

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Molekuláris markerek alkalmazása a szőlő magvatlanságának követésére és *Rosa L.* taxonok rokonsági viszonyainak vizsgálatára

Deák Tamás



BUDAPESTI
CORVINUS
E G Y E T E M

Kertészettudományi Kar

Budapest
2010

A doktori iskola

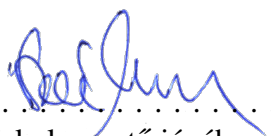
megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

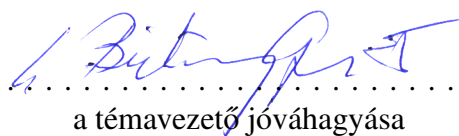
vezetője: Dr. Tóth Magdolna
egyetemi tanár, DSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Témavezető: Dr. Bisztray György Dénes
egyetemi docens, PhD
Budapesti Corvinus Egyetem, Szőlészeti és Borászati Intézet,
Szőlészeti 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.



.....
az iskolavezető jóváhagyása



.....
a témavezető jóváhagyása

Tartalomjegyzék

1. A munka előzményei, a kitűzött célok	4
1.1. Bevezetés	4
1.2. Célkitűzés	6
2. Anyag és módszer	7
2.1. A vizsgált növényanyag	7
2.1.1. A vizsgált rózsza taxonok	7
2.1.2. A szőlő-magvatlanság markerezése során felhasznált családok	8
2.2. Felhasznált módszerek	8
2.2.1. Mintagyűjtés és DNS kivonás	8
2.2.2. AFLP vizsgálat	8
2.2.3. Rózsza ITS fragmensek <i>CeII</i> polimorfizmusa	9
2.2.4. A szőlő-magvatlansághoz kapcsolt SCAR-CAPS marker	9
3. Eredmények	10
3.1. Rózsza fajok AFLP analízise	10
3.2. Szőlő-magvatlanság nyomonkövetése SCAR-CAPS markerrel	15
3.2.1. SI és TII hibridcsaládok	15
3.2.2. VRH 3082-1-42 (BC ₄) × 'Kismis moldavszkij' család magvatlansága	16
3.3. Az <i>SCC8</i> lókuszt jellemzése, markerfejlesztés	18
4. Következtetések és javaslatok	21
4.1. Magyarországi rózsza fajok AFLP vizsgálata	21
4.1.1. A vizsgált rózsza taxonok rendszertani viszonyai	22
4.2. A szőlő-magvatlanság markerezése	24
4.2.1. Az <i>SCC8</i> marker öröklődése a vizsgált családokban	24
4.2.2. Az <i>SCC8</i> lókuszt jellemzése	24
4.2.3. MAS az <i>SCC8</i> markerrel	25
4.3. Új tudományos eredmények	26
5. Az értekezés témaköréhez kapcsolódó publikációk	27
Irodalomjegyzék	32

1. A munka előzményei, a kitűzött célok

1.1. Bevezetés

A 20. sz. második felétől, a DNS szerkezetének és biológiai funkciójának felfedezésétől eltelt alig több mint 50 év alatt a DNS alapú vizsgálatok széles körben elterjedtek, mára már nem csak célzottan az adott témával foglalkozó kutatók mindennapjainak részei. A DNS alapú molekuláris markerezés témaköre széles területet ölel fel számos alkalmazási lehetőséggel, megközelítéssel, technikával.

A téma sokrétűsége ebben a dolgozatban is megjelenik, ahol különböző kérdésfelvetésekre – molekuláris taxonómia és egy fenotípusos tulajdonság markerezése – keressük a választ. A különböző jellegű kérdések más és más módszertani megközelítést igényelnek, ami az adatok kiértékelésének, értelmezésének sokszínűségét is maga után vonja. Ennek megfelelően a kérdéstől és az alkalmazott markerezési technikától függően az adatelemzési módszerek tárháza is rendkívül széles skálán mozog.

A molekuláris markerek több szinten szolgálhatnak értékes információval a növénynevelő számára. A nemesítés során számításba vehető genotípusok – és általában egy adott növényfaj fajtái, fajtái – származásának és rokonsági kapcsolatainak tisztázása segíti a keresztezések megtervezését és az azt követő szelekciót. A keresztezések elvégzésével nem fejeződik be azonban a nemesítő munkája, sőt, ekkor kezdődik csak igazán. A szelekció összetett folyamatát a nemesítési programban egyes kiemelt hangsúllyal kezelt tulajdonságok molekuláris markerezése felgyorsíthatja, leegyszerűsítheti. Egyes esetekben – pl. a különböző eredetű rezisztenciagének piramidálása esetén – molekuláris markerekkel olyan genotípus szelekció is lehetővé válik, amelynek kivitelezése fenotípusos értékeléssel a gyakorlatban rendkívül időigényes és nehézkes.

Jelen dolgozat a markerezés két területét mutatja be. Az egyik a rokonsági kapcsolatok keresése rózsa fajok genetikai ujjlenyomatai alapján, a másik a szőlő egy célzott génjének, illetve tulajdonságának követése az ahhoz kapcsolt markerrel.

A rózsza nemzetség magyarországi diverzitása

A *Rosa* L. – és több más – nemzetség magyarországi nagy fajdiverzitása az ország földrajzi sajátosságával magyarázható. A Kárpát-medencében három éghajlati tényező lép kölcsönhatásba egymással, ezen introgresszív ütközési vonalakon a rózsza fajok gyakori interspecifikus hibridizációja komplex mintázatú változatosságot, valamint unikális fajokat eredményez (FACSAR, 2002).

A növényrendszertani kutatások legtömörebben azzal a mondással jellemezhetőek, amely szerint „ahol két taxonómus összeül, ott kialakul három vélemény”. Ez különösen érvényes az olyan összetett múltú nemzetségekre, mint amilyen a rózsza. A kiterjedt múltbéli és recens hibridizáció és az évszázadok óta érvényesülő jelentős antropogén hatás, továbbá a poliploidia széles skálájának jelenléte jelentősen befolyásolhatják a *genus* rendszertanát. A fajok változékonyak, könnyen kereszteződnek egymással, ami megnehezíti elkülönítésüket (FACSAR, 1993; WISSEMANN, 2003; FACSAR, 2004; KOOPMAN *et al.*, 2008). Éppen ezért egy rózsákra vonatkozó egységes rendszertan felépítése és a rózsák rendszertani besorolása igen nehézkes, azokban a helyileg pontos lokális flóraművek és a bizonytalan és a sok, máshol fajként kezelt taxont összevonó generális flóraművek ellentéte fejeződik ki.

A morfológiai változatosság összetettsége miatt – beleértve a környezeti hatások által indukált eltéréseket is – a karakterek egyértelmű taxonómiai értelmezése gyakran nem egyszerű. Molekuláris markerek segítségével számos hátrány kiküszöbölhető. Kevés információval rendelkezünk ugyanakkor arról, mennyiben oldható fel a kiterjedt hibridizáció eredményeként létrejött genetikai mintázat AFLP markerekkel. Az introgresszív folyamatok markerekre gyakorolt hatásának megismerésével olyan metodikai együttes állítható fel, amely alkalmazható lehet pl. a ligeti szőlővel kapcsolatos aktuális kérdések (pl. létezik-e maga a faj?) megválaszolására is.

Magvatlanság nyomonkövetése szőlőnél (*Vitis vinifera* L.) SCAR-CAPS markerrel

A csemegeszőlő-nemesítésben alapvető igény a magvatlan genotípusok nemesítése, a világpiacon egy-két fajta kivételével kizárólag magvatlan csemegeszőlő kereskedelme folyik (SPIEGEL-ROY *et al.*, 1990; BOUQUET and DANGLOT, 1996). Egy új fajta nemesítése során a magvatlanság csak egyike a kívánatos tulajdonságoknak, ezért a fajtának számos további követelménynek is meg kell felelnie, így kulcsfontosságú kérdés a megfelelően nagy egyedszámú utódnemzedék elérése. A hibridcsaládok egyedeinek azonban – a keresztezési kombinációtól függően – sokszor csak kis hányada magvatlan (ROYTCHEV, 1998), a magoncok felnevelése pedig a termőre fordulásig költséges. Ezért egy a magvatlanság magonccori jelzésére alkalmas molekuláris marker hatékony eszköz lehet a nemesítő kezében.

Bár a csemegeszőlő nemesítésben kívánatos sztenospermokarp magvatlanság genetikai háttere még nincs teljes mértékben tisztázva, az utóbbi években kialakult konszenzus alapján feltételezhető, hogy azt egy domináns inhibitor gén (*Sd1*) irányítja (BOUQUET and DANGLOT, 1996), amelyhez kapcsolt

markerek rendelkezésre állnak (LAHOGUE *et al.*, 1998). Ezeket azonban minden szülőkombináció esetén tesztelni kell, meg kell vizsgálni, valóban alkalmas-e a marker a tulajdonság nyomonkövetésére az adott keresztezések utódnemzedékében.

1.2. Célkitűzés

A rózsza nemzetség egyes magyarországi képviselőinek AFLP vizsgálata

Az értekezés első részében arra keresem a választ, mennyiben alkalmazható az AFLP technika a *Rosa* nemzetség evolúcióját és jelenkori diverzitását meghatározó kiterjedt hibridizációs folyamatok vizsgálatára. Ennek megválaszolásához az alábbi célokat tűztem ki:

- Magyarország egyes rózsza taxonjai, taxoncsoportjai, ezek között számos hibrid rokonsági viszonyainak vizsgálatát AFLP markerekkel,
- azon adatelemzési módszerek megkeresése, amelyek képesek az adatszerkezet hibrid taxonokkal kapcsolatos információit feltárni.
- Az AFLP vizsgálatok kiegészítéseként célul tűztem ki továbbá a *Pimpinellifoliae* szekció ITS polimorfizmusának előzetes felmérését.

Szőlő-magvatlanság nyomonkövetése DNS alapú molekuláris markerrel

A dolgozat második részében a vizsgálatok célja a szőlő sztenospermokarp magvatlanságának kialakulásáért felelős *Sd1* domináns inhibitor génhez kapcsolt marker öröklődésének, felhasználhatóságának vizsgálata, illetve az *SCC8* lókuszt jellemzése volt. Ehhez az alábbi célkitűzéseket állítottam fel:

- három hibridcsalád szülőpárjai *SCC8* genotípusának meghatározását,
- az irodalomban közölt, a magvatlansághoz kapcsolt *SCC8* SCAR-CAPS marker alkalmazhatóságának tesztelését a fenti családokban,
- az *SCC8* lókuszt molekuláris jellemzését, valamint annak lokalizálását a 'Pinot noir' genomon.
- Célul tűztem ki továbbá az *SCC8* marker esetleges továbbfejlesztését, finomítását.

2. Anyag és módszer

2.1. A vizsgált növényanyag

2.1.1. A vizsgált rózsá taxonok

A dolgozatban vizsgált rózsá taxonokat a Budapesti Corvinus Egyetem Soroksári Botanikus Kertjében fenntartott génbankban gyűjtöttük. A vizsgált taxonok egy részénél rendelkeztem az adott egyed kromoszóma-számára vonatkozó információval, ami nagy segítséget nyújtott az eredmények kiértékelése során.

A vizsgált egyedek kiválasztása során a legnagyobb hangsúlyt – az introgressziós folyamatokban játszott kiemelt szerepük miatt – a *Caninae* szekció képviselőire fektettem. A *Synstylae* szekciót a külsoportnak szánt *R. arvensis* képviselte, a *Pimpinellifoliae* szekciót 3, a *Rosa* szekciót 5 egyed képviseli, vizsgáltam továbbá egy *Cinnamomeae* rózsát (*R. blanda*). A *Caninae* szekció alszekciói közül a *Rubigineae* képviselői vannak jelen a mintakészletben a legnagyobb számban, bevontam továbbá a vizsgálatokba a *Vestitae*, *Trachyphyllae* és *Caninae* alszekciók egyes képviselőit is.

Az egyedek kiválasztása során kiemelt hangsúlyt fektettem arra, hogy szerepeljenek közöttük evolúciósan konzervált (pl. [50, 54] *R. jundzillii*), recens (pl. [23] *R. × francofurtana* F₁, [108] *R. vetvičkae*), illetve kultúr- (pl. [22] *R. × francofurtana*, [26] *R. gallica*, [65] *R. × damascena*) hibridek is.

A minták legnagyobb része a Kárpát-medence területéről, Magyarországról, Szlovákiából, Csehországból származik, ugyanakkor – mintegy kontrollként – található közöttük németországi, bulgáriai, sőt egy görög és egy olaszországi rózsá is.

Az ITS-polimorfizmus vizsgálata során felhasznált rózsá taxonokat szintén a Budapesti Corvinus Egyetem jogelődjének Soroksári Botanikus Kertjében gyűjtöttem. A *Pimpinellifoliae* szekció képviselői közül a *R. pimpinellifoliae* alfaj szintű változatait, illetve egy *R. myriacantha* és két *R. × reversa* egyedeket vontam be a vizsgálatokba. A polimorfizmus összehasonlíthatósága érdekében vizsgáltam továbbá két, alfaj szinten eltérő *R. gallica* egyedeket is.

2.1.2. A szőlő-magvatlanság markerezése során felhasznált családok

A szőlő sztenospermokarp magvatlanságához kapcsolt marker vizsgálatára a Budapesti Corvinus Egyetem jogelődjének Szőlészeti Tanszékén SZ. NAGY LÁSZLÓ által végzett keresztezésekből származó két hasadó nemzedékét, továbbá a jelenleg a Pécsi Tudományegyetemhez tartozó Pécsi Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetben ifj. KOZMA PÁL magvatlan csemegeszőlő nemesítési programjából származó utódnemzedéket vizsgáltam.

Az első esetben a CsÉT159 ('Augusztusi muskotály' syn. 'Palatina') × 'Superior Seedless' fajtavál végzett keresztezésből származó utódnemzedék (TII sorozat) fenotípusos és molekuláris analízisét végeztük el. A másik vizsgált utódnemzedék a CsÉT164 × 'Flame Seedless' keresztezésből származott (SI sorozat). A CsÉT164 a 'Seyve Villard 12375' és az 'Olimpia' keresztezésével jött létre.

Vizsgáltam továbbá egy ifj. KOZMA PÁL nemesítési programjából származó családot (VRH 3082-1-42 [*V. rotundifolia* × *V. vinifera*] BC₄ × 'Kismis moldavszkij'), amely a magvatlanság mellett rezisztencia géneket is tartalmaz peronoszpórával és lisztharmattal szemben.

2.2. Felhasznált módszerek

2.2.1. Mintagyűjtés és DNS kivonás

A rózsa levélmintákat a gyűjtés helyszínén -196 °C hőmérsékletre hűtöttem folyékony nitrogénben, feldolgozásig -20 °C-on tároltam. A szőlő magvatlanság-vizsgálatokhoz felhasznált családok közül a TI és SII nemzedékek esetében érett vesszőt gyűjtöttem be és tároltam -20 °C-on. A BC₄ × 'Kismis moldavszkij' család esetében idős leveleket gyűjtöttem ősszel, amelyeket feldolgozásig fagyasztva tároltam.

Az AFLP vizsgálatokba vont rózsaminták esetében levélből, a TI és SII szőlő családok esetében a fagyasztott vesszők háncsszövetéből végeztem a DNS-kivonást Qiagen DNEasy Plant Mini Kit rendszerrel (Qiagen, Venlo, Hollandia) a gyártó utasításai szerint.

A *CeII* vizsgálatokhoz fiatal rózsa levelekből, a magvatlanság vizsgálatokhoz a BC₄ × 'Kismis moldavszkij' család esetében idős, őszi, fagyasztva tárolt levelekből XU *et al.* (2004) módszere alapján tisztítottam DNS-t kisebb módosításokkal.

2.2.2. AFLP vizsgálat

Az AFLP eljárást VOS *et al.* (1995) leírásának megfelelően végeztem, mintegy 50 ng DNS-ből kiindulva. A szelektív amplifikáció során fluoreszcens jelöléssel (FAM vagy JOE) ellátott primerek négy kombi-

nációját használtam: *EcoRI*+ACT, *EcoRI*+ATG, *MseI*+CAG, *MseI*+CTT. A felszaporított restrikciós fragmenseket kapilláris elektroforézissel detektáltam (ABI Prism 3100, Applied Biosystems, Foster City, USA). A futtatás eredményét a Genescan szoftverrel (Applied Biosystems) rögzítettem, majd pszeudo-gélképpé alakítottam a Genographer szoftver segítségével. A gélmintázatot bináris adatmátrix-szá alakítottam (1 : létező fragmens, 0 : hiányzó fragmens).

2.2.3. Rózsa ITS fragmensek *CeII* polimorfizmusa

A genomi DNS-ről PCR reakcióval felszaporítottam az ITS régiót, A PCR reakciót standard körülmények között végeztem 50 °C primerkötési hőmérséklettel, 1 perc extenziós idővel, ITS5 (5' -GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') és P2 (5' -CTCGATGGAACACGGGATTCTGC-3') primerekkel.

Az ITS-szakaszok polimorfizmusának kimutatására használt *CeII* enzimet KISS GYÖRGY BOTOND (Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Gödöllő) bocsátotta rendelkezésemre.

A PCR termékeket önmagukban, illetve referenciamintával 1:1 arányban elegyítve 94 °C-on denaturáltam, majd 1 órán át inkubáltam *CeII* enzimmel 37 °C-on. A vágási terméket denaturáló poliakrilamid gélelektroforézissel választottam el 12 %-os denaturáló gélen.

2.2.4. A szőlő-magvatlansághoz kapcsolt SCAR-CAPS marker

A magvatlanság nyomonkövetéséhez a LAHOGUE *et al.* (1998) által kifejlesztett SCAR-CAPS markereket használtam. Az SCC8 primerpár (SCC8F 5' -GGTGTCAAGTTGGAAGATGG-3' és SCC8R 5' -TATGCCAAAAACATCCCC-3') a magas *sdl* és magvatlan *Sdl* allélhoz kapcsolt *scc8⁻* és *SCC8⁺* allélokat felszaporítja standard reakciókörülmények között. A PCR reakciót 20 µl végtérfogatban, 60 °C primerkötési hőmérsékletet és 90 másodperc lánchosszabbítási időt alkalmazva végeztem.

8,5 µl PCR termékhez 5 U *BglII* restrikciós endonukleázt (Fermentas International, Kanada) és 1 µl 10× koncentrációjú enzim-puffert adtam, az elegyet 1 órán keresztül inkubáltam 37 °C-on. Az emésztett PCR-terméket agaróz gélelektroforézissel választottam el 1,2 %-os 1× TBE gélben.

A PCR-termékeket homozigóta egyedek esetében folyadékból, heterozigóta egyedek esetében gélből kivágva tisztítottam, és pGEM-T Easy (Promega, USA) TA klónozó vektorba ligáltam. A próbaemésztések alapján pozitív klónokat a Biomi Kft. (Gödöllő) szekvenálta. A szekvenciák feldolgozását az EMBOSS programcsomag, valamint a CLC Sequence Viewer szoftver segítségével végeztem.

3. Eredmények

3.1. Rózsa fajok AFLP analízise

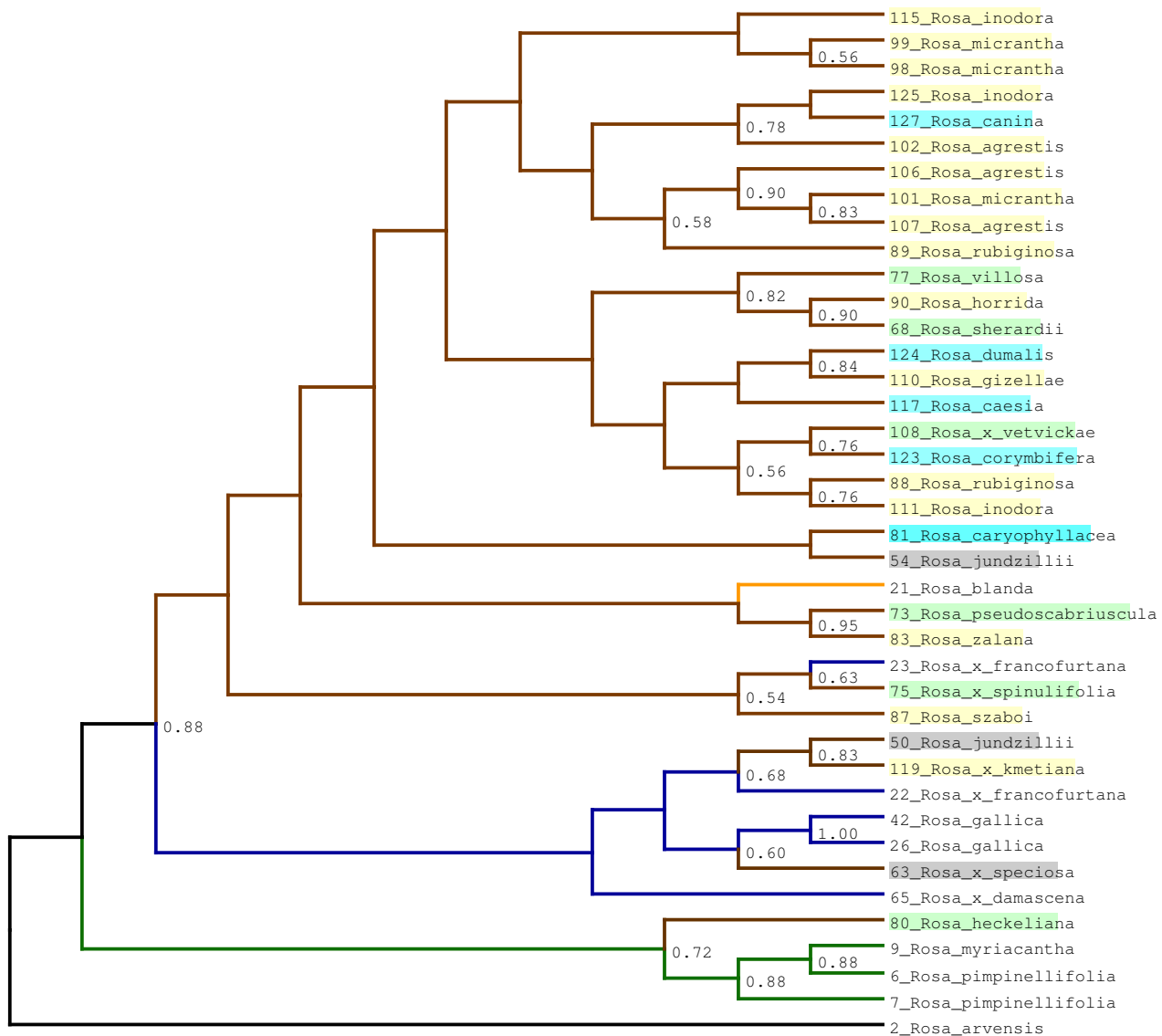
A 40 rózsamintán, 4 szelektív primerkombinációval elvégzett AFLP vizsgálat 327 polimorf lókusz eredményezett. A lókuszok mintegy 27 %-ában 10 % alatti fragmens-gyakoriságot tapasztaltam, mindazonáltal ezen lókuszok kizárásával sem az ordináció stressz-értéke, sem pedig a fák topológiája és bootstrap támogatottsága nem változott jelentős mértékben, így az adatelemzés során ezeket a lókuszokat is figyelembe vettem.

A fenogramok elkészítéséhez végzett távolságszámítás során a három vizsgált metrika (Jaccard, Dice és Ochiai) gyakorlatilag egységesen ugyanazt az eredményt adta, Ochiai módszere valamivel alacsonyabb stressz-értékkel és a 2 dimenziós ordináció ábrázolása során valamivel jobban elkülönülő csoportokkal, ezért a továbbiakban az Ochiai indexen alapuló elemzéseket vettem alapul. Az ordináción jól elkülönülő csoportként jelentkezett minden esetben – különböző metrikák, 2 illetve 3 dimenziós NMDS – a *Pimpinellifoliae* és a *Rosa* szekció, valamint a későbbiekben kulcsoportként használt *R. arvensis* (*Synstylae* szekció). A *Cinnamomeae* szekciót képviselő *R. blanda* a *Caninae* szekció képviselőit tartalmazó pontfelhő szélén helyezkedik el.

A bináris adatok bootstrap ismétléseiből rajzolt konszenzus fát (1. ábra) a következőkben alulról fölfelé haladva mutatom be. A kulcsoportként használt (2) *Rosa arvensis* a *Pimpinellifoliae* szekció jól elkülönülő kládja követi a (9) *R. myriacantha* (*syn. R. pimpinellifolia var. myriacantha*), (6) *R. pimpinellifolia*, (7) *R. pimpinellifolia var. spinosissima* taxonokkal. Szintén ebben a csoportban helyezkedik el a (80) *R. heckeliana*, amelyet a *Caninae* szekció *Vestitae* alszekciójába sorolnak. A *Pimpinellifoliae* szekció 72 %-os, illetve a fa fennmaradó mintákat tartalmazó csoportjának 88 %-os bootstrap támogatottságú elkülönülése minden további vizsgálatban megfigyelhető volt, így ez a rendszertani csoport igazoltnak tekinthető.

A következő csoportot a *Rosa* szekció tagjai alkotják ([65] *R. × damascena*, [63] *R. × speciosa*, [42] *R. gallica* és [26] *R. gallica*). A *Rosa × damascena* több ezer éves kultúrtaxon, melynek egyik szülője a *Rosa gallica* volt, míg a [63] *R. × speciosa* a *R. gallica* és a *R. jundzillii* hibridje. Szintén ebbe a kládba tagozódott be a (22) *R. × francofurtana*, a (119) *R. × kmetiana* és a (50) *R. jundzillii* 68 %

bootstrap támogatottságú csoportja. Morfológiai bélyegei alapján a *Rosa kmetiana* bizonytalan eredetű és helyzetű taxon, ugyanakkor egyértelműen a *R. gallica* az egyik szülője (FACSAR, szóbeli közlés). Szintén a *R. gallica* a pollenadó szülője a földtörténeti múltban állandósult *R. jundzillii* hibrid taxonnak, amelyet jelenleg a *Caninae* szekció *Trachyphyllae* alszekciójába sorolnak, mivel a *Caninae* szekciót meghatározó kiegyenlítettlen meiózis jellemzi.



1. ábra: A 40 Kárpát-medencei rózsaxon rokonsági viszonyait mutató dendrogram. A dendrogram 1000 véletlenszerűen újravételezett (bootstrap) AFLP adatmátrixból Ochiai távolság-mutató alapján számolt UPGMA fák konszenzusát mutatja. Az egyes csoportok 50 % feletti támogatottságát az elágazásoknál feltüntetett bootstrap értékek jelzik. Az ágak színe a szekciót (fekete [*R. arvensis* külcsoport]: *Sysnetylae*, zöld: *Pimpinellifoliae*, kék: *Rosa*, narancssárga: *Cinnamomeae*, barna: *Caninae*), a taxonnevek háttérének színe a *Caninae* szekció alszekcióit mutatják (zöld: *Vestitae*, s: zürke *Trachyphyllae*, sárga: *Rubigineae*, kék: *Caninae*).

A fa legnagyobb, a fennmaradó mintákat tartalmazó kládja a jelenlegi nomenklatúra szerinti *Caninae* szekció tagjait tartalmazza. A szekción belüli elkülönülés kevésbé mutat tiszta képet. Az utóbbi időben (POPEK, 1996, 2007) összevont *Caninae* szekció megkülönböztetett csoportjai között találunk nehezen értelmezhető helyzetű taxonokat. A nagyobb csoportok bootstrap értékei alacsonyak, így messzemenő következtetések nem vonhatók le.

A fa korán leágazó kládjain található pl. a (87) *R. szabói* és (83) *R. zalana*, melyek a *Rubigineae* alszekcióhoz állnak közelebb, ám a fán a *Vestitae* csoportba sorolt egyes taxonok mellé kerültek besorolásra. A *R. szabói* a *Caninae* szekció ágának első, 54 % bootstrap támogatottságú csoportjába, a (23) *R. × francofurtana* F₁ szabad beporzású magonca és a (75) *R. × spinulifolia* mellé került besorolásra. A *R. zalana* 95 % bootstrap támogatottságú kapcsolatot mutat egy (73) *R. pseudoscabriuscula* mintával. Szintén ezekbe a korán leágazó kis csoportokba tagozódik a *Cinnamomeae* szekció egyetlen vizsgált képviselője ([21] *R. blanda*). A (75) *R. × spinulifolia*-t egyik ágról a *Cinnamomeae* szekciótól eredeztetik.

A *Caninae* alszekciót képviselő (81) *R. caryophyllacea*, (117) *R. caesia*, (123) *R. corymbifera*, (124) *R. dumalis* és (127) *R. canina* a *Caninae* szekció kládján belül elszórtan helyezkednek el, az alszekció polifiletikus képet mutat.

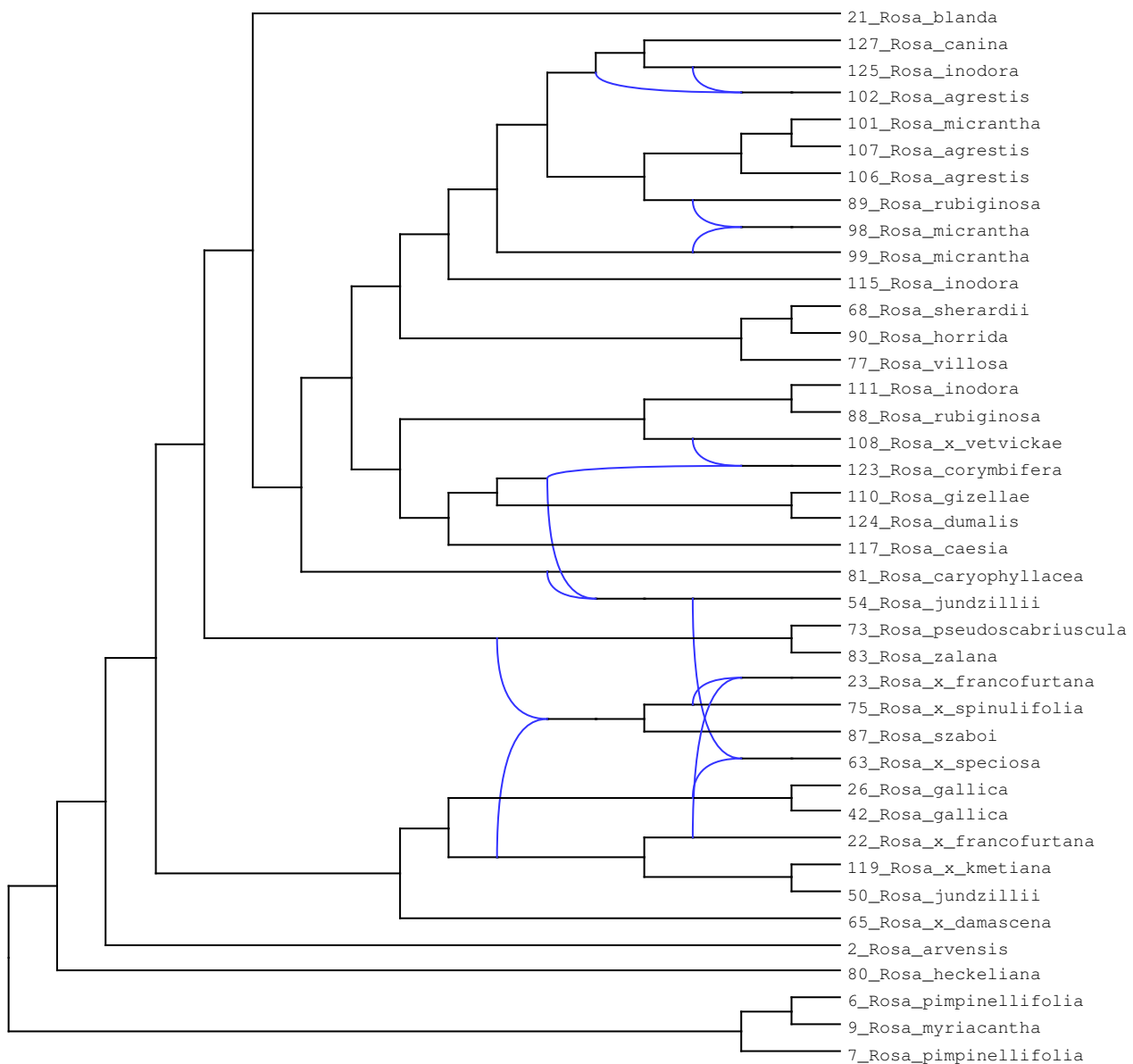
Érdekes jelenség a *Vestitae* alszekció rendkívül polifiletikus jellege, bár ezt okozhatja a csoportba tartozó egyes taxonok hibriditása. A (108) *R. × vetvickae*, amely feltehetően *R. dumalis* és egy *Vestitae* csoportbeli taxon hibridje 76 %-os bootstrap támogatottságú csoportot alkot a (123) *R. corymbifera* (= *R. dumalis* BECHST. pro parte) taxonnal. A (75) *R. × spinulifolia*, amely a *R. tomentosa* és egy *Cinnamomeae* csoportbeli taxon (*R. pendulina*) hibridje, szintén a feltételezett szülő csoportjaival mutat kapcsoltságot. Hasonlóan interpretálható a (73) *R. pseudoscabriuscula* helyzete, amely szintén hibrid eredetű taxon, de csak az egyik szülő ismert (*R. tomentosa* × ?).

A mintakészletben szerepeltek olyan egyedek is, amelyek morfológiai bélyegeik alapján ugyanazon fajhoz tartoznak, ám kromoszómaszámuk eltérő. Az egyik ilyen taxon a *R. gallica*, amelynek 26. sorszámú egyede tetraploid ($2n = 4x = 28$), míg 42. sorszámú egyede pentaploid ($2n = 5x = 35$). A két egyed minden vizsgálatban közvetlenül egymás mellé került besorolásra, a konszenzus fán bootstrap támogatottságuk 100 %. A másik ilyen taxon a *R. micrantha*, amelynek 98. számú egyede hexaploid ($2n = 6x = 42$) és feltehetően recens hibrid, 99. sorszámú egyede a fajra jellemzően pentaploid ($2n = 5x = 35$). Bár e két egyed hasonlóságának bootstrap támogatottsága alacsonyabb (56 %), szintén minden esetben együtt kerültek besorolásra.

Az AFLP adatok kiértékeléséhez használt fenológiai módszerek elméleti hátterük miatt nem képesek kezelni az olyan csoportokat, amelyek átmenetet képeznek két másik csoport között, azaz „nem tudnak mit kezdeni” a hibrid taxonokkal, ezért megkíséreltem az adatokban rejlő szerkezetet más megközelítésben is megvizsgálni. Amennyiben egy hibrid taxon egyaránt affinitást mutat mindkét szülő taxonjához, azt a klasszikus fák nem tudják ábrázolni, mivel mindenképpen hierarchikusan kell besorolniuk minden

taxont. A bootstrap ismétlések során az ilyen, két irányba húzó hibridek miatt a csoportok bootstrap támogatása lecsökkenhet. A konszenzus fahálózatok ugyanakkor kiválóan alkalmasak lehetnek éppen az ilyen esetek értékelésére.

A bootstrap elemzés fáinak minimális konszenzus hálózatát mutatja a 2. ábra. A *Pimpinellifoliae* taxonok élesen elkülönülő csoportja itt is megfigyelhető, a szekció gyakorlatilag kulcscsoportként funkcionál. A *Pimpinellifoliae* szekciót a fán a *R. heckeliana* és *R. arvensis* elkülönülő ágai, majd a *Rosa* és *Caninae* szekciót tartalmazó csoport követik. A *Rosa* szekció a többségi konszenzus elemzéshez hasonlóan jól elkülönül, ugyanakkor kiválóan látszik a hibridek kialakításában játszott szerepe. Számos hibrid, amely



2. ábra: A bootstrap elemzés konszenzus hálózata. Az AFLP adatok 1000 bootstrap újra-mintavételezéséből számított UPGMA fák minimális hálózat konszenzusa (20 % határértékkel).

a többségi konszenzus fán „erőltetetten” került besorolásra, a *Caninae* és *Rosa* szekciók közötti hibrid csoportot alkot. Ilyen hibridek a (63) *R. speciosa*, a (87) *R. szabói*, (75) *R. × spinulifolia*, (23) *R. × francofurtana*; továbbá a hibridizációs folyamatokban a fa szerint szintén aktívan részt vevő (83) *R. zalana*, (73) *R. pseudoscabriuscula*, (54) *R. jundzillii*.

A (21) *R. blanda* (*Cinnamomeae* szekció) elválik a *Caninae* szekciótól. A *Caninae* alszekció tagjai ([81] *R. caryophyllacea*, [117] *R. caesia*, [124] *R. dumalis*) tagjai a fahálózaton jobban elkülönülnek, mint a többségi konszenzus fán, ugyanakkor ide tagozódik be a (110) *R. gizellae*, továbbá a (127) *R. canina* – amely nem egy típusos *canina* rózsza – a *Rubigineae* szekcióhoz sorolódik.

A hálózat konszenzus alapján megerősítést nyert, hogy a *Vestitae* szekció mintakészletünkben megtalálható egyedeinek nagy része hibrid eredetű, ezzel magyarázható tehát polifiletikus jellegük a többségi konszenzus fán. A *Rubigineae* alszekció szintén egységesebb képet mutat.

A bootstrap ismétlések konszenzus hálózata tehát jobban támogatja a klasszikus rózsarendszerek szekcióit és részben a *Caninae* szekció alszekcióinak elkülönítését.

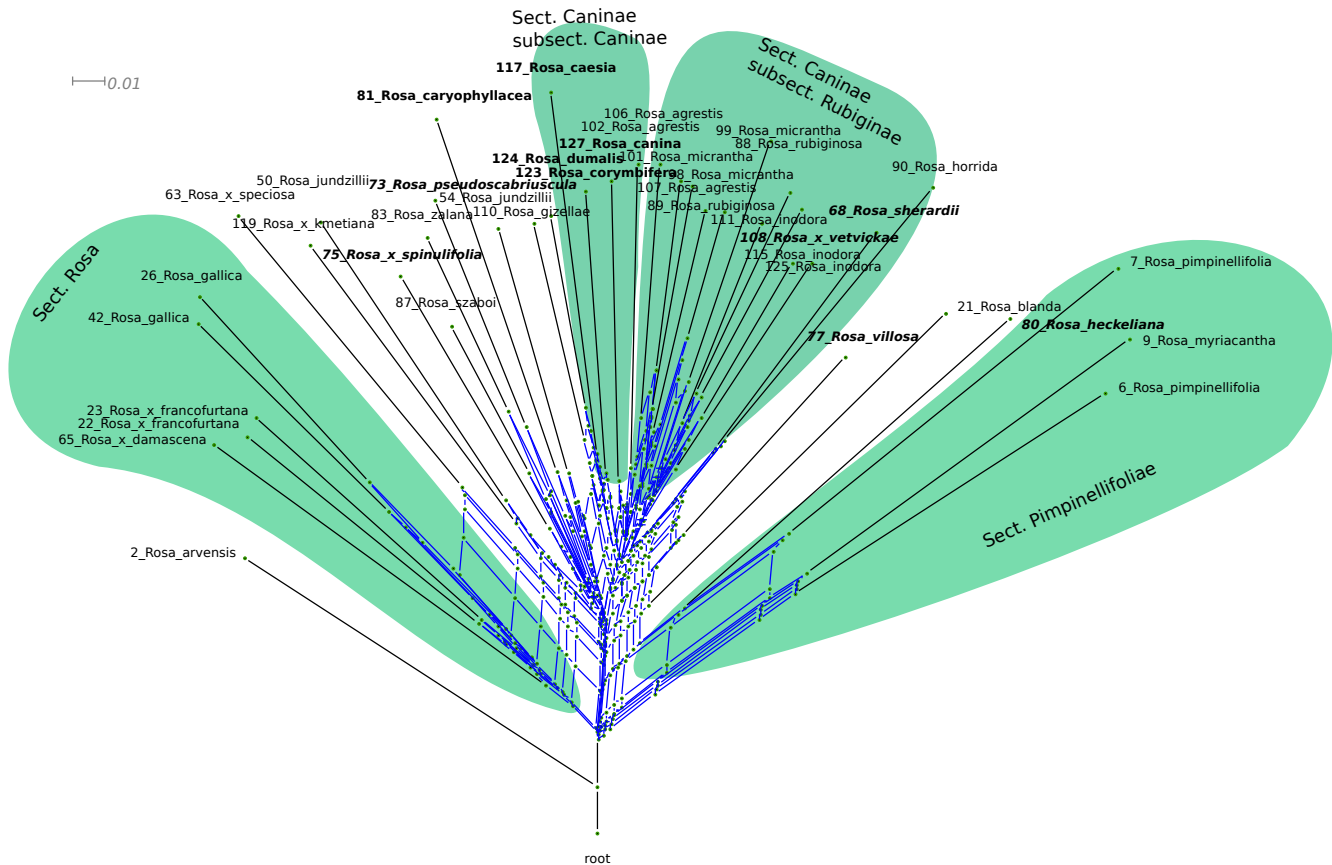
Filogenetikai megközelítés

Az AFLP adatok fenetikai alapú értékelése mellett filogenetikai szempontból is elemeztem a vizsgált mintákat. A „reticulate network” (hibridizációs hálózat) olyan hálózat, amely kifejezetten a hibridizáció evolúcióban betöltött szerepét hivatott megjeleníteni. A hibridizációs hálózat már alkalmaz evolúciós modellt a fa felépítéséhez. Az AFLP adatok alapján felállított hibridizációs hálózaton (3. ábra) a *Pimpinellifoliae* és a *Rosa* szekciók határozott elkülönülése mellett valamelyes „javulást” mutat a *Caninae* szubszekció, amely ezen elemzés alapján monofiletikus. A korábbi elemzésekhez képest szintén javult a *Trachyphyllae* alszekció ([50] *R. jundzillii*, [54] *R. jundzillii* és [63] *R. × speciosa*) helyzete is, ám azok továbbra sem alkotnak egységes kládot.

A *Vestitae* szekciót képviselő taxonok továbbra is elszórtan helyezkednek el a filogramon, a hibrid eredetű csoportok nem jelentkeznek olyan egyértelműen, mint a fenetikai fák hálózatán (2. ábra).

A fenetikai elemzésekben egymástól elkülönülten jelentkező két *R. francofurtana* taxon (22 és 23) a filogenetikai megközelítés alapján közös eredetet mutat. Ugyanez a jelenség tapasztalható a *R. micrantha* (98, 99, 101) és *R. agrestis* (102,106,107) taxonok esetében, illetve egyes hibrid taxonok kivételével ([119] *R. kmetiana*, [87] *R. zalana* és [83] *R. szabói*) monofiletikusnak bizonyult a *Rubigineae* alszekció.

A filogenetikai megközelítés – ezen belül is elsősorban a hibridizációs hálózat – képes volt tehát feloldani számos olyan leszármazási vonalat, amelyeket a fenetikai elemzés nem tudott kezelni (*Rubigineae* és *Canina* alszekciók), ugyanakkor a fenetikai megközelítés, ill. a bootstrap mintavételezésből számított UPGMA fák hálózati konszenzusa rendkívül jól kiemelte azokat a taxonokat, amelyek hibrid eredetűek.



3. ábra: A vizsgált rózsaxonok hibridizáción alapuló evolúciós modell alapján felállított evolúciós hálózata. A *Caninae* szekció *Caninae* alszekciójának tagjait vastagon, a *Vestitae* alszekció tagjait vastagon és dőlten szedett betűk jelzik.

3.2. Szőlő-magvatlanság nyomonkövetése SCAR-CAPS markerrel

3.2.1. SI és TII hibridcsaládok

Az SZ. NAGY LÁSZLÓ által végzett keresztezésekből származó TII és SI hasadó nemzedékekben az SCC8 SCAR-CAPS marker kiválóan követte a vizsgált egyedek fenotípusát: a marker alapján magvatlan növények valóban nem, vagy csak fejletlen maggal rendelkeztek, míg a marker alapján magvasnak mutató növények valóban magvasak voltak.

Az SI család esetében a magvatlan 'Flame Seedless' apavonalat a szakirodalom (ADAM-BLONDON *et al.*, 2001) $SCC8^{+/?}$ genotípusúként írja le, azaz az $SCC8^{+}$ allél mellett vagy egy szintén domináns allélt, vagy pedig egy null-allélt hordoz. A CSÉT164 apavonal $SCC8$ genotípusa előzőleg ismeretlen volt, vizsgálataim alapján elsődlegesen elmondható, hogy $scc8^{-/?}$ genotípusú. Az, hogy az utódpopulációban $SCC8^{+/?}$ genotípusú egyedek is előfordultak, továbbá hogy igen nagy számban tapasztaltam olyan

eseteket, amelyekben a SCAR-CAPS marker PCR lépése sikertelen volt, arra utalnak, hogy a CSÉT164 szintén tartalmaz egy null allélt, azaz *SCC8* genotípusa *scc8⁻/0*.

Ezt a feltételezést alátámasztja az a tény, hogy a 0/0 genotípusú egyedek esetében 50 °C primerkötési hőmérsékletet alkalmazva kaptunk PCR terméket – a DNS-minták tartalmaztak tehát DNS-t és az PCR reakcióra alkalmas volt –, ezek azonban csak a PCR termék végénél található hasítóhelyet tartalmazták, illetve egyszer sem sikerült teljes emésztést elérni. Ezek, illetve az *SCC8* lókuszt jellemzése során kapott eredmények (3.3. fejezet) alapján a csökkentett primerkötési hőmérséklettel kapott PCR termék nem a magvatlanságért felelős *SdI* gént hordozó 18., hanem feltehetően a 4. vagy 19. kapcsoltsági csoportokról kerültek felszaporításra.

A TII családban – az SI családdal ellentétben – kizárható, hogy az apavonal null allélt hordozzon, mivel a 'Superior Seedless' *SCC8* genotípusa *SCC8⁺/scc8⁻*. Ugyanakkor – az SI családdal hasonlóan – ebben az esetben is voltak olyan minták, amelyek *SCC8⁺/?* genotípust mutattak a gélen, továbbá olyan egyedek is, amelyek esetében nem sikerült az *SCC8* lókuszt felszaporítani. A gélen megfigyelt típusok aránya legjobban ahhoz az alaphelyzethez közelít, amelyben egy heterozigóta és egy recesszív homozigóta keresztezésével 1:1 arányú hasadást kapunk, ám ebben az esetben az *SCC8⁺/?* típust műtermékeknek, a 0/0 típust pedig technikai problémának kell tekinteni, erre azonban a többi család esetében nem volt példa.

3.2.2. VRH 3082-1-42 (BC₄) × 'Kismis moldavszkij család magvatlansága

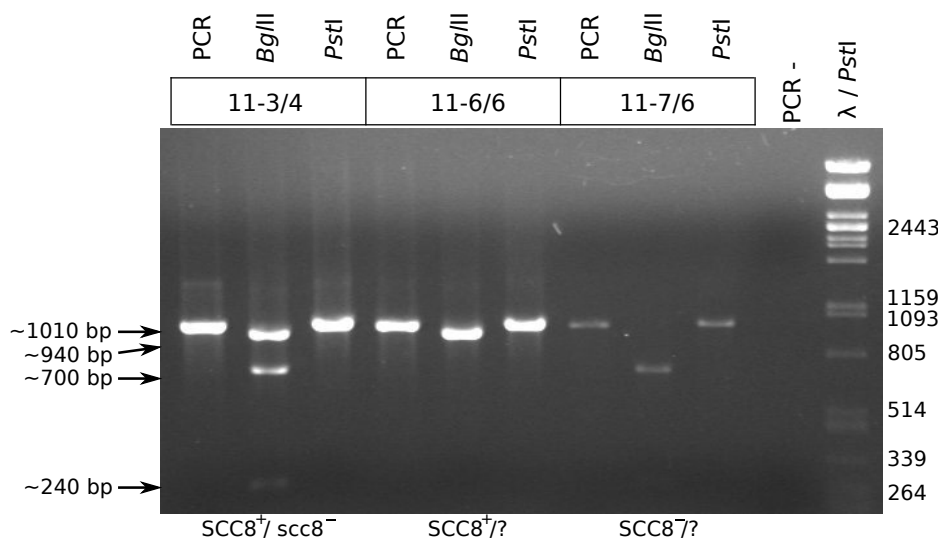
A jelenleg a Pécsi Tudományegyetemhez tartozó Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet multirezisztens, magvatlan csemegeszőlő nemesítési programjában ifj. KOZMA PÁL a *Vitis rotundifolia*-tól származó negyedik visszakeresztezési nemzedékét használja rezisztencia-forrásként.

Mivel a szülők *SCC8* genotípusáról nem rendelkezünk előzetes információval, megvizsgáltuk a keresztezésekben leggyakrabban használt fajták (BC₄ rezisztenciaforrás, valamint 'Kismis vatkana', 'Kismis moldavszkij' magvatlanságforrások és a 'Nimrang' fajta) *SCC8* genotípusát.

A kontrollként használt, az *SdI* lókuszt domináns homozigóta 'Sultanina' (syn. 'Thompson Seedless') fajta az irodalomból ismert *SCC8⁺/SCC8⁺* genotípust mutatta. Szintén domináns homozigótának bizonyult a 'Kismis vatkana' fajta, ez esetben azonban nem zárható ki a lehetőség, hogy a fajta a domináns *SCC8⁺* allél mellett egy null allélt hordoz.

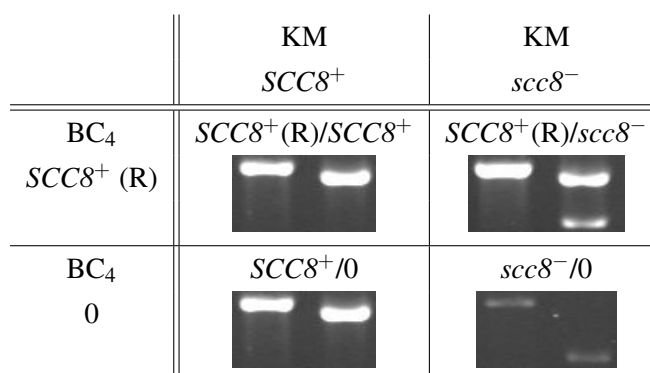
A 'Nimrang' fajta esetében a PCR terméket nem hasította a *BgIII* enzim a magvassághoz kapcsolt hasítóhelyen. Mivel azonban a PCR-termék többi fajtánál tapasztalható méretcsökkenését – amelyet a *BgIII* enzim *SCC8⁺* és *scc8⁻* allélokra egyaránt jellemző, a 73. nukleotid-pozícióban történő hasítása eredményez – nem figyeltem meg; feltételezem, hogy a PCR termék nem a megfelelő lókusztól származik.

zik (3.3. fejezet). Ezt a feltételezést alátámasztja az is, hogy a 'Nimrang' fajtánál csak 50 °C primerkötési hőmérséklet alkalmazásával kaptam PCR terméket, szemben az egyéb kísérletekben használt 60 °C-kal.



4. ábra: A magvatlanság markerezése során a BC₄ × 'Kismis moldavszkij' családban tapasztalt gélmintázatok jellegzetes példái. PCR: PCR termék emésztés nélkül; *Bg/II* és *PstI*: emésztett PCR termék; PCR-: PCR negatív kontroll; Méretmarker: *PstI*-emésztett λ fág DNS.

A vizsgált magvatlan fajták közül a 'Kismis moldavszkij' volt az egyetlen, amely heterozigótának bizonyult az *SCC8* lókuszra *SCC8*⁺/*scc8*⁻ genotípussal. A BC₄ csak a lókusz domináns allélját mutatta. Mivel a BC₄ magvas típus, *SCC8* mintázata alapján mégis magvatlan képet mutat – azaz a fajta vagy a hasítóhelyre mutáns, vagy rekombináns *SCC8* allélt hordoz –, a BC₄ keresztezésekben a marker használata korlátozott. Csak azokban a keresztezésekben használható érdemben a marker, ahol a magvatlanságot hozó apai szülővonal a markerre nézve is heterozigóta. Ezek alapján kezdtük el vizsgálni a BC₄ × 'Kismis moldavszkij' családot.



5. ábra: Az *SCC8* lókusz öröklődésének Punnett-táblája a BC₄ × 'Kismis moldavszkij' hibridnemzedékben. KM: 'Kismis moldavszkij', *SCC8*⁺ (R): a BC₄ feltételezett rekombináns, vagy a *Bg/II* hasítóhelyben mutálódott allélja, 0: A BC₄ feltételezett null allélja. A gélrészleteken bal oldalon a PCR termék, mellette a *Bg/II* hasítás eredménye látható.

A BC₄ × 'Kismis moldavszkij' családban megfigyelt gélmintázat-típusokat mutatja a 4. ábra. Az *SCC8*⁺/*scc8*⁻ heterozigóták (pl. 11-3/4) és az *SCC8*⁺/? „homozigóták” (pl. 11-6/6) mellett a család vizsgálata során 13 esetben tapasztaltam azt, hogy a marker csak a magvasságért felelős *sdl* allélhoz

kapcsolt *scc8⁻* allélt mutatta (pl. 11-7/6, 4. ábra). Mivel ezek az egyedek a család vizsgált egyedeinek 17 %-át adták és a fenotipizálás során kivétel nélkül magvasnak bizonyultak, feltételeztem, hogy a BC₄ hordoz egy null-allélt. A fentiek ismeretében – azaz egy „rekombináns” és egy null allélt feltételezve a BC₄ szülőben – felállítottam egy feltételezett Punett-táblát (5. ábra). A sztenospermokarp magvatlanság szempontjából heterozigóta 'Kismis moldavszkij' *SCC8⁺* és *scc8⁻* alléljai mellett a keresztezésben a BC₄ rekombináns (*SCC8⁺[R]*) és null alléljai játszanak szerepet. A 5. ábrán felrajzolt Punett-tábla alapján 2:1:1 arányban kell kapnunk *SCC8⁺/?* (*SCC8⁺[R]/SCC8⁺* és *SCC8⁺/0*), *SCC8⁺/scc8⁻* és *scc8⁻/0* genotípusú egyedeket.

A BC₄ × 'Kismis moldavszkij' nemzedékben a magvatlanság 1:1 arányban, az *SCC8* lókuszt pedig – a felállított Punett-táblának (5. ábra) megfelelően – 2:1:1 arányban öröklődött. Mindkét hasadási arányt támogatja a χ^2 próba (1. táblázat). A BC₄ × 'Kismis moldavszkij' családban megfigyelt magvatlanság- és marker-hasadási arány alátámasztja tehát a „rekombináns” és a null-allél jelenlétét a BC₄ esetében.

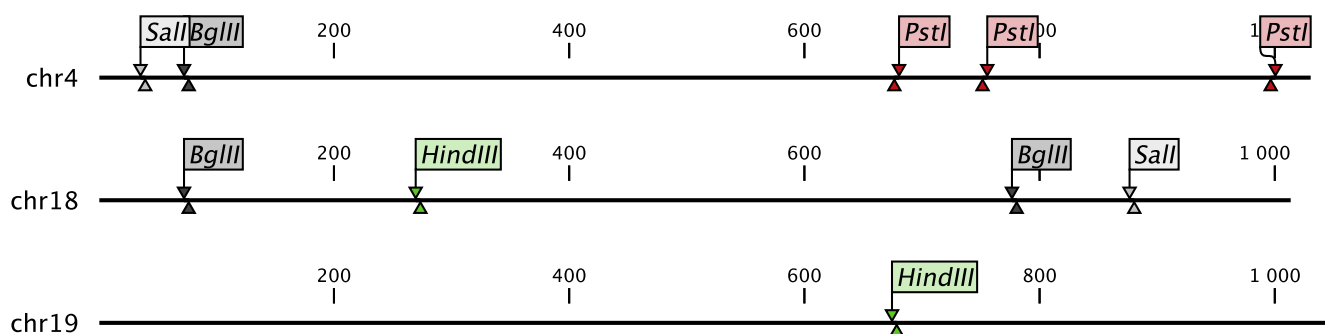
1. táblázat: A sztenospermokarp magvatlanság hasadási aránya, valamint az *SCC8* lókuszon megfigyelt genotípusok aránya a BC₄ × 'Kismis moldavszkij' nemzedékben.

	Magvatlan		Magvas		Összesen	Eloszlás	χ^2
	<i>SCC8⁺(R)/SCC8⁺</i>	<i>SCC8⁺/0</i>	<i>SCC8⁺/scc8⁻</i>	<i>scc8⁻/0</i>			
Fenotípus	44		34		78	1:1	1,282
Genotípus	44		18	13	75	2:1:1	2,919

3.3. Az *SCC8* lókuszt jellemzése, markerfejlesztés

Az *SCC8* lókuszt alaposabb megismerése érdekében elsőként lokalizáltam azt az időközben publikált 'Pinot Noir' „homozigóta” genomon (JAILLON *et al.*, 2007). 15 % mismatch párosodást engedélyezve az *in silico* PCR felszaporított három lókuszt a 4., 18. és 19. kapcsoltsági csoportokról (6. ábra), amelyek mindegyike megközelítőleg 1 000 bp hosszú volt. A *Bg*III hasítóhelyeinek helyzete alapján az *SCC8* lókuszt a 18. kapcsoltsági csoporton helyezkedik el. Ezek alapján felmerült a kérdés, vajon a BC₄ esetében tapasztalható domináns marker (*SCC8⁺*) a megfelelő lókusztól kerül felszaporításra, vagy esetleg a 4. vagy 19. kapcsoltsági csoportról?

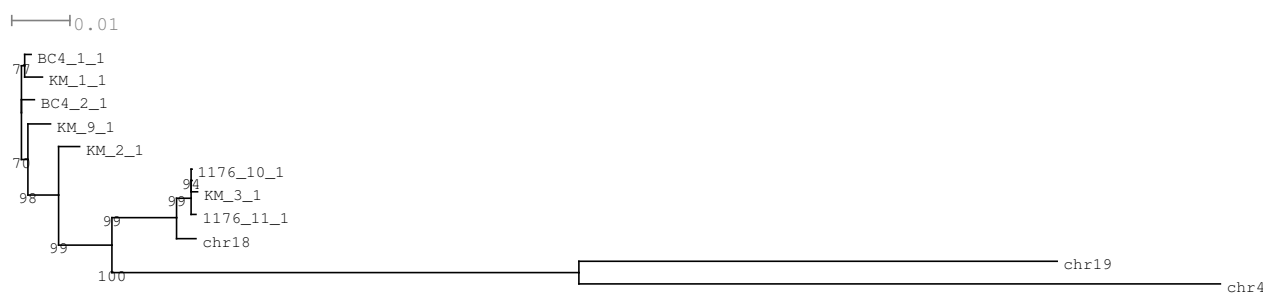
A 19. kapcsoltsági csoporton található lókuszt a *Bg*III enzim nem emészti, és mivel a BC₄ × 'Kismis moldavszkij' családban a PCR termék méretének csökkenését minden esetben tapasztaltam (4. ábra), kizártam annak a lehetőségét, hogy az *SCC8* primerek a családban ezt a lókuszt felszaporítják. Ugyanakkor feltehetően ez a lókuszt kerül amplifikációra 50 °C primerkötési hőmérsékleten a 'Nimrang' fajta esetében.



6. ábra: A 'Pinot Noir' PN40024 klón genom-szekvenciájáról *SCC8* primerekkel *in silico* felszaporított lókusztok mérete és azok *SalI*, *BglII*, *PstI* és *HindIII* hasítóhelyei.

Annak ellenőrzésére, hogy a BC_4 PCR terméke a 4. vagy a 18. kapcsoltsági csoportról származik, a PCR terméket *PstI* restriktációs endonukleázzal emésztettem. A 4. ábrán látható, hogy a *PstI* enzim nem emésztette a PCR terméket, ezek alapján a BC_4 PCR terméke tehát a 18. kapcsoltsági csoportról származhat.

Ezek után felmerült a kérdés, mi okozza a magas BC_4 *SCC8*⁺ alléljának domináns jellegét: pontmutáció a hasítóhelyben, vagy rekombináció? A kérdés megválaszolása érdekében megszekvenáltam a jellegzetes típusok *SCC8* lókusztait. A 'Kismis moldavszkij' fajta PCR termékét – lévén a fajta *SCC8* lókuszt nézve heterozigóta – klónoztam, egy *SCC8*⁺/0 és egy *scc8*⁻/0 genotípusú egyedről felszaporított PCR terméket pedig direkt szekvenáltam. A direkt szekvenálás azonban nem adott értékelhető szekvenciát, ezért később ezt a két típust is klónoztam.



7. ábra: A szekvenált *SCC8* lókusztok NJ fája. Az elágazáson szereplő értékek az 1 000 újrávételezésből számított százalékos bootstrap támogatottságot jelzik. KM: 'Kismis moldavszkij'; chr4, chr 18, chr19: a 'Pinot noir' genom-szekvenciájának 4., 18. és 19. kapcsoltsági csoportjainak *SCC8* primerekkel felszaporítható szakaszai.

A 'Kismis moldavszkij' PCR termékek klónjainak kontroll *PstI* emésztése során megjelent egy olyan sáv, amely arra utal, hogy a PCR termékek populációjában – ha alacsony mértékben is – található olyan fragmensek, amelyek nem a megfelelő lókusztól kerülnek felszaporításra (jelen esetben a 4. kapcsoltsági

csoportról). Ez a jelenség megmagyarázza azt is, hogy az elvileg egyetlen allélt hordozó genotípusok esetében nem bizonyult járható útnak a direkt szekvenálás.

A klónozott *SCC8* allélok többszörös illesztéséből rajzolt fa (7. ábra) alapján a BC₄ *SCC8* lókusza a legtöbb pontmutáció esetében a KM9 és KM2 ('Kismis moldavszkij' magvatlan alléljai) klónok pontmutációival egyezett meg, ami azt valószínűsíti, hogy a BC₄ allélja nem egyedi pontmutációt hordoz, hanem rekombináns az *SdI* és *scc8*⁻ lókuszek között.

Továbbfejlesztett *SCC8* marker

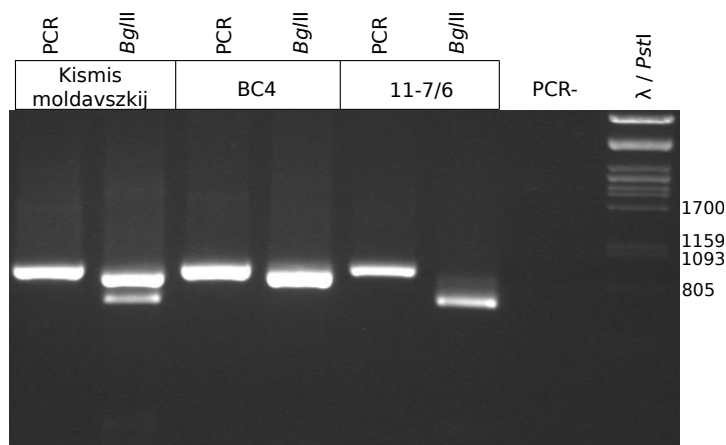
Az *SCC8* lókuszt elemzése során bebizonyosodott, hogy a LAHOUE *et al.* (1998) által közölt, az *SCC8* lókuszt falszaporítására alkalmas primerek használata esetén fennáll a lehetősége annak, hogy a primerpár a 4. és 19. kromoszómáról is felszaporít allélokat, amelyek mindazonáltal nem kapcsolnak a magvatlansághoz, így torzíthatják az eredményeket.

Ennek a lehetőségnek a kiküszöbölése érdekében új primereket terveztem (2. táblázat). Az új primerek megtervezése során az egyik legalapvetőbb szempont az volt, hogy a 4. és 19. kapcsoltsági csoportjainak az *SCC8* lókuszt hasonló szakaszaival ne legyenek komplementerek. Az új primerek szerepe a megbízhatóság növelése mellett annak megállapítása volt, hogy a BC₄ null allélját okozhatja-e a primerkötőhelyek pontmutációja, vagy annak oka egy nagyobb mértékű átrendeződés, különbözőség.

Az új primerek minden kombinációjával sikeresen amplifikáltam az *SCC8* lókuszt, a hasítási eredmények alapján a marker továbbra is alkalmazható a magvatlanságért felelős domináns *SdI* lókuszt nyomonkövetésére. Az elvégzett kísérletek során egyik primerkombináció esetén sem tapasztaltam olyan esetet, amikor a BC₄ null allélja megjelent volna (8. ábra).

2. táblázat: Az *SCC8* lókuszt tervezett, a 4. és 19. kapcsoltsági csoportokat kizáró primerek szekvenciái.

Oligonukleotid	Szekvencia
scc-F6	5' -CAAGTTGGAAGATGGGGAGT-3'
scc-F61	5' -GCACCTGGGGAAGATCTCAT-3'
scc-R850	5' -CCAGGGGGTCTTTTAAAGTG-3'
scc-R914	5' -TCAAAAAGAGGGTTGGCTCAC-3'



8. ábra: Szőlő-magvatlanság nyomonkövetése az scc-F6 és scc-R914 új *SCC* primerekkel. Méretmarker: *PstI*-emésztett λ fág DNS.

4. Következtetések és javaslatok

4.1. Magyarországi rózsafajok AFLP vizsgálata

A ploidszint hatása a kapott eredményekre

A *Caninae* szekcióra jellemző kiegyenlítetlen meiózis fontos következménye, hogy a szekció hibridjeit matroklín öröklés jellemzi mind a fenotípusos tulajdonságok (WERLEMARK and NYBOM, 2001), mind pedig a molekuláris markerek (WERLEMARK *et al.*, 1999; NYBOM *et al.*, 2004, 2006) tekintetében. A megtermékenyítés során például a pentaploid anyai partner $4x$ – tetraploid szülő esetében $3x$, hexaploid szülő esetében $5x$ – kromoszómaszerelvénnyel járul hozzá a zigóta genomjához, míg az életképes pollenek a szülő kromoszómaszámától függetlenül haploidok, $1x$ kromoszómaszerelvénnyel. A rózsáknál gyakran tapasztalt erős anyai hatás másik oka lehet, hogy spontán apomixisre hajlamosak (WERLEMARK, 2000).

Az anyai öröklődés azonban a fenotípusos tulajdonságok esetén nem mindig érvényesül. Míg az epikutikuláris viaszok a *Caninae* szekción belüli reciprok keresztezésekben anyai öröklődést mutattak (WISSEMANN *et al.*, 2007), egyes tulajdonságok a *Caninae* szekcióban is apai vonalon öröklődnek (RITZ and WISSEMANN, 2003). Az apai öröklődésű tulajdonságok között ráadásul vannak olyanok is, amelyek fontos határozóbélyegek. Ilyen tulajdonság pl. a csészelevelek lehulló vagy fennmaradó volta a termésérés során. A *R. canina* és *R. rubiginosa* esetében *Caninae* meiózisuknak köszönhetően anyai öröklődést feltételezhetünk, ám WISSEMANN and RITZ (2007) megmutatták, hogy a két faj reciprok keresztezése esetén a csészelevél lehullása apai vonalon öröklődik. Ez zavart okozhat az egyes insterspecifikus hibridek besorolásánál, ugyanis az apai tulajdonságok alapján valamely fajhoz sorolt taxonok a molekuláris markerek alapján a másik szülőhöz kerülhetnek közelebb.

A kiegyenlítetlen meiózis eredményeként a potenciális genetikai változékonyság csökken, mivel a szülői kromoszómák szétválásában és a homológ rekombinációban csak a hét bivalens vesz részt. Ezt ellensúlyozza ugyanakkor az a – szintén a kiegyenlítetlen meiózisnak köszönhető – tény, hogy a *Caninae* szekció egyedei könnyen képeznek fertilis hibrideket akár más szekciók tagjaival is, miközben képesek megtartani *Caninae* jellegüket.

Az AFLP adatok értékelése

A nem metrikus többdimenziós skálázás (NMDS) nem számít elterjedt eljárásnak az AFLP adatok értékelésére, bár egyes tanulmányok elsősorban ezen kiértékelés alapján interpretálják eredményeiket (O'HANLON *et al.*, 1999). A módszer nagy előnye, hogy nem erőlteti csoportok kialakítását így a kétes helyzetű taxonok (pl. hibridek) nem kerülnek besorolásra egyik vagy másik lehetséges helyzetüknek megfelelően, elfedve így valódi intermedier helyzetüket.

Az AFLP adatok értelmezésének egyik legelterjedtebben használt megközelítése a bináris adatmátrixból számított egyszerű különbözőségi mutatókon alapuló csoportképzési eljárás (BONIN *et al.*, 2007). Az UPGMA dendrogram alacsony bootstrap támogatottságának egyik okát abban látom, hogy a hibrid taxonok szülei markereit vegyesen hordozzák, így helyzetük bizonytalan, a csoportképzési eljárást megzavarják. Az adatok véletlenszerű megváltoztatásával azok egyik vagy másik szülő taxonjukhoz kerülnek besorolásra, így a szigorú csoportképzési eljárás igen különböző fákat eredményez, amelyek konszenzusa végül nem tekinthető megbízhatónak. Ha a bootstrap adatok valóban a hibridek váltakozó besorolása miatt alacsonyak, akkor a bootstrap újra-mintavételezésből számított UPGMA fák készlete éppen azt az információt hordozza, amit a hagyományos konszenzus fa nem képes megjeleníteni.

Erre a problémára a fahálózatok metodikai csoportja jelentheti a megoldást, amely egy viszonylag új (HUSON *et al.*, 2009) eljárásnak tekinthető a faképzési módszerek között, amelyet eddig elsősorban elméleti, illetve modell adatmátrixokon alkalmaztak. Az elvárásoknak megfelelően a hibridek legtöbbje – származásától függően – jól elkülönülő csoportot képzett és magyarázatot nyert a fának számos olyan ága, amely a hagyományos konszenzus fán nehezen volt összeegyeztethető a morfológiai bélyegeken alapuló osztályozással, illetve a taxonokkal kapcsolatos ismeretekkel. A hibridek elhelyezkedése ugyanakkor megfelelt az NMDS alapján vártakkal, ám az ábrázolás ezen módja jóval átláthatóbb, mint az NMDS esetében.

A fahálózatokhoz hasonlóan a hibridizációs hálózatok is a filogenetika egy viszonylag új metodikai ágát képviselik (HUSON and KLOPPER, 2005). Az elvégzett elemzések közül a hibridizációs hálózat (3. ábra a 15. oldalon) volt az, amely a legjobban támogatta a klasszikus rózsza rendszereket, ezen belül is elsősorban a *Caninae* szekció egyes alszekcióit (*Caninae*, *Rubigineae*), míg más szekciók (*Vestitae*, *Trachyphyllae*) továbbra sem különültek el határozottan.

4.1.1. A vizsgált rózsza taxonok rendszertani viszonyai

Az alábbiakban megkísérlem – a mintakészlet által meghatározott kereteken belül – a *Rosa* nemzetség vizsgált taxonjainak rendszertani viszonyait röviden bemutatni, értelmezni.

A *Pimpinellifoliae* szekció kivétel nélkül minden elemzésben jól definiált csoportot, kládot alkotott, ami alátámasztja a szekció elkülönítését a *Rosa* nemzetségen belül; meg kell azonban jegyeznünk,

hogy a három vizsgált egyed genetikailag feltehetően igen közel áll egymáshoz, azok nem képviselik a teljes *Pimpinellifoliae* szekciót. Több esetben ebbe a csoportba került besorolásra a *R. heckeliana*, ugyanakkor az NMDS diagramon látható, hogy a taxon valóban elkülönül a *Caninae* szekció egyedeitől. A közös csoportba sorolást okozhatja az, hogy a *Pimpinellifoliae* szekció és a *R. heckeliana* egyaránt élesen elkülönülnek a többi vizsgált egyedtől. A hibridizációs hálózat eredménye megerősíti (KOOPMAN *et al.*, 2008) megfigyeléseit, akiknek bayes-i elemzésében a szekció a rózsa nemzetség egyik alapi szekciójaként jelent meg.

A *Rosa* szekció képviselői a *Pimpinellifoliae* szekcióhoz hasonlóan jól definiált csoportot alkottak annak ellenére, hogy számos vizsgált interszekcionális hibrid egyik oldalról a *Rosa* szekciótól származtatható, ezek közül némelyik gyakran a *Rosa* kládra, illetve csoportba került ([119] *R. × kmetiana*, [50] *R. jundzillii*). A (23) *R. × francofurtana* F₁ hibridet a hibridizációs hálózat közvetlenül a „klasszikus” (22) *R. francofurtana* mellé sorolta, míg a fenetikai elemzések során a két taxon között nem mutatkozott kapcsolat. A *Rosa* szekció körülhatárolt jellege, illetve megfigyelt kapcsolata a *Caninae* szekcióval egyezik a korábbi molekuláris genetikai vizsgálatok eredményeivel (RITZ *et al.*, 2005; KOOPMAN *et al.*, 2008).

A *Caninae* szekció jól körülhatárolható csoportot alkotott mind a fenetikai, mind pedig a filogenetikai elemzések során, ám az alszekciók tekintetében a helyzet kevésbé egyértelmű. Az alszekciók összevetését a szakirodalmi adatokkal megnehezíti, hogy kevés tanulmány tér ki azok elemzésére. A *Rubigineae* alszekció *Caninae* szekción belüli KOOPMAN *et al.* (2008) által megfigyelt határozott elkülönülését csak a hibridizációs hálózat igazolta. A *Vestitae* és *Trachyphyllae* szekciók polifiletikus jellege KOOPMAN *et al.* (2008) ezen alszekciókra vonatkozó következtetéseivel összhangban, az AFLP adatok alapján nem teszi indokolttá azok alszekció szintű besorolását, elhatárolását a *Caninae* alszekciótól.

Eredményeim alapján az AFLP kiválóan használható olyan komplex múltú rendszertani csoportok vizsgálatára, mint amilyen a *Rosa* nemzetség. Az AFLP adatokból számított távolságok bootstrap újramintavételezéséből rajzolt fahálózat, továbbá a hibridizációs hálózat együttesen alkalmazva adhatják a megfelelő eszközt a kutató számára. Az előbbi módszer az egyes hibridek leszármazását magyarázza, illetve mutatja meg, míg a második a hibrid eredetű taxonok csoportképzést zavaró hatását képes feloldani.

Ezek az eredmények nagy segítséget nyújthatnak bármely más olyan taxoncsoport rendszertani kapcsolatainak értelmezése során, amelyeknek kialakulásában, illetve alakulásában a hibridizáció, az introgresszió meghatározó szerepet játszik. A szőlő egyike az ilyen nemzetségeknek, ahol az utóbbi időben egyre inkább középpontba helyeződik a kérdés: vajon a *V. sylvestris* önálló fajként értelmezhető-e, létezik-e még, és milyen szerepet játszott a *V. vinifera* faj kultúrevolúciójában (THIS *et al.*, 2006; BODOR *et al.*, 2010).

4.2. A szőlő-magvatlanság markerezése

4.2.1. Az SCC8 marker öröklődése a vizsgált családokban

Az, hogy az SZ. NAGY LÁSZLÓ által végzett keresztezések utódnemzedékeiben (SI és TII családok) – még ha alacsony arányban is – megfigyelhető volt az $SCC8^{+/?}$ típus jelenléte, arra enged következtetni, hogy a 'Superior Seedless' pontos $SCC8$ genotípusa $SCC8^{+}/scc8^{-}$, míg a 'Palatina' fajtáé $scc8^{-}/0$. Utóbb a 'Palatina' fajta esetében szintén null allél jelenlétére következtettek tanulmányukban KORPÁS *et al.* (2009).

A $BC_4 \times$ 'Kismis moldavszkij' keresztezésben a BC_4 magvas anyavonal $SCC8^{+/?}$ genotípusú, azaz „homozigóta magvatlanként” viselkedett. Az utódnemzedék markerezése során kapott eredmények alapján valószínűsíthető, hogy a BC_4 hordoz egy null allélt és egy rekombináns allélt.

A $SCC8^{+}$ allél jelenlétére a BC_4 -ben két magyarázat is elképzelhető: pontmutáció a hasítóhelyben, illetve rekombináció az $SCC8$ és SdI lókuszok között. A 'Kismis moldavszkij' és BC_4 $SCC8$ alléljainak szekvenciái (7. ábra) alapján kimutatható azonban, hogy a BC_4 domináns $SCC8^{+}$ allélja nem pontmutáció, hanem rekombináció eredménye.

4.2.2. Az SCC8 lókusz jellemzése

Munkám során bebizonyosodott, hogy a LAHOGUE *et al.* (1998) által tervezett primerek nem csak a magfejlődés inhibitor SdI lókuszt hordozó 18., hanem a szőlő 4. és 19. kapcsoltsági csoportjáról is felszaporít(hat)nak egy közel 1 kb hosszúságú szakaszt. Ezt alátámasztják a lecsökkentett (50 °C) primerkötési hőmérséklettel végzett kísérletek, amikor a PCR lépésben akkor is kaptam PCR terméket, amikor a primerek szekvenciájának megfelelő 60 °C-os primerkötési hőmérséklettel nem tapasztaltam amplifikációt, továbbá hogy a PCR termék hasítása alapján a fragmensek a 4. (pl. a 'Nimrang' fajta esetében) vagy a 19. (pl. a 'Kismis moldavszkij' esetében) kapcsoltsági csoportról származtak.

A három, $SCC8$ primerekkel felszaporítható közel azonos méretű 'Pinot noir' lókusz jelenléte újabb bizonyítéka lehet a szőlő hexaploid eredetének (JAILLON *et al.*, 2007). Bár a lókuszok szekvenciája határozottan eltér, azok hasonlóságai, illetve közel azonos méretük alátámasztják a szőlő evolúciója során történt hexaploidizációt.

Továbbfejlesztett $SCC8$ marker

Az új primerpárok nem kötődtek *in silico* a 'Pinot noir' genomszekvenciájának 4. és 19. kapcsoltsági csoportjához még 30 % hiba (mismatch) engedélyezésével sem, ugyanakkor mindkét allélon megtalálják a komplementer szekvenciákat. A magvatlanság nyomkövetésére mindamellettt változatlanul alkal-

masnak ígérkeznek (8. ábra), az *scc-F6 – sccR914* primerpár az eredeti *SCC8* primerpárral megegyező eredményt adott.

Az új primerpárokkal sem lehetett felszaporítani azonban a null allélt. Amennyiben a null-allélt mégis felszaporította volna, akkor annak a gélen meg kellett volna jelennie (8. ábra). Ha ugyanis az domináns (*SCC8⁺*), akkor az *scc8⁻/0* genotípusú 11-7/6 egyednél látszania kellene, ha pedig recesszív (*scc8⁻*), akkor pedig a *BC₄* gélképén kellene heterozigóta genotípust látnunk.

A fenti megfigyelések ellentmondanak KORPÁS *et al.* (2009) feltételezésének, amely szerint – DAKIN and AVISE (2004) mikroszatellitek esetében tapasztalható null allélokkal kapcsolatos javaslataira alapozva – a null allél jelenlétét a primerkötőhelyekben történt pontmutációkkal magyarázzák.

Mind a magvas, mind pedig a magvatlan szőlőfajtákban megfigyelt null allél tehát feltehetően nem a PCR során használt primerek „tökéletlensége” miatt viselkedik null allélként, hanem ezekben az egyedekben nagyobb mértékű kromoszóma átrendeződések, mutációk történhettek.

4.2.3. MAS az *SCC8* markerrel

A magvatlanságért felelős domináns inhibitor *SdI* gén mellett a sztenospermokarp magvatlanság kialakulását további recesszív gének is befolyásolják (BOUQUET and DANGLLOT, 1996). Az *SdI* allél jelenléte szükséges feltétele ugyan a sztenospermokarpia kialakulásának, ám nem elégséges a fogyasztó szemszögéből magvatlannak tekinthető bogyók kialakulásához, ehhez a további recesszív gének jelenléte is szükséges.

Eredményeim a marker alkalmazhatóságát igazolják a vizsgált utódnemzedékekben, más kombinációk esetében azonban a marker felhasználhatóságát igazolni kell, mivel a keresztezésekben használt szülők *SCC8* genotípusa nagyban befolyásolja a marker alkalmazhatóságát.

ADAM-BLONDON *et al.* (2001), valamint KORPÁS *et al.* (2009) munkájuk során arra a következtetésre jutottak, hogy az *SCC8* marker jobban használható magvatlan × magvatlan, mint magvas × magvatlan keresztezésekben. Eredményeim azonban azt igazolják, hogy amennyiben a nemesítési program kialakítása során a szülőválasztáskor figyelembe vesszük a magvatlan szülők *SCC8* genotípusát és azokat ennek megfelelően választjuk ki, akkor a marker megbízhatóan alkalmazható a magvatlanság nyomonkövetésére magvas × magvatlan keresztezésekben is. A marker használhatóságának eltérő megítélése adódhat természetesen az eltérő elvárásokból. Amennyiben a teljes mértékű, a 'Thompson Seedless' magvatlanságát megközelítő sztenospermokarpia markerezése a célunk, úgy valóban jobb hatékonyságot érhetünk el a magvatlan × magvatlan keresztezésekkel, ám ez kevésbé a marker használhatóságán múlik, mint azon, hogy a magvatlanság mértékét befolyásoló egyéb genetikai faktorok – és természetesen maga az *SdI* inhibitor gén – ezekben a keresztezésekben nagyobb eséllyel kerülnek homozigóta állapotba.

Egy olyan összetett tulajdonság esetében, mint a szőlő sztenospermokarp magvatlansága, az SCC8 marker elsősorban arra alkalmas, hogy a magvatlanság lehetőségét kimutassa. Hogy az egyes egyedek ezentúl milyen mértékű magvatlanságot mutatnak, az a többi gén öröklődésének függvénye, annak előrejelzését az *SdI* génhez kapcsolt markertől nem várhatjuk.

4.3. Új tudományos eredmények

Magyarországi rózsa taxonok AFLP vizsgálata

1. Felmértem Magyarország egyes rózsa taxoncsoportjainak – köztük számos hibrid taxonnak – rendszertani kapcsolatait AFLP markerek segítségével. Igazoltam a *Pimpinellifoliae* és *Rosa* szekciók létjogosultságát, továbbá megállapítottam, hogy a vizsgált taxonok alapján a *Caninae* szekció *Vestitae* és *Trachyphyllae* alszekciói polifiletikusnak bizonyultak, azok elkülönülése a *Caninae* alszekciótól adataim alapján nem támogatott.
2. Az AFLP adatok fenetikai elemzésének bootstrap újramintavételezéséből számított UPGMA fák hálózata nagy részben képes volt feloldani és megjeleníteni az egyes *Rosa* taxonok hibrid eredetét, míg a hibridizációs hálózatok a hibrid taxonok bevonása mellett is támogatták a rózsa nemzetség vizsgált szekcióinak és egyes alszekcióinak elkülönítését.
3. Megállapítottam, hogy két eltérő ploidszintű ($2n = 5x = 35$, illetve $2n = 6x = 42$) *Rosa gallica* taxon esetében a ploidia foka nem befolyásolta az AFLP markerek alapján történő osztályozást, azok a különböző ploiditás ellenére is szoros kapcsoltságot mutattak.

A szőlő-magvatlanság markerezése

4. Megállapítottam, hogy a 'Flame Seedless' és 'Palatina' fajták egyaránt tartalmaznak egy-egy SCC8 null allélt, meghatároztam a nevezett fajták pontos SCC8 genotípusát: $SCC8^+/0$, illetve $scc8^-/0$. Az ifj. KOZMA PÁL nemesítési programjában rendszeresen használt BC₄ multirezisztens fajhibrid esetében bizonyítottam egy rekombináns $SCC8^+$ és egy null allél jelenlétét.
5. Az SI, TII és VRH 3082-1-42 (BC₄) × 'Kismis moldavszkij' családokon igazoltam az SCC8 marker alkalmazhatóságát a szőlő sztenospermokarp magvatlanságának predikciójára.
6. Az SCC8 marker továbbfejlesztéséhez új primereket terveztem, amelyek szelektívek a szőlő sztenospermokarp magvatlanságának domináns *SdI* inhibitor génjét hordozó kromoszómaszakaszra a 18. kapcsoltsági csoporton.
7. Megállapítottam, hogy a VRH 3082-1-42 (BC₄) null allélja nem az SCC8 lókuszt primerkötőhelyein bekövetkezett pontmutációk eredménye.

5. Az értekezés témaköréhez kapcsolódó publikációk

Folyóiratcikkek

IF-os folyóiratcikk

DEÁK, T., S. HOFFMANN, P. BODOR, GY. D. BISZTRAY, P. KOZMA (2010): Marker assisted selection for seedlessness in a multiresistant table grape hybrid family. *Vitis*. (submitted paper)

Nem IF-os folyóiratcikk

DEÁK, T., L. SZ. NAGY, GY. D. BISZTRAY, (2010): Molecular marker based detection of seedlessness in two powdery and downy mildew tolerant table grape families. *International Journal of Horticultural Science*. (accepted paper)

Konferencia kiadványok

Magyar nyelvű (full paper)

DEÁK, T., G. FACSAR, GY. D. BISZTRAY, ZS. SASVÁRI, I. NAGY (2005): Magyarországi rózsafajok AFLP variabilitása (előzetes közlemény). In M. TÓTH (szerk.): *Válogatott teljes terjedelmű tudományos dolgozatok a Lippay János Tudományos Ülésszakon (2005. október 20-21.) bemutatott eredményekből*. Kertgazdaság különszám, Budapest. 265-270.

Magyar nyelvű (abstract)

DEÁK, T., G. FACSAR, GY. D. BISZTRAY (2005): Magyarország rózsafajainak (*Rosa* spp. L.) genetikai polimorfizmusa. *XI. Növénynevelési Tudományos Napok, 2005. március 3-4., Budapest*. Összefoglalók. 53.

DEÁK TAMÁS, SZ. NAGY LÁSZLÓ, BALOGH ISTVÁN, BODOR PÉTER, BISZTRAY GYÖRGY DÉNES (2006): Szőlő magvatlanság kimutatása SCAR-RFLP markerekkel. *XII. Növénynevelési Tudományos Napok, 2006. március 7-8., Budapest*. Összefoglalók. 137.

DEÁK TAMÁS, BODOR PÉTER, BISZTRAY GYÖRGY DÉNES (2009): A szőlő magvatlanságáért felelős génjelöltek elemzése bioinformatikai módszerekkel. *Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, 2009 október 28-30., Budapest*. Összefoglalók. 260-261.

Nemzetközi konferencia (full paper)

DEÁK, T., G. FACSAR, GY. D. BISZTRAY (2005): Genetic Polymorphism of Rosa Genotypes Native to Hungary. *Acta Hort (ISHS)* 690. 57-62.

Nemzetközi konferencia (abstract)

DEÁK, T., S. HOFFMANN, P. BODOR, F. KERÉNYI, GY. D. BISZTRAY, P. KOZMA (2010): Usefulness of the SCC8 SCAR marker linked to seedlessness in Fungus resistant table grape breeding. *10th International Conference on Grapevine Breeding and Genetics, 1-5. august 2010, Geneva, NY, USA.* Book of Abstracts. P-10.

Az értekezés témaköréhez nem közvetlenül kapcsolódó publikációk

Folyóiratcikkek

IF-os folyóiratcikk

SEREGÉLY ZS., T. DEÁK, GY. D. BISZTRAY (2004): Distinguishing melon genotypes using NIR spectroscopy. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 72 (2) 195-203. IF 1,899

ANNA-MÁRIA CSERGŐ , PETER SCHÖNSWETTER, GYÖNGYVÉR MARA, TAMÁS DEÁK, NICOLAE BOSCAIU, MÁRIA HÖHN (2009): Genetic structure of peripheral, island-like populations: a case study of *Saponaria bellidifolia* SM. (*Caryophyllaceae*) from the Southeastern Carpathians. *Plant Systematics and Evolution*. 278 (1) 33-41. IF 1,44 (2008)

BODOR, P., HÖHN, M., PEDRYC, A., DEÁK, T., DÜCSŐ, I., UZUN, I., BÖHM, É. I., CSEKE, K., BISZTRAY, GY. D. (2010): Conservation value of the native Hungarian wild grape (*Vitis sylvestris* GMEL.) evaluated by microsatellite markers. *Vitis*. 49 (1) 23-27. IF 0,753 (2007)

Nem IF-os folyóiratcikk

BÁBA, E., V. ZARKA, T. DEÁK, A. PEDRYC, I. VELICH, GY. D. BISZTRAY (2002): Molecular diversity of hungarian melon varieties revealed by RAPD markers. *Internaitonal Journal of Horticultural Science* 8 (3-4) 11-13.

HALÁSZ, J., J. KORBULY, T. DEÁK, GY. D. BISZTRAY (2004): RAPD analysis of grapevine hybrids and cultivars. *Internaitonal Journal of Horticultural Science*. 10 (4). 63-66.

BISZTRAY, GY. D., DEÁK, T., EISENHELD, C., PEDRYC, A., BALOGH, I., REGNER, F. (2005): Microsatellite based identification of grapevine cultivars traditional in Hungary and in the Carpathian Basin. *International Journal of Horticultural Science*. 11 (4). 71-73.

BODOR, P., DEÁK, T., BÉNYEI, F., VARGA, ZS., BISZTRAY GY. D., (2007). A mikroszatelliteken alapuló molekuláris markerezés előnyei és hátrányai szőlő (*Vitis vinifera* L.) esetében. *Kertgazdaság* 39 (2) 57-62.

BODOR, P., ZS. VARGA, T. DEÁK, A. PEDRYC, GY. D. BISZTRAY (2008): Old hungarian grapevine cultivars and their relations characterized with microsatellite markers. *International Journal of Horticultural Science*. 14 (4) 27-32.

Egyéb értékelhető cikk

IFJ. BODOR PÉTER, DEÁK TAMÁS, DR. GYULAI FERENC, DR. BÉNYEI FERENC, DR. LŐRINCZ ANDRÁS, DR. BISZTRAY GYÖRGY DÉNES (2006): Zsigmond-kori szőlőmagok genetikai jellemzése. *Borászati Füzetek* 16 (5). Kutatás 1-9. p.

Konferencia kiadványok

Magyar nyelvű (full paper)

FODOR, S., GY. D. BISZTRAY, T. DEÁK, E. JÁMBORNÉ BENCZÚR (2005): Hársak mikroszaporítása és genetikai vizsgálata. In M. TÓTH (szerk.): *Válogatott teljes terjedelmű tudományos dolgozatok a Lippay János Tudományos Ülésszakon (2005. október 20-21.) bemutatott eredményekből*. Kertgazdaság különszám, Budapest. 255-264. p.

Magyar nyelvű (abstract)

BÁBA, E., CS. BÁRSONY, V. ZARKA, T. DEÁK, A. PEDRYC, I. VELICH, GY. D. BISZTRAY (2002): Magyar sárgadinnye fajták jellemzése RAPD markerekkel. *VIII. Növénynevelési Tudományos Napok, 2002. február 12-13.* Összefoglalók. 74.

BISZTRAY GY. D., A. PEDRYC, T. DEÁK, I. VELICH (2002): Magyar kertészeti növények jellemzésének lehetőségei molekuláris módszerekkel. *VIII. Növénynevelési Tudományos napok, 2002. február 12-13., Budapest.* Összefoglalók. 49.

DEÁK, T. (2002): A hazai hunyor fajok genetikai polimorfizmusának felmérése. *Nemzetközi Környezetvédelmi Szakmai Diákkonferencia, 2002. július 3-5, Mezőtúr.* Összefoglalók. 65.

FACsar G., É. I. BÖHM, A. PEDRYC, T. DEÁK, GY. BISZTRAY (2002): A Helleborus nemzetség hazai variabilitásának vizsgálata RAPD markerekkel. *Aktuális Flóra és Vegetációkutató a Kárpát-medencében V. Konferencia, 2002. március 8-10., Pécs.* Összefoglalók, 18.

DEÁK, T., G. FACsar, É. I. BÖHM, A. PEDRYC, I. VELICH, GY. D. BISZTRAY (2003): Magyarországi hunyor taxonok vizsgálata RAPD markerekkel. *IX. Növénynevelési Tudományos Napok, 2003. március 5-6., Budapest.* Összefoglalók. 85.

RUTHNER, SZ., GY. D. BISZTRAY, T. DEÁK, A. PEDRYC (2003): Különböző származású kajszai fajták RAPD markeres jellemzése. *IX. Növénynevelési Tudományos Napok, 2003. március 5-6., Budapest.* Összefoglalók. 132.

TURZA, S., T. DEÁK, I. VELICH, GY. D. BISZTRAY (2003): Babfajták minőségi paramétereinek vizsgálata NIR/NIT technikával. *IX. Növénynevelési Tudományos Napok, 2003. március 5-6., Budapest.* Összefoglalók. 147. p.

FACsar, G., É.I. BÖHM, BÉNYEINÉ-HIMMER M., DEÁK T. (2003): Magyarország Helleborus populációi, mint a balkáni másodlagos diverzitási központ időszakonkénti északi génkisugárzásának közvetítői és diszjunkt őrzői. *6. Magyar Ökológus kongresszus, 2003. augusztus 27-29., Gödöllő.* Előadások és poszterek összefoglalói. 84.

BÉNYEI-HIMMER, M., GY. D. BISZTRAY, M. HÖHN, A. PEDRYC, E. KLEER, T. DEÁK (2004): Mikroszatellit SSR markerek felhasználhatósága a hazai Hedera taxonoknál. *X. Növénynevelési Tudományos Napok, 2004. február 18-19., Budapest.* Összefoglalók. 79.

DEÁK, T., E. GYÖNGYÖS, ZS. SEREGÉLY, GY. D. BISZTRAY (2004): Görögdinnye hibriditás vizsgálata közeli infravörös spektroszkópiával. *X. Növénynevelési Tudományos Napok, 2004. február 18-19., Budapest. Összefoglalók.* 86.

BISZTRAY, GY. D., E. KISSNÉ -BÁBA, L. SZ. NAGY, P. BODOR, K. SIMONYI, T. DEÁK, S. PÁNCZÉL, R. BACSÓ, V. ZARKA, R. OLÁH, I. TÓBIÁS, I. BALOGH, I. VELICH (2005): Molekuláris növénynevelési módszerek alkalmazása kabakosoknál és szőlőnél. *XI. Növénynevelési Tudományos Napok, 2005. március 3-4., Budapest. Összefoglalók.* 19.

BÉNYEINÉ HIMMER, M., M. HÖHN, GY. D. BISZTRAY, E. KLEER, T. DEÁK (2005): Flow citométeres vizsgálat felhasználhatósága a hazai Hedera taxonok genetikai diverzitásának és rokonsági kapcsolatainak elemzésében. *Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, 2005. október 19-21., Budapest. Összefoglalók, Kertészettudomány.* 32-33.

DEÁK TAMÁS, BURGÁN JÓZSEF, BISZTRAY GYÖRGY DÉNES (2007): Lisztharmat-rezisztenciában szerepet játszó MLO homológok azonosítása kabakosokban. *XIII. Növénynevelési Tudományos Napok, 2007. március 12., Budapest. Összefoglalók.* 88.

DEÁK TAMÁS, BISZTRAY GYÖRGY DÉNES, BURGÁN JÓZSEF (2008): Uborka (*Cucumis sativus* L.) VIGS vektor fejlesztése. *XIV. Növénynevelési tudományos napok, 2008. március 12., Budapest. Összefoglalók.* 58.

BODOR, P., I. DÜCSÓ, T. DEÁK, A. PEDRYC, GY. D. BISZTRAY, É. I. BÖHM, M. HÖHN (2009): A ligeti szőlő (*Vitis sylvestris* Gmel.) diverzitásvizsgálata molekuláris markerek segítségével. *Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos ülésszak, 2009. október 28-30., Budapest. Összefoglalók.* 258-259.

RADÁCSI, P., J. GÖBLYÖS, K. INOTAI, T. DEÁK, J. BERNÁTH (2009): A levélfelület vizsgálata különböző vízkapacitáson nevelt bazsalikom növények esetében. *Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak. 2009 október 28-30., Budapest. Összefoglalók.* 122-123.

Nemzetközi konferencia (full paper)

BISZTRAY, GY. D., KORBULY, J., HALÁSZ, J., OLÁH, R., RUTHNER, S., DEÁK, T. AND PEDRYC, A. (2003): Characterization of grape varieties and species by RAPD markers. *Acta Horticulturae (ISHS)* 603 (2). 601-604.

DEÁK, T., G. FACSAR, M. KOCSIS, SZ. RUTHNER, A. PEDRYC, I. VELICH, GY. D. BISZTRAY (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.

RUTHNER, SZ., GY. D. BISZTRAY, T. DEÁK, M. LAIMER, A. PEDRYC (2003): Characterization of apricot varieties with different origin using molecular markers. *Proceedings of the 4th International Conference of PHD Students, 11-17 August 2003.* 353-357.

DEÁK, T., ZS. SEREGÉLY, K.J. KAFFKA, E. BÁBA, V. ZARKA AND GY. D. BISZTRAY (2004): Distinction of melon genotypes using NIR spectroscopy. In DAEVIS AND GARRIDO-VARO (eds.): Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 11th International Conference. NIR Publications, Charlton Mill, UK. (6-11. April 2003., Cordoba, Spain) 385-388.

BISZTRAY, GY. D., T. DEÁK, ZS. SEREGÉLY, S. TURZA, P. BODOR, I. VELICH, K. KAFFKA (2004): NIR – an alternative tool in horticultural biotechnology. *Acta Horticulturae (ISHS)* 725. 663-668.

BISZTRAY, GY. D., T. DEÁK, ZS. SEREGÉLY, K. KAFFKA (2004): NIR spectroscopy for distinction of melon genotypes. *Acta Horticulturae (ISHS)* 725. 709-712.

P. BODOR, T. DEÁK, R. BACSÓ, I. VELICH, GY. D. BISZTRAY, G. FACSAR, F. GYULAI (2004): Morphological and genetic investigation of mediaeval grape seeds. *Acta Horticulturae (ISHS)* 725. 713-718.

VARGA, ZS., BÉNYEI, F., BISZTRAY, GY. D., BODOR P. JR., DEÁK, T. (2007): The identification of the 'Budai gohér' with morphological and molecular markers and the separation from the Gohér conculta. XXXth OIV World Congress of Vine and Wine. Budapest 10-16. June 2007. CD-ROM.

KIRÁLY, I., A. PEDRYC, J. HALÁSZ, T. DEÁK, M. TÓTH (2009): Parent identification of Hungarian apple cultivars using SSR markers. *Acta Horticulturae* 839. 471-477.

Nemzetközi konferencia (abstract)

HANSEN M. J., C. OBERMEIER, T. DEÁK, F. POHLHEIM (2001): Nachweis von männlichem und weiblichem Gewebe an einer Populus-Chimäre. 39. *Gartenbauwissenschaftliche Tagung*, 27. Februar 1. März 2002., Braunschweig, Germany. Kurzfassungen der Vorträge und Poster. 26.

BISZTRAY, GY. D., J. MÓZES, A. SZABADOS, T. DEÁK, I. VELICH (2004): RAPD analysis of frost tolerant bamboo genotypes. 5th *In Vitro Culture and Horticultural Breeding Symposium*, 12-17. september 2004., Debrecen, Hungary. Book of Abstracts. 214.

I. KIRÁLY, J. HALÁSZ, T. DEÁK, M. TÓTH, A. PEIL, F. DUNEMANN, M.V. HANKE (2007): Ratio of homozygous and heterozygous Vf genotypes in progenies of Vf₁ x Vf₂ crosses. XII. *Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics*, 2007. szeptember 16-20., Zaragoza, Spanyolország. Összefoglalók.

T. DEÁK, GY. D. BISZTRAY, J. BURGYÁN (2008): Developing a VIGS vector for cucumber (*Cucumis sativus* L.). *First Symposium on Horticulture in Europe*, 17th-20th february 2008, Vienna, Austria. Book of abstracts. 83.

BODOR, P., GY. D. BISZTRAY, T. DEÁK, I. DÜCSÓ, A. PEDRYC, M. HÖHN (2009): Diversity and conservation value of native *Vitis sylvestris* GMEL. stands from Hungary, evaluated by morphological and molecular markers. 2nd *European Congress of Conservation Biology*, 1-5. september 2009. Prague. Abstracts. 248.

Irodalomjegyzék

1. ADAM-BLONDON, A. F., F. LAHOUGE-ESNAULT, A. BOUQUET, J. M. BOURSQUOT and P. THIS (2001): Usefulness of two SCAR markers for marker-assisted selection of seedless grapevine cultivar. *Vitis*, 40 (3): 147–155.
2. BODOR, P., M. HÖHN, A. PEDRYC, T. DEÁK, I. DÜCSŐ, I. UZUN, É. I. BÖHM, K. CSEKE and GY. D. BISZTRAY (2010): Conservation value of the native Hungarian wild grape (*Vitis sylvestris* GMEL.) evaluated by microsatellite markers. *Vitis*, 49 (1): 23–27.
3. BONIN, A., D. EHRICH and S. MANEL (2007): Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. *Molecular Ecology*, 16 (18): 3737–3758.
4. BOUQUET, A. and Y. DANGLLOT (1996): Inheritance of seedlessness in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*, 35 (1): 35–42.
5. DAKIN, E. E. and J. C. AVISE (2004): Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity*, 93 (5): 504–509.
6. FACSAR, G. (1993): Magyarország vadontermő rózsái. *KÉE Közleményei, Publicationes Universitatis Horticulturae Industriaeque Alimentariae*, 53: 75–121.
7. FACSAR, G. (2002): A small country with many *Rosa* species? In: É. SALAMON-ALBERT (ed.), *Hungarian Botanic Research at the Millennium*. PTE, Pécs, Hungary, pp. 141–155.
8. FACSAR, G. (2004): Taxonomic interpretation of the natural diversity of the genus *Rosa* in the Carpathian Basin. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 690: 35–44.
9. HUSON, D. H. and T. H. KLOEPPER (2005): Computing recombination networks from binary sequences. *Bioinformatics*, 21 (Suppl 2): ii159–165.
10. HUSON, D. H., R. RUPP, V. BERRY, P. GAMBETTE and C. PAUL (2009): Computing galled networks from real data. *Bioinformatics*, 25 (12): 85–93.
11. JAILLON, O., J.-M. AURY, B. NOEL, A. POLICRITI, C. CLEPET, A. CASAGRANDE, N. CHOISNE, S. AUBOURG, N. VITULO, C. JUBIN, A. VEZZI, F. LEGEAI, P. HUGUENEY, C. DASILVA, D. HORNER, E. MICA, D. JUBLLOT, J. POULAIN, C. BRUYÈRE, A. BILLAULT, B. SEGURENS, M. GOUYVENOUX, E. UGARTE, F. CATTONARO, V. ANTHOUARD, V. VICO, C. DEL FABBRO, M. ALAUX, G. DI GASPERO, V. DUMAS, N. FELICE, S. PAILLARD, I. JUMAN, M. MOROLDO, S. SCALABRIN, A. CANAGUIER, I. LE CLAINCHE, G. MALACRIDA, E. DURAND, G. PESOLE, V. LAUCOU, P. CHATELET, D. MERDINOGLU, M. DELLEDONNE, M. PEZZOTTI, A. LECHARNY,

- C. SCARPELLI, F. ARTIGUENAVE, M. E. PÈ, G. VALLE, M. MORGANTE, M. CABOCHE, A.-F. ADAM-BLONDON, J. WEISSENBAACH, F. QUÉTIER and P. WINCKER (2007): The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature*, 449 (7161): 463–467.
12. KOOPMAN, W. J. M., V. WISSEMAN, K. DE COCK, J. VAN HUYLENBROECK, J. DE RIEK, G. J. H. SABATINO, D. VISSER, B. VOSMAN, C. M. RITZ, B. MAES, G. WERLEMARK, H. NYBOM, T. DEBENER, M. LINDE and M. J. M. SMULDERS (2008): AFLP markers as a tool to reconstruct complex relationships: A case study in *Rosa* (*Rosaceae*). *American Journal of Botany*, 95 (3): 343–366.
13. KORPÁS, A., M. BARÁNEK, M. PIDRA and J. HRADLIK (2009): Behaviour of two SCAR markers for seedlessness within Central European varieties of grapevine. *Vitis*, 48 (1): 33–42.
14. LAHOUE, F., P. THIS and A. BOUQUET (1998): Identification of a codominant SCAR marker linked to the seedlessness character in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 97 (5-6): 950–959.
15. NYBOM, H., G. D. ESSELINK, G. WERLEMARK, L. LEUS and B. VOSMAN (2006): Unique genomic configuration revealed by microsatellite DNA in polyploid dogroses, *Rosa* sect. *Caninae*. *Journal of Evolutionary Biology*, 19 (2): 635–648.
16. NYBOM, H., G. D. ESSELINK, G. WERLEMARK and B. VOSMAN (2004): Microsatellite DNA marker inheritance indicates preferential pairing between two highly homologous genomes in polyploid and hemisexual dog-roses, *Rosa* L. sect. *Caninae* DC. *Heredity*, 92 (3): 139–150.
17. O'HANLON, P. C., R. PEAKALL and D. T. BRIESE (1999): Amplified fragment length polymorphism (AFLP) reveals introgression in weedy *Onopordum thistles*: hybridization and invasion. *Molecular Ecology*, 8 (8): 1239–1246.
18. POPEK, R. (1996): Biosystematyczne studia nad rodzajem *Rosa* L. In: Polsce i krajach ościennych. Wydawnictwo Naukowe WSP, Kraków.
19. POPEK, R. (2007): Dziko rosnące róże Europy. Officina Botanica. Kraków.
20. RITZ, C. M., H. SCHMUTHS and V. WISSEMAN (2005): Evolution by reticulation: European dogroses originated by multiple hybridization across the genus *Rosa*. *Journal of Heredity*, 96 (1): 4–14.
21. RITZ, C. M. and V. WISSEMAN (2003): Male-correlated non-matrocinal character inheritance in reciprocal hybrids of *Rosa* section *Caninae* (DC.) Ser. (*Rosaceae*). *Plant Systematics and Evolution*, 241 (3–4): 213–221.
22. ROYTCHEV, V. (1998): Inheritance of grape seedlessness in seeded and seedless hybrid combinations of grape cultivars with complex genealogy. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49 (3): 302–305.
23. SPIEGEL-ROY, P., Y. BARON and N. SAHAR (1990): Inheritance of seedlessness in seeded × seedless progeny of *Vitis vinifera* L. *Vitis*, 29: 79–83.

-
24. THIS, P., T. LACOMBE and M. R. THOMAS (2006): Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics*, 22 (9): 511–519.
 25. VOS, P., R. HOGERS, M. BLEEKER, M. REIJANS, T. VANDELEE, M. HORNES, A. FRIJTERS, J. POT, J. PELEMAN, M. KUIPER and M. ZABEAU (1995): AFLP – A new technique for DNA-fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23 (21): 4407–4414.
 26. WERLEMARK, G. (2000): Evidence of apomixis in hemisexual dogroses, *Rosa* section *Caninae*. *Sexual Plant Reproduction*, 12 (6): 353–359.
 27. WERLEMARK, G. and H. NYBOM (2001): Skewed distribution of morphological character scores and molecular markers in three interspecific crosses in *Rosa* section *Caninae*. *Hereditas*, 134 (1): 1–13.
 28. WERLEMARK, G., M. UGGLA and H. NYBOM (1999): Morphological and RAPD markers show a highly skewed distribution in a pair of reciprocal crosses between hemisexual dogrose species, *Rosa* sect. *Caninae*. *Theoretical and Applied Genetics*, 98 (3–4): 557–563.
 29. WISSEMAN, V. (2003): Conventional taxonomy of wild roses. In: A. ROBERTS, T. DEBENER and S. GUDIN (eds.), *Encyclopedia of Rose Science*. Elsevier, London, UK, pp. 111–117.
 30. WISSEMAN, V., M. RIEDEL and M. RIEDERER (2007): Matroclinal inheritance of cuticular waxes in reciprocal hybrids of *Rosa* species, sect. *Caninae* (*Rosaceae*). *Plant Systematics And Evolution*, 263 (3–4): 181–190.
 31. WISSEMAN, V. and C. M. RITZ (2007): Evolutionary patterns and processes in the genus *Rosa* (*Rosaceae*) and their implications for host-parasite co-evolution. *Plant Systematics And Evolution*, 266 (1–2): 79–89.
 32. XU, Q., X. WEN and X. DENG (2004): A simple protocol for isolating genomic DNA from chestnut rose (*Rosa roxburgii* Tratt) for RFLP and PCR analyses. *Plant Molecular Biology Reporter*, 22 (3): 301a–301g.