

# SZÁRAZSÁGTŰRÉSBEN SZEREPET JÁTSZÓ SNP-K AZONOSÍTÁSA KOCSÁNYTALAN TÖLGY POPULÁCIÓKBAN: ALAPKUTATÁSI EREDMÉNYEK A FENNTARTHATÓ TÖLGYGAZDÁLKODÁSÉRT

Benke Attila, Köbölkuti Zoltán Attila, Cseke Klára, Borovics Attila és Tóth Endre György

*Soproni Egyetem, Erdészeti Tudományos Intézet, Nemesítési Osztály*

## Kivonat

Állományalkotó fajaink genetikai állományban fellelhetők az alkalmazkodási folyamatok lenyomatai, amelyek fontos ismereteket szolgáltathatnak a klímaadaptációt segítő erdőművelési stratégiák meghatározásához. Jelen kutatásunk során 18 közép- és délkelet-európai kocsánytalan tölgy [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.] populáció egyedeiben kimutatott SNP-k (egyponos nukleotid eltérések) és zárva termő növények genomjában meghatározott, szárazságtűréssel kapcsolatba hozható szekvenciák kocsányos tölgy (*Quercus robur* L.) referencia genomra történő térképezését végeztük el, meghatározva így azon SNP-k csoportját, amelyek kapcsolatba hozhatók a szárazsági stresszválaszban szerepet játszó folyamatokkal. A kiugró  $F_{ST}$  értékkel bíró marker lokuszok és összesen 94 klimatikus változó bevonásával végzett regresszióanalízis során 16 erősen szignifikáns kapcsolatot mutattunk ki egyes génhelyek és néhány, csapadék vagy hőmérséklet alapú környezeti változó között. A szárazság szelekció alatt álló SNP-k kimutatása számos további, a fenntartható tölgygazdálkodást megalapozó kutatás alapját képezheti a jövőben.

*Kulcsszavak:* kocsánytalan tölgy, SNP marker, szárazság szelekció, genom-környezet asszociáció

## IDENTIFICATION OF SNP MARKERS RESPONSIBLE FOR DROUGHT TOLERANCE IN SESSILE OAK POPULATIONS: RESULTS OF BASIC RESEARCH FOR SUSTAINABLE OAK MANAGEMENT

### Abstract

The genetic information concerning the adaptation of main tree species to different environmental conditions could provide considerable knowledge to determine forest management responses to climate change. In the present study, we carried out a parallel mapping of SNP markers revealed in 18 Middle- and Southeast-European sessile oak [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.] populations and EST sequences of stress-responsive loci downloaded from an EST repository to determine the group of those SNPs, which are associated with the genetic background of adaptation processes in oaks. Regression analysis revealed 16 significant correlations between four outlier SNP loci representing high  $F_{ST}$  values and 94 climatic variables. All variables with significant correlations were found to be related to precipitation or temperature. The stress-responsive loci identified in this study may serve as a basis for common research to support future sustainable management of sessile oak in Hungary.

*Keywords:* sessile oak, SNP markers, drought selection, genotype-environment association (GEA)

Levelező szerző/Correspondence:

Benke Attila, H-9600 Sárvár, Várkerület 30/A., E-mail: [benke.attila@uni-sopron.hu](mailto:benke.attila@uni-sopron.hu)



## BEVEZETÉS

A jellemzően közép-európai elterjedési súlyponttal bíró, és a szubmontán zónát előnyben részesítő kocsánytalan tölgy [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.] a hazai dombvidéki és középhegységi erdőgazdálkodás legjelentősebb fafaja, faállományterülete az akácot és a csertölgyet követően a harmadik legnagyobb az országban (Keresztesi 1971, Majer 1972, Gencsi & Vancsura 1997, Nagy 2021). A mérsékelt melegigényes, mezofil jellegű, hazánkban elsősorban savanyú alapkőzetben előforduló fafaj kiemelkedő erdészeti jelentősége, valamint a csertölgyével közel azonos páraigénye miatt vált az erdészeti klímazónák tölgyes klímáinak klímajelző növényévé (Járó 1966, Járó 1972). Tekintettel arra, hogy hazánk klimatikus adottságainak változása az erdészeti klímazónák kiterjedését is befolyásolja, a kocsánytalan tölgy alkotta állományok növekedésének, összetételének, szerkezetének, egészségi állapotának, végső soron a fafaj hazai elterjedésének, erdőgazdálkodásunkban betöltött jelentőségének változásával is számolnunk kell a jövőben.

A klímaváltozás európai erdőkre gyakorolt hatásával számos tanulmány foglalkozott, előre jelezve, esetenként konstatálva is az egyes erdőzónák klímakövető elmozdulását, az erdőtársulások szerkezetének átalakulását, egyes fajok veszélyeztetettségének jövőbeni várható növekedését, valamint elterjedésének változását (Beckage et al. 2008, Stojanovich et al. 2014, Machar et al. 2017, Rubel et al. 2017, Chakraborty et al. 2021). A magyarországi vizsgálatok, összhangban a nemzetközi kutatási eredményekkel, jelentős változásokat jeleznek előre a hazai erdőállományok összetételét illetően. A klímaérzékeny állományalkotó fajok közül 2100-ig a bükk (*Fagus sylvatica* L.), valamint a kocsánytalan tölgy elterjedésének erőteljes változása várható az ország területén, az általuk dominált erdőállományok területének jelentős csökkenésével (Rasztovits et al. 2012, Czúcz et al. 2013, Móricz et al. 2013). Az erdészeti kutatásnak (beleértve az erdészeti genetikát is) egyik legfontosabb jelenkori feladata ezért megoldást találni a nagy területen várható erdőállapot leromlások megakadályozására, de legalábbis mérséklésére.

A molekuláris genetika és az erdészeti nemesítés közötti kapcsolat fontosságának hazai felismerése a nemzetközi kutatási eredményekkel összhangban már a múlt század végén megtörtént, kiemelve azon genetikai markerek fontosságát, amelyek kapcsolatba hozhatók egyes termőhelyi paraméterekkel (Ujváriné Jármay 1988), de felhívva a figyelmet az alkalmazkodóképességet meghatározó genetikai változatosság felmérésének fontosságára is (Mátyás 1999).

Két egyed genetikai állománya közötti különbség leggyakoribb formája a DNS egy bázisbeli eltérése, melynek angol nevének kezdőbetűiből alkotott mozaikneve az SNP (Single Nucleotide Polymorphism; Shastry 2009). Az SNP alapú genetikai markereket széleskörűen alkalmazzák a növénygenetikai kutatásokban, így többek között géntérképezésben, populációgenetikai vizsgálatokban és filogenetikai kutatásokban egyaránt (Rafalski 2002). Egyre szélesebb körű alkalmazásukhoz nagyban hozzájárult a nagy felbontóképességű – ezáltal több SNP kimutatására alkalmas – újgenerációs szekvenálási technikák fejlődése (Batley & Edwards 2007). E módszerek egyike az úgynevezett RAD-seq eljárás, amely az újgenerációs DNS szekvenálást és a restrikciós endonukleázokkal történő DNS darabolást ötvözi, és ezáltal nagyszámú SNP egyidőben, gyorsan és költséghatékonyan történő azonosítását teszi lehetővé (Baird et al. 2008). A módszer két endonukleáz szimultán alkalmazásán alapuló változatát (double digest vagy ddRAD-seq) alkalmazva készítették SNP adatbázist Tóth et al. (2021), 18 közép- és délkelet európai kocsánytalan tölgy populáció összesen 180 egyedét elemezve. Az említett vizsgálat nem csak

a kijelölt populációk genetikai diverzitásának feltárására nyújtott lehetőséget, de kiváló alapot biztosít a kocsánytalan tölgy különböző környezeti paraméterekhez való alkalmazkodásának, ezáltal jövőbeni elterjedésének elemzéséhez is. De ugyancsak ddRAD-seq módszert alkalmazva készítettek kutatók vörös tölgy (*Quercus rubra* L.) géntérképet (Konar et al. 2017), azonosítottak SNP markereket *Juniperus turbinata* Guss. fajon (García et al. 2018), illetve kocsányos (*Quercus robur* L.) és kocsánytalan tölgy közel a teljes areát lefedő populációinak egyedeiből (Blanc-Jolivet et al. 2020).

Jelen kutatásunk célja közép- és délkelet-európai kocsánytalan tölgy populációkban előző munkánk során azonosított SNP lokuszok különböző környezeti paraméterekkel való asszociáltatása volt, annak érdekében, hogy felfedjük, mely lokuszok állnak környezeti, elsősorban szárazság szelekció alatt. A környezeti szelekció által előidézett genetikai változások alkalmasak lehetnek az egyes populációk környezeti alkalmazkodóképességének értékelésére, ami a magyarországi kocsánytalan tölgy gazdálkodás jövőbeni, szaporítóanyag forrás oldaláról történő fejlesztéséhez nyújthat tudományos alapú segítséget.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

Munkánk során a *Quercus petraea* természetes elterjedési zónáján belül elhelyezkedő, eltérő klimatikus feltételek között tenyésző, elsősorban dél-kelet-európai populációk természetes eredetű, legalább középidős (70 év feletti) állományainak vizsgálatára törekedtünk. A vizsgálatokra összesen 18 populációt választottunk ki Bulgária, Magyarország, Románia, Szerbia, Bosznia-Hercegovina, Koszovó és Albánia területén, melyek mintázását 2019 során végeztük el (a mintagyűjtési helyek listáját az 1. táblázat tartalmazza, elhelyezkedésüket az 1. ábra szemlélteti). A választott markertípusra (SNP) tekintettel populációnként 10 egyedéről gyűjtöttünk friss levélmintákat (összesen 180 egyed mintázása történt meg), abból a megfontolásból, hogy nagyszámú marker együttes elemzése alacsony mintaszám (akár 6-8 egyed) esetén is alkalmas a populációkon belüli genetikai diverzitás felmérésére (Nazareno et al. 2017).

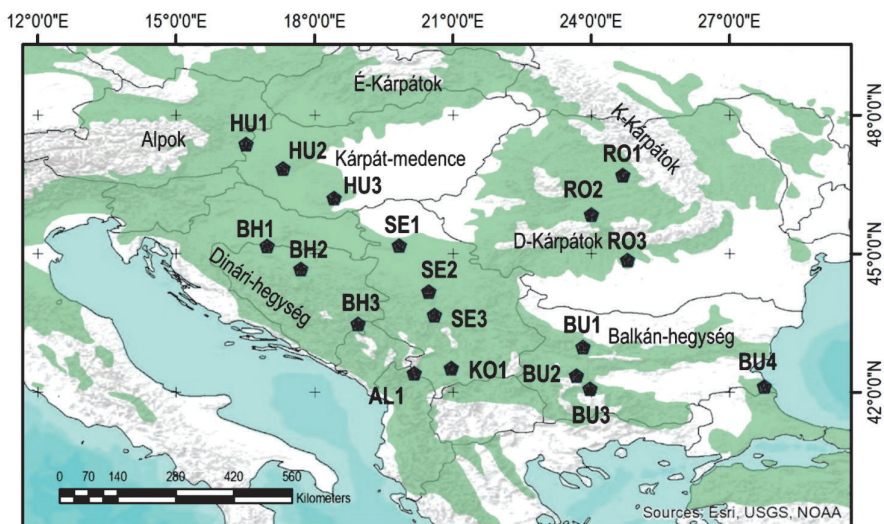
A kiválasztott állományokban, melyekben minden esetben a kocsánytalan tölgy volt az uralkodó faj, egymástól legalább 30 méter távolságban álló, felső lombkoronaszintbe tartozó egyedeket mintáztunk. Munkánk során törekedtünk a kocsánytalan tölgy fajcsoporton belül is a szűken értelmezett, *petraea* típusú egyedek mintázására, ugyanakkor állomány szinten természetesen előfordulhattak más, a tágan értelmezett kocsánytalan tölgy fajkomplexbe tartozó fajok is a kiválasztott területen, így például a Dalechamp-tölgy (*Quercus dalechampii* Ten.) vagy az erdélyi kocsánytalan tölgy (*Quercus polycarpa* Schur).

Az eltérő földrajzi régiókból származó mintákat ddRAD-tag szekvenálás (ddRAD-seq) alkalmazásával genotipizáltuk. A szekvenálás MiSeq Sequencing System (Illumina, San Diego, CA, USA) platformon történt, a gyártó protokollja alapján. A mintavételi stratégiáról és a genotipizálás menetéről részletes információ található Tóth et al. (2021) által közölt publikációban.

1. táblázat: A mintavételi helyek fontosabb földrajzi adatai (rövidítések: Bosznia-Hgv. – Bosznia-Hercegovina; Tszfm. – tengerszint feletti magasság)

Table 1: Geographical data of sampling sites (abbreviations: Bosznia-Hgv. – Bosnia and Herzegovina; Tszfm. – altitude)

Pop.	Ország	Helység	Földrajzi régió	Keleti szélesség	Nyugati hosszúság	Tszfm.
AL1	Albánia	Bajram Curri	Djeravica-hegy	42.407°	20.168°	454 m
BH1	Bosznia-Hgv.	Kozarska Dubica	Kozara-hegység	45.157°	16.979°	311 m
BH2	Bosznia-Hgv.	Teslic	Javorova-hegy	44.662°	17.706°	440 m
BH3	Bosznia-Hgv.	Foca	Maglic-hegy	43.476°	18.946°	985 m
BU1	Bulgária	Botevgrad	Balkan-hegység	42.980°	23.826°	601 m
BU2	Bulgária	Samokov	Rila-hegység	42.353°	23.686°	950 m
BU3	Bulgária	Velingrad	Rhodope-hegység	42.073°	23.977°	1172 m
BU4	Bulgária	Balgari	Strandzha-hegység	42.117°	27.766°	211 m
HU1	Magyarország	Kőszeg	Kőszeg-hegység	47.371°	16.524°	351 m
HU2	Magyarország	Vállus	Bakony-hegység	46.835°	17.319°	374 m
HU3	Magyarország	Zengővárkony	Mecsek-hegység	46.200°	18.432°	372 m
KO1	Koszovó	Vershec	Sharr-hegység	42.513°	20.968°	787 m
RO1	Románia	Gernyeszeg	Görgényi-havasok	46.694°	24.692°	438 m
RO2	Románia	Kicsőr	Fogaras-hegység	45.839°	24.007°	508 m
RO3	Románia	Ciocănaï	Fogaras-hegység	44.853°	24.793°	455 m
SE1	Szerbia	Fruška Gora	Fruska Gora-hegység	45.172°	19.839°	208 m
SE2	Szerbia	Kragujevac	Rudnik-hegység	44.172°	20.488°	578 m
SE3	Szerbia	Kraljevo	Stovoli-hegység	43.667°	20.603°	414 m



1. ábra: A vizsgált kocsánytalan tölgy populációk elhelyezkedése. Forrás: Tóth et al. 2021  
Figure 1: The location of sessile oak populations investigated. Source: Tóth et al. 2021

## Szekvenciák szerkesztése és térképezése

A vizsgálat során előállított mintegy 77 millió nyers ddRAD-tag szekvenciát a bioinformatikai feldolgozás során demultiplexeltük, a szekvenáláshoz használt adapter régiókat eltávolítottuk. A szekvenciák 3' és 5' végét FastQ Toolkit (MiSeq Control Software, San Diego, CA, USA) segítségével levágtuk. A rövid szekvencia olvasatok további feldolgozását Stacks 2.0 szoftverrel (Catchen et al. 2013, Rochette et al. 2019) végeztük. Első lépésben, a szekvenciákat Phred érték alapján (<90%) és úgynevezett csúszó-ablak módszerrel szűrtük, eltávolítva a szekvencia hossz 15%-nál rövidebb szekvenciákat. Ezt követően az olvasatokat 200 bp-ra vágtuk, ami előfeltétele volt a további feldolgozásnak. Az adatfeldolgozás e fázisában egy egyed (BU2-10) a további értékelésből kizártunk, lévén hogy esetében a szűréseket követően nem maradt elegendő számú, megfelelő minőségű szekvencia.

Az így nyert szekvenciákat a kocsányos tölgy esetében meghatározott referencia genomra (*Quercus robur*, PM1N [haploid version]; <http://www.oakgenome.fr>; Plomion et al. 2018) térképeztük (mapping) BWA-MEM v0.7.17 szoftver (Li 2013) segítségével, majd a térképezett szekvenciákból lókusztokat építettünk. Ezeket minőségi paraméterek alapján tovább szűrtük, egy további keresést lehetővé tevő, ún. 'query' adatbázist hozva ezáltal létre. Összességében hozzávetőleg 64 millió szekvenciát térképeztünk, átlagosan 92%-os sikerességgel.

## Lókusztok stressz-válasz annotációja

A korábbi lépésekkel párhuzamosan adatbázist építettünk a stresszválaszban szerepet játszó, rövid, átíródott szekvenciákból (EST; expressed sequence tags). Ehhez, a „rentrez” csomag (Winter 2017) segítségével R programban (R Core Team 2021) valódi kétszikűekben azonosított és szárazságstresszel összefüggésben lévő EST-eket töltöttünk le (598888 EST szekvenciát) az NCBI adatbázisból (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). A szekvenciákat szűrtük, majd szekvencia-kontigokat állítottunk elő az EGAssembler (Masoudi-Nejad et al. 2006) használatával. Ezt követően a lókusztokat kifejezetten a mRNS és EST szekvencia-térképezéshez tervezett GMAP szoftver segítségével *Quercus robur* genomra térképeztük (Wu & Watanabe 2005). A térképezésnél a „fajok közötti” opciót alkalmaztuk és a legnagyobb lefedettséget biztosító CDS (kódoló) szekvenciákat tartottuk meg. A térképezés eredményét minden egyed esetében az Integrative Genomics Viewer (IGV) szoftverrel ellenőriztük (Robinson et al. 2011).

## ddRAD-tag térképezés és variánskivonatolás

A CDS szekvenciákat a korábban referencia genomra térképezett ddRAD-tag szekvenciákkal egy ismételt térképezés során vetettünk össze. Erre a lépésre azért volt szükség, mert csak azokkal a lókusztokkal kívántunk tovább dolgozni, amelyek szárazságstresszel kapcsolatos genetikai folyamatokban játszanak szerepet. A kapott szekvenciákból a Stacks programmal lókusztokat rekonstruáltunk, majd a lókusztokban található nukleotid polimorfizmusokból katalógust készítettünk (Catchen et al. 2013, Rochette et al. 2019). E lépést a variánskivonatolás követte (variant calling), mely által



olyan SNP-eket kaptunk, amelyek kizárólag szárazság gének kódoló szekvenciáiban vannak jelen. Az SNP-eket  $MAF < 0,01$  és Hardy–Weinberg egyensúlytól való eltérés (HWE,  $p < 1e^{-16}$ ) alapján szűrtük (Xiong et al. 2009, Marees et al. 2018).

## Genetikai struktúra és diverzitás

A genetikai csoportokat a fastStructure v 1.0 szoftver Bayes-féle klaszterező algoritmusával határoztuk meg (Raj et al. 2014). A fastStructure alapértelmezett beállításokkal és 100-szoros keresztellenőrzéssel futott a 179 mintán, tesztelve az egyedek posterior valószínűségét minden becsült genetikai csoportban,  $K = 2$  és 9 között. Emellett R-ben főkomponens-analízist (PCA) is végeztünk a „hierfstat” és a „FactoMineR” csomagok segítségével (Goudet 2005; Lê et al. 2008).

A várható heterozigóciát ( $H_e$ ), a megfigyelt heterozigóciát ( $H_o$ ) valamint a beltenyésztési együtt-hatót ( $F_{IS}$ ) az „adegenet” R csomag segítségével minden egyes populációra és minden egyes genetikai klaszterre kiszámítottuk (Jombart & Ahmed 2011). Az egyedi allélok számát (PA) a „poppR” R csomag segítségével határoztuk meg (Kamvar et al. 2014). A populációk és klaszterek közötti genetikai differenciálódást  $F_{ST}$ -vel mértük (Nei 1973), amit a „hierfstat” csomag segítségével páronként számítottunk (Goudet 2005).

## $F_{ST}$ kiugró értékek (outlier-ek) azonosítása és környezeti asszociáció

A szelekció alatt álló SNP-k meghatározásához három eltérő kiugró érték (outlier) detektálási szoftvert használtunk ( $F_{ST}$  alapú és Bayes-féle algoritmuson alapuló egyaránt), az Arlequin (Excoffier et al. 2009), a BayeScan (Foll & Gaggiotti 2008) és a PCAdapt (Luu et al. 2017) implementációit. Az eredmények értékelésénél csak az együttesen szignifikáns eredmény esetében tekintettünk egy lókuszt szelekció alatt állónak. Az így azonosított SNP-eket környezeti változókkal asszociáltattuk (GEA; genotípus-környezet asszociáció). Ehhez 94, havi, szezonális és éves környezeti változót választottunk a WorldClim 1.4 és az ENVIREM 1.0 adatbázisokból (Hijmans et al. 2005, Title & Bemmels 2018). Emellett a környezeti változók PCA komponenseivel is bővítettük a bioklimatikus változók adatsorát. A teljes adatsort multikollinearitásra szűrtük ( $r^2 < 0.8$ ). Az elemzést négy regressziós módszerrel végeztük el [látens faktor kevert modell (Latent Factor Mixed Model – LFMM; Frichot et al. 2013, egytényezős varianciaanalízis (Single Factor Analysis of Variance – SFA), általánosított lineáris modell (General Linear Model – GLM), kevert lineáris modell (Mixed Linear Model – MLM); Bradbury et al. 2007). Az eredmények közül csak azt a kapcsolatot fogadtuk el, amely legalább három módszer esetében szignifikánsnak bizonyult.

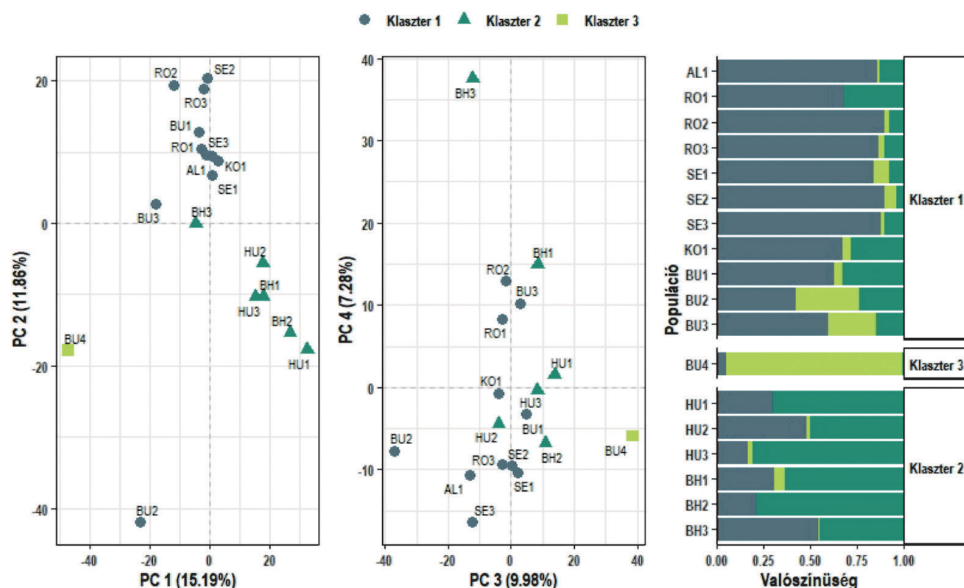
## EREDMÉNYEK ÉS MEGVITÁSUK

Az Illumina szekvenálás során nyert, majd különböző feltételek szerint szűrt rövid szekvencia olvasatok (short read szekvenciák) kocsányos tölgy genomra történt térképezése összesen 4521 polimorf lókuszt és 7385 SNP-t eredményezett. A szárazság szelekció alatt álló SNP-k meghatáro-

zása érdekében végzett EST térképezés a 198565 darab RAD lókuszt esetében 17,38%-os sikerességgel történt meg; az eredmények szűrését követően 180 lókuszhhoz tartozó 545 darab, igazoltan szárzságstresszel kapcsolatba hozható, magas polimorfizmust mutató SNP-t kaptunk az általunk vizsgált 18 populáció 179 egyedében (a BU2-es populációból egy egyed kizárásra került a vizsgálatokhoz szükséges minőségű szekvencia nem megfelelő száma miatt).

Mind a kocsányos tölgy genomra térképezett SNP-k, mind a szárzság szelekció alatt állók esetében végzett fastStructure elemzés során egyaránt 3 különálló csoport (klaszter) létét feltételeztük, megegyező összetétellel: az Erdélyben, Havasalföldön, Bulgáriában (1-3. számú populációk), Szerbiában, Albániában és Koszovóban mintázott populációk alkották az 1-es klasztert, a Magyarországon és Bosznia-Hercegovinában vizsgált populációk a 2-es számút, míg a 3. klaszterbe a legkeletibb elhelyezkedésű 4-es számú bulgáriai populáció került egyedülként (2. ábra). A klaszterelemzés eredményeivel jól társíthatók voltak az SNP adatsorokon végzett főkomponens elemzés eredményei: az első két főkomponens értékekkel ábrázolt populációk egymáshoz viszonyított távolsága, elhelyezkedése ugyancsak három jól elkülöníthető csoport létét igazolta (2. ábra).

A fastStructure programmal feltárt populációösszetétel az 1-es és 3-as klaszterek esetében egy észak-déli gradiens létét feltételezi, amelynek mentén északra haladva fokozatosan veszítenek dominanciájukból a déli jellegű genetikai mintázattal rendelkező egyedek. A klaszterek összetétele, genetikai távolsága ily módon megfeleltethető a tölgyfajok utolsó jégkorszakot követő feltételezett vándorlási mintázatával, mely szerint a Balkán-félszigeten kialakult elsődleges refúgiumokból nemcsak észak és kelet felé indult meg a populációk terjeszkedése, hanem ezzel párhuzamosan egy nyugati irányú elmozdulás, vándorlás is végbement (Zanetto & Kremer 1995, Petit et al. 2002, Bordács et al. 2002, Slade et al. 2008).



2. ábra: A populációk SNP alléllösszetétel alapú varianciaanalízisének, valamint fastStructure modellezésének eredménye (klaszterösszetétel és szerkezet)

Figure 2: Analysis of variance based on the allelic composition of sessile oak populations and fastStructure modelling results (cluster composition and structure)



Az egyes populációk, illetve klaszterek közötti genetikai differenciáltság csekély mértékű volt ( $F_{ST} = 0,001-0,110$ , illetve  $0,020-0,070$ ). A három klaszter közül a 3-as mutatott jelentősebb elkülönülést az  $F_{ST}$  értékek alapján, de a differenciáltsági értékek nem utalnak mérvadó izolációra e klaszter esetében sem ( $F_{ST(K1-K3)} = 0,070$ ,  $F_{ST(K1-K2)} = 0,060$ ). Az 1-es és 2-es klaszter közötti genetikai differenciáltság ténylegesen csekélynek tekinthető ( $F_{ST(K1-K2)} = 0,020$ ). A differenciáltsági értékekhez hasonlóan a Nei-féle genetikai távolság is kisebb genetikai elkülönülést mutatott az 1-es és 2-es klaszterek között, a 3-as klaszterhez viszonyítva. Összességében a vizsgált populációk között megfigyelt csekély mértékű genetikai differenciáltság összhangban van a nagy areával rendelkező fajok esetében tapasztalt értékekkel (Hamrick et al. 1992).

Az egyes populációk genetikai változatossága kiegyenlítettnek tekinthető, mind a várt ( $H_e = 0,188-0,288$ ) és a megfigyelt heterozigóciát ( $H_o = 0,189-0,229$ ), mind az átlagos allélszámot ( $A_{\text{mean}} = 1,667 - 1,850$ ) alapul véve. Megjegyzendő ugyanakkor, hogy a legalacsonyabb diverzitásértékek a BU4-es számú populációhoz tartoznak, egyben a legmagasabb populáción belüli differenciáltság érték is e populációt jellemezte ( $F_{IS} = 0,46$ ). Egyedi allélt kizárólag a magyarországi 3-as populáció esetében mutattunk ki.

Amint azt az Anyag és módszer fejezetben ismertettük, a kiugró (outlier)  $F_{ST}$  értékek kiválasztása során csak azokat vettük figyelembe, melyek mindhárom detektálási módszer esetében szignifikánsnak bizonyultak. Ezek alapján összesen négy lókuszt nyolc SNP-jét (markerjét) találtuk szelekció alatt állónak. A szelekció mind a négy esetben pozitívnak bizonyult, ami azt jelenti, hogy a szelekció az adott allél fennmaradását, így a genetikai differenciáltság növekedését segíti. Ezen allélek szerepe a környezeti alkalmazkodási folyamatokban tehát igazoltnak tekinthető.

A környezeti változók és az SNP mintázatok kovarianciájának értékelésére alkalmazott négy statisztikai módszer összesen 73 szignifikáns kapcsolatot tárt fel az egyes környezeti paraméterek, illetve a pozitív szelekció alatt álló SNP-k között. Tekintettel arra, hogy csak azokat a kapcsolatokat tekintettük ténylegesen elfogadhatónak, melyek szignifikanciáját legalább három statisztikai módszer alátámasztotta, az igazolt ökológiai jellemző-SNP kapcsolatok száma 16 lett (2. táblázat).

A 2. táblázatban szereplő adatok alapján megállapítható, hogy a regresszió vizsgálatához felhasznált éghajlati adatok közül a legcsapadékosabb negyedév átlaghőmérséklete (bio8\_16) mutatta a legmarkánsabb kapcsolatot a szelekció alatt álló SNP lókuszekkel (mind a négy lókusszal szignifikáns volt a kapcsolata). Emellett a május hónap átlagos csapadékmennyisége (prec5\_16) tekinthető meghatározónak, ami három SNP lókusszal mutatott szignifikáns kapcsolatot, de jelentősnek tekinthető még a legcsapadékosabb negyedév átlagos havi evapotranspirációja, a legszárazabb hónap átlagos csapadékösszege, valamint a legszárazabb negyedév átlagos csapadékösszege is, melyek egyaránt a 9. főkomponens meghatározó (5% feletti) változói voltak (a PC9 szintén három lókusszal mutatott erős korrelációt). Kiemelendő, hogy valamennyi, szignifikáns kapcsolatot mutató környezeti faktor szélsőséges csapadékjárású időszakokhoz köthető, vagyis a legcsapadékosabb és csapadékban legszegényebb periódusok klimatikus viszonyai, valamint az azokban beálló változások bírnak magas szelekciós hatással.



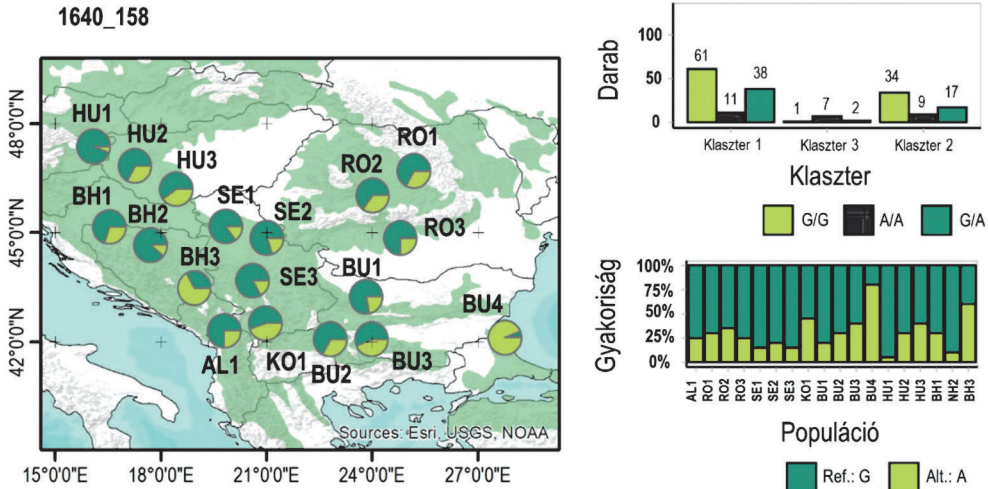
2. táblázat: Az egyes szárazság szelekció alatt álló markerek és környezeti változók közötti kapcsolat négy statisztikai módszerrel végzett elemzés eredményei alapján (jelmagyarázat: **bio8\_16**: a legcsapadékosabb negyedév átlaghőmérséklete; **annPET**: éves potenciális evapotranspiráció; **PC3**: a legmelegebb negyedév csapadékmennyisége & június hónap átlagos csapadékmennyisége & július hónap átlagos csapadékmennyisége & augusztus hónap átlagos csapadékmennyisége; **PC9**: a legcsapadékosabb negyedév átlagos havi evapotranspirációja & május hónap átlagos csapadékmennyisége & a legnedvesebb negyedév átlaghőmérséklete & a legszárazabb hónap csapadékösszege & a legszárazabb negyedév csapadékösszege; **PETseas**: a potenciális evapotranspiráció havi változékonysága; **prec5\_16**: május hónap átlagos csapadékmennyisége; **tmin6\_16**: június hónap átlagos minimum hőmérséklete; **szignifikancia szintek**: ns: nincs szignifikáns különbség \*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$ , \*\*\*:  $p \leq 0.001$ )

Table 2: Relationships between SNP markers standing under drought selection and environmental variables based on the four regression methods (abbreviations: **bio8\_16**: mean temperature of the wettest quarter; **annPET**: annual potential evapotranspiration; **PC3**: precipitation of warmest quarter & average monthly precipitation in August & average monthly precipitation in July & average monthly precipitation in June; **PC9**: mean monthly PET of wettest quarter & average monthly precipitation in May & mean temperature of the wettest quarter & precipitation of driest month & precipitation of driest quarter; **PETseas**: monthly variability in potential evapotranspiration; **prec5\_16**: average monthly precipitation in May; **tmin6\_16**: average monthly minimum temperature in June; **significance levels**: ns: no significance \*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$ , \*\*\*:  $p \leq 0.001$ )

SNP lókuszt	Környezeti változó	LFMM	SFA	GLM	MLM
		( z  érték)	(korrigált R <sup>2</sup> )	(korrigált R <sup>2</sup> )	(korrigált R <sup>2</sup> )
1640_158	bio8_16	ns	0,114***	0,065**	0,067**
	PC3	3,039***	0,100***	ns	ns
	PC9	ns	0,088**	0,058*	0,057**
1640_380	bio8_16	ns	0,112***	0,061*	0,061**
	PC3	3,198***	0,097***	ns	ns
2210_71	annPET	ns	0,050**	0,044*	0,061***
	bio8_16	ns	0,044*	0,058**	0,082***
	PC9	ns	0,117***	0,123***	0,121***
	PETseas	ns	0,053**	0,062**	0,055**
	prec5_16	ns	0,061**	0,037**	0,033**
	tmin6_16	ns	0,094***	0,080***	0,060***
457_85	bio8_16	ns	0,053**	0,062**	0,056***
	PC9	ns	0,067**	0,067**	0,067***
	PETseas	ns	0,070**	0,078**	0,118***
	prec5_16	ns	0,054**	0,044**	0,044***
	tmin6_16	2,417*	0,083**	0,077**	0,111***

Eredményeink igazolják tehát a szárazságtűréssel kapcsolatba hozható génszakaszok és egyes környezeti faktorok közötti kapcsolatot, vagyis az eltérő környezeti feltételekhez való alkalmazkodás hatására kialakuló genetikai differenciálódást. A folyamat eredményét jól szemlélteti az egyes szelekció alatt álló lókusztok alléljeinek vizsgált populációkban való eltérő előfordulási aránya: a 3. ábra a 1640\_158 számú lókuszt referencia (guanin) és alternatív (adenin) alléljeinek arányát mutatja be az egyes állományokban. Kisebb földrajzi léptékben és más markertípust alkalmazva (izoenzim), de Borovics & Mátyás (2013) hasonló eredményre jutott eltérő klimatikus adottságú területeken tenyé-

szó magyarországi kocsánytalan tölgy állományokat vizsgálva, kiemelve, hogy a szárazsági határ felé közeledve a növekvő környezeti stressz hatására az adaptációban szerepet játszó allélek frekvenciája növekszik, mellyel egyidőben az állományok (populációk) genetikai változatossága csökken, fixációs indexe emelkedik.



3. ábra: Az egyes populációk egyedei által hordozott referencia és alternatív allélek aránya a 1640\_158-as SNP lókusz alapján. Az ábra jól szemlélteti az alternatív allél elterjedésének déli súlypontját

Figure 3: The rate of reference and alternative alleles in the different sessile oak populations at the SNP loci 1640\_158. The figure illustrates well that the alternative allele represents a south-centred distribution

## ÖSSZEFOGLALÁS

Jelen kutatás során 18 közép- és délkelet-európai kocsánytalan tölgy populáció 179 egyede esetében ddRAD-seq módszerrel azonosított SNP markereket és záratermőkben meghatározott, szárazságstresszel összefüggésbe hozható EST szekvenciákat térképeztünk sikerrel kocsányos tölgy genomra. A térképezés eredményeként olyan SNP lókuszokat azonosítottunk, amelyek megtalálhatóak mindkét tölgyfajban és kapcsolatot mutatnak szárazságstresszre adott adaptív válaszokkal. A kiugró értéket mutató SNP lókuszok környezeti paraméterekkel történt asszociációs vizsgálata során pedig egyértelmű kapcsolatot találtunk egyes környezeti faktorok és az SNP lókuszok között, ami szélsőséges csapadékjárású időszakok okozta szelektív nyomás hatására kialakult genetikai differenciálódást jelez.

A ddRAD-seq módszerrel végzett vizsgálataink során eltérő környezeti adottságokhoz történt adaptáció eredményeként eltérő genetikai mintázatokat fedtünk fel. Eredményeink kiindulási alapként szolgálhatnak olyan további kutatásokhoz, melyek hozzájárulhatnak a változó környezeti feltételek által érintett (veszélyeztetett) hazai kocsánytalan tölgy gazdálkodás fenntartható módon történő folytatásához. Eredményeink felhasználhatóak többek között:

- Egyes populációk változó környezeti feltételekhez való alkalmazkodóképességének értékelésében

- Az alkalmazkodási folyamatok molekuláris genetikai hátterének kutatásában
- Fő állományalkotó fajok szaporítóanyag-gazdálkodás fejlesztése szempontjából potenciális populációinak genetikai diverzitás felmérésében
- Származásazonosítás során (hatósági eredetvizsgálat)
- Magtermesztő ültetvények tervezésének tudományos megalapozásakor
- Nemesítési kutatások támogatásában (markerekre alapozott szelekció)

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatás tárgyát képező kocsánytalan tölgy populációk kiválasztásához és mintagyűjtéséhez, valamint a kutatási eredmények értékelése során nyújtott segítségükért hálás köszönettel tartozunk a következő kollégáknak: Ivan Iliev (Erdészeti Egyetem, Bulgária), Ábrán Péter (Román Nemzeti Környezetvédelmi Intézet, Románia), Srdjan Stojnic, Sasa Orlovic, Vastag Erna (Újvidéki Egyetem, Szerbia), Milan Mataruga, Vanja Daničić (Banja Lukai Egyetem, Bosznia és Hercegovina), Egzon Tahirukaj (Connecting Natural Values and People alapítvány, Koszovó).

Kutatásunkat Magyarország Agrárminisztériuma (Kaán Károly projekt; projektazonosító: EVgF/549/2018, EGF/178/2019) és Bulgária Nemzeti Tudományos Alapja (támogatás azonosítója: KP-06-H26/4) támogatta.

A cikkben taglalt kutatási eredmények a 2022. február 10-én Sopronban megrendezett Erdészeti Tudományos Konferencia Erdőgazdálkodás szekciójában is bemutatásra kerültek, a következő címen: *Tóth Endre, Köbölkuti Zoltán, Cseke Klára, Benke Attila, Borovics Attila: Alapkutatási eredmények fenntartható tölgygazdálkodásunk támogatása érdekében.*

## FELHASZNÁLT IRODALOM

- Baird N.A., Etter P.D., Atwood T.S., Currey M.C., Shiver A.L., Lewis Z.A., Selker E.U., Cresko W.A. & Johnson E.A. 2008: Rapid SNP Discovery and Genetic Mapping Using Sequenced RAD Markers. *PLoS ONE* 3(10): e3376. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003376>
- Batley J. & Edwards D. 2007: SNP Applications in Plants. In: Oraguzie N.C., Rikkerink E.H.A., Gardiner S.E. & De Silva H.N. (eds.): *Association Mapping in Plants*. Springer, New York, NY, USA. 95–102., [https://doi.org/10.1007/978-0-387-36011-9\\_6](https://doi.org/10.1007/978-0-387-36011-9_6)
- Beckage B., Osborne B., Gavin D.G., Pucko C., Siccama T. & Perkins T. 2008: A rapid upward shift of a forest ecotone during 40 years of warming in the Green Mountains of Vermont. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105: 4197. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708921105>
- Blanc-Jolivet C., Bakhtina S., Yanbaev R., Yanbaev Y., Mader M., Guichoux E. & Degen B. 2020: Development of new SNPs loci on *Quercus robur* and *Quercus petraea* for genetic studies covering the whole species' distribution range. *Conservation Genetics Resources* 12: 597–600. <https://doi.org/10.1007/s12686-020-01141-z>
- Bordács S., Popescu F., Slade D., Csaikl U.M., Lesur I., Borovics A., Kézdy P., König A.O., Gömörly D., Brewer S., Burg K. & Petit R.J. 2002: Chloroplast DNA variation of white oaks in northern Balkans and in the Carpathian Basin. *Forest Ecology and Management* 156(1-3): 197–209. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00643-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00643-0)
- Borovics A. & Mátyás Cs. 2013: Decline of genetic diversity of sessile oak at the retracting (xeric) limits. *Annals of Forest Science* 70: 835–844. <https://doi.org/10.1007/s13595-013-0324-6>



- Bradbury P.J., Zhang Z., Kroon D.E., Casstevens T.M., Ramdoss Y. & Buckler E.S. 2007: TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23: 2633–2635. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>
- Catchen J., Hohenlohe P.A., Bassham S., Amores A. & Cresko W.A. 2013: Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology* 22: 3124–3140.
- Chakraborty D., Mórinc N., Rasztovis E., Dobor L. & Schueler S. 2021: Provisioning forest and conservation science with high-resolution maps of potential distribution of major European tree species under climate change. *Annals of Forest Science* 78: 26. <https://doi.org/10.1007/s13595-021-01029-4>
- Czúcz B., Gálhidy L. & Mátyás Cs. 2013: A bükk és a kocsánytalan tölgy elterjedésének szárazsági határa. *Erdészeti tudományi Közlemények*, 3(1): 39-53.
- Excoffier L., Hofer T. & Foll M. 2009: Detecting loci under selection in a hierarchically structured population. *Heredity* 103: 285–298. <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.74>
- Foll M. & Gaggiotti O. 2008: A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics* 180: 977–993. <https://doi.org/10.1534/genetics.108.092221>
- Frichot E., Schoville S.D., Bouchard G. & François O. 2013: Testing for associations between loci and environmental gradients using latent factor mixed models. *Molecular Biology and Evolution* 30: 1687–1699. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst063>
- García C., Guichoux E. & Hampe A. 2018: A comparative analysis between SNPs and SSRs to investigate genetic variation in a juniper species (*Juniperus phoenicea* ssp. *turbinata*). *Tree Genetics & Genomes* 14: 87. <https://doi.org/10.1007/s11295-018-1301-x>
- Gencsi L. & Vancsura R. 1997: *Dendrológia*. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 240–246.
- Goudet J. 2005: Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes* 5: 184–186. <https://doi:10.1111/j.1471-8286.2004.00828.x>.
- Hamrick J.L., Godt M.J.W. & Sherman-Broyles, S.L. 1992: Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests* 6: 95–124.
- Hijmans R.J., Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G. & Jarvis A. 2005: Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965–1978. <https://doi.org/10.1002/joc.1276>
- Járó Z. 1966: A fajok hazai elterjedése. In: Babos I., Horváthné Proszk S., Járó Z., Király L., Szodfridt I. & Tóth B. 1966: *Erdészeti termőhelyfeltárás és térképezés*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 136 p.
- Járó Z. 1972: Az erdészeti termőhelyértékelés rendszere. In: Danszky I. (ed.) 1972: *Erdőművelés - Irányelvek, eljárások, technológiák I. – Erdőfelújítás, erdőtelepítés, fásítás*. Mezőgazdasági Könyvkiadó Vállalat, Budapest, 53–71.
- Jombart T. & Ahmed I. 2011: adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics* 27: 3070–3071. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521>
- Kamvar Z.N., Tabima J.F. & Grünwald N.J. 2014: Popp: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2: e281. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>
- Keresztesi B. 1971: *Magyar erdők*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 79 p.
- Konar A., Choudhury O., Bullis R., Fiedler L., Kruser J.M., Stephens M.T., Gailing O., Schlarbaum S., Coggeshall M.V., Staton M.E., Carlson J.E., Emrich S. & Romero-Severson J. 2017: High-quality genetic mapping with ddRADseq in the non-model tree *Quercus rubra*. *BMC Genomics* (2017) 18: 417. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3765-8>
- Lê S., Josse J. & Husson F. 2008: FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software* 25(1): 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Li H. 2013: Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *arXiv preprint arXiv:1303.3997*. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1303.3997>
- Luu K., Bazin E. & Blum M.G. 2017: pcadapt: an R package to perform genome scans for selection based on principal component analysis. *Molecular Ecology Resources* 17: 67–77. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12592>
- Machar I., Vlckova V., Bucek A., Vozenilek V., Salek L. & Jerabkova L. 2017: Modelling of Climate Conditions in Forest Vegetation Zones as a Support Tool for Forest Management Strategy in European Beech Dominated Forests. *Forests* 8(3): 82. <https://doi.org/10.3390/f8030082>

- Majer A. 1972: Célállományok jellemzése. In: Danszky I. (ed.) 1972: Erdőművelés - Irányelvek, eljárások, technológiák I. – Erdőfelújítás, erdőtelepítés, fásítás. Mezőgazdasági Könyvkiadó Vállalat, Budapest, 102–103.
- Marees A.T., de Kluiver H., Stringer S., Vorspan F., Curis E., Marie-Claire C. & Derks E.M. 2018: A tutorial on conducting genome-wide association studies: Quality control and statistical analysis. *International Journal of Methods in Psychiatric Research* 27: e1608. <https://doi.org/10.1002/mpr.1608>
- Masoudi-Nejad A., Tonomura K., Kawashima S., Moriya Y., Suzuki M., Itoh M. & Goto S. 2006: EGAssembler: online bioinformatics service for large-scale processing, clustering and assembling ESTs and genomic DNA fragments. *Nucleic Acids Research* 34: W459-W462. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl066>
- Mátyás Cs. 1999: Molekuláris markerek alkalmazása az erdészeti növények nemesítésében. In: Hajósné Novák M. (ed.): Genetikai variabilitás a növény nemesítésben. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 65–78.
- Móricz N., Rasztovis E., Gálos B., Berki I., Eredics A. & Loibl W. 2013: Modelling the Potential Distribution of Three Climate Zonal Tree Species for Present and Future Climate in Hungary. *Acta Silvatica et Lignaria Hungarica* 9: 85–96.
- Nagy K. (ed.) 2021: Nemzeti szisztematikus erdőleltár. Nemzeti Földügyi Központ, Erdészeti Főosztály, Budapest ISBN 978-615-6287-00-7
- Nazareno A.G., Bemmels J.B., Dick C.W. & Lohmann L.G. 2017: Minimum sample sizes for population genetics: an empirical study from an Amazonian plant species. *Molecular Ecology Resources* 17(6): 1136–1147. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12654>
- Nei M. 1973: Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 70:3321-3. <https://doi.org/10.1073/pnas.70.12.3321>
- Petit R.J., Brewer S., Bordács S., Burg K., Cheddadi R., Coart E., Cottrell J., Csaikl U.M., Deans J.D., Fineschi S., Finkeldey R., Glaz I., Goicoechea P.G., Jensen J.S., König A.O., Lowe A.J., Madsen S.F., Mátyás G., Munro R.C., Popescu F., Slade D., Tabbener H., van Dam B., Ziegenhagen B., de Beaulieu J.L. & Kremer A. 2002: Identification of refugia and postglacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management* 156(1-3): 49-74. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00634-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00634-X)
- Plomion C., Aury J.M., Amselem J., Leroy T., Murat F., Duplessis S. & Lesur I. 2018: Oak genome reveals facets of long lifespan. *Nature Plants* 4: 440–452. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12425>
- R Core Team 2021: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rafalski J. A. 2002: Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. *Plant Science* 162: 329–333. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00587-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00587-8)
- Raj A., Stephens M. & Pritchard J.K. 2014: fastSTRUCTURE: variational inference of population structure in large SNP data sets. *Genetics* 197: 573–589. <https://doi.org/10.1093/genetics/197.2.NP>
- Rasztovis E., Móricz N., Berki I., Pötzelsberger E. & Mátyás Cs. 2012: Evaluating the performance of stochastic distribution models for European beech at low-elevation xeric limits. *Időjárás* 116(3): 173–194.
- Robinson J.T., Thorvaldsdóttir H., Winckler W., Guttman M., Lander E.S., Getz G. & Mesirov J.P. 2011: Integrative genomics viewer. *Nature Biotechnology* 29: 24–26. <https://doi.org/10.1038/nbt.1754>
- 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: 4737–4754. <https://doi.org/10.1111/mec.15253>
- Rubel F., Brugger K., Haslinger K. & Auer I. 2017: The climate of the European Alps: Shift of very high resolution Köppen-Geiger climate zones 1800–2100. *Meteorologische Zeitschrift* 26(2): 115–125.
- Shastri B.S. 2009: SNPs: Impact on Gene Function and Phenotype. In: Komar A.A. (ed.): *Single Nucleotide Polymorphisms. Methods in Molecular Biology*. Humana Totowa, NJ, 3–4. eBook ISBN: 978-1-60327-411-1
- Slade D., Kvorc Z.S., Ballian D., Gracan J. & Papes D. 2008: The Chloroplast DNA Polymorphisms of White Oaks of Section *Quercus* in The Central Balkans. *Silvae Genetica* 57(1-6): 227-234. <https://doi.org/10.1515/sg-2008-0035>
- Stojanović D.B., Matović B., Orlović S., Kržič A., Trudić B., Galić Z., Stojnić S. & Pekeč S. 2014: Future of the Main Important Forest Tree Species in Serbia from the Climate Change Perspective. *South-east European Forestry* 5(2): 117–124. <http://dx.doi.org/10.15177/see-for.14-16>



- Title P.O. & Bemmels J.B. 2018: ENVIREM: an expanded set of bioclimatic and topographic variables increases flexibility and improves performance of ecological niche modeling. *Ecography* 41: 291–307. <https://doi.org/10.1111/ecog.02880>
- Tóth E.G., Köbölkuti Z.A., Cseke K., Kámpel J.D., Takács R., Tomov V.T., Ábrán P., Stojnic S., Vastag E., Mataruga M., Daničić V., Tahirukaj E., Zhelev P., Orlovic S., Benke A. & Borovics A. 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: 43. <https://doi.org/10.1007/s13595-021-01051-6>
- Ujváriné Jármay É. 1988: A nemesítési kutatásokról. *Az Erdő* 37(10): 436–440.
- Winter D.J. 2017: rentrez: An R package for the NCBI eUtils API. *The R Journal* 9(2): 520–526. ISSN 2073-4859
- Wu T.D. & Watanabe C.K. 2005: GMAP: a genomic mapping and alignment program for mRNA and EST sequences. *Bioinformatics* 21: 1859–1875. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti310>
- Xiong S., Hao Y., Rao S., Huang W., Hu B. & Wang Y. 2009: Effects of cutoff thresholds for minor allele frequencies on HapMap resolution: A real dataset-based evaluation of the Chinese Han and Tibetan populations. *Chinese Science Bulletin* 54: 2069–2075. <https://doi.org/10.1007/s11434-009-0302-4>
- Zanetto A. & Kremer A. 1995: Geographical structure of gene diversity in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. I. Monolocus patterns of variation. *Heredity* 75(5): 506–517. <https://doi.org/10.1038/hdy.1995.167>

Érkezett: 2022. augusztus 24.

Közlésre elfogadva: 2023. január 26.