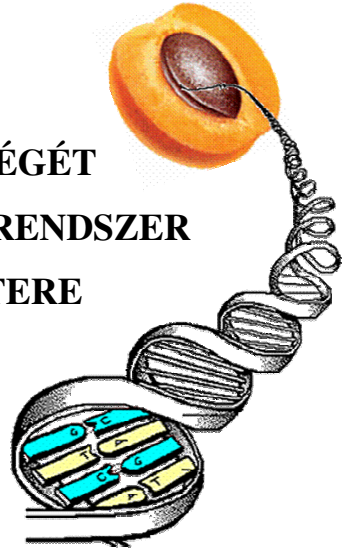


Doktori (PhD) értekezés tézisei

**A KAJSZI ÖNMEDDŐSÉGÉT  
MEGHATÁROZÓ S-ALLÉL-RENDSZER  
MOLEKULÁRIS HÁTTERE**



**Halász Júlia**

Budapesti Corvinus Egyetem  
Genetika és Növénynevelés Tanszék  
Budapest, 2007

## **A doktori iskola**

**megnevezése:** Kertészettudományi Doktori Iskola  
**tudományága:** Biológiai tudományok  
**vezetője:** Dr. Papp János  
egyetemi tanár, DSc  
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,  
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

**Témavezető:** Dr. Pedryc Andrzej  
egyetemi docens, CSc  
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,  
Genetika és Növénynevelés Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

.....  
Dr. Papp János  
Az iskolavezető jóváhagyása

.....  
Dr. Pedryc Andrzej  
A témavezető jóváhagyása

## 1. BEVEZETÉS

A növényvilágban az idegenmegporzás által kialakult genetikai variabilitás szelekciós előnyt biztosít a növények számára. A zárvatermő növények nagy részénél a kétivarú virágokban különféle mechanizmusok alakultak ki az önmegporzás megakadályozására. A leghatékonyabb megoldás az ún. inkompatibilitás, a pollentömlő fejlődésének gátlása. Az összeférhetlenség genetikailag meghatározott mechanizmusokon alapul.

A növények számára evolúciós léptékekben hasznos idegentermékenyülés a természetben gazdasági szempontból hátrányos, hiszen az önmeddő fajtákból létesített ültetvényekben elengedhetetlen a megfelelő pollenadó fák telepítése. Ráadásul az azonos *S*-allélok hordozó önmeddő fajták egymást kölcsönösen sem képesek megtermékenyíteni, így közös ültetvénybe telepítve nem adnak elfogadható termésmennyiséget.

A *Rosaceae* családba tartozó gyümölcsfákat a ribonukleáz enzimek részvételével kialakuló gametofitikus önmeddőség jellemzi. Az európai kajszifajták túlnyomó része öntermékenyülő, míg az ázsiai és észak-amerikai fajták többsége önmeddő. Az utóbbi évek során a fagytürés és a vírusrezisztencia elérése érdekében az ázsiai és észak-amerikai genotípusokat felhasználó keresztezéses nemesítéssel egyre több, széles körben elterjedt, önmeddő fajtát hoztak létre. A fajtatársítás szempontjából az *S*-genotípusok ismerete elengedhetlenné vált. A fajták termékenyülését meghatározó szabadföldi terméskötődési vizsgálatokat számos bizonytalanság terheli, hiszen ezeket a környezeti, időjárási körülmények jelentősen befolyásolhatják, továbbá e vizsgálatokra csak termőkorú fák alkalmasak. A DNS-alapú vizsgálatok, amelyekkel a sterilítást okozó allélok a genomban detektálhatók, nagymértékben segíthetik a nemesítők munkáját azáltal, hogy alkalmazásukkal a kívánt tulajdonságot hordozó hibridek már magonckorban kiválogathatók.

Azon túlmenően, hogy a fajták *S*-genotípusának ismerete a kertészeti gyakorlatban az optimális fajtatársításhoz közvetlenül felhasználható információt szolgáltat, a termékenyülést irányító molekuláris rendszer működésének feltárása alap kutatási szempontból is igen jelentős feladat.

## 2. CÉLKITŰZÉS

Munkánk során a következő célokat tűztük ki:

1. A más *Prunus* fajok termékenyülési viszonyainak jellemzésére használatos molekuláris technikák (NEpHGE, IEF, PCR) használhatóságának értékelése kajszi esetben, a módszerek továbbfejlesztése.
2. A fajták termékenyülési viszonyait irányító *S*-lókusz minél több allélváltozatának azonosítása, jellemzése különböző származású fajták vizsgálatával.
3. Meghatározni minél több gazdaságilag jelentős fajta és értékes nemesítési alapanyag *S*-genotípusát, különös tekintettel a magyar kajszi fajtákra. Tisztázni a vitatott termékenyülési fenotípusú fajták *S*-allél-összetételét.
4. Az eddig leírt és újonnan megállapított *S*-genotípusok alapján elkészíteni a kajszi fajták kölcsönös termékenyülési viszonyait bemutató táblázatot, mely közvetlenül alkalmazható az ültetvénytársítás és/vagy keresztezéses nemesítés genetikai információk adatbázisaként.
5. Kideríteni a kajszi öntermékenyülő fenotípusának háttérében álló molekuláris okokat, azonosítani az öntermékenyülésért felelős haplotípus eredeti, funkcióképes változatát.
6. A nemesítési gyakorlat számára könnyen és gyorsan alkalmazható, ugyanakkor megbízható rutineljárást kidolgozni az öntermékenyülő hibridek korai szelekciójára.
7. Fölmérni, mennyiben segítheti a kajszi *S*-lókuszról gyűjtött molekuláris információ a gyümölcsfaj kultúrevolúciós történetének megismerését.

### 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

#### 3.1. Növényanyag

A vizsgált 74 fajta és hibrid a Budapesti Corvinus Egyetem Genetika és Növénynemesítés Tanszék szigetcsépi ültetvényéből, az Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet tordasi génbankjából, a Mendel Egyetem (Csehország) lednicei ültetvényéből, a Ceglédi Gyümölcsstermesztési Kutató-Fejlesztő Intézet génbankjából, a Kecskeméti Főiskola gyümölcsültetvényéből, illetve egy boldogkőváraljai ültetvényből származott.

#### 3.2. Szabadföldi tesztkereszteзések

Az irányított megporzásból származó gyümölcskötődés-vizsgálatokat a Budapesti Corvinus Egyetem Genetika és Növénynemesítés Tanszékének szigetcsépi gyümölcsültetvényében végeztük 2005 és 2006 során. A nem ismert vagy vitatott termékenyülésű kajszifajták szabadföldi gyümölcskötődés-vizsgálatát geitonogám megporzással értékeltük. A kompatibilitási vizsgálatok során beporzott virágokat megszámloltuk, az ágakat a 6. héten hálóval izoláltuk, a gyümölcskötődési arányokat és a fejlődő gyümölcsök méretét a megporzást követő 13., 21., 28., 34., 48. és 64. napon ellenőriztük.

#### 3.3. Pollentömlő növekedésének vizsgálata

A pollentömlők növekedését UV-fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk. A laboratóriumban elvégzett beporzást követően 72 óra elteltével a termőket fixáló oldatba (kloroform, 95 %-os etanol, jégecet 1:3:1 térfogatarányú keveréke) helyeztük. A termőket 0,1 %-os anilinkék- és 33 mM  $K_3PO_4$ -oldatban áztatva festettük meg.

#### 3.4. Az S-ribonukleáz izoenzimek vizsgálata

Az S-RN-ázoknak a bibe fejlettségi állapotával összefüggő aktivitásváltozását agaróz diffúziós plate-eken vizsgáltuk. A bibeszálakat a *Torula* élesztő RNS-t tartalmazó agarózra helyeztük, majd 2 órán át 37 °C-on inkubáltuk. A bibék eltávolítását követően a géllapokat 0,02 % toluidinkék oldattal festettük meg.

Kb. 50 bibeszálát gyűjtöttünk be 48 órával az antézis előtt, illetve az antézis 1. napján. Hideg kivonópufferben (100 mM nátrium-acetát pH 5,8, 100  $\mu$ M fenilmetán-szulfonil-fluorid, 1 % (v/v) 2-merkaptóetanol, 100 mM KCl) homogenizáltuk a mintákat. A homogenizátumokat ülepítettük (2 °C, 25 min, 18750 g). Az RN-áz aktivitás spektrofotometriás vizsgálatát 260 nm-en végeztük. Az abszorbanciát 1 percen át 10 másodpercenként mértük. A reakcióelegy 100 mM nátrium-acetátot (pH 5,8), 25  $\mu$ g/ml *Torula* élesztő RNS-t, 1mM dithiothreitol és 100 mM kálium-kloridot tartalmazott. A fehérjemennyiséget Bradford-reagenssel határoztuk meg marhaszérum albumin kalibráció alapján.

### 3.4.3. Minta-előkészítés az izoelektromos fókuszáláshoz

A portokok felnyílását közvetlenül megelőzően mintegy 40 bibeszálát gyűjtöttünk fajtánként, melyeket 1 ml izoláló pufferben (30 % dimetil-szulfoxid, 10 % szacharóz, 0,1 % Na-metabiszulfid, 0,2 % Pharmalyte pH 3–10 és 0,5 % 10 %-os Triton X-100-oldat) homogenizáltunk, majd ülepitettünk (−4 °C, 35 perc, 18750 g).

### 3.4.4. Izoelektromos fókuszálás (IEF) és nem egyensúlyi izoelektromos fókuszálás (NEpHGE)

A kivonatokat vertikális gélen futtattuk, amely 7,5 % poliakrilamidot, 10 % szacharózt és különféle amfolinokat (NEpHGE I-II: 4 % Pharmalyte pH 5–8 és 1,2 % Ampholine pH 7–9; illetve NEpHGE III: 4 % Pharmalyte pH 3–10 és 1,2 % Ampholine pH 7–9) tartalmazott. A 40 µl kivonatot a gél anód felé eső oldalán vittünk fel, a fókuszálás az alábbiak szerint történt: 1 óra 130 V, 2 óra 260 V, 1 óra 350 V, 1 óra 400 V (NEpHGE I); illetve további 30 perc 450 V (NEpHGE II-III). A katódoldat 0,1 M nátrium-hidroxid, az anódoldat 0,04 M DL-glutaminsav volt. A gél a futtatás során végig 4 °C-on tartottuk.

Az izoelektromos fókuszálást (IEF) 4 % Pharmalyte pH 3–10 amfolint tartalmazó gélekkel végeztük az alábbi program szerint: 1 óra 150 V, 1 óra 300 V, 2 óra 450 V és 2 óra 550 V. Az izoelektromos pont meghatározásához pI 5,9–9,3 tartományú pI-markerkittet használtunk (Sigma). A markerfehérjéket Coomassie Brilliant Blue R 250 festékkel tettük láthatóvá. A ribonukleáz izoenzimeket *Torula* élesztő RNS és toluidinkék festékkel mutattuk ki.

### 3.5. DNS-alapú vizsgálatok

A genomi DNS-t levelekből a DNeasy Plant Mini Kittel vontuk ki (Qiagen). Az *S*-RN-áz allélok amplifikációjához használt konszenzus primerek szekvenciáit a 1. táblázat mutatja. A PCR-hez kb. 20-80 ng DNS-t használtunk 25 µl végtérfogatban. Az 1 × PCR puffer (Sigma) végső koncentrációja 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl és 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM dNTP, 0,4 µM az adott primerekből és 0,625 U *Taq* DNS-polimeráz (Sigma). A PCR-t a primerekhez közölt, eltérő protokollok alapján végeztük. A PCR-termékeket 2 %-os TAE agaróz gélben választottuk szét (2 h 100 V).

Az F-box gén kódoló szakaszainak amplifikálásához konszenzus primereket terveztünk: AprSFB-F1, AprSFB-F2 és AprSFB-R. A PCR során alkalmazott hőmérsékleti ciklus a következő lépésekből állt: 94 °C 2 min, 35 ciklus során 94 °C 30 s, 50 °C 1,5 min és 72 °C 2 min, majd 72 °C 5 min. A PCR-reakcióelegy összetétele, illetve a gélelektroforézis azonos volt az *S*-RN-áznál ismertetett adatokkal.

**1. táblázat.** A PCR során felhasznált primerek nukleotidsorrendje

<b>primer</b>	<b>szekvencia 5' -3'</b>
<b>PaConsI-F</b>	MCT TGT TCT TGS TTT YGC TTT CTT C
<b>PaConsI-R</b>	CAT GRA TGG TGA ART WTT GTA ATG G
<b>PaConsII-F</b>	GGC CAA GTA ATT ATT CAA ACC
<b>PaConsII-R</b>	CAW AAC AAA RTA CCA CTT CAT GTA AC
<b>EM-PC1consRD</b>	GCC AYT GTT GMA CAA AYT GAA
<b>EM-PC2consFD</b>	TCA CMA TYC ATG GCC TAT GG
<b>EM-PC3consRD</b>	AWS TRC CRT GYT TGT TCC ATT C
<b>EM-PC5consRD</b>	CAA AAT ACC ACT TCA TGT AAC ARC
<b>SRc-F</b>	JOE-CTC GCT TTC CTT GTT CTT GC
<b>SRc-R</b>	GGC CAT TGT TGC ACA AAT TG
<b>AprSFB-F1</b>	AAG AAW GAR AYY TTR RTC GAC AT
<b>AprSFB-F2</b>	TCY CTY RTT CGR TTT MTK TG
<b>AprSFB-R</b>	ATY GAG WAA AAC CAW RCT YTC

A össz-RNS kivonását 40-50 érett bibeszálból E.Z.N.A. Plant RNA kittel végeztük. A cDNS-szintézishez 0,1-5 µg össz-RNS-t használtunk 20 µl végtérfogatban, a reakcióelegy a következő komponensekből állt: 0,5 µg Oligo(dT)<sub>18</sub> primer, 5x puffer (250 mM Tris-HCl pH 8,3, 250 mM KCl, 20 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM DTT), 20 U RiboLock ribonukleáz inhibitor, 0,1 mM dNTP-mix, 40 U M-MuLV reverz transzkriptáz (Fermentas). A reverz transzkriptáz hozzáadása előtt az elegyet 65 °C-on 10 percig inkubáltuk, majd 2 percig jégen hűtöttük, a reverz transzkripció 42 °C-on 1 óráig tartott, végül 70 °C-on 10 percig inkubáltuk. A PCR során a cDNS-ből az SRc-F és az EM-PC5consRD primerekkel amplifikáltunk egy megközelítőleg 600 bp hosszú fragmentumot.

Az S-RN-áz első intronrégiót tartalmazó PCR-fragmentumok méretének meghatározása ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystem) automata DNS-szekvenátorral történt.

A PCR-termékek tisztítását agaróz gélből QIAquick Gel Extraction Kittel (Qiagen) végeztük. A PCR-termékek klónozásához a pGEM-T Easy Vector Systemet (Promega) használtuk.

A plazmidokat Rapid Plasmid DNA Daily Mini-prep kittel (V-gene) izoláltuk. Az inszertek szekvenciájának meghatározása szintén ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystem) automata DNS-szekvenátorral történt.

A DNS- és aminosav-szekvenciák homológiavizsgálatához az NCBI BLAST szoftvert használtuk. Az illesztéseket a CLUSTAL W és a Vector NTI 10.3.0 (Invitrogen) programokkal hoztuk létre. A filogenetikai és molekuláris evolúciós analíziseket a MEGA version 3.1 szoftverrel végeztük.

## 5. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

### 5.1. S-genotípus meghatározása izoelektromos fókuszálással

Kísérleteinket a kajszi esetében legmegfelelőbb izoelektromos fókuszálási protokoll kidolgozásával kezdtük. Eredményeink szerint a leghatékonyabb szétválást az 1750–1975 Vh körüli értékek esetén kaptuk, ami nem bizonyult elegendőnek ahhoz, hogy a fehérjék elérjék izoelektromos pontjukat. Ez a technika tehát nem egyensúlyi izoelektromos fókuszálásnak (NEpHGE = non-equilibrium pH gradient electrofocusing) tekinthető.

A NEpHGE-vizsgálatokkal négy ( $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_4$  és  $S_C$ ) korábban leírt illetve kilenc új ( $S_8$ – $S_{16}$ ) S-allélhoz kötődő ribonukleáz izoenzimet mutattunk ki. A levélkivonatokban a vizsgált pH-tartományokban nem volt kimutatható RN-áz aktivitás, ami bizonyítja, hogy a bibeszálakból készült kivonatok alkalikus RN-áz enzimei szövetspecifikusak, így valóban a termékenyülési folyamatokban játszanak szerepet.

A ‘Ceglédi óriás’ és ‘Ligeti óriás’ azonos S-genotípussal rendelkezik ( $S_8S_9$ ). Eredményeink alátámasztják a kajszi esetében szabadföldi beporzási kísérletek által leírt inter-inkompatibilitási csoport létezését, melyek genotípusa munkánk által vált ismertté.

Az öntermékenyülő ‘Gönci magyarkajszi’, ‘Venus’, ‘Sulmona’, ‘Nyikitszkij’, ‘Mari de Cenad’ és ‘Marculesti 5/5’ esetében a NEpHGE-vizsgálatok egyetlen közös izoenzimet mutattak ki. A szintén öntermékenyülő ‘Bergeron’, ‘Mandulakajszi’, ‘Mamaia’ és ‘Konzervnij Pozdnij’ fajták heterozigótának bizonyultak.

A ‘Harmat’ ( $S_{10}S_{11}$ ) és ‘Korai zamatos’ ( $S_{12}S_{13}$ ) korai érésű fajták. A koraiság a közép-ázsiai genotípusoktól származik. Az  $S_{13}$ -allél megtalálható még a T-8 hibridben, a ‘Modesto’ és ‘Voszki’ fajtákban, az  $S_{11}$  a ‘Voszki’-ban, mely fajta a ‘Harmat’-hoz hasonlóan örmény genetikai vonalból eredeztethető.

A ‘Zard’, ‘Auróra’ és ‘Kecs-psár’ a NEpHGE II fókuszálási protokoll hatására egyetlen intenzív RN-áz sávot mutatott. Az általunk kidolgozott NEpHGE III sikeres szétválást eredményezett a ‘Kecs-psár’ esetében, melynek genotípusa  $S_{15}S_Z$ , míg a ‘Zard’ fajtáról igazolódott, hogy az  $S_{16}$ -allélt hordozza. Az ‘Auróra’ genotípusának megállapítása csak részben volt sikeres, egyik allélját  $S_X$ -ként jelöltük.

Az egyes S-RN-ázok izoelektromos pontjának meghatározásához 2450 Vh-t használtunk. Az  $S_4$  és  $S_{12}$ , illetve  $S_{13}$  és  $S_X$ , továbbá az  $S_C$  és  $S_8$  izoenzimek azonos izoelektromos pontot mutattak.

Az általunk kidolgozott NEpHGE I-III technikák segítségével összesen 12 fajta teljes és 11 fajta részleges S-genotípusát tudtuk meghatározni.

### 5.2. S-RN-áz gén alapú, DNS-szintű genotípus-meghatározás

A DNS-alapú S-genotípus-meghatározás legfőbb előnye, hogy vegetatív szövetből is elvégezhető, így alkalmas a hibridpopulációk korai szelekciójára.



A csonthéjas gyümölcsfák  $S$ -lókuszában található ribonukleáz gén két intront tartalmaz. Az allélok elkülönítésének alapját az adja, hogy az intronokat jelentős mértékű méretpolimorfizmus jellemzi, míg az RN-áz gén exonjaiban az enzimaktivitáshoz nélkülözhetetlen régiók szekvenciája konzervatív.

Első vizsgálatainkhoz cseresznye  $S$ -allélok szekvenciájából tervezett primereket használtunk. Az 1. intronrégiót amplifikáló primerekkel 16 allél közül 10, a 2. intronrégiót amplifikálókkal 11 allél volt kimutatható.

Később egy új, a 2. és 3. konzervatív régiókhoz kötődő, degenerált primerpárral (EM-PC2consFD és EM-PC3consRD) minden allél kimutathatóvá vált. A kilenc, NEpHGE és cseresznyeprimerek alapján azonosított allélon ( $S_8$ – $S_{16}$ ) kívül további 4 új allél ( $S_{17}$ – $S_{20}$ ) azonosítása vált lehetővé. Az EM-primerekkel a legnagyobb intront tartalmazó  $S_C$ - és  $S_8$ -allélok is kimutathatók voltak, melyeket korábban cseresznyeprimerekkel nem tudtunk amplifikálni.

A kisebb méretű 1. intronrégió vizsgálatához a jobb felbontás érdekében a forward primereket fluoreszcens festékkel jelöltük, és a PCR-fragmentumok méretét automata szekvenátorral határoztuk meg. Tíz általunk azonosított új allél első intronrégiójának mérete egyértelműen különbözik a korábbiaktól, három allélhoz azonban nem tudtunk pontos méretet rendelni. Mivel bizonyos allélok esetében az 1. vagy 2. intronrégiók mérete igen hasonló lehet, a pontos genotípus-meghatározásokhoz feltétlenül ajánlható mindkét intron markerezése. Ezzel a megközelítéssel vált lehetővé az  $S_9$ -RN-áz elkülönítése az  $S_{20}$ -tól, továbbá a ‘Korai piros’ és ‘Ceglédi Piroška’  $S$ -genotípusának meghatározása és az utóbbi fajta esetében közölt pedigre felülbírálata.

A ‘Bergeron’ és ‘Konzervnij Pozdnij’ fajták keresztezéséből származó hibridek vizsgálatával megerősítettük, hogy mindkét öntermékenyülő szülő hordozza az  $S_2$  inkompatibilitási allélt. Az utódok genotípusának hasadási aránya a mendeli szabályoknak megfelelő volt. A hibridek fele homozigóta  $S_C S_C$  genotípusú, így a termékenyülés szempontjából kiváló keresztezési partnerek, mert utódaik mindegyike öntermékenyülő lesz függetlenül attól, hogy a keresztezési partner milyen  $S$ -genotípusú. A ‘Mandulakajszai’-ból izoláltunk egy mutáns  $S_2$ -allélt, amely RHV-régiójának közepén egy nem szinonim SNP található. Annak eldöntésére, hogy ez a pontmutáció kihatással van-e az allél funkciójára, további vizsgálatok szükségesek.

Az I. inkompatibilitási csoportot további fajtákkal bővítettük, ugyanis a ‘Goldrich’-hez és a ‘Hargrand’-hoz hasonlóan  $S_1 S_2$  genotípusúak a ‘Ninfa’ és ‘Priboto’ fajták. Mivel a ‘Priboto’ a ‘Goldrich’ rügmütációjaként jött létre, azonos  $S$ -genotípusuk nem meglepő (2. táblázat).

Eredményeink alapján a két korábban megismert inkompatibilitási csoport mellett egy további, III. inkompatibilitási csoportot írtunk le, mely az ‘Antonio Errani’ és a ‘Harcot’ fajtákat tartalmazza, ezek genotípusa  $S_1 S_4$ .

**2. táblázat.** Kajszfajták inter-inkompatibilitási csoportjai és az univerzális pollenadókat magába foglaló öntermékenyülő és egyedi önmeddő genotípusok. Munkánk megkezdése előtt csak az aláhúzott fajták genotípusa volt ismert

<b>Csoport</b>	<b>Fajta</b>	<b>S-genotípus</b>
I. inkompatibilitási csoport	<u>Goldrich</u> , <u>Hargrand</u> , <u>Lambertin-1</u> Ninfa, Priboto	$S_1S_2$
II. inkompatibilitási csoport	Ceglédi óriás Ligeti óriás	$S_8S_9$
III. inkompatibilitási csoport	<u>Harcot</u> Antonio Errani	$S_1S_4$
0.csoport: univerzális pollenadók	Ananasznij cjurpinszkij ( $S_C S_C$ ); Borsi-féle kései rózsza ( $S_C S_C$ ); Ceglédi kedves ( $S_C S_C$ ); <u>Currot</u> ( $S_C S_C$ ); <u>Ginesta</u> ( $S_C S_C$ ); NJA-8 ( $S_C S_C$ ); Nyujtó Ferenc emléke ( $S_C S_C$ ), <u>Palau</u> ( $S_C S_C$ ); Pannónia ( $S_C S_C$ ); Pasinok ( $S_C S_C$ ); Rózsakajszi C.1406 ( $S_C S_C$ ); Sirena ( $S_C S_C$ ); Sulmona ( $S_C S_C$ ); Zaposzdolje ( $S_C S_C$ ) <u>Mauricio</u> ( $S_C S_1$ ); Bayoto ( $S_C S_2$ ); Bergeron ( $S_C S_2$ ); Budapest ( $S_C S_2$ ); <u>Canino</u> ( $S_C S_2$ ); Konzervnij Pozdnij ( $S_C S_2$ ); Mamaia ( $S_C S_2$ ); Mandulakajszi ( $S_C S_{2m}$ ); <u>Pepito</u> ( $S_C S_2$ ); Rakovszky ( $S_C S_2$ ); Roxana ( $S_C S_2$ ); Toyuda ( $S_C S_2$ ) <u>Colorao</u> ( $S_C S_3$ )*; <u>Rial Fino</u> ( $S_C S_6$ ); <u>Beliana</u> ( $S_C S_7$ ) Andornaktályai magyarkajszi ( $S_C S_8$ ); Csacsanszko zlató ( $S_C S_8$ ); Crvena ungarska ( $S_C S_8$ ); Darunek malahojeva ( $S_C S_8$ ); Effekt ( $S_C S_8$ ); Gönci magyarkajszi ( $S_C S_8$ ); Kászna ungarska ( $S_C S_8$ ); Krimszkij Amur ( $S_C S_8$ ); Magyarkajszi C. 235 ( $S_C S_8$ ); Marculesti 5/5 ( $S_C S_8$ ); Nagygyümölcsű magyarkajszi ( $S_C S_8$ ); Nyikitszkij ( $S_C S_8$ ); Paksi magyarkajszi ( $S_C S_8$ ); Pisana ( $S_C S_8$ ); Venus ( $S_C S_8$ ) Ceglédi arany ( $S_C S_9$ ); Ceglédi bíborkajszi ( $S_C S_9$ ); Korai piros ( $S_C S_{20}$ ); Mari de Cenad ( $S_C S_{19}$ ); Modesto ( $S_C S_{13}$ ) Ceglédi Piroska ( $S_8 S_{20}$ ), Harmat ( $S_{10} S_{11}$ ); Kecpsár ( $S_{15} S_{18}$ ); Korai zamatos ( $S_{12} S_{13}$ ); <u>Moniquí</u> ( $S_2 S_6$ ); <u>Priana</u> ( $S_2 S_7$ ); <u>Sunglo</u> ( $S_2 S_3$ ); T-8 ( $S_{13} S_{14}$ ); Voszki ( $S_{11} S_{13}$ )	

\*A 'Colorao' fajtát S-genotípusa alapján az univerzális pollenadókhöz sorolták, de hímsteril

Vizsgálataink során tizenhárom új *S*-allélt azonosítottunk a kelet-európai és közép-ázsiai kajszi genotípusokban, mellyel az ismert kajsziállélok számát 21-re növeltük, ráadásul kínai fajtákban további 13 allélt azonosítottunk. A hazai nemesítési programokban kívánatos jellegek (pl. fagyűrűs, korai érés) kialakítása érdekében használt ázsiai szülőpartnerek jelentősen megnövelték az *S*-lókusz variabilitását.

Az *S*-RN-áz gén első és második intronjának EM-primerekkel végzett PCR-analízisével 22 fajta teljes és 3 fajta részleges *S*-genotípusa volt meghatározható. A PCR-fragmentumok szekvenálása további 5 fajta esetében segítette a genotípusok tisztázását. Sok esetben azonban a genotípus csak a termékenyülési fenotípus ismeretében volt eldönthető, mivel az *S<sub>C</sub>*- és *S<sub>8</sub>*-RN-ázok intronméretei azonosak.

### 5.3. Az öntermékenyülés molekuláris háttere

Izoenzim-vizsgálatokkal igazoltuk, hogy a kajszinál nem az *S*-ribonukleázok funkcióvesztése okozza az öntermékenyülést. Az *S<sub>C</sub>*- és *S<sub>8</sub>*-RN-ázok semmilyen módszerrel nem voltak megkülönböztethetők.

A 'Pannónia' *S<sub>C</sub>*- és a 'Ceglédi óriás' *S<sub>8</sub>*-RN-ázok cDNS-szekvenciájából következtetett aminosav-szekvenciák mindössze egy aminosavban különböztek, de a hipervariábilis régióik teljesen azonosak. A 'Pannónia' és 'Currot' *S<sub>C</sub>* csak 98,2 %-os homológiát mutatott, de a specifikus felismerésért felelős hipervariábilis régióban ezek között sem volt különbség. Az öntermékenyülési képessége kialakulását ez a 3 aminosavnyi különbség nem befolyásolja. Az *S<sub>C</sub>*- és *S<sub>8</sub>*-RN-ázok cDNS-ének összeillesztése a genomikus *S<sub>C</sub>* szekvenciájával lehetőséget adott az 1. intron korábban rosszul meghatározott méretének (258 bp) és pozíciójának tisztázására.

Egy általunk adaptált összes RN-áz kivonási módszer és enzimaktivitás-meghatározás révén igazolták, hogy a bibe RN-áz aktivitása a virág fejlődésével párhuzamosan folyamatosan növekszik. Az azonos *S*-genotípusú fajtákban közel azonos mértékű specifikus aktivitást határoztunk meg, míg a különböző allélokat hordozó fajták összes RN-áz aktivitásában jelentős eltéréseket tapasztaltunk. Bár a kísérletünkben mért összes ribonukleáz aktivitás mértékét a bibekivonatok nem *S*-specifikus ribonukleázai is befolyásolhatták, az *S<sub>C</sub>S<sub>9</sub>* és *S<sub>8</sub>S<sub>9</sub>* genotípusú bibék azonos enzimaktivitása mégis arra utal, hogy az *S<sub>C</sub>*-RN-ázt az inkompatibilis fajták izoenzimjeihez hasonló nagyságrendű enzimaktivitás jellemzi, továbbá az *S<sub>C</sub>*- és *S<sub>8</sub>*-RN-ázok megegyező mértékű affinitást mutatnak a szubsztrát *Torula* élesztő RNS iránt. Mindez további biokémiai bizonyítékot szolgáltat a két allél azonosságához.

Az *S<sub>C</sub>*-haplotípus pollenkomponensében feltételezett mutáció funkcionális bizonyítására irányított szabadföldi keresztezést végeztünk. Ebben segítségünkre volt, hogy az öntermékenyülő 'Ceglédi arany' (*S<sub>C</sub>S<sub>9</sub>*) egy közös inkompatibilitási allélt (*S<sub>9</sub>*) hordoz az önmeddő 'Ceglédi óriás' (*S<sub>8</sub>S<sub>9</sub>*) fajtával. Amikor a 'Ceglédi arany' fajtát a 'Ceglédi óriás' pollenjével poroztuk be, nem kaptunk gyümölcskötődést, és a bibeszálakban a 'Ceglédi óriás' pollentömlői az

inkompatibilitásra tipikusan jellemző tüneteket mutatták. A reciprok keresztezés és a ‘Gönci magyarkajszai’ × ‘Ceglédi óriás’ keresztezés 40 %-os gyümölcskötődést eredményezett, vagyis kizárható, hogy a ‘Ceglédi arany’ × ‘Ceglédi óriás’ keresztezés sikertelenségét a ‘Ceglédi óriás’ hímsterilitása okozza. Mindez igazolja, hogy az öntermékenyülést okozó  $S_C$ -haplotípus az  $S_8$ -haplotípus pollenkomponens SFB génjében bekövetkezett mutáció révén alakult ki, ami az SFB<sub>8</sub>-allél funkcióvesztését idézte elő.

A *P. armeniaca* és *P. mume* F-box gén konzervatív szekvenciái alapján degenerált primereket terveztünk. A ‘Ceglédi óriás’, ‘Ceglédi arany’, és ‘Pannónia’ fajtákban egy vagy két fragmentumot amplifikáltunk. A fragmentumok szekvenálása alapján az SFB<sub>8</sub> és SFB<sub>C</sub> 100 %-ban azonosnak bizonyult, kivéve egy, az SFB<sub>C</sub>-ben előforduló 358 bp inszerciót, melyet egy spanyol kutatócsoport velünk egy időben azonosított az öntermékenyülő ‘Currot’ fajtában.

Az SFB<sub>8</sub> és az OriSFB<sub>C</sub> („eredeti”: inszerció nélküli) allélok csak egyetlen, az F-box régióban található aminosavban különböztek egymástól, míg a ‘Pannónia’ és ‘Currot’ fajták SFB<sub>C</sub>-alléljába ékelődő inszerciók szekvenciák között kétnukleotidos eltérést mutattunk ki. Ezáltal a cseresznyénél használt jelölési rendszer alapján ( $S_3$ ’ és  $S_4$ ’) a kajszai  $S_C$ -haplotípusa valójában az  $S_8$ ’-haplotípusnak felel meg, ahol a vessző a pollenkomponens génben bekövetkezett mutációra utal. Az inszerciók szakasz legelső tripletjénél található stop kodon hatására egy funkcióképtelen F-box fehérje transzlálódik, amelyből hiányoznak a specifikus felismerésért felelős HVa és HVb hipervariábilis régiók.

A kajszai öntermékenyülésének molekuláris háttere ezek alapján úgy képzelhető el, hogy a sérült SFB<sub>C</sub> fehérje nem ismeri fel az  $S_8$ -RN-át sajátjaként, nem képes azzal szoros, allélspecifikus kapcsolatot létesíteni, így a szabadon maradt  $S_8$ -RN-ázok degradálódnak a 26S proteaszómában. Ennek következtében a fejlődő pollentömlők rRNS-molekulái sértetlenek maradnak, így a fehérjeszintézis és a tömlők növekedése, valamint a termékenyülés genetikailag akadálytalan.

#### 5.4. Az F-box gén alapú S-genotípus-meghatározás

Az öntermékenyülő magoncok korai kiválogatásához az  $S_C$ -haplotípusra specifikus primer szükséges. A 3 kajszai és 3 japánkajszai allél szekvenciája alapján tervezett AprSFB-F1/R degenerált primerpár az SFB-gén elejétől a végéig, közel a teljes kódoló részt amplifikálja 27 (18+9) nukleotid kivételével. Miután a mutáns SFB<sub>C</sub>-allél egy 358 bp-os inszerciót tartalmaz, a primerek által felszaporított fragmentum mérete 1419 bp, szemben az inszerciót nem tartalmazó, eredeti allélból amplifikált fragmentummal, melynek mérete 1061 bp. Az általunk tervezett primerpár valamennyi allél esetében sikeres amplifikációt adott, és a PCR-mintázat alapján következtetett genotípus minden esetben összhangban állt a szabadföldi gyümölcskötődési vagy pollentömlő-növekedési vizsgálatok alapján meghatározott termékenyülési fenotípussal.

A primerpár kodomináns markerként használható, mert a homozigóta és heterozigóta genotípusok egyaránt kimutathatók. A primerek megbízhatóbb

eredményt adnak, mint a más fajknál használt, a mutáns SFB-allélra specifikus primerek. Miután számos tényező okozhatja a PCR-amplifikáció sikertelenségét, az allélspecifikus primerekkel kapott eredmények csak ún. belső kontrollok használatával lesznek megbízhatóak. Mindez azonban lényegesen bonyolultabbá teszi a PCR-analízist, szemben az általunk kidolgozott, egyetlen konszenzus primerpárral elvégezhető, egyszerű vizsgálattal. Az általunk tervezett primerek használhatóságát 35 fajta *S*-genotípus-vizsgálatával támasztottuk alá, melyek közül 32 fajta pontos genotípusának meghatározása csak e primerekkel volt lehetséges.

Korábban az *S*-RN-áz 1. és 2. intronrégiójának PCR-analízisével csak akkor tudtunk különbséget tenni az  $S_C$ - és  $S_8$ -allélok között, ha ellenőriztük a fajta öntermékenyülési képességét. A kizárólag  $S_C$ -allél méretű fragmentumot mutató fajták homo- vagy heterozigóta állapota nem volt eldönthető, így például a Rózsakajszai ( $S_C S_C$ ) és a Magyarkajszai ( $S_C S_8$ ) fajtakörök genotípusa sem.

Mivel minden eddig vizsgált, gazdaságilag jelentős öntermékenyülő kajszifajta esetében az inszerciós mutáció okozta az öntermékenyülő jelleg kialakulását, jelenlegi ismereteink alapján az  $S_C$ -haplotípusok kimutatása megbízható módszer az öntermékenyülő genotípusok korai kiválogatására, ami az általunk tervezett AprSFB-F1/R primerpár használatával sikeresen kivitelezhető.

### 5.5. Az *S*-RN-áz allélok szerkezete és filogenetikai vizsgálata

Az  $S_C$ - és a tizenhárom új ( $S_8$ – $S_{20}$ ) ribonukleáz allél szerkezetét szekvencia és fragmentumhossz adatok alapján határoztuk meg, az intronok méretét ennek megfelelően pontosan vagy becsült értékekkel jellemeztük. Az általunk izolált és leírt  $S_8$ – $S_{20}$ -allélok esetében is a második intron hosszának variabilitása nagyobb mértékű (118–2680 bp) volt, mint az első introné (110–320 bp), hasonlóan az  $S_{1-7}$ -allélokhoz. A *Prunus* *S*-RN-áz allélokra általánosan igaz, hogy 2. intronjuk mérete meghaladja az 1. intron méretét, ami alól csak az  $S_3$ -allél (175 bp és ~110 bp) és az  $S_{18}$ -allél (~230 bp és 118 bp) kivétel.

Az általunk izolált  $S_C$ ;  $S_8$ ;  $S_9$ ;  $S_{11}$ ;  $S_{13}$ ;  $S_{15}$  és  $S_{16}$  kajszai *S*-ribonukleáz allélok cDNS-ből származó aminosav-szekvenciáit meghatároztuk, majd más RN-áz szekvenciák bevonásával filogenetikai analízist végeztünk UPGMA-eljárással.

Valamennyi szekvencia közül a *Rhizopus* gombából izolált T<sub>2</sub>-típusú RN-áz került a legtávolabb a törzsfán. A *Rosaceae* családon belül a *Maloideae* és *Prunoideae* alcsaládok *S*-RN-áz alléljai két külön csoportot alkotnak.

A *Prunus* allélok között jelentősebb mértékben elkülönülő csoportot csak a cseresznyéből és mandulából származó, nem a termékenyülési folyamatokban résztvevő, de az *S*-RN-ázokhoz hasonló szerkezetű, nem *S*-specifikus ribonukleáz enzimek alkotnak. Ezen enzimek nem csak a bibeszövetekben fejeződnek ki, és expressziójuk az öregedés, foszforhiány és patogénfertőzés hatására fokozódik.

Filogenetikai analízisünk tovább erősíti a *Rosaceae* családon belül korábban leírt transz-specifikus evolúció jelenségét. A *Prunus* fajokból izolált allélok nem alkottak monofiletikus csoportot: vagyis az interspecifikus hasonlóság nagyobb,

mint az intraspecifikus hasonlóság. A *P. armeniaca* allélok egyes cseresznye, *P. pseudocerasus*, japánkajszai vagy mandula  $S$ -RN-ázokkal mutatják a legnagyobb mértékű homológiát, így a kajsziszekvenciák sem alkotnak elhatárolt, fajspecifikus csoportot. A bootstrap-analízis eredménye szerint a legszorosabb kapcsolat a kajszai  $S_{11}$  és japánkajszai  $S_f$  (100 %), a kajszai  $S_{15}$  és *P. pseudocerasus*  $S_1$  (100 %), illetve a kajszai  $S_1$  és cseresznye  $S_2$ -RN-ázok (80 %) között volt kimutatható.

### 5.6. Az $S$ -genotípusok és a kajszai kultúrevolúciója

A vizsgált fajták között az  $S_C S_2$  genotípus 8 fajta esetében fordult elő, melyek között észak-amerikai (2), nyugat-európai (1), kárpát-medencei (4) és afgán (1) fajták is találhatók.

A dolgozatban vizsgált két amerikai  $S_C S_2$  fajta a Washington állami nemesítési programból származik. A 'Bayoto' fajta pedigréje nem ismert, de a 'Toyudá'-t a 'Goldrich' ( $S_1 S_2$ ) leszármazottjaként tartják számon, így  $S_2$ -allélját is feltehetően attól örökölte. Munkánk során vált ismertté a Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetemen nemesített 'Budapest' fajta  $S_C S_2$  genotípusa. A 'Budapest' a 'Nancy' fajta 'Akme', 'Magyarkajszai' és 'Kései rózsá' pollenkeverékes megporzásából keletkezett. A pollenadó fajták közül a 'Magyarkajszai' genotípusa feltételezhetően  $S_C S_8$ , míg a 'Kései rózsá'-é  $S_C S_C$ . Az 'Akme' fajta vizsgálatainkban ugyan nem szerepelt, így biztosan nem állítható, ugyanakkor valószínűsíthető, hogy a 'Budapest'  $S_C$ -allélját a pollenadó fajtáktól örökölte. Mindez azt jelenti, hogy az  $S_2$ -allélt feltehetően a 'Nancy' hordozta. A 'Nancy' fajtát több szerző a Magyarországon termesztett kajszikra vezeti vissza. Mivel a 'Nancy' szinte valamennyi jelentősebb nyugat-európai fajta ('Moor Park', 'Royal', 'Blenheim' stb.) pedigréjében megtalálható, mindez jól tükrözi az európai fajták szűk genetikai bázisát, melyhez a Magyarországon termesztett kajszifajták hozzájárulása igen jelentős mértékű.

Azt a feltevést, miszerint a magyar fajták nyugat felé terjedtek tovább, és a kajszai elterjedésének északi határát képezik, eredményeink is alátámasztják. Az öntermékenyülő Magyarkajszai fajtakör 5 különböző országból származó 9 fajtája azonos,  $S_C S_8$ -genotípussal rendelkezik. Ez a genotípus csak a Magyarkajszai fajtakörbe tartozó klónok vagy az azokkal rokon fajtákban mutatható ki. Ezek alapján feltételezhető, hogy a Magyarkajszai őse  $S_8 S_i$ -genotípusú volt ( $i$  = tetszőleges inkompatibilitási allél), és a pollenkomponens, SFB<sub>8</sub>-ban bekövetkező mutáció hatására a mutáns  $S_8$  ( $S_8' = S_C$ ) genotípusú pollen képes volt az öntermékenyítésre. A jelenleg ismert  $S_C S_8$ -genotípusú Magyarkajszai fajták ezeknek az öntermékenyüléssel létrejött utódoknak a leszármazottjai lehetnek. A nem mutáns  $S_8$ -allélt más magyar, továbbá olasz és ukrán fajtákban is megtaláltuk.

A dolgozatban vizsgált 74 kajszifajtában leírt allélok földrajzi elterjedését vizsgálva kimutatható volt, hogy Euráziában nyugatról keleti irányban haladva egyre növekvő alléldiverzitás tapasztalható, mely legnagyobb értékét a közép-ázsiai térségben, illetve Kínában éri el.

A kelet-európai régióból 41 fajtában, míg a nyugat-európai régióból 15 fajtában közel azonos mennyiségű (6 illetve 5) allél jelenléte volt kimutatható. Mindez arra utal, hogy Kelet-Európából az öntermékenyülő kajszi genotípusok nyugati irányba történő terjedése nyilvánvalóan intenzívebb volt, hiszen ezek természetesen lényegesen egyszerűbb.

Az amerikai régióban 13 vizsgált fajtából 7 allélt mutattunk ki, többet, mint az ugyanebbe az ökoföldrajzi csoportba tartozó 15 nyugat-európai fajtából. Ennek azonban az az oka, hogy az USA-beli New Jersey-ben az NJA sorozat előállításához az üzbégi VIR-intézet fajtáit (pl. 'Zard') és szelekcióit használták fel. Az így született új fajták (pl. 'Auróra', 'Orange red') többsége azonban önmeddő, és e területeken korábban nem ismert inkompatibilitási allélok (pl.  $S_{13}$ ,  $S_{17}$ ) megjelenéséhez vezettek.

Az amerikaihoz hasonló tendencia bontakozik ki Európában is, ahol például a BCE Genetika és Növénynemesítés Tanszékén folyó nemesítési programokba örmény fajtákat vontak be a korlátozott variabilitás leküzdésére, de ezek használata révén megintcsak önmeddő genotípusok, és új inkompatibilitási csoportok jelenhetnek meg. Mindezek tovább hangsúlyozzák a dolgozat eredményeinek fontosságát és jövőbeni perspektíváját.

Eredményeink alapján az öntermékenyülő jelleget kialakító mutáció valószínűleg a kajszi elterjedésének útvonalán a Kína és Törökország közötti földrajzi térségben következhetett be. Mind a kajszi, mind az őszibarack kultúrevolúciója során kiemelik a Tien-Shan vidékét, a Fergánai-medencét és Dzsungária környékét, melyek a magashegyi környezet, erős UV-sugárzás, szélsőséges hőingás és csapadékeloszlás révén jelentősen növelhették a mutációs rátát. Ezt támasztja alá, hogy a közép-ázsiai 'Roxana' fajtából szintén ki tudtuk mutatni az  $S_C$ -allél jelenlétét, de hipotézisünk igazolásához csak a közép-ázsiai kajszi genotípusok részletes és átfogó vizsgálata szolgálhat alapot.

Mindezek alapján, az  $S$ -genotípusok meghatározása konkrét gazdasági hasznán túlmenően a termesztett faj kultúrevolúciójáról is további érdekes és értékes információkat adhat a jövőben.

## 6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Nem egyensúlyi izoelektromos fókuszálási protokollokat és különböző PCR-alapú módszereket adaptáltunk és fejlesztettünk tovább kajszifajták termékenyülési viszonyainak molekuláris szintű jellemzésére.
2. Tizennégy országból, 4 ökoföldrajzi csoportból származó 74 kajszi genotípusban 13 korábban nem ismert *S*-haplotípust ( $S_8$ – $S_{20}$ ) azonosítottunk, melyek ribonukleáz génjének jellemző intronméreteit meghatároztuk.
3. Meghatároztuk 51 gazdaságilag jelentős fajta és értékes nemesítési alapanyagként használt hibrid (ezen belül a Magyarkajszi és Óriás fajtacsoportok) korábban leírt, ismert termékenyülési fenotípusát kialakító *S*-genotípusát. Molekuláris és termékenyülési vizsgálatokkal tisztáztuk 21 ismeretlen vagy vitatott termékenyülésű fajta öntermékenyülési képességét.
4. Vizsgálataink eredményeit a szakirodalmi adatokkal összesítve elkészítettük a kajszifajták kölcsönös termékenyülési viszonyait szemléltető táblázatot, mely 67 fajtát sorol 3 inter-inkompatibilitási csoportba illetve az univerzális pollenadók csoportjába. Az első inkompatibilitási csoportot két fajttal bővítettük, továbbá a régebből ismert két inkompatibilitási csoport mellett meghatároztunk egy új (III.) inkompatibilitási csoportot, mely két fajtából áll. Ez a fajtatáblázat genetikai információs adatbázisaként közvetlen segítséget nyújthat önmeddő fajtákból létesítendő ültetvények tervezéséhez és a keresztezéses nemesítés szülővonalainak kiválasztásához.
5. Genetikai és molekuláris módszerekkel igazoltuk, hogy a kajszifajták öntermékenyülését a pollenkomponensgében bekövetkezett inszerciós mutáció okozza. Magyar fajtákból izoláltuk és jellemeztük az öntermékenyülésért felelős allél ( $SFB_8$ ) nem mutáns, funkcióképes változatát.



6. A kajszi pollenkomponensgénjét amplifikáló konszenzus primereket terveztünk, melyek könnyen és gyorsan alkalmazható, ugyanakkor megbízható rutineljárást kínálnak a nemesítők számára az öntermékenyülő hibridek korai szelekciójához. Ráadásul a primerek kodomináns markerként használhatók, a homo- és heterozóta genotípusok kimutatását is lehetővé teszik.
7. Az újonnan azonosított kajszi és más csonthéjas fajok ismert *S*-RN-áz alléljainak aminosav-szekvencián alapuló filogenetikai analízisével igazoltuk a *Prunoideae* alcsalád *S*-alléljainak transz-specifikus evolúcióját.

## AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK

### IMPAKT FAKTOROS FOLYÓIRATOK

1) **HALÁSZ J.**, HEGEDŰS A., HERMÁN R., STEFANOVITS-BÁNYAI É., PEDRYC A. (2005): New self-incompatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) revealed by stylar ribonuclease assay and S-PCR analysis. *Euphytica*, 145(1-2): 57-66. **IF 0,884**

### NEM IMPAKT FAKTOROS FOLYÓIRATOK

2) PEDRYC, A., **HALÁSZ, J.**, HERMÁN, R., HEGEDŰS, A.: (2005) Genotyping Hungarian apricot cultivars for self-(in)compatibility by isoelectric focusing and PCR analysis. *International Journal of Horticultural Science*, 11(1): 69-72.

3) **HALÁSZ, J.**, HEGEDŰS, A., PEDRYC, A. (2006): Review of the molecular background of self-incompatibility in rosaceous fruit trees. *International Journal of Horticultural Science*, 12(2): 7–18.

4) **HALÁSZ, J.**, HEGEDŰS, A. (2006): A critical evaluation of methods used for S-genotyping: from trees to the DNA level. Review. *International Journal of Horticultural Science*, 12(2): 19–29.

### EGYÉB ÉRTÉKELHETŐ CIKKEK

5) **HALÁSZ J.**, HEGEDŰS A., PEDRYC A.: (2005): Önmeddő gyümölcsfák: evolúciós önvédelem? *Élet és Tudomány*, 10: 300-302.

6) SZABÓ Z., SZALAY L., PEDRYC A., **HALÁSZ J.**, DRÉN G. (2005): Nemzetközi kajszi konferencia Spanyolországban. *Kertészet és Szőlészet*, 54: 13-14.

### MAGYAR NYELVŰ KONFERENCIAKIADVÁNYOK (FULL PAPER)

7) **HALÁSZ J.**, HEGEDŰS A., PEDRYC A. (2005): Kajszi fajták termékenyülési viszonyainak genetikai háttere. *Kertgazdaság Különkiadás, A fajtaválaszték fejlesztése a kertészetben* (Szerk.: Tóth M.), 95-103.

### MAGYAR NYELVŰ ÖSSZEFOGLALÓK

8) **HALÁSZ J.**, RUTHNER SZ., BÉKEFI ZS., PEDRYC A. (2004): Kajszi fajták kompatibilitásának vizsgálata pollentömlő-analízissel. X. Növénynevelési Tudományos Napok, 2004. február 18-19., *Összefoglalók* (Szerk.: Sutka J.), MTA, Budapest, p. 105.

9) PEDRYC A., **HALÁSZ J.**, HEGEDŰS A. (2005): Kajszi fajták termékenyülési viszonyainak vizsgálata izoelektromos fókuszálással és S-PCR analízissel. XI. Növénynemesítési Tudományos Napok, 2005. március 3-4., Összefoglalók (Szerk.: Kertész Z.), MTA, Budapest, p. 118.

10) **HALÁSZ J.**, HEGEDŰS A., KRŠKA B., PEDRYC A. (2006): A kajszi (*Prunus armeniaca* L.) termékenyülését szabályozó molekuláris rendszer kutatásának legújabb eredményei. XII. Növénynemesítési Tudományos Napok, 2006. március 7-8., Összefoglalók (Szerk.: Veisz O.), MTA, Budapest, p. 37.

11) PEDRYC A., **HALÁSZ J.**, HERMÁN R., TÓTH M., STEFANOVITS-BÁNYAI É., HEGEDŰS A. (2006): Gyümölcsfáink termékenyülése a XXI. Századi nemesítési célok tükrében. XII. Növénynemesítési Tudományos Napok, 2006. március 7-8., Összefoglalók (Szerk.: Veisz O.), MTA, Budapest, p. 36.

#### **ANGOL NYELVŰ KONFERENCIAKIADVÁNYOK (FULL PAPER)**

12) **HALÁSZ J.**, HEGEDŰS A., HERMÁN R., BÉKEFI ZS., PEDRYC A.: (2004): Compatibility assesment of Pannonian apricot genotypes by PCR analysis and isoelectric focusing. International Conference on Horticulture Post-graduate (PhD) Study System and Conditions in Europe. 17-19 November, 2004. Eds.: J. Martínek, R. Pokluda, F. Kobza, pp. 77-82. ISBN 80-7157-801-0.

13) **HALÁSZ J.**, HEGEDŰS A., HERMÁN R., BÉKEFI ZS., PEDRYC A.: (2005): Preliminary results of the investigation of the genetic background of self-incompatibility in apricot. Seminář nové metody ve studiu a šlechtění ovočných dřevin, Lednice, 2005. Febr. 25., (Eds.: Kučera, L., Krška, B.), p. 65-70. ISBN 80-86555-59-3.

14) PEDRYC, A., **HALÁSZ, J.**, HERMÁN, R., HEGEDŰS, A. (2005): S-genotyping of Hungarian and Eastern European apricots. Acta Horticulturae, 717: 217–224.

15) **HALÁSZ, J.**, HEGEDŰS, A., PEDRYC, A. (2005): Molecular background of self-incompatibility in apricot. Acta Biologica Szegediensis, 49(1-2): 21-22.

16) PEDRYC, A., **HALÁSZ, J.**, KRŠKA, B., HEGEDŰS, A. (2006): Study of self-incompatibility in apricot. International Conference of Perspectives in European Fruit Growing, Lednice, 2006. 18-20. October (Ed.: Necas, T.), p. 73-76. ISBN 80-7157-975-0.

## ANGOL NYELVŰ KONFERENCIA-ÖSSZEFOGLALÓK

17) **HALÁSZ J.**, RUTHNER SZ., BÉKEFI ZS., PEDRYC A. (2004): *S*-genotype characterization of several Hungarian apricot varieties. 14<sup>th</sup> FESPB Congress, Krakow. Acta Physiol. Plant., 26(3): 168. **IF 0,433**

18) **HALÁSZ, J.**, HEGEDŰS, A., HERMÁN, R., BÉKEFI, ZS., PEDRYC, A. (2004): Characterization of *S*-allele composition in some Hungarian apricot cultivars by PCR analysis and *S*-RNase detection. 5<sup>th</sup> International Symposium on *in vitro* culture and horticultural breeding. September 12-17., Debrecen, Hungary. Book of Abstracts and Programme (Eds.: Fári, M.G., Holb, I.), p. 209.

19) **HALÁSZ, J.**, KRŠKA, B., HEGEDŰS, A., PEDRYC, A. (2006): Recent findings of the self-incompatibility analyses in apricot (*Prunus armeniaca* L.). XIXth International Congress on Sexual Plant Reproduction, 11–15 July 2006, Budapest, Hungary, Book of Abstracts (Eds.: Barnabás, B., Jäger, K.), Szent István Egyetem, Gödöllő, p. 57–58. ISBN 963 9483 65 6

20) **HALÁSZ, J.**, HEGEDŰS, A., PEDRYC, A. (2006): *S*-locus governed genetic control of fertilization in apricot (*Prunus armeniaca* L.). XV<sup>th</sup> FESPB Congress, 2006. July 17-21, Lyon, France, Book of Abstracts, p. 86.

## KÖNYVFEJEZETEK

Morphology of Flowers. Floral Biology, Regularities of Fertilisation and Fertility in Fruit Species (Eds.: Nyéki, J., Szabó, Z., Soltész, M.). Akadémiai Kiadó, Budapest. (in press)

21) **J. HALÁSZ, Z. BÉKEFI:** 6.1.1. Biochemical and molecular background of gametophytic self-incompatibility: mechanisms and methodology: Preface

22) HEGEDŰS, **J. HALÁSZ:** 6.1.2. Classical methods for *S*-genotyping: methodology and results

23) **J. HALÁSZ:** 6.1.3. Pollen tube growth through the styles: methodology and results

24) HEGEDŰS, **J. HALÁSZ, A. PEDRYC:** 6.1.4. The pistil component: a ribonuclease enzyme

25) **J. HALÁSZ, A. PEDRYC:** 6.2.6. Apricots

## AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ NEM KÖZVETLENÜL KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

### IMPAKT FAKTOROS FOLYÓIRATOK

- 1) HEGEDŰS, A., SZABÓ, Z., NYÉKI, J., **HALÁSZ, J.**, PEDRYC, A. (2006): Molecular analysis of *S*-haplotypes in peach, a self-compatible *Prunus* species. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 131(6): 738-743. **IF 1,147**
- 2) **HALÁSZ, J.**, HEGEDŰS, A., SZABÓ, Z., NYÉKI, J., PEDRYC, A. (2007): DNA-based *S*-genotyping of japanese plum and pluot cultivars to clarify incompatibility relationships. HortScience, 42: (in press) **IF 0,574**

### NEM IMPAKT FAKTOROS FOLYÓIRATOK

- 3) **HALÁSZ, J.**, BISZTRAY, GY.D., DEÁK, T., KORBULY, J. (2004): RAPD analysis of grapevine hybrids and cultivars. International Journal of Horticultural Science, 10(4): 63-66.
- 4) BÉKEFI, ZS., **HALÁSZ, J.**: (2005) Pollen tube growth in sweet cherry (*Prunus avium* L.) styles in compatible, half compatible and incompatible pollinations. International Journal of Horticultural Science, 11(1):63-68.
- 5) HEGEDŰS, A., **HALÁSZ, J.**, SZABÓ, Z., NYÉKI, J., PEDRYC, A. (2005): Hogyan működik a csonthéjas gyümölcsök önmeddőségét meghatározó *S*-lókus az öntermékeny őszibarackban? Agrártudományi Közlemények, 17: 93–100.
- 6) **HALÁSZ, J.**, HEGEDŰS, A. (2006): Self-incompatibility in pears (*Pyrus communis* L., *Pyrus serotina* Rehd. and *Pyrus ussuriensis*). Review. International Journal of Horticultural Science, 12(2): 87–91.
- 7) HEGEDŰS, A., **HALÁSZ, J.** (2006): Self-incompatibility in plums (*Prunus salicina* Lindl., *Prunus cerasifera* Ehrh. and *Prunus domestica* L.). A minireview. International Journal of Horticultural Science, 12(2): 137–140.

### MAGYAR NYELVŰ ÖSSZEFOGLALÓK

- 8) PEDRYC, A., RUTHNER, SZ., **HALÁSZ, J.**, VELICH, I., BADENES, M.L. (2004): Őszibarack mikroszatellit primerek alkalmazása kajszifajták jellemzéséhez. X. Növénynemesítési Tudományos Napok, 2004. február 18-19., Összefoglalók (Szerk.: Sutka J.), MTA, Budapest, p. 137.

9) PEDRYC A., HERMÁN R., **HALÁSZ J.** (2005): A Budapesti Corvinus Egyetem KTK Genetika és Növénynevelés Tanszéken előállított új kajszibarack hibridek értékelése. XI. Növénynevelési Tudományos Napok, 2005. március 3-4., Összefoglalók (Szerk.: Kertész Z.), MTA, Budapest, p. 42.

10) HEGEDŰS A., **HALÁSZ J.**, SZABÓ Z., NYÉKI J., PEDRYC A. (2006): Az őszibarack (*Prunus persica* (L.) Batsch.) öntermékenyülésének lehetséges molekuláris okai. XII. Növénynevelési Tudományos Napok, 2006. március 7-8., Összefoglalók (Szerk.: Veisz O.), MTA, Budapest, p. 38.

11) PEDRYC A., RIPKA G., SZABÓ P., NYÉKI J., SZABÓ Z., HEGEDŰS A., **HALÁSZ J.** (2006): Japánszilva (*Prunus salicina* Lindl.) és cseresznyeszilva (*Prunus cerasifera* Ehrh.) genotípusok S-lókusának változékonysága. XII. Növénynevelési Tudományos Napok, 2006. március 7-8., Összefoglalók (Szerk.: Veisz O.), MTA, Budapest, p. 143.

#### ANGOL NYELVŰ KONFERENCIAKIADVÁNYOK (FULL PAPER)

12) BISZTRAY GY. D., KORBULY J., **HALÁSZ J.**, OLÁH R., RUTHNER SZ., DEÁK T., VELICH I. AND PEDRYC A. (2003): Characterisation of grape varieties and species by RAPD markers. Proceedings of the VIII<sup>th</sup> International Conference on Grape Genetics and Breeding, August 26-31., Kecskemét, Hungary. Acta Horticulturae, 603(2):601-604.

13) HEGEDŰS, A., **HALÁSZ, J.**, SZABÓ, Z., NYÉKI, J., PEDRYC, A. (2006): How Does Self-(in)compatibility Locus Function in a Self-compatible Species, Peach? XIX<sup>th</sup> International Congress on Sexual Plant Reproduction, 11–15 July 2006, Budapest, Hungary, Book of Abstracts (Eds.: Barnabás, B., Jäger, K.), Szent István Egyetem, Gödöllő, p. 152–153. ISBN 963 9483 65 6

14) PEDRYC, A., **HALÁSZ, J.**, SZABÓ, Z., NYÉKI, J., HEGEDŰS, A. (2006): Variability of the S-locus in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). XIX<sup>th</sup> International Congress on Sexual Plant Reproduction, 11–15 July 2006, Budapest, Hungary, Book of Abstracts (Eds.: Barnabás, B., Jäger, K.), Szent István Egyetem, Gödöllő, p. 196–197. ISBN 963 9483 65 6

15) PEDRYC, A., **HALÁSZ, J.**, DRÉN, G., SZABÓ, Z., NYÉKI, J., HEGEDŰS, A. (2006): Extension of two Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) inter-incompatibility groups using PCR analysis and cross-pollination. Eufrin Plum and Prune Working Group Meeting, July 31-August 2., 2006, Hradec, Czech Republic. Abstracts, p. 28.

16) **HALÁSZ, J.**, SZABÓ, Z., NYÉKI, J., DRÉN, G., HEGEDŰS, A., PEDRYC, A. (2006): Determination of incompatibility genotypes in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). International Conference of Perspectives in European Fruit Growing, Lednice, 2006. 18-20. October (Ed.: Necas, T.), p. 282. ISBN 80-7157-975-0.

### **KÖNYVFEJEZETEK**

Morphology of Flowers. Floral Biology, Regularities of Fertilisation and Fertility in Fruit Species (Eds.: Nyéki, J., Szabó, Z., Soltész, M.). Akadémiai Kiadó, Budapest. (in press)

17) **J. Halász:** 6.2.2. Pears

18) **J. HALÁSZ:** 6.2.3. Other pomaceous species

19) **J. HALÁSZ, A. HEGEDŰS:** 6.2.8. Plums

20) A. HEGEDŰS, **J. HALÁSZ:** 6.3. Self-incompatibility of some temperate zone soft fruits and nuts