

Újgenerációs szekvenálás a csertölgy (*Quercus cerris* L.) genetikai erőforrásainak kutatásában

Lados Botond Boldizsár, okl. erdőmérnök, tudományos segédmunkatárs¹, PhD hallgató^{2,3}

A klímaváltozáshoz való adaptáció egyik kulcskérdése az erdészeti ágazat számára a megfelelő ellenállóképesseggel rendelkező szaporítóanyagok felhasználása. Az utóbbi időszakban egyre inkább előtérbe kerül a szaporítóanyagok távolsági mozgatásának lehetősége, szárazabb körülményekhez adaptálódott populációk szaporítóanyagának mozgatása. Ennek szükség-szerű genetikai megalapozására az egyre fejlettebb technológiák új lehetőségeket nyitnak meg.



Erdeinkre a változó, egyre szélsőségszerűbb klimatikus és termőhelyi feltételek növekvő adaptációs nyomást fejtenek ki. Már a jelenben is, de a jövőben is a vegetációs periódus szélsőséges aszályos viszonyai jelentik az egyik legfontosabb korlátozó tényezőt (Gálos & Führer, 2018; IPCC, 2022).

Egyre szélsőségszerűbbé váló termőhelyeinknek kulcsfontosságú az erdőállományok ellenállóképeségének javítása (European Commission, 2021). Az adaptáció egyik láncszeme lehet ebben a helyzetben az aszályos időszakok iránt toleráns származások szaporítóanyagának felhasználása (Hlásny et al., 2014). A változások sebessége gyakran aránytalanul gyors léptékű fafajaink migrációs sebességéhez képest. Ezeket a változásokat igyekszik lekövetni távolsági szaporítóanyag-mozgatásokkal a támogatott migráció módszere (Vitt et al., 2010).

Az újgenerációs DNS szekvenálásra épülő eljárások (pl: ddRAD-Seq) lehetővé teszik, hogy a növények genetikai tulajdonságait klimatikus, illetve termőhelyi feltételekhez kapcsoljuk (Parchman et al., 2018). Ezáltal az egyes növény-populációkban, az adaptációs stratégiákban részt vevő genetikai paraméterek (pl: génjelölt genomi régiók) detektálhatók, előfordulási arányuk becsülhető. Erre építve kiválaszthatók olyan populációk, melyekben a számunkra kedvező adaptív tulajdonságok gyakrabban for-

dulnak elő, ezzel megnövelve a szaporítóanyag-mozgatások hatékonyságát (Chen et al., 2022).

A hagyományos markerezési eljárásokhoz képest az újgenerációs DNS-szekvenálásra épülő módszerek a vizsgált genom átfésülésével lényegesen több és részletesebb információt nyújtanak. A korábbi néhány tíz vagy száz ponthoz képest egyszerre akár több ezer-tízezer ponton nyerhetünk betekintést a vizsgált genom neutrális és kódoló régióiba egyaránt. Ennek köszönhetően többek között a populációgenetikai vizsgálatok jóval részletesebb és mélyebb struktúrák feltárására adnak lehetőséget (Davey & Blaxter, 2010).

A Soproni Egyetem Erdészeti Tudományos Intézetének Nemesítési Osztályán a klímaváltozás erdőkre gyakorolt hatásai, valamint a távolsági szaporítóanyag-mozgatások genetikai hátterének megalapozása kapcsán jelenleg is aktívan kutatjuk őshonos tölgyfajaink genetikai erőforrásait, genetikai változatosságát.

Vizsgálataink gerincét az újgenerációs DNS-szekvenálásra épülő ddRAD-Seq eljárás képezi, melyet hagyományos markerezéssel is támogatunk. Ezeket kereszttül a korábbinál sokkalta mélyebb betekintést nyerhetünk tölgyfajaink genetikai struktúráiba.

Populációgenetikai kutatásunk egyik legígéretesebb célfaja a csertölgy (*Quercus cerris* L.), mely az aszálytűrés szempontjából kedvező tulajdonságai révén a jövőben növelheti szerepét hazánk erdőgazdálkodásában.

Vizsgálataink során, melyek doktori kutatásom tárgyát is képezik, a faj elterjedési területét kiterjedten mintázzuk.

Célunk felmérni a csertölgy közép- és délkelet-európai genetikai változatosságát, illetve vizsgálni adaptációs stratégiáinak genetikai hátterét.

Jelen tanulmányban az eddig mintázott állományok fontosabb populációgenetikai jellemzői, valamint egy feltételezett múltbéli szaporítóanyag-mozgatás genetikai nyomai kerülnek bemutatásra.

Anyag és módszer

A kutatásban vizsgált növényanyag a kocsánytalan tölgy délkelet-európai és magyarországi genetikai mintagyűjtésével egyidőben, illetve a csertölgy és kocsánytalan tölgy dendrokronológiai mintavétele során került legyűjtésre 2019-ben. Ezek eredményeként 3 délkelet-balkáni és 5 magyarországi csertölgy populáció összesen 88 faegyednek mintái állnak rendelkezésre (1. táblázat).

A genetikai mintavételi stratégia kialakításakor elsődleges szempont volt az idős, feltételezhetően helyi eredetű populációk kiválasztása, illetve, hogy az említett régiókat megfelelő eloszlásban fedjék.

A Balkán-félsziget keleti végétől kiindulva 3 populáció került mintázásra, egy Balgari közeléből a Strandzha-hegységből, egy a Balkán-hegységből, Botevgrad mellől és egy Koszovóból, Pristina közeléből. A magyar populációk mintái Zselickisfalud, Iharosberény, Vállus és Szántód község határárból, valamint a Debreceni Egyetem Síkfőkút Projektjének területéről származnak (1. ábra).

¹ SoE ERTI Nemesítési Osztály

² SoE EMK Roth Gyula Erdészeti és Vadgazdálkodási Tudományok Doktori Iskola

³ A cikkanyag az Erdészeti Lapok 2022. évi szakcikkipályázatának kiemelt díjazott pályaműve.

1. táblázat. A vizsgálatainkba vont csertölgy populációk adatai

Populáció azonosító	Helyszín	Ország	Szélesség	Hosszúság	Tszfm. (m)
BU1	Botevgrad (Balkán-hg.)	Bulgária	42.97	23.83	600
BU4	Balgari (Strandzha-hg.)	Bulgária	42.11	27.77	210
KO1	Pristina (Vershec)	Koszovó	42.51	20.97	787
HU2	Vállus (Keszthelyi-hg.)	Magyarország	46.83	17.31	377
HU4	Síkfőkút (Bükk-hg.)	Magyarország	47.92	20.43	330
HU5	Iharosberény (Ny-Somogy)	Magyarország	46.32	17.06	220
HU6	Zselickisfalud (Zselic)	Magyarország	46.25	17.75	280
HU7	Szántód (É-Somogy)	Magyarország	46.83	17.94	225

2. táblázat. A vizsgálat során alkalmazott sejtmagi és szintesti mikroszatellit markerek

Mikroszatellit markerek			
Szintesti		Sejtmagi	
cmcs1, cmcs6, cmcs7, cmcs8, cmcs9	Sebastiani et al. (2004)	QrZAG87, QrZAG11, QrZAG112, QrZAG96, QrZAG15, QrZAG7, QrZAG20	Kampfer et al. (1998)
ccmp6	Weising and Gardner (1999)	QpZAG110, QpZAG9, QpZAG16, QpZAG1/5	Steinkellner et al. (1997)
		MSQ13	Dow et al. (1995)

A mintavételi eljárás során DNS-kivonáshoz minden faegyedről friss leveles hajtások kerültek legyűjtésre és -20 °C-on tárolásra. A klón egyedek kizárása érdekében a mintázni kívánt egyedek egymástól legalább 30 m távolságra kerültek kijelölésre.

A begyűjtött minták DNS-kivonása az ERTI sárvári laboratóriumában történt, a

Tóth *et al.* (2021) által kocsánytalan tölgnél is alkalmazott protokoll szerint.

Jelen kutatás során három megközelítésben is vizsgáljuk a csertölgy genetikai változatosságát. A vizsgálataink gerincét a sejtmagi DNS ddRAD-Seq (double-digest restriction site-associated DNA sequencing) módszerrel végzett elemzése képezi. Emellett a sejt-

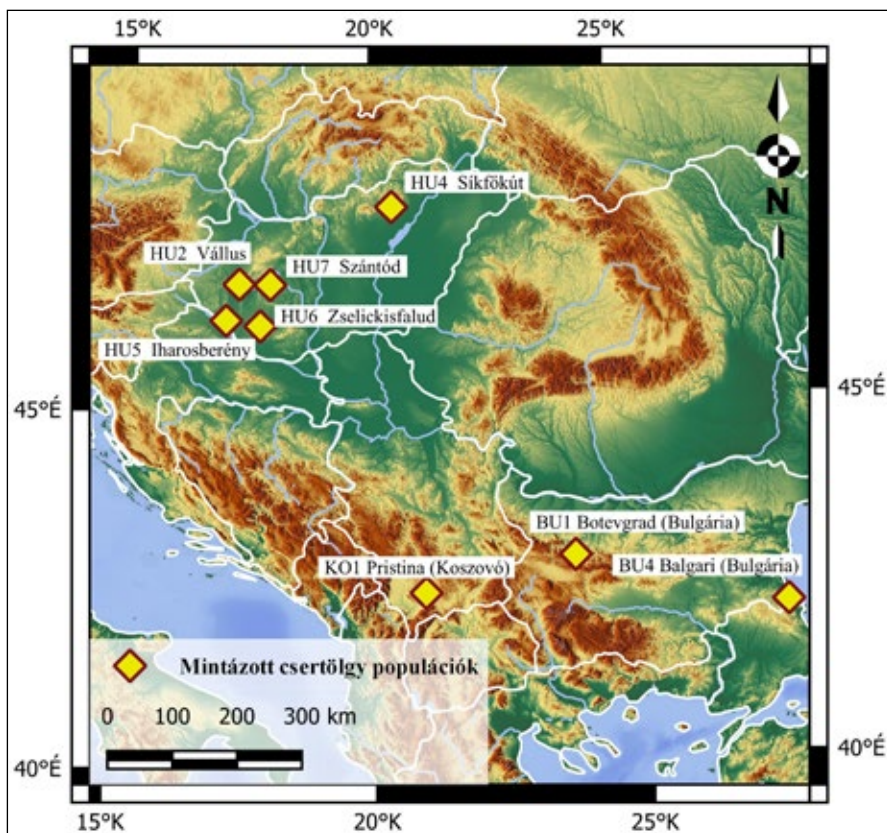
magi DNS-t további 12 és a szintesti DNS-t további 6 mikroszatellit markerrel is vizsgáljuk (2. táblázat).

Amíg a mikroszatellit markerek az adott genom neutrális (nem kódoló) ismétlődő szakaszait vizsgálják (jelen esetben 12, illetve 6 helyen), addig a nagy felbontóképességű ddRAD-Seq módszer a vizsgált genomot átfésülve nagy mennyiségű (akár több ezer-tízezer pozícióból) pontmutáció (SNP – Simple Nucleotide Polymorphism) adatot szolgáltat. Utóbbi vizsgálat ezért részletesebb és mélyebb struktúrák feltárására is alkalmas. A RAD szekvenáláshoz szükséges DNS könyvtár előkészítése, illetve a szekvenálás szintén a kocsánytalan tölgyvel azonos módon Tóth *et al.* (2021) szerint történt.

Utóbbi eredményeként közel 38 millió nyers szekvenciaadat keletkezett, melyet a SOE ERTI soproni szerverten dolgoztunk fel a STACKS 2.0 szoftver segítségével Catchen *et al.* (2013) és Rochette *et al.* (2019) módszerei alapján.

Ennek során elvégeztük a nyers „short read” szekvenciák tisztítását, a RAD lokuszok de novo összeszerelését és a pontmutációk (SNP-k) hívását. A feldolgozás során leszűrtük azokat az SNP lokuszokat, melyek egyszerre mind a 8 populációban jelen voltak, az elemzéseket ezek felhasználásával végeztük.

A mikroszatellit markerezés során a fragment analízis kromatogramjait az OSIRIS szoftverben kódoltuk fragmenthosszúságokra, majd az így kapott adat-sorok feldolgozását a GenAlEx prog-


 1. ábra. A mintázott csertölgy (*Quercus cerris* L.) populációk földrajzi helyzete.

3. táblázat. A vizsgált faállományok populációgenetikai mutatói.

Ahol: Pop : a vizsgált populáció azonosítója, n : a mintázott faegyedek száma, H_o : a megfigyelt heterozigózis, H_e : a számított heterozigózis, N_p : az egyedi allélek száma, A_r : az allélgazdagság, F_{IS} : a populáción belüli fixációs index

Pop	n	H_o	H_e	N_p	A_r	F_{IS}
BU1	10	0,236	0,254	2	1,754	0,055
BU4	10	0,231	0,243	3	1,704	0,04
KO1	8	0,234	0,252	4	1,742	0,051
HU2	8	0,241	0,261	0	1,762	0,054
HU4	13	0,241	0,26	0	1,769	0,062
HU5	12	0,242	0,261	0	1,764	0,054
HU6	12	0,253	0,251	1	1,726	0,003
HU7	12	0,239	0,261	0	1,771	0,065

ramban végeztük. A ddRAD-Seq és a sejtmagi mikroszatellit adatsorok felhasználásával klaszterelemzéseket végeztünk, melyeket a fent említett szervezeten, a fastSTRUCTURE és STRUCTURE szoftverek segítségével hajtottuk végre. Mindhárom markerezés során végzett populációgenetikai számításokhoz, valamint az eredmények grafikus ábrázolásához az RStudio szoftvert használtuk. A szintest haplotípusok térképéhez illesztését a QGIS programban végeztük.

Eredmények

A RAD szekvenálás során keletkezett 37 701 348 nyers szekvencia feldolgozása eredményeként 1661 RAD lokuszon összesen 4620 SNP-t találtunk, melyek egyszerre mind a 8 populációban jelen voltak. Ekkor a RAD lokuszok átlagos hossza 327,90 bázisnak adódott. Az utóbbiak alapján átlagosan 118 bázisonként fordult elő egy pontmutáció. A mintázott faállományok pontmutációk

alapján számított populációgenetikai mutatóit a 3. táblázat tartalmazza.

Ezek alapján, a megfigyelt (H_o) és a számított (H_e) heterozigózisok között nincs jelentős különbség, ahogyan ezt az F_{IS} nullához közelítő értéke is jelzi. A populációk egyedei között fennáll a Hardy-Weinberg egyensúly. Ezek arra utalnak, hogy a mintázás megfelelően reprezentálja az adott faállomány genetikai változatosságát (allélgazdagságát).

Az egyedi allélek tekintetében a balkáni populációk összesen 9 egyedi allélt hordoznak, míg a magyar populációk közül csak a zselickisfaludi rendelkezik egyetlen egyedi alléllal.

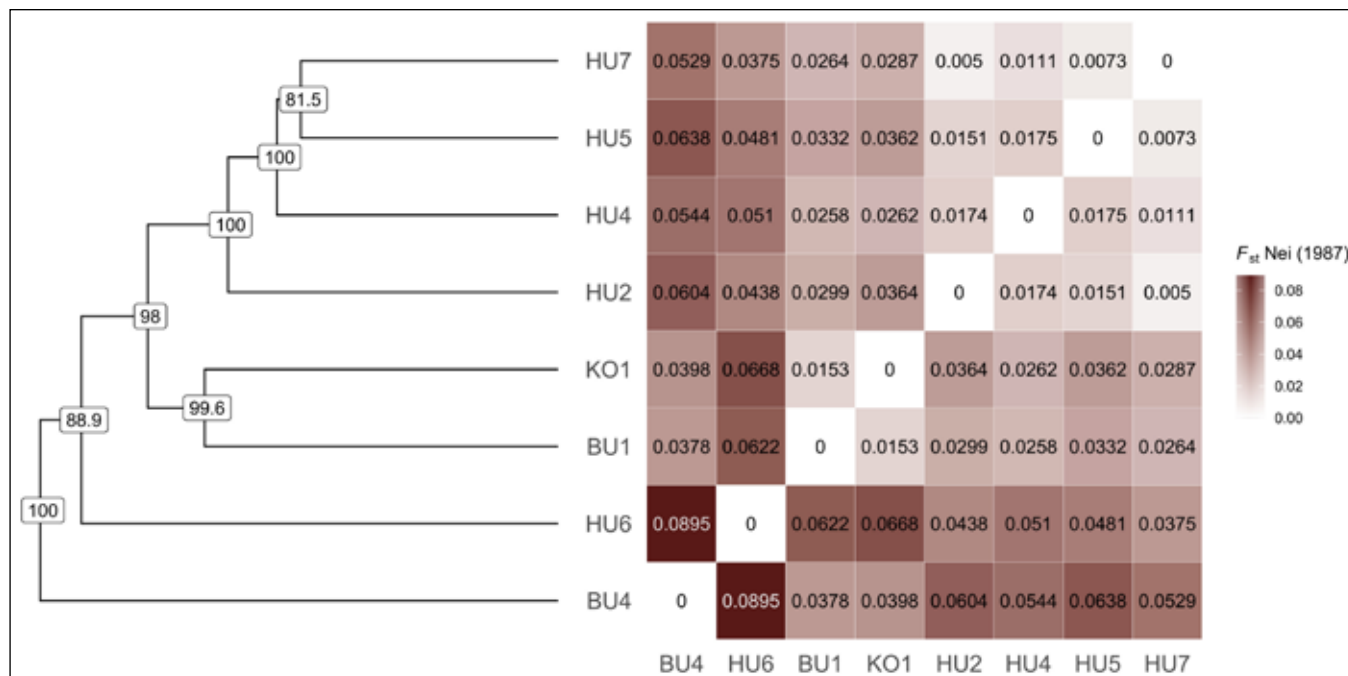
A populációk közötti differenciáltság felmérésére kiszámítottuk a közöttük lévő genetikai távolságokat a Nei (1987)-féle populációk közötti fixációs index (F_{ST}) szerint. A kapott távolságmátrixot hőterkép formájában ábrázoltuk, melyhez hozzákapcsoltuk a távolságok alapján elkészített UPGMA fát,

melyet bootstrap alátámasztással is elláttunk (2. ábra).

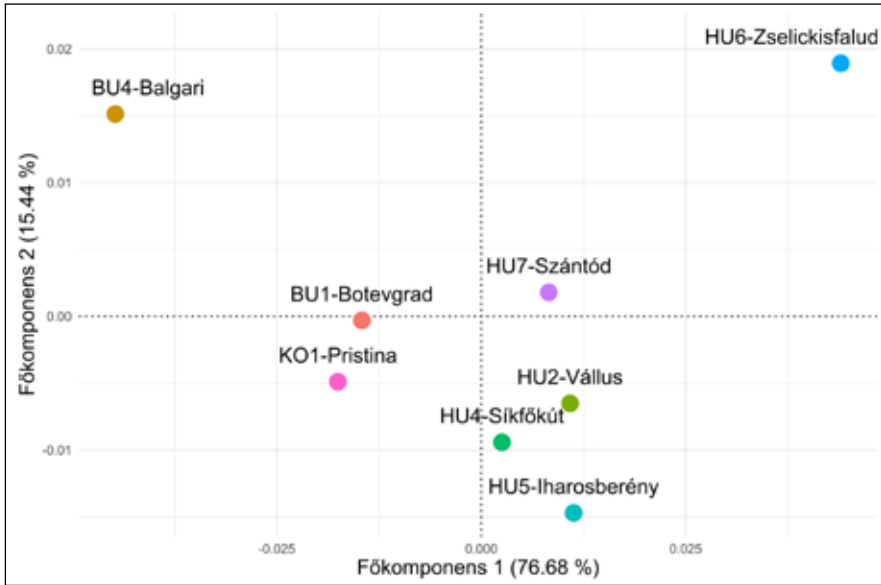
A fa esetén, a nagy felbontóképességű RAD szekvenálás eredményeként a bootstrap alátámasztások értéke meglehetősen magas, a fa elrendezése így megbízhatónak tekinthető.

A HU6 jelű zselickisfaludi populáció helyzete és a többi populációtól számított nagyobb genetikai távolsága nem várt eredmény, hiszen nem a többi magyar populáció közelében helyezkedik el, hanem beékelődik a balkániaiak közé. Ugyanakkor genetikai távolsága ezektől is relatív nagy. A BU4 jelű balgari populáció a Strandzha-hegységből áll a legnagyobb távolságra a többi populációtól, ezeknek külcsoportját képezi.

A genetikai távolságok alapján főkomponens elemzést is végeztünk (3. ábra). Ennek eredményeként szintén megfigyelhető a zselickisfaludi és a balgari populációk többi állománytól különböző helyzete.



2. ábra. Csertőgyő állományok populációgenetikai struktúrája genetikai távolságok alapján



3. ábra. Főkomponens elemzés genetikai távolságok alapján

Ezen kívül észrevehető, hogy az ábra függőleges tengelye az állományokat egy balkáni és egy magyar csoportra osztja. Itt már az is látható, hogy noha az UPGMA fán a zselickisfaludi populáció a balkáni populációk közé illeszkedik be – mely akár azt is sugallhatja, hogy ez az állomány a balkáni populációkhoz állhat közelebb – a főkomponens elemzési eredménye alapján az utóbbi csoporttól is igen távol áll.

A távolság alapú számításaink alátámasztására a pontmutáció és sejtmagi mikroszatellit adatsorok felhasználásával, Bayes-féle valószínűség számításra épülő klaszteranalízist is végeztünk a fastSTRUCTURE és STRUCTURE szoft-

verek segítségével. Ennek eredményeit a 4. ábra szemlélteti.

Az ábra oszlopdiagramjai az egyes populációk egyedei az adott színnel jelzett genetikai csoporthoz való tartozásának valószínűségét mutatják. A vizsgálatok eredményeit kiértékelve az Evanno módszer szerint (Evanno et al., 2005), mind a két markertípus esetén azt találtuk, hogy a populációk elemei (a faegyedek) legnagyobb valószínűséggel három csoportra oszthatók. Az állományok származási helyei szerint jól kirajzolódik egy balkáni és egy magyar csoport, illetve teljesen elkülönülő csoportként jelenik meg a zselickisfaludi populáció egyedeinek többsége.

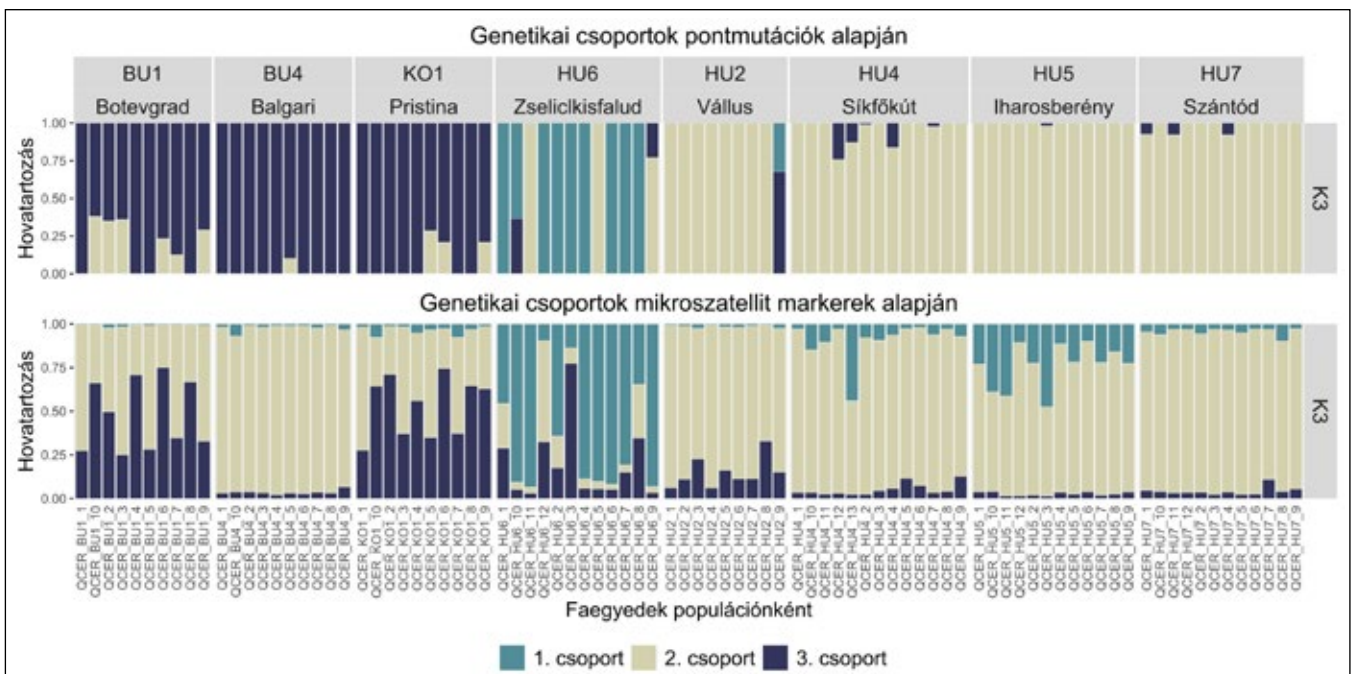
Harmadik megközelítésünkben a populációkban előforduló szintesti DNS haplotípusokat vizsgáltuk, Bagnoli et al. (2016) alapján 6 mikroszatellit markerrel. Ennek eredményeként összesen 5 haplotípust tudtunk azonosítani a vizsgált 8 populációban. Amíg a balkáni populációk mindegyike egyedi haplotípussal rendelkezik, illetve a koszovói állományban két haplotípus is előfordul, addig a magyar populációk egyazon haplotípust hordoznak (5. ábra).

A térképhez illesztett UPGMA fa a szintesti markerekkel számított genetikai távolságok (F_{st}) alapján készült. Eszerint a populációk egy magyar és egy balkáni csoportra oszthatók. A BU4 (Strandzha-hegység) populáció ebben az esetben is elkülönül a másik két balkáni állománytól, habár az elágazás nem rendelkezik kellő mértékű alátámasztottsággal.

Következtetések

A vizsgált populációkban előforduló egyedi allélek száma alapján *markáns különbség rajzolódik ki az állományok között*. Amíg a magyar populációk közül csak a zselickisfaludi rendelkezik egyetlen egyedi alléllal, addig a Délkelet-Európából származó populációkban 9 egyedi allél is kimutatható. Ez a körülmény a balkáni populációk közötti korlátozott génáramlásra, illetve megfordítva a magyar populációk közötti csekély mértékű differenciáltságra utalhat.

A populációkon belüli fixációs index (F_{is}) pozitív, nullához közeli értéke a heterozigózisok egyensúlyát jelzi, és



4. ábra. Klaszteranalízis sejtmagi pontmutáció (SNP) és mikroszatellit markerek alapján

arra enged következtetni, hogy az állományokban nem áll fenn beltenyészet.

A számított genetikai távolságok alapján (F_{st}) kimutatható a BU4 (Strandzha-hegység) populáció relatív távoli helyzete a többi populációtól, ezeknek kulcsoportját képezi. Ugyanez a jelenség megfigyelhető az ugyanitt mintázott kocsánytalan tölgy populáció esetén is (Tóth E. szóbeli közlés), és valószínűleg annak a következménye, hogy ez a terület a legutóbbi jégkorszak során a balkánitól elkülönült refugium lehetett, így génáramlás a populációk között csak korlátozottan működhetett (lásd *Bagnoli et al. (2016)*).

A korlátozott génáramlás következtében a populációkban keletkező mutációk csak ritkán tudnak átjutni egyik populációból a másikba, így bennük egyre több genetikai „különbség” halmozódik

fel. Az egyedi allélek megjelenése szintén erre a jelenségre utalhat. A balkáni populációk esetén az izoláció oka lehet egyrészt a hegységekkel tagolt földrajzi környezet, illetve ezzel együtt a pleisztocén glaciálisok során kialakult több, egymástól elszigetelt refugium.

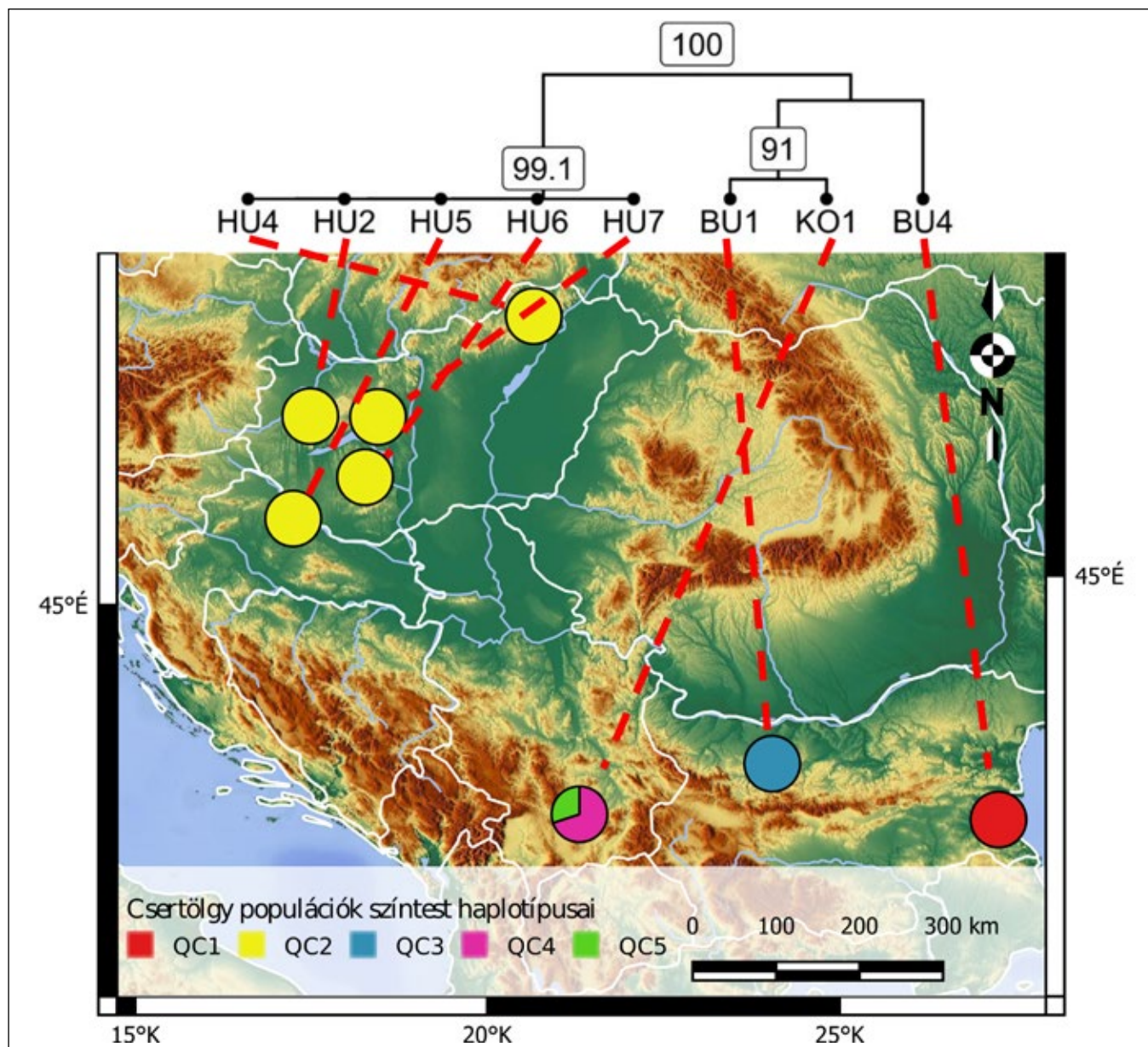
A fentiekkel azonban a HU6 zselickisfaludi populáció markáns elkülönülése nem magyarázható. A pontmutációk alapján számított relatív nagy genetikai távolság, mely következtében a fán távolabb került a magyar populációktól, mint a balkániaktól, arra utal, hogy a populáció egyedei nem helyi eredetűek, távolról kerültek jelenlegi helyükre.

Ezt a feltételezést mindkét sejtmagi markertípussal végzett klaszteranalízis eredményei is megerősítik. A zselickisfaludi állomány egyedeinek nagy része teljesen elkülönülő csoportot alkot a

magyar és a balkáni populációktól. A bemutatott ábrák egyben a két markertípus képességeit is jól szemléltetik. Amíg a nagy felbontó képességű ddRAD-Seq esetén a valószínűség értékek magasak (az oszlopok csaknem egyszínűek) és a csoportok egységeseek, addig a kisebb felbontó képességű mikroszatellit vizsgálat esetén alacsonyabb valószínűségek és kevésbé homogén csoportok láthatók. Utóbbi esetben a BU4 populáció legnagyobb valószínűséggel a magyar csoportba kerül besorolásra.

A szintesti DNS markerezése nemcsak az állományok genetikai távolságára, hanem azok földrajzi származására is enged következtetni, ezáltal tovább árnyalja a sejtmagi markerezés eredményeit.

A tölgyek esetén anyai ágon öröklődő szintesti DNS ugyanis a sejtmagi



5. ábra. A vizsgált csertölgy populációk szintesti haplotípusainak földrajzi elterjedése

DNS-hez képest kevésbé változékony, és földrajzi terjedőképessége is korlátozottabb. Tölgyeink elterjedési területén gyakran nagyobb földrajzi egységek populációi egyazon szintest haplotípuson osztoznak. Erre építve a fajok jégkorszaki refugiumai, illetve az ezekből történő visszavándorlási útvonalak pozíciói körvonalazhatók (Bagnoli et al., 2016; Petit et al., 2002).

Korábban Bagnoli et al. (2016) 6 szintesti mikroszatellit markerrel kiterjedten mintázta a csertölgyet elterjedési területén. Az eredmények alapján a jelenlegi csertölgy populációkat három nagyobb refugium területhez – az Apennin- és Balkán-félszigetbe, valamint Kis-Ázsiához – tudták kapcsolni.

Eredményeik szerint a magyar populációk szinte mindegyike egyazon haplotípust hordozta, melyet mi is azonosítottunk az általunk mintázott populációkban. A haplotípus földrajzi elterjedése a Kárpát-medencétől az Appennini-félsziget irányába követhető vissza, a Balkán-félsziget délkeleti régióiban nem fordul elő. Ez arra utalhat, hogy mai csertölgy állományaink ősei szinte kizárólag az Apennin refugium irányából vándoroltak a Kárpát-medence belsejére.

A zselickisfaludi populáció magyar populációkkal azonos szintest haplotípusa annak a jele, hogy noha a sejtmagi markerek alapján a többi magyar populációtól távol áll, mégis azokkal megegyező refugium területéről származhat. Ez azt jelenti, hogy a populáció szaporítóanyaga a múltban az Appennini-félsziget irányából kerülhetett a Zselicbe.

A szaporítóanyag idegen eredetét tovább erősíti, hogy az állomány múltjának kutatása során rábukkantunk a Habsburg Birodalom kataszteri térképén (Timár & Biszak, 2010) arra, hogy az állomány helyén a 19. század végén szénégető működött, így a terület akkoriban szinte biztosan fátlan volt, a szaporítóanyagnak tehát mesterségesen kellett a helyszínre kerülnie.

Kutatásunk következő fázisában a már meglévő mintakészletünket tovább szeretnénk bővíteni az elterjedési terület más populációinak mintáival. Így a fajok populációgenetikai jellemzői még nagyobb felbontásban lesznek vizsgálhatók, illetve lehetőségünk nyílik a genotípusok és környezeti paraméterek asszociációs vizsgálataira is.

A ma több mint százéves zselickisfaludi állományra érdemes lenne több figyelmet fordítani, hiszen tanulmányozásával egyedülálló lehetőségünk nyí-

na a távolsági szaporítóanyag-mozgatás hosszútávú hatásainak vizsgálatára. A kibővített mintakészletre támaszkodva a jövőben következtetni lehetne akár a közelebbi származási helyére is.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás terepi és laboratóriumi feladataiban végzett munkájukért szeretnék köszönetet mondani dr. Benke Attilának, dr. Cseke Klárának, Farkas Máténak, dr. Köbölkuti Zoltánnak, Molnár Csillának, dr. Móricz Norbertnek, dr. Nagy Lászlónak, dr. Németh Tamásnak és dr. Tóth Endrének.

Köszönet illeti továbbá a Bakonyerdő Zrt., SEFAG Zrt. erdőgazdaságokat, Hoffmann Pál erdészeti igazgató urat és az erdőgazdaságok munkatársait, akik számunkra a mintagyűjtéseket lehetővé tették.

Szeretném megköszönni továbbá dr. Mészáros Ilonának, hogy a Debreceni Egyetem Síkfőkút Projektjének területéről gyűjtött mintákkal hozzájárult vizsgálatainkhoz.

A kutatás részben a Kaán Károly Projekt (EVGF/549/2018, EGF/178/2019) finanszírozásában valósult meg. 🌱

Nyitókép illusztráció:
woodlandtrust.org.uk

Felhasznált irodalom

- Bagnoli, F., Tsuda, Y., Fineschi, S., Bruschi, P., Magri, D., Zhelev, P., Paule, L., Simeone, M. C., González-Martínez, S. C., & Vendramin, G. G. (2016). Combining molecular and fossil data to infer demographic history of *Quercus cerris*: insights on European eastern glacial refugia. *Journal of Biogeography*, 43(4), 679-690.
- Catchen, J., Hohenlohe, P. A., Bassham, S., Amores, A., & Cresko, W. A. (2013). Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular ecology*, 22(11), 3124-3140.
- Chen, Z., Grossfurthner, L., Loxterman, J. L., Masingale, J., Richardson, B. A., Seaborn, T., Smith, B., Waits, L. P., & Narum, S. R. (2022). Applying genomics in assisted migration under climate change: Framework, empirical applications, and case studies. *Evolutionary Applications*, 15(1), 3-21.
- Davey, J. W., & Blaxter, M. L. (2010). RADSeq: next-generation population genetics. *Briefings in Functional Genomics*, 9(5-6), 416-423.
- European Commission. (2021). New EU Forest Strategy for 2030. Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions, COM(2021) 572 Final.
- 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.
- Gálos, B., & Führer, E. (2018). A klíma erdészeti célú előrejelzése. *Erdészettudományi Közlemények*, 8, 43-55.
- Hlásny, T., Mátyás, C., Seidl, R., Kulla, L., & Merganicová, K. (2014). Climate change increases the drought risk in Central European forests: what are the options for adaptation? *LESNICKY CASOPIS-FORESTRY JOURNAL*, 60, 5-18.
- IPCC. (2022). *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (H.-O. Pörtner, D. C. Roberts, M. Tignor, E. S. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegria, M. Craig, S. Langsdorf, S. Löschke, V. Möller, A. Okem, & B. Rama, Eds.). Cambridge University Press. In Press.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press.
- Parchman, T. L., Jahner, J. P., Uckele, K. A., Galland, L. M., & Eckert, A. J. (2018). RADseq approaches and applications for forest tree genetics. *Tree Genetics & Genomes*, 14(3), 1-25.
- Petit, R. J., Brewer, S., Bordács, S., Burg, K., Cheddadi, R., Coart, E., Cottrell, J., Csaiikl, U. M., van Dam, B., & Deans, J. D. (2002). Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management*, 156(1-3), 49-74.
- Rochette, N. C., Rivera-Colón, A. G., & Catchen, J. M. (2019). Stacks 2: Analytical methods for paired-end sequencing improve RADseq-based population genomics. *Molecular ecology*, 28(21), 4737-4754.
- Timár, G., & Biszak, S. (2010). Digitizing and georeferencing of the historical cadastral maps (1856-60) of Hungary. 5th international workshop on digital approaches in cartographic heritage. Vienna, Austria.
- Tóth, E. G., Köbölkuti, Z. A., Cseke, K., Kámpel, J. D., Takács, R., Tomov, V. T., Ábrán, P., Stojnic, S., Vastag, E., & Mataruga, M. (2021). A genomic dataset of single-nucleotide polymorphisms generated by ddRAD tag sequencing in *Q. petraea* (Matt.) Liebl. populations from Central-Eastern Europe and Balkan Peninsula. *Annals of Forest Science*, 78(2), 1-13.
- Vitt, P., Havens, K., Kramer, A. T., Sollenberger, D., & Yates, E. (2010). Assisted migration of plants: changes in latitudes, changes in attitudes. *Biological conservation*, 143(1), 18-27.