

***Festuca* fajok molekuláris taxonómiai vizsgálata: a *F. ovina* csoport RAPD és AP-PCR analízise**

GALLI ZSOLT–PENKSZA KÁROLY–KISS ERZSÉBET–BUCHERNA NÁNDOR–HESZKY LÁSZLÓ
Szent István Egyetem,
Gödöllő

Összefoglaló

A *Festuca* fajok rendszerezése morfológiai, szövettani és citológiai alapon történt. A fajok meghatározása és besorolása napjainkban is vitatott, ennek legfontosabb oka a taxonómiai bélyegek környezetfüggősége. Vizsgálatunk célja ezért az volt, hogy a genomiális DNS molekuláris összehasonlításával új adatokat kapjunk és válaszokat adjunk a hagyományos taxonómia által felvetett kérdésekre.

A *F. ovina* csoportba tartozó nyolc faj tizennégy tételének RAPD, AP-PCR analízissel kapott adatok klaszter és MDS analízise alapján a vizsgált fajokat három jól elkülöníthető csoportba soroltuk. Bizonyítottuk, hogy a szubmediterrán tetraploid *F. pallens* (4×) molekuláris genetikai szempontból jelentősen eltér az alhavasi diploid *F. pallens* (2×) változattól, mely jelenlegi besorolását módosíthatja. Megállapítottuk, hogy a *F. javorkae* és a *F. rupicola* molekulárisan elkülöníthető a PAL1 primer 800 bp méretű fragmentuma alapján.

Molecular taxonomic analysis of *Festuca* species: RAPD and AP-PCR analysis of the *F. ovina* group

ZS. GALLI–K. PENKSZA–E. KISS–N. BUCHERNA–L. HESZKY
Szent István University,
Gödöllő

Summary

The taxonomy of *Festuca* species is based on morphology, histology and cytology. The identification and classification of the species is still not unambiguous, due to the strong environmental dependence of these taxonomic traits. The objectives of the present analysis were to gain new data and to answer the questions raised by traditional taxonomy based on the molecular comparison of genomic DNA. The 8 species of the *F. ovina* group were classified into three well-separable groups on the basis of cluster and MDS analysis of the data obtained by RAPD and AP-PCR analysis of 114 samples (corresponding to 14 items).

It has been proved that the sub-Mediterranean tetraploid *F. pallens* (4×) differs genetically from the subalpine diploid *F. pallens* (2×), which may modify the present classification. The species *F. javorkae* and *F. rupicola* can be differentiated from each other at the molecular level based on a 800 bp fragment amplified with the PAL 1 primer.

Bevezetés

A *Festuca* nemzetség fajai nagy számban fordulnak elő a hazai természetes és kultúrflórában. Fajaik hazai természetes gyepeink állományalkotói, ezért az ösgyepeinken folytatott legeltetés miatt is nagy a gazdasági jelentőségük. A fajok pontos meghatározása több szempontból is vitatott. Taxonómiai problematikájuk alapja, hogy a morfo-

lógiai hasonlóság mellett, mely alapján a leírásuk is történt, jelentősek a mikroszisztematikai eltérések.

A *Festuca* fajok monográfia szintű összefoglalását és feldolgozását *Hackel* (1882) végezte el. Az addig leírt fajokat rendszerbe foglalva, az általa leírt új taxonokkal kiegészítve jelentette meg. Fajfelfogása, ami az egyes taxonoknak gyűjtőfajként való alkalmazását jelenti, *Horánszky* (1969) szerint nem követendő szemlélet, mert csak a különben is nehezen áttekinthető és használható nomenklatúra zűrzavart növeli, és elmosza a valóban jól körülhatárolható külön fajként való értékelést. A rendszertanilag igazán problematikus csoport taxonjai *Hackel* (1882) művében a *F. ovina* körül, és azon belül is a *F. sulcata* gyűjtőcsoportban találhatóak. A taxonok közül különösen azok érdekesek, melyeket sok szerző mint intraspecifikus taxonokat tárgyal (pl. *F. stricta*, *F. wagneri*). A lehetséges, de nem bizonyított szülőfajaik: *F. rupicola*, *F. valesiaca*, *F. pseudovina*, illetve *F. vaginata*, *F. pallens*.

A *F. ovina* csoport fajainak meghatározását továbbá az is nehezíti, hogy ezek a taxonok sokszor csak méretbeli különbségeik alapján választhatók el egymástól (*Soó* 1955, *Csányi-Kovács és Horánszky* 1973, *Horánszky* 1969, 1970, *Pils* 1985). A növények epidermisz struktúrája is meghatározó, és rendkívül fontos (*Horánszky* 1954, *Penksza és Engloner* 1999, *Penksza* 1999, 2000). A levelek szövettani felépítése a fajok elkülönítésekor használt kulcsok alapja a flóraművekben és a határozókban. A levélkeresztmetszet alapján a hazai szálassevelű fajok három csoportba sorolhatók (*Penksza* 2000). Az első csoportba a gyűrűs, a második csoportba a köteges és a harmadik csoportba az átmeneti szklerenchimázottságú formát mutató taxonok tartoznak. A köteges és az átmeneti szklerenchimázottságú formát mutató fajok meghatározása nem egyértelmű. Az átmeneti formát mutatók közé soroljuk a hibrideredetűként nyilvántartott taxonokat (pl. *F. stricta*, *F. wagneri*).

Különleges helyet foglal el a *F. javorkae*, melyet *Májovsky* (1962) írt le. A fajleírás alapján a taxon szintén átmeneti formát mutat. A típuspéldányok alapján *Penksza* (1999) pontosította a fajleírást, miszerint 3-5 szklerenchimával rendelkező taxonról van szó, amely megjelenésében nagyon hasonlít a *F. rupicola* elsősorban vastagabb típusú példányaira.

A fajok kromoszomális feldolgozásával is több munka foglalkozott (*Baksay* 1957, *Pils* 1985, *Horánszky et al.* 1971). A terepi és tenyészkeri állomásokon is végeztek populáció szintű citológiai vizsgálatokat (*Csányi-Kovács és Horánszky* 1973, *Horánszky et al.* 1980). *Horánszky* (1969) arra vonatkozóan is végzett vizsgálatot, hogy mi az a megfelelő egyedszám, mely herbáriumi példányokon végzett összehasonlító értékelés esetén megfelelő eredményt adhat. *Horánszky* (1969), *Csányi-Kovács és Horánszky* (1973) amellett, hogy a lokalizált mintavételre is felhívta a figyelmet, több egymáshoz közel élő faj morfológiai összehasonlítását is elvégezte a buga bélyegei alapján. *Horánszky* (1992) szerint a morfológiai, szöveti sajátosságuk a környezeti tényezők függvényében jelentős eltérést mutathatnak.

Molekuláris vizsgálati eredmények elsősorban a természetbe vont *Festuca* fajokra állnak rendelkezésre. RFLP markerek alapján genetikai kapcsoltsági térképet készítettek a *F. arundinacea* fajra (*Xu et al.* 1991, 1995; *Xu és Sleper* 1994) és bizonyították, hogy a *F. arundinacea* 'P' genomja a *F. pratensis*-ből származik (*Chen et al.* 1998). *Charmet*

et al. (1997) nyolc *Lolium* és tizenegy *Festuca* faj RAPD, RFLP és ITS analizisét végezte el, de a legrészletesebben a *Lolium/Festuca* genomok komplex filogenetikai kapcsolatát vizsgálták (Perez-Vicente et al. 1992, Stammers et al. 1995, Wiesner et al. 1995, Siffelova et al. 1997a, 1997b).

A molekuláris genetikai módszerek alkalmazásával a környezeti tényezők hatása eliminálható. A racionális megközelítést tehát a DNS alapú markerek jelenthetik, a fajok azonossága vagy különbözősége a genetikai távolságok, a genomialis eltéréseik alapján meghatározható.

Ehhez azonban első lépésben az adott nemzetséget alkotó fajokra jó polimorfizmust adó DNS markereket kell keresni, majd a második lépésben ezeket kell felhasználni a fajok genetikai azonosságának vagy különbözőségének meghatározására. Vizsgálataink során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a morfológiai, szövettani, citológiai alapon leírt fajok molekuláris szinten megkülönböztethetők-e egymástól.

Kísérletünkben ezért PCR alapú RAPD és AP-PCR primereket teszteltünk a *Festuca ovina* csoport fajain: *F. wagneri*, *F. vaginata*, *F. valesiaca*, *F. pseudovina*, *F. rupicola*, *F. javorkae*, *F. pallens*, *F. stricta*. Vizsgálataink célja az volt, hogy az összehasonlító molekuláris polimorfizmussal új adatokat kapjunk és esetleg új válaszokat adjunk a hagyományos taxonómia által felvetett kérdésekre.

Anyag és módszer

Növényanyag

A *F. ovina* csoportba tartozó fajokból különböző élőhelyekről több év alatt gyűjtött és a SZIE Növénytani és Növényélettani Tanszékének botanikus kertjében (Gödöllő) elültetett fajok töveiből összesen 114-et vizsgáltunk. A bizonytalan besorolású fajok esetében a fajok *locus classicus*-áról gyűjtött példányokat is vizsgáltuk. A *F. rupicola* vizsgálatokor külön választottuk a vékonyabb és a vastagabb levelű fajokat. A *F. javorkae* faj levélvastagsága a *F. rupicola* vastagabb levelű tartományába esik. A *F. pallens* faj ploid-szintjét a határozók különbözőnek írják le. Ezért eltérő termőhelyről származó példányokat gyűjtöttünk.

A vizsgált egyedek a következők voltak (zárójelben jelöltük a gyűjtési helyet és a felhasznált tövek számát.):

- 1: *F. wagneri* (Degen Thaisz et Flatt) in Degen Thaisz et Flatt (Deliblát – *locus classicus* – 20 db)
- 2: *F. wagneri* (Degen Thaisz et Flatt) in Degen Thaisz et Flatt (magyar keverék: Örkény, Imrehegy, Domonyvölgy – 10 db)
- 3: *F. vaginata* W. et K. ex Willd. (magyar keverék: Imrehegy, Domonyvölgy – 18 db)
- 4: *F. valesiaca* Schleicher ex Gaudin (Gerecse – 9 db)
- 5: *F. pseudovina* Hackel (Farnos – 16 db)
- 6: *F. rupicola* Heuffel (Deliblát – 9 db)
- 7: *F. rupicola* Heuffel (Herkulesfürdő – *locus classicus* – vastag levelű – 7 db)
- 8: *F. rupicola* Heuffel (Herkulesfürdő – *locus classicus* – vékony levelű – 7 db)

- 9: *F. javorkae* Májovsky (Szlovákia – *locus classicus* – 4 db)
- 10: *F. pallens* Host (Szarvaskő – 4 db)
- 11: *F. pallens* Host (a *F. stricta locus classicus*-áról – 4 db)
- 12: *F. pallens* Host (Budai-hegység – 1 db)
- 13: *F. stricta* Host (Baden - *locus classicus* – 3 db)
- 14: *F. stricta* Host (München – 2 db).

DNS izolálás

Fiatal levelekből 140–160 mg-ot apróra vágunk, majd folyékony nitrogénben elporítottuk; ezt követően 250 ml EB pufferrel (100 mM Tris-HCl pH: 8.0, 50 mM EDTA, 500 mM NaCl), 120 ml 10 %-os SDS-sel és 5 ml proteináz K-val (10 mg/ml) a mintákat összekevertük. 10 perces 65 °C-on történő inkubálást követően 6 ml (10 mg/ml) RN-áz hozzáadása után a mintákat öt percig szobahőmérsékleten tartottuk. 350 ml 5M K-acetát (pH-érték: 5.3) hozzáadása után a mintákat összekevertük, majd húsz percre jégfürdőbe helyeztük. Húszperces, 4 °C-on történő centrifugálás után a felülúszóhoz 1/10 térfogat 3M Na-acetátot és kétszeres térfogat 96%-os etilalkoholt adtunk, öt percig szobahőmérsékleten inkubáltuk. A DNS-t 70%-os etilalkoholban mostuk. Ezt követően egy éjszakán át szárítottuk, majd 350 ml TE₁ (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA) pufferben oldottuk fel. A DNS minőségét 0.8%-os agaróz gélen vizsgáltuk.

PCR körülmények

A PCR reakciókat 25 ml végtérfogatban Bio-Rad ICycler készülékben végeztük. Egy-egy reakcióelegy a következő összetevőket tartalmazta: 10–20 ng templát DNS, 6 pM RAPD illetve AP-PCR vagy 2×3 pM mikroszatellit vagy génspecifikus primer-pár, 1× reakció puffer, 2 mM MgCl₂, 75 mM dNTP és 1.2 Unit Red-Taq DNS polimeráz. A reakciókörülmények a következők voltak: Kétperces, 94 °C-os előciklus után tíz másodperc, 94 °C, harminc másodperc, 36 °C RAPD, illetve 44 °C AP-PCR esetén és egy perc, 72 °C lépések következtek negyvenszer ismételve, majd a folyamat kétperces, 72 °C-on történő utópolimerizációval zárult. A mintákat 1.2%-os, Et-Br-dal vagy Sybr Gold festékkel festett agaróz gélen futtattuk 10 V/cm-es feszültséggel, majd a mintázatokat 313 nm-es UV-fényben polaroid kamerával fényképeztük le.

A kísérletekben összesen 47 RAPD és 19 AP-PCR primert használtunk fel, melyek közül az alábbi 14 adott polimorf mintázatot: OPA 02, OPA 09, OPA 11, OPA 13, OPK 02, PAL 1, PAL 2, OPAI 21, E 6, E 8, E 9, E 13, WMS 410 b, WMS 5 b. A növényanyagon egy gliadin specifikus primerpárt is teszteltünk: Gliadin R1, Gliadin F2.

A mintázatok kiértékelése

A gélelektroforézissel kapott fragmentumokat binárisan kódoltuk és a kiértékelésnél minden sávot figyelembe vettünk. Az SPSS 8.0 statisztikai programmal a Jaccard index alapján klaszter analízist készítettünk. A páronkénti összehasonlítással kapott egyezési koefficienseket félmátrix táblázat tartalmazza. Elkészítettük a fajok többdimenziós MDS (Multi-dimensional analysis) analízisét is, ami a genotípusok közötti hasonlóság/különbség bemutatását egy, két- vagy háromdimenziós eukleidészi térben teszi lehetővé.

Ploidszint-meghatározás

A *F. pallens* pontos ploidfokát PARTEC I típusú flow citométerrel határoztuk meg. A sejtmagok izolálása céljából a növények leveleit pengével feldaraboltuk, majd Dolezel pufferben szuszpendáltuk. A szuszpenziót membrán szűrőn (Cell Trics/TM szűrő) szűrtük, majd a sejtmagokat DAPI (4,6-Diamidino-2-phenylindole) festékkel festettük.

Eredmények

Egy fajból több élőhelyről származó mintákat használtunk, ezért élőhelyenként csoportokat (pool-okat) képeztünk, mivel a fajon belüli egyedszintű molekuláris polimorfizmus várhatóan jelentős. A *Festuca* fajok RAPD analizisét összesen negyvenhét primerrel végeztük el. Ezek közül hat nem működött, harminchárom pedig vagy monomorf, vagy jelenlegi elválasztási technikáinkkal értékelhetetlen mintázatot eredményezett. A 19 AP-PCR-hez kipróbált primer közül tizenkettő működött megfelelően, melyek közül hat szerepel a kiértékelésben. A tizennégy polimorf és értékelhető mintázatot eredményező primer száztizenegy darab fragmentumának bináris kódjai szolgálták a klaszteranalízis alapjául (1/A ábra).

A dendrogram (1/A ábra) és MDS analízis (1/B ábra) alapján megállapítható, hogy a legnagyobb genetikai távolságot a *F. stricta locus classicus*-áról származó *F. pallens* és a *F. valesiaca* között kaptuk. A *F. rupicola* morfológiailag eltérő csoportjai viszont 90%-ot meghaladó genetikai azonosságot mutattak. Figyelemre méltó ezzel szemben, hogy több szerző által azonos fajba sorolt *F. javorkae* csak 82–87%-os homológiát mutat a *F. rupicolával*. Szembetűnő még a *F. rupicola* és *F. valesiaca* közötti 80%-ot meghaladó homológia. A többi faj ennél nagyobb mértékben, 30–50% között tér el egymástól.

A 1/B. ábra alapján a fajok három olyan csoportba sorolhatóak, ahol csoporton belül a fajok közötti homológia a 70%-ot meghaladja:

Az első csoportba tartozik a *F. wagneri* delibláti gyűjtése és magyar keveréke, valamint a Budai-hegység déli lejtőin gyűjtött *F. pallens*. Ez utóbbiról flow citométeres vizsgálattal bizonyítottuk (2/B ábra), hogy szubmediterrán tetraploid, szemben a Szarvaskő melletti szurdokvölgy alsó részéről begyűjtött alhavasi diploid tövekkel (2/A ábra). Ez a vizsgálati eredmény, valamint a többi *F. pallens* fajtól való nagyfokú genetikai különbözőség alapján tetraploid *F. pallens* különálló taxonnak tekinthető.

A második csoportba a másik két vizsgált diploid *F. pallens*, valamint *F. vaginata* fajok tartoznak. Jól megfigyelhető, hogy a tetraploid *F. pallens* genetikailag távol helyezkedik el ezektől a fajoktól (3/A ábra).

A harmadik csoportba sorolható az összes többi vizsgált faj. A *F. rupicola* morfológiailag eltérő típusai rendkívül közel helyezkednek el egymáshoz. A PAL1 primer 800 bp méretű fragmentuma alapján a *F. javorkae* egyértelműen elkülöníthető ettől a csoporttól (3/B ábra).

A taxonómiai vizsgálatokban értékesebb eredményt szolgáltatnak a mikroszatellit szekvenciákra tervezett, valamint a génspecifikus primerpárok mintázatai. Ezek egyszerű sávmintázatot adnak, kodominánsan öröklődnek, polimorfok és a genomban egyenletesen oszlanak el. Ehhez azonban a pontos szekvenciák ismerete szükséges, melyek a

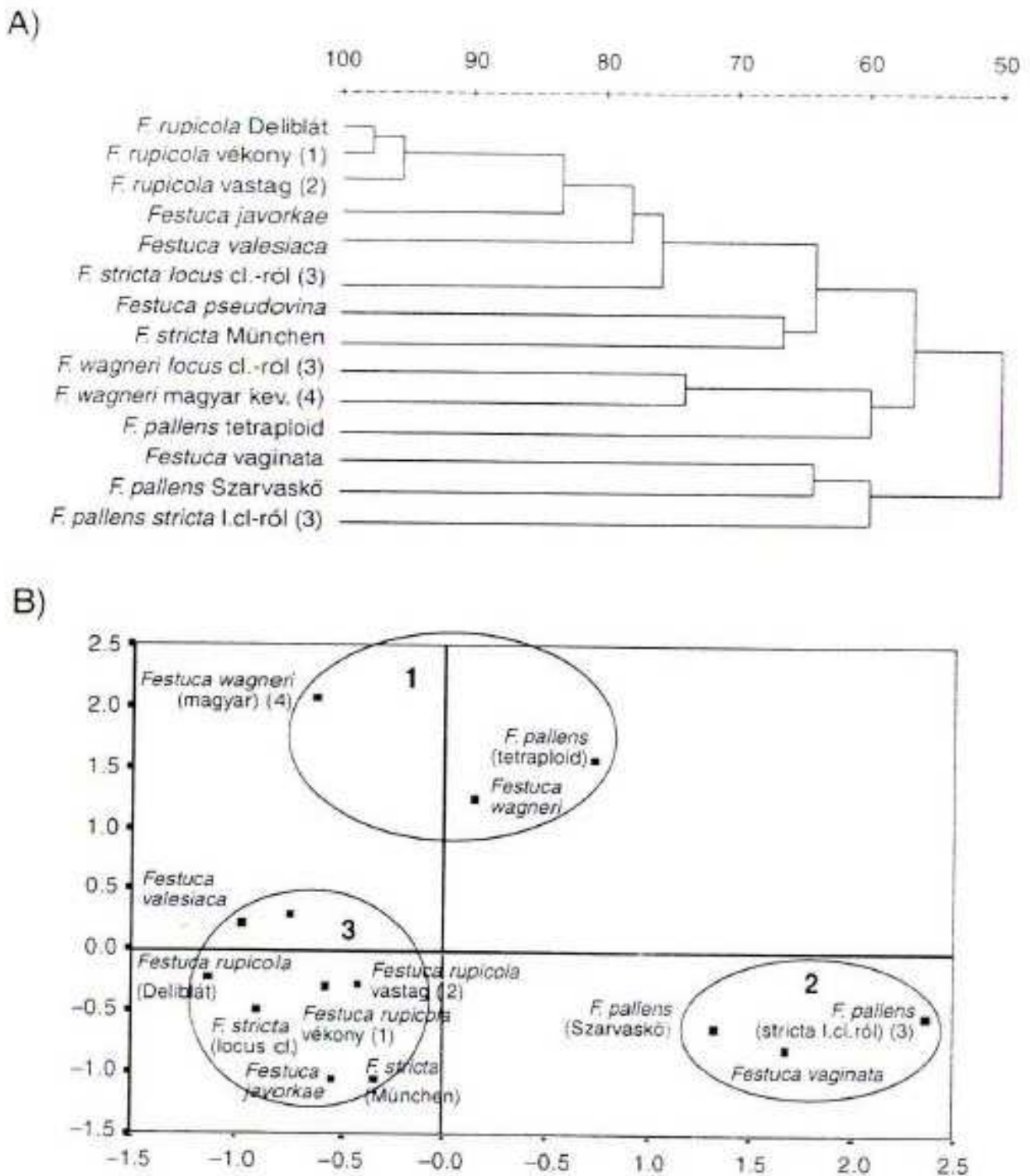
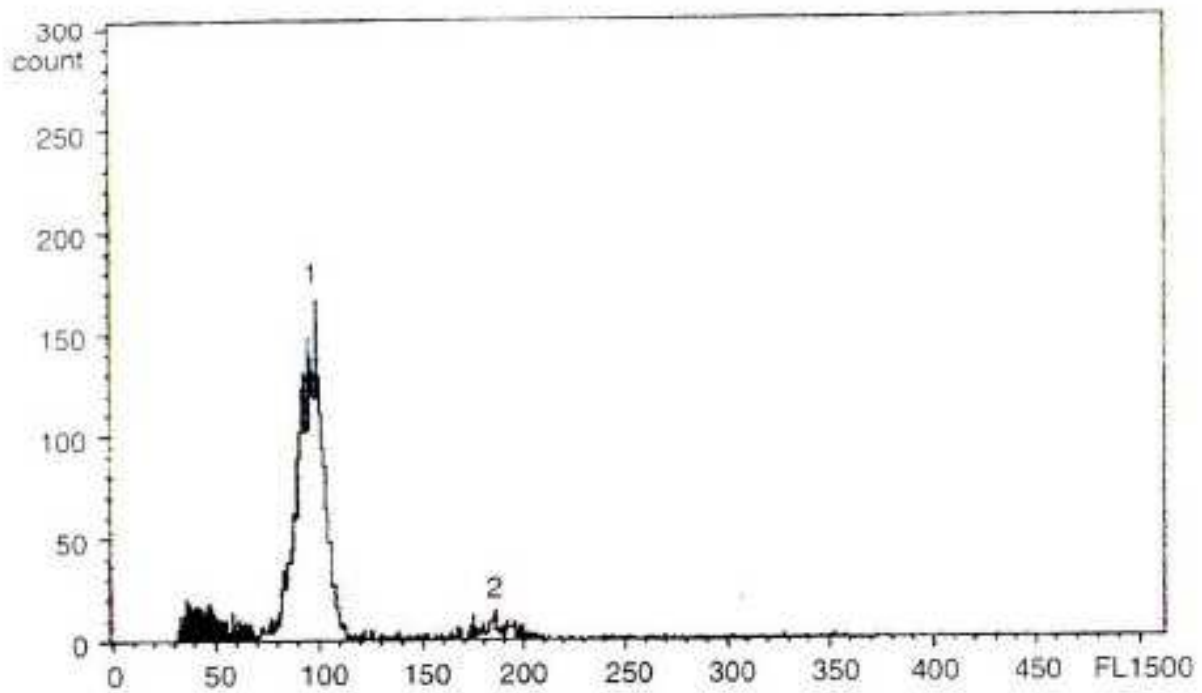
1. ábra. Különböző *Festuca* fajok és típusok dendrogramja (A) és többdimenziós MDS analízise (B)

Figure 1. Dendrogram (A) and multidimensional MDS analysis (B) of different *Festuca* species. (1) Thin-leaved, (2) Thick-leaved, (3) From the locus classicus, (4) Hungarian mixture.

Festuca fajok esetében génbankokban nagyon korlátozottan állnak rendelkezésünkre. Ezért első lépésben a búza genomjára tervezett primereket próbáltuk adaptálni, de a búzában mikroszatellit régiókat határoló szekvenciákra tervezett primer-párok a *Festuca* genomban nem működtek. A párok tagjai külön-külön AP-PCR-hez viszont felhasználhatónak bizonyultak.

2. ábra: *A. Szarvaskőn (A) és a Budai-hegységben (B) gyűjtött F. pallens tövek DNS mennyisége*

A)



B)

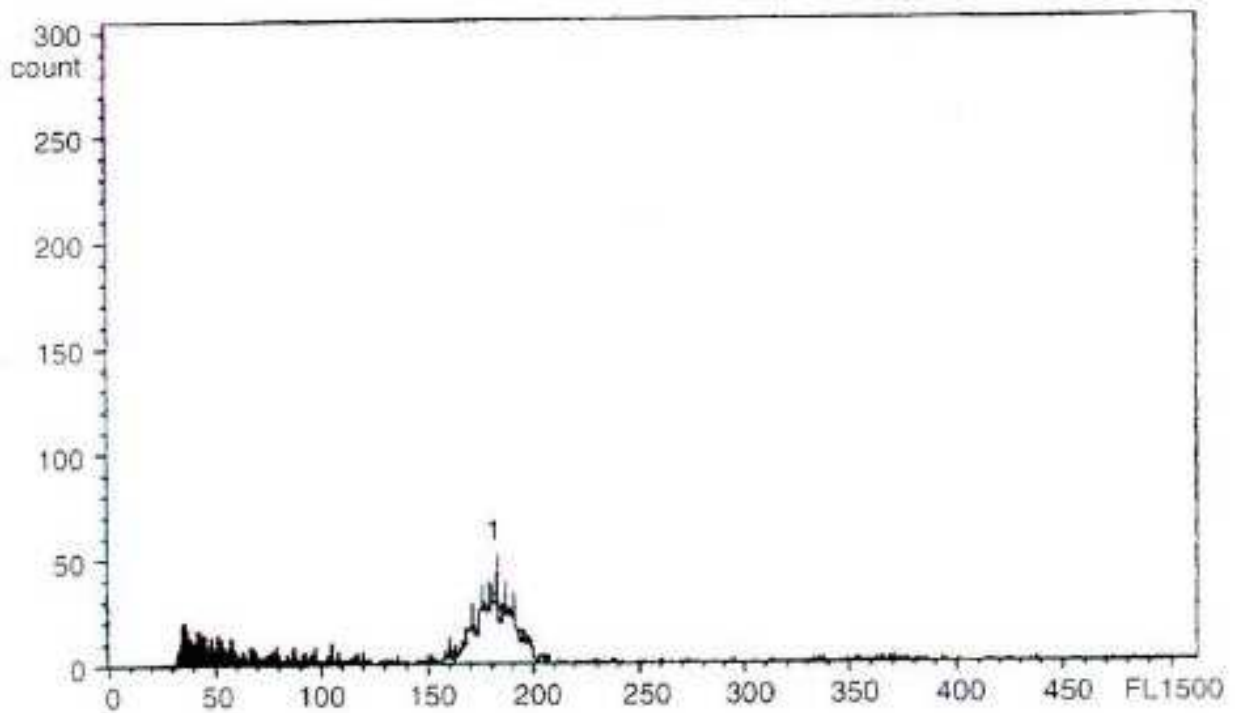


Figure 2. DNA content of *F. pallens* stocks collected at Szarvaskő (A) and in the Buda Hills (B)

Egy pszeudogénre tervezett gliadin-specifikus primerpár polimorf mintázatot eredményezett. A búzától eltérően több fragmentumot kaptunk, ami feltehetően a gén multi-allelikus tulajdonságára utal (3/C ábra).

3. ábra. Különböző *Festuca* fajok AP-PCR (A), RAPD (B) és gliadin-specifikus (C) primerekkel kapott mintázatai

- A: E6-os primerrel kapott mintázatok; *F. pallens* tetraploid (12. minta), *F. pallens* diploid (10. minta)
 B: PAL1 primerrel kapott mintázatok; *F. rupicola* (6–8. minta), *F. javorkae* (9. minta); a 800 bp méretű fragmentumot nyíl jelöli.
 C: GLY R₁/F₂ primerrel kapott mintázatok; *Festuca* tőtelek (1–14. minta), *T. aestivum* (15. minta)
 M: molekulatömeg marker: Fermentas 100 bp (3000–100 bp); 1: *F. wagneri* (locus classicus), 2: *F. wagneri* (magyar keverék), 3: *F. vaginata*, 4: *F. valesiaca*, 5: *F. pseudovina*, 6: *F. rupicola* (Deliblat), 7: *F. rupicola* (Herkulesfürdő, vastag levelű), 8: *F. rupicola* (Herkulesfürdő, vékony levelű), 9: *F. javorkae*, 10: *F. pallens* (Szarvaskő), 11: *F. pallens* (a *F. stricta* locus classicus-ától), 12: *F. pallens* (Budai-hegység), 13: *F. stricta* (locus classicus), 14: *F. stricta* (München), 15: *Triticum aestivum*.

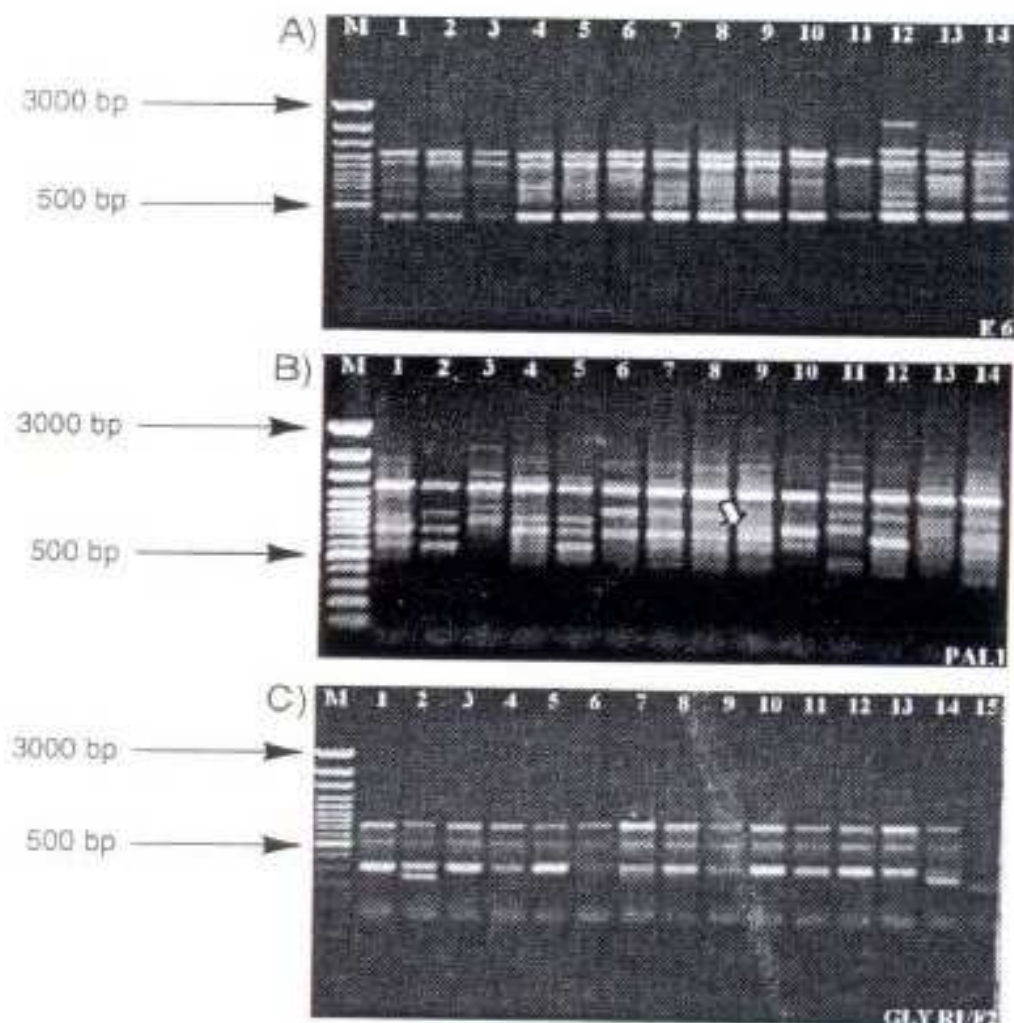


Figure 3. PCR pattern of *Festuca* species obtained by AP-PCR (A), RAPD (B) and gene-specific (C) primers.
 A: Amplification pattern obtained with E6 primer, *F. pallens* tetraploid (sample 12), *F. pallens* diploid (sample 10).
 B: PAL1 amplification products; *F. rupicola* (samples 6–8), *F. javorkae* (samples 9). Arrow indicates the 800 pb fragment.
 C: Amplification pattern obtained with gene specific primers Gly R₁/F₂ primer; *Festuca* samples (lanes 1–14), *Triticum aestivum* (lane 15).
 M: DNA molecular weight marker (Fermentas 100 bp DNA ladder 3000–100 bp)
 1: *F. wagneri* (locus classicus), 2: *F. wagneri* (Hungarian mixture), 3: *F. vaginata*, 4: *F. valesiaca*, 5: *F. pseudovina*, 6: *F. rupicola* (thick-leaved from Herkulesfürdő), 8: *F. rupicola* (thin-leaved from Herkulesfürdő), 9: *F. javorkae*, 10: *F. pallens* (Szarvaskő), 11: *F. pallens* (from the locus classicus of *F. stricta*), 12: *F. pallens* (Buda Hills), 13: *F. stricta* (locus classicus), 14: *F. stricta* (München), 15: *Triticum aestivum*.

Következtetések

Az általunk használt molekuláris módszerek alkalmasnak bizonyultak a *Festuca* nemzetség kísérletünkbe vont fajai és genotípusai megkülönböztethetőségének, illetve azonosságának előzetes vizsgálatára.

A *F. rupicola* egyedek, az általunk levélméret alapján történő szétválasztástól függetlenül, molekulárisan egységes fajt alkotnak.

A szubmediterrán tetraploid *F. pallens* (4×) molekuláris genetikai szempontból jelentősen eltér az alhavasi diploid *F. pallens* (2×) változattól, mely jelenlegi taxonómiai besorolását módosíthatja.

A *F. javorkae*, bár meglehetősen közel áll a *F. rupicola* egyedeihez, morfológia sajátosságaiban is hasonló, molekulárisan mégis elkülöníthető a PAL1 primer 800 bp méretű fragmentuma alapján. Tehát Májovszky (1962) munkássága és a típuspéldányok szövettani besorolása (Penksza 1999) alapján gyűjtött egyedek molekuláris szinten is stabilan megkülönböztethetők. Előzetesen azt lehet feltételezni, hogy a *F. javorkae* aszimmetrikus hibrid, mert a 800 bp méretű fragmentum a *F. vaginata* egyedeiben is megtalálható (3/B ábra).

Eredményeink szerint a *F. wagneri* más csoportba került, mint azok a *Festuca* fajok, amelyekről feltételezetten származik (1. ábra).

Az elért eredmények sikeres kezdeti lépéseknek tekinthetők, melyek jó segítséget nyújtanak a későbbi még részletesebb (bizonyító erejű) molekuláris taxonómiai vizsgálatok, illetve következtetések levonásához.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat az FKFP 380/2000, valamint az OTKA T 034238 pályázat támogatta.

IRODALOM

- Baksay, L.: 1957. The Chromosome Numbers and Cytotaxonomical Relations of Some European Plant Species. *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici*, VIII. 169–174.
- Charmet, G.–Ravel, C.–Balfourier F.: 1997. Phylogenetic analysis in the *Festuca-Lolium* complex using molecular markers and ITS rDNA. *Theor. Appl. Genet.*, 94: 1038–1046.
- Chen, C.–Sleper, D. A.–Johal, G. S.: 1998. Comparative RFLP mapping of meadow and tall fescue. *Theor. Appl. Genet.*, 97: 255–260.
- Csányi–Kovács, Cs.–Horánszky, A.: 1973. Charakterisierung der *Festuca* Populationen aufgrund der Merkmale der Rispe. – *Ann. Univ. Sci. Budapest Sect. Biol.*, 15: 59–74.
- Hackel, E.: 1882. *Monographia Festucarum Europaeorum*. Kassel, Berlin: Theodor Fischer.
- Horánszky, A.: 1954. Die Kenntnis der *Festuca*-Arten auf Grund der Blattepidermis. – *Acta Bot. Acad. Sci. Hung.*, 1: 61–87.
- Horánszky A.: 1969. *Festuca*-tanulmányok I. – *Bot. Közlem.*, 56: 149–154.
- Horánszky A.: 1970. *Festuca*-tanulmányok II. – *Bot. Közlem.*, 57: 207–215.
- Horánszky A.: 1992. A *Festuca* nemzetség. In Simon T. (ed) A magyarországi edényes flóra határozója. 736–741.
- Horánszky, A.–Fekete, G.–Précsényi, I.–Tölgyesi, Gy.: 1980. Comparative experimental morphological investigations on populations of *Festuca vaginata* W. et K., I. *Acta Bot. Acad. Sci. Hung.*, 26: 61–69.

- Horánszky, A.–Jankó, B.–Vida, G.: 1971. Zur Biosystematik der *Festuca ovina*-Gruppe in Ungarn. – Ann. Univ. Sci. Budapest, Sect. Biol., 13: 95–101.
- Májovský, J.: 1962. Adnotationes ad species gen. *Festuca* florae Slovaekiae additamentum I. – Acta Fac. Rer. Nat. Univ. Comen., 7: 317–335.
- Penksza, K.: 1999. Die Koerrektur der histologischen Beschreibung von *Festuca javorkae* von Májovszky im Jahre 1962, und Angaben zum Vorkommen der Art in Ungarn. – Ber. Inst. Landschafts-Pflanzenökologie Univ. Hohenheim, 10: 49–54.
- Penksza, K.: 2000. A *Festuca javorkae* Májovszky és a *Festuca wagneri* Degen Thaisz et Flatt jellemzése, és a tölevelek morfológiája alapján készült szálaslevelű *Festuca* fajok (*Festuca ovina* csoport) határozókulcsa. (Kiegészítések Magyarország edényes flórájának határozójához) Kivitelia, 5: 275–278.
- Penksza, K.–Englmer, A.: 1999. Taxonomic study of *Festuca wagneri* (Degen Thaisz et Flatt) in Degen Thaisz et Flatt, 1905. – Acta Bot. Sci. Hung., 42: 257–264.
- Perez-Vicente, R.–Petris, L.–Osusky, M.–Potrykus, I.–Spangenberg, G.: 1992. Molecular and cytogenetic characterization of repetitive DNA sequences from *Lolium* and *Festuca*: applications in the analysis of *Festulolium* hybrids. Theor. Appl. Genet., 84: 145–154.
- Pils, G.: 1985. Systematik, Karyologie und Verbreitung der *Festuca valesiaca*-Gruppe (Poaceae) in Österreich und Südtirol. – Phytol., 24: 35–77.
- Siffelová, G.–Pavelková, M.–Klabouchová, A.–Wiesner, I.–Nasinec, V.: 1997a. Computer-aided RAPD fingerprinting of accessions from the ryegrass-fescue complex. J. Agricult. Sci., 129: 257–265.
- Siffelová, G.–Pavelková, M.–Klabouchová, A.–Wiesner, I.–Nasinec, V.–Nasinec, I.: 1997b. RAPD fingerprinting of diploid *Lolium perenne* x hexaploid *Festuca arundinacea* hybrid genomes. Biologia Plantarum, 40: 183–192.
- Soó, R.: 1955. *Festuca* Studien. – Acta Bot. Acad. Sci. Hung., 2: 187–221.
- Stammers, M.–Harris, J.–Evans, G. M.–Hayward, M. D.–Forster, J. W.: 1995. Use of random PCR (RAPD) technology to analyse phylogenetic relationships in the *Lolium/Festuca* complex. Heredity, 74: 19–27.
- Wiesner, I.–Samec, P.–Nasinec, V.: 1995. Identification and relationships of cultivated accessions from *Lolium-Festuca* complex based on RAPD fingerprinting. Biologia Plantarum, 37: 185–195.
- Xu, W. W.–Sleper, D. A.: 1994. Phylogeny of tall fescue and related species using RFLPs. Theor. Appl. Genet., 88: 685–690.
- Xu, W. W.–Sleper, D. A.–Chao, S.: 1995. Genome mapping of polyploid tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) with RFLP markers. Theor. Appl. Genet., 91: 947–955.
- Xu, W. W.–Sleper, D. A.–Hoisington, D. A.: 1991. A survey of restriction fragment length polymorphisms in tall fescue and its relatives. Genome, 34: 686–692.

Érkezett: 2001. 07. 16.

A szerzők levélcíme–Address of the authors:

Galli Zsolt–Dr. Kiss Erzsébet–Dr. Bucherna Nándor–Dr. Heszky László

Szent István Egyetem,
Genetika és Növénynevelés Tanszék
Gödöllő
Páter Károly u. 1.
H-2103

Dr. Penksza Károly

Szent István Egyetem,
Tájökológia Tanszék
Gödöllő
Páter Károly u. 1.
H-2103