

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A szőlőnemesítés hatékonyságának növelése a faj genetikai
háttérének vizsgálatával

Györffyné Jahnke Gizella

Budapest, 2006

A doktori iskola

- megnevezése:** Interdiszciplináris (1. Természettudományok /1.5. Biológiai tudományok/, 4. Agrártudományok /4.1. Növénytermesztési és kertészeti tudományok) Doktori Iskola
- tudományága:** Növénytermesztési és kertészeti tudományok
- vezetője:** Dr. Papp János
egyetemi tanár, DSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék
- Témavezető:** Dr. Korbuly János
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, azért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

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

.....
Dr. Korbuly János
A témavezető jóváhagyása

Tartalomjegyzék

1.	A munka előzményei, kitűzött célok.....	3
2.	Eredmények, értékelésük és következtetések.....	4
2.1.	Az izoenzim vizsgálatok eredményei, az eredmények értékelése és következtetések.....	4
2.2.	Mikroszatellit vizsgálatok eredményei, az eredmények értékelése, következtetések.....	9
2.3.	Izoenzim és mikroszatellit eredmények összegző értékelése.....	14
2.4.	Új tudományos eredmények.....	17
3.	Összefoglalás.....	18
	Az értekezés témakörében megjelent legfontosabb közlemények.....	19

1. A munka előzményei, kitézött célok

A szőlő az emberiség egyik legősibb kultúrnövénye. Rendkívül gazdag fajtaválaszték jött létre az idők folyamán a változatos környezeti feltételek között a gazdasági-kereskedelmi célok kielégítésére. Mind a csemegeaszőlő, mind a borszőlő termesztésének sikerét alapvetően meghatározza a fajtahasználat.

A fajták pontos azonosítása ma fontosabb, mint valaha. A pontos fajtaazonosítás nemcsak a fajtavédelemben érdekelt, a szőlőiskolák, szőlészek és borászok számára fontos, de a nemzetközi kereskedelmi szabályozás és a bormegjelölésekre vonatkozó törvények is megkövetelik, hogy a fajtamegjelöléssel forgalomba hozott borok helyesen legyenek azonosítva.

A molekuláris markerek, ezen belül elsősorban a DNS technológiák fejlődése és alkalmazása számos új lehetőséget biztosít a szőlővel, mint klasszikus genetikai módszerekkel nehezen vizsgálható növényvel kapcsolatos genetikai ismereteink bővítésére. A DNS markerek megkönnyítik a meglévő szőlőfajták eredetének kutatását, és segítséget nyújthatnak új fajták létrehozásához.

A szőlő esetében többféle molekuláris marker vizsgálata terjedt el. Ezek közül külföldön elsősorban az izoenzim vizsgálatok, a DNS markerek közül, pedig a mikroszatellit vagy SSR (Simple Sequence Repeats) vizsgálatok folytak az utóbbi években. Dolgozatomban e két módszer segítségével igyekeztem 48 *Vitis vinifera* L. fajtát vizsgálni..

Az izoenzim vizsgálatokon belül célul tűztem ki a vizsgálatba vont fajták jellemzését az irodalmi adatok alapján leginkább polimorf enzimek (catechol-oxidáz, savas foszfatáz, glutaminsav-oxálcetsav transzamináz, peroxidáz, észteráz, glükóz-foszfát izomeráz és foszfoglükomutáz) izoenzimjeinek vizsgálatát, és az ehhez szükséges legmegfelelőbb gérendszer kidolgozását.

A mikroszatellit markerek, a DNS markerek leghatéko-

nyabb típusai közé tartoznak, minden fajtánál olyan egyedi profilt mutatnak, amelyek a környezet, betegségek és az alkalmazott termesztéstechnológia által nem befolyásolt, egyértelmű azonosítást tesznek lehetővé. Mikroszatellit vizsgálatokhoz hét, az irodalmi adatok szerint fajtaazonosításra leginkább alkalmas primerpár (VVS2, VVS16, VVMD7, VMC4G6, VMC4H6, VMC4A1 és VrZag79) felhasználásával kívántam *Vitis vinifera* L. fajtákat, illetve intraspecifikus hibrideket jellemezni. Ennek előzetes feltételeként célul tűztem ki a PCR reakció körülményeinek és a reakcióelegy összetételének optimalizálását.

A kapott eredmények értékelésénél céltom volt még a vizsgálatokkal nyert eredmények taxonómiai célra való alkalmosságának vizsgálata, vagyis összefüggés keresése az egyes fajták izoenzimmintázata, és a földrajzi-ökológiai fajtacsoportba (*convarietas*-ba) való tartozása között.

A 'Kéknyelű' fajta neve összeforrt a Badacsonyi borvidék nevével, híre határainkon túl is jól ismert. Az Interneten a Nemzetközi szőlőfajta katalógusban a 'Kéknyelű' fajta, mint az olasz 'Picolit' fajta szinonimája szerepel. A két fajta morfológiai hasonlóságára korábbi irodalmi adatok is utalnak. Mivel a 'Kéknyelű' neve önmagában komoly marketingértékkel bír, különösen fontosnak láttam a 'Kéknyelű' és 'Picolit' fajták vélt különbözőségének igazolását az általam alkalmazott molekuláris markerek segítségével.

2. Eredmények, értékelésük és következtetések

2.1. Az izoenzim vizsgálatok eredményei, az eredmények értékelése és következtetések

A vizsgált szőlőfajták esetében 8 enzim izoenzim-mintázatát vizsgáltam vertikális poliakrilamid gélelektroforézissel. A vizsgálatok során minden enzimmél ugyanazon enzimmintátot használtam. Hét alkalommal (2003-2004-ben 3-3-szor, lombhullás után, januárban és márciusban, 2005-ben egyszer január-

ban) gyűjtöttem mintákat. Vizsgálataimat mintaszedési időszakonként 3 ismétlésben végeztem.

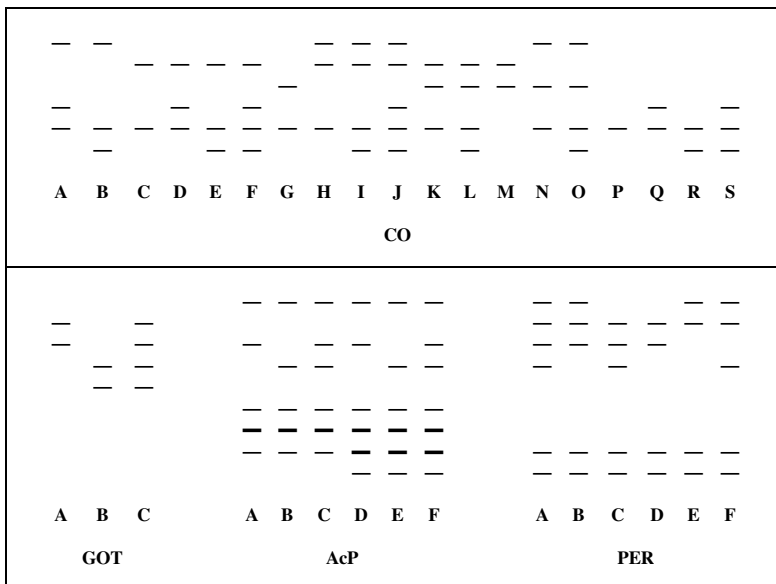
A catechol-oxidáz, glutaminsav-oxálecetsav transzamináz, a savas foszfatáz és a peroxidáz enzimeknél kapott enzimmintázatok alapján jellemeztem és csoportosítottam a fajtákat. A mintázatokat enzimenként az **1. ábra** mutatja.

A leucin aminoszteroid (LAP) enzim esetében mindegyik vizsgált fajtánál azonos mintázatot kaptam, tehát ez esetben a fajták között nem tudtam különbséget találni. A Glükóz-foszfat-izomeráz (GPI) és foszfo-glükomutáz (PGM) enzimek esetén a gérendszer módosításával sem sikerült értékelhető mintázatot kapni. Az észteráz enzim esetében a kapott mintázat annyira komplex volt, hogy számítógépes program segítségével nélkül annak kiértékelése csaknem lehetetlen. A kapott izoenzim-mintázatok nem, illetve csak részben tudtam reprodukálni. Mindezek alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a nehéz kiértékelhetőség, és a vizsgálatok megismételhetőségének bizonytalansága miatt az észteráz enzim vizsgálata során nyert adatokat nem használok fel a fajták közti genetikai távolság megállapításához.

A kapott eredményeket összegezve megállapítható, hogy az irodalmi adatokkal összhangban (ROYO et al; 1997), a fajták izoenzimintázata a catechol-oxidáz (CO), savas foszfatáz (AcP), glutaminsav-oxálecetsav-transzamináz, peroxidáz (PER) és leucin-aminopeptidáz (LAP) enzimek esetében – amennyiben a mintavétel a nyugalmi időszakban történik – nem függ a mintavétel idejétől és helyétől.

Az általam vizsgált fajták közül ROYO és munkatársai (1997) két fajtát a Cabernet sauvignon -t és a Chardonnay -t vizsgálták, szintén poliakrilamid-gél elektroforézissel, hasonló gérendszeren. Az említett cikkben közölt eredményeket összehasonlítva az említett két fajtára az általam kapott eredményekkel megállapítható, hogy mind a négy vizsgált enzim (AcP, CO, GOT, PER) esetén ugyanannyi sávból álló mintázatokot kaptam. Amennyiben a két vizsgált fajta közül

zatokat kaptam. Amennyiben a két vizsgált fajta közül az egyiket standardnak tekintjük, akkor a másik fajta mintázata megegyezik az általam kapott mintázattal mind a négy enzim esetén, ezért a kapott eredmények feltehetően azonosak.



1. ábra: A catechol-oxidáz (CO), a glutaminsav-oxálcetsav transzamináz (GOT), a savas foszfatáz (ACP) és a peroxidáz (PER) enzim izoenzim típusai

A natív gélelektroforézissel kapott izoenzim mintázatok közül a catechol-oxidáz rendszer mutatott a legnagyobb mértékű polimorfizmust. A savas foszfatáz rendszer szintén igen változatosnak bizonyult, míg a peroxidáz és glutamát-oxálcetát transzamináz rendszereknél a kapott mintázatok polimorfizmusa kisebb mértékű volt.

Az izoenzim-mintázat alapján megpróbáltam a fajtákat elkülöníteni. Az alkalmazott jelöléseket követve (**1. ábra**) sorba állítottam a fajtákat (**1. táblázat**). A fajták többsége így módon azonosítható, a nem azonosítható fajtákat csoportosítottam.

1. táblázat: A vizsgált fajták elkülönítése izoenzim-mintázataik alapján

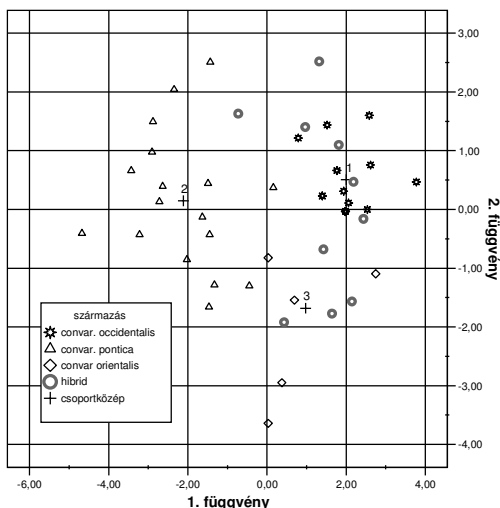
Fajta	CO	GOT	ACP	PER	Típus száma	Fajta	CO	GOT	ACP	PER	Típus száma
Leányka	A	A	B	D	1	Ezerjő	H	C	B	C	22
Királyleányka	A	C	A	D	2	Sauvignon	H	C	C	A	23
Pozsonyi fehér	B	A	F	D	3	Semillon	H	C	C	A	23
Zefir	C	A	A	B	4	Csomorika	H	C	D	B	24
Tramini	D	A	A	C	5	Vulcanus	I	A	A	F	25
Kékoportó	D	A	B	D	6	Cabernet franc	I	A	C	D	26
Fehér góhér	D	A	D	D	7	Cabernet sauvignon	I	A	C	D	26
Arany sárfehér	D	C	F	D	8	Pintes	I	A	D	D	27
Rajnai rizling	E	A	C	E	9	Bakator (tüdőszínű)	I	B	D	A	28
Zeus	E	A	C	D	10	Zengő	J	C	C	D	29
Chardonnay	E	C	A	C	11	Ottonel muskotály	K	A	A	D	30
Zenit	E	C	A	D	12	Kövérzölő	L	C	F	D	31
Bouvier	F	A	A	D	13	Kövídinka	M	C	D	C	32
Zöld szilváni	F	A	C	B	14	Sárga muskotály	N	C	C	D	33
Cirfandli	F	A	F	B	15	Kékfrankos	N	C	C	A	34
Juhfark	F	C	A	D	16	Picolit	O	A	E	E	35
Pinot blanc	F	C	A	D	16	Hárslevelű	O	C	D	D	36
Pinot noir	F	C	A	D	16	Kadarka	O	C	F	D	37
Szürkebarát	F	C	A	D	16	Olasz rizling	Q	A	A	B	38
Zöld veltelíni	F	C	A	C	17	Rózsakő	Q	A	A	F	39
Chasselas (fehér)	F	C	C	C	18	Badacsony-43	Q	C	A	B	40
Budai	G	A	C	B	19	Badacsony-15	Q	C	B	B	41
Furmint	G	A	E	D	20	Kékmedoc	R	B	C	D	42
Kéknyelű	G	C	A	D	21	Zéta	S	A	E	D	43

Egy csoportba kerültek a mind a 4 enzimre azonos mintázatot mutató fajták. Ezek a következők voltak: a 16-os csoport: Pinot blanc, Szürkebarát, Pinot noir, Juhfark; a 23-as csoport: Sauvignon blanc, Semillon; a 26-ös csoport: Cabernet franc, Cabernet sauvignon.

Az eredményekből kitűnik, hogy a fajták többsége (40 a 48-ból) elkülöníthető 4 enzim izoenzim-mintázata alapján. A nem elkülöníthető fajták többségére jellemző, hogy morfológiailag is nagyon hasonlítanak egymásra, és egy részüket (Pinot fajták-16-os csoport) –az eddig közzétett szakirodalom szerint –DNS markerek segítségével nem, vagy csak igen

korlátozott mértékben lehet egymástól elkülöníteni (CIPRIANI et al., 1994; HALÁSZ et al., 2005).

Annak kiderítésére, hogy a fenotípusosan megjelenő tulajdonságok és az izoenzim vizsgálatok során nyert mintázatok között van-e összefüggés, megvizsgáltam, hogy a fajták származási csoportba való tartozása és az izoenzim tulajdonságaik összefüggenek-e, illetve csupán izoenzim tulajdonságok alapján megállapítható-e, hogy egy fajta melyik convarietasba tartozik. Ennek eldöntésére klaszteranalízist végeztem az SPSS 14.0-a számítógépes statisztikai elemző program segítségével. A bevitt adatoknál a fajtákat a származási rendszer szerint 3 csoportba soroltam (NÉMETH, 1967, illetve TÓTH és PERNESZ, 2000 szerint). A programba független változóként vittem be a fajták izoenzim-mintázatát aszerint, hogy egy adott sáv megtalálható-e egy fajta mintázatában vagy sem. A szőlőfajták elkülönülését a két diszkriminancia függvény alapján (**2. ábra**) mutatom be.



2. ábra: *Vitis vinifera* L. fajták származási csoportjainak elkülönülése izoenzim mintázat alapján

Az 1. függvénynél abszolút értékben az AcP7-es változó-
nak a legnagyobb az együtthatója: 1,008. Ha megnézzük,
hogy a savas foszfatáz enzimnél a 7. számú sáv milyen faj-
táknál fordul elő, akkor azt fedezhetjük fel, hogy az adott sáv
szinte kizárólag a pontuszi eredetű fajtáknál található meg,
azok több mint 2/3-nak mintázatában szerepel, ugyanakkor a
másik két csoport tagjai közül csak a Círfandli fajtánál talál-
ható. Annak eldöntésére, hogy az adott izoenzim sáv megje-
lenése és a pontuszi csoportba tartozás között statisztikailag
igazolható-e az összefüggés χ^2 próbát végeztem. A kapott χ^2
érték: 15,28 volt. Az adott esetben érvényes kritikus χ^2 érték:
3,84, mivel ez az érték jóval alacsonyabb, mint a számolt
érték, az összefüggés 95%-os valószínűségi szinten igazolha-
tó. Az összefüggés szorosságát kifejező mutató a
kontingencia koefficiens értéke ebben az esetben: $r = 0,63$.

Ebből azt a következtetést lehet levonni, hogy az adott
izoenzim forma a pontuszi fajtákra jellemző.

2.2. Mikroszatellit vizsgálatok eredményei, az eredmények értékelése, következtetések

Az 1. táblázatban közölt 48 szőlőfajta vizsgálatát végeztem
el mikroszatellit (SSR) analízissel. A kapott kivonatokban a
DNS mennyiségét fotometriai módszerrel határoztam meg.
Méréseim szerint a kivont DNS mennyisége összefügg a min-
tavétel idejével. A nyugalmi időszakban az élő háncs szöve-
tekből kivont DNS minőségében és mennyiségében is jobbnak
bizonyult a vegetációs időszak elején (virágzás előtt), a fiatal
levelekből kivont mintákban tapasztalt értékeknél.

A PCR reakciót irodalmi adatokra támaszkodva op-
timalizáltam (HAJÓSNÉ NOVÁK, 1999). Az optimalizálási
reakcióknál 5 fajta DNS kivonatot használtam. A kapott reak-
ciótermékeket 1,5 %-os TAE –agaróz gélen ellenőriztem,
majd a pontos fragmenshosszokat automata szekvenáló ké-
szülék segítségével határoztam meg. A kapott eredményeket a
2. táblázatban foglaltam össze.

2. táblázat: A kapott mikroszatellit (SSR) fragmenshosszok

Fajta neve	VMC4A1		VVS2		VrZag79		VMC4G6		VVMD7		VVS16	
Arany sárféher	259	261	140	150	232	238	122	126	237	251	291	291
Badacsony-15	265	275	140	148	234	246	122	124	235	241	285	285
Badacsony-43	269	271	134	150	232	232	122	122	237	247	285	285
Bakator (tüdőszínű)	259	261	134	140	244	246	122	130	237	251	285	285
Bouvier	265	267	130	148	234	246	122	122	241	241	285	285
Budai	271	275	140	150	246	246	136	138	247	247	285	291
Cabernet franc	269	271	136	144	242	254	128	132	237	261	283	285
Cabernet sauvignon	267	271	136	148	242	242	122	132	237	237	285	285
Chardonnay	271	275	134	140	238	240	122	126	237	241	285	291
Chasselas	273	275	130	140	246	254	132	138	237	245	285	285
Círfandli	265	267	130	130	240	246	122	122	241	251	263	285
Csomorika	261	275	130	130	232	254	120	124	237	247	289	291
Ezerjő	265	267	130	140	232	244	120	126	237	237	285	285
Fehér góhér	261	261	130	130	244	254	122	126	237	247	285	289
Furmint	269	271	130	150	232	244	128	138	237	247	285	291
Hárslevelű	267	271	130	142	232	246	122	128	237	245	285	285
Juhfark	263	263	132	142	230	242	120	128	237	245	285	291
Kadarka	259	261	130	140	246	252	130	140	237	247	263	291
Kékfrankos	277	279	140	142	232	246	122	128	237	247	263	289
Kékmedoc	275	275	142	150	244	248	122	132	241	245	285	285
Kéknyelű	273	275	130	148	246	246	122	128	237	241	285	285
Kékoportó	265	267	142	150	242	252	122	128	241	253	263	285
Királyleányka	269	271	128	130	242	244	126	126	245	247	285	291
Kövérszőlő	267	267	130	142	232	246	130	140	237	253	285	291
Kövidinka	259	261	130	132	242	244	128	128	245	253	285	285
Leányka	269	271	130	130	232	246	122	124	247	251	263	285
Ólasz rizling	271	279	132	148	244	246	122	122	245	255	285	285
Ottonel muskotály	273	275	130	140	248	252	122	132	237	241	285	285
Picolit	265	267	132	136	234	254	120	120	243	243	285	285
Pinot blanc	267	275	134	148	234	240	122	122	237	241	285	285
Pinot noir	267	275	134	148	234	240	122	122	237	241	285	285
Pintes	265	267	136	150	238	240	122	122	237	255	285	285
Pozsonyi fehér	259	261	132	152	244	246	124	128	247	253	285	289
Rajnai rizling	269	271	140	150	238	240	122	126	247	255	285	291
Rózsakő (B-36)	275	275	148	150	246	246	128	128	237	247	285	285
Sárga muskotály	267	279	130	130	246	250	122	138	231	247	285	285
Sauvignon	267	267	130	148	240	242	122	124	237	255	285	285
Semillon	265	267	130	130	242	246	122	138	237	255	285	285
Szürkebarát	267, 265	275, 273	134	148	234	240	122	122	237	241	285	285
Tramini	265	267	148	150	238	244	122	122	241	255	285	285
Vulcanus (B-38)	269	271	134	150	232	246	122	138	237	247	285	291
Zefir	267	267	146	148	234	246	122	122	231	241	285	285
Zengő	265	265	130	140	232	246	120	122	237	241	285	285
Zenit	265	267	130	148	232	246	122	126	237	241	285	285
Zéta	267	271	130	130	234	244	122	138	241	247	285	291
Zeus	265	267	130	140	232	246	120	122	237	241	285	285
Zöld szilváni	265	267	150	150	242	244	122	128	241	245	285	291
Zöld veltelini	269	271	130	150	240	244	122	128	245	255	285	285

Az általam vizsgált fajták egy részének vizsgálatát más kutatók is elvégezték, így lehetőségem nyílt a kapott eredmények részbeni összehasonlítására. Ha az általam kapott eredményeknél a Pinot fajtákat referenciafajtaként használjuk, és a kapott eredményeket ehhez viszonyítva értékeljük megállá-

pítható, hogy az általunk kapott fragmenshosszok, csaknem minden esetben azonosnak tekinthetők a más kutatók által kapott eredményekkel, néhány esetben kis mértékben eltérnek azoktól. Az eltérésnek több oka is lehet. Lehetséges ok az eltérő kiindulási alapanyag, feltehető hogy ezekben az esetekben a fajtán belüli variabilitásról lehet szó. Ahol a meghatározott fragmenshosszok között csupán 1-2 bp. a különbség, ott ez adódhat mérési hibából is. A VMC4A1, VVS16 és VMC4G6-os mikroszatellit primerek esetén a fragmenshosszok konkrét összehasonlítására nem volt lehetőségem, mert nem találtam erre vonatkozó irodalmi hivatkozást. Megállapítható viszont, hogy azok az irodalmi adatok alapján várható fragmenshossz tartományba esnek.

A kapott eredmények alapján elvégeztem az adott lókuszek statisztikai kiértékelését. A kapott eredmények alapján megállapítható, hogy a genotípusok száma a VVS2-es és a VVMD7-es primerek esetén volt a legmagasabb, ezért ezzel a két SSR markerrel lehet a legtöbb fajtát elkülöníteni egymástól.

A Vitis Microsatellite Consortium által javasolt SSR markerek mindegyike magas variabilitást mutatott. A VMC4A1-es és a VMC4G6-os primerrel ez idáig csak kevés fajtát vizsgáltak, ugyanakkor megállapítható, hogy ezekkel a primerekkel is magas variabilitás tapasztaltam, ezért használtuk a jövőben javasolható. A VVS16-os primer vizsgálataink szerint csak csekély mértékű polimorfizmust mutatott, a vizsgált fajták körében mindössze 4 genotípus fordult elő.

Az eredményekből rajzolt dendrogramm alapján nem fedezhetők fel egyértelmű csoportok a fajták földrajzi-ökológiai fajtacsoportba való tartozása szerint, de az egy csoportba tartozó fajták általában közelebb találhatók egymáshoz, mint más fajtacsoportba tartozó fajtákhoz. Megállapítható, hogy az olasz Picolit fajta a vizsgált fajtáktól, így a Kéknyelűtől is elkülönül.

Annak kiderítésére, hogy a fenotípusosan megjelenő tulajdonságok és az SSR vizsgálatokkal nyert eredmények között

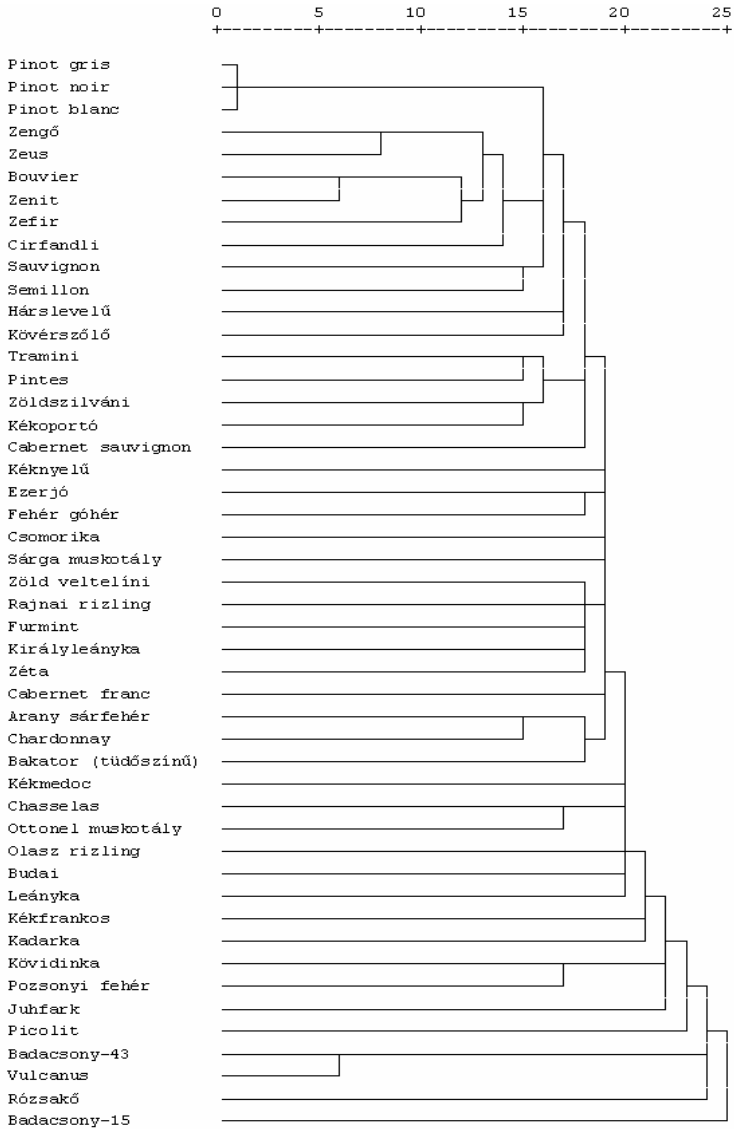
van-e összefüggés, megvizsgáltam, hogy a fajták származási csoportba való tartozása és a mikroszatellit alléljaik mutatnak-e összefüggést, illetve csupán SSR tulajdonságok alapján megállapítható-e, hogy egy fajta melyik convarietasba tartozik.

Ennek eldöntésére az izoenzim vizsgálatnál leírtakkal azonos módszerrel klaszteranalízist végeztem az SPSS 14.0-a számítógépes statisztikai elemző program segítségével.

A program két függvény alapján elkülönítette a vizsgált fajtákat. Az egyes mikroszatellit allélok és a convarietasba való tartozás közötti konkrét összefüggés vizsgálatára a nagy együtthatók esetén elvégeztem az összefüggésvizsgálatot χ^2 próba segítségével, de összefüggést 95%-os valószínűségi szinten nem lehetett kimutatni.

A kapott eredmények tanulmányozása során feltűnt, hogy a 'Szürkebarát' fajta a megismételt vizsgálatok során a VMC4A1-es primerrel minden esetben 2 helyett 4 fragmenshosszot adott, két olyan allélt tartalmazott, mint a vele közeli rokonságban álló Pinot blanc (267,275), és két további allélt, melyeknél a fragmenshosszok 2 bp-ral rövidebbek voltak (265,273).

Bár az elemzéseknél a Pinot blanc-nal egyező alléleket vettem figyelembe, de a további két allél minden esetben képződött a PCR reakció során, ezt a két fajta összehasonlításánál mindenképpen figyelembe kell venni. Mindezek alapján eredményeimből megállapítható, hogy az általam használt 6 primer segítségével a vizsgált 48 fajta többsége elkülöníthető egymástól.



3. ábra: A vizsgált fajták dendrogramja mikroszatellit eredmények alapján

2.3. Izoenzim és mikroszatellit eredmények összegző értékelése

A kétféle molekuláris markerrel kapott adatok pontosabban mutatják a fajták hasonlóságát, illetve különbözőségét. Ezt figyelembe véve a kapott eredményeket összevontan is értékeltem.

3. táblázat: A vizsgált fajták besorolása izoenzim, illetve mikroszatellit eredmények alapján

	izoenzim		mikroszatellit			izoenzim		mikroszatellit	
	eredeti	számított	eredeti	számított		eredeti	számított	eredeti	számított
Cabernet franc	1	1	1	1	Budai	<u>3</u>	<u>1</u>	3	3
Cabernet sauvignon	1	1	1	1	Csomorika	3	3	3	3
Cirfandli	1	1	1	1	Ezerjő	<u>3</u>	<u>2</u>	3	3
Olasz rizling	1	1	1	1	Fehér góhér	3	3	3	3
Pinot blanc	1	1	1	1	Furmint	3	3	3	3
Pinot gris	1	1	1	1	Hárslevelű	3	3	3	3
Pinot noir	1	1	1	1	Kadarka	3	3	3	3
Sauvignon	1	1	1	1	Kéknyelű	3	3	3	3
Semillon	1	1	1	1	Kövidinka	3	3	3	3
Tramini	1	1	1	1	Királyleányka	4	2	4	2
Zöld veltelíni	1	1	1	1	Kövérszőlő	3	3	3	3
Zöld szilváni	1	1	1	1	Kékfrankos	2	2	2	2
Bouvier	1	1	1	1	Picolit	3	3	3	3
Zéta	3	3	3	3	Pozsonyi fehér	3	3	3	3
Chasselas	<u>2</u>	<u>1</u>	2	2	Rajnairizling	1	1	1	1
Juhfark	<u>2</u>	<u>1</u>	2	2	Chardonnay	1	1	1	1
Pintes	3	3	3	3	Zenit	4	1	4	1
Leányka	2	2	2	2	Zengő	4	2	4	2
Kékmedoc	2	2	2	2	Zefir	4	<u>1</u>	4	<u>3</u>
Kékoportó	2	2	2	2	Zeus	4	1	4	1
Sárgamuskotály	3	3	3	3	Badacsony-15	4	<u>2</u>	4	<u>3</u>
Ótonel muskotály	4	3	4	3	Badacsony-43	4	2	4	2
Arany sárfehér	3	3	3	3	Rózsakő	4	1	4	1
Bakator (tüdőszínű)	3	3	3	3	Vulcanus	4	<u>1</u>	4	<u>3</u>

A diszkriminancia analízist a két genetikai markerrel kapott adatok összevonásával is elvégeztem, de mivel a variabi-

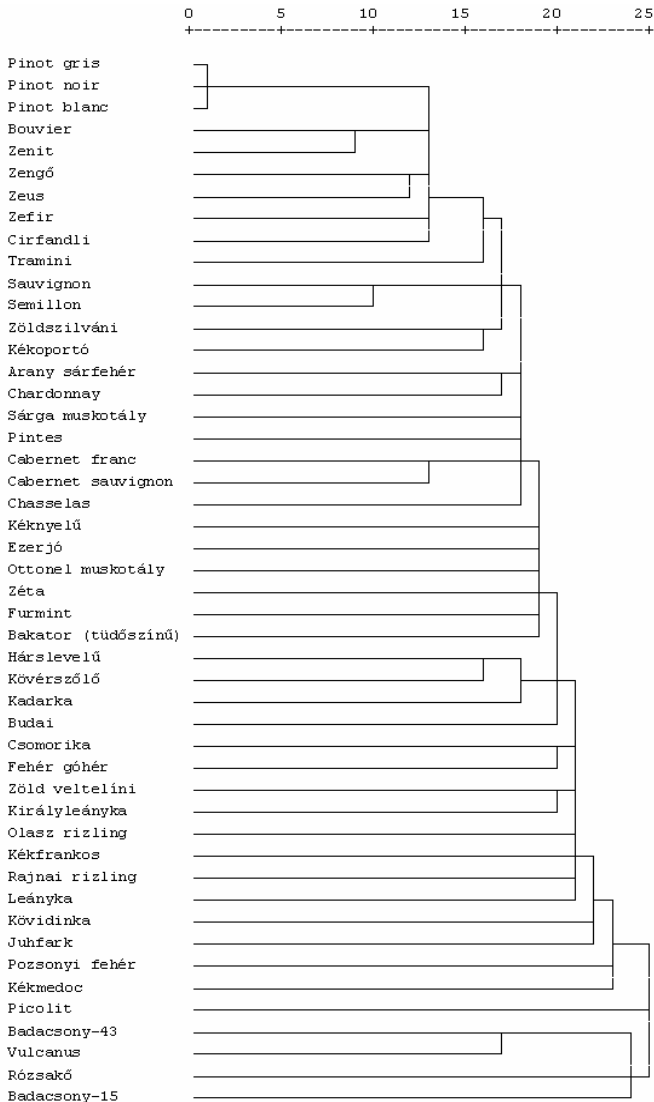
litás a mikroszatellit markerekkel sokkal nagyobb volt, így a program a besorolásnál csak ezeket vette figyelembe. A két markerrel külön-külön végzett diszkriminancia elemzés során a program a convarietasba nem sorolt hibrid fajták besorolását is elvégezte a kapott eredményeket a **3. táblázat** tartalmazza.

Néhány fajtánál az izoenzim vizsgálatok alapján a diszkriminancia analízis eredménye és az eredeti besorolás nem egyezik (Chasselas, Juhfark, Budai, Ezerjó), a táblázatban ezeket aláhúzással jelöltem. Ezeknél a fajtáknál valószínűleg ez azért fordulhatott elő, mert eredetileg hibrid eredetűek, csak a szülőfajták identifikálására nem került még sor.

A hibrid fajták besorolását mindkét marker eredményei alapján elvégeztem. A kétféle marker a legtöbb esetben azonos eredményt adott (hét a tízből), abban az esetben ahol a hibrid fajták szüleit ismerjük, és a kétféle besorolás eltér, ott általában az egyik marker az egyik szülőhöz, míg a másik marker a másik szülőhöz tette közelebb az adott fajtát, kivéve a Badacsony-15 jelű fajtajelölt esetében.

Kiszámoltam a két eredmény összevonásával a hasonlósági (Jaccard) indexeket, és dendogrammot rajzoltam (**4. ábra**). A kapott eredmények alapján ebben az esetben még szembetűnőbb, hogy a 'Picolit' fajta mennyire eltér a többi vizsgált fajtától. Ez arra enged következtetni, hogy a fajták földrajzi elterjedése, és genetikai hátterük között összefüggés lehet.

Különösen igaz lehet ez a feltételezés az autochton fajtákra (tájfajtákra), mint amilyen a Badacsonyi borvidéken a 'Kéknyelű', vagy az olasz Friuli-Venesia Borvidéken a 'Picolit'. A tájfajtáknál azért lehet ez a tulajdonság erőteljesebb, mert azok az adott termőhelyhez adaptálódtak, ezért természetük őket csak egy meghatározott területen.



4. ábra: A vizsgált fajták dendrogrammja izoenzim és mikroszatellit eredmények alapján

A diszkriminancia analízis és a klaszteranalízis eredményei alapján egyértelműen megállapítható, hogy a fajták

származása (convarietasba való tartozása) és genetikai markerekkel kapott eredményeik összefüggnek egymással, ami megerősíti azt a feltételezést, hogy a convarietasok kialakításának szilárd genetikai alapjai lehetnek.

2.4. Új tudományos eredmények

Eredményeim közül az alábbiak tekinthetők új tudományos eredménynek:

- Izoenzim vizsgálatokkal sikerült olyan savas foszfatáz mintázatot találni, amely a pontuszi származású fajtákra jellemző, a kapcsolatot statisztikai próbával igazoltam.
- Vizsgálataim segítségével kapcsolatot találtam a fajták származási fajtacsoportja és izoenzim-mintázata, valamint mikroszatellit profilja között.
- Izoenzim és mikroszatellit vizsgálatokkal sikerült a 'Kéknyelű' és a 'Picolit' fajták különbözőségét igazolni.
- Mikroszatellit vizsgálatokkal sikerült a Pinot fajtakörön belül 2 fajtát a 'Pinot blanc' és a 'Szürkebarát' fajtát elkülöníteni.
- Izoenzim vizsgálatokkal Magyarországon köztermesztésben lévő jelentős fajtákat jellemeztem.
- A VMC4A1-es és a VMC4G6-os mikroszatellit markerek segítségével a vizsgált fajtákat elsőként jellemeztem.
- Az általam használt és fejlesztett izoenzim, illetve SSR módszerekkel a fajták többsége azonosítható (46 a 48-ból) ezért a rendszer a gyakorlatban a fajtaazonosság megállapítására használható.

3. Összefoglalás

A növénynemesítés sikerét minden faj esetén alapvetően meghatározza a kiindulási alapanyagban meglévő genetikai változatosság. A keresztezéses nemesítés során az utódpopuláció genetikai sokfélesége annál nagyobb, minél nagyobb a keresztezett szülőpartnerek közötti genetikai távolság.

Doktori disszertációm célja szőlőfajták genomjának vizsgálata molekuláris markerekkel (izoenzim, SSR). 48 fajtánál, 8 enzim izoenzimmintát, és 7 primerpár segítségével SSR fragmenshosszokat vizsgáltam.

A CO, GOT, AcP és PER enzimek esetén a szőlő nyugalmi időszakában a vessző hánca részéből nyert enzimmintákat vizsgálva megállapítottam, hogy a kapott mintázat megismételhető, a nyugalmi időszakon belül nem függ a mintavétel idejétől. E négy enzim izoenzim-mintázata alapján a vizsgált 48 fajta többsége (40 fajta) az általam használt módszerrel azonosítható.

Összefüggést találtam a fajták származási csoportba (convarietas) való tartozása, és izoenzim-mintázatuk között. Megállapítottam, hogy míg a pontuszi fajták az *orientalis* és *occidentalis* csoporttól egyértelműen elkülönülnek, addig ez utóbbi két csoport nem válik el élesen egymástól. Olyan speciális savas foszfátáz izoenzim-mintázatot azonosítottam, amely jellemző a pontuszi fajtákra, ugyanakkor a másik két csoportban csak elvétve fordul elő. Izoenzim és mikroszatellit vizsgálatokkal sikerült a 'Kéknyelű' és a 'Picolit' fajták különbözőségét igazolni.

Mikrosatellit vizsgálataim alapján az általam használt 6 primerpár segítségével a vizsgált 48 fajta közül 46-ot tudtam azonosítani. A VMC4A1-es primerrel a kapott eredmények alapján különbséget tudtam tenni a Pinot conculta két cultivarja a 'Pinot blanc' és a 'Szurkebarát' között.

Az értekezés témakörében megjelent legfontosabb közlemények

- Pedryc, A., Major Á., **Jahnke G.** (1996): Comparison of the starch- and polyacrylamide-gel electrophoresis in the evaluation of isoenzyme polymorphism in apricot. *Acta Horticulturae* 484: 373-376. p.
- Györfyné Jahnke G.**, Korbuly J., Májer J. (2002): Isoenzymatic characterisation of some grapevine cultivars bred in Badacsony. *Acta Horticulturae* 603: 593-599. p.
- Györfyné Jahnke G.**, Májer J. (2002): Result of the experiments for the improvement of the functional female flowered grapevine cultivar 'Kéknyelű'. *Acta Horticulturae* 603: 767-773. p.
- Györfyné Jahnke G.**, Korbuly J., Májer J.(2003): Isoenzyme polymorphism of some grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *Acta Horticulturae* 652: 395-400. p.
- Korbuly J., Pedryc A., Oláh R., **Jahnke G.**, Perneszy Gy.(2003): Evaluation of frost resistance of traditional and newly bred Hungarian wine-grape cultivars. *Acta Horticulturae* 652: 337-341. p.
- Györfyné Jahnke G.**, Korbuly J. (2005): A pontuszi fajtákra jellemző savas foszfatáz izoenzim-mintázat. *Kertgazdaság* 2005/3
- Györfyné Jahnke G.** (2006): Distinguishing of the Grapevine Cultivars 'Picolit' and 'Kéknyelű' with the help of Isoenzyme Analyses. *Acta Horticulturae* (in press)
- Györfyné Jahnke G.**, Kocsis L. (2005): Molekuláris markerek felhasználása alany és nemes szőlőfajták jellemzésére. *XLVII. Georgikon Napok Keszthely, 2005. szeptember 29-30.* (CD:\GN2005\TELJES_A\GYORFFYN.doc)
- Györfyné Jahnke G.**, Korbuly J. (2004): A Special Isoenzyme Banding Pattern Characteristic for Some of the Pontican Cultivars *XXVIII. World Congress of Vine and Wine Vienna-Austria Proceedings* (CD:\OIV_CONGRESS 2004\SESSION_I\POSTER PRESENTATION\P_1_06)
- Györfyné Jahnke G.**, Korbuly J. (2005): A characteristic acid phosphatase isoenzyme pattern of the pontican cultivars. *GESCO 2006 - Proceedings Geisenheim* 23.-27.08.2005. 858-864. p.

