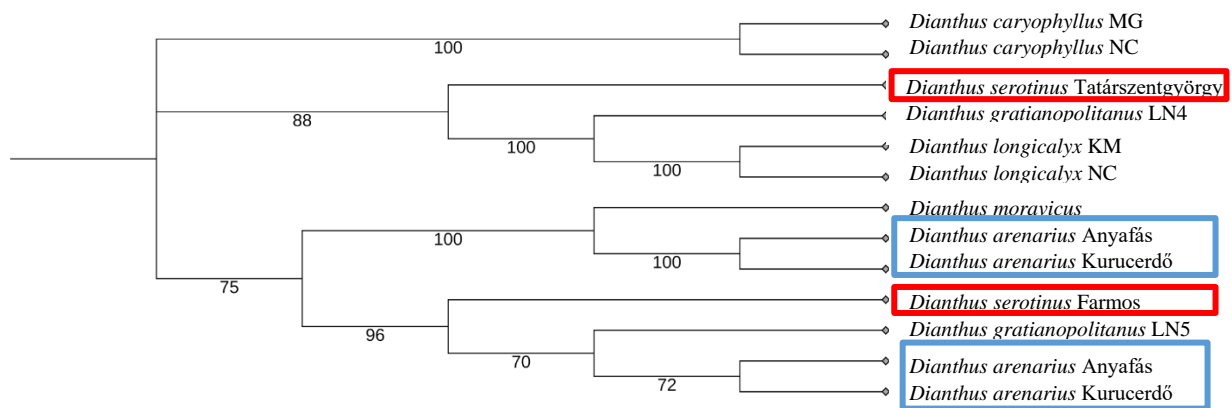
	35S rDNS régiók száma	35S rDNS régió kromoszomális pozíciója	5S rDNS régiók száma	5S rDNS régió kromoszomális pozíciója
<i>D. arenarius</i> L. (Fenyőfő)	22	terminális	6	2 terminális, 4 intersticiális
<i>D. serotinus</i> Waldst. & Kit. (Szigetmonostor)	24	terminális	6	2 terminális, 4 intersticiális

### 5.3.4. cpDNA-vizsgálat *Dianthus* taxonoknál

A 10 alkalmazott marker preszelekciója során kapott termékek jellemzőit, a polimorf lokuszok számát, a haplotípusok számát, haplotípus diverzitást, a haplotípus diverzitás varianciák szórását, nukleotid diverzitást és az átlagos nukleotid diverzitást a Dna Sequence Polimorphism v6.10.01 (Librado és Rozas 2009) szoftver segítségével kalkuláltuk. Bemenő adatsorként az illesztett szekvenciákat használtuk. Az eredményeket a 18. táblázat mutatja be. A 10 primerrel készített ML törzsfát a 43. ábra szemlélteti. Az evolúciós modellek szerint particionált adatkészlet alapján készült ML törzsfát a mellékletek fejezet M3 5. ábrája, a Bayes analízissel generált törzsfát a mellékletek fejezet M3 6. ábrája szemlélteti.

18. táblázat: A 10 marker *Dianthus serotinus* és *Dianthus arenarius* minták szekvencia analízise alapján. Az első négy sor vastagított keretezése jelzi az univerzális kloroplasztisz markereket.

Kód	Szekvenciák száma	Szekvencia hossza (bp)	Polimorf régiók száma	Haplotípus szám	Haplotípus diverzitás	Haplotípus diverzitás variancia	Haplotípus diverzitás szórás	Nukleotid diverzitás (P)
(P6) 5' rps12 - rpL20	5	830	2	2	0.600	0.03072	0.175	0.00145
(P7) rpoB - trnCGCAR	5	952	7	4	0.900	0.02592	0.161	0.00448
(P14) psbM - trnDGUC	5	714	0	1	0	0	0	0
(P15) Ycf1b	5	785	3	4	0.900	0.02592	0.161	0.00178
(P16) D11-380	5	280	2	3	0.800	0.02688	0.164	0.00357
(P17) D128500-29100	5	518	0	1	0	0	0	0
(P19) D15100-5660	5	394	1	2	0.600	0.03072	0.175	0.00153
(P20) D166900-67420	5	416	2	2	0.600	0.03072	0.175	0.00288
(P21) D173100-73780	5	653	1	2	0.600	0.03072	0.175	0.00092
(P22) D180680-81320	5	585	0	1	0	0	0	0

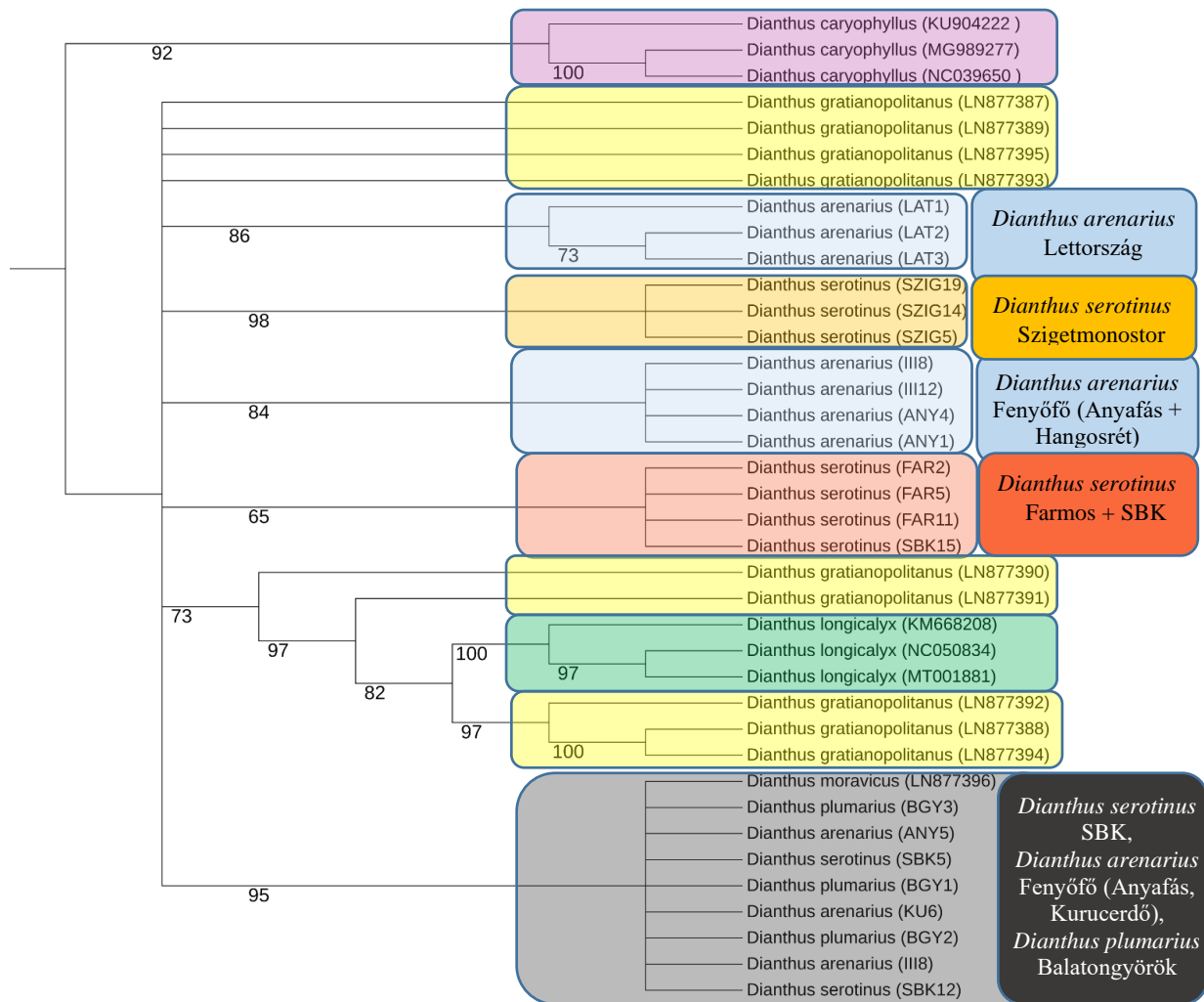


43. ábra: A tíz összefűzött cpDNS régió által generált konszenzus fa maximum likelihood method alapján, GTR evolúciós modell használatával. A számok az ágak alatt a bootstrap értékeket mutatják (50% alatti bootstrap értékek nem kerültek megjelenítésre).

Az előzetes vizsgálatok alapján kiválasztottunk a 10 primerből ötöt (P7, P15, P16, P19, P20), amit polimorfoknak véltünk nagyobb mintaszám és további taxonok bevonásához és teszteléséhez. Az öt primer által amplifikált szekvenciák polimorfizmus értékét, a haplotípusok számát és diverzitását a 19. táblázat foglalja össze, az ML törzsfát az 44. ábra szemlélteti.

19. táblázat: A kiválasztott öt cpDNS marker *Dianthus* mintákon végzett vizsgálatának eredménye.

Kód	Szekvenciák száma	Szekvencia hossza (bp)	Polimorf régiók száma	Haplotípus szám	Haplotípus diverzitás	Haplotípus diverzitás variancia	Haplotípus diverzitás szórás	Nukleotid diverzitás (Pi)
(P7) rpoB - trnCGCAR	22	952	7	7	0.823	0.00314	0.056	0.00368
(P15) Ycf1b	22	785	3	4	0.749	0.00219	0.047	0.00133
(P16) D11-380	22	280	7	6	0.792	0.00257	0.051	0.00764
(P19)								
DI5100-5660	22	393	1	2	0.455	0.00603	0.078	0.00116
(P20)								
DI66900-67420	22	416	3	3	0.628	0.00363	0.060	0.00292

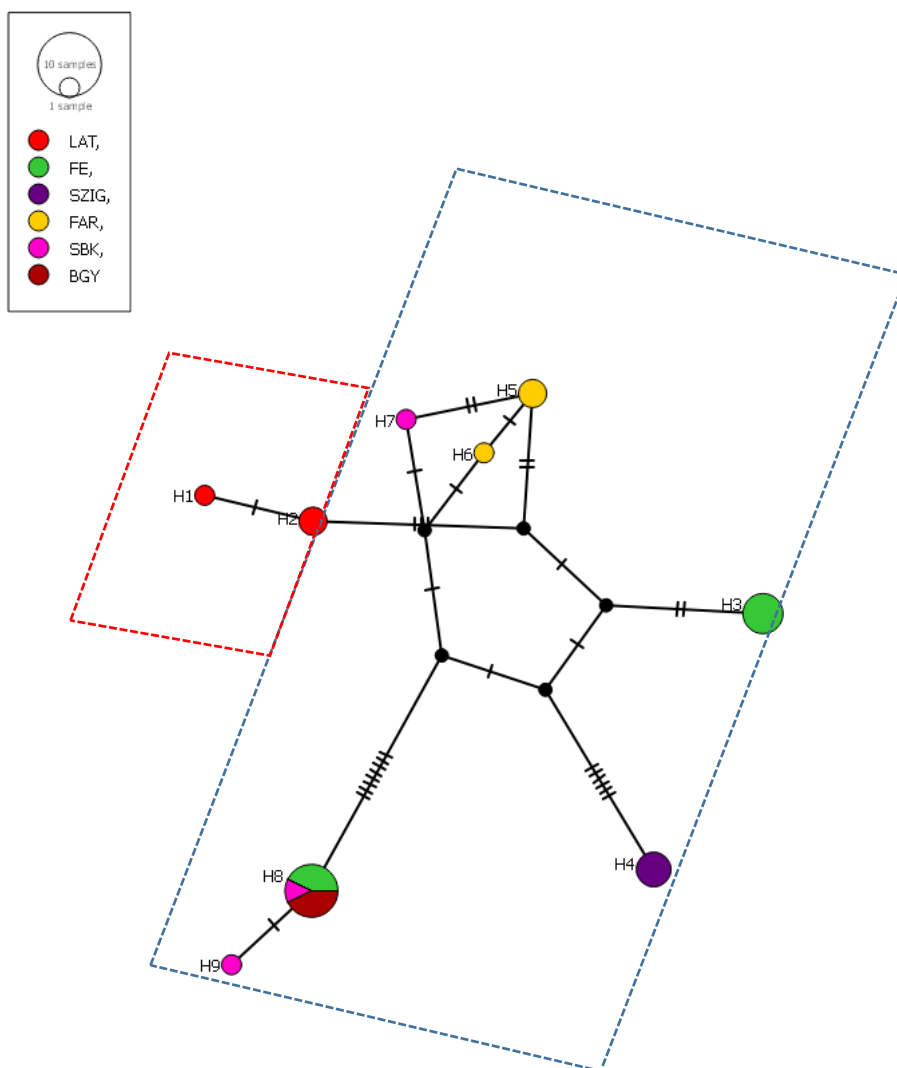


44. ábra: Az öt kiválasztott cpDNS régió alapján készített maximum likelihood (ML) törzsfa. A *Dianthus caryophyllus* fajt kulcsoportként alkalmaztuk.

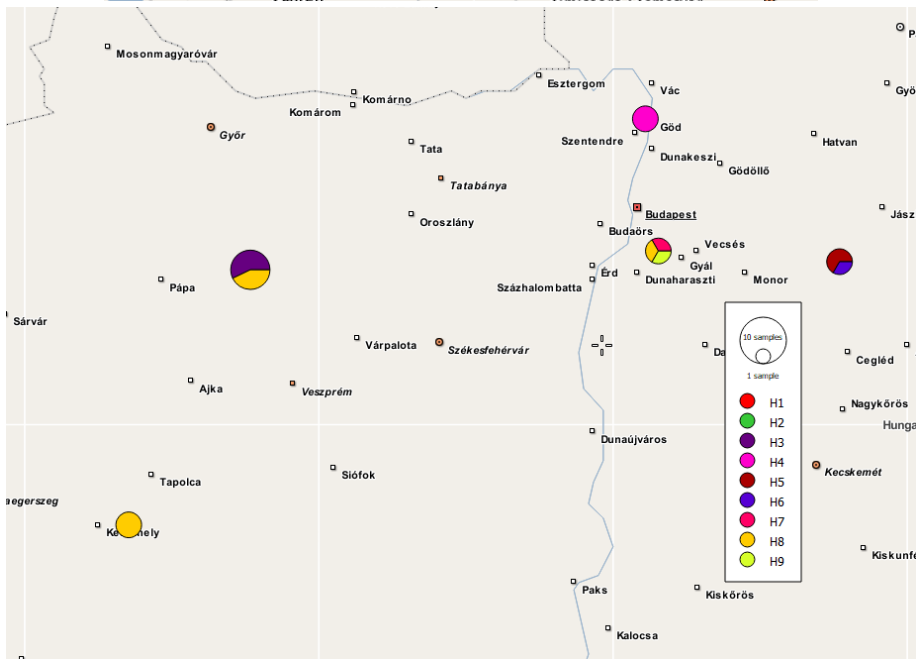
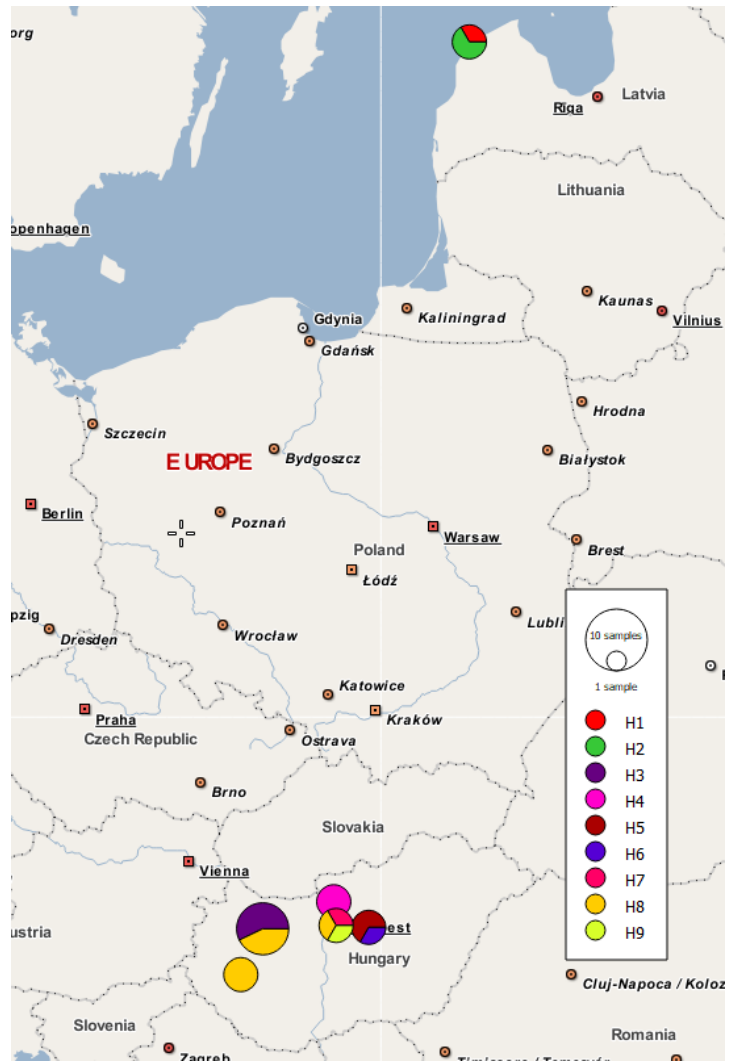
A kapott törzsfa alapján elmondható, hogy egyértelmű taxonómiai elkülönülést nem sikerült kimutatni a vizsgált fajok között. Több faj esetében is megfigyelhető, hogy különböző kládokba tagozódtak a törzsfán. Például a *Dianthus gratianopolitanus* faj egyedei külön kládokba rendeződtek. A *Dianthus serotinus* esetében populációk szerint megfigyelhető csoportosulás, a szigetmonostori és farnososi 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 becsoportosult, valamint a *Dianthus plumarius* *subsp. lumnitzeri* (syn. *Dianthus moravicus*) minta is.

A gyökértelen haplotípus genealógiák a szubsztitúciós polimorfizmusok (beleértve az egyedülálló karakterekben kódolt indeleket) alapján kerültek megállapításra az öt variábilis plasztid régióban (45. és 46. ábra). 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 hangosrési szubpopulációk csoportosultak. Azonban a H8 haplotípusba is bekerült anyafás és hangosrési 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.



45. ábra: Az öt összefűzött kloroplasztisz szekvencia Templeton–Crandall–Singh analízis alapján készített haplotípus hálózata. A név nélküli körök a hiányzó köztes haplotípusokat jelölik, amelyek a vizsgált mintákban nem voltak megtalálhatóak. Az elágazásokon lévő csíkok a haplotípusok közötti mutációs lépéseket (bázispár változások száma) jelzik. A körök színei a különböző populációkat jelzik, a színes körök pedig a haplotípusokat. A piros négyzetben belüli minták tetraploidok, a kék négyzetben lévő minták pedig hexaploidok a kromoszóma vizsgálatok alapján.



46. ábra: A *Dianthus* fajokhoz tartozó haplotípusok élőhelyenkénti megoszlása.



## 6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

### 6.1. Az óriás útifűvel kapcsolatos vizsgálatok összegzése, javaslatok

A morfológiai alapú vizsgálatok esetében a változások mértékének és irányának teljeskörű értékelése szempontjából kedvező, ha az *ex situ* állományokat az eredeti *in situ* populációkkal is össze tudjuk hasonlítani, amire az óriás útifű esetében lehetőségünk volt. 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* fajjal kapcsolatos vizsgálata során egy 30 éves *ex situ* állományt hasonlított össze két *in situ* populációval, amelyből az egyik az az állomány volt, ahonnan a génanyagot gyűjtötték. 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, ami segíthet a visszatelepítésre alkalmas területek kijelölésénél is a szubpopuláció értékelésével. 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 csak meg virágzó egyedek a teljes vizsgálati időszak alatt. A morfológiai vizsgálatok során szignifikáns különbséget kaptunk az évek között mind a három vizsgált bélyegre nézve. Az *ex situ* állományok a telepítés évét követően egyre nagyobb leveleket fejlesztettek, a levelek száma az első évet követően visszaesett és fokozatosan nőtt a levélszám. Ez a különbség magyarázható az új környezethez való adaptációval és a stabilizálódással.

A természetes élőhelyeken végzett fajlista felvételezés által közelebbi képet kaphatunk a faj környezeti viszonyairól és igényeiről. A környezeti viszonyok minél pontosabb megismerése fontos az optimális *ex situ* körülmények kialakításához és a lokális adaptációs folyamatok elkerüléséhez. Valamint fontos információval szolgál a visszatelepítési programok tervezéséhez, a sikeres élőhely kijelölés szempontjából (Heywood 2017, Maschinski és Albrecht 2017). Jelenlegi tudásunk szerint az *in situ* és *ex situ* populációk cönológiai viszonyainak összehasonlításában nem áll rendelkezésre részletes tanulmány a védett fajok kapcsán. Ennek oka leginkább abban keresendő, hogy az *ex situ* növényállományok sok esetben taxonómiai gyűjteményekben vannak, rendszeres és intenzív kertészeti fenntartás, gyomlálás mellett. 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 információkkal 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 segítségével nyújthatnak a továbbiakban.

A faj háttérdiverzitásának feltárása elengedhetetlen az *ex situ* megőrzés további irányainak kijelölése, és a megőrzött génanyag természetvédelmi szempontú értékelése szempontjából. A *Plantago* nemzetségen belül az intraspecifikus citotípusbeli variabilitás több faj esetében is előfordul (Sharma *et al.* 1992, Sharma és Koul 1995, Bala és Gupta 2011). Az óriás útifű hazai kromoszómaszámaival kapcsolatban Soó Rezső közölt korábban adatot és a fajt diploidnak ( $2n=12$ ) írta le (Soó 1970). Magulaev (1982) ezzel szemben a centrális populációból  $2n=24$  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 (Dhar *et al.* 2006, 2017; Wong és Murray 2014). Az óriás útifű FISH térképezése során eddigi ismereteink szerint először közöltünk adatot, a fajra egyedi mintázatot mutattunk ki. Ez az eredmény illeszkedik a *Plantago* nemzetségen belül tapasztalt és más fajoknál leírt fajspecifikus mintázat eredményekkel.

Az óriás útifű hazai állományai a vizsgálataink alapján hasonló genetikai diverzitást mutatnak (átlag érték  $H_e=0,220$ ) más védett és endemikus *Plantago* fajokkal ( $H_e = 0,1965-0,2309$ ) (Ferreira *et al.* 2013). 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 *ex situ* megőrzés egyik fontos, hosszú távú célja a védett növényfajok genetikai diverzitásának minél nagyobb mértékű megőrzése, amihez fontos kritérium a természetes populációk genetikai diverzitásának megismerése (Maunder és Byers 2005). Sok esetben a védett fajok genetikai variabilitásáról nem áll rendelkezésre információ, ami megnehezíti a genetikailag reprezentatív *ex situ* gyűjtemények kialakítását. A genetikai diverzitást befolyásolják a fajra jellemző fenotípusos bélyegek (pl. pollinációs mód, magterjesztés módja), a filogenetikai történet és a demográfiai változások (pl. populáció fragmentáció) (Schoen és Brown 2001, Guerrant *et al.* 2014, Hoban *et al.* 2021). Az *ex situ* és *in situ* populációk genetikai variabilitásával kapcsolatos tanulmányok száma folyamatosan növekszik (Wei és Jiang 2021). A genetikai reprezentativitás azt mutatja meg, hogy az *ex situ* gyűjtemény a természetes genetikai variabilitást milyen arányban őrzi meg (Cibrian-Jaramillo *et al.* 2013). 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. Wei és Jiang (2021) egy

metaanalízisben vizsgálta az *ex situ* gyűjtemények genetikai reprezentativitását. Eredményeik alapján az *ex situ* gyűjtemények alacsonyabb genetikai diverzitással rendelkeznek és nagy genetikai differenciálódás tapasztalható az *in situ* és *ex situ* populációk között. Ezt a genetikai alulreprezentáltságot a nem megfelelő gyűjtési protokollal és a gyűjteményes kerti megőrzés során fellépő genetikai erózióval magyarázták (Wei és Jiang 2021). Vannak azonban pozitív példák, ahol a botanikus kerti gyűjtemények genetikai reprezentativitása a természetes populációkhoz hasonló volt, akárcsak az óriás útifű esetében (Etisham-Ul-Haq *et al.* 2001, Li *et al.* 2002, 2018, Ensslin *et al.* 2011, Chen *et al.* 2013, Guimarães *et al.* 2019). Vizsgálataink alapján az általunk létesített óriás útifű *ex situ* állomány ezek közé a pozitív példák közé sorolható.

Az *ex situ* gyűjtemények haplotípus diverzitása szintén fontos információval szolgál a faj genetikai reprezentativitásáról. A *Zelkova carpinifolia* (Pall.) K. Koch fajnál az *ex situ* gyűjteményben öt új haplotípust találtak, ami a természetes populációkban nem fordult elő. Ugyanakkor a *Zelkova abelicea* (Lam.) Boiss esetében a 33 természetben előforduló haplotípusból csak kettő volt megtalálható *ex situ* gyűjteményben, ami jelentős alulreprezentáltságot mutat (Christe *et al.* 2014). Az óriás útifű hazai populációiban a *trnL-trnF* cpDNS régió alapján egy haplotípust találtunk, amit más fajok periferiális populációi esetében is megfigyeltek (Becker 2005, Durka *et al.* 2013, Kropf *et al.* 2020). 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) és az *Adonis vernalis* (Kropf *et al.* 2020) fajoknál is kimutatták.

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 lápréte alkalmas lehet újabb állományok telepítéséhez, azonban a területek kijelölése során javaslom az üdőbb helyekre való betelepítést, ahol már tapasztaltunk generatív fázist a már meglévő *ex situ* szubpopulációban.

## 6.2 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. Az intraspecifikus variabilitás egyik fontos mutatója a természetes populációk között fennálló morfológiai változatosság. A különböző élőhelyeken a természetes szelekció hat a fenotípusos bélyegekre, és a természetes adaptációs potenciált is meghatározza (Vitt és Havens 2004). Az *ex situ* gyűjtemények fontos célja a védett fajok természetes populációiban jellemző genetikai diverzitás megőrzése és evolúciós potenciáljának biztosítása a későbbi visszatelepítési és restaurációs tevékenységekhez (Schaal és Leverich 2004, Guerrant *et al.* 2014, Basey *et al.* 2015). Ehhez a törekvéshez azonban a vad fajok populációi közötti morfológiai variabilitás felmérése és az *ex situ* populációkban detektálható morfológiai diverzitással való összehasonlítása elengedhetetlenül fontos. A természetes populációktól jelentősen eltérő *ex situ* populációk jelezhetik, hogy az egyedek a kerti körülményekhez adaptálódtak, és ezáltal a későbbi repatriációs tevékenység problematikája is felmerül. 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 Ensslin *et al.* (2015) és Rauschkolb *et al.* (2019) eredményeivel, ahol az *ex situ* gyűjteményben megőrzött egyedek fitnessz 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. Sheidai *et al.* 2014 és Afshar *et al.* 2015 rokon *Linum* fajok természetes populációiban vizsgálták a morfológiai különbségeket. Eredményeik alapján az *in situ* állományok a morfológiai paraméterek mentén differenciálódtak egymástól, az eltérő környezeti paraméterek mentén. 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.* (2018) 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 dormancia jelentősen csökkent a *Cynoglossum officinale ex situ* állományából gyűjtött magok esetén is (Ensslin *et al.* 2011). Magas csírázási arányt mutattak ki 12 fajnál az *ex situ* állományokban, ami szintén megegyezik a mi eredményeinkkel (Ensslin és Godefroid 2020). A csírázási paraméterek változását részben a kultiváció okozta adaptív változásokkal magyarázták. A magas csírázási százalék és a dormancia elvesztése a domesztikációs szindrómával is magyarázható (Meyer *et al.* 2012). A csírázási paraméterekben tapasztalt változások azonban a csírázási körülményektől jelentősen függenek. A *Digitalis lutea* faj *ex situ* gyűjteményből származó magjai laboratóriumi körülmények között sztratifikáció nélkül is csírázni kezdtek, szemben a természetes populációból gyűjtött magokkal. Ugyanakkor ez a különbség teljesen eltűnt a magok természetes élőhelyre vetésekor, ami a csírázási igények komplexitására és az *ex situ* génanyag eredeti élőhelyre történő visszatelepítésre való alkalmasságára is felhívta a figyelmet (Ensslin *et al.* 2023). A korai csírázás emellett kompetíciós előnyt is jelenthet az egyedek számára, ami szintén indukálhatott dormancia veszteséget a sárga len állományban. A *Crepis sancta* fajjal végzett vizsgálatok során a korai csírázást szintén előnyös tulajdonságként írták le kompetitív környezetben a túlélés és biomassza-produkció szempontjából (Dubois és Cheptou 2012).

A társulástani jellemzők felmérése a kompetíciós nyomás megismerése szempontjából is fontos. A versengés hatására alkalmazkodnak az egyedek a stresszhez és az interspecifikus kompetíció által adaptív tulajdonságokat vehetnek fel (Husband és Campbell 2004, Ensslin *et al.*, 2015). Az *ex situ* állományokban a korábban említett intenzív kertészeti fenntartás (elsősorban a gyomlálás) miatt ez a versenyhelyzet megszűnik, a szelekciós nyomás hiányában pedig a stressz adaptációs tulajdonságokat elveszthetik az egyedek (Ensslin és Godefroid 2019, Rauschkolb *et al.* 2019). A sárga len populációkban felvételezett fajlisták alapján az *ex situ* állomány két *in situ* populációval került egy csoportba (Pócalja és Érd, Szarmata mézskő 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. A *Trifolium spadicum* esetében éppen a kompetíció hiányában, csökkent szelekciós nyomás alakult ki az *ex situ* gyűjteményben, ami a gyűjteményes kerti egyedek magvainál kései csírázást eredményezett az *in situ* populációhoz képest (Rauschkolb *et al.* 2019).

A sárga len *ex situ* populációjában nagyon erős morfológiai és csírázásbiológiai elkülönülést tapasztaltunk, amit 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.

### 6.3. 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 struktúralódás tovább nehezíti a taxonazonosítást. A Fenyőfői Ósfenyves területéről korábban Baksay (1972) jelezte a *Dianthus arenarius* jelenlétét, amit Somogyi (2014) AFLP vizsgálattal megerősített. Vizsgálataink során szerettük 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 százalékbeli 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 nem a megőrzési móddal, hanem a környezet által indukált évjárat hatással magyarázható. Ez a különbség összhangban van David Cevallos González (2021) doktori értekezésében közölt eredményekkel, ahol a gyűjtési helyszín és a magtömeg, valamint a csírázási százaléértékek között pozitív korrelációt tapasztalt. Kimutatta, hogy az alacsonyabb ariditás index mellett magasabb csírázási százalék tapasztalható a fajnál.

A *Dianthus* nemzetség taxonómiai szempontból számos komplex fajcsoporttal jellemezhető, és egyben az egyik legmagasabb fajdiverzifikációs rátával rendelkezik (Valente *et al.* 2010, Fassou *et al.* 2022). A nemzetségen belül alacsony genetikai távolságok figyelhetőek meg, ami a fajszintű 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 fajok kromoszómaszámának megállapítása és FISH térképezése információt szolgáltat a populációk között fennálló diverzitásbeli különbségekről, és képet kaphatunk az evolúciós folyamatokról is a poliploid taxonok esetében. A populációk között fellelhető intraspecifikus citotípusbeli variabilitás fontos szempont lehet az *ex situ* állományok kialakítása során. A *Dianthus* nemzetségen belül, a fajok populációi közötti citotípusbeli variabilitás mellett, kevert citotípusú populációk is előfordulnak (Weiss *et al.* 2002). A kései szegfű és balti szegfű populációk kromoszómaszámbeli variabilitásának értékelése a megőrzés szempontjából is fontos. A *Dianthus serotinus* az irodalmi adatok szerint lehet tetraploid  $2n=4x=60$  (Majovský 1970, Weiss *et al.* 2002), és hexaploid is  $2n=6x=90$  (Baksay 1972, Borhidi 1968, Kmet'ová 1982, Kovanda 1984). A *Dianthus arenarius* a szerzők többsége szerint tetraploid  $2n=4x=60$  (Rohweder 1929, Andersson-Kottö és Gairdner 1931, Rohweder 1934, Genčev 1937, Carolin 1957, Kovanda 1984, Dmitrieva 1985, Semerenko 1990), viszont diploid  $2n=2x=30$  (Andersson-Kottö és Gairdner 1931) és hexaploid  $2n=6x=90$  (Puch 1941) populációkról is beszámoltak. 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, amit téves közlésnek ítél meg (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 letterszági *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* recens molekuláris revíziójával Somogyi (2014) és Valente *et al.* (2010) foglalkoztak. 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 szerettünk volna fejleszteni, amik segítik a két faj azonosítását, és segítségükkel a populációkon

belüli haplotípus diverzitás is detektálható. Az általunk újonnan fejlesztett és alkalmazott univerzális markerek hasonló eredményt hoztak, mint a korábbi molekuláris vizsgálatok. 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 a fajok közötti haplotípus részesedést és fajon belül a populációk között tapasztalt elkülönüléseket a közös ősi variációk kombinációjával és a folyamatos másodlagos genetikai kontakt zónák meglétével magyarázták (Fassou *et al.* 2022). A fajok közötti haplotípus részesedés más poliploid fajoknál is leírt jelenség. Li *et al.* (2022) kelet ázsiai *Quercus* fajokkal végzett vizsgálatuk során a fajok között kimutattak random és lokális közös haplotípusokat a vizsgált fajok egyedei között. Ezt az eredményt közös ősrre visszavezethető polimorfizmussal és introgresszióval magyarázták. A soroksári mintákban megjelent közös haplotípusok utalhatnak a kerten belül zajló, fajok közötti potenciális hibridizációs folyamatokra, ami a megőrzött génanyag szempontjából kedvezőtlen folyamatot jelez.

A kései szegű *ex situ* állománya a természetes *in situ* populáció utolsó genetikai ujjlenyomata, ezért fenntartása továbbra is fontosnak tekinthető. Ugyanakkor a genetikai vizsgálatok során detektált potenciális introgresszió a kertben található *Dianthus* taxonokkal egy kedvezőtlen genetikai folyamatot jelez. Emiatt a visszatelepítésre való alkalmassága ennek az állománynak is vitatható. A jövőben fontos lenne a *Dianthus serotinus* és a Fenyőfői Ósfenyves területén található *Dianthus arenarius* taxonokkal új *ex situ* állományok létesítése azonban a génanyagok elkülönült gondozása a kerten belül felmerült introgresszió miatt kiemelten fontos.



## 7. 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 periferiális populációk természetvédelmi biológiai értékét emeli ki.

4. A kései szegfű és a balti szegfű fajoknál taxonazonosításra 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.

## 8. ÖSSZEFOGLALÁS

Doktori értekezésemben négy, a hazai flórában védett növénytaxon: *Plantago maxima*, *Linum flavum*, *Dianthus arenarius* és *D. serotinus ex situ* növénymegőrzésének értékelését és az *in situ* populációk háttérdiverzitását vizsgáltuk. Kutatásunk során célul tűztük ki, hogy az *ex situ* génanyagot többszemponútú analízissel értékeljük a megőrzési mód sikeressége, valamint a botanikus kerti potenciális adaptáció értékelésének céljából. Emellett fontos cél volt az *in situ* populációk pontosabb morfológiai, társulástani és genetikai alapú feltérképezése, ami információt szolgáltat az *ex situ* megőrzés minél pontosabb kivitelezéséhez, továbbá reprezentatív gyűjtemények kialakításának megvalósításához.

A morfológiai kutatás során vegetatív és generatív paramétereket is vizsgáltunk a védett fajok populációiban. Az óriás útifű *ex situ* populációja egy fiatal gyűjtemény, amit 2016-ban hoztam létre a Soroksári Botanikus Kert kékperjés láprétjén. Az *ex situ* állományok így közel természetes élőhelyi körülmények közé kerültek betelepítésre, ami a kedvezőtlen adaptív folyamatok kialakulását gátolhatja meg. Morfológiai alapon az *ex situ* gyűjtemény beleillett a természetes populációkban tapasztalható morfológiai variabilitásba. Az egyik szubpopulációban, ami a láprét egy üdebb foltjába került betelepítésre megjelentek virágzó egyedek 2019-ben, és a virágzás azóta is folyamatos. Ez a szubpopuláció stabilizálódását is jelezheti, ami pozitív eredmény a megőrzés szempontjából.

A sárga len egy történeti *ex situ* állomány, amit több mint 35 éve telepítettek a botanikus kertbe Alsószentivánról. Ez idő alatt egy eltérő környezetben adaptív változások léptek fel, amit morfológiai vizsgálataink során detektáltunk. A vegetatív paraméterekben szignifikánsan nagyobb értékeket tapasztaltunk a gyűjteményes kerti állományban, a generatív paraméterek szempontjából pedig szignifikánsan kisebb értékeket kaptunk az *in situ* populációkhoz képest. Hasonló eredményre számítottunk a kései szegfű *ex situ* állományában, ami szintén történeti gyűjteménynek számít hiszen több, mint 45 éve telepítették be a kertbe Dunaharaszti határából. Azonban ennél a fajnál olyan markáns és egyértelmű elkülönülést nem tapasztaltunk, mint a sárga len esetében. Fontos kiemelni, hogy a kései szegfű és a sárga len esetében a gyűjteményes kerti állományok eredeti *in situ* populációval már nem tudtuk összehasonlítani a génanyagot, mivel ezek a populációk a természetben már eltűntek. Emiatt fontosnak tartjuk a jövőben olyan *ex situ* állományok vizsgálatba vonását is, amelyeknek az eredeti állományai is megtalálhatóak.

Csírázásbiológiai vizsgálataink során a sárga len *ex situ* állomány szintén markánsan elkülönült az első időpontban felmért csírázási százaléktételekben az *in situ* állományoktól. Szignifikánsan magasabb csírázási százalékot produkáltak a gyűjteményes kertből származó magok, ami a dormancia elvesztését jelezte az *in situ* magokhoz képest. Ez az eredmény szintén az eltérő környezetben zajló adaptációt jelezheti. A kései szegfű esetében a csírázásbiológiai vizsgálat során az *in situ* populációk között is nagyobb variabilitást tapasztaltunk. A berni botanikus kerti magok magas csírázási százalékot értek el, a debreceni magok pedig alacsonyabbat. Ez az alacsonyabb csírázási százalék a farmosi populációban is tapasztalható volt. Ennél a fajnál tehát a környezeti paraméterek még markánsabban hatottak a csírázási tulajdonságokra, ami az *ex situ* gyűjtemények kialakításánál, valamint a repatriációnál fontos információ lehet.

Az óriás útifű és a sárga len állományokban felvett fajlisták a populációk közötti eltérő környezeti és társulástani viszonyokra hívták fel a figyelmet. Az óriás útifű esetében az *ex situ* állományok külön csoportosultak az *in situ* állományoktól a Jaccard-féle szimilaritási index alapján, amit a Borhidi-féle TWR értékek is alátámasztottak. Ez magyarázhatja a két *ex situ* szubpopulációban a virágzás elmaradását, valamint lokális adaptációt is okozhat hosszabb távon, amit figyelembe kell majd venni a visszatelepítés során. A sárga len esetében az *ex situ* állomány a pócaljai és az érdi mészke plató bolygatottabb élőhelyeivel csoportosult. A TWR értékeket figyelembe véve az *ex situ* állomány további elkülönülést mutat, ami összhangban van a morfológiai és csírázásbiológiai eredményekkel is.

A kromoszóma alapú és molekuláris genetikai vizsgálatokkal az *in situ* állományokban jellemző variabilitást kívántuk felmérni, valamint a gyűjteményes kertekben található állományok genetikai reprezentativitást szeretnénk volna meghatározni. Az óriás útifű kromoszóma számát tisztáztuk és az összes hazai populációra megállapítottuk a  $2n=12$  kromoszóma számot, valamint először közöltük a faj FISH térképezését is. Az ISSR vizsgálat alapján a kunpeszeri *in situ* állomány a legvariábilisabb, ami indokoltá teszi a populációból egy *ex situ* gyűjtemény kialakítását. Az *ex situ* állományok közel azonos genetikai variabilitást mutattak, mint az *in situ* állományok, ami genetikailag reprezentatív mintavételt és *ex situ* állomány kialakítását támasztja alá. A *trnL-trnF* régió vizsgálat során a hazai populációkban, a centrális kazahsztáni populációhoz képest elkülönült haplotípust mutattunk ki. Ez az eredmény a hazai populációk védelmét és természetvédelmi biológiai értékét erősítette meg.

A kései szegfű és a balti szegfű vizsgálata során a hazai populációkban a  $2n=90$  kromoszóma számot állapítottuk meg. Ez az eredmény a fenyőfői balti szegfű esetében új adat, a korábbi Baksay Leóna által leírt  $2n=60$  értékhez képest, ami felhívja a figyelmet a fenyőfői populációban zajló genetikai változásokra. A lettországi balti szegfű minta  $2n=60$ , ami az északi populáció citotípusbeli elkülönülését mutatja a hazai mintákhoz képest. Először közöltük a kései szegfű és balti szegfű fajok FISH térképezését, ami a *Plumaria* szekción belül a poliploidizációs folyamatok irányát, valamint a taxonok közötti leszármazási vonalak pontosabb megismerését segítheti elő további fajok bevonásával. Univerzális és saját fejlesztésű kloroplasztisz markerekkel felmértük a kései szegfű és balti szegfű populációk haplotípus diverzitását. A tesztelt kloroplasztisz régiók nagyobb variabilitást produkáltak, mint a korábban alkalmazott markerek, azonban taxonómiai szintű értékelésekre még ezek a markerek sem voltak alkalmasak. A lettországi balti szegfű mintában két haplotípust detektáltunk, ami elkülönült a hazai állománytól. A fenyőfői populációban szintén két haplotípust mutattunk ki, ebből egy haplotípus megtalálható volt a *Dianthus plumarius* balatongyöröki populációjában, valamint a Soroksári Botanikus Kerti *ex situ* állományban is. A szigetmonostori és farmosi populációk egymástól különböző haplotípusokat hordoznak. A soroksári *ex situ* gyűjteményben három haplotípust mutattunk ki, ebből egy farmosi populációkkal mutatott hasonlóságot, egy pedig a fenyőfői és balatongyöröki populációkból származó egyedekkel volt közös. Egy haplotípus pedig egy mutációs lépéssel ehhez a haplotípushoz mutatott hasonlóságot. Ezek az eredmények felhívják a figyelmet a Soroksári Botanikus Kertben és a fenyőfői populációkban zajló, potenciális introgressziós és hibridizációs folyamatokra. Ezeknek a folyamatoknak a pontosabb megismerésére és feltárására azonban még további molekuláris genetikai vizsgálatok is elengedhetetlenek.

## 9. SUMMARY

In our study we wanted to assess the *ex situ* conservation of four threatened plant taxa: *Plantago maxima*, *Linum flavum*, *Dianthus arenarius* and *D. serotinus* from the Hungarian flora. We aimed to study the *ex situ* genetic material by a multi-level analysis in order to evaluate the success of the applied conservation method and the potential adaptation in the botanical garden. We also wanted to explore the natural diversity of the *in situ* populations of the species and draw the attention to their conservation value. In addition, an important goal was the accurate morphological characterization of the populations and evaluating the genetic (including cytogenetic) diversity of the *in situ* populations, which provides information for the most accurate implementation of *ex situ* conservation, as well as supporting the establishment of representative collections.

In the frame of the morphological analysis in the natural populations and botanical garden collections we measured vegetative and generative morphological parameters to evaluate morphological variability among the studied populations. Adaptive morphological shifts may be due to the habitat differences, different competition regimes or during maintenance, which could indicate possible alterations in garden collections compared to natural populations. The *ex situ* collection of the giant plantain was recently planted (2016) in the *Molinia* meadow of the Soroksár Botanical Garden. The habitats of the natural populations are basically linked to *Molinia* fen meadows, therefore the *ex situ* collection was planted in nearly natural conditions which can reduce the chance of the development of maladaptive processes. Our results show that morphologically the *ex situ* collection fits into the morphological variability found in the natural populations. In one out of the three *ex situ* subpopulations, in a meadow patch with a higher water table, during springtime flowering individuals already appeared in 2019. The flowering has been continuous ever since in this subpopulation. This may also indicate the stabilization of the subpopulation, which is a positive result in the long-term conservation effort.

The yellow flax is a historic *ex situ* collection, which was planted in the botanical garden from Alsószentiván more than 35 years ago. During this time, adaptive changes may have occurred in the different environment, which we detected during our morphological studies. We found significantly higher rates in the vegetative parameters at the garden collection, and in terms of the generative parameters, we obtained significantly lower values compared to the *in situ* populations. We expected a similar result in the *ex situ* stock of the late-flowering carnation, which is also considered as a historical collection as it was planted in the garden more than 45 years ago from the border of Dunaharaszti. However, with this species, we did not experience such a marked and clear separation as in the case of yellow flax. It is important to emphasize that in the case of late-flowering carnation and yellow flax, we could not compare the genetic material of the botanical garden collections with the original *in situ* population, since these populations already disappeared from the original native habitat. Therefore, we chose other native populations from Hungary.

In the seed germination tests, the yellow flax *ex situ* stand showed to be markedly different from the *in situ* populations in terms of the germination rate measured at the first time of the evaluation after sowing. Seeds from the garden collection produced a significantly higher germination rate, indicating loss of dormancy compared to *in situ* seeds. This result may also indicate that adaptation took place due to the different environment. In the case of late-flowering

carnation, during the germination assessment, we also experienced greater variability among the *in situ* populations. The seeds from the botanical garden in Bern achieved a high germination percentage, while the seeds from Debrecen achieved a lower percentage. This lower germination percentage was also experienced in the Farnos population. In the case of this species, the environmental parameters had an even more pronounced effect on the germination properties, which can be important information for the establishment of *ex situ* collections and for repatriation.

The species lists recorded in the giant plantain and yellow flax stands drew attention to the different environmental and coenological conditions among the populations. In the case of the giant plantain, the *ex situ* stands were grouped separately from the *in situ* stands based on the species' Jaccard similarity index, which was also supported by Borhidi's TWR values. This may explain the lack of flowering in the two *ex situ* subpopulations and may also cause local adaptation in the longer term, which will have to be taken into account during repatriation. In the case of the yellow flax, the *ex situ* population was grouped with the Pócalja habitat and the Érd limestone plateau. Considering the TWR values, the *ex situ* population shows further separation, which is in line with the morphological results and germination tests.

We aimed to assess the variability characteristic of the *in situ* populations, as well as the genetic representativeness of the populations found in the botanical garden with chromosome-based and molecular genetic tests. We clarified the chromosome number of the giant plantain as  $2n=12$  for all the Hungarian natural populations, as well as we did the first FISH mapping of the species. It is an important information, that among the *in situ* populations there were no cytological differences, which should be considered when establishing new garden collections. Based on the ISSR study, the Kunpeszér *in situ* population is the most variable, which supports the creation of an *ex situ* collection from the population. The *ex situ* populations showed almost the same genetic variability as the *in situ* populations, which supports the genetically representative sampling of the natural population. During the *trnL-trnF* study, a separate haplotype was detected in the Hungarian populations compared to the central Kazakhstan population. This result could draw attention to the conservation value of the edge population from Hungary and highlights the importance to preserve them *in situ* and *ex situ*.

During the examination of late-flowering carnation and the sand carnation, we detected only hexaploid cytotypes ( $2n=90$ ). This result is a new data for the sand carnation within the Fenyőfő population, compared to the  $2n=60$  value previously described by Leóna Baksay. This could be the result of some possible genetic changes taking place in the Fenyőfő population. The sand carnation sample from Latvia was  $2n=60$ , showing clear separation of the northern populations based on the cytotype. We conducted the FISH mapping of the late-flowering carnation and sand carnation species for the first time, which can facilitate the study of the direction of polyploidization processes within the *Plumaria* section, as well as a more precise understanding of the lineages between the taxa by including additional species from the section and the genus. We assessed the haplotype diversity of late-flowering carnation and the sand carnation populations with universal and newly developed chloroplast markers. The tested chloroplast DNA regions produced higher variability than the previously used markers, however, even these markers were not suitable for revealing taxonomic differences among the taxa. We detected two haplotypes in the sand carnation sample from Latvia, which were clearly different from those of the Hungarian populations. We also identified two haplotypes in the Fenyőfő population, one of the haplotypes was shared and found also in the *Dianthus plumarius* population in Balatonyörök, as well as in

the *Dianthus serotinus ex situ* stock from Soroksár Botanical Garden. The Szigetmonostor and Farnos populations represent single haplotypes, which was different from the other populations and from each other. We identified three haplotypes in the Soroksár *ex situ* collection. One haplotype shared with Farnos population, another shared with individuals from Fenyőfő and Balatongyörök populations, and one haplotype differed with only one mutation step from the latest haplotype mentioned. These results draw attention to the possible introgression and hybridization processes taking place in the *ex situ* collection from Soroksár Botanical Garden and in Fenyőfő population. However, further molecular genetic studies are essential for a more precise understanding and exploration of these processes.

## 10. MELLÉKLETEK

### M1 IRODALOMJEGYZÉK

- 9/2007. (III. 30.) KvVM rendelet az Érdi Kakukk-hegy természetvédelmi terület létesítéséről
- 13/2001. (V. 9.) KöM rendelet - a védett és a fokozottan védett növény- és állatfajokról, a fokozottan védett barlangok köréről, valamint az Európai Közösségben természetvédelmi szempontból jelentős növény- és állatfajok közzétételéről
1995. évi LXXXI. törvény a Biológiai Sokféleség Egyezmény kihirdetéséről. Lekérdezés időpontja: 2023.02.04.
1996. évi LIII. törvény a természet védelméről. Lekérdezés időpontja: 2023.02.04.
2014. évi VIII. törvény a Biológiai Sokféleség Egyezményhez kapcsolódó, a genetikai erőforrásokhoz való hozzáférésről, valamint a hasznosításukból származó hasznok igazságos és méltányos megosztásáról szóló Nagojai Jegyzőkönyv kihirdetéséről. Lekérdezés időpontja: 2023.02.04.
- 27/2015. (VI. 17.) OGY határozat a 2015–2020 közötti időszakra szóló Nemzeti Környezetvédelmi Programról. Lekérdezés időpontja: 2023.02.04.
- 28/2015. (VI. 17.) OGY határozat a biológiai sokféleség megőrzésének 2015-2020 közötti időszakra szóló nemzeti stratégiájáról. Lekérdezés időpontja: 2023.02.04.
- 95/2003. (VIII. 14.) FVM rendelet a növényi genetikai anyagok megőrzéséről és felhasználásáról. Lekérdezés időpontja: 2023.02.04.
- Afshar, F., Sheidai, M., TALEBI, S.M. and Keshavarzi, M. (2015): Bayesian and Multivariate Analyses of combined molecular and morphological data in *Linum austriacum* (Linaceae) populations: Evidence for infraspecific taxonomic groups. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 16(2).
- Aguiar, B. I., Freitas, M. L., Zannato, A. S., Tambarussi, E. V., Moraes, M. L., Ambrosano, M. N., Pereira, L. C., Gandara, F. B., Kageyama, P.Y., Sebbenn, A. M. (2020): The effects of pollen dispersal and mating pattern on inbreeding depression and hybrid vigor in *Balfourodendron riedelianum* (Engl.) Engl.(Rutaceae). *Conservation Genetics* 21(2), 305-317.
- Alec, A. (2010): The interrelation between the geological substratum and the populations of some rare halophytic species from the Transylvanian Basin. PhD thesis. Babeş-Bolyai University, Faculty of environmental science, Cluj-Napoca.
- Allen, D., Bilz, M., Leaman, D. J., Miller, R. M., Timoshyna, A., Window, J. (2014): European red list of medicinal plants. IUCN: International Union for Conservation of Nature. Lekérdezés időpontja: 2022.06.01.  
<https://policycommons.net/artifacts/1374076/european-red-list-of-medicinal-plants/1988313/>
- Allendorf, F. W., Luikart, G., Aitken, S. N. (2013): Genetics and the conservation of populations. Wiley-Blackwell Publishing (2nd ed), Oxford, UK.
- Andersson, M., (2004): Feasibility study for DNA storage and use. DNA banks—providing novel options for genebanks? A worldwide survey. Technical Report. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Cali, Colombia.
- Andersson-Kottö, I., Gairdner, A. E. (1931): Interspecific crosses in the genus *Dianthus*. *Genetica*, 13, 77–112.
- Anderson, S., Radford, E. A., & Chester, V. (2008): A sustainable future for Europe the European strategy for plant conservation 2008-2014. *Acta horti botanici bucarestiensis*, (35), 5-12.



- Antonelli, A., Fry, C., Smith, R. J., Simmonds, M. S. J., Kersey, P. J., Pritchard, H. W., et al. (2020): State of the World's Plants and Fungi 2020. Kew: Royal Botanic Gardens.
- 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.
- Asgher, M., Verma, S., Khan, N.A., Vyas, D., Kumari, P., Rashid, S., Khan, S., Qadir, S., Ajmal Ali, M. és Ahmad, P. (2020): Physiological, biochemical and reproductive studies on *Valeriana wallichii*, a critically endangered medicinal plant of the Himalayan region grown under In-Situ and Ex-Situ conditions. *Plants*, 9(2), 131.
- Ashton, P. S. (1987): Biological considerations in in situ vs ex situ plant conservation. In Botanic gardens and the world conservation strategy: proceedings of an International Conference 26-30 November 1985 held at Las Palmas de Gran Canaria/edited by D. Bramwell (et al.). London: Academic Press 1987.
- Baksay, L. (1972): Biosystematik der *Dianthus plumarius* L. (sensu lato) in Ungarn. In: *Symposia Biologica Hungarica* 12. 149-161.
- Bala, S., Gupta, R.C. (2011): Chromosomal diversity in some species of *Plantago* (Plantaginaceae) from North India. *International Journal of Botany*, 7(1), 82-89.
- Balao, F., Casimiro-Soriguer, R., Talavera, M., Herrera, J. and Talavera, S. (2009): Distribution and diversity of cytotypes in *Dianthus broteri* as evidenced by genome size variations. *Annals of Botany*, 104(5), 965-973.
- Ball, P.W. (1976): *Plantago* L. – In: Tutin, T.G. et al. (eds), *Flora Europaea*, 4, 38-44. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Balog Norbert Krisztián (2018): A soroksári botanikus kert védett növényfajainak bemutatása. Szakdolgozat. Szent István Egyetem, Gödöllő p.71.
- Bari, G., Godward, M.B.E. (1970): Interspecific crosses in *Linum*. *Euphytica*, 19(4), 443-446.
- Basey, A. C., Fant, J. B., Kramer, A. T. (2015): Producing native plant materials for restoration: 10 rules to collect and maintain genetic diversity. *Native Plants Journal*, 16(1), 37-53.
- Becker, T. (2005): Auswirkungen langzeitiger Fragmentierung auf Populationen-am Beispiel der reliktschen Steppenrasenart-*Astragalus exscapus* L.(Fabaceae). *Hercynia*, 38(88), 112.
- Bellard, C., Bertelsmeier, C., Leadley, P., Thuiller, W., Courchamp, F. (2012): Impacts of climate change on the future of biodiversity. *Ecology letters*, 15(4), 365-377.
- Berger, V.W., Zhou, Y. (2014): Kolmogorov–smirnov test: Overview. Wiley statsref: Statistics reference online.
- BGCI (2020): GardenSearch. [https://tools.bgci.org/garden\\_search.php](https://tools.bgci.org/garden_search.php) Lekérdezés időpontja: 2022.11.20.
- BGCI. (2020): ThreatSearch online database. From Botanic Gardens Conservation International. [www.bgci.org/threat\\_search.php](http://www.bgci.org/threat_search.php) Lekérdezés időpontja: 2022.11.20.
- Biró, M. (2011): Változástérképek használata tíz év alatt bekövetkezett élőhelypusztulási tendenciák kimutatására a Kiskunsági-homokhátság területén. *Tájökológiai Lapok*, 9(2), 357–375
- Borchsenius, F. (2009): FastGap 1.2. Department of Biosciences, Aarhus University, Denmark. Published online at [http://www.aubot.dk/FastGap\\_home.htm](http://www.aubot.dk/FastGap_home.htm). Lekérdezés időpontja: 2022.11.20.

- Borhidi, A. (1995): Social behaviour types, the naturalness and relative ecological indicator values of the higher plants in the Hungarian Flora. *Acta Botanica Hungaria*, 39(1-2), 97-181.
- Borhidi, A. (1968): Karyological studies on southeast European plant species, I. *Acta Botanica Academiae Scientiarum Hungarica*, 14:253–260.
- Bouza, C., Lorenzo, I., Rodríguez-Gutián, M.A., Casanova, A., Real, C., Romero, R., Vera, M. (2023): Genetic survey extension of the threatened Iberian *Arnica montana* L. revealed the presence of divergent plastid lineages and highly structured populations in northern Spain. *Genetic Resources and Crop Evolution*, pp.1-13.
- Bölöni, J. (Szerk.) (2011): Magyarország élőhelyei: vegetációtípusok leírása és határozója, ÁNER 2011. MTA, Ökológiai és Botanikai Kutatóintézete.
- Breed, M. F., Ottewell, K. M., Gardner, M. G., Marklund, M. H., Dormontt, E. E., Lowe, A. J. (2015): Mating patterns and pollinator mobility are critical traits in forest fragmentation genetics. *Heredity*, 115(2), 108-114.
- Britton, N. L. (2016): Botanical gardens. In: Genoways HH, Andrei MA (Szerk.) *Museum origins*. Routledge, Abingdon, pp 277–282
- Brooks, M.L., D'antonio, C.M., Richardson, D.M., Grace, J.B., Keeley, J.E., DiTomaso, J.M., Hobbs, R.J., Pellant, M. and Pyke, D. (2004.): Effects of invasive alien plants on fire regimes. *BioScience*, 54(7), 677-688.
- Bruneau, A., Anderson, G.J. (1988): Reproductive biology of diploid and triploid *Apios americana* (Leguminosae). *American journal of botany*, 75(12), 1876-1883.
- Brütting, C., Hensen, I., Wesche, K. (2012): Ex situ cultivation affects genetic structure and diversity in arable plants. *Plant Biology*, 15(3), 505-513.
- Burton, T.L., Husband, B.C. (2001): Fecundity and offspring ploidy in matings among diploid, triploid and tetraploid *Chamerion angustifolium* (Onagraceae): consequences for tetraploid establishment. *Heredity*, 87(5), 573-582.
- Butchart, S. H, Stattersfield, A. J, Brooks, T. M (2006): Going or gone: defining Possibly Extinct species to give a truer picture of recent extinctions. *Bulletin-British Ornithologists Club*, 126, 7.
- Callmander, M. W., Schatz, G. E., Lowry, P. P. (2005): IUCN Red List assessment and the Global Strategy for Plant Conservation: taxonomists must act now. *Taxon*, 54(4), 1047-1050.
- Carey, M. P., Sanderson, B. L., Barnas, K. A., Olden, J. D. (2012): Native invaders—challenges for science, management, policy, and society. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 10(7), 373-381.
- Carolin, R. C. (1957): Cytological and hybridization studies in the genus *Dianthus*. *New Phytologist*, 56: 81–97.
- CBD (1992): Convention on biological diversity. <http://www.cbd.int/doc/legal/cbd-en.pdf>  
Lekérdezés időpontja: 2023.02.04.
- CBD (2002): Global strategy for plant conservation. The Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal
- CBD COP6 (2002): CBD decision VI/26. CBD Secretariat. [www.cbd.int/decisions/cop/6/26/2](http://www.cbd.int/decisions/cop/6/26/2)  
Lekérdezés időpontja: 2023.02.04.
- CBD COP10 (2010): Global Strategy for Plant Conservation: Technical rationale, justification for updating and suggested milestones and indicators (UNEP/CBD/ COP10/19).

Conference of the Parties to the Convention on Biological Diversity. [www.cbd.int/doc/meetings/cop/cop-10/official/cop-10-19-en.doc](http://www.cbd.int/doc/meetings/cop/cop-10/official/cop-10-19-en.doc). Lekérdezés időpontja: 2023.02.04.

- Chacón-Vargas, K., Garcia-Merchan, V. H., Sanin, M. J. (2019): From keystone species to conservation: conservation genetics of wax palm *Ceroxylon quindiuense* in the largest wild populations of Colombia and selected neighbouring ex situ plant collections. *Biodiversity and Conservation*, 29: 283-302.
- Chapin, F. S. III, Zavaleta, E. S., Eviner, V. T., Naylor, R. L., Vitousek, P. M., Reynolds, H. L., Hooper, D. U., Lavorel, S., Sala, O. E., Hobbie, S. E. (2000): Consequences of changing biodiversity. *Nature*, 405, 234-242.
- Charlesworth, B., Charlesworth, D. (1999): The genetic basis of inbreeding depression. *Genetics Research*, 74(3), 329-340.
- Chase, M. W., Christenhusz, M. J., Fay, M. F., Byng, J. W., Judd, W. S., Soltis, D. E., Mabberley, D. J., Sennikov, A. N., Soltis, P. S., Stevens, P. F. (2016): An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical journal of the Linnean Society*, 181(1), 1-20.
- Chen, X. B., Tian, Q., Zhang, Q. X. (2013): Genetic diversity and ex situ conservation of *Sinocalycanthus chinensis*. *Acta Horticulturae*, 977: 253-257. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.977.29>
- Chen, G., Sun, W. (2018): The role of botanical gardens in scientific research, conservation, and citizen science. *Plant diversity*, 40(4), 181-188.
- Chennaveeraiah, M.S., Joshi, K.K. (1983): Karyotypes in cultivated and wild species of *Linum*. *Cytologia*, 48(4), 833-841.
- Cho, Y., Mower, J. P., Qiu, Y. L., Palmer, J. D. (2004): Mitochondrial substitution rates are extraordinarily elevated and variable in a genus of flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(51): 17741–17746. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408302101>
- Christe, C., Kozłowski, G., Frey, D., Fazan, L., Bétrisey, S., Pirintsos, S., Gratzfeld, J., Naciri, Y., (2014): Do living ex situ collections capture the genetic variation of wild populations? A molecular analysis of two relict tree species, *Zelkova abelica* and *Zelkova carpinifolia*. *Biodiversity and Conservation*, 23(12), 2945-2959.
- Cibrian-Jaramillo, A., Hird, A., Oleas, N., Ma, H., Meerow, A.W., Francisco-Ortega, J., Griffith, M.P. (2013): What is the conservation value of a plant in a botanic garden? Using indicators to improve management of ex situ collections. *The Botanical Review*, 79, 559-577.
- Clement, M., Snell, Q., Walke, P., Posada, D., Crandall, K. (2002): TCS: Estimating gene genealogies. In *Proceedings of the First IEEE International Workshop on High Performance Computational Biology*.
- Comes, H.P., Kadereit, J.W. (1998): The effect of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution. *Trends in plant science*, 3(11), 432-438.
- Cronn, R.C., Zhao, X., Paterson, A.H., Wendel, J. F. (1996): Polymorphism and concerted evolution in a tandemly repeated gene family: 5S ribosomal DNA in diploid and allopolyploid cottons. *Journal of Molecular Evolution*, 42: 685–705.

- Csákvári, E., Fabók, V., Babai, D., Dósa, H., Kisné Fodor, L., Jombach, S., Kelemen, E., Tormáné Kovács, E., Könczey, R., Mártonné Máthé, K., Michalkó, G., Remenyik, B., Tanács, E., Valánszki, I., Zölei, A. (2021): A gyalogos természetjárás és gombászás mint kulturális ökoszisztémaszolgáltatások értékelése – Az ökoszisztéma állapotól a ténylegesen igénybe vett ökoszisztémaszolgáltatás értékelésig. A közösségi jelentőségű természeti értékek hosszú távú megőrzését és fejlesztését, valamint az EU biológiai sokféleség stratégia 2020 célkitűzéseinek hazai szintű megvalósítását megalapozó stratégiai vizsgálatok projekt, Ökoszisztéma-szolgáltatások projektelem. Agrárminisztérium, Budapest 118 p.
- Csáky, P. (2018): A Turjánvidék északi részének florisztikai szempontból jelentős növényfajai. In: Korda M.(szerk.): Természetvédelem és kutatás a Turjánvidék északi részén.–Duna-Ipoly Nemzeti Park Ig., Budapest pp. 145-252.
- Csontos, P., Tamás, J., Kovács, Z., Schellenberger, J., Penksza, K., Szili-Kovács, T. and 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*, 11(6), 763.
- 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.
- Demesure, B., Sodzi, N., Petit, R. J. (1995): A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Molecular Ecology*, 4: 129–131.
- Devi, J., Ko, J. M., Seo, B. B. (2005): FISH and GISH: modern cytogenetic techniques. *Indian Journal of Biotechnology*, 4: 307–315.
- Dhar, M. K., Friebe, B., Kaul, S., Gill, B. S. (2006): Characterization and physical mapping of ribosomal RNA gene families in *Plantago*. *Annals of Botany*, 97(4): 541–548.
- Dhar, M. K., Kour, G., Kaul, S. (2017): B chromosome in *Plantago lagopus* Linnaeus 1753 shows preferential transmission and accumulation through unusual processes. *Comparative Cytogenetics*, 11(2), 375
- DiBattista, J. D. (2008): Patterns of genetic variation in anthropogenically impacted populations. *Conservation Genetics*, 9(1), 141-156.
- Directive, H. (1992): Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora. *Official Journal of the European Union*, 206(7), p. 50.
- Dmitrieva, S. A. (1985): Číslo chromosom nekotorych predstavitelej semejstv Apiaceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae i Cyperaceae flory Belorussii. (Chromosome numbers in some representatives of the families Apiaceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae and Cyperaceae in the Byelorussian flora.). *Botaničeskij Žurnal*, 70, 994–996.
- Dobes, C. H., Hahn, B., Morawetz, W. (1997): Chromosomenzahlen zur gefässpflanzen-flora Österreichs. *Linzer Biol. Beitr*, 29(1), 5-43.
- Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo, Y., Shi, S., Cheng, T., Guo, J., Zhou, S. (2015): ycf1, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Scientific reports*, 5(1), 1-5.
- Dong, W., Liu, Y., Xu, C., Gao, Y., Yuan, Q., Suo, Z., Zhang, Z., Sun, J. (2021). Chloroplast phylogenomic insights into the evolution of *Distylium* (Hamamelidaceae). *BMC genomics*, 22(1), 293.

- Dong, W., Sun, J., Liu, Y., Xu, C., Wang, Y., Suo, Z., et al. (2022): Phylogenomic relationships and species identification of the olive genus *Olea* (Oleaceae). *Journal of Systematics and Evolution*, 2022: 12802. doi: 10.1111/jse.12802
- Dubois, J., Cheptou, P.O. (2012): Competition/colonization syndrome mediated by early germination in non-dispersing achenes in the heteromorphic species *Crepis sancta*. *Annals of Botany*. 110(6), 1245-1251.
- Earl, D. A., VonHoldt, B. M. (2012): STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, 4(2), 359-361.
- Ebert, A.W., Karihaloo, J.L., Ferreira, M.E. (2006): IX. Opportunities, limitations and needs for DNA banks. *DNA banks-providing novel options for genebanks*, p.61.
- 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.
- Engels J. M. M. (2004): Plant genetic resources management and conservation strategies: Problems and progress. In *XXVI International Horticultural Congress: Plant Genetic Resources, The Fabric of Horticultures Future*. *Acta Hort.* 623: 179–192.
- ENSCOBASE (2016): The European Network Seed Conservation database. <http://enscobase.maich.gr> Lekérdezés időpontja: 2022.05.31.
- ENSCONET (2009a): ENSCONET Seed Collecting Manual for Wild Species, RBG Kew, Universidad Politécnica de Madrid ISBN 978-84-692-3926-1.
- ENSCONET (2009b): ENSCONET Curation Protocols and Recommendations, RBG Kew, ISBN 978-84-692-5964-1.
- Ensslin, A., Sandner, T. M., Matthies, S. D. (2011): Consequences of ex situ cultivation of plants: Genetic diversity, fitness and adaptation of the monocarpic *Cynoglossum officinale* L. in botanic gardens. *Biological Conservation*, 144(1): 272-278.
- Ensslin, A., Tschöpe, O., Burkart, M., Joshi, J. (2015): Fitness decline and adaptation to novel environments in ex situ plant collections: Current knowledge and future perspectives. *Biological Conservation*, 192: 394-401.
- 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.
- Ensslin, A., Godefroid, S. (2019): How the cultivation of wild plants in botanic gardens can change their genetic and phenotypic status and what this means for their conservation value. *Sibbaldia: The Journal of Botanic Garden Horticulture*, 17: 51-69.
- 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.
- Ensslin, A., Sandner, T. M., Godefroid, S. (2023): Does the reduction of seed dormancy during ex situ cultivation affect the germination and establishment of plants reintroduced into the wild? *Journal of Applied Ecology*, 60(4):685-695.
- ENSZ (2019). Sustainable development goals. <http://www.undp.org/content/undp/en/home/sustainable-development-goals.html> Lekérdezés időpontja: 2023.02.04.
- Etisham-Ul-Haq, M., Allnutt, T. R., Smith-Ramirez, C., Gardener, M. F., Armesto, J. J., Newton, A. C. (2001): Patterns of genetic variation in in and ex situ populations of the

- threatened Chilean vine *Berberidopsis corallina*, detected using RAPD Markers. *Annals of Botany*, 87(6): 813-821.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620.
- Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J. K. (2003): Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164(4), 1567-1587.
- FAO (2014): Genebank standards for plant genetic resources for food and agriculture. *Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture*.
- Faraji, L., Karimi, M. (2022): Botanical gardens as valuable resources in plant sciences. *Biodiversity and Conservation*, 31(12), 2905-2926.
- Farkas, S. (Szerk.) (1999): Magyarország védett növényei. [Protected plants of Hungary]. – Mezőgazda Kiadó, Budapest, 416 pp.
- Fassou, G, Korotkova, N, Nersesyan, A, Koch, MA, Dimopoulos, P, Borsch, T (2022): Taxonomy of *Dianthus* (Caryophyllaceae) – overall phylogenetic relationships and assessment of species diversity based on a first comprehensive checklist of the genus. *PhytoKeys* 196: 91-214.
- Fedoroff, N. V. (1979): On spacers. *Cell* 16(4), 697-710.
- Feliner, G. N., Rosselló, J. A. (2007): Better the devil you know? Guidelines for insightful utilization of nrDNA ITS in species-level evolutionary studies in plants. *Molecular phylogenetics and evolution*, 44(2), 911-919.
- Ferrando-Pardo, I., Ferrer-Gallego, P., Laguna-Lumbreras, E. (2016): Assessing the conservation value of ex situ seed bank collections of endangered wild plants. *Israel Journal of Plant Sciences*, 63(4), 333-346.
- Ferreira, V., Matos, M., Correia, S., Martins, N., Gonçalves, S., Romano, A., Pinto-Carnide, O. (2013): Genetic diversity of two endemic and endangered *Plantago* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 51, 37-44.
- Fišer, Ž., Aronne, G., Aavik, T., Akin, M., Alizoti, P., Aravanopoulos, F., Bacchetta, G., Balant, M., Ballian, D., Barazani, O., Bellia, A. F. (2021): ConservePlants: An integrated approach to conservation of threatened plants for the 21st Century. *Research ideas and outcomes*, 7, 1-29.
- Fontúrbel, F. E., Jordano, P., Medel, R. (2017): Plant-animal mutualism effectiveness in native and transformed habitats: assessing the coupled outcomes of pollination and seed dispersal. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, 28, 87–95.
- Francis, R. M. (2017): pophelper: an R package and web app to analyse and visualize population structure. *Molecular ecology resources*, 17(1), 27-32.
- Frankel, O. H., Hawkes, J. G., Hawkes, J. G. (Szerk.). (1975): Crop genetic resources for today and tomorrow (Vol. 2). CUP Archive.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Ralls, K., Eldridge, M.D.B., Dudash, M.R., Fenster, C.B., Lacy, R.C., Sunnucks, P. (2017). Genetic management of fragmented animal and plant populations. Oxford University Press, Oxford.
- Fu, X., Ning, G., Gao, L., & Bao, M. (2008): Genetic diversity of *Dianthus* accessions as assessed using two molecular marker systems (SRAPs and ISSRs) and morphological traits. *Scientia horticultrae*, 117(3), 263-270.



- Gall, J.G., Pardue, M.L. (1969): Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 63(2), 378-383.
- García-Ramos, G., Kirkpatrick, M. (1997): Genetic models of adaptation and gene flow in peripheral populations. *Evolution*, 51(1), 21-28.
- Gargiulo, R., Saubin, M., Rizzuto, G., West, B., Fay, M. F., Kallow, S., Trivedi, C. (2019): Genetic diversity in British populations of *Taxus baccata* L.: Is the seedbank collection representative of the genetic variation in the wild? *Biological Conservation*, 233: 289-297.
- Genčev, G. J. (1937): Eksperimentalno i kariologično razučvane na rodstvenitě vzaimootnošenija meždu vidovetě na roda *Dianthus* L. (Experimental and caryological investigation of the relationships among the species of the genus *Dianthus* L.) Dissertation. Sofia, Bulgaria: University Sofia.
- Gerlach, W. L., Dyer, T. A. (1980): Sequence organization of the repeating units in the nucleus of wheat which contain 5S rRNA genes. *Nucleic Acids Research*, 8(21), 4851-4865.
- Gibson, S. Y., Van der Marel, R. C., Starzomski, B. M. (2009): Climate change and conservation of leading-edge peripheral populations. *Conservation Biology* 23(6), 1369-1373.
- Given, D. R. (1987): What the conservationist requires of ex situ collections. In: Bramwell D, Hamann O, Heywood VH, Synge H (Eds). Botanic gardens and World Conservation Strategy: proceedings of an International Conference 26-30 November 1985 held at Las Palmas de Gran Canaria. Academic Press, London pp. 103-116.
- Godwin, I. D., Aitken, E. A., Smith, L.W. (1997): Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. *Electrophoresis* 18(9), 1524-1528.
- González, A. V., Gómez-Silva, V., Ramírez, M. J., Fontúrbel, F. E. (2020): Meta-analysis of the differential effects of habitat fragmentation and degradation on plant genetic diversity. *Conservation Biology*, 34(3), 711-720.
- Gouy, M., Guindon, S., Gascuel, O. (2010): SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular biology and evolution*, 27(2), 221-224.
- Gratzfeld, J. (Szerk.) (2016): From Idea to Realisation – BGCI’s Manual on Planning, Developing and Managing Botanic Gardens. *Botanic Gardens Conservation International*, Richmond, United Kingdom. ISBN-13: 978-1-905164-65-3, [bgci.org/resources/2016-BGCI-botanic-garden-manual](http://bgci.org/resources/2016-BGCI-botanic-garden-manual)
- Griffiths, M., Huxley, A. (1992): The new Royal Horticultural Society dictionary of gardening. Macmillan, London
- Guerra, M. (2012): Cytotaxonomy: the end of childhood. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 146, 703–710. doi: 10.1080/11263504.2012.717973
- Guerrant, E. O. J., Fiedler, P. L., Havens, K., Maunder, M. (2004): Revised genetic sampling guidelines for conservation collections of rare and endangered plants. In: Guerrant, E. O. J., Havens, K., Maunder, M. (Szerk.). *Ex situ plant conservation: supporting species survival in the wild*. Washington, DC: Island Press 19–438.
- Guerrant, E. O. Jr, Havens, K., Vitt, P. (2014): Sampling for effective ex situ plant conservation. *International Journal of Plant Sciences*, 175: 11–20. doi:10.1086/674131
- Guimarães, R. A., Corrêa, M. K. M., Chaves, L. J., Naves, R. V., de Campos Telles, M. P., Soares, T. N. (2019): Mating system and pollen dispersal in *Dipteryx alata* Vogel



- (Leguminosae): comparing in situ and ex situ conditions. *Tree Genetics & Genomes*, 15(28).
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O. (2010): New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology*, 59(3), 307-321.
- Gupta, M., Chyi, Y.-S., Romero-Severson, J., and Owen, J. L. (1994): Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoretical and applied genetics*, 89, 998–1006.
- Gurusamy, R., Lee, D.H., Park, S. (2016): The complete chloroplast genome sequence of *Dianthus superbis* var. *longicalycinus*. *Mitochondrial DNA Part A*, 27(3), 2015-2017.
- Greene, E.L. (1910): Landmarks of botanical history: a study of certain epochs in the development of the science of botany. vol 54. Smithsonian institution, Washington
- Halanych, K. M. (1991): 5S ribosomal RNA sequences inappropriate for phylogenetic reconstruction. *Molecular Biology and Evolution*, 8, 249-253.
- Hall, T. (1999): BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series*, 41, 95-98.
- Hamilton, M. B. (1999): Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. *Molecular ecology*, 8, 521-523.
- Hammer, Ø., Harper, D.A. Ryan, P.D. (2001): PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica*, 4(1), 9.
- Hampe, A., Petit, R. J. (2005): Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology letters*, 8(5), 461-467.
- Hardwick, K. A., Fiedler, P., Lee, L. C., Pavlik, B., Hobbs, R. J., Aronson, J., Bidartondo, M., Black, E., Coates, D., Daws, M. I., Dixon, K. (2011): The role of botanic gardens in the science and practice of ecological restoration. *Conservation Biology* 25(2), 265-275.
- Hassemer, G., Bruun-Lund, S., Shipunov, A. B., Briggs, B. G., Meudt, H. M., Rønsted, N. (2019): The application of high-throughput sequencing for taxonomy: the case of *Plantago* subg. *Plantago* (Plantaginaceae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 138, 156-173.
- Havens, K., Guerrant, E. O., Maunder, M., Vitt, P. (2004): Guidelines for ex situ conservation collection management: Minimizing risks. In: Guerrant EO, Havens K, Maunder M (Szerk.). *Ex situ Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild*. Island Press, Washington 454-473.
- Hawkes, J. G., Maxted, N., Ford-Lloyd, B. V. (2012): The ex situ conservation of plant genetic resources. Springer Science & Business Media.
- Hejda, M., Pyšek, P., Jarošík, V. (2009): Impact of invasive plants on the species richness, diversity and composition of invaded communities. *Journal of ecology*, 97(3), 393-403.
- Heslop-Harrison, J. S. (1991): The molecular cytogenetics of plants. *Journal of Cell Science*, 100, 15–21.
- Heywood, V.H. (2017): Plant conservation in the Anthropocene—challenges and future prospects. *Plant diversity*, 39(6), 314-330.
- Hoban, S. (2019): New guidance for ex situ gene conservation: Sampling realistic population systems and accounting for collection attrition. *Biological Conservation*, 235, 199-208.
- Hoban, S., Callicrate, T., Clark, J., Deans, S., Dosmann, M., Fant, J., Gailing, O., Havens, K., Hipp, A. L., Kadav, P., Kramer, A. T. (2020): Taxonomic similarity does not predict

- necessary sample size for ex situ conservation: a comparison among five genera. *Proceedings of the Royal Society B*, 287(1926), 20200102.
- Hoban, S., Bruford, M. W., Funk, W. C., Galbusera, P., Griffith, M. P., Grueber, C. E., Heuertz, M., Hunter, M. E., Hvilson, C., Stroil, B. K., Kershaw, F. (2021): Global commitments to conserving and monitoring genetic diversity are now necessary and feasible. *BioScience*, 71(9), 964-976.
- 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
- Höhn, M. (Szerk.) (2013): 50 éves a Soroksári Botanikus Kert. Budapesti Corvinus Egyetem, Növénytani Tanszék és Soroksári Botanikus Kert, Budapest.
- Höhn, M., Papp, L., Kovács, Zs., Németh, A., Pándi, I., Papp, L., Radvánszky, A., Zsigmond, V. (2020): Ex situ növénymegőrzés – Gyűjteményes kertek a növényvilág megőrzésért 2. átdolgozott, bővített kiadás. p. 32.
- Huang, D. I., Hefer, C. A., Kolosova, N., Douglas, C. J., Cronk, Q. C. (2014): Whole plastome sequencing reveals deep plastid divergence and cytonuclear discordance between closely related balsam poplars, *Populus balsamifera* and *P. trichocarpa* (Salicaceae). *New Phytologist*, 204, 693–703.
- Hubisz, M. J., Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J. K. (2009): Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 9(5), 1322-1332.
- Hughes, L. (2000): Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? *Trends in ecology & evolution*, 15(2), 56-61.
- Humphreys, A. M., Govaerts, R., Ficinski, S. Z., Nic Lughadha, E., Vorontsova, M. S. (2019): Global dataset shows geography and life form predict modern plant extinction and rediscovery. *Nature ecology & evolution*, 3(7), 1043-1047.
- Hurka, H. (1994): Conservation genetics and the role of botanical gardens. *Conservation genetics*, 371-380.
- Husband, B. C., Campbell, L. G. (2004): Population responses to novel environments: Implications for ex situ plant conservation. In: Guerrant EO, Havens K, Maunder M (Szerk.). *Ex situ Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild*. Island Press, Washington pp. 231-285.
- International Seed Testing Association-ISTA. (1985): International rules for seed testing. *Seed Science and Technology*, 13, 299–513.
- International Union for Conservation of Nature, Natural Resources. Species Survival Commission, & IUCN Species Survival Commission. (2001): *IUCN Red List categories and criteria*. IUCN.
- Isépy, I., Mihalik, E., Orlóci, L., Papp, L., Radvánszky, A., Zsigmond, V. (2013): Ex-situ növénymegőrzés. Gyűjteményes kertek a növényvilág megőrzéséért. Magyar Arborétumok és Botanikus Kertek Szövetségének kiadványa, Budapest, pp. 3-14.
- IUCN (2022): The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-2. <https://www.iucnredlist.org>. Lekérdezés időpontja: 2023.01.05.
- Jaccard, P. (1908): Nouvelles recherches sur la distribution florae. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, 44, 223-270

- Jacobsen, H. J., G. Dohmen. (1990): Modern plant biotechnology as a tool for the reestablishment of genetic variability in *Sophora toromiro*. *Courier Forschungs Institut Semckenberg*, 125, 233–237.
- John, H. A., Birnstiel, M. L., Jones, K. W. (1969): RNA–DNA hybrids at the cytological level. *Nature* (London), 223, 582–587.
- Johnson, L. A., Soltis, D. E. (1994): matK DNA and phylogenetic reconstruction in Saxifragaceae s. str. *Systematic Botany*, 19, 143–156.
- Keivani, M., Mehregan, I., Albach, D.C. (2021): Evaluating morphological diversity among *Plantago major* L. populations and influence of ecological variables. *Biologia* 76: 1127–1139.
- Kellogg, E. A., Appels, R. (1995): Intraspecific and interspecific variation in 5S RNA genes are decoupled in diploid wheat relatives. *Genetics*, 140, 325–343
- Kerov, T. (2014): Nõmmnelgi (*Dianthus arenarius* L.) alamliikide geneetilise varieeruvuse (Genetic variation among the subspecies of sand pink *Dianthus arenarius* L.), University of Tartu, Faculty of Science and Technology (old), Institute of Ecology and Earth Sciences, Tartu University. MSc dolgozat.
- Kimura, M., Maruyama, T., Crow, J. F. (1963): The mutation load in small populations. *Genetics*, 48, 1303–1312.
- Király, G. (2009): Új magyar fűvészkönyv I-II. – Magyarország hajtásos növényei, Határozókulcsok. (New Hungarian herbal I-II. The vascular plants of Hungary. Identification key.) Aggteleki Nemzeti Park, Jósvalfő.
- Kitamura, S., Inoue, M., Shikazono, N., Tanaka, A. (2001): Relationships among *Nicotiana* species revealed by the 5S rDNA spacer sequence and fluorescence in situ hybridization. *Theoretical and Applied Genetics*, 103(5), 678–686.
- Kmeťová, E. (1982): Zaujímavá populácia druhu *Dianthus serotinus* Waldst. et Kit na Záhorskej nížine. *Acta Botanica Slovaca Academiae Scientiarum Slovaca Series A (Taxonomica Geobotanica)*, 6, 114–120.
- Korneck, D., Schnittler, M., Vollmer, I. (1996): Rote Liste der Farn und Blütenpflanzen (Pteridophyta et Spermatophyta) Deutschlands. In G. Ludwig, G. Schnittler M. (Szerk.), *Rote Liste gefährdeter Pflanzen Deutschlands*, Schriftenreihe für Vegetationskunde, 28, 21–187. Schriftenr. Bonn-Bad Godesberg: Bundesamt für Naturschutz.
- Kovács Zs. (2015): A fokozottan védett óriás útifű (*Plantago maxima* Juss.) ex-situ védelemben vonása. Szakdolgozat. Budapesti Corvinus Egyetem.
- Kovács, Zs., Barabás, S., Höhn, M. (2018): Az óriás útifű (*Plantago maxima* Juss. ex Jacq.) csírázásbiológiai vizsgálata = Germination study of the giant plantain (*Plantago maxima* Juss. ex Jacq.). *Botanikai Közlemények*, 105(2), 243–252.
- Kovács, Zs., Barabás, S., Csontos, P., Höhn, M. M., Honfi, P. (2019): Az óriás útifű (*Plantago maxima* Juss. ex Jacq.) ex situ védelemben vonása II. Élőhelypreferencia-vizsgálat = Ex situ protection of the giant plantain (*Plantago maxima* Juss. ex Jacq.) II. Habitat preference studies. *Botanikai Közlemények*, 106(2), 157–172.
- 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), 12334–12334.
- Kovanda, M. (1984): Chromosome numbers in selected angiosperms (2). *Preslia*, 56, 289–301.

- Kozlov, A. M., Darriba, D., Flouri, T., Morel, B., Stamatakis, A. (2019): RAxML-NG: a fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics*, 35(21), 4453-4455.
- Kropf, M., Bardy, K., Höhn, M., Plenck, K. (2020): Phylogeographical structure and genetic diversity of *Adonis vernalis* L. (Ranunculaceae) across and beyond the Pannonian region. *Flora*, 262, 151497.
- Kühn, I., Klotz, S. (2006): Urbanization and homogenization—comparing the floras of urban and rural areas in Germany. *Biological conservation*, 127(3), 292-300.
- Lande, R. (1994): Risk of population extinction from fixation of new deleterious mutations. *Evolution*, 48, 1460-1469.
- Lauterbach, D., Burkart, M., Gemeinholzer, B. (2012): Rapid genetic differentiation between ex situ and their in situ source populations: an example of the endangered *Silene otites* (Caryophyllaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 168(1), 64-75.
- Leigh, J. W., Bryant, D. (2015): PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), 1110–1116.
- Lenormand, T. (2002): Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in ecology & evolution*, 17(4), 183-189.
- Lesica, P., Allendorf, F. W. (1995): When are peripheral populations valuable for conservation? *Conservation biology*, 9(4), 753-760.
- Levin, D.A. (2002): The role of chromosomal change in plant evolution. Oxford University Press, USA.
- Lewontin, R. C. (1972): The apportionment of human diversity. *Evolutionary biology*, 6, 381-398.
- Li, Q., Xu, Z., He, T. (2002): Ex situ genetic conservation of endangered *Vatica guangxiensis* (Dipterocarpaceae) in China. *Biological Conservation*, 106(2), 151-156.
- Li, D. Z., Pritchard, H. W. (2009): The science and economics of ex situ plant conservation. *Trends in plant science*, 14(11), 614-621.
- Li, B. J., Wang, J. Y., Liu, Z. J., Zhuang, X. Y., Huang, J. X. (2018): Genetic diversity and ex situ conservation of *Loropetalum subcordatum*, an endangered species endemic to China. *BMC Genetics*, 19, 12. <https://doi.org/10.1186/s12863-018-0599-6>
- Li, G., Tembrock, L. R., Wu, Z., Liu, F. (2019): Complete chloroplast genome of carnation (Caryophyllaceae: *Dianthus caryophyllus* L.). *Mitochondrial DNA Part B*, 4(1), 1463-1464.
- Li, Y., Wang, L., Zhang, X., Kang, H., Liu, C., Mao, L., Fang, Y. (2022): Extensive sharing of chloroplast haplotypes among East Asian Cerris oaks: The imprints of shared ancestral polymorphism and introgression. *Ecology and Evolution*, 12(8), e9142.
- Li, B., Fant, J., Zeldin, J., Skogen, K. and Havens, K. (2023): Genetic and floral trait changes in *Oenothera organensis* (Onagraceae) during long-term ex situ cultivation. *International Journal of Plant Sciences*.
- Librado, P., Rozas, J. (2009): DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25(11), 1451-1452.
- Linnington, S. H., Pritchard, H. W. (2001): Gene banks. *Encyclopedia of biodiversity*. 3, 165–181.
- Lynch, M., Gabriel, W. (1990): Mutation load and survival of small populations. *Evolution*, 44(7), 1725–1737.

- Mace, G. M., Lande, R. (1991): Assessing extinction threats: toward a reevaluation of IUCN threatened species categories. *Conservation biology*, 5(2), 148-157.
- 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.
- Magurran, A. E. (2004): Measuring biological diversity. Oxford, United Kingdom: Wiley Blackwell 264 p.
- Magyarország Alaptörvénye (2011) <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a1100425.atv>  
Lekérdezés időpontja: 2023.02.04.
- Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület (2023a) Natura 2000 adatbázis: Érd-tétnyi plató. <https://www.mme.hu/natura-2000-teruletek/hudi20017> Lekérdezés időpontja: 2023.01.19.
- Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület (2023b) Natura 2000 adatbázis: Szigeti homokok. <https://www.mme.hu/natura-2000-teruletek/hudi20047> Lekérdezés időpontja: 2023.01.19
- Májovský, J. (Szerk.) (1970): Index of chromosome numbers of Slovakian flora (Part 1). *Acta Fac. Rerum Nat. Univ. Comenianae Bot.*, 16, 1-26.
- Maschinski, J., Albrecht, M. A. (2017): Center for Plant Conservation's Best Practice Guidelines for the reintroduction of rare plants. *Plant Diversity*, 39(6), 390-395.
- Matson, P. A., Parton, W. J., Power, A. G., Swift, M. J. (1997): Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*, 277(5325), 504-509.
- Maunder, M., Higgens, S., Culham, A. (2001): The effectiveness of botanic garden collections in supporting plant conservation: a European case study. *Biodiversity and Conservation*, 10, 383-401.
- Maunder, M., Havens, K., Guerrant, E. O., Falk, D. A. (2004): Ex situ methods: A vital but underused set of conservation resources. In: Guerrant, E. O., Havens, K., Maunder, M. (Szerk.) *Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild*. Island Press, Washington, DC, pp. 3–20.
- Maunder, M., Byers, O. (2005): The IUCN technical guidelines on the management of ex situ populations for conservation: reflecting major changes in the application of ex situ conservation. *Oryx*, 39(1), 95-98.
- Maxwell, S. L., Fuller, R. A., Brooks, T. M., Watson, J. E. (2016): Biodiversity: The ravages of guns, nets and bulldozers. *Nature*, 536(7615), 143-145.
- Meindl, C. (2012): New aspects in plant conservation-Phylogeography, population dynamics, genetics and management of steppe plants in Bavaria. Regensburg: University of Regensburg. (Doktori értekezés).
- Meusel, H., Jäger, E., Rauschert, S., Weinert, E. (1978): Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora, Vol. II. Jena: Gustav Fischer Verlag.
- Meyer, R. S., DuVal, A. E., Jensen, H. R. (2012): Patterns and processes in crop domestication: An historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytologist*, 196, 29–48.
- Meyer, W., Mitchell, T. G., Freedman, E. Z., Vilgalys, R. (1993): Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in the polymerase chain reaction to distinguish strains of *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Clinical Microbiology*, 31(9), 2274-2280.

- Miao, Y. C., Su, J. R., Zhang, Z. J., Lang, X. D., Liu, W. D., Li, S. F. (2015): Microsatellite markers indicate genetic differences between cultivated and natural populations of endangered *Taxus yunnanensis*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 177(3), 450-461.
- Miller, R. M., Rodríguez, J. P., Aniskowicz-Fowler, T., Bambaradeniya, C., Boles, R., Eaton, M. A., Gärdenfors, U., Keller, V., Molur, S., Walker, S., Pollock, C. (2006): Extinction risk and conservation priorities. *Science*, 313(5786), 441-441.
- Miller, R. M., Rodríguez, J. P., Aniskowicz-Fowler, T., Bambaradeniya, C., Boles, R., Eaton, M.A., Gärdenfors, U. L. F., Keller, V., Molur, S., Walker, S., Pollock, C. (2007): National threatened species listing based on IUCN criteria and regional guidelines: current status and future perspectives. *Conservation biology*, 21(3), 684-696.
- 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.
- 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.
- Molnár-Baji, É. (Szerk.) (2013): Turjánvidék: Az Alföld rejtett kincse. *WWF Magazin*, 2, 6–9.
- Mounce, R., Smith, P., Brockington, S. (2017): Ex situ conservation of plant diversity in the world's botanic gardens. *Nature Plants*, 3(10), 795-802.
- Mower, J. P., Guo, W., Partha, R., Fan, W., Levens, N., Wolff, K., Nugent, J. M., Pabón-Mora, N., González, F. (2021): Plastomes from tribe Plantagineae (Plantaginaceae) reveal infrageneric structural synapomorphies and localized hypermutation for *Plantago* and functional loss of *ndh* genes from *Littorella*. *Molecular phylogenetics and evolution*, 162, 107217.
- Müller, J.V., Eastwood, R., Linington, S. (2012): ENSCONET: a milestone for European seed conservation. *Studi Trentini de Scienze Naturali*, 90, 209-210.
- Nagaoka, T., Ogihara, Y. (1997): Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theoretical and applied genetics*, 94, 597-602.
- Namoff, S., Husby, C. E., Francisco-Ortega, J., Noblick, L. R., Lewis, C. E., Griffith, M. P. (2010): How well does a botanical garden collection of a rare palm capture the genetic variation in a wild population? *Biological Conservation* 143(5), 1110-1117.
- Nei, M. (1973): Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the national academy of sciences*, 70(12), 3321-3323.
- Ng, W. L., Tan, S. G. (2015): Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: are we doing it right. *ASM Sci J*, 9(1), 30-39.
- Nic Lughadha, E., Bachman, S. P., Leão, T. C., Forest, F., Halley, J. M., Moat, J., Acedo, C., Bacon, K. L., Brewer, R. F., Gâteblé, G., Gonçalves, S. C. (2020): Extinction risk and threats to plants and fungi. *Plants, People, Planet*, 2(5), 389-408.
- Niklfeld, H., Schratt-Ehrendorfer, L. (1999): Rote Liste gefährdeter Farn- und Blütenpflanzen (Pteridophyta und Spermatophyta) Österreichs. ed. 2, 33–152 in: Niklfeld H.(ed.), Rote Listen gefährdeter Pflanzen Österreichs. *Grüne Reih. Bundesministerium für Umwelt, Jugend und Familie [ser. nova]*, 10.
- Nosova, I. V., Semenova, O. Y., Samatadze, T. E., Amosova, A. V., Bolsheva, N. L., Zelenin, A.V., Muravenko, O. V. (2005): Investigation of karyotype structure and mapping of

- ribosomal genes on chromosomes of wild *Linum* species by FISH. *Biologicheskie Membrany*, 22 (3), 244-248.
- O'Donnell, K., Sharrock, S. (2017): The contribution of botanic gardens to ex situ conservation through seed banking. *Plant Diversity*, 39(6), 373-378.
- O'Donnell, K., Sharrock, S. (2018): Botanic gardens complement agricultural gene bank in collecting and conserving plant genetic diversity. *Biopreservation and Biobanking*, 16, 384-390.
- Osborne, M., Sharp, A., Monzingo, J., Propst, D. L., Turner, T. F. (2012): Genetic analysis suggests high conservation value of peripheral populations of Chihuahua chub (*Gila nigrescens*). *Conservation genetics*, 13, 1317-1328.
- Pain, D. J., Bardin, Ph., Hutchinson, N., Pénezsné Kónya, E., Krause, M. (2020): A review of European progress towards the Global Strategy for Plant Conservation 2011-2020. *PLANTA EUROPA and Plantlife International*, 170 pp.
- Palermo, A. M., De Vita, A., Peruzzi, L., Gargano, D., Bernardo, L., Musacchio, A. (2010): Does *Plantago brutia* Ten. (Plantaginaceae) merit specific rank? Insights from nrDNA and cpDNA data. *Plant Biosystems*, 144(3): 573-581.
- Pauca, A. (1961). *Plantago* L. – In: Nyárády, E.I. (Szerk.), Fl. Reipubl. Popularis Romanicae. Vol. 8, pp. 398-429. Editio Acad. Reipubl. Popularias Romanicae, Bucharest (in Romanian).
- Peakall, R., Smouse P. E. (2006): GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6, 288-295.
- Peakall, R., Smouse P. E. (2012): GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539.
- Pence, V. C. (2004): Ex situ conservation methods for bryophytes and pteridophytes. In: Guerrant, E.O., Havens, K., Maunder, M. (Szerk.). *Ex situ plant conservation—supporting species survival in the wild*. Island Press, Washington DC, 206-227.
- Pence, V. C., Ballesteros, D., Walters, C., Reed, B. M., Philpott, M., Dixon, K. W., Pritchard, H. W., Culley, T. M., Vanhove, A. C. (2020): Cryobiotechnologies: Tools for expanding long-term ex situ conservation to all plant species. *Biological Conservation*, 250, 108736.
- Perdereau, A., Klaas, M., Barth, S., and Hodkinson, T. R. (2017): Plastid genome sequencing reveals biogeographical structure and extensive population genetic variation in wild populations of *Phalaris arundinacea* L. in north-western Europe. *GCB Bioenergy* 9, 46–56.
- Pineda, B., Hidalgo, R., Debouck, D., Mejía, M. (2007): Multi-institutional distance learning course on the ex situ conservation of plant genetic resources. Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT. Cali, Colombia pp 205-216. ISBN 9789586940948
- Pita, S., Panzera, F., Sánchez, A., Panzera, Y., Palomeque, T., Lorite, P. (2014): Distribution and evolution of repeated sequences in genomes of Triatominae (Hemiptera-Reduviidae) inferred from genomic in situ hybridization. *PLoS One*, 9(12), e114298.
- Plenk, K., Bardy, K., Höhn, M., Thiv, M., Kropf, M. (2017): No obvious genetic erosion, but evident relict status at the westernmost range edge of the Pontic-Pannonian steppe plant *Linum flavum* L. (*Linaceae*) in Central Europe. *Ecology and Evolution*, 7(16), 6527-6539.
- 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.
- Plucknett, D. L., Smith, N. J. H., Williams, J. T., Anishetty, N. M. (1987): Genes in the bank. *Gene Banks and the World's Food*, 233-247.
- Pogan, E., Jankun, A. and Wcislo, H. (1988): Further studies in chromosome numbers of Polish Angiosperms. 21. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 30, 119-136.
- 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.
- Pradeep Reddy, M., Sarla, N., Siddiq, E. A. (2002): Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *euphytica*, 128, 9-17.
- Primack, R. B., Ellwood, E. R., Gallinat, A. S., Miller-Rushing, A. J. (2021): The growing and vital role of botanical gardens in climate change research. *New Phytologist*, 231(3), 917-932.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945-959.
- Puch, E. I. (1941): Kariologija nekotorych vidov gvozdiki (Karyology of selected species of Caryophyllaceae). *Sovetskaja Botanika*, 1941, 178–180.
- Rahn, K. (1996): A phylogenetic study of the *Plantaginaceae*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 120(2), 145-198.
- Ramsey, J., Schemske, D.W. (1998): Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual review of ecology and systematics*, 29(1), 467-501.
- Ramsey, J., Schemske, D.W. (2002): Neopolyploidy in flowering plants. *Annual review of ecology and systematics*, 33(1), 589-639.
- 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.
- Raven, P., Wackernagel, M. (2020): Maintaining biodiversity will define our long-term success. *Plant Diversity*, 42(4), 211-220.
- Razgour, O., Juste, J., Ibáñez, C., Kiefer, A., Rebelo, H., Puechmaille, S. J., Arlettaz, R., Burke, T., Dawson, D. A., Beaumont, M. Jones, G. (2013): The shaping of genetic variation in edge-of-range populations under past and future climate change. *Ecology Letters*, 16(10), 1258-1266.
- Rhymer, J. M., Simberloff, D. (1996): Extinction by hybridization and introgression. *Annual review of ecology and systematics*, 27(1), 83-109.
- Rivière, S., Breman, E., Kiehn, M., Carta, A., Müller, J.V. (2018): How to Meet the 2020 GSPC Target 8 in Europe: Priority-Setting for Seed Banking of Native Threatened Plants. *Biodiversity and Conservation*, 27 1873–1890.
- Roberts, E. H. (1991): 3. Genetic conservation in seed banks. *Biological Journal of the Linnean Society*, 43(1) 23-29.
- Rohweder, H. (1929): Über Kernuntersuchungen an *Dianthus*-Arten. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 47, 81–86.

- Rohweder, H. (1934): Beiträge zur Systematik und Phylogenie des Genus *Dianthus* unter Berücksichtigung der karyologischen Verhältnisse. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie*, 66, 249–368.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., Huelsenbeck, J. P. (2012): MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology*, 61(3), 539-542.
- 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.
- Rosselló, J. A., Maravilla, A. J., Rosato, M. (2022): The Nuclear 35S rDNA World in Plant Systematics and Evolution: A Primer of Cautions and Common Misconceptions in Cytogenetic Studies. *Frontiers in Plant Science*, 13, 788911-788911.
- Rucińska, A, Puchalski, J (2011): Comparative molecular studies on the genetic diversity of an ex situ garden collection and its source population of the critically endangered polish endemic plant *Cochlearia polonica* E. Fröhlich. *Biodiversity and Conservation*, 20(2): 401-413.
- Saitou, N., Nei, M. (1987): The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425.
- 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.
- Scarascia-Mugnozza, G. T., Perrino, P. (2002): The history of ex situ conservation and use of plant genetic resources. *Managing plant genetic diversity*, 1-22.
- Schaal, B., Leverich, W. (2004): Population genetic issues in ex situ plant conservation. In: Guerrant, E. O., Havens, K. & Maunder, M. (Szerk.) *Ex situ plant conservation: supporting species survival in the wild*, 267-285.
- Schneider-Binder, E. (1970): Vegetația acvatică și palustră dintre pâraul Strâmb (Râsloavele) și Rușciorul, Studii și Comunicări științe Naturale Muzeul Brukenthal, Sibiu 15: 187–213.
- Schneider-Binder, E. (1974): Flora și vegetația Depresiunii Sibiului și a dealurilor marginale, Teză de doctorat, Universitatea Babeș - Bolyai Cluj-Napoca, 513 p.
- Schneider-Binder, E. (1978): Zur Verbreitung, Ökologie und Zonologie des Riesenwegerichs (*Plantago maxima* Juss.), Studii și Comunicări științe Naturale Muzeul Brukenthal, Sibiu 22: 137-172.
- Schoen, D. J., Brown, A. H. (2001): The conservation of wild plant species in seed banks: attention to both taxonomic coverage and population biology will improve the role of seed banks as conservation tools. *BioScience*, 51(11), 960-966.
- Schwartz, M. W, Thorne, J. H, Viers, J. H. (2006): Biotic homogenization of the California flora in urban and urbanizing regions. *Biological Conservation*, 127(3), 282-291.
- Schwarzacher, T. Heslop-Harrison, P. (2000): Practical in situ hybridization. BIOS Scientific Publishers. Oxford.
- Schwarzacher, T. (2003): DNA, chromosomes, and *in situ* hybridization. *Genome*, 46 (6): 953–962.
- Semerenco, L. V. (1990): Číslo chromosom nekotorych cvetkovych rastenij Berezinskogo Biosfernogo Zapovednika (BSSR). (Chromosome numbers of some flowering plants from

- the Berezinsky Biosphere Reservation (The Byelorussian Soviet Socialist Republic.) *Botaničeskij Žurnal*, 75, 279–282.
- Severns, P. M., Liston, A. (2008): Intraspecific Chromosome Number Variation: a Neglected Threat to the Conservation of Rare Plants. *Conservation Biology*, 22(6), 1641–1647.
- Shapiro, S. S., Wilk, M. B. (1965): An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples), *Biometrika*, 52 (3/4), 591-611.
- Sharma, N., Koul, P., Koul, A. K. (1992): Genetic systems of six species of *Plantago* (*Plantaginaceae*). *Plant Systematics and Evolution* 181, 1-9.
- Sharma, N., Koul, A. K. (1995): Reproductive strategies in weeds-*Plantago major*, *P. lanceolata* and their cultivated ally *P. ovata*. *Proceedings of the Indian National Science Academy. Part B, Biological Sciences*, 61(6), 471-478.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Beck, J. T., Farmer, S. B., Liu, W., Miller, J., Siripun, K. C., Winder, C. T., Schilling, E. E., Small, R. L. (2005): The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American journal of botany*, 92(1) 142-166.
- Sheidai, M., Ziaee, S., Farahani, F., Talebi, S.M., Noormohammadi, Z. and Farahani, Y. (2014): Infra-specific genetic and morphological diversity in *Linum album* (Linaceae). *Biologia*, 69(1), pp.32-39.
- Shen, J., Ding, X., Liu, D., Ding, G., He, J., Li, X., Tang, F., Chu, B. (2006): Intersimple Sequence Repeats (ISSR) Molecular Fingerprinting Markers for Authenticating Populations of *Dendrobium officinale* KIMURA et MIGO. *Biological and pharmaceutical Bulletin*, 29(3), 420-422.
- Simmons, M. P., Ochoterena, H., Carr, T. G. (2001): Incorporation, relative homoplasy, and effect of gap characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology*, 50(3), 454-462.
- Simon, T. (2000): A magyarországi edényes flóra határozója. Harasztok – virágos növények. – Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, 976 pp.
- Široký, J., Lysák, M. A., Doležel, J., Kejnovský, E., Vyskot, B. (2001): Heterogeneity of rDNA distribution and genome size in *Silene* spp. *Chromosome Research*, 9(5), 387-393.
- Smart, J., Imboden, C., Harper, M., & Radford, E. (2002): Saving the plants of Europe. *European Plant Conservation, Planta Europa and the Council of Europe Strategy, Plantlife International, London*.
- Smouse, P. E., Banks, S. C., Peakall, R. (2017): Converting quadratic entropy to diversity: Both animals and alleles are diverse, but some are more diverse than others. *PLOS ONE* 12, e0185499.
- Solberg, S. O., Yndgaard, F., Palmè, A. (2015): Morphological and phenological consequences of ex situ conservation of natural populations of red clover (*Trifolium pratense* L.). *Plant Genetic Resources*, 15(02), 97-108.
- 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).
- Soó, R. (1970): A magyar flóra és vegetáció rendszertani-növényföldrajzi kézikönyve IV. Akadémiai Kiadó. Budapest. 594 pp.

- Soó, R. (1968): A magyar flora és vegetáció rendszertani-növényföldrajzi kézikönyve III. – Akadémiai Kiadó, Budapest, 506 pp.
- Steele, K. P., Holsinger, K. E., Jansen, R. K., Taylor, D. W. (1991): Assessing the reliability of 5S rRNA sequence data for phylogenetic analysis in green plants. *Molecular biology and evolution*, 8, 240–248.
- Sun Q, Lai L, Zhou J, Yi S, Liu X, Guo J, Zheng Y. (2022): Differences in Ecological Traits between Plants Grown In Situ and Ex Situ and Implications for Conservation. *Sustainability*. 14(9):5199. <https://doi.org/10.3390/su14095199>
- Szandar, K., Jakub, S., Paukszto, L., Krawczyk, K., Szczecińska, M. (2022): Are the Organellar Genomes Useful for Fine Scale Population Structure Analysis of Endangered Plants?—A Case Study of *Pulsatilla patens* (L.) Mill. *Genes*, 14(1), 67.
- Tabachnick, B. G., Fidell, L. S. (2007): Experimental designs using ANOVA (Vol. 724). Belmont, CA: Thomson/Brooks/Cole.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., Bouvet, J. (1991): Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant molecular biology*, 17(5), 1105-1109.
- Terlević, A., Temunović, M., Bogdanović, S., Grgurev, M., Ljubičić, I. and Rešetnik, I. (2023): Morphological and environmental variability of *Dianthus sylvestris* (Caryophyllaceae) in the Balkan Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 201(3), pp.377-389.
- Tessadori, F., van Driel, R., Fransz, P. (2004): Cytogenetics as a tool to study gene regulation. *Trends in plant science*, 9(3) 147-153.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., Gibson, T. J. (1994): CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research*, 22(22), 4673-4680.
- Thuiller, W., Lavorel, S., Araújo, M. B., Sykes, M. T., Prentice, I. C. (2005): Climate change threats to plant diversity in Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(23), 8245-8250.
- Tilman, D., Fargione, J., Wolff, B., D'antonio, C., Dobson, A., Howarth, R., Schindler, D., Schlesinger, W.H., Simberloff, D. and Swackhamer, D. (2001): Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*, 292(5515), 281-284.
- Tong, Y. W., Durka, W, Zhou WM, Zhou L, Yu DP, Dai LM (2020): Ex situ conservation of *Pinus koraiensis* can preserve genetic diversity but homogenizes population structure. *Forest Ecology and Management*, 465, 117820.
- Torres-Ruiz, R. A., Hemleben, V. (1994): Pattern and degree of methylation in ribosomal RNA genes of *Cucurbita pepo* L. *Plant molecular biology*, 26(4), 1167-1179.
- Tsumura, Y., Ohba K., Strauss S. H. (1996): Diversity and inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Cryptomeria japonica*). *Theoretical and applied genetics*, 92, 40–45.
- Tzonev, R., Karakiev, T. (2007): *Plantago maxima* (Plantaginaceae): a relict species new for the Bulgarian flora. *Phytologia Balcanica*, 13(3), 347–350.
- 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.
- Van Der Merwe, M., Mcpherson, H., Siow, J., Rossetto, M. (2014): Next-Gen phylogeography of rainforest trees: exploring landscape-level cpDNA variation from whole-genome sequencing. *Molecular Ecology Resources*, 14, 199–208.

- Vidéki, R., Máté, A. (2003): Az óriás útifű (*Plantago maxima* Juss.) Magyarországon. *Flora Pannonica* 1(1): 94–107.
- Vitousek, P. M., Walker, L. R. (1989): Biological invasion by *Myrica faya* in Hawaii: plant demography, nitrogen fixation, ecosystem effects. *Ecological monographs*, 59(3), 247-265.
- Vitt, P., Havens, K. (2004): Integrating quantitative genetics into ex situ conservation and restoration practices. In: Guerrant, E. O., Havens, K., Maunder, M. (Szerk.): *Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild*. Island Press, Washington, DC, pp. 286–304
- Volis, S. (2017): Conservation utility of botanic garden living collections: Setting a strategy and appropriate methodology. *Plant Diversity*, 39(6), 365-372.
- Volis, S., Blecher, M. (2010): Quasi in situ: a bridge between ex situ and in situ conservation of plants. *Biodiversity and conservation*, 19(9), 2441-2454.
- Vranckx, G. U. Y., Jacquemyn, H., Muys, B., Honnay, O. (2012): Meta-analysis of susceptibility of woody plants to loss of genetic diversity through habitat fragmentation. *Conservation biology*, 26(2), 228-237.
- Wagner, V., Treiber, J., Danihelka, J., Ruprecht, E., Wesche, K., Hensen, I. (2012): Declining genetic diversity and increasing genetic isolation toward the range periphery of *Stipa pennata*, a Eurasian feather grass. *International Journal of Plant Sciences*, 173(7), 802-811.
- Walters, C. (2015): Orthodoxy, recalcitrance and in-between: describing variation in seed storage characteristics using threshold responses to water loss. *Planta*, 242, 397–406
- Wang, C., Liu, C., Wan, J., Zhang, Z. (2016): Climate change may threaten habitat suitability of threatened plant species within Chinese nature reserves. *PeerJ*, 4, e2091.
- Wei, X., Jiang, M. (2021): Meta-analysis of genetic representativeness of plant populations under ex situ conservation in contrast to wild source populations. *Conservation Biology*, 35(1), 12-23.
- 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.
- Weiss-Schneeweiss, H., Emadzade, K., Jang, T. S., Schneeweiss, G. M. (2013): Evolutionary consequences, constraints and potential of polyploidy in plants. *Cytogenetic and genome research*, 140(2-4), 137-150.
- Whitlock, M. C. (2003): Fixation Probability and Time in Subdivided Populations, *Genetics*, 164(2), 767–779.
- Wilson, W. D., Hutchinson, J. T., Ostrand, K. G. (2017): Genetic diversity assessment of in situ and ex situ Texas wild rice (*Zizania texana*) populations, an endangered plant. *Aquatic Botany*, 136, 212-219.
- Wolff, K. (1991). Genetic analysis of morphological variability in three *Plantago* species with different mating systems. *Theoretical and Applied Genetics*, 81, 111-118.
- Wong, C., Murray, B. G. (2014): In situ hybridization with genomic and rDNA probes reveals complex origins for polyploid New Zealand species of *Plantago* (Plantaginaceae). *New Zealand Journal of Botany*, 52(3), 315–327.
- Wright, S. (1931): Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, 16, 97–159.

- Wu, K. S., Jones, R., Danneberger, L., Scolnik, P. A. (1994): Detection of microsatellite polymorphisms without cloning. *Nucleic acids research*, 22(15), 3257.
- Wyse Jackson, P. (2001): An international review of the ex situ plant collections of the botanic gardens of the world. *Botanic Gardens Conservation News*, 3(6), 22-33.
- Wyse, S. V., Dickie, J. B., Willis, K. J. (2018): Seed banking not an option for many threatened plants. *Nature Plants*, 4(11), 848–850.
- Xiao, Y. E., Jin, D., Jiang, K., Hu, Y. H., Tong, X., Mazer, S. J., Chen, X. Y. (2019): Pollinator limitation causes sexual reproductive failure in ex situ populations of self-compatible *Iris ensata*. *Plant Ecology & Diversity*, 12(1), 21-35.
- Xie, H., Bain, O., Williams, S. A. (1994): Molecular phylogenetic studies on filarial parasites based on 5S ribosomal spacer sequences. *Parasite*, 1, 141–151.
- Zavaleta, E. (2000): The economic value of controlling an invasive shrub. *AMBIO: a Journal of the Human Environment* 29(8), 462-467.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D. (1994): Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176-183.
- Zsigmond V., Csontos P., Kecskés F., Kósa G. (2009): Maggyűjtési kézikönyv vadon élő fajokhoz. (Az ENSCONET "Seed collecting manual for wild species" c. kiadványának magyar változata.) Fővárosi Állat- és Növénykert, Budapest, 46 pp.
- Zsigmond, V. (Szerk.) (2011): Maggyűjtési Útmutató. – Kézirat 16 pp.
- Zsigmond, V., Höhn, M., Papp, L. (2020): GSPC Target 8 and ex-situ collections: case study: The most important results of *ex situ* plant conservation of native taxa in Hungary in the period 2011-2020. In: Sharrock, S., Smith, P. (szerk.) 2020. *BGjournal*, Volume 17, Number 2.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> Lekérdezés időpontja: 2022.09.10.

## M2. STATISZTIKAI TÁBLÁZATOK

### 2.1. Az óriás útifű *in situ* és *ex situ* populációnak morfológiai diverzitás vizsgálata 2018-2020 között és az *ex situ* szubpopulációk összehasonlító vizsgálata 2016-2020 között

2.1./1. táblázat: Az óriás útifű három vizsgált morfológiai paraméterének, mint függő változó reziduumainak normalitását Kolmogorov-Smirnov teszttel ellenőriztük. Amennyiben a teszt alapján sérült a normalitás, a ferdeség és csúcsosság értékek abszolút értékei  $<1$  alapján fogadtuk el a normalitást.

Függő változó	Statisztikai próba eredménye	
<i>2018-2020 in situ-ex situ</i>		
	<b>K-S</b>	
levél hosszúság	W(375)=0,057, p<0,01	s = 0,558; k = 0,087
levél szélesség	W(375)=0,043, p=0,102	s = 0,043; k = -0,430
levelek száma _ boxcox	W(375)=0,226, p<0,001	s = 0,020; k = -0,073
<i>2016-2020 ex situ</i>		
levél hosszúság	W(265)=0,081, p<0,001	s = 0,770; k = 0,459
levél szélesség	W(265)=0,083, p<0,001	s = 0,594; k = -0,064
levelek száma	W(265)=0,244, p<0,001	s = 0,456; k = -0,320

A függő változók közül a 2018-2020-as vizsgálat során a levelek száma esetében BoxCox transzformációt ( $\lambda = -0,3$ ) követően tudtuk elfogadni, a többi esetben a normalitást igazoltuk.

2.1./2. táblázat: Az óriás útifű három vizsgált morfológiai paraméterének, mint függő változóknak a szóráshomogenitását a Levene teszttel ellenőriztük (Levene 1960).

Függő változó	Statisztikai próba eredménye
<i>2018-2020 in situ-ex situ</i>	
levél hosszúság	F(20,354)=6,653, p<0,001
levél szélesség	F(20,354)=2,005, p<0,01
levélszám _ boxcox	F(20,354)=1,113, p=0,333
<i>2016-2020 ex situ</i>	
levél hosszúság	F(14, 250)=3,840, p<0,001
levél szélesség	F(14, 250)= 2,232, p<0,01
levelek száma	F(14, 250)=2,925, p<0,001

Azoknál a változóknál, ahol a szóráshomogenitást elfogadtuk, az értékcsoportok elkülönítéséhez Tukey-féle post hoc tesztet alkalmaztunk. Abban az esetben, ahol a feltétel sérült, a Games-Howell post hoc tesztet alkalmaztunk.

2.1./3. táblázat: Az óriás útifű állományok MANOVA vizsgálata.

Függő változó	Közöljük a nem magyarázott varianciarányadot (Wilk-féle lambda), valamint annak szignifikanciáját.
<i>2018-2020 in situ-ex situ</i>	value+szig
intercept	0,029, p<0,001
állományazonosító	0,318, p<0,001
év_blokk	0,697, p<0,001
<i>2016-2020 ex situ</i>	
intercept	0,040, p<0,001
állományazonosító	0,653, p<0,001
év_blokk	0,355, p<0,001

2.1./4. táblázat: Az óriás útifű állományok közti páronkénti összehasonlítás Tukey és Games-Howell post hoc teszt alapján.

2018-2020 levél hosszúság (cm)					
Games-Howell HSD <sup>a,b,c</sup>					
állomány- azonosító	N	Subset			
		1	2	3	
Tatárszent- györgy	60	27,0267			a
SBK mezofil	56	27,1018			a
SBK üde	39		35,5795		b
Kakucs	60		36,2150		b
Táborfal- vai lőtér	50		37,2980	37,2980	bc
Kunpeszér	60		39,4333	39,4333	bc
SBK sztyeppe	50			42,4120	c
Sig.		1,000	0,106	0,372	

2018-2020 levél szélesség (cm)						
Games-Howell HSD <sup>a,b,c</sup>						
állomány- azonosító	N	Subset				
		1	2	3	4	
SBK mezofil	56	5,1250				a
SBK üde	39		7,5000			b
SBK sztyeppe	50		7,5200			b
Táborfal- vai lőtér	50		7,8220			b
Tatárszent- györgy	60			9,1650		c
Kakucs	60			9,5267	9,5267	cd
Kunpeszér	60				10,3000	d
Sig.		1,000	0,979	0,963	0,388	



2018-2020 levelek száma (cm)			
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>			
Állomány azonosító	N	Subset	
		1	
SBK mezofil	56	2,5536	a
Táborfalvai lőtér	50	3,9400	a
SBK sztyeppe	50	2,3400	a
Kakucs	60	8,2833	a
SBK üde	39	2,9744	a
Kunpeszér	60	6,4333	a
Tatárszentgyörgy	60	4,5167	a
Sig.		0,093	

2016-2020 levél hosszúság (cm)					
Games-Howell HSD <sup>a,b,c</sup>					
Állomány azonosító	N	Subset			
		1	2	3	
SBK mezofil	96	25,5021			a
SBK üde	79		29,1620		b
SBK sztyepp	90			35,6811	c
Sig.		1,000	1,000	1,000	

2016-2020 levél szélesség (cm)			
Games-Howell HSD <sup>a,b,c</sup>			
Állomány azonosító	N	Subset	
		1	2
SBK mezofil	96	5,0240	a
SBK üde	79		6,1253 b
SBK sztyepp	90		6,3744 b
Sig.		1,000	0,664

2016-2020 levelek száma (db)			
Games-Howell HSD <sup>a,b,c</sup>			
Állomány azonosító	N	Subset	
		1	2
SBK sztyepp	90	2,5111	a
SBK mezofil	96	2,6875	a
SBK üde	79		3,0000 b
Sig.		0,310	1,000

## 2.2. A sárga len *in situ* és *ex situ* populációnak morfológiai diverzitás vizsgálata 2018-2020 között

2.2./1. táblázat: A sárga len vizsgált morfológiai paramétereinek, mint függő változó reziduumainak normalitását Kolmogorov-Smirnov vagy Shapiro-Wilk teszttel ellenőriztük. Amennyiben a teszt alapján sérült a normalitás, a ferdeség és csúsosság értékek abszolút értékei <1 alapján fogadtuk el a normalitást.

Függő változó	Statistikai próba eredménye		
2018-2020 <i>in situ-ex situ</i>	Kolmogorov-Smirnov	Shapiro-Wilk	skewness and kurtosis
magasság	W(240)=0,094, p<0,001	W(240)=0,960, p<0,001	s = 0,816, k = 0,903
levél hosszúság	W(240)=0,057, p=0,059	W(240)=0,986, p=0,019	s = 0,377, k = 0,867
levél szélesség BoxCox	W(240)=0,150, p<0,001	W(240)=0,934, p<0,001	s = 0,161, k = 0,883
szírom hosszúság	W(240)=0,087, p<0,001	W(240)=0,981, p<0,01	s = 0,171, k = -0,181
szírom szélesség_BoxCox	W(240)=0,141, p<0,001	W(240)=0,921, p<0,001	s = -0,340, k = 0,503
virágok száma_BoxCox	W(240)=0,072, p<0,01	W(240)=0,990, p=0,087	s = 0,036, k = -0,022

Azoknál a változóknál, ahol a normalitás feltételei sérültek BoxCox adattranszformáció után fogadtuk el a normalitást (levél szélesség  $\lambda=-0,1$ , szirom szélesség  $\lambda=-0,2$ , virágok száma  $\lambda=-0,3$ ).

2.2./2. táblázat: A sárga len vizsgált morfológiai paramétereinek, mint függő változóknak a szóráshomogenitását a Levene teszttel ellenőriztük (Levene 1960).

Függő változó	Statisztikai próba eredménye
magasság	F(11,219)=1,040, p=0,412
levél hosszúság	F(11,219)=0,865, p=0,576
levél szélesség BoxCox	F(11,219)=1,277, p = 0,239
szirom hosszúság	F(11,219)=0,952, p=0,492
szirom szélesség_BoxCox	F(11,219)=1,810, p=0,054
virágok száma_BoxCox	F(11,219)=3,588, p<0,001

Azoknál a változóknál, ahol a szóráshomogenitást elfogadtuk, az értékcsoportok elkülönítéséhez Tukey-féle post hoc tesztet alkalmaztunk. Abban az esetben, ahol a feltétel sérült, a Games-Howell post hoc tesztet alkalmaztunk.

2.2./3. táblázat: A sárga len állományok MANOVA vizsgálata.

Függő változó	Közöljük a nem magyarázott varianciarányadot (Wilk-féle lambda), valamint annak szignifikanciáját.
intercept	0,007, p<0,001
állományazonosító	0,310, p<0,001
év_blokk	0,471, p<0,001

2.2./4. táblázat: A sárga len állományok közti páronkénti összehasonlítás Tukey és Games-Howell post hoc teszt alapján. Az állomány azonosítók kódjai: 1 = Soroksári Botanikus Kert 2 = Érd\_Kakukk-hegy, 3 = Érd\_mészke plató, 4 = Pócalja.

Levél szélesség BoxCox				
Állomány azonosító	N	Subset		
		1		
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	3,00	59	1,0356	a
	1,00	56	0,9884	a
	2,00	56	0,7554	a
	4,00	60	0,9167	a
	Sig.		0,987	

Magasság (cm)					
Állomány azonosító	N	Subset			
		1	2		
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	3,00	59	37,0424		a
	4,00	60	39,0733		a
	2,00	56	39,4161		a
	1,00	56		57,8321	b
	Sig.		0,378	1,000	

Levél hosszúság						
Állomány azonosító	N	Subset				
		1	2	3		
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	2,00	56	2,5089		a	
	3,00	59		2,8797	b	
	4,00	60		3,0800	b	
	1,00	56			3,7393	c
	Sig.		1,000	0,400	1,000	

Szirom hosszúság				
Állomány azonosító	N	Subset		
		1		
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	2,00	56	1,7000	a
	4,00	60	1,7567	a
	1,00	56	1,8036	a
	3,00	59	1,8237	a
	Sig.		0,067	

Virágok száma BoxCox					
allomány azonosító	N	Subset			
		1			
Games- Howell HSD <sup>a,b,c</sup>	2,00	56	11,9286	11,9286	ab
	1,00	56	10,5714		a
	4,00	60	15,4250	15,4250	ab
	3,00	59		15,7966	b
	Sig.		0,057		

Szirom szélesség BoxCox					
allomány azonosító	N	Subset			
		1	2		
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	2,00	56	1,0393		a
	4,00	60	1,0600	1,0600	ab
	1,00	56	1,1054	1,1054	ab
	3,00	59		1,1424	b
	Sig.		0,062	0,080	

### 2.3. A kései szegfű *in situ* (2018-2020), *in situ* és *ex situ* (2019-2020) populációnak, valamint a kései és balti szegfű populációinak morfológiai diverzitás vizsgálata

2.3./1. táblázat: A kései szegfű és a balti szegfű vizsgált morfológiai paramétereinek, mint függő változó reziduumainak normalitását Kolmogorov-Smirnov vagy Shapiro-Wilk teszttel ellenőriztük. Amennyiben a teszt alapján sérült a normalitás, a ferdeség és csúsosság értékek abszolút értékei <1 alapján fogadtuk el a normalitást.

Függő változó	Statistikai próba eredménye		
<b>D_ser_2018_2020_insitu</b>	<b>Kolmogorov-Smirnov</b>	<b>Shapiro-Wilk</b>	<b>skewness and kurtosis</b>
párna átmérő	W(168)=0,078, p=0,015		s = 0,538, k = -0,018
levél hosszúság	W(168)=0,081, p<0,01		s = 0,180, k = -0,605
levél szélesség_BoxCox	W(168)=0,332, p<0,001		s = 0,003, k = -0,271
csésze szélesség	W(168)=0,367, p<0,001		s = 0,411, k = -0,955
csésze hosszúság_BoxCox	W(168)=0,128, p<0,001		s = 0,037, k = 0,769
virágok száma a száron	W(168)=0,152, p<0,001		s = 0,156, k = 0,090
szár hossz (magasság)	W(168)=0,050, p=0,2		s = 0,038, k = -0,157
külső csészepikkely hossza	W(168)=0,209, p<0,001		s = 0,177, k = 0,601
szírom hosszúság_BoxCox	W(168)=0,136, p<0,001		s = -0,311, k = 0,423
szírom szélesség_BoxCox	W(168)=0,208, p<0,001		s = -0,539, k = 0,795
<b>D_ser_insitu_exsitu_2019-2020</b>			
párna átmérő	W(143)=0,105, p<0,01		s = 0,6, k = -0,011
levél hosszúság	W(143)=0,063, p=0,200		s = 0,066, k = -0,269
levél szélesség	W(143)=0,348, p<0,001		s = 0,011, k = -0,101
csésze hosszúság	W(143)=0,112, p<0,001		s = -0,461, k = 0,510
virágok száma a száron	W(143)=0,186, p<0,001		s = 0,143, k = -0,046
szár hossz (magasság)	W(143)=0,046, p=0,200		s = 0,084, k = 0,322
külső csészepikkely hossza_BoxCox	W(143)=0,252, p<0,001		s = -0,643, k = 0,501
szírom hosszúság	W(143)=0,127, p<0,001		s = 0,193, k = 0,400
szírom szélesség_BoxCox	W(143)=0,178, p<0,001		s = -0,172, k = -0,070
<b>D_ar_D_ser_morf</b>			
párna átmérő	W(78)=0,085, p=0,200		s = 0,327, k = -0,384
párnalevél hossza	W(78)=0,071, p=0,200		s = 0,096, k = 0,097
párnalevél szélessége	W(78)=0,253, p<0,001		s = 0,080, k = -0,815
párnalevél átmérője	W(78)= 0,073, p=0,200		s = 0,091, k = -0,294
levél hosszúság_BoxCox	W(78)=0,197, p<0,001		s = -0,062, k = 0,803
levél szélesség_BoxCox	W(78)=0,294, p<0,001		s = -0,008, k = 0,051
csésze szélesség	W(78)=0,294, p<0,001		s = -0,192, k = -0,360
csésze hosszúság_BoxCox	W(78)=0,135, p<0,01	W(78)=0,972, p=0,082	s = -0,060, k = 0,391
virágok száma a száron_BoxCox	W(78)=0,200, p<0,001		s = 0,009, k = -0,963
szár hossz (magasság)	W(78)=0,111, p=0,019	W(78)=0,969, p=0,053	s = 0,459, k = -0,429
külső csészepikkely hossza	W(78)=0,178, p<0,001		s = 0,019, k = -0,511
szírom hosszúság_BoxCox	W(78)=0,137, p<0,01		s = -0,182, k = 0,845
szírom szélesség	W(78)=0,197, p<0,001		s = -0,068, k = 0,780
<b>D_ser_D_ar_nodus_ANOVA</b>			
nódusz	W(115)=0,132, p<0,001		s = -0,442, k = -0,153

D\_ser\_2018\_2020 morfológiai változók esetében BoxCox transzformációt végeztünk a levél szélesség ( $\lambda=0,2$ ), szírom hosszúság ( $\lambda=-0,7$ ), szírom szélesség ( $\lambda=0,2$ ) és a csésze hosszúság ( $\lambda=-0,2$ ) változóknál, hogy teljesüljön a normalitás. A szírom hosszúság esetében 1 kiugró (extrém) értéket, a szírom szélesség

esetében 4 kiugróértéket (1 extrém és 3 outlier), a csésze hosszúság esetében pedig 5 kiugróértéket (3 extrém és 2 outlier) is eltávolítottunk az adatok normalizálásához.

A *D\_ser\_insitu\_exsitu\_2019-2020* morfológiai változók esetében a külső csészepikkely ( $\lambda=0,8$ ) és a szírom szélesség ( $\lambda=-0,2$ ) esetében végeztünk BoxCox adattranszformálást. A külső csészepikkely érték estében 2 kiugróértéket (extrém), a szírom szélesség paraméternél is 2 kiugróérték (extrém) érték eltávolítása után tudtuk elfogadni a normalitást. A csésze szélesség értéket nem sikerült normalizálnunk, így ezt a függő változót önállóan kezeltük és keresztábra elemzéssel értékeltük. A Pearson féle Khi-négyzet próba alapján a két változó szignifikáns volt a 2019-es ( $\chi^2(3) = 33,84$ ,  $p < 0,001$ ) és a 2020-as ( $\chi^2(3) = 15,153$ ,  $p < 0,01$ ) évben is.

A *D\_ar\_D\_ser\_morf* morfológiai változók esetében 5 változónál végeztünk BoxCox transzformációt (levél hosszúság ( $\lambda=0,2$ ), levél szélesség ( $\lambda=0,1$ ), csésze hosszúság ( $\lambda=-2,1$ ), virágok száma ( $\lambda=0$ ), szírom hosszúság ( $\lambda=-0,8$ )) és két kiugróérték (extrém) eltávolítása után a szírom hossz paraméternél elfogadtuk a normalitást minden változó esetében.

*D\_ser-D\_ar\_nodus\_ANOVA* esetében a ferdeség és csúsosság  $< 1$  alapján fogadtuk el a függő változó normalitását.

2.3./2. táblázat: A kései szegfű és balti szegfű vizsgált morfológiai paramétereinek, mint függő változóknak a szóráshomogenitását a Levene teszttel ellenőriztük (Levene 1960).

Függő változó	Statisztikai próba eredménye
<i>D_ser_2018_2020_insitu</i>	
párna átmérő	F(8,159)= 2,238, p=0,027
levél hosszúság	F(8,159)= 0,678, p=0,710
levél szélesség_BoxCox	F(8,159)= 5,669, p<0,001
csésze szélesség	F(8,159)= 8,698, p<0,001
csésze hosszúság_BoxCox	F(8,159)= 2,254, p=0,026
virágok száma a száron	F(8,159)=0,703, p=0,689
szár hossz (magasság)	F(8,159)= 1,085, p=0,377
külső csészepikkely hossza	F(8,159)= 5,124, p<0,001
szírom hosszúság_BoxCox	F(8,159)= 2,596, p=0,011
szírom szélesség_BoxCox	F(8,159)= 0,601, p=0,776
<i>D_ser_insitu_exsitu_2019-2020</i>	
párna átmérő	F(7,135)=2,221, p=0,036
levél hosszúság	F(7,135)= 1,979, p=0,062
levél szélesség	F(7,135)= 4,011, p<0,01
csésze hosszúság	F(7,135)= 3,566, p<0,01
virágok száma a száron	F(7,135)= 1,921, p=0,071
szár hossz (magasság)	F(7,135)= 1,355, p=0,230
külső csészepikkely hossza_Bc	F(7,135)= 2,936, p<0,01
szírom hosszúság	F(7,135)= 1,501, p=0,172
szírom szélesség_BoxCox	F(7,135)= 1,108, p=0,362

Függő változó	Statistikai próba eredménye
<b>D_ar_D_ser_morf</b>	
párna átmérő	F(3,74)=0,922, p=0,434
párnalevél hossza	F(3,74)= 1,287, p=0,285
párnalevél szélessége	F(3,74)= 14,980, p<0,001
párnalevél átmérője	F(3,74)= 1,128, p=0,343
levél hosszúság_BoxCox	F(3,74)= 0,984, p=0,422
levél szélesség_BoxCox	F(3,74)= 0,540, p=0,656
csésze szélesség	F(3,74)= 3,407, p=0,022
csésze hosszúság_BoxCox	F(3,74)= 1,615, p=0,193
virágok száma a száron_BoxCox	F(3,74)= 2,058, p=0,113
szár hossz (magasság)	F(3,74)= 0,702, p=0,554
külső csészepikkely hossza	F(3,74)= 0,805, p=0,495
szírom hosszúság_BoxCox	F(3,74)= 0,325, p=0,807
szírom szélesség	F(3,74)= 0,158, p=0,925
<b>D_ser_D_ar_nodus_ANOVA</b>	
nódusz	F(6,108)=5,596, p<0,001

Azoknál a változóknál, ahol a szóráshomogenitást elfogadtuk, az értékcsoportok elkülönítéséhez Tukey-féle post hoc tesztet alkalmaztunk. Abban az esetben, ahol a feltétel sérült, a Games-Howell post hoc tesztet alkalmaztuk.

2.3./3. táblázat: A kései szegfű és balti szegfű állományok MANOVA vizsgálata.

	Közöljük a nem magyarázott varianciarányadot (Wilk-féle lambda), valamint annak szignifikanciáját.
függő változó	
<b>D_ser_2018_2020_insitu</b>	
intercept	0,004, p<0,001
állományazonosít	0,420, p<0,001
év_blokk	0,288, p<0,001
<b>D_ser_insitu_exsitu_2019-2020</b>	
intercept	0,005, p<0,001
állományazonosít	0,267, p<0,001
év_blokk	0,621, p<0,001
<b>D_ar_D_ser_morf</b>	
intercept	0,001, p<0,001
állományazonosít	0,158, p<0,001

2.3./4. táblázat: A kései szegfű és a balti szegfű állományok közti páronkénti összehasonlítás Tukey vagy Games-Howell post hoc teszt alapján.

A, D\_ser\_2018\_2020\_insitu

<b>Levél hossz</b>				
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Tatárszentgyörgy	52	1,9577		a
Farmos	59		2,3831	b
Szigetmonostor	57		2,5421	b
Sig.		1,000	0,409	

<b>Virágok száma/tő</b>				
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Szigetmonostor	57	3,0702		a
Tatárszentgyörgy	52	3,2500		a
Farmos	59		3,8305	b
Sig.		0,722	1,000	

<b>Virágzati szár hossza (=egyed magasság)</b>				
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Farmos	59	34,3458		a
Tatárszentgyörgy	52	36,4058		a
Szigetmonostor	57		40,2526	b
Sig.		0,349	1,000	

<b>Szirom szélesség boxcox</b>				
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Farmos	59	-0,2229		a
Szigetmonostor	57	-0,2079		a
Tatárszentgyörgy	52	-0,2022		a
Sig.		0,738		

<b>Párna átmérője</b>				
Games-Howell HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Szigetmonostor	57	36,7175		a
Tatárszentgyörgy	52	39,9827		a
Farmos	59		48,5508	b
Sig.		0,479	1,000	

<b>Csésze szélesség</b>				
Games-Howell HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Tatárszentgyörgy	52	0,3365		a
Szigetmonostor	57	0,3439		a
Farmos	59	0,3475		a
Sig.		0,499		

<b>Külső csészepikkely hossza</b>				
Games-Howell HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Szigetmonostor	57	0,7421		a
Farmos	59	0,7983		a
Tatárszentgyörgy	52	0,8019		a
Sig.		0,054		

<b>Szirom hossza Boxcox</b>				
Games-Howell HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Farmos	59	0,3229		a
Tatárszentgyörgy	52		0,4154	b
Szigetmonostor	57		0,4306	b
Sig.		1,000	0,672	

<b>Levél szélesség Boxcox</b>				
Games-Howell HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Farmos	59	-1,5847		a
Tatárszentgyörgy	52	-1,4820	-1,4820	ab
Szigetmonostor	57		-1,4419	b
Sig.		0,076	0,671	

<b>Csésze hosszúság Boxcox</b>				
Games-Howell HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Farmos	59	0,8178		a
Tatárszentgyörgy	52		0,8600	b
Szigetmonostor	57		0,8684	b
Sig.		1,000	0,819	

B, D\_ser\_2019\_2020 (*in situ* és *ex situ* populációk)

<b>Levél hosszúság</b>				
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
SBK	29	2,1621		a
Tatárszentgyörgy	40	2,1825		a
Farmos	38		2,6526	b
Szigetmonostor	36		2,9472	b
Sig.		0,999	0,194	

<b>Szirom hosszúság</b>				
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Farmos	38	1,4737		a
Tatárszentgyörgy	40		1,6225	b
SBK	29		1,6793	b
Szigetmonostor	36		1,6861	b
Sig.		1,000	0,587	

<b>Virágok száma/tő</b>				
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
SBK	29	3,1034		a
Szigetmonostor	36	3,3611	3,3611	ab
Tatárszentgyörgy	40	3,6000	3,6000	ab
Farmos	38		3,9211	b
Sig.		0,217	0,132	

<b>Virágzati szár hossza (=egyed magasság)</b>					
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>					
Állomány jelölése	N	Subset			
		1	2	3	
SBK	29	32,3966			a
Farmos	38	36,5579	36,5579		ab
Tatárszentgyörgy	40		38,1800	38,1800	bc
Szigetmonostor	36			42,4611	c
Sig.		0,120	0,821	0,104	

<b>Szirom szélesség Boxcox</b>				
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>				
Állomány jelölése	N	Subset		
		1	2	
Farmos	38	-0,2005		a
Tatárszentgyörgy	40	-0,1852	-0,1852	ab
Szigetmonostor	36	-0,1502	-0,1502	ab
SBK	29		-0,1152	b
Sig.		0,368	0,113	



<b>Csésze hossz</b>				
Állomány jelölése		N	Subset	
			1	
Games- Howell HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	38	2,4316	a
	Tatárszentgyörgy	40	2,4950	a
	Szigetmonostor	36	2,5250	a
	SBK	29	2,5517	a
	Sig.		0,281	

<b>Külső csészepikkely hossza Boxcox</b>						
Állomány jelölése		N	Subset			
			1	2	3	
Games- Howell HSD <sup>a,b,c</sup>	Szigetmonostor	36	-0,3492		a	
	Tatárszentgyörgy	40		-0,2262	b	
	Farmos	38		-0,2137	b	
	SBK	29			-0,1161	c
	Sig.		1,000	0,961	1,000	

<b>Párna átmérője</b>					
Állomány jelölése		N	Subset		
			1	2	
Games- Howell HSD <sup>abc</sup>	SBK	29	32,5241	a	
	Szigetmonostor	36	37,6889	a	
	Tatárszentgyörgy	40	41,5275	41,5275	ab
	Farmos	38		48,6421	b
	Sig.		0,099	0,264	

<b>Levél szélesség</b>					
Állomány jelölése		N	Subset		
			1		
Games- Howell HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	38	0,1684	a	
	Tatárszentgyörgy	40	0,1825	0,1825	ab
	Szigetmonostor	36	0,2000	0,2000	ab
	SBK	29		0,2034	b
	Sig.		0,052		

### C, D\_ser\_D\_ar

<b>Párna átmérője</b>					
Állomány jelölése		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Tatárszentgyörgy	19	32,0316	a	
	Fenyőfő	19	34,2579	a	
	Szigetmonostor	20	35,3950	a	
	Farmos	20		48,3900	b
	Sig.		0,868	1,000	

<b>Szirom szélesség</b>				
Állomány jelölése		N	Subset	
			1	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Tatárszentgyörgy	19	0,7368	a
	Szigetmonostor	20	0,7400	a
	Farmos	20	0,7700	a
	Fenyőfő	19	0,8368	a
	Sig.		0,122	

Csésze szélesség					
Állomány jelölése		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Fenyőfő	19	0,2947		a
	Szigetmonostor	20	0,3350	0,3350	ab
	Farmos	20		0,3550	b
	Tatárszentgyörgy	19		0,3684	b
	Sig.		0,138	0,276	

Virágzati szár hossza (=egyedmagasság)				
Állomány jelölése		N	Subset	
			1	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	20	29,7850	a
	Tatárszentgyörgy	19	31,3368	a
	Szigetmonostor	20	34,6100	a
	Fenyőfő	19	34,8316	a
	Sig.		0,214	

Külső csészepikkely hossza				
Állomány jelölése		N	Subset	
			1	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	20	0,8100	a
	Fenyőfő	19	0,8263	a
	Tatárszentgyörgy	19	0,8789	a
	Szigetmonostor	20	0,9150	a
	Sig.		0,176	

Átmérő				
Állomány jelölése		N	Subset	
			1	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Tatárszentgyörgy	19	4,4842	a
	Farmos	20	4,8600	a
	Szigetmonostor	20	5,1400	a
	Fenyőfő	19	5,4105	a
	Sig.		0,071	

Levél hossza BoxCox					
Állomány jelölése		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Tatárszentgyörgy	19	0,2209		a
	Szigetmonostor	20		0,5706	b
	Farmos	20		0,6163	b
	Fenyőfő	19		0,6248	b
	Sig.		1,000	0,975	

Levél szélesség BoxCox				
Állomány jelölése		N	Subset	
			1	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	20	-1,8610	a
	Tatárszentgyörgy	19	-1,6181	a
	Szigetmonostor	20	-1,6029	a
	Fenyőfő	19	-1,5617	a
	Sig.		0,061	

Szirom hosszúság BoxCox					
Állomány jelölése		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	20	0,3064		a
	Fenyőfő	19		0,4174	b
	Szigetmonostor	20		0,4310	b
	Tatárszentgyörgy	19		0,4405	b
	Sig.		1,000	0,892	

Csésze hosszúság Boxcox				
Állomány jelölése		N	Subset	
			1	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	20	0,4052	a
	Fenyőfő	19	0,4088	a
	Szigetmonostor	20	0,4162	a
	Tatárszentgyörgy	19	0,4174	a
	Sig.		0,100	

Virágok szám Boxcox					
Állomány jelölése		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Fenyőfő	19	0,4502		a
	Szigetmonostor	20	0,6324		a
	Tatárszentgyörgy	19	0,6870		a
	Farmos	20		1,2210	b
	Sig.		0,463	1,000	

Összes levél hossza					
Állomány jelölése		N	Subset		
			1	2	
Tukey= GH	Tatárszent-győ	19	2,1868		a
	Farmos	20	2,3940	2,3940	ab
	Szigetmonos- tor	20	2,4065	2,4065	ab
	Fenyőfő	19		2,7311	c
	Sig.		0,490	0,138	

Összes levél szélessége					
Állomány jelölése		N	Subset		
			1	2	
Tukey = GH	Farmos	20	0,1045		a
	Fenyőfő	19	0,1305	0,1305	ab
	Szigetmonostor	20		0,1470	b
	Tatárszentgyörgy	19		0,1489	b
	Sig.		0,277	0,578	

**D\_ser\_D\_ar\_nodus.** Állomány jelölések: 0 = Soroksári Botanikus Kert 1 = Tatárszentgyörgy 2 = Szigetmonostor, 3 = Farmos, 4 = Fenyőfő – Kurucerdő, 5 = Fenyőfő – Anyafás újulat, 6 = Fenyőfő – Hangosrét.

Nódusz					
Állományjelölés	N	Subset			
		1	2		
Games- Howell HSD <sup>a,b,c</sup>	4,00	10	0,0538		b
	5,00	10	0,0542		b
	6,00	20		1,2181	a
	3,00	20		1,4370	a
	1,00	20		1,4445	a
	,00	15		1,5340	a
	2,00	20		1,6075	a
	Sig.		1,000	0,065	

#### 2.4. A sárga len *in situ* és *ex situ* populációnak csírázásbiológiai vizsgálata

2.4./1. táblázat: A sárga len csírázási százalék értékének, mint függő változó reziduuumainak normalitását Kolmogorov-Smirnov vagy Shapiro-Wilk teszttel ellenőriztük. Amennyiben a teszt alapján sérült a normalitás, a ferdeség és csúsosság értékek abszolút értékei <1 alapján fogadtuk el a normalitást.

függő változó	statisztikai próba eredménye		
<i>Linum</i> csírázási%	Kolmogorov-Smirnov	Shapiro-Wilk	skewness and kurtosis
Linum_0424	W(20)= , p=	W( )=, p	s = 1,255, k = -0,049
Linum_0502	W(20)= , p=	W( )=, p	s = 0,900, k = -0,390
Linum_0507	W(20)=0,167, p= 0,145	W( )=, p	s = , k =
Linum_0516	W(20)= 0,164, p=0,166	W( )=, p	s = , k =
Linum_0528	W(20)= 0,164, p= 0,166	W( )=, p	s = , k =
Linum_0611	W(20)= 0,167, p=0,147	W( )=, p	s = , k =

2.4./2. táblázat: A sárga len csírázás százalék értékének, mint függő változónak a szóráshomogenitását a Levene teszttel ellenőriztük (Levene 1960).

Függő változó	Statisztikai próba eredménye
Linum_0424	F(3,16)=3,128, p=0,055
Linum_0502	F(3,16)=2,615, p=0,087
Linum_0507	F(3,16)=2,036, p=0,149
Linum_0516	F(3,16)=2,087, p=0,142
Linum_0528	F(3,16)=2,087, p=0,142
Linum_0611	F(3,16)=1,860, p=0,177

Azoknál a változóknál, ahol a szórás-homogenitást elfogadtuk, az értékcsoportok elkülönítéséhez Tukey-féle post hoc tesztet alkalmaztunk. Abban az esetben, ahol a feltétel sérült, a Games-Howell post hoc tesztet alkalmaztunk.

2.4./3. táblázat: A sárga len állományok közti páronkénti összehasonlítás Tukey és Games-Howell post hoc teszt alapján.

Linum_0424					
állomány		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	Érd, Szarmata	5	2,4000		a
	Pócalja	5	2,4000		a
	Érd, Kakukk-hg.	5	5,2000		a
	SBK	5		42,4000	b
	Sig.		0,873	1,000	

Linum_0502						
állomány		N	Subset			
			1	2	3	
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	Pócalja	5	2,8000			a
	Érd, Kakukk-hg.	5	8,4000	8,4000		ab
	Érd, Szarmata	5		16,4000		b
	SBK	5			43,2000	c
	Sig.		0,491	0,206	1,000	

Linum_0507						
állomány		N	Subset			
			1	2	3	
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	Pócalja	5	3,2000			a
	Érd, Kakukk-hg.	5	10,4000	10,4000		ab
	Érd, Szarmata	5		21,6000		b
	SBK	5			43,6000	c
	Sig.		0,379	0,086	1,000	

Linum_0516					
állomány		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	Pócalja	5	3,6000		a
	Érd, Kakukk-hg.	5	12,8000		a
	Érd, Szarmata	5		31,6000	b
	SBK	5		45,6000	b
	Sig.		0,395	0,104	

Linum_0528					
állomány		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	Pócalja	5	3,6000		a
	Érd, Kakukk-hg.	5	12,8000		a
	Érd, Szarmata	5		31,6000	b
	SBK	5		45,6000	b
	Sig.		0,395	0,104	

Linum_0611					
állomány		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	Pócalja	5	3,6000		a
	Érd, Kakukk-hg.	5	12,8000		a
	Érd, Szarmata	5		32,4000	b
	SBK	5		45,6000	b
	Sig.		0,381	0,125	

## 2.5. A kései szegfű *in situ* és *ex situ* populációnak csírázásbiológiai vizsgálata

2.5./1. táblázat: A kései szegfű csírázási százalék értékének, mint függő változó reziduuumainak normalitását Kolmogorov-Smirnov vagy Shapiro-Wilk teszttel ellenőriztük. Amennyiben a teszt alapján sérült a normalitás, a ferdeség és csúsosság értékek abszolút értékei <1 alapján fogadtuk el a normalitást.

függő változó	statisztikai próba eredménye		
	Kolmogorov-Smirnov	Shapiro-Wilk	skewness and kurtosis
<i>Dianthus</i> csírázási%			
d0424	W(21)= 0,191, p= 0,045	W(=), p	s = , k =
d_0502	W(21)= 0,178 , p= 0,082	W(=), p	s = , k =
d_0507	W(21)= 0,168, p= 0,126	W(=), p	s = , k =
d_0516	W(21)= , p=	W(=), p	s = -0,553, k = -1,215
d_0528	W(21)= , p=	W(=), p	s = -0,553, k = -1,215
d_0611	W(21)= , p=	W(=), p	s = -0,553, k = -1,215

2.5./2. táblázat: A kései szegfű csírázási százalék értékének, mint függő változónak a szóráshomogenitását a Levene teszttel ellenőriztük (Levene 1960).

függő változó	statisztikai próba eredménye
d0424	F(4,16)=2,396, p=0,093
d_0502	F(4,16)=1,744, p=0,190
d_0507	F(4,16)=1,195, p=0,351
d_0516	F(4,16)=1,183, p=0,356
d_0528	F(4,16)=1,183, p=0,356
d_0611	F(4,16)=1,183, p=0,356

Azoknál a változónál, ahol a szóráshomogenitást elfogadtuk, az értékcsoportok elkülönítéséhez Tukey-féle post hoc tesztet alkalmaztunk.

2.5./3. táblázat: A kései szegfű állományok közti páronkénti összehasonlítás Tukey post hoc teszt alapján.

<b>d0424</b>					
állomány		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	5	29,2000		a
	Debrecen	4	33,0000		a
	Bern	2		68,5714	b
	Szigetmonostor	5		73,6000	b
	Tatárszentgyörgy	5		75,6000	b
	Sig.		0,995	0,949	

<b>d0502</b>					
állomány		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	5	29,2000		a
	Debrecen	4	38,0000		a
	Bern	2		70,7143	b
	Szigetmonostor	5		73,6000	b
	Tatárszentgyörgy	5		75,6000	b
	Sig.		0,895	0,987	

<b>d0507</b>					
állomány		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	5	29,6000		a
	Debrecen	4	39,0000		a
	Szigetmonostor	5		73,6000	b
	Bern	2		75,0000	b
	Tatárszentgyörgy	5		75,6000	b
	Sig.		0,859	1,000	

<b>d0516</b>					
állomány		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	5	29,6000		a
	Debrecen	4	40,5000		a
	Szigetmonostor	5		81,6000	b
	Tatárszentgyörgy	5		84,8000	b
	Bern	2		94,7143	b
	Sig.		0,767	0,630	

<b>d0528</b>					
állomány		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	5	29,6000		a
	Debrecen	4	40,5000		a
	Szigetmonostor	5		81,6000	b
	Tatárszentgyörgy	5		84,8000	b
	Bern	2		94,7143	b
	Sig.		0,767	0,630	

<b>d0611</b>					
állomány		N	Subset		
			1	2	
Tukey HSD <sup>a,b,c</sup>	Farmos	5	29,6000		a
	Debrecen	4	40,5000		a
	Szigetmonostor	5		81,6000	b
	Tatárszentgyörgy	5		84,8000	b
	Bern	2		94,7143	b
	Sig.		0,767	0,630	



### M3. KIEGÉSZÍTŐ ÁBRÁK ÉS TÁBLÁZATOK

**M1. táblázat:** A sárga len *in situ* és *ex situ* állományokban 2018-ban felvett fajlisták.

Faj	Élőhely			
	SBK	Érd, Szarmata mészkő plató	Érd, Kakukk- hegy	Pócalja
<i>Achillea collina</i> J. Becker	0	0	0	1
<i>Achillea millefolium</i> L. s.str.	1	1	0	0
<i>Achillea pannonica</i> Scheele	0	0	0	1
<i>Adonis vernalis</i> L.	0	0	0	1
<i>Agrimonia eupatoria</i> L.	0	1	1	1
<i>Agropyron intermedium</i> Host	1	0	0	1
<i>Agropyron repens</i> (L.) P. B.	0	0	0	1
<i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	0	0	1	0
<i>Ambrosia artemisifolia</i> L.	0	1	0	0
<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) J. et C. Presl	1	0	0	1
<i>Asclepias syriaca</i> L.	1	0	0	0
<i>Astragalus austriacus</i> Jacq.	0	1	0	1
<i>Astragalus onobrychis</i> L.	0	1	0	1
<i>Brachypodium pinnatum</i> (L.) P. B.	0	0	1	1
<i>Briza media</i> L.	0	1	0	1
<i>Bromus erectus</i> Huds. s.str.	0	0	1	0
<i>Bromus inermis</i> Leyss.	0	0	0	1
<i>Bromus tectorum</i> L.	0	0	0	1
<i>Campanula glomerata</i> L.	0	0	0	1
<i>Campanula persicifolia</i> L.	0	0	1	1
<i>Campanula sibirica</i> L.	0	1	0	0
<i>Carex humilis</i> Leyss.	0	0	0	1
<i>Carex michelii</i> Host	0	0	0	1
<i>Carex tomentosa</i> L.	0	0	0	1
<i>Carlina vulgaris</i> L.	0	0	1	0
<i>Carum carvi</i> L.	1	0	0	0
<i>Centaurea micranthos</i> S. G. Gmel.	0	0	0	1
<i>Centaurea sadlerana</i> Janka	0	0	1	1
<i>Cerasus fruticosa</i> Pall.	0	0	1	0
<i>Cerasus mahaleb</i> (L.) Mill.	1	0	0	0
<i>Cerinth minor</i> L.	0	1	0	0
<i>Chamaecytisus austriacus</i> (L.) Link	0	0	0	1
<i>Chenopodium album</i> L.	0	1	0	0
<i>Chondrilla juncea</i> L.	1	0	0	0
<i>Chrysanthemum corymbosum</i> L.	0	0	1	1
<i>Cichorium intybus</i> L.	0	1	0	1
<i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	0	0	0	1

<i>Clematis vitalba</i> L.	0	1	1	0
<i>Coeloglossum viride</i> (L.) Hartm.	0	0	1	0
<i>Colutea arborescens</i> L.	0	0	1	0
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	0	1	0	0
<i>Cornus sanguinea</i> L.	0	1	1	0
<i>Coronilla varia</i> L.	1	1	0	0
<i>Cotoneaster niger</i> Fr.	0	0	1	0
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	0	1	1	1
<i>Dactylis glomerata</i> L. s.str.	1	1	0	1
<i>Dactylis polygama</i> Horvátovszky	0	0	1	0
<i>Dianthus ponederae</i> Kern.	0	0	0	1
<i>Dorycnium germanicum</i> (Gremli) Rikli	0	1	1	1
<i>Erysimum odoratum</i> Ehrh.	0	0	1	0
<i>Euphorbia cyparissias</i> L.	0	1	0	0
<i>Euphorbia pannonica</i> Host	0	1	1	1
<i>Falcaria vulgaris</i> Bernh.	0	0	0	1
<i>Festuca pratensis</i> Huds.	1	0	0	0
<i>Festuca rupicola</i> Heuff.	1	0	0	1
<i>Filipendula vulgaris</i> Mönch	1	1	1	1
<i>Fragaria viridis</i> Duch.	0	1	0	1
<i>Galium aparine</i> L.	0	1	0	1
<i>Galium glaucum</i> L.	0	1	0	0
<i>Galium mollugo</i> L.	0	1	0	1
<i>Galium verum</i> L.	1	1	0	1
<i>Globularia punctata</i> Lap.	0	1	0	0
<i>Helictotrichon praeustum</i> (Rchb.) Tzvelev	0	0	0	1
<i>Helictotrichon pubescens</i> (Huds.) Pilger	0	0	0	1
<i>Himantoglossum jankae</i> Somlyay, Kreutz & Óvári	0	0	0	1
<i>Hypericum elegans</i> Stephan	1	0	0	1
<i>Hypericum perforatum</i> L.	0	0	0	1
<i>Hypochoeris maculata</i> L.	0	0	1	0
<i>Inula ensifolia</i> L.	0	0	1	0
<i>Inula hirta</i> L.	0	0	1	0
<i>Knautia arvensis</i> (L.) Coult.	0	0	0	1
<i>Knautia drymeia</i> Heuff.	1	0	0	0
<i>Koeleria cristata</i> (L.) Pers. s.str.	0	0	0	1
<i>Lactuca serriola</i> L.	0	0	0	1
<i>Lathyrus tuberosus</i> L.	0	1	0	0
<i>Ligustrum vulgare</i> L.	1	1	1	0
<i>Linaria genistifolia</i> (L.) Mill.	0	1	0	0
<i>Linum tenuifolium</i> L.	0	1	1	0
<i>Lotus corniculatus</i> L.	0	1	0	1
<i>Medicago falcata</i> L.	0	0	0	1

<i>Medicago lupulina</i> L.	1	1	0	0
<i>Medicago sativa</i> L.	1	1	0	0
<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Pall.	0	1	0	0
<i>Muscari comosum</i> (L.) Mill.	0	0	0	1
<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.	0	0	1	0
<i>Ononis spinosa</i> L.	0	1	0	1
<i>Onopordum acanthium</i> L.	0	0	1	0
<i>Orchis purpurea</i> Huds.	0	0	1	0
<i>Orobanche picridis</i> F. Schultz	0	0	1	0
<i>Papaver rhoeas</i> L.	0	1	0	0
<i>Pastinaca sativa</i> L.	1	0	0	0
<i>Petrorhagia prolifera</i> (L.) Ball et Heyw.	0	1	0	0
<i>Peucedanum cervaria</i> (L.) Lap.	0	0	1	0
<i>Picris hieracioides</i> L.	1	0	0	1
<i>Pimpinella saxifraga</i> L.	0	0	0	1
<i>Pinus nigra</i> Arnold	0	1	0	0
<i>Plantago lanceolata</i> L.	1	1	0	0
<i>Plantago media</i> s.str.	0	1	0	1
<i>Poa pratensis</i> L. s.str.	0	1	0	1
<i>Polygala major</i> Jacq.	0	0	1	0
<i>Potentilla recta</i> L.	0	1	0	0
<i>Primula veris</i> L.	0	0	1	0
<i>Prunella vulgaris</i> L.	0	1	0	0
<i>Prunus spinosa</i> L.	0	0	0	1
<i>Pyrus pyraister</i> Burgsd.	0	1	0	0
<i>Quercus pubescens</i> Willd.	0	0	1	0
<i>Quercus robur</i> L.	0	1	0	0
<i>Ranunculus polyanthemos</i> L.	1	0	0	1
<i>Reseda lutea</i> L.	0	1	0	0
<i>Robinia pseudo-acacia</i> L.	0	1	1	0
<i>Rubus caesius</i> L.	1	0	0	0
<i>Salvia pratensis</i> L.	0	1	0	1
<i>Sanguisorba minor</i> Scop.	0	1	1	0
<i>Scabiosa ochroleuca</i> L.	0	1	0	0
<i>Scorzonera austriaca</i> Willd.	0	0	1	0
<i>Scorzonera hispanica</i> L.	0	0	1	0
<i>Setaria viridis</i> (L.) P. B.	0	0	0	1
<i>Silene vulgaris</i> (Mönch) Garcke	0	1	0	0
<i>Solidago canadensis</i> L.	1	1	0	0
<i>Stachys recta</i> L.	0	1	0	1
<i>Stenactis annua</i> (L.) Nees	1	1	0	0
<i>Taraxacum serotinum</i> (W. et K.) Poir.	0	0	0	1
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	1	1	0	1
<i>Thesium linophyllum</i> L.	0	0	1	1
<i>Thymus serpyllum</i> L.	0	0	0	1
<i>Torilis arvensis</i> (Huds.) Link	0	0	0	1

<i>Tragopogon orientalis</i> L.	0	1	0	1
<i>Trifolium aureum</i> Poll.	1	0	0	0
<i>Trifolium montanum</i> L.	0	0	0	1
<i>Trifolium pratense</i> L.	1	1	0	0
<i>Trifolium repens</i> L.	1	1	0	0
<i>Verbascum phoeniceum</i> L.	0	0	0	1
<i>Viburnum lantana</i> L.	0	0	1	0
<i>Vicia cracca</i> L.	0	0	1	1
<i>Vicia hirsuta</i> (L.) S. F. Gray	1	0	0	0
<i>Vitis vulpina</i> L.	1	0	0	0
<b>SZUM</b>	<b>31</b>	<b>58</b>	<b>40</b>	<b>66</b>

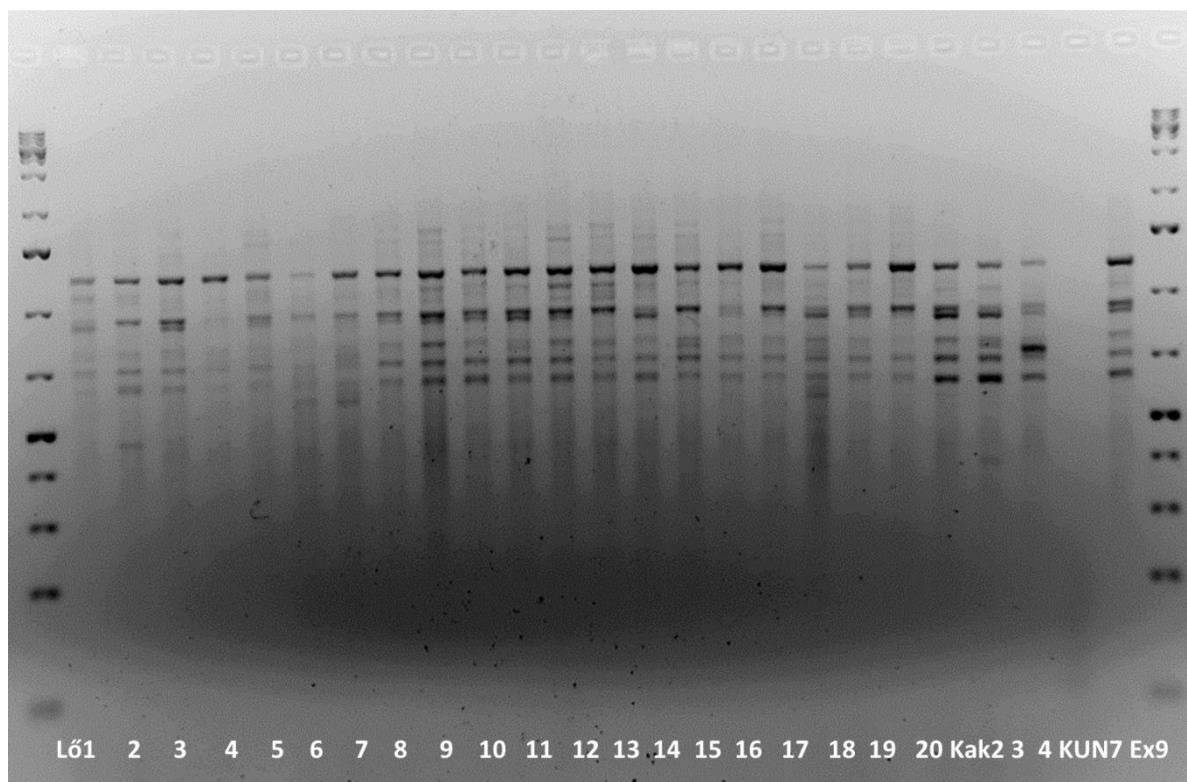






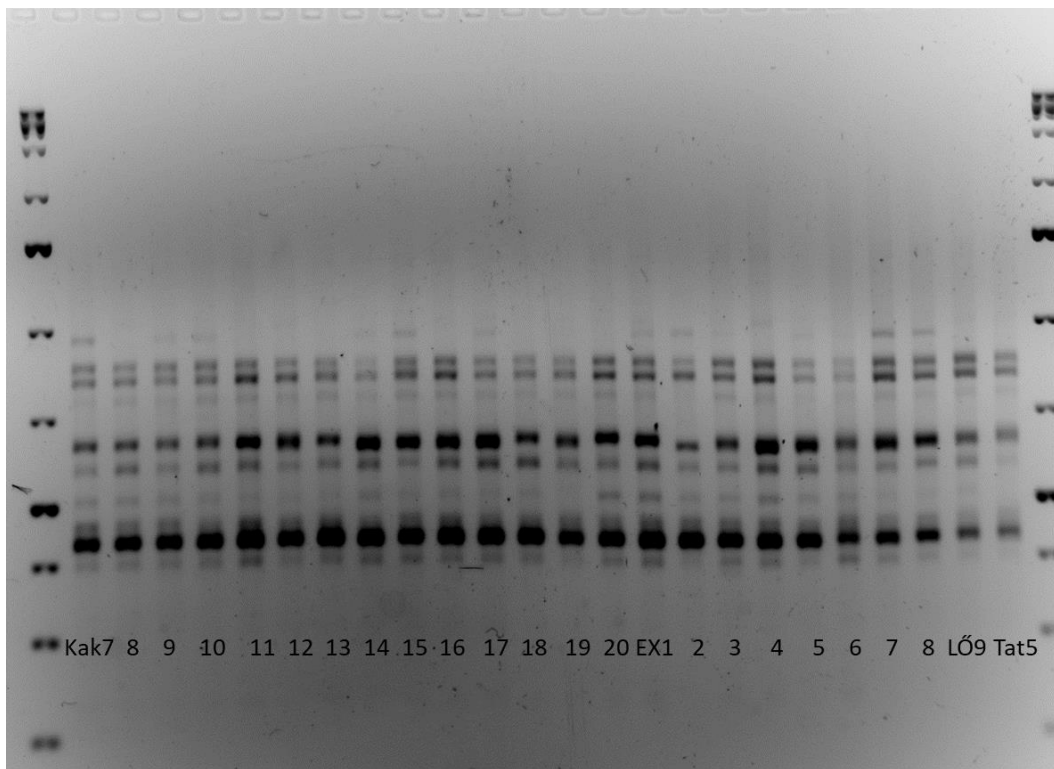
**M3. táblázat:** A *Dianthus* cpDNS primerekhez kiválasztott evolúciós modellek, primerenként összegezve.

<u>Régió</u>	<u>Evolúciós modell</u>
(P6) 5' rps12 - rpL20	GTR
(P7) rpoB - trnC <sup>GCA</sup> R	GTR+I
(P14) psbM - trnDGUC	HKY
(P15) Ycf1b	HKY
(P16) D11-380	HKY
(P17) D128500-29100	HKY
(P19) D15100-5660	GTR
(P20) D166900-67420	HKY+I
(P21) D173100-73780	GTR
(P22) D180680-81320	HKY

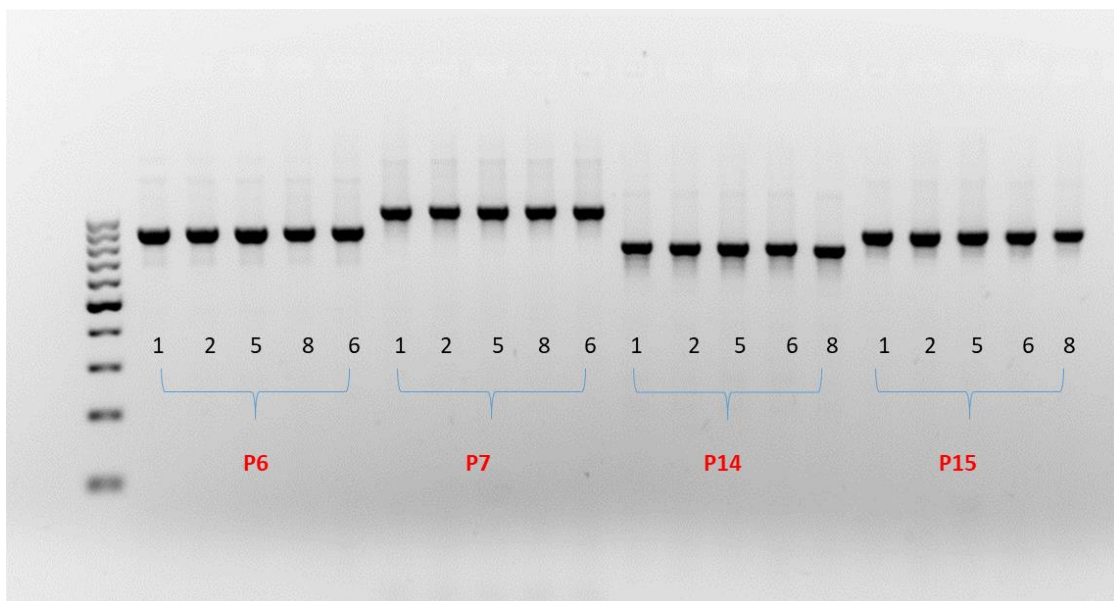


M1. ábra: Az UBC 808-as primer ISSR mintázata *Plantago maxima* mintákon.

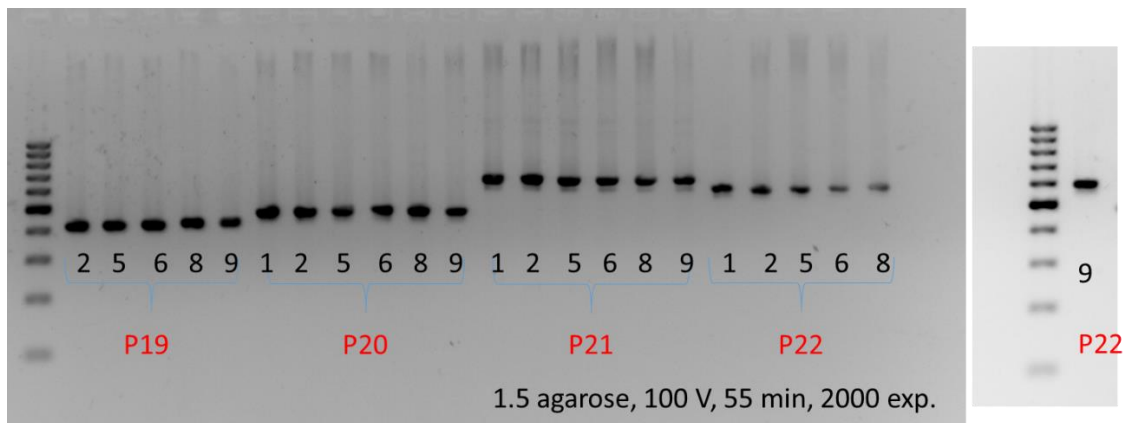
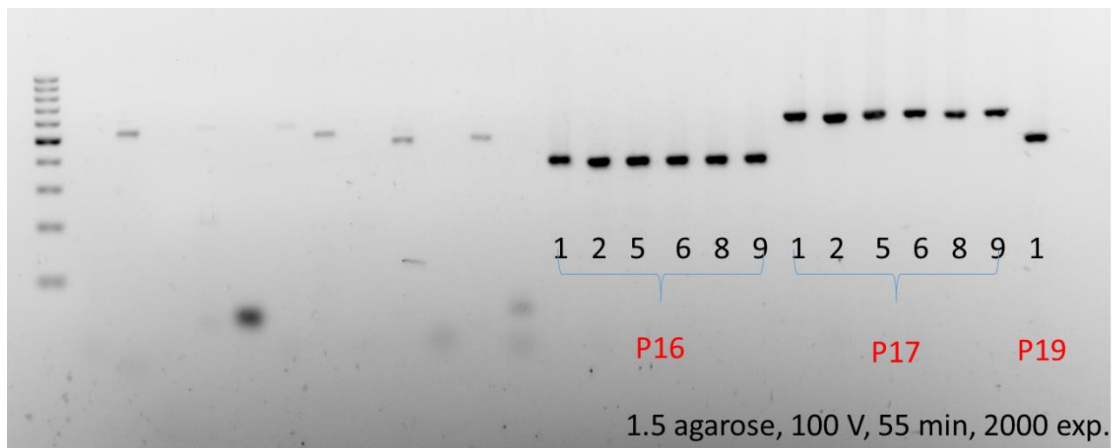




M2. ábra: Az UBC 818-as primer ISSR mintázata *Plantago maxima* mintákon.



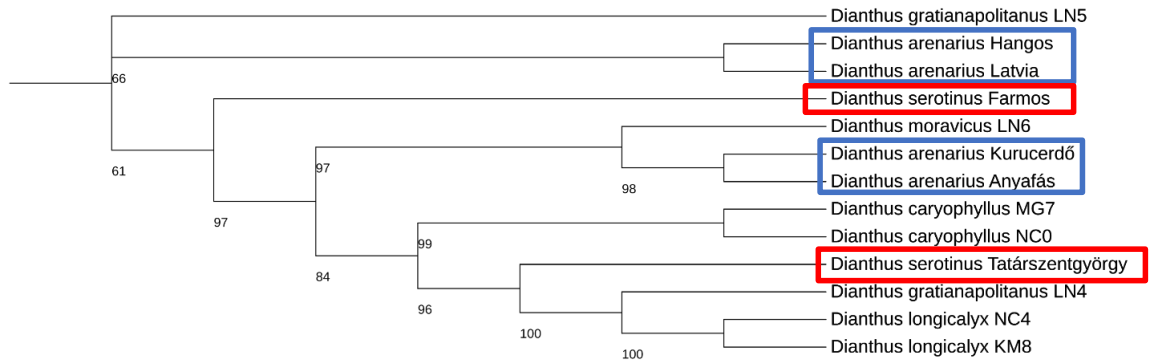
M3. ábra: A négy univerzális kloroplasztisz marker gélképe *Dianthus* mintákon.



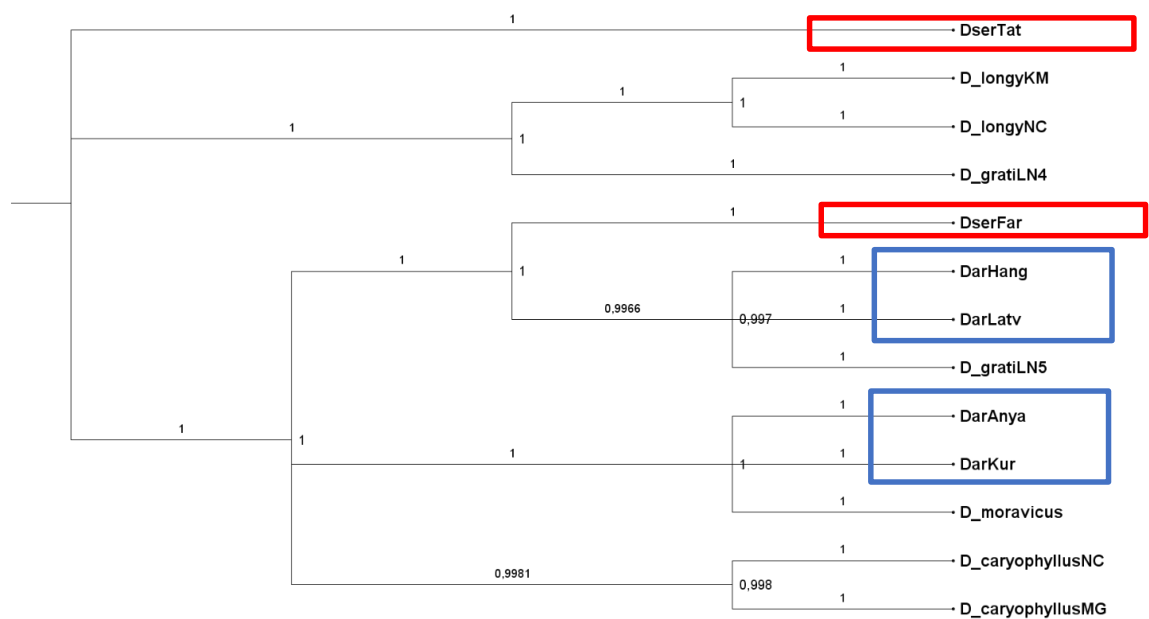
M4. ábra: A 6 új fejlesztésű kloroplasztisz marker gélképe *Dianthus* mintákon.

sel=0	222	sel=0	581
KU2	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KU2	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
KU9	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KU9	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
KU15	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KU15	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
KU25	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KU25	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
KA1	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KA1	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
KA8	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KA8	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
KA12	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KA12	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
KA18	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KA18	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
T4	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	T4	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
T9	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	T9	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
T11	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	T11	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
T19	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	T19	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
LO3	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	LO3	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
LO9	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	LO9	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
LO14	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	LO14	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
LO20	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	LO20	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
EX3	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	EX3	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
EX9	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	EX9	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
EX12	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	EX12	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
EX18	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	EX18	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
KH2	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KH2	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
KH3	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KH3	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
KH5	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KH5	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG
KH6	ATCTAAAAAAAAAAGGAAAGACGCCCGAGTCTGCATCTGAAATTTTATAG	KH6	TTTTCCTCAATTTTTTTTCAACGTAAGG

M5. ábra: Az általunk szekvenált óriás útifű minták *trnL-trnF* cpDNS régiójának illetett szekvenciái a variábilis pozíciókkal.



M6. ábra: A tíz összefűzött cpDNS régió által generált konszenzus fa maximum likelihood method alkalmazásával, primerenként értékelt evolúciós modellek használatával. A számok az ágak alatt a bootstrap értékeket mutatják (50% alatti bootstrap értékek nem kerültek megjelenítésre).



M7. ábra: Bayesian módszerrel generált konszenzus törzsfa a 10 összefűzött cpDNS régió alapján. A számok az ágakon a Bayesian utólagos valószínűségeket jelölik (posterior probabilities).

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek Dr. Höhn Máriának és Dr. Csontos Péternek. Megtisztelőnek tartom a közös munkát és hogy tanulhattam tőlük. Köszönöm az évek során belém vetett bizalmat, a közös terepi munkákat, a szakmai megbeszéléseket és a támogató szavakat, amik segítettek felülkerekedni a nehézségeken.

Köszönöm a Növénytan Tanszék és a Soroksári Botanikus Kert jelenlegi és volt munkatársainak, doktoranduszársaimnak a doktori munkám során nyújtott segítségét, a közös labormunkákat és hogy motiváltak, lelkesítettek és ösztönöztek a nehéz időszakokban is.

Szeretném köszönetemet kifejezni Dr. György Zsuzsának, aki bevezetett a molekuláris genetikai gyakorlati fogásaiba, és mindig segítő kezet nyújtott. Hálásan köszönöm Dr. Mirmazloum Imannak, hogy mindig hasznos tanácsokkal látott el a genetikai munkák kapcsán.

Köszönöm Dr. Ladányi Mártának, hogy a statisztikai analízisekhez biztos tudást adott és, hogy kérdéseimmel mindig bizalommal fordulhattam hozzá.

Hálásan köszönöm Dr. Köbölkuti Zoltán Attilának a primer tervezésben nyújtott önzetlen segítségét és bátorítását.

Köszönöm a Duna-Ipoly Nemzeti Park Igazgatóság, Kiskunsági Nemzeti Park Igazgatóság és a Balaton-felvidéki Nemzeti Park Igazgatóság minden munkatársának az engedélyezési eljárásokban, és a terepi munkákban nyújtott segítségüket. Köszönöm továbbá mindazoknak, akik növényi mintákkal láttak el a vizsgálataimhoz (Dr. Gederts Ievinsh, Dr. Papp László, Dr. Deborah Schäfer, Dr. Cservenka Judit és Sumbembayev Aidar A).

I would like to extend my sincere gratitude to Dr. Jelena Mlinarec who taught me to the art of chromosome preparation and FISH. I am deeply thankful for the time I've spent in Zagreb, without your help I could not have been able to make and present the chromosome study of my thesis.

Köszönöm az ELKH, ATK, Növényvédelmi Intézet és Talajtani Intézet munkatársainak, különösen Dr. Tóth Zoltánnak és Dr. Szili-Kovács Tibornak, hogy motiváló légkört biztosítottak számomra és támogatták doktori értekezésem elkészültét.

Őszinte szívvel köszönöm a családom és barátaim támogatását, a biztatást és az önzetlen segítséget. Hálásan köszönöm Édesanyámnak és Édesapámnak, hogy a végletekig támogatták a tanulmányaimat. Köszönöm, hogy mindig motiváltak, hogy kicsi korom óta a természet szeretetére és tiszteletére neveltetek és hogy soha nem engedték, hogy feladjam a kitűzött céljaimért való harcot. Köszönöm a férjemnek, hogy mindig támaszt nyújt számomra és bármikor számíthatok rá. Hálás vagyok végtelen türelméért, és hogy empátiával és segítőkészséggel viseltett felém a disszertáció írás során. Köszönöm újdonsült családomnak, hogy türelmesek voltak hozzám, hogy motiváltak, biztattak a disszertáció írása során.

Köszönöm az Új Nemzeti Kiválóság Program (ÚNKP-18-3 és ÚNKP-20-3-II. kódszám) támogatását. Jelen munka részben a Széchenyi 2020 program, Magyarország Kormánya és az Európai Strukturális és Beruházási Alap támogatásával (GINOP-2.3.2-15-2016-00056) valósult meg.