

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**KAJSZIFAJTÁK GENETIKAI ANALÍZISE DNS-ALAPÚ
MARKEREKKEL**

Ruthner Szabolcs

Budapesti Corvinus Egyetem
Genetika és Növénynevelés Tanszék



Budapest
2010

A doktori iskola

- megnevezése:** Kertészettudományi Doktori Iskola
- tudományága:** Növénytermesztési és kertészeti tudományok
- vezetője:** Dr. Tóth Magdolna
egyetemi tanár, DSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék
- Témavezető:** Dr. Pedryc Andrzej
egyetemi tanár, 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 védési eljárásra bocsátható.

.....
Dr. Tóth Magdolna
Az iskolavezető jóváhagyása

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

1 BEVEZETÉS

Magyarországon több évszázados hagyománya van a kajszi termesztésének. A magyar kajszi kiváló tulajdonságait külföldön is elismerik, és hungarikumként tartják számon. Tradícióból és hírnévből azonban sokáig megélni nem lehet, a piaci lehetőségeket ezért csak úgy lehet kihasználni bel- és külföldön egyaránt, ha kiváló minőségű gyümölcsöt termesztünk. Ehhez megvannak a megfelelő termőhelyeink, kiváló beltartalmi értékekkel rendelkező hagyományos fajtáink és a szakmai tudás. A változó fogyasztói szokásokkal és piaci igényekkel azonban csak úgy tudunk lépést tartani, ha a termesztést folyamatosan fejlesztjük. Az innovációs tevékenységnek minden részletre ki kell terjednie a termőhelyi alkalmasság meghatározásától a technológia kidolgozásán keresztül az értékesítésig. Ezen belül meghatározó jelentősége van a fajtahasználatnak. A magyar termesztők rendelkezésére álló fajtaválaszték sajnos csak lassan bővül, pedig nagy szükség lenne a sarkavírussal szemben rezisztens és a kereskedelmi céloknak megfelelő új fajtákra, ami a világon már több helyen elérhető.

A világ kajszitermesztésének jelentős részét az európai ökoföldrajzi csoportba tartozó kajszifajták adják. E csoport tagjainak túlnyomó többsége öntermékenyülő, de éppen ebből kifolyólag e csoport genetikai variabilitása igen korlátozott. A piaci igényeknek megfelelő, egyre újabb fajták előállításának kényszere megköveteli, hogy a nemesítő egyre szélesebb genetikai bázisú alapanyagokat használjon fel nemesítési programjában.

A nemesítési folyamatok felgyorsításának egyik eszköze a DNS-markerekre alapozott szelekció. Viszonylag egyszerűen és egyértelműen azonosítható, változatos allélösszetételű, ismert szabályok szerint öröklődő markerlókuszok segítségével megvalósítható a fajtákban rejlő genetikai polimorfizmus kutatása, a fajták eredetének és rokonsági kapcsolatainak vizsgálata, fajták azonosítása. A nemesítői szellemi tulajdon védelmében, a fajtaazonosítási céllal használt molekuláris markerek szerepe fokozatosan felértékelődik. Így a technika nagymértékben könnyítheti a nemesítőket illető fajtahasználati díj begyűjtését, ami alapját képezheti a későbbi nemesítési programoknak.

2 CÉLKITŰZÉS

A munkánk során az alábbi célokat tűztük ki:

1. A rendelkezésre álló laborhátterre és a kajszi növényre alkalmas rutinszerű DNS-izolálási eljárás adaptálása.
2. A Magyarországon árutermesztési célból termesztett kajszi fajták azonosítása, és egyedi DNS-ujlenyomat készítése RAPD és SSR markerekkel.
3. Őszibarackra és kajszi barackra tervezett SSR primerkészletek összehasonlítása a kajszi genetikai sokféleségének vizsgálatában.
4. Az eltérő kajszi ökoföldrajzi fajtacsoportok genetikai kapcsolatának követése mikroszatellit markerekkel.
5. A közép-európai fajtakör variabilitásának vizsgálata és összehasonlítása a fő fajtacsoportok polimorfizmusával.

3 ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 Növényanyag

A vizsgált fajták és hibridek a Budapesti Corvinus Egyetem Genetika és Növénynevelés Tanszék Szigetcsépi ültetvényéből, az MgSzH (volt OMMI) referencia gyűjteményéből, a Mendel Egyetem (Csehország) lednicei ültetvényéből, a Ceglédi Gyümölcsstermesztési Kutató-Fejlesztő Intézet génbankjából, a Kecskeméti Főiskola gyümölcsültetvényéből, a BOKU Egyetem (Bécs) génbankjából, illetve Laimburgból és Ferraraból (Olaszország) származnak.

3.2 DNS-izolálás

Az analízishez szükséges teljes genomi DNS-t 0,1 g áprilisban és májusban gyűjtött fiatal kajszi levélből izoláltuk három módszer tökéletesítése révén. A RAPD analízishez javított CTAB módszert, míg az SSR markeres vizsgálatokhoz a Qiagen cég által kifejlesztett DNeasy Plant Mini Kitet használtuk. A DNS mennyiségét spektrofotometriás úton mértük (GeneQuant II RNA/DNA) és hígítottuk a reakcióhoz szükséges megfelelő koncentrációra.

3.3 RAPD analízis

A vizsgálatba az állami elismerésben részesített, a nemzeti leíró fajtajegyzékben szereplő összesen 16, Magyarországon legnagyobb területen termesztett fajtát vontunk be. A kísérlet során az OPERON Co. által szintetizált B, C és O primerkit-et használtuk. A kísérletünkben a polimorf mintázatot ígérő reakciókat négyszer, ötször megismételtük, és csak a legélesebben megjelenő és reprodukálható fragmentumokat használtuk markerként. Az amplifikált mintákat 1%-os agaróz gélen választottuk el, majd az eredményeket ethidium-bromidos festési eljárással tettük láthatóvá.

3.4 SSR analízis fajtaazonosítási céllal

A kutatásban a RAPD analízishez használt 16 fajtát használtuk. A kísérletben 8 db kajszi fluoreszcens végjelölésű (Cy5) mikroszatellit primerpárt használtunk az adott primerre közölt PCR programokkal. Az amplifikált mintákat először 3%-os BMA MetaPhor agaróz gélen vizuálisan 25 bp méretmarker (Promega) kíséretében ellenőriztük, majd a sikeres reakciótermékeket 6%-os denaturáló poliakrilamid gélen Amersham Pharmacia ALF Express szekvenáló készülékkel választottuk szét. A gélek értékeléséhez a Fragment Analyser 1.03 (Amersham-Pharmacia) szoftvert alkalmaztuk.

3.5 SSR analízis őszibarack mikroszatellit primerekkel

A kísérletbe 45 olyan kajszi fajtát állítottunk, melyeket Közép-Európában termesztetőség szempontjából értékesnek találtunk. A PCR reakciót 18 őszibarackra és 1 kajszi kifejlesztett mikroszatellit primerrel végeztük.

Az amplifikált PCR termékeket 3%-os Metaphor agaróz (Biowhittaker Maine, USA) gélen választottuk el 1x TBE (89 mM Tris, 89 mM borsav, és 2 mM EDTA (pH 8.0) futtató pufferrel. Az amplifikátumokat 0,7 µg/ml ethidium-bromid festéssel tettük láthatóvá UV fény alatt. A fragmentumokat 100 bp méretmarkerrel (Promega) vizuálisan azonosítottuk.

A genetikai távolsági mátrixot a hasonló allélok arányát felhasználó módszerrel készítettük MICROSAT programmal. Az UPGMA klaszteranalízist a NEIGHBOR program PHYLIP 3.5c verziójával végeztük. A dendrogramot a TREEVIEW programmal szerkesztettük. Ezenkívül meghatároztuk a lókuszonkénti allélszámot, valamint a megfigyelt heterozigótaságot.

3.6 SSR analízis kajszii mikroszatellit primerekkel

A vizsgálatban 133 kajszii genotípust, a *P. brigantia* fajt, valamint két interspecifikus hibridet, a *P. x dasycarpa*-t és a Plumcotot jellemeztük. A kísérletbe vont fajták megfelelően reprezentálták az Európában, az iráni-kaukázusi régióban, Közép-Ázsiában és Észak-Amerikában termesztett különböző származású kajszikát.

Két különböző forrásból származó, kajszira tervezett 10 mikroszatellit primert alkalmaztunk, a PCR reakció körülményeit a primereknek megfelelően optimalizáltuk.

Az amplifikált mintákat először agaróz gélen ellenőriztük, majd a sikeres reakciótermékek fragmentum méreteit ABI 3100 kapilláris szekvenátorral és ABI Genotyper 3.7 szoftverrel határoztuk meg.

Minden vizsgált mikroszatellit lókuszt alléllösszetételét meghatároztuk a 136 vizsgált genotípusban. Az egyes allélokat alfabetikus sorrendbe rendeztük ('A' a legkisebb stb.). A POPGENE 1.32 programot használtuk a következő értékek kiszámításához: a lókusztok allélgyakorisága, allélszám, beltenyésztési együttható (F_{ST}), génáramlás ($N_m = 0,25(1/F_{ST}-1)$). Meghatároztuk a várható heterozigótaságot ($H_e = 1 - \sum p_i^2$, ahol p_i az i . allél gyakorisága) és a megfigyelt heterozigótaságot (H_o , a heterozigóta genotípusok száma osztva az összes genotípus számával). A mikroszatellitek által kapott értékek alapján kalkuláltuk a genetikai azonosságot (I), valamint a genetikai távolságot (D).

A genetikai távolságok alapján az UPGMA klaszteranalízist az NTSYS programmal végeztük. A dendrogramot a TREEVIEW programmal készítettük. A párok közti távolságot a 133 vizsgált kajszifajta között PAUP (4. verzió) programmal számoltuk ki.

4 EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

4.1 DNS-kivonási eljárás adaptálása kajszira

Munkánk során az első lépés a DNS-izoláláshoz legmegfelelőbb növényanyag kiválasztása volt. A különböző időpontokban gyűjtött levelek tesztelése során azt tapasztaltuk, hogy a tavaszi rügyattanás után szedett minták feldolgozása adta a legjobb DNS-minőséget, hiszen ekkor a levélszövet még kevésbé tartalmaz polifenolokat, ami a munkafolyamatot jelentősen megnehezíti.

A kutatás idején fellelhető DNS-kivonási eljárásokat több szempontból is megvizsgáltuk. Az eredmény szempontjából legfontosabb kritérium a nyert DNS PCR reakcióhoz való alkalmassága volt. Ezen kívül olyan módszert kerestünk, amely alkalmas nagy mintaszám gyors és rutinszerű feldolgozására, és minél kevesebb környezetre, valamint egészségre káros vegyszer használatával, egyszerűen kivitelezhető.

A kutatás kezdetekor elsőként kipróbált eljárás az (amerikai) bab módszer volt. Az inkubációs idők növelésével, illetve az alkoholos kicsapási műveletek többszöri ismétlésével lehetett a módszer hatékonyságát leginkább növelni. Az eljárást eredetileg bab növényre dolgozták ki, és nem a kajszi durvább szövetű, a DNS-izolálást jelentősen megnehezítő anyagokat nagy mennyiségben tartalmazó levelére. Noha sikerült jó minőségű DNS-t nyernünk, a módszert időigényessége és nehézsége miatt a továbbiakban nem alkalmaztuk.

A következő módszer, amit vizsgáltunk, egy fás növények körére kidolgozott CTAB alapú eljárás volt. A kísérlet során kezdetben rossz minőségű, töredezett DNS-t kaptunk, amely alkalmatlan volt a PCR reakcióhoz. A módszer optimalizálása során lecsökkentettük a centrifugálás sebességét, alacsonyabb inkubációs hőmérsékletet alkalmaztunk, illetve általában megpróbáltuk csökkenteni azoknak a lépéseknek a számát, ahol a DNS durva fizikai hatásnak van kitéve (rázás, ütögetés stb.). Sikerült így egy gyors, olcsó, rutinszerűen elvégezhető eljáráshoz jutnunk, ahol a DNS minősége is kielégítő. A módszer hátrányát a kivitelezéséhez használt nagy mennyiségű egészségre káros vegyszer használata jelentette.

A későbbi vizsgálataink során rátaláltunk a Qiagen cég által kifejlesztett DNeasy Plant Mini Kitre. Az SSR markerekkel végzett kutatásokhoz szinte kizárólag ezt a technikát alkalmaztuk a DNS izolálásához. Ez a módszer egy teljesen zárt rendszer, a használt oldatok biztonságosak, az eljárás rövid idő alatt könnyen elsajátítható. Amellett, hogy egészségi szempontból semmiféle veszéllyel nem jár, lehetővé teszi, hogy megfelelő minőségű és mennyiségű genomi DNS-hez jussunk munkánk során. A módszer egyedüli hátrányát a szükséges vegyszerek és eszközök magas költsége jelenti, de ezt teljes mértékben kompenzálják az említett előnyös tulajdonságai.

4.2 Magyarországon legnagyobb területen termesztett fajták azonosítása és egyedi DNS-ujjlenyomat készítése RAPD és SSR markerekkel

Az Operon cég által szintetizált RAPD primereket széles körben és nagy hatékonysággal használják a *Prunus* genotípusok jellemzésére. Az alapos tesztelést követően kiválasztott nyolc primer amplifikációja a vizsgált 16 fajtában összesen huszonnégy fragmentumot eredményezett, melyből 14 (53%) volt polimorf.

Több olyan markert is találtunk, amely csak egy vagy két fajtában fordult elő. A polimorf fragmentumokat felhasználva a vizsgált kajszifajták többségét sikerült egyértelműen megkülönböztetni, és egyedi DNS ujjlenyomatot készíteni. A két magyar

kajszi klón ‘Gönci magyar kajszi’ és ‘Magyar kajszi C.235’ esetében ugyanazt a mintázatot kaptuk. Vélhetően azért, mert a klónok közti genetikai különbség olyan csekély, hogy a RAPD markerek nem alkalmasak az elkülönítésükre.

Az úgynevezett Óriás kajszi fajtakörön (‘Szegedi mamut’, ‘Ligeti óriás’, ‘Ceglédi óriás’) belül sem tudtunk különbséget tenni. Ez alátámasztja azt a mostanában kialakult feltételezést, hogy a ‘Szegedi mamut’ és a ‘Ceglédi óriás’ fajtakeveredés következményeként tulajdonképpen ugyanaz a fajta, és szinonim elnevezésnek tekinthető. A ‘Ligeti óriás’ és a ‘Ceglédi óriás’ fajták között pedig nincsenek morfológiai különbségek, csak néhány pomológia eltérés (pl. érésidő), így vélhetően a genetikai állományukat tekintve is nagyon hasonlóak.

A vizsgálat alapján elmondható, hogy a viszonylag kevés RAPD primer felhasználásával sikerült a fajtákat megkülönböztetni egymástól. Ennek alapján a RAPD markerek alkalmasak lehetnek nemcsak tudományos célokra, hanem a kereskedelmi tételek azonosítására, illetve fajtaelismerési célokra egyaránt.

Ez irányú törekvésünket bizonyítja, hogy a vizsgálati eredményeinket, mint a hazánkban termesztett fajták meghatározására alkalmas módszert, az Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet Kertészeti Szaporítóanyagok Osztálya egy szerződés keretében fajtaazonosítási célra használja tovább.

A mikroszatellit markerek alkalmazásával kapott eredményeink egyértelműen alátámasztották a RAPD markerek által nyert eredményeinket. A morfológiai és RAPD markerekkel történő kutatások alapján felállított hipotézis, miszerint a ‘Szegedi mamut’, ‘Ceglédi óriás’, és ‘Ligeti óriás’ fajták azonos genetikai háttérrel rendelkeznek, az általunk vizsgált mikroszatellit lókuszek esetében is megerősítést nyert, mivel a kapott allélok mind az öt vizsgált lókuszek esetében azonosak voltak. Emellett a ‘Gönci magyar kajszi’ és ‘Magyar kajszi C.235’ fajta klónok között sem találtunk különbséget.

4.3 Ószibarack SSR primerek használata 45 kajszigenotípus jellemzésére

A különböző *Prunus* fajok mikroszatellit régióit határoló szekvenciák konzervativizmusa lehetővé tette számunkra, hogy ószibarack primereket használjunk a kajszi genetikai sokféleségének tanulmányozására.

A kísérletbe vont 45 fajtánál a 10 primer 35 polimorf allélt hozott létre, lókuszonként 2-5 allél között, mely átlagosan 3,5 polimorf allél/lókuszek. A megfigyelt heterozigótaság mértéke relatíve magas, 0,19-0,98 között alakult, mely átlagosan 0,58 a vizsgált lókuszeknél. Olyan ritka allélok is találtunk, amelyek csak néhány fajtában fordultak elő.

A Reynolds-féle hasonlósági indexen (F_{ST}) alapuló UPGMA klaszteranalízissel létrehozott dendrogram a 45 fajtát két fő csoportba és néhány alcsoportba sorolta. A két fő csoportot többségében ázsiai és nem ázsiai eredetű fajták alkotják. A nem ázsiai eredetű fajták további alcsoportokra oszthatók. A legnagyobb, és jól körülhatárolható alcsoport kilenc, a magyar kajszi fajtakörbe tartozó, magyar és a környező országokból származó fajtákat tartalmazott. A másik nagy alcsoport az Óriás kajszi fajtakörbe tartozó fajtákon kívül néhány ceglédi fajtát tartalmazott.

A felhasznált ószibarack primerek 90%-ban alkalmasak voltak mikroszatellit lókuszek azonosításra, mely jól bizonyítja a módszer alkalmazhatóságát. Ez még akkor is igaz, ha egy részüknél monomorf mintázatot kaptunk. A lókuszonkénti nagy allélszám megerősítette, hogy a mikroszatellit markerek nagyon hasznos eszközei a

kajszi fajtaazonosításának. Az allélszám nagyobb, mint az egyéb molekuláris markerekkel végzett korábbi vizsgálatoknál.

A MetaPhor agarózzal történő gélelektroforézis alkalmas a mikroszatellitek azonosítására. Összehasonlítva a poliakrilamid gélen történő futtatással, vagy pedig az automata fragmentumhossz analízissel, messze a legegyszerűbb és legolcsóbb módszer. Különösen jó felbontás érhető el a 100-200 bp mérettartományban. Az egyik legnagyobb előnye a módszernek, hogy könnyen adaptálható olyan gyakorlati területekre, mint például a faiskolák, illetve kertészeti árudák, ahol a fajtaazonos szaporítóanyag kulcskérdés. Az természetesen nyilvánvaló, hogy egy automata detektációs rendszer, mely alkalmas az egyes fragmentumok hosszának akár egynukleotid eltérését is jelezni, nagyobb allél variabilitást képes kimutatni, mint az agaróz gél. Következésképpen az allélok száma várhatóan magasabb lett volna annál, mint amit a jelen eredmények mutatnak.

4.4 Kajszi SSR markerekkel vizsgált 136 genotípus azonosítása és genetikai kapcsolatuk, származásuk elemzése

A felhasznált primerek alkalmassága és a polimorfizmus jellemzői

Százharminc kajszifajta és három rokon faj genetikai polimorfizmusát vizsgáltuk 10 kajszi genomi DNS alapján tervezett SSR-primer segítségével. Az összes vizsgált lókuszt polimorf volt. A 133 minta tesztelésével 133 allélt azonosítottunk, ami átlagosan 13,3 allél/lókuszt értéket mutatott. A lókuszonként megfigyelt heterozigótaság mértéke $H_o=0,8636$ (UDAp-410 lókuszt) és $H_o=0,3182$ (ssrPaCITA27) között változott; az átlag 0,6281 volt. A megfigyelt heterozigótaság (H_o) minden fajta esetében kisebb volt az elméletileg várt heterozigótaságnál (H_e). Az összes egyedben kimutatható 133 különböző allél közül 32 olyan allélt találtunk, amely csak egyszer fordult elő a vizsgált mintákban.

A kutatás eredményei bizonyítják, hogy a nagy polimorfizmussal bíró homológ mikroszatellit markerek kiváló eszközei a kajszi fajtaazonosítás célú vizsgálatainak. A vizsgálatunkban elért magas lókuszonkénti allélszám elsősorban annak volt köszönhető, hogy a korábbiaknál jóval több genotípust vizsgáltunk, valamint először használtunk tíz kajsziból izolált SSR primert.

Az F_{ST} -értéket a populációgenetikában a heterozigótaság részpopulációkban és egész populációban való eloszlásarányának kifejezésére használják. A 0,25 fölötti F_{ST} -értékek nagyon nagy genetikai differenciálódást mutatnak. Mivel az általunk vizsgált mintákban az F_{ST} -értékek átlaga 0,5768 volt, megállapítható, hogy a fajták között relatíve nagy a genetikai különbözőség. A vizsgálatainkban megállapított magas F_{ST} -értékek a kismértékű génáramlással magyarázhatók. Erre utalnak a N_m értékek is. A vizsgált lókusztok átlagos génáramlási (N_m) értéke 0,1834 volt, ami rendkívül kis érték. Ha az $N_m < 1$ értéket vesz fel már kis génáramlásról beszélhetünk.

A kajszifajták genetikai változékonysága és fajták közötti genetikai kapcsolatok

A kajszifajták genetikai rokonságának megállapításához egy dendrogramot szerkesztettünk. A dendrogramot a 10 SSR-lókuszt adatai alapján összeállított genetikai távolságmátrixból páronkénti genetikai távolságok alapján UPGMA módszerrel készítettük. A dendrogram a fajtákat két nagy csoportra osztotta. Az 1-es csoportban két olyan alcsoport (1.1 és 1.2) található, amelyek a legtöbb közép-európai fajtát magukba foglalják. Az 1.1 alcsoport 6 európai fajtát és az amerikai 'Goldrich'-ot tartalmazza. Az 1.2 alcsoportba került a legtöbb európai fajta. Ezen a csoporton belül további 4 kelet-európai alcsoport jelenik meg: a Magyar kajszifajtacsoport; az Óriás kajszifajtacsoport; a román nemesítési programból származó hibridek; a Rózsabarack típusú fajták és ceglédi hibridek. Külön kiemeltük a 'Salah' ismert vagy feltételezett pedigréjű hibridjeit. Az alcsoportokba tartozó fajták kapcsolatát alátámasztják részben morfológiai jellemzőik, részben pedig az ismert pedigrék. Az 1. csoport többi, különböző ökoföldrajzi területekről származó fajtái az 1.3 csoportba kerültek. A 2. klaszter a különböző allélok nagy változatosságával csak az ázsiai genotípusokat (pakisztáni magoncok) tartalmazta. Ez a csoport kitűnő példa arra, hogy a ma termesztett fajták elődeinek természetes populációi mennyire voltak képesek fenntartani nagyfokú variabilitásukat.

A dendrogram további számos kisebb csoportot hozott létre, amelyek összefüggésben vannak az ezeket alkotó fajták pedigréjével, illetve a genotípusok földrajzi eredetével.

A Kárpát-medencében elterjedt egy sor nagy gyümölcsű és édes magvú fajta, amely az öntermékenyülő Magyar kajszifajtacsoportba tartozik. A mikroszatellit régiók variabilitásának adatai alapján megállapítható, hogy feltételezéseink szerint 18 ebbe a csoportba tartozó fajta közül 15 szoros rokonságban van, és közülük 5 ('Albena', 'Andornaktályai magyar kajszifajta', 'Crvena ugarska', 'Gönci magyar kajszifajta' és 'Nagygyümölcsű magyar kajszifajta') esetben az eltérő elnevezések mögött azonos genotípus jelenléte is lehetséges.

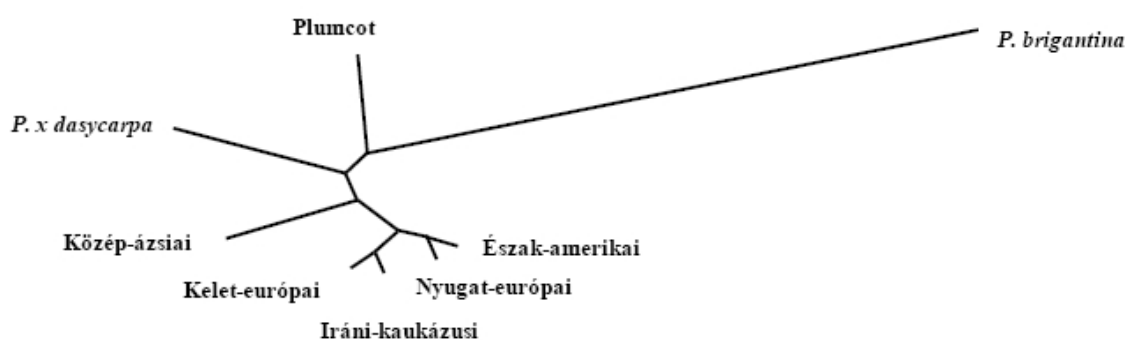
Világosan elkülönül az óriás kajszifajták csoportja. Az ide tartozó 'Ceglédi óriás', 'Szegeci mamut' és 'Ligeti óriás' fajták teljes azonosságot mutatnak.

A ceglédi nemesítésű fajták jellegzetes klasztert alkotnak. Mind a három vizsgált fajta pedigréjében szerepel a 'Ceglédi óriás', de ennek ellenére viszonylag távol esnek ettől a fajtától. Feltűnő viszont a Rózsabarackokhoz való közelség. A 'Ceglédi arany' ('Rózsabarack C.1668' × 'Ceglédi óriás') esetében ez a fajta eredetével magyarázható, de ez lehet a magyarázat a 'Ceglédi kedves' esetében is, amely a 'Ceglédi óriás' szabad megporzásából jött létre.

Az 1.1 és az 1.3 alcsoportok a nyugat- és kelet-európai, valamint a legtöbb észak-amerikai fajtát magukba foglalják. A 'Harcot', 'Veecot', 'Bahrt' (Orange red) és 'Morden-604' fajták közép-ázsiai fajtákkal közös helye az 1.3 alcsoportban bizonyítéka annak, hogy a legtöbb amerikai fajta mellett, hogy európai genetikai alapokra vezethető vissza, ázsiai eredetű génekkel is gazdagodott.

A kajszi és néhány rokon faj genetikai kapcsolatának elemzése klaszteranalízissel

A rokon fajokkal való összehasonlításban a közönséges kajszi, *P. armeniaca* termesztett fajtái egy klaszterbe tartoznak, egyértelműen jelezve a közös genetikai hátteret. Ettől a csoporttól a *P. brigantiaca* áll a legtávolabb (1. ábra). Ez a faj számos morfológiai jegyben jelentősen különbözik a *P. armeniaca*-tól, amit a molekuláris elemzések többször is alátámasztottak. A *P. × dasycarpa* és a Plumcot, a *P. armeniaca* × *P. cerasifera* és a *P. armeniaca* × *P. salicina* hibridjei. Ezek a fajok a 1. ábra szerint is a *P. brigantiaca* és más kajszi fajok között helyezhetők el a genetikai különbség alapján. Ezeknek a fajoknak a *P. brigantiaca*-hoz és *P. armeniaca*-hoz való viszonyát korábban már szintén megerősítették.



10

1. ábra: A különböző eredetű kajszi fajtacsoportok és a három rokonfaj genetikai távolságai alapján (Nei, 1972) szerkesztett UPGMA dendrogram

Ökoföldrajzi csoportok közötti genetikai viszony

A kajszifajták hagyományos taxonómiája a fiziológiai és morfológiai bélyegek összehasonlításán alapul, és négy fő ökoföldrajzi csoportot tart számon. Ezek közül hármat elemezhettünk: a magyar, a nyugat-európai és az észak-amerikai fajtákat magában foglaló európai csoportot, az iráni-kaukázusi csoportot, és a közép-ázsiai csoportot.

A nyugat-európai és észak-amerikai fajták klasztereinek közvetlen kapcsolata megfelelt annak a korábbi feltételezésnek, hogy az amerikai fajták az európai fajtacsoportnak közvetlen leszármazottai.

Az európai fajtacsoporton belüli további alcsoportok definiálása nem egyszerű, már a csoporton belüli keresztezés lehetősége miatt sem. Ennek ellenére egyes szerzők kiemelik a kelet-európai fajtacsoportot, mint az európai fajták egy jellegzetes típusát. Egy korábbi őszibarack SSR markeres vizsgálat adatai alapján elvégzett klaszteranalízis a kelet-európai csoportot képviselő magyar fajtákat közelebb helyezte el az ázsiai fajtákhoz, mint a nyugat-európai fajták csoportjához. Az eredményeink is

alátámasztották az előbbi megállapításokat azzal, hogy az iráni-kaukázusi és a kelet-európai fajták csoportja ebben az esetben is közeli kapcsoltságra utaló két alcsoportot alkotnak. Ezek az eredmények a kajszi ázsiai géncentruma irányából való terjeszkedés mentén a magyar eredetű fajtakört egy közbülső állomás szerepébe helyezik. A vándorlás során fellépő, a faj genomját modifikáló folyamatok fontosságát korábban már több szerző is hangsúlyozta.

A molekuláris markerek használata a fajták, nemesítési anyagok genetikai hátterének megállapítására és nemesítési célú hasznosítására, a fajtagyűjtemények kezelése és rendszerezése szempontjából egy ígéretes eszköz a gyümölcsfajtákkal foglalkozó szakemberek számára. A legtöbb gyümölcsfajta vegetatív úton szaporított, és a szelekciós folyamatok csak kis számú nemzedékre korlátozódnak. A kajsziban fontos nemesítési célok elérése - mint a szélesebb ökológiai adaptáció, a kórokozókkal, kártevőkkel szembeni rezisztencia, az új, a korábbinál jobb minőségű gyümölcstípusok iránti igény - csak különböző ökoföldrajzi csoportokból származó fajták felhasználásával lehetséges.

A vizsgálat eredményei azt mutatják, hogy a mikroszatellitek a fajtaazonosításban kiválóan alkalmazható kodomináns markerek, melyek nagy sikerrel használhatók a nemesítési programokban akár a szinonim nevű fajták és hibridek elkülönítésére is.

5 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- Azonosítottunk olyan RAPD és SSR markereket, amelyek alkalmasak voltak a Magyarországon legnagyobb területen termesztett 16 fajta azonosítására, egyedi DNS-profiljának elkészítésére. A módszert az OMMI a gyakorlatban felhasználta fajtaazonosítási célokra.
- Megállapítottuk, hogy a kajszibarack genomjára tervezett SSR-primerkészletek hatékonysága a kajszibarack mikroszatellit variabilitásának kimutatására jelentősen nagyobb, mint az egész *Prunus* nemzetségben alkalmazható őszibarack primereké.
- Eredményeink alapján megállapítható, hogy összehasonlítva a közép-ázsiai, iráni-kaukázusi, kelet-európai, nyugat-európai és észak-amerikai fajtacsoportok közötti genetikai távolságokat, illetve egyedi és közös allélok jelenlétét, a főleg magyar kajszifajtákra épülő közép-európai kajszifajtacsoport az iráni-kaukázusi fajtákkal mutatja a legnagyobb genetikai azonosságot. Megerősítést nyert a francia 'Bergeron' és 'Luizet' fajták genetikai kapcsolata a magyar fajtákkal. Megállapítottuk, hogy az Óriás kajszibarack fajtacsoportba tartozó három fajta genetikai háttere vélhetően azonos. Bebizonyítottuk, hogy az észak-amerikai fajták keletkezésében úgy az európai, mint az ázsiai génállományok szerepet játszottak. A közép-európai fajtákon kívül minden csoportban felfedeztünk egyedi allélokat. A legtöbb egyedi SSR-allél a kínai és közép-ázsiai fajtákban található. A kínai fajták SSR-polimorfizmusa jelentősen eltér a többi csoport fajtáitól.
- Vizsgálataink rávilágítottak arra, hogy az alapvetően magyar fajtákból álló közép-európai fajtakörben mért genetikai diverzitás egyértelműen alacsonyabb volt, mint az összes többi fajtacsoportnál.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT LEGFONTOSABB KÖZLEMÉNYEK:

IMPAKT FAKTOROS FOLYÓIRATOK

1. Maghuly F., Fernandez E.B., **Ruthner Sz.**, Pedryc A., Laimer M. (2005) Microsatellite variability in apricots (*Prunus armeniaca* L.) reflects their geographic origin and breeding history. *Tree Genetics & Genomes*, 1: 151-165.
2. Pedryc A., **Ruthner Sz.**, Hermán R., Krska B., Hegedűs A., Halász J. (2008) Genetic diversity of apricot revealed by a set of SSR primers designed for the G1 linkage group. *Scientia Horticulturae*, 121: 19–26.

NEM IMPAKT FAKTOROS FOLYÓIRATOK

3. Pedryc A., **Ruthner Sz.**, Bisztray Gy. (2002) The use of SSR markers in family Rosaceae. *International Journal of Horticultural Science*, 8: 29-32.
4. Maghuly F., Fernandez E.B., Laimer M., **Ruthner Sz.**, Bisztray G.D., Pedryc A. (2006) Microsatellite characterisation of apricot (*Prunus armeniaca*) cultivars grown in Central Europe. *Acta Horticulturae*, 717: 207-215.
5. **Ruthner Sz.**, Pedryc A., Krska B., Romero C., Badenes M.L. (2006) Molecular characterisation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars using cross species SSR amplification with peach primers. *International Journal of Horticultural Science*, 12: 53-57.
6. Pedryc A., **Ruthner Sz.**, Bisztray G.D., Laimer M. (2006) Characterization of different apricot cultivars grown in Hungary with SSR markers. *Acta Horticulturae*, 725: 691-698.
7. Maghuly F., Borroto Fernandez E., **Ruthner Sz.**, Pedryc A., Laimer M. (2006) Microsatellite characterization of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars grown in Central Europe. *Acta Horticulturae*, 717: 207-212.

MAGYAR NYELVŰ ÖSSZEFOGLALÓK

8. Pedryc A., **Ruthner Sz.**, Bisztray D. Gy., Laimer M. (2002) A Magyarországon termesztett kajszi fajták azonosítása RAPD markerekkel. VIII. Növénynevelési Tudományos Napok. E: 26.
9. Pedryc A., **Ruthner Sz.**, Bisztray D. Gy., Laimer M. (2003) A Magyarországon termesztett kajszi fajták azonosítása mikroszatellit markerekkel. IX. Növénynevelési Tudományos Napok. 2003. március 5-6., Budapest. Összefoglalók. 52.

10. **Ruthner Sz.**, Bisztray D. GY., Deák T., Pedryc A. (2003) Különböző származású kajszifajták RAPD markeres jellemzése. IX. Növénynevelési Tudományos Napok, 2003. március 5-6., Budapest. Összefoglalók. 132.
11. **Ruthner Sz.**, Pedryc A., Bisztray Gy., Laimer M. (2004) A hazai kajszifajták, nevelési anyagok jellemzése SSR markerekkel. X. Növénynevelési Tudományos Napok. 2004. február 18-19. Budapest. Összefoglalók. 57.
12. Pedryc A., **Ruthner Sz.**, Halász J., Velich I., Badenes M. (2004) Őszibarack mikroszatellit primerek alkalmazása kajszifajták jellemzéséhez. X. Növénynevelési Tudományos Napok. 2004. február 18-19. Budapest. Összefoglalók. 137.

ANGOL NYELVŰ KONFERENCIA KIADVÁNY (FULL PAPER)

13. **Ruthner Sz.**, Bisztray D.Gy., Deák T., Laimer M., Pedryc A. (2003) Characterization of apricot varieties with different origin using molecular markers. Proceedings of the 4th International Conference of PHD Students, Miskolc, Hungary, 11-17 August 2003. 353-357.

ANGOL NYELVŰ KONFERENCIA ÖSSZEFOGLALÓK

14. Pedryc A., **Ruthner Sz.**, Bisztray Gy. D., Laimer M. (2004) Characterization of different apricot cultivars grown in Hungary with SSR markers. Fifth in vitro culture and Horticultural Breeding Symposium Debrecen. 50.
15. Maghuly F., da Camara Machado A., **Ruthner Sz.**, Pedryc A., Katinger H., Laimer M. (2004) Microsatellite analyses for characterisation of Pannonian apricots. Fifth in vitro culture and Horticultural Breeding Symposium Debrecen. 205.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KÖZVETLENÜL NEM KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

IMPAKT FAKTOROS FOLYÓIRATOK:

1. Oláh R., Szegedi E., **Ruthner Sz.**, Korbuly J. (2003) Thidiazuron-induced regeneration and genetic transformation of grapevine rootstock varieties. *Vitis*, 42: 133-136.

NEM IMPAKT FAKTOROS FOLYÓIRATOK

2. Bisztray D.Gy., Korbuly J., Oláh R., **Ruthner Sz.**, Deák T., Velich I., Pedryc A. (2002) Characterization of grape varieties and species by RAPD markers. *Acta Horticulturae*, 603: 601-604.
3. Oláh R., Szegedi E., **Ruthner Sz.**, Korbuly J. (2003) Optimization of conditions for regeneration and genetic transformation of rootstock- and scion grape varieties. *Acta Horticulturae*, 603: 491-497.
4. Oláh R., Tóth A., **Ruthner Sz.**, Korbuly J., Szegedi E. (2004) Genetic transformation of rootstock cultivar Richter 110 with the gene encoding the ironbinding protein, Ferritin. *Acta Horticulturae*, 652: 471-473.

MAGYAR NYELVŰ ÖSSZEFOGLALÓK

5. **Ruthner Sz.**, Bisztray Gy., Oláh R., Pedryc A. (2002) Az önmeddőség meghatározása PCR-alapú markerek segítségével a magyar kajszifajtáknál. JUTEKO 2002 Konferencia. P: 9/7
6. Halász J., **Ruthner Sz.**, Békefi Zs., Pedryc A. (2004) Kajszifajták kompatibilitás vizsgálata pollentömlő-analízissel. X. Növénynevelési Tudományos Napok. 2004. február 18-19. Budapest. Összefoglalók. 105.

ANGOL NYELVŰ KONFERENCIA KIADVÁNY (FULL PAPER)

7. Deák T., Facsar G., Kocsis M., **Ruthner Sz.**, Pedryc A., Velich I., Bisztray Gy.D. (2003) Application of RAPD markers to study native Hungarian Helleborus species. Proceedings of the 4th International Conference of PhD Students, Miskolc, Hungary. 11-17 August 2003. 199-204.

ANGOL NYELVŰ KONFERENCIA ÖSSZEFOGLALÓK

8. Halász J., **Ruthner Sz.**, Békefi Zs., Pedryc A. (2004) S-genotype characterization of several Hungarian apricot varieties. *Acta Physiologiae Plantarum*, 26: 168.