

EWA M. PAWLACZYK, JULIA STANIAK, TOMASZ MALIŃSKI, MARIA A. BOBOWICZ

Molekularna identyfikacja gatunków z rodzaju *Abies* na podstawie polimorfizmu DNA mitochondrialnego

Molecular identification of species from *Abies* genus based on the mitochondrial DNA polymorphism

ABSTRACT

Pawlaczyk E. M., Staniak J., Maliński T., Bobowicz M. A. 2015. Molekularna identyfikacja gatunków z rodzaju *Abies* na podstawie polimorfizmu DNA mitochondrialnego. Sylwan 159 (8): 675-683.

The plant material was collected on 34 individuals growing in the Dendrological Garden of Poznań University of Life Sciences (52°25'32,95"N 16°53'39,83"E) and Botanical Garden of Adam Mickiewicz University in Poznań (52°25'11,70"N 16°52'55,07"E). The species for this study originated from Europe, Asia Minor, central and eastern Asia and North America and included: *Abies alba*, *Abies cephalonica*, *Abies cilicica*, *Abies equi-trojani*, *Abies sibirica*, *Abies koreana*, *Abies pinsapo*, *Abies x insignis*, *Abies bornmulleriana*, *Abies homolepsis*, *Abies holophylla*, *Abies grandis*, *Abies concolor*, *Abies concolor* var. *violacea*, *Abies concolor* var. *lowiana*, *Abies nordmanniana*, *Abies x arnoldiana*, *Abies nephrolepis* and *Abies balsamea*. The aim of this study was to define the species haplotypes (the length of allele) on the basis of *nad5-4* mitochondrial DNA marker detected by capillary electrophoresis. This marker has been suggested as an easy-to-use tool to distinguish species of the *Abies* genus and it could be species-specific. Seven different haplotypes were identified. The first one appears in the species from Europe, Asia and North America. The second one was detected in firs from Europe and Asia Minor. *A. cephalonica* and *A. sibirica* were identified by the third haplotype, which occurs also in *A. alba* from the Balkan region. The fourth haplotype is characteristic for species from Asia and North America. The fifth and sixth haplotypes were identified in *A. pinsapo* and *A. numidica*. The seventh haplotype was detected only in *A. holophylla*. Applied marker is a very useful for verification of fir species especially allopatric species, less for parapatric ones. This marker is more helpful to exclude the species than to precisely identify them.

KEY WORDS

Abies species, haplotype, capillary electrophoresis, mitochondrial marker

ADDRESSES

Ewa M. Pawlaczyk ⁽¹⁾ – e-mail: ewapaw@amu.edu.pl

Julia Staniak ⁽¹⁾, Tomasz Maliński ⁽²⁾, Maria A. Bobowicz ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Zakład Genetyki, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza; ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

⁽²⁾ Katedra Botaniki Leśnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu; ul. Wojska Polskiego 71D, 60-625 Poznań

Wstęp

Czasami trudno jest odróżnić gatunki blisko spokrewnione morfologicznie. Dotyczy to również gatunków drzew leśnych należących do tego samego rodzaju. Przykładem mogą być euroazjatyckie gatunki z rodzaju *Abies*. W warunkach naturalnych ich zasięgi występowania rzadko się pokrywają (gatunki allopatryczne), z wyjątkiem *A. alba* i *A. cephalonica* (gatunki parapatryczne),

co sprawia, że ich identyfikacja, oparta między innymi na wielkości i budowie igieł, wielkości, kolorze i kształcie szyszek oraz pokroju i wielkości drzewa, jest prosta. Natomiast gdy gatunki jodeł rosną na tym samym terytorium, w tych samych warunkach klimatycznych i siedliskowych, identyfikacja gatunku może być problematyczna. Jeszcze trudniej jest określić gatunek na podstawie struktury pyłku, nasion, a przede wszystkim tkanek, które zostały pofragmentowane, zdegradowane lub zmienione (fragmenty igieł lub drewna). Dlatego w celu identyfikacji taksonomicznej gatunku ważne jest stosowanie szybkiej, taniej i wiarygodnej techniki identyfikacji gatunków, jaką jest np. analiza DNA pochodzącego z organelli komórkowych. Geny i obszary niekodujące organellowego DNA są uważane za konserwatywne oraz wolno ewoluujące i dlatego są często używane jako markery do badania zależności filogenetycznych pomiędzy gatunkami. Ziegenhagen i in. [2005] zaproponowali jako marker diagnostyczny dla gatunków z rodzaju *Abies* czwarty intron mitochondrialnego genu dehydrogenazy NAD w podjednostce 5 (*nad5-4*). Zbadali oni haplotypową specyficzność tego genu dla 8 gatunków jodeł rosnących w Basenie Morza Śródziemnego (*A. alba*, *A. bornmulleriana*, *A. cephalonica*, *A. cilicica*, *A. nordmanniana*, *A. equi-trojani*, *A. numidica*, *A. pinsapo*) oraz jednego gatunku z Ameryki Północnej (*A. concolor*). Wykryli 6 różnych haplotypów: 1 u *A. concolor*, a 5 pozostałych u jodeł z Basenu Morza Śródziemnego – 2 różne haplotypy u *A. alba* i *A. cephalonica*, oraz 1 haplotyp wspólny dla tych dwóch gatunków. Wykryli również osobny haplotyp dla *A. cilicica* oraz 1 wspólny haplotyp dla *A. pinsapo* i *A. numidica*. Piąty haplotyp był wspólny dla *A. cephalonica*, *A. bornmuelleriana*, *A. equi-trojani* oraz *A. nordmanniana*. Różnice w sekwencji haplotypów u gatunków jodeł z Basenu Morza Śródziemnego wynikały głównie ze wstawienia lub usunięcia dłuższego fragmentu genu, a nie ze wstawienia lub usunięcia pojedynczego nukleotydu (za wyjątkiem *A. pinsapo* i *A. numidica*).

Do rodzaju *Abies* należy od 48 do 55 gatunków zimozielonych drzew. Jodły można spotkać w górach Północnej i Środkowej Ameryki, Europy i Azji, a także w północnej Afryce. Są to drzewa długowieczne, żyjące do 700-800 lat, silnie zróżnicowane wysokością: od 10 m (*A. koreana*) do nawet 100 m (*A. grandis*). Znaczne zróżnicowanie wykazują również pierśnice: od 50 cm (*A. koreana*), przez 3 m (*A. spectabilis*), do nawet 5 m (*A. grandis*). Pomimo dużej zmienności większość gatunków mieści się w granicach od 30 do 50 m wysokości i od 1 do 1,5 m pierśnicy [Boratyński 1983].

Jodły są cenne ze względów użytkowych (ich drewno stanowi cenny surowiec), jak i dekoracyjnych – niektóre gatunki uprawiane są na choinki ze względu na bardzo regularną budowę koron, a rosnąc swobodnie, długo utrzymują najniższe gałęzie.

Rodzaj *Abies* należy do rodziny *Pinaceae*, klasy *Coniferae*. Po sosnach najwięcej gatunków liczą jodły – zarówno w obrębie rodziny, jak i całej klasy iglastych [Boratyński 1983]. Pierwsze próby klasyfikacji jodeł były prowadzone pod koniec XIX wieku. Na uwagę według Boratyńskiego [1983] zasługują monografie systematyczne rodzaju *Abies* sporządzone między innymi przez Franco, Matzenko oraz Liu. Poniżej przedstawiony jest podział zaproponowany przez Farjon i Rushforth [1989] oraz Farjon [2010] wraz z miejscem występowania gatunków rodzaju *Abies* Mill.:

- sekcja: *Abies* Miller (*Abies alba* – jodła pospolita, *Abies cephalonica* – jodła grecka, *Abies cilicica* – jodła syryjska, *Abies nebrodensis* – jodła sycylijska, *Abies nordmanniana* – jodła kaukaska, *A. ×borisii-regis* – jodła króla Borysa) – środkowa, południowa i wschodnia Europa, Azja Mniejsza;
- sekcja: *Piceaster* Spach em. Farjon et Rushforth (*Abies numidica* – jodła numidyjska, jodła algierska, *Abies pinsapo* – jodła hiszpańska) – południowa Hiszpania, północna Afryka;

- sekcja: *Bracteata* Engelm em. Sargent (*Abies bracteata* – jodła nadobna) – południowa Kalifornia, Ameryka Północna;
- sekcja: *Momi* Franco – wschodnia i środkowa Azja, Himalaje na niższych wysokościach n.p.m.:
 - podsekcja: *Homolepoides* (Franco) Farjon et Rushforth (*Abies homolepis* – jodła nikko, jodła nikkońska, *Abies recurvata*, *A. kawakamii*),
 - podsekcja: *Firmae* (Franco) Farjon et Rushforth (*Abies beshanzuensis*, *Abies firma* – jodła japońska),
 - podsekcja: *Halophyllae* Farjon et Rushforth (*Abies chensiensis*, *Abies holophylla* – jodła mandżurska, *Abies pindrow*, *Abies ziyuanensis*);
- sekcja: *Amabilis* (Matzenko) Farjon et Rushforth (*Abies amabilis* – jodła wonna, *Abies mariesii*) – góry wybrzeża Oceanu Spokojnego, Ameryka Północna, Japonia;
- sekcja: *Pseudopicea* Hockel em. Farjon et Rushforth – Chiny, Himalaje, na wyższych wysokościach n.p.m.:
 - podsekcja: *Delavayanae* Farjon et Rushforth (*Abies delavayi* – jodła Delaveya, *Abies densa*, *Abies fabri*, *Abies fargesii*, *Abies fanjingsbanensis*, *Abies forrestii*, *Abies spectabilis*, *Abies yuanbaoshanensis*),
 - podsekcja: *Squamatae* E. Murray (*Abies squamata*);
- sekcja: *Balsamea* Engelm. em. Farjon et Rushforth – tajga i borealna Azja, Ameryka Północna, wysokie góry dalej na południe:
 - podsekcja: *Laterales* Patschke em. Farjon et Rushforth (*Abies balsamea* – jodła balsamiczna, *Abies lasiocarpa* – jodła góraska, *Abies sibirica* – jodła syberyjska,
 - podsekcja: *Medianae* Patschke em. Farjon et Rushforth (*Abies fraseri* – jodła Frasera, *Abies koreana* – jodła koreańska, *Abies nephrolepis* – jodła wiotka, jodła białokora, *Abies sachalinensis* – jodła sachalińska, *Abies veitchii* – jodła Veitcha);
- sekcja: *Grandis* Engelm. em. Farjon et Rushforth (*Abies concolor* – jodła kalifornijska, jodła jednobarwna, *Abies durangensis*, *Abies grandis* – jodła olbrzymia, *Abies guatmalensis*, *Abies lowiana* – jodła Lowa) – zachodnia Ameryka Północna do Meksyku i Gwatemali, na północy niziny, średnie wysokości n.p.m. na południu;
- sekcja: *Oiamel* Franco – Środkowy Meksyk na wyższych wysokościach n.p.m.:
 - podsekcja: *Religiosae* (Matzenko) Farjon et Rushforth (*Abies religiosa*, *Abies vejarii*),
 - podsekcja: *Hickelianae* Farjon et Rushforth (*Abies hickelii*, *A. hidalgensis*);
- sekcja: *Nobilis* Engelm. (*Abies magnifica* – jodła wspaniała, *Abies procera* – jodła szlachetna) – zachodnia Ameryka Północna, głównie Oregon, Kalifornia i Waszyngton.

Celem niniejszej pracy jest przetestowanie oraz wykrycie możliwych haplotypów dla 20 gatunków jodeł występujących w Europie, Azji oraz Ameryce Północnej na podstawie markera mitochondrialnego *nad5-4*. Zbadano okazy rosnące w Ogrodzie Botanicznym Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza oraz Ogrodzie Dendrologicznym Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Materiał i metody

Materiałem roślinnym były igły zebrane z 20 gatunków jodeł rosnących w Ogrodzie Botanicznym Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza (52°25'11,70"N 16°52'55,07"E) oraz Ogrodzie Dendrologicznym Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu (52°25'32,95"N 16°53'39,83"E). W sumie przebadano 34 drzewa (tab.). Wykonano również zdjęcia długopędów zbadanych gatunków, dla ukazania mogących się pojawić trudności w identyfikacji gatunku (ryc. 1-3).

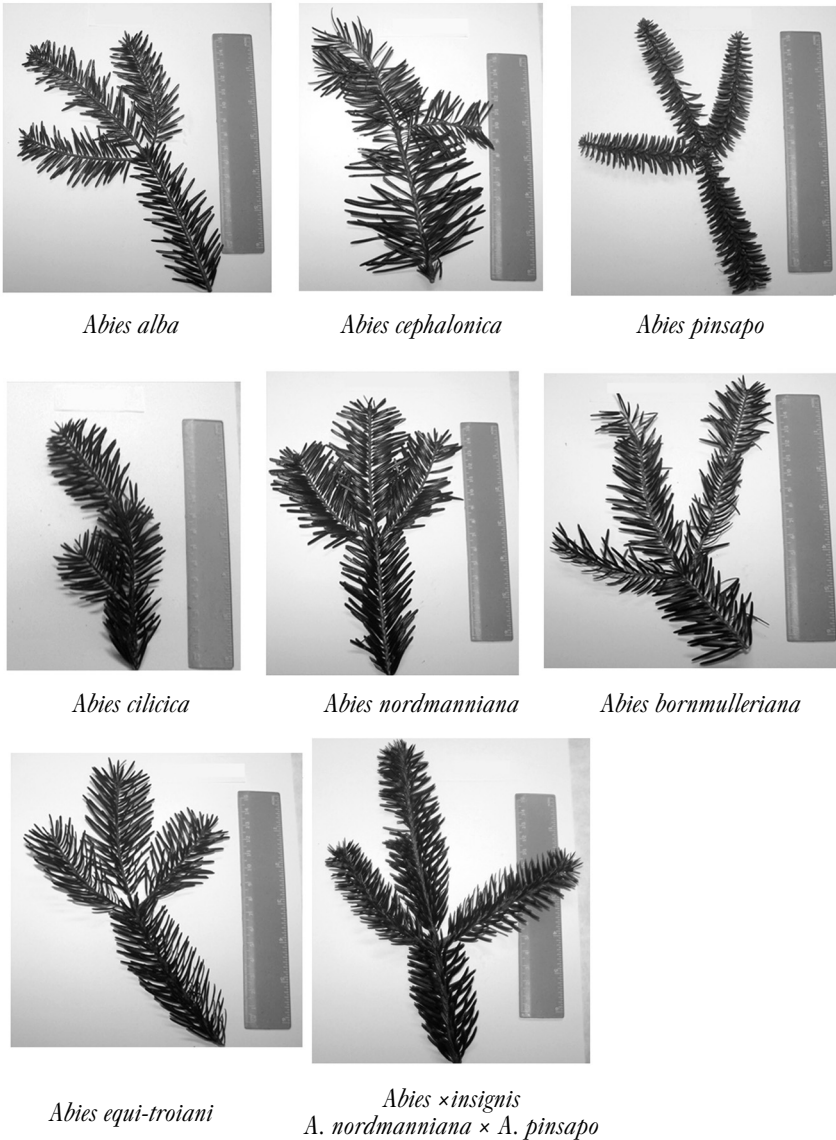
Z igrzeł izolowano DNA metodą Doyle i Doyle [1990] na buforze ATMB (akryltrimetyloammonium bromide). Reakcje PCR wykonano dla markera mitochondrialnego – czwartego intronu mitochondrialnego genu dehydrogenazy NAD w podjednostce 5 (*nad5-4*) w termocyklerze MultiGene™ Gradient Thermal Cycler firmy LabNet. Do amplifikacji użyto następujących sekwencji starterów: 5'-GGACAATGACGATCCGAGATA-3' i 5'-CATCCCTCCCATTGCATTAT-3'

Tabela

Haplotyp markera mitochondrialnego *nad5-4*, długość allele i pochodzenie (EA – Europa i Azja Mniejsza, A – środkowa i wschodnia Azja, NA – Ameryka Północna) przebadanych drzew z rodzaju *Abies*

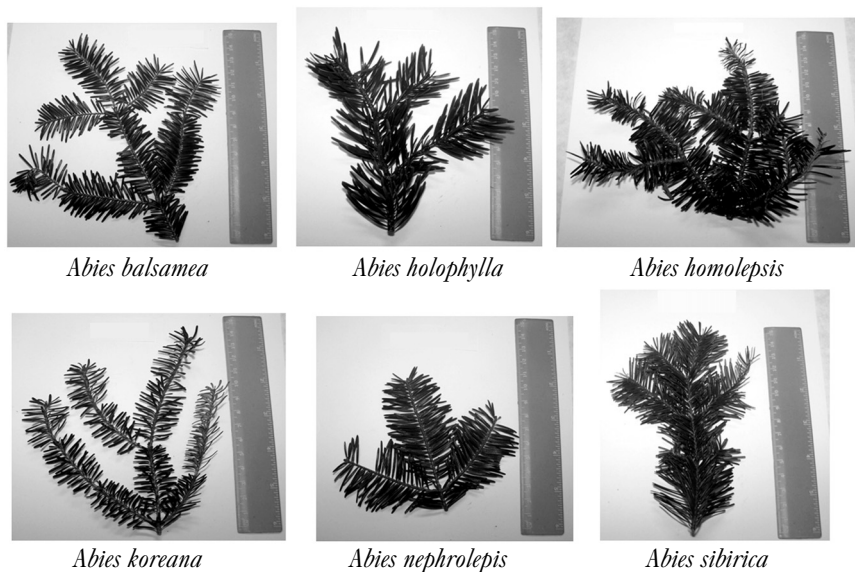
Haplotype of *nad5-4* mitochondrial marker, allele length and origin (EA – Europe and Asia Minor, A – central and eastern Asia, NA – North America) of studied trees from *Abies* genus

Lp.	Gatunek Species	Haplotyp Haplotype	Długość allele [pz] Allele length [bp]	Pochodzenie Origin
Ogród Dendrologiczny Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu Dendrological Garden of Poznań University of Life Sciences				
1	<i>Abies alba</i>	1	232	EA
2	<i>Abies cephalonica</i>	2	339	EA
3	<i>Abies cilicica</i>	2	339	EA
4	<i>Abies equi-trojani</i>	2	339	EA
5	<i>Abies sibirica</i>	4	337	A
6	<i>Abies koreana</i>	1	232	A
7	<i>Abies pinsapo</i>	5	218	EA
8	<i>Abies ×insignis</i>	2	339	EA
9	<i>Abies bornmulleriana</i>	2	339	EA
10	<i>Abies homolepsis</i>	4	337	A
11	<i>Abies holophylla</i>	7	341	A
12	<i>Abies grandis</i>	1	232	NA
13	<i>Abies concolor</i>	4	337	NA
14	<i>Abies procera</i>	4	337	NA
Ogród Botaniczny Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu Botanical Garden of Adam Mickiewicz University in Poznań				
15	<i>Abies alba</i>	1	232	EA
16	<i>Abies cephalonica</i>	3	157	EA
17	<i>Abies nordmanniana</i>	2	339	EA
18	<i>Abies nordmanniana</i>	2	339	EA
19	<i>Abies cilicica</i>	2	339	EA
20	<i>Abies sibirica</i>	4	337	A
21	<i>Abies sibirica</i>	3	157	A
22	<i>Abies koreana</i>	4	337	A
23	<i>Abies pinsapo</i>	6	220	EA
24	<i>Abies pinsapo</i>	5	218	EA
25	<i>Abies bornmulleriana</i>	2	339	EA
26	<i>Abies homolepsis</i>	1	232	A
27	<i>Abies holophylla</i>	1	232	A
28	<i>Abies ×arnoldiana</i>	4	337	NA
29	<i>Abies nephrolepis</i>	4	337	A
30	<i>Abies grandis</i>	1	232	NA
31	<i>Abies concolor</i>	4	337	NA
32	<i>Abies concolor</i> var. <i>violacea</i>	4	337	NA
33	<i>Abies concolor</i> var. <i>lowiana</i>	1	232	NA
34	<i>Abies balsamea</i>	4	337	A

**Ryc. 1.**

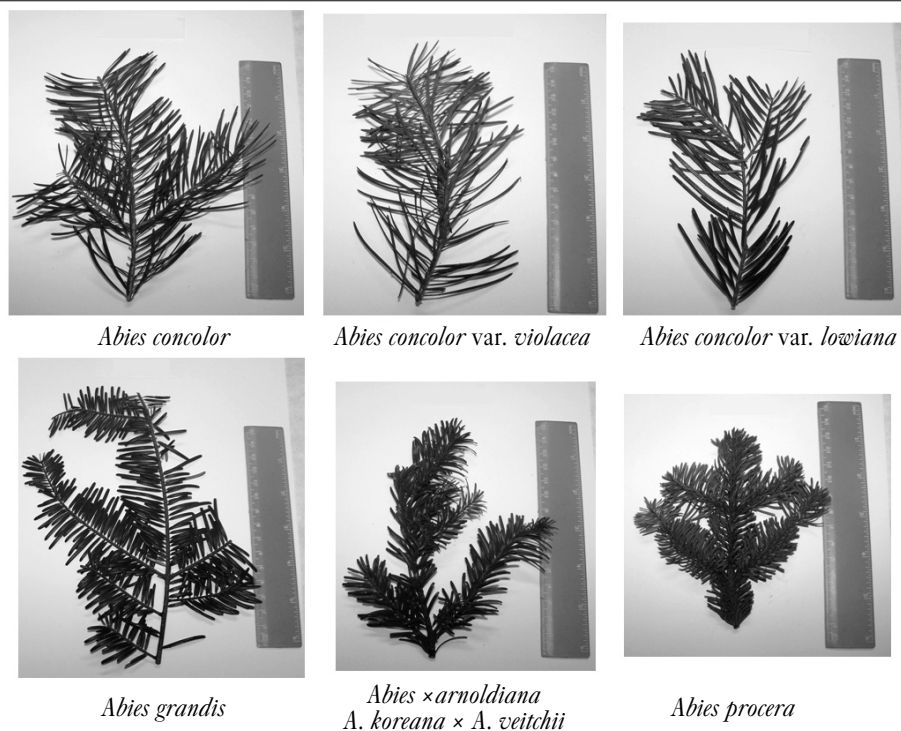
Igły gatunków europejskich i z Azji Mniejszej
Needles of species from Europe and Asia Minor

[Liepelt i in. 2002; Gömöry i in. 2004]. Do reakcji wzięto 20 ng matrycy DNA, 0,5 jednostki Taq polimerazy (Novazym), 0,1 mM każdego nukleotydu dNTP, 0,2 μ M każdego startera, 1 \times buforu do reakcji PCR i 1,6 mM MgCl₂. Reakcje wykonano w objętości 10 μ l. Wstępna denaturacja trwała 5 min w temperaturze 94°C, następnie wykonano 35 cykli: 1 min w 94°C (denaturacja), 1 min w temperaturze 58,4°C (przyłączenie starterów) oraz 1 min w 72°C (wydłużanie łańcucha). Końcowe wydłużanie odbywało się w temperaturze 72°C przez 10 min. Następnie wynik reakcji PCR został sprawdzony elektroforetycznie na 2-procentowym żelu agarozowym z bromkiem



Ryc. 2.

Igły gatunków ze środkowej i wschodniej Azji
Needles of species from central and eastern Asia



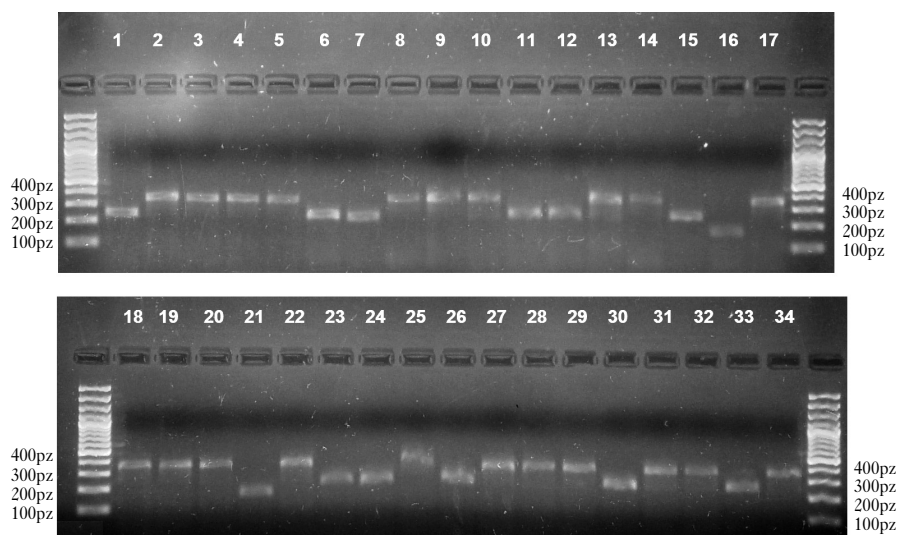
Ryc. 3.

Igły gatunków z Ameryki Północnej
Needles of species from North America

erydyny oraz analizowany na sekwenatorze 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems®). Elektroforezę poziomą prowadzono przez 1 h w 6 V/cm, a elektroforezę kapilarną z użyciem standardu masy GeneScan™ 600LIZ™. Dla określenia dokładnej długości alleli wyniki odczytywano za pomocą programu Peak Scanner (<http://www.appliedbiosystems.com>).

Wyniki i dyskusja

Na podstawie markera mitochondrialnego *nad5-4* wykryto 7 różnych haplotypów występujących u przebadanych gatunków z rodzaju *Abies* (ryc. 4, tab.). Pierwszy haplotyp z allelem o długości 232 pz wykryto u 6 gatunków: *A. alba*, *A. koreana*, *A. holophylla*, *A. grandis*, *A. homolepis* i *A. concolor* var. *lowiana*, czyli u gatunków z Europy i Azji oraz z Ameryki Północnej. Haplotyp ten został wykryty we wcześniejszych badaniach nad jodłą pospolitą [Liepelt i in. 2002, 2009; Gömöry i in. 2004; Ziegenhagen i in. 2005; Pawlaczyk i in. 2013] jako charakterystyczny dla jodły migrującej (m.in. do Polski) z refugium w zachodniej Europie. Drugi haplotyp z allelem o długości 339 pz wykryto u 6 gatunków euroazjatyckich, takich jak: *A. cephalonica*, *A. cilicica*, *A. nordmanniana*, *A. equi-trojani*, *A. xinsignis* i *A. bornmulleriana*. Wykrycie tego samego haplotypu u tych gatunków sugeruje bliskie pokrewieństwo genetyczne pomiędzy nimi. Wcześniejsze badania [Ziegenhagen i in. 2005] wykryły u *A. cilicica* inny haplotyp, różniący się od haplotypu 1 (232 pz) tylko dwiema parami zasad. W naszych badaniach wykryto haplotyp 2 (339 pz), co może świadczyć o pomyłce w oznaczeniu gatunków w obu Ogrodach lub istnieniu jeszcze jednego haplotypu u tego gatunku. U *A. cephalonica* wykryto również trzeci haplotyp z allelem o długości 157 pz. Ten haplotyp występuje również u *A. sibirica*, czyli u gatunku azjatyckiego. Haplotyp ten został dodatkowo wykryty w badaniach nad *A. alba* z całego zasięgu występowania gatunku [Liepelt i in. 2002; Ziegenhagen i in. 2005], u populacji rosnących na południowym wschodzie Europy (kraje bałkańskie oraz północno-wschodnie Włochy). Potwierdziło to hipotezę, że do tego regionu jodła migrowała



Ryc. 4.

Analiza markera mitochondrialnego *nad5-4* za pomocą elektroforezy poziomej

Analysis of the mitochondrial marker *nad5-4* using horizontal electrophoresis

Oznaczenia gatunków w tabeli

Species codes in table

z refugium bałkańskiego po ostatnim zlodowaczeniu. Czwarty haplotyp jest charakterystyczny dla gatunków azjatyckich i północno-amerykańskich, takich jak: *A. sibirica*, *A. koreana*, *A. homolepis*, *A. concolor*, *A. concolor* var. *violacea*, *A. procera*, *A. ×arnoldiana*, *A. nephrolepis* i *A. balsamea*. Tylko u *Abies pinsapo* – endemicznego gatunku rosnącego w Hiszpanii – wykryto piąty i szósty haplotyp, odpowiednio o długości 218 i 220 pz. Ten sam haplotyp wykryto również u *A. numidica* [Ziegenhagen i in. 2005]. Wykrycie tych unikatowych haplotypów może świadczyć o procesach mikroewolucyjnych (np. mutacjach) zachodzących w izolowanych populacjach gatunków endemicznych. Natomiast tylko u *A. holophylla* wykryto siódmy haplotyp o długości allele 341 pz. Jest to gatunek rosnący w Korei, Chinach (prowincja Heilongjiang i Jilin) oraz Rosji (Primoryi), który spośród wszystkich jodeł najlepiej toleruje wysokie temperatury, oprócz tego znosi także duże mrozy (nawet do -34°C). Obecność tego unikalnego haplotypu może być jednym z przejawów adaptacji do nietypowych warunków siedliskowych dla jodeł.

Oznaczenie długości wariantu wykrytego haplotypu dla genu *nad5-4* nie wystarczy jeszcze do wnioskowania o gatunku, z jakim mamy do czynienia, pokrewieństwach genetycznych, możliwym krzyżowaniu międzygatunkowym lub związkach filogenetycznych. W tym celu potrzebne są dodatkowe informacje o morfologii gatunku, miejscu zbioru (szczególnie ważne dla gatunków allopatricznych) oraz poznanie dokładnej sekwencji nukleotydowej. Podanie długości wykrytego haplotypu może być badaniem wstępnym, określającym, z jakimi możliwymi gatunkami mamy do czynienia, a z jakimi nie, szczególnie jeśli dysponujemy tylko pofragmentowaną tkanką. W takiej sytuacji badany marker może ułatwić raczej wykluczenie gatunku niż precyzyjną jego identyfikację. Na przykład gdy wykryty zostanie pierwszy haplotyp wśród gatunków z Ameryki Północnej, to wiadomo, że nie będą to gatunki *Abies concolor*, *A. procera* czy *A. concolor* var. *violacea*, ale mogą to być *A. grandis* lub *A. concolor* var. *lowiana*. Szczególnie trudna może być identyfikacja gatunku w przypadku gatunków parapatricznych, których zasięgi (a tym samym obszar występowania) pokrywają się i ten sam haplotyp może wykazywać kilka gatunków. Przykładem może być haplotyp czwarty, który wykryto u pięciu azjatyckich gatunków jodeł. Bardziej precyzyjna identyfikacja jest możliwa dla gatunków allopatricznych (np. gatunków europejskich i z basenu Morza Śródziemnego), których zasięgi nie pokrywają się. Wykrycie danego haplotypu na danym terytorium może oznaczać wykrycie konkretnego gatunku (np. wykrycie na Półwyspie Peloponeskim haplotypu trzeciego oznacza *A. cephalonica*).

Należy dodać, że użycie mitochondrialnego markera *nad5-4* jest metodą stosunkowo szybką oraz taną w porównaniu z sekwencjonowaniem i może służyć do szybkiego procesu – jeśli nie identyfikacji gatunku, to jego wykluczenia. Metoda ta może być bardzo użyteczna również w paleobotanice, archeologii oraz w kryminalistyce [Ziegenhagen i in. 2005].

Podziękowanie

Autorzy pragną podziękować prof. dr hab. Justynie Wiland-Szymańskiej, dyrektor Ogrodu Botanicznego Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, za udostępnienie materiału roślinnego do badań.

Literatura

- Boratyński A. 1983. Systematyka i geograficzne rozmieszczenie. W: Nasze drzewa leśne. Jodła pospolita *Abies alba* Mill. PWN, Warszawa – Poznań. 41-85.
- Doyle J. J., Doyle J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15.
- Farjon A. 2010. A Handbook of the World's Conifers. Leiden, Netherlands: Brill Academic Publishers.
- Farjon A., Rushforth K. D. 1989. A classification of *Abies* Miller (*Pinaceae*). Notes of the Royal Botanic Garden Edinburgh 46 (1): 59-79.

- Gömöry D., Longauer R., Liepelt S., Ballian D., Brus R., Kraigher H., Parpan V. I., Parpan T. V., Paule L., Stupar V., Ziegenhagen B. 2004. Variation patterns of mitochondrial DNA of *Abies alba* Mill. in suture zones of postglacial migration in Europe. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 73 (3): 203-206.
- Liepelt S., Bialozyt R., Ziegenhagen B. 2002. Wind-dispersed pollen mediates postglacial gene flow among refugia. *The Proceedings of National Academy of Science USA* 99: 14590-14594.
- Liepelt S., Cheddadi R., de Beaulieu J.-L., Fady B., Gömöry D., Hussendorfer E., Konnert M., Litt T., Longauer R., Terhürne-Berson R., Ziegenhagen B. 2009. Postglacial range expansion and its genetic imprints in *Abies alba* (Mill.) – a synthesis from paleobotanic and genetic data. *Review of Palaeobotany and Palynology* 153: 139-149.
- Pawlaczyk E. M., Kropiewska I., Bobowicz M. A. 2013. Postglacialna migracja jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) do Polski – analiza na podstawie polimorfizmu mitochondrialnego DNA. *Sylvan* 157 (6): 458-463.
- Ziegenhagen B., Fady B., Kuhlenkamp V., Liepelt S. 2005. Differentiating groups of *Abies* species with a simple molecular marker. *Silvae Genetica* 54 (3): 123-126.