



Doktori (PhD) értekezés tézisei

**KÁRPÁT-MEDENCEI ALMAFAJTÁK JELLEMZÉSE POMOLÓGIAI
VIZSGÁLATOKKAL ÉS MIKROSZATELLIT ALAPÚ MOLEKULÁRIS
MARKEREZÉSSEL**

Király Ildikó

Témavezető: Dr. Tóth Magdolna, DSc
egyetemi tanár

Budapesti Corvinus Egyetem
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Budapest
2013

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

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

BEVEZETÉS

A világon a citrusfélék és a banán után a harmadik legnagyobb mennyiségben termesztett faj az alma. A világ almatermesztése azonban csak pár tucat fajtára alapul. Napjainkra a helyi és tájfajták üzemi termesztésben betöltött szerepe jelentéktelenné vált. A beszűkült fajtahasználat ökológiai katasztrófa (klímaváltozás, új kórokozó fajok megjelenése stb.) esetén veszélyezteti a termesztés biztonságát, illetve jövedelmezőségét.

A régi almafajták a biodiverzitás szempontjából hatalmas értékkel bírnak. Megtalálhatók közöttük jó ellenállóképességű, kiváló beltartalmi értékű vagy speciális fogyasztói igényeket kielégítő fajták is. A változatos gyümölcsfogyasztás érdekében bővíteni kell a piaci kínálatot. Ezt nemcsak a régi fajták termesztésbe vonásával érhetjük el, hanem szülőfajtaként is felhasználhatjuk azokat új fajták előállításához.

Az elmúlt évtizedben számos országban megindult a génbankok diverzitásának felmérése. Ezzel jól jellemezhető egy adott térség korábbi fajtahasználatának genetikai sokszínűsége, más térségek fajtaösszetételével való azonossága vagy különbözősége. A munka során feltárják a tételek között előforduló téves elnevezésből adódó fajtaazonosságokat, félredokumentálásokat. Ehhez szükség van az azonos vizsgálati módszerekre, amelyek ECPGR általi kidolgozása folyamatban van.

Célszerű a fenológiai és a morfológiai leírások mellett a genotípus vizsgálata is. A fajták genetikai ujjlenyomatának meghatározása nemcsak a génbanki tételek azonosítása érdekében fontos, hanem a gyakorlatban, a faiskolai szaporítóanyagok fajtaazonosságának ellenőrzésére is felhasználhatjuk ezeket az adatokat. A fajtákra jellemző allélösszetétel ismerete lehetőséget nyújt a származásuk ellenőrzésére is. Jól kiválasztott genetikai markerekkel felmérhetjük a rezisztencia tulajdonságaikat, termékenyülési sajátosságaikat, növekedési és termésjellemzőiket is.

A génbankokban végzett diverzitásvizsgálatok lehetőséget adnak fajták azonosítására, és a pomológia vitatott kérdéseinek megválaszolására pl. a szinonim fajtanevek felülvizsgálatára, a fajtacsoportok elemzésére. A genetikai vizsgálatoknak szerepe van a filogenetikai kutatásokban is. Egy adott térségben keletkezett, illetve elterjedt fajtaválaszték elemzésével választ kaphatunk a pedigrére és esetleg – nagy mintaszám esetén – a származásra is.

Kutatásaink eredményeivel a génbanki vizsgálatokat és a fajták tulajdonságainak jobb megismerését kívánjuk elősegíteni, amely információk a kutatók és termesztők számára is hasznosak lehetnek.

CÉLKITŰZÉS

A PhD kutatásban kárpát-medencei származású, valamint külföldi származású, de a Kárpát-medencében elterjedt, régi almafajtákat vizsgáltuk a fajták jellemzése és a rokonsági viszonyaik felmérése érdekében. A dolgozat célja a régi almafajták fenológiai, morfológiai és genetikai sajátosságainak megfigyelése és értékelése az alábbi vizsgálatokon keresztül:

- Virágzásfenológiai sajátosságok megfigyelése és a fajták virágzási időcsoportokba sorolása.
- A génbanki gyűjtemény jellemzése és diverzitásának felmérése morfológiai és molekuláris markerek segítségével:
 - számkulcsos jellemzés elkészítése az UPOV irányelvei szerinti morfológiai és biológiai tulajdonságok alapján,
 - genetikai ujjlenyomat elkészítése 12 SSR marker használatával,
 - a vizsgált gyűjtemény diverzitásának felmérése,
 - a fajtacsoportokon belüli variabilitás értékelése, a fajtaváltozatok elkülönítése.
- A fenotípus és genotípus vizsgálatok eredményei közötti korreláció vizsgálata.
- A nemesítő által közölt szülő–utód kapcsolatok ellenőrzése SSR markerekkel.
- A hagyományos és molekuláris módszerek – különös tekintettel a fajtaazonosításra és a szinonimák azonosítására – használhatóságának értékelése a génbanki állomány kezelésében.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Vizsgálatba vont fajták

A kontroll fajtákat nem számítva a fenológiai megfigyelésekbe 57, az UPOV morfológiai jellemzéshez 60, míg a molekuláris vizsgálatokba 73 különböző, a Kárpát-medencében fellelhető régi almafajtát/genotípust vontunk be. A vizsgálatainkba az Angol Nemzeti Fajtagyűjteményből visszahozott, továbbá Kárpátalján, Erdélyben, az Aggteleki Nemzeti Park és a Mecsek területén szórványgyümölcsösökből gyűjtött, magyar tájfajtákat és változatokat vontuk be a fajtaazonosítás és jellemezés miatt. Pedigré vizsgálatot a 'Fertődi téli' és a 'Budai Domokos' fajtákon végeztük.

A vizsgálatok helyszíne

A vizsgálatok alapját képező génbanki és fajtagyűjtemények a BCE Gyümölcstermő Növények Tanszék soroksári kísérleti telepén található. Az ültetvényt 2001-ben telepítették, MM 106-os alanyon szabadorsó koronaformát kialakítva. Az ültetvény egy részében (első 10 sorban) 5 x 2,5 m térállásban, összesen négy fa/fajta található, 2 x 2-es blokkokban, két szomszédos sorban egymás mellett elhelyezve. Az ültetvény kisebbik részén (11–13. sor) 3,5 x 1,2 m térállásban, fajtánként 3 fa található, egy soron belül blokkosítva. A meteorológiai adatok a Soroksári Kísérleti Üzemben elhelyezett mérőállomás online adatbázisából származnak. A markeranalízist a Budapesti Corvinus Egyetem Gyümölcstermő Növények Tanszék molekuláris biológiai laboratóriumában végeztük.

Fenotípus vizsgálatok

Fenológiai megfigyelések

A virágzásfenológiai megfigyeléseket 2007–2011-ben végeztük. Virágzás idején kétnaponta végeztünk felméréseket a fajtagyűjteményben. Szubjektív megfigyeléssel meghatároztuk a virágzás kezdetét (az UPOV irányelveinek megfelelően), valamint a fővirágzás és a virágzás vége időpontokat.

A megfigyelt Gergely naptári napokat január 1-től számítva átalakítottuk Julián nappá, és a több éves adatok rangszámátlaga alapján állítottuk fel a virágzási sorrendet a fajták között. A rangszámátlag szerint sorba rendezett fajtákat a kontroll fajták relatív virágzási ideje alapján soroltuk virágzási időcsoportokba. Öt virágzási időcsoportba soroltuk a fajtákat mind a virágzás kezdete, mind pedig a fővirágzás alapján: nagyon korai, korai, közepes, kései, nagyon kései virágzású.

A fenológiához kapcsolódó gyümölcstulajdonság a szedési és a fogyasztási érettség időpontja. Az UPOV (2005) irányelveinek megfelelően a szedési érettség esetében öt, a fogyasztási érettség esetében pedig kilenc kifejeződési fokozatba soroltuk a fajtákat a nagyon koraitól a nagyon késői érésű kategóriáig.

Morfológiai megfigyelések

A morfológiai leírást az UPOV TG/14/9 szempontjai alapján végeztük. Összesen 53 morfológiai tulajdonságot figyeltünk meg a nyugalmi és a vegetációs periódusban (1.táblázat). Megfigyelési adatokat rögzítettünk lomb nélküli állapotban, virágzáskor, intenzív hajtásnövekedés végén és gyümölcséréskor. A szubjektív megfigyelések mellett mért adatokkal is dolgoztuk, amely során fajtánként 20–20 db virágot, levelet, gyümölcsöt vizsgáltunk. A vizsgálatokhoz a mintákat véletlenszerűen gyűjtöttük 3 vagy 4 fáról, virágzatonként, illetve hajtásonként legfeljebb 1 mintát gyűjtve. A vizsgálatokat 2007 és 2011 között végeztük, minden fajta esetében legalább két évben végeztünk megfigyeléseket. A megfigyelt és a mért többéves adatok alapján alakítottuk ki a fajták végleges számkulcsos besorolását. Fontos, hogy a többéves kifejeződési fokozatokat ne átlagoljuk, hanem minden évben külön-külön végezzük el a kategóriába sorolást, így a leggyakrabban előforduló kifejeződési fokozatot tekintjük a fajtára jellemzőnek.

1. táblázat. A különböző növényi részekben megfigyelt és mért tulajdonságok száma

Megfigyelt tulajdonságok	Tulajdonságok száma		
	mért	megfigyelt	összesen
I. Morfológiai jellemzés			
- fa, vessző		9	9
- levél	3	6	9
- virág	1	3	4
- gyümölcs	2	29	31
II. Fenológiai megfigyelés		3	3
Összesen			56

Markeranalízis SSR markerekkel

A mintavételezés során fiatal, 1–2 cm hosszú, még összesodrott leveleket gyűjtöttünk tavasszal, kora nyáron. A genomi DNS-t a friss vagy fagyasztott fiatal levelekből DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) használatával vontuk ki.

A DNS-szakaszok felszaporítása Applied Biosystems Thermal Cycler 2720 típusú PCR készülékben történt DreamTaq™ Green PCR Master Mix (2X) kit (Fermentas) használatával. A genotípus jellemzését 12, nagy polimorfizmust mutató SSR markerrel (CH01f02*, CH01h01*, CH02c02a, CH02c09*, CH03g07, CH04e03, CH05d11, CH05e03, CH02c11*, CH02d08*, CH03a02 és CH05c04 (Gianfranceschi et al. 1998, Liebhard et al. 2002)

végeztük. A felhasznált primerek közül öt (*-gal jelölve) megtalálható az ECPGR által fajtaazonosításra javasolt markerkörben. Az amplifikálás körülményeit Galli et al. (2005) által javasolt program (94°C 2'; 94°C 20'', 56°C 30'', 72°C 1', 35x; 72°C 5') szerint állítottuk be.

A fluoreszcens festékekkel (JOE; FAM) jelölt PCR-termékből a különböző fragmentumok detektálását ABI Prism 3100 Genetic Analyzer szekvenáló készülékkel a Biomi Kft. (Gödöllő) készítette. A fragmentumok hosszúságának meghatározása, eredmények kiértékelése Genographer 1.6 software segítségével készült.

Statisztikai elemzés

A morfológiai adatok statisztikai kiértékelése

Az UPOV számkulcsos jellemzése lehetőséget ad arra, hogy statisztikai elemzést végezzünk az adatsorral. Az egyes tulajdonságokon belüli kifejeződési fokozatok százalékban megadott gyakoriságát a PASW 18.0 statisztikai programcsomaggal elemeztük.

Az UPOV akkor tekint két fajtát különbözőnek, ha legalább egy tulajdonságban világos eltérést mutatnak. Mégpedig úgy, hogy a kvalitatív (QL) és pszeudo-kvalitatív (PQ) tulajdonságoknál egy fokozat eltérés, míg a kvantitatív (QN) tulajdonságoknál két fokozat eltérés jelenti az egyértelmű különbséget.

A statisztikai kiértékelés során a fajták számkódos jellemzéséből kiindulva Excelben egy mátrixot készítettünk, amelynél figyelembe vettük a tulajdonságok fent bemutatott jellegét. A fajták páronkénti összehasonlításakor 0 értéket kapott az a kifejeződési fokozat, ahol nem volt egy (QL és PQ), ill. két (QN) fokozat eltérés, és 1 értéket kapott, ahol ez az eltérés teljesült. Ezután a 0–1 kódolás értékeit fajtánként összeadtuk, és így kaptuk meg a hasonlósági mátrixot, amit a további statisztikai elemzésekhez használtunk fel.

A hierarchikus klaszteranalízist, ill. a dendrogramot Ward-féle módszerrel, a fent bemutatott mátrix alapján az R-programban készítettük el.

Az SSR fragmentumhosszok statisztikai kiértékelése

A lókuszok jellemzését (allélok száma; allélgyakoriság; várt és megfigyelt heterozigótaság; null allélok, ill. az azonos genotípus előfordulásának valószínűsége) az Identity 1.0 programmal készítettük el kizárólag a diploid fajták adatai alapján, mert ez a program a triploidokat nem tudja kezelni.

A hierarchikus klaszteranalízishez a fragmentumokat tartalmazó adatsort bináris formába alakítottuk át, tehát minden egyes fragmentum jelenlétét 1, míg hiányát 0 jelzi. A

bináris adatokból a Jaccard-indexen alapuló genetikai távolság mátrix alapján dendrogramot szerkesztettünk a PAST program segítségével.

A morfológiai és molekuláris eredmények közti összefüggés vizsgálatát Mantel-teszttel végeztük a PASSaGE v2 programmal. Ehhez a korábban ismertetett UPOV adatokon alapuló, és a bináris SSR adatok Jaccard-indexén alapuló genetikai távolság mátrixokat használtuk fel.

EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

Fenológiai jellemzők

Virágzási idő

2007. április elején a léghőmérséklet egyenletesen emelkedett, majd a hónap közepén bekövetkezett lehülés és az azt követő lassú felmelegedés miatt a gyűjteményben a virágzás 20 napig (ápr. 10-30.) tartott. 2008-ban a gyors kivirágzást elhúzódó, lassú elvirágzás követett, amely a virágzás kezdetén és egy hét múlva, a fővirágzás idején bekövetkezett enyhe (kb. 5 °C) lehüléseknek tudható be. Az öt vizsgálati év közül ebben az évben tapasztaltuk a leghosszabb, 26 napos virágzástartamot (ápr. 14–máj. 10.) a fajtagyűjteményben. 2009-ben a tartósan 10 °C feletti napi középhőmérséklet gyors virágzást (ápr. 14–28.) eredményezett. 2010. április első két dekádjában a korábbi évek adott időszakához képest 2–3 °C-kal alacsonyabb hőmérsékletet mértek, amelynek következtében a virágzás átlagosan 7–8 nappal később (ápr. 21–máj. 5.) kezdődött, mint az előző három évben. Hasonlót tapasztaltunk 2011-ben is: az április 13–15. közötti jelentős hőmérséklet csökkenés miatt 5–6 nappal később kezdődött, viszont gyorsan lezajlott a virágzás (ápr. 18–máj. 3.).

Soltész (1982) megfigyelései szerint a rügymutációval keletkezett fajták virágzásának kezdete között csak 1–2 nap eltérés van, amit mi is tapasztaltunk a Batul fajtacsoportba tartozó fajták esetében. A virágzási időtartam szempontjából említést érdemel az elhúzódó virágzású 'Zöld batul' és 'Beregi sóvári' 2. genotípusa, amelyeknél igen hosszú (10–15 nap) virágzási időtartamot tapasztaltunk, míg a gyűjteményben a virágzás átlagosan 7–8 napig tartott.

A fajtatársításhoz indokolt a virágzási időcsoport megadása. Az ötéves felmérések alapján – a Bodor et al. (2008) által ajánlott referenciafajták figyelembevételével – öt virágzási időcsoportba soroltuk a fajtákat (2. táblázat).

2. táblázat. A virágzás kezdete és a fővirágzás alapján kialakított virágzási időcsoportok (Soroksár, 2007–2011)

Virágzás kezdete alapján	Fajta	Fővirágzás alapján	Fajta
igen korai	Orbai alma Jászvadóka	igen korai	Orbai alma Jászvadóka
korai	<i>Reglindis</i> Lóci édes almája Fekete tányéralma Édes esocar Kanadai renet 3 Dániel féle renet Hosszúfalusi	korai	<i>Reglindis</i> Lóci édes almája Fekete tányéralma Édes esocar
középidéjű	Bánffy Pál Tordai alma <i>Florina</i> Széchenyi renet Ízletes zöld Cserepánya Kanadai renet 1 Királyi renet Beregi sóvári 2 Sárga szépvirágú Baumann renet Kanadai renet 2 Nemes szercsika Ontario Szabadkai szercsika Lóci cirnos alma Entz Rozmaring Gyógyi piros Mosolygós batul Szászpap alma Máté Dénes Batul 2 Nemes sóvári Börkormos renet Cigány alma Herceg Batthyány Vajki alma Batul 3 Sikulai Kisasszony	középidéjű	Kanadai renet 3 Dániel féle renet Hosszúfalusi Bánffy Pál Tordai alma <i>Florina</i> Széchenyi renet Ízletes zöld Cserepánya Kanadai renet 1 Királyi renet Beregi sóvári 2 Sárga szépvirágú Baumann renet Kanadai renet 2 Nemes szercsika Ontario Szabadkai szercsika Lóci cirnos alma Entz Rozmaring Gyógyi piros Mosolygós batul Szászpap alma Máté Dénes Batul 2 Nemes sóvári Börkormos renet Cigány alma Herceg Batthyány Vajki alma Batul 3 Beregi sóvári 1 Batul 1 Simonffy piros Csíkos óriás halasi Sándor cár Gegesi piros Tükör alma
kései	<i>Rewena</i> Beregi sóvári 1 Batul 1 Simonffy piros Csíkos óriás halasi Sándor cár Tordai piros kálvil Budai Domokos Gegesi piros Masánszki Londoni pepin Tartós Gusztáv Vilmos renet Tükör alma Gomba Károly	kései	Sikulai Kisasszony <i>Rewena</i> Tordai piros kálvil Budai Domokos Masánszki Londoni pepin Tartós Gusztáv Vilmos renet Gomba Károly Daru sóvári
igen kései	Daru sóvári Marosszéki piros Harang alma Sóvári nobil Budai Ignác Zöld batul	igen kései	Marosszéki piros Harang alma Sóvári nobil Budai Ignác Zöld batul

Feltüntettük a virágzás kezdete és fővirágzás szerinti sorrendet is, mert a különböző szakirodalmak nem egységesek abban a tekintetben, hogy a két jellemző közül melyiket javasolják figyelembe venni a fajtatársításnál. A 60 fajtán végzett megfigyeléseink alapján elmondható, hogy az igen korai és az igen kései virágzású fajták mind a virágzás kezdete, mind pedig a fővirágzás alapján azonos csoportba sorolhatók, míg jelentős eltérés figyelhető meg a közepes és a kései virágzású fajtáknál. 5 éves vizsgálatainkban a fajták stabilitását nem tudjuk pontosan megadni, de annyit meg tudtunk állapítani, hogy az igen korai, korai és az igen kései virágzású fajták stabil virágzási idejűnek tekinthetők, viszont a középidéjű és a kései virágzású fajták többségénél további vizsgálati évek szükségesek a pontos csoportba soroláshoz.

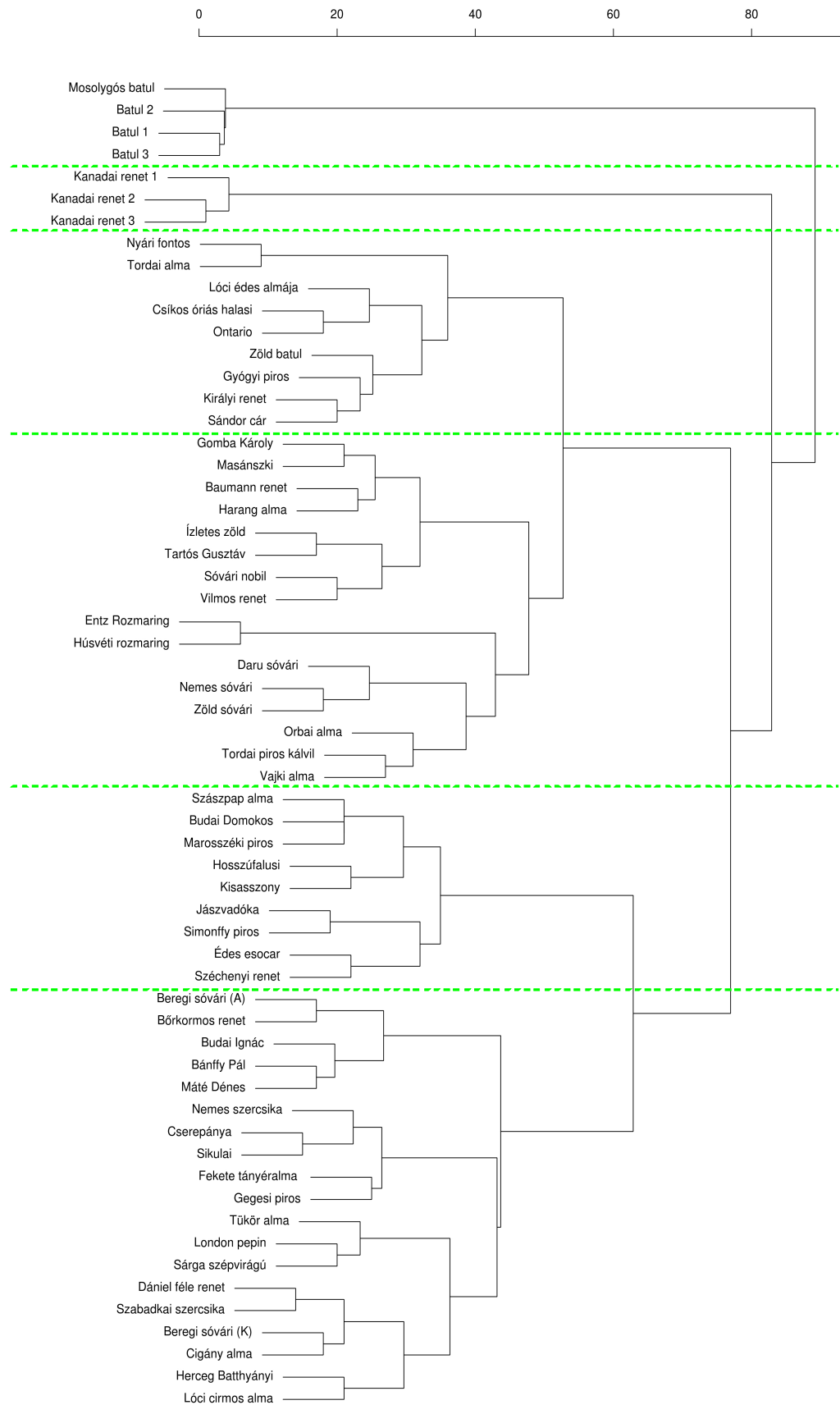
A legtöbb vizsgált fajta közepes vagy kései virágzási csoportba került. Igen korai virágzásúnak csak az 'Orbai alma' és a 'Jászvadóka' bizonyult. A gyűjteményünk legkésőbb virágzó fajtái minden évben az igen kései virágzási időcsoportba sorolt 'Daru sóvári', 'Marosszéki piros', 'Harang alma', 'Sóvári nobil', 'Budai Ignác' és 'Zöld batul'. Eddigi megfigyeléseink alapján az igen korai, korai és az igen kései virágzású fajták stabil virágzási idejűnek tekinthetők, viszont a középidéjű és a kései virágzású fajták többségénél további vizsgálati évek szükségesek.

A fajták virágzási idejének jellemzőit csak több év vizsgálata alapján tisztázhatjuk megnyugtatóan, ezért az eredményeink alapján ismertetett virágzási időcsoportokat csak tájékoztató jellegűnek kell tekinteni.

A fajták jellemzése a számkulcsos besorolásuk szerint

Elkészítettük 60 fajta UPOV TG/14/9 irányelveiben meghatározott 56 tulajdonság szerinti teljes számkulcsos jellemzését. A hasonlósági mátrix alapján R-programban ward módszerrel készítettük el a hierarchikus klaszteranalízist, amely alapján készített dendrogramot az 1. ábrán mutatjuk be. A dendrogramon jól látszik a hat csoport. Egy-egy külön főklasztert alkot a Batul fajtacsoport, ill. a 'Kanadai renet' genotípusok.

Az első főklaszterbe – a 'Zöld batul' kivételével – a Batul fajtacsoport fajtái kerültek. A 'Zöld batul' egy teljesen másik főklaszterbe került, távol a többi vizsgált 'Batul' genotípustól. A második főklasztert a 'Kanadai renet' egyedek alkotják. A másik négy főklaszterbe került fajták között nem fedezhetők fel fajtacsoportok.



1. ábra. A fajták rokonsági viszonyai a fenotípusos UPOV számkulcsokból készített hasonlósági mátrix alapján (A=angliai, K=kárpátaljai).

Renet fajtákat mind a négy csoportban megtalálhatunk. A Sóvári fajtacsoport három fajtája ('Nemes sóvári', 'Zöld sóvári', 'Daru sóvári') egy kisebb klasztert alkot. Ugyanabban a főklaszterbe, de tőlük kicsit távolabb, külön alkaszterbe került a 'Sóvári nobil'. Az azonos fajtaként ismert 'Nemes sóvári' és a vizsgálatban szereplő 'Sóvári nobil' külön csoportba került, tehát nem nevezhetjük szinonimának. A 'Beregi sóvári' genotípusokat a többi Sóvárihoz képest teljesen külön főklaszterben találjuk. A két 'Beregi sóvári' genotípus (angliai és kárpátaljai) a számkulcsos jellemzés alapján nem mutat hasonlóságot, így két külön fajtáról lehet szó.

Közeli rokonságot fedezhetünk fel a 'Nyári fontos' és a 'Tordai alma', illetve az 'Entz rozmaring' és a 'Húsvéti rozmaring' fajták között. A gyakran szinonimaként ismert 'Cigány alma' és 'Simonffy piros' fajták viszont két külön klaszterbe kerültek. A számkulcsos jellemzés is azt mutatja, hogy a tulajdonságok közel 50 %-ában tapasztalható eltérést a két fajta között.

Érdekes viszont, hogy a megfigyeléseink szerint parthenokarpiára nagymértékben hajlamos fajták ('Orbai alma', 'Tordai piros kálvil', 'Vajki alma') közös klasztert alkotnak a morfológia alapján készített dendrogramon, bár a fajták közti távolság nagy.

A vizsgált fajták között nemcsak a Kárpát-medencében keletkezett, hanem hazánkban elterjedt, de vélhetően vagy biztosan nem magyar származású fajták is voltak pl. 'Kanadai renet', 'Ontario', 'Tartós Gusztáv', 'Londoni pepin', 'Sárga szépvirágú'. Az 1. ábrán bemutatott, morfológián alapuló dendrogramon az endemikus fajták nem különülnek el élesen a külföldi származású fajtáktól, a 'Kanadai renet' kivételével, mely külön csoportot alkot. A vizsgálatba vont fajták származására nézve kevés az információ, kb. a 3/4-ükről tudjuk biztosan, vagy sejtjük a keletkezés helyét. A Kárpát-medence egész területéről származnak, de a legtöbb fajta erdélyi. Csak néhány fajta származik Kárpátalja (pl. Sóvári fajták, 'Vajki alma'), Délvidék (pl. 'Szabadkai szercsika'), Alföld (pl. 'Jászvadóka', 'Simonffy piros', 'Harang alma') vagy a Dunántúl ('Herceg Battyhány') területéről. A dendrogram nem tükrözi a tájegységeket sem, így a morfológiai hasonlóság nem fedti a származásra vonatkozó ismereteket.

A dendrogramon (1. ábra) az is jól látható, hogy a 'Batul' és 'Kanadai renet' genotípusok kivételével nem tudunk egyértelmű fajtacsoportokat elkülöníteni. Az egyes alcsoportokba sorolt fajták közötti távolság nagy, ami a vizsgált gyűjtemény nagy biodiverzitását mutatja.

Mikroszatellit markerezés eredménye

SSR polimorfizmus

A 73 vizsgált almafajtánál mindegyik felhasznált SSR primerpárral felszaporítottunk mikroszatellit régiókat. Az SSR adatokat az Identity 1.0 programmal értékeltük ki, kizárólag a diploid fajták (55) adatai alapján, mert ez a program a triploidokat nem tudja kezelni.

Az 55 diploid fajtánál 12 primerpárral összesen 160 polimorf fragmentumot amplifikáltunk. Vizsgálatainkban a 12 SSR lókuszban kapott átlagos allélszám 13,33 volt, ami hasonló számos kutató (pl. Wichmann et al. 2007, Pereira-Lorenzo et al. 2007) génbankokban megtalálható fajták variabilitásának vizsgálatakor kapott adataihoz. Számos kutató (Guilford et al. 1997, Liebhard et al. 2002) jóval kisebb átlagos allélszámot (4–6) mutattak ki, ami annak köszönhető, hogy kevesebb, főként modern árufajtával dolgoztak, ami felhívja a figyelmet a tájfajták szerepére a genetikai variabilitás megőrzése, illetve szélesítése érdekében.

Vizsgálatainkban a CH02c02a marker eredményezte a legnagyobb allélszámot (19), amely marker más kutatóknál (Urbanovich és Kazlovskaya 2009, van Treuren et al. 2010) is kiemelkedő számú allélt adott. A legkevesebb allélt a CH02c09 marker adta, ami szintén egybevág más kutatók eredményeivel (Guarino et al. 2006). Guarino et al. (2006) és Garkava-Gustavsson et al. (2008) szerint a CH02c11, valamint Farrokhi et al. (2011) szerint a CH05e03 és CH05d11 kétlókuszos, de ezt számos kutató (pl. Liebhard et al. 2002, Gasi et al. 2010) és az általunk végzett mérések nem támasztják alá.

A várt heterozigótaság (H_e) 0,77 (CH04e03) és 0,91 (CH02c02a) között alakult (átlag: 0,85), ami hasonló Rouston et al. (2009) és Sikorskaite et al. (2012) által közölt eredményekhez. Vizsgálatainkban a megfigyelt heterozigótaság (H_o) 0,63 és 0,98 között mozgott (átlag: 0,83), ami hasonló Sikorskaite et al. (2012) és Pereira-Lorenzo et al. (2007) eredményeihez, és nagyobb, mint a Guilford et al. (1998) és Bassil et al. (2009) által közölt adatok.

Minden mikroszatellit lókusz esetén megfigyelhető 1–3 allél, amely jóval nagyobb gyakorisággal fordul elő, mint az adott lókusz többi allélja. Az allélgyakoriság alapján 49 darab (31 %) ritka (allélgyakoriság 0,05–0,01), és 37 darab (23 %) egyedi allélt találtunk az összesen 160 allél között. Ezek az értékek hasonlóak a szakirodalomban megtalálhatókhöz (Gasi et al. 2010, Potts et al. 2012). A markeranalízis során tapasztalt ritka és egyedi allélok nagy száma, és a fajták dendrogramon látható nagy távolsága (2. ábra) alátámasztják, hogy a régi fajták óriási értékkel bírnak a genetikai diverzitás szempontjából. Számos kutató felhívja a figyelmet, hogy a fajtahasználat beszűkülése a termesztésben ökológiai katasztrófákhoz

vezethet. Ennek megakadályozására a régi fajtákat, mint génforrásokat, fel kellene használni (Kellerhals et al. 2012, Tóth et al. 2013).

A kutatásban használt primerek nagyszámú (10–19) allélt és nagy heterozigótasági értéket eredményeztek, ezért alkalmasnak találjuk azokat a fajtagyűjtemények genetikai variabilitásának felmérésére.

Fajtaazonosítás és a fajtacsoportok értékelése az alléllösszetétel és klaszteranalízis alapján

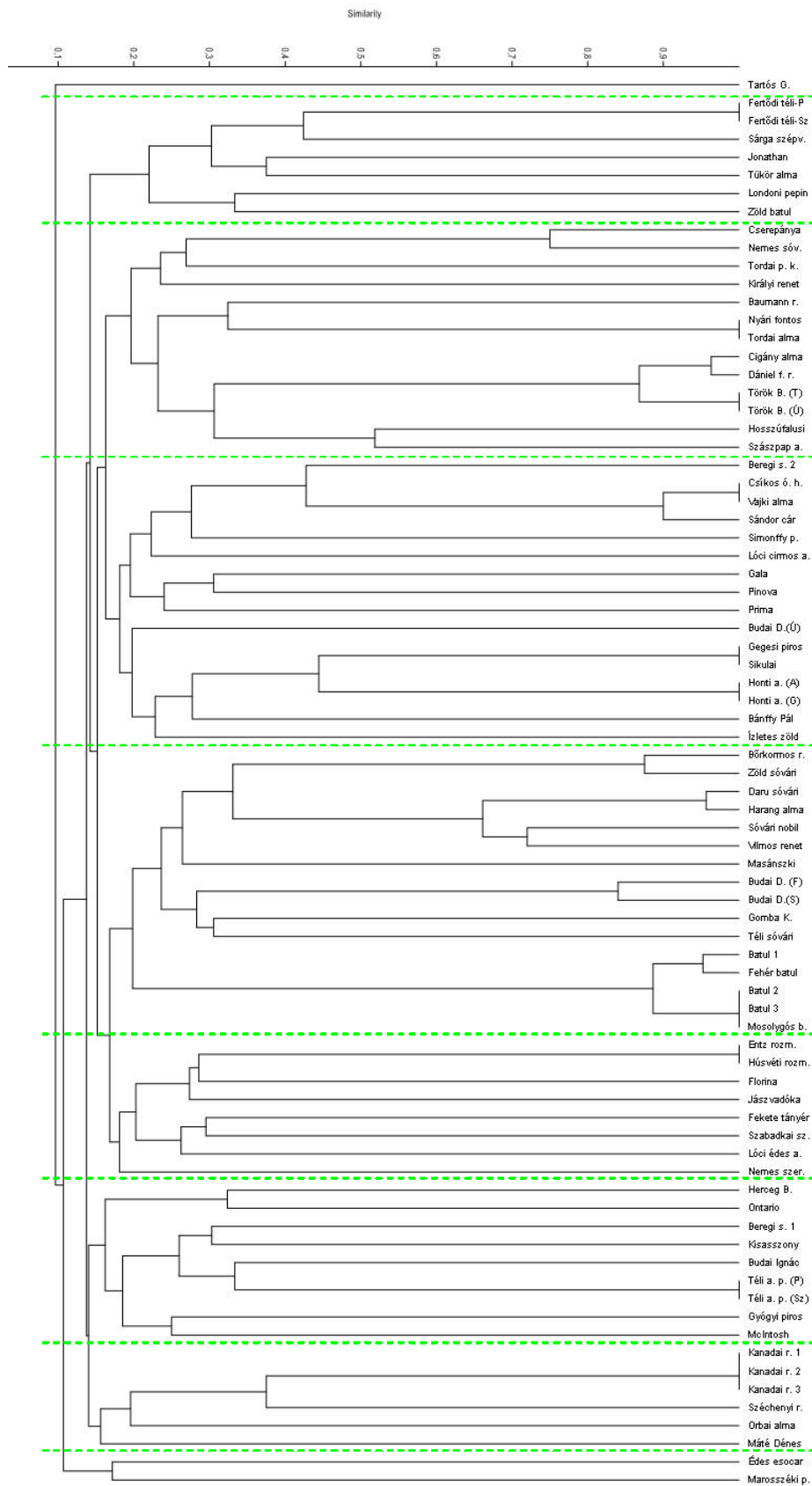
A vizsgálat során 78 (ebből öt kontroll) alma genotípus mikroszatellit ujjlenyomatát határoztuk meg, melyek között 47 régi kárpát-medencei származású, 7 ismeretlen, de vélhetően magyar származású, 16 régi a Kárpát-medencében elterjedt, de külföldi, 5 nemzetközi kontroll, valamint 3 bizonytalan (magyar vagy külföldi) származású fajta, illetve genotípus szerepelt. Néhány fajtából több genotípust is vizsgáltunk a fajtaazonosság, a számos változat vagy a vitatott származás miatt.

A 78 vizsgált genotípusból 55 diploid, és valószínűleg 17 fajta triploid (29 %), és három fajta ('Vajki alma', 'Cserepánya' és 'Csíkos óriás halasi') pedig tetraploid az alléllösszetétele alapján, ami hasonló más fajtagyűjteményekben végzett vizsgálatok eredményéhez (Pereira-Lorenzo et al. 2007: 28 %, Gasi et al. 2010: 21 %).

Összesen 68 különböző genetikai profilt kaptunk. A 'Kanadai renet' három mintája, a 'Téli arany parmen', 'Honti alma', 'Fertődi téli', valamint a 'Török Bálint' fajták két különböző termőhelyről származó mintái 100 %-os allélegyezést mutattak, így ezek a minták fajtaazonosnak tekinthetők. 100 %-ban azonos genetikai ujjlenyomatot kaptunk a 'Nyári fontos' és 'Tordai alma', a 'Húsvéti rozmaring' és 'Entz rozmaring', valamint a 'Batul' 2. és 3. genotípusa és a 'Mosolygós batul' mintáknál.

A markeranalízis során kapott fragmentumhosszokból a Jaccard-indexen alapuló genetikai távolság mátrix alapján készített dendrogramon (2. ábra) kilenc nagy csoportot figyelhetünk meg. A morfológiai adatok alapján készített dendrogramhoz hasonlóan az egyes főklaszterekbe került fajták között nem tapasztaltunk származásbeli azonosságokat.

Laurens et al. (2004) és Potts et al. (2012) SSR vizsgálati eredményeihez hasonlóan a fajták földrajzi származása és a kapott klaszterek között nem találtunk összefüggést, mind a külföldi régi és a modern fajták, mind a Kárpát-medencében keletkezett fajták vegyes eloszlást mutatnak. Gasi et al. (2010) munkájukban a molekuláris adatok alapján a nemzetközi fajták jól elkülönültek a hagyományos fajtáktól, viszont a morfológiai adatok alapján ez nem jelenthető ki egyértelműen. Érdekes viszont, hogy a 'Tartós Gusztáv', valamint az 'Édes escoar' és a 'Marosszéki piros' egy-egy külön főklasztert képeznek.



2. ábra. A fajták rokonsági viszonyai az SSR fragmentumok Jaccard-indexén alapuló genetikai távolság mátrix alapján.

Az SSR adatok kielemezésekor felfigyeltünk két meglepő egyezőségre. A ‘Gegesi piros’ és ‘Sikulai’, valamint a ‘Csíkos óriás halasi’ és ‘Vajki alma’ párosok az összes lókuszon 100 %-os egyezést mutattak. Ezt az egyezést viszont a morfológiai vizsgálatok nem támasztották alá. Halász et al. (2011) a tetraploid ‘Vajki alma’ esetében megállapítja, hogy a duplikáción átesett genomok (poliploid fajták) instabilak. A ‘Cserepánya’ és a ‘Csíkos óriás halasi’ a flow citométeres mérés szerint szintén tetraploidnak bizonyultak (Nagyistván 2012).

A mikroszatellit ujjlenyomatok a genotípusok nagy genetikai diverzitását mutatják. A dendrogramon is jól látható, hogy az azonos fajtákon, és a ‘Batul’ fajtákon kívül az összes fajta távol helyezkedik el egymástól. Csak néhány esetben találtunk 80 %-nál nagyobb egyezést. A felhasznált alma mikroszatellit primerek – a rügymutációval keletkezett fajták kivételével – minden esetben alkalmasnak bizonyultak a vizsgált fajták egyedi DNS-profiljának felállításához, mindazonáltal érdekes egyezésekre is felhívták a figyelmet.

SSR-en alapuló szülőazonosítás

A régi fajták származására vonatkozóan nagyon kevés információ található a szakirodalomban, ami főként abból adódik, hogy ezek a régi fajták gyakran magról keletkeztek, nem irányított keresztezésekből.

A ‘Fertődi téli’ fajtát a nemesítő, id. Porpáczy Aladár a ‘Jonathan’ × ‘Török Bálint’ keresztezésével állította elő. A vizsgálataink alapján a ‘Jonathan’ valóban lehetséges szülő (allélegyezőség mértéke: 100 %), viszont a ‘Török Bálint’ nem lehet szülőfajta. A két termőhelyről begyűjtött és tesztelt ‘Török Bálint’ és ‘Fertődi téli’ minták egyezése kizárja a fajtakeveredés lehetőségét. A ‘Fertődi téli’ fajtát eredményező magonc vagy szabadmegporzásból származik, vagy a polleneket felcserélték a keresztezés során, tehát a jövőben az apai fajtát ismeretlenként kell kezelni.

A ‘Budai Domokos’ fajta a ‘Téli arany parmen’ × ‘Jászvadóka’ keresztezésből származik (Angyal 1926). A soroksári gyűjteményünkben megtalálható ‘Budai Domokos’ mintáját használva azt tapasztaltuk, hogy a nemesítő által megadott anya és apa sem lehet a szülő, mert az allélegyezés mértéke 41, ill. 16 % volt. A ‘Téli arany parmen’ pölöskei mintájának SSR ujjlenyomata 100%-ban azonosnak mutatkozott a korábban használt mintáéval, így fajtaazonosnak tekintettük. A ‘Jászvadóka’-ból sajnos nem sikerült másik mintát szerezni, így ennek fajtaazonosságát nem tudtuk ellenőrizni, de a szakirodalmi leírás (Bereczki 1882) alapján vélhetően fajtaazonos. A szülők fajtakeveredéséből származó hibát a

‘Téli arany parmen’ esetében kizártuk, és ugyanez feltételezhető a ‘Jászvadóka’-nál is, így a továbbiakban szükségessé vált a ‘Budai Domokos’ fajtaazonosságának ellenőrzése.

Az Újfehértói Génbankban megtalálható ‘Budai Domokos’ minta a gyümölcsmorfológia és az SSR ujjlenyomatuk alapján nem tekinthető azonosnak. Az újfehértói ‘Budai Domokos’ minta allélegeyezőségének mértéke a feltételezett szülőkkkel 75 %, ill. 25 %, így a nemesítő által közölt származást ismét nem tudtuk bizonyítani.

Fajtacsoportok, szinonimák, fajtaazonosság a morfológiai és a molekuláris vizsgálatok alapján

A fajtacsoportok értékelését, a szinonimák azonosítását a morfológiai és a molekuláris vizsgálatok eredményeinek együttes figyelembevételével végeztük el, mert reális képet és a fajták rokonsági viszonyainak kérdésére egyértelmű válaszokat nagyobb biztonsággal kaphatunk a két módszer alapján.

A vizsgált fajták nagy genetikai variabilitására mutat rá mindkét dendrogram (1-2. ábra), mert a rügymutációval keletkezett fajták, ill. fajtacsoportok kivételével nem találtunk egymáshoz közel elhelyezkedő fajtákat, hanem mind a molekuláris, mind a morfológiai hasonlósági indexek igen nagy távolságot mutattak. A nagyobb klasztereken belül nem találtunk összefüggést a fajták között, Bassil et al.-hoz (2009) hasonlóan a kisebb klaszterekben mégis sikerült fajtacsoportok kialakítása.

Fajtacsoportok rokonsági viszonyai

Batul fajtacsoport

A dendrogramon egy külön főklasztert alkot a Batul fajtacsoport. A morfológiai és a molekuláris adatokon alapuló dendrogramok (1-2. ábra) egyik kisebb klaszterét a ‘Batul’ genotípusok adják, a ‘Zöld batul’ kivételével. Az eredmények alapján nem tudtuk elkülöníteni a ‘Batul’ és a ‘Mosolygós batul’ fajtákat. Számos szakirodalom felhívja a figyelmet a Batul fajtacsoportba tartozó fajták hasonlóságára és elkülönítésük nehézségeire. Nagy-Tóth (1998), Bereczki (1899) és Bordeianu et al. (1964) szerint is ‘Mosolygós batul’ több tulajdonságában a ‘Batul’ fajtához hasonlít, annak magonca lehet.

A ‘Zöld batul’ a morfológiai és a molekuláris vizsgálatokban is egy teljesen másik főklaszterbe került, távol a többi vizsgált ‘Batul’ genotípustól. A két vizsgálati módszer eredményei és az eltérő virágzási idő alapján a ‘Zöld batul’ nem mutat közvetlen rokonságot a ‘Batul’ fajtával, hanem bizonyára az alapfajta távoli leszármazottja lehet, s ezért a jövőben ezt a fajtát külön fajtaként kell nyilvántartani.

Renet fajtacsoport

A fenotípusos tulajdonságok és a genetikai ujjlenyomatuk alapján a fajták jól elkülöníthetők egymástól. A dendrogramokon látható a Renet fajták sokfélesége, mert szinte az összes vizsgált fajta különböző főklaszterbe került, és az egy főklaszterbe kerülő Renetek is nagy távolságban, külön alklaszterben helyezkednek el.

A Renet fajtákat a gyümölcsjellemzők, elsősorban az íz alapján sorolják közös csoportokba a pomológusok. A Renetekre jellemző a tömött, finom és porhanyó hús, a különleges fűszeres íz (Rapaics 1937). Az egyik leggazdagabb fajtacsoport.

Sóvári fajtacsoport

A Sóvári fajták a feltételezett közös származás alapján képeznek fajtacsoportot. A legtöbb szakirodalmi forrás a 'Közönséges sóvári' változataként ismerteti ezeket. A fenotípusos adatok alapján készített dendrogramon a Sóvári fajtacsoport három fajtája ('Nemes sóvári', 'Zöld sóvári', 'Daru sóvári') egy kisebb klasztert alkotott, a 'Sóvári nobil'-t ugyanabban a főklaszterben, míg a 'Beregi sóvári' genotípusokat teljesen külön főklaszterben találjuk. Az SSR-dendrogramon elfoglalt helyzetük alapján a 'Sóvári nobil', a 'Daru sóvári', a 'Téli sóvári' és a 'Zöld sóvári' ugyanabban a főklaszterben található, de a fajták közti távolság nagyon nagy. Ettől eltérő két külön főklaszterbe került a 'Nemes sóvári' és a két 'Beregi sóvári' genotípus.

A szinonimának tartott 'Nemes sóvári' és az Angol Nemzeti Fajtagyűjteményben fenntartott 'Sóvári nobil' a morfológiai és a molekuláris eredmények alapján nem tekinthető azonos fajtának, tehát nem nevezhetjük azokat szinonimának. Ezt az eredmény alátámasztja Halász et al. (2011) S-genotípusra vonatkozó vizsgálata is, amely alapján a két genotípus S-allél összetétele is eltérő.

A két 'Beregi sóvári' genotípus (angliai és kárpátaljai) a komplex vizsgálati eredményeink szerint nem tekinthető azonos fajtának, s bebizonyosodott, hogy az utóbbi egyezik meg a Bereczki Máté által leírt fajtával. Ezért a 'Beregi sóvári' Angol Nemzeti Fajtagyűjteményben (Morgan és Richards 1993) található egyedet ismeretlen genotípusnak kell tekinteni.

Szinonimák azonosítása

Simonffy piros – Cigány alma – Roter Stettiner – Török Bálint

A gyakran szinonimaként ismert 'Cigány alma' és 'Simonffy piros' vizsgálatba vont genotípusai morfológiai és a molekuláris jellemzés alapján is egyértelműen elkülöníthető volt egymástól. A dendrogramokon is két külön klaszterbe kerültek. A 'Cigány alma' több

lókuszán 3 allélt detektáltunk, míg a ‘Simonffy piros’ diploidnak bizonyult mind a saját, mind pedig Wichman et al. (2007, 2010) és Halász et al. (2011) vizsgálataiban.

Holler et al. (2012) a markeranalízis során azt tapasztalták, hogy a ‘Cigány alma’ genetikai ujjlenyomata megegyezik a Németországban széleskörűen elterjedt ‘Roter Stettiner’ fajtáéval. A Lucas (1875a) és Bereczki (1887) leírásai alapján lehetséges, hogy a gyűjteményünkben fellelhető, Bereczki által is jellemzett ‘Cigány alma’ a ‘Roter Stettiner’ fajtával azonos.

Stoll (1888) és Bereczki (1877) szerint a ‘Roter Stettiner’ szinonim neve a ‘Török Bálint’. Az SSR adatok alapján készített dendrogramon látszik, hogy a ‘Cigány alma’ és a ‘Török Bálint’ egymáshoz közel helyezkedik el. Az általunk vizsgált ‘Cigány alma’ és ‘Török Bálint’ allélösszetételét összevetve azt tapasztaljuk, hogy a ‘Török Bálint’ alléljai 100 %-ban megtalálhatók a ‘Cigány alma’ genotípusában. A fenotípus (gyümölcsküllem) és a ploidszint alapján kizárt, hogy a két fajta azonos. Valószínűsíthető, hogy a két fajta rokonságban áll egymással, mégpedig szülő-utód kapcsolatról lehet szó. Feltételezhető, hogy a ‘Török Bálint’ szabálytalan ivarsejt képződésével vagy öntermékenyülése során jött létre a ‘Cigány alma’.

Entz rozmaring – Húsvéti rozmaring – Honti alma

Angyal (1926), Hersényi (1934) és Brózik és Régius (1957) a három fajtát szinonimának tartja. Morfológiai vizsgálatainkba csak a ‘Húsvéti és az ‘Entz rozmaring’-ot, míg a markeranalízisbe a ‘Honti alma’-t is bevontuk. Az igen hasonló morfológiai bélyegekkkel rendelkező ‘Entz rozmaring’ és ‘Húsvét rozmaring’ genetikai ujjlenyomata 100 %-ban megegyezett. A két Rozmaring fajta SSR markerekkel történő elkülönítése nem sikerült, de a kismértékű morfológiai eltérés miatt célszerű lenne más markerezési módszert is alkalmazni annak érdekében, hogy valóban azonos fajtákról, vagy rügymutációval keletkezett fajtákról van szó. A ‘Honti alma’ 10 lókusz egy-egy allélja mutatott azonosságot a másik két fajtával, ezért vélhetően szülő-utód kapcsolatban vannak, tehát a ‘Honti alma’ nem szinonimája egyik vizsgált rozmaringnak sem. Ezt igazolják Tóth et al. (2007) megfigyelései is, akik szerint a ‘Honti alma’ gyümölcsmérete kisebb, gyümölcshalakja kevésbé megnyúlt, fája szétterülőbb a ‘Húsvéti rozmaring’-énál.

Korreláció a morfológia és a molekuláris vizsgálat között

A morfológiai (UPOV) adatokból készített mátrix és az SSR adatokból Jaccard-indexen alapuló genetikai távolság mátrix közötti összefüggés bizonyítása érdekében Mantel-tesztet végeztünk. Saját vizsgálatainkban a Mantel-teszt szignifikáns, közepes erősségű korrelációt ($r=0,33343$, $p=0,00000$) mutatott ki a morfológiai és a molekuláris adatmátrixok között, ami

hasonló Giancola et al. (2002) szójánál kapott eredményéhez ($r=0,353$). Ezzel szemben Guarino et al. (2006) és Gasi et al. (2010) ($r=0,095$; $p>0,05$) alma, Tommasini et al. (2003) repce ($r=0,098$, $p=0,283$) fajták vizsgálatakor a Mantel-teszttel nem talált korrelációt a morfológiai (UPOV) és molekuláris (SSR) adatok között. Mivel a szakirodalomban fellelhető morfológiai és molekuláris távolság mátrixok nem minden esetben mutattak korrelációt, a fajtajellemzéshez és rokonsági vizsgálatokhoz javasoljuk a fenotípusos jellemzés genotípus vizsgálatokkal kombinálását kis számú (~10), nagy polimorfizmussal rendelkező SSR markerrel.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Meghatároztam 57 régi almafajta illetve genotípus virágzási idejét, és a virágzás kezdete és a fővirágzás időpontja alapján virágzási időcsoportokba soroltam azokat.
2. Elkészítettem 73 Kárpát-medencében elterjedt régi almafajta illetve genotípus mikroszatellit ujjlenyomatát és 60 fajta UPOV TG/14/9 szerinti számkulcsos jellemzését.
3. Párhuzamosan végzett fenotípus- és genotípusvizsgálatokkal jellemeztem a kárpát-medencei almafajták genetikai variabilitását. Azt tapasztaltam, hogy:
 - a. a vizsgált régi fajták genetikai variabilitása nagyobb az üzemi fajtákénál (a szakirodalomban fellelhető heterozigótasági értékek alapján).
 - b. a Sóvári és Renet fajtacsoportokon belül is nagy diverzitás tapasztalható.
 - c. a molekuláris és a morfológiai adatmátrixok alapján készített dendrogram nem tükrözi a földrajzi eredetet.
4. A fajtaazonosításra irányuló fenotípus és SSR vizsgálatok eredményeként megállapítottam, hogy:
 - a. a 'Zöld batul' nem mutat közvetlen rokonságot a 'Batul' fajtával, hanem feltételezhetően az alapfajta távoli leszármazottja. Ezért a jövőben ezt a fajtát külön fajtaként kell nyilvántartani.
 - b. a 'Beregi sóvári' kárpátaljai és az Angol Nemzeti Fajtagyűjteményben megőrzött genotípusa nem azonos. Bebizonyosodott, hogy a kárpátaljai egyezik meg a Bereczki Máté által leírt fajtával, ezért az Angol Nemzeti Fajtagyűjteményben található egyedet ismeretlen genotípusnak kell tekinteni.
 - c. a szinonimának tartott 'Nemes sóvári és az Angol Nemzeti Fajtagyűjteményben fenntartott 'Sóvári nobile' nem azonos.
5. Allélösszetétele alapján három fajta esetében alátámasztottam, vagy cáfoltam a szülő – utód kapcsolatokat.

- a. A 'Fertódi téli' apai partnere nem lehet a nemesítő által közölt 'Török Bálint'. Ennek megfelelően a származás helyes közlési módja:
'Fertódi téli' = 'Jonathan' × ismeretlen.
 - b. A 'Budai Domokos' nemesítő által közölt szülőfajtái ('Téli arany parmen', 'Jászvadóka') nem mutattak 100 %-os allélegyezést a vélt utóddal, így a származása ismeretlennek tekintendő.
 - c. A 'Cigány alma' és a 'Török Bálint' fajták között szülő-utód kapcsolat van. A valószínűsíthető származás: 'Cigány alma' = 'Török Bálint' × ismeretlen vagy 'Cigány alma' = ismeretlen × 'Török Bálint'. Valószínűsíthető, hogy a 'Cigány alma' a 'Török Bálint' öntermékenyülésével keletkezett.
6. A 'Csíkos óriás halasi' és a 'Vajki alma' 12 SSR lókuszon 100%-ban megegyezett, de a fenotípus alapján biztos nem azonos fajtákról van szó. Ez alátámasztja a duplikáción átesett genomok (poliploid fajták) instabilitását.

Irodalomjegyzék

1. Angyal D. (1926): Gyümölcsismeret. (Pomológia) Budapest: Pátria Irodalmi Vállalat és Nyomdai Rt., 524. p.
2. Bassil N., Hummer K. E., Postman J. D., Fazio G., Baldo A., Armas I., Williams R. (2009): Nomenclature and genetic relationships of apples and pears from Terceira Island. *Genet Resour Crop Ev*, 56:339–352.
3. Bereczki M. (1877): Gyümölcsészeti vázlatok I. Kötet. Arad: Gyulai István nyomdája, 510. p.
4. Bereczki M. (1882): Gyümölcsészeti vázlatok II. Kötet. Arad: Gyulai István nyomdája, 517. p.
5. Bereczki M. (1887): Gyümölcsészeti vázlatok IV. Kötet. Arad: Gyulai István nyomdája, 541. p.
6. Bodor P., Gál M., Tóth M. (2008): Floral phenology investigation of scab resistant apple varieties and multi-resistant candidates - bred in Hungary - in 2007-2008. *Int J Hort Sci*, 14(4):7-10.
7. Bordeianu T., Constantinescu N., Péterfi S., Stefan N., Anghel G., Costetch M., Cvasnii D., Miron G., Oros F., Pompeius E., Trandafir V. (1964): Pomologia Republicii populare Romine II. kötet. Bucarest: Acad. R.P.R. 1007. p.
8. Brózik S., Régius J. (1957): Termesztett gyümölcsfajtáink 1. Almatermésűek. Alma. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 25. p.
9. Farrokhi J., Darvishzadeh R., Naseri L., Mohseni Azar M., Hatami Maleki H. (2011): Evaluation of genetic diversity among Iranian apple (*Malus × domestica* Borkh.) cultivars and landraces using simple sequence repeat markers. *Aust J Crop Sci*, 5(7):815-821.
10. Galli, Zs., Halász, G., Kiss, E., Heszky, L. and Dobránszki, J. (2005): Molecular identification of commercial apple cultivars with microsatellite markers. *HortScience*, 40(7):1974-1977.
11. Garkava-Gustavsson, L., Nybom, H. (2007): Genetic diversity in a collection of apple (*Malus × domestica* Borkh.) cultivars as revealed by RAPD markers. *Int J Hort Sci* 13: 1-11.
12. Gasi F., Simon S., Pojskic N., Kurtovic M., Pejic I. (2010): Genetic assessment of apple germplasm in Bosnia and Herzegovina using microsatellite and morphologic markers. *Sci Hortic-Amsterdam*, 126:164-171.
13. Giancola S., Marcucci Poltri S., Lacaze P., Hopp H. E. (2002): Feasibility of integration of molecular markers and morphological descriptors in a real case study of a plant variety protection system for soybean. *Euphytica*, 127(1):95-113.
14. Gianfranceschi L., Seglias N., Tarchini R., Komjanc M., Gessler C. (1998): Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. *Theor Appl Genet*, 96: 1069-1076.
15. Guarino C., Santoro S., De Simone L., Lain O., Cipriani G., Testolin R. (2006): Genetic diversity in a collection of ancient cultivars of apple (*Malus x domestica* Borkh.) as revealed by SSR-based fingerprinting. *J Hort Sci Biotech*, 81(1):39-44.
16. Guilford P., Prakash S., Zhu J. M., Rikkerink E., Gardiner S., Bassett H., Foster R. (1997): Microsatellites in *Malus x domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. *Theor Appl Genet*, 94:249-254.
17. Halász J., Hegedűs A., György Zs., Pállinger É., Tóth M. (2011): S-genotyping of old apple cultivars from the Carpathian basin: methodological, breeding and evolutionary aspects. *Tree Genet Genomes*, 7:1135–1145.
18. Hersényi L. (1934): Gyümölcsfajta ismertetés. Budapest: Stephaneum nyomda Rt., 269. p.

19. Holler C., Kajtna B., Baric S., Storti A. (2012): Zigeunerapfel oder Roter von Simonffi? Pomologische und molekularbiologische Verifizierung der selben Sorte. *Besseres Obst*, 57(5):20–22.
20. Kellerhals M., Szalatnay D., Hunziker K., Duffy B., Nybom H., Ahmadi-Afzadi M., Höfer M., Richter K., Lateur M. (2012): European pome fruit genetic resources evaluated for disease resistance. *Trees*, 26:179–189.
21. Laurens F., Durel C. E., Lascostes M. (2004): Molecular characterization of French local apple cultivars using SSRs. *Acta Hort*, 663:639-642.
22. Liebhard R., Gianfranceschi L., Koller B., Ryder C. D., Tarchini R., van de Weg E., Gessler C. (2002): Development and characterisation of 140 microsatellites in apple (*Malus x domestica* Borkh.). *Mol Breeding*, 10:217-241.
23. Lucas E. (1875a): Rother Stettiner; Brauner Matapfel. 555-556. p.; 367-368. p. In: Lucas E., Oberdieck J. G. C. (szerk.). *Illustriertes Handbuch der Obstkunde. I. Band. Apfel*. Stuttgart: Verlag von Eugen Ulmer. 572. p.
24. Morgan J., Richards A. (1993): The book of apples. London: Ebury Press, 288. p.
25. Nagyistván O. (2012): Történelmi almafajták ploiditás vizsgálata. TDK dolgozat. Budapest.
26. Nagy-Tóth F. (1998): Régi erdélyi almák. Kolozsvár: Erdélyi Múzeum-Egyesület, 352. p.
27. Pereira-Lorenzo S., Ramos-Cabrer A. M., Díaz-Hernández M. B. (2007): Evaluation of genetic identity and variation of local apple cultivars (*Malus x domestica* Borkh.) from Spain using microsatellite markers. *Genet Resour Crop Ev*, 54:405–420.
28. Potts S. M., Han Y., Khan M. A., Kushad M. M., Rayburn A. L., Korban S. S. (2012): Genetic diversity and characterization of a core collection of *Malus* germplasm using Simple Sequence Repeats (SSRs). *Plant Mol Biol Rep*, 30(4):827-837.
29. Rapaics R. (1937): Bevezetés. 3-6. p. In: Kerekes L. (szerk.). 1937. *Pomológia. Harmadik kötet. Alma I. Növényvédelem és Kertészet Kiadása*. 34. p.
30. Routson K. J., Reilley A. A., Henk A. D., Volk G. M. (2009): Identification of historic apple trees in the Southwestern United States and implications for conservation. *HortScience*, 44(3):589–594.
31. Sikorskaite S., Gelvonauskiene D., Stanys V., Baniulis D. (2012): Characterization of microsatellite loci in apple (*Malus x domestica* Borkh.) cultivars. *Žemdirbystė=Agriculture*, 99(2):131-138.
32. Soltész M. (1982): Almaültetvények fajtatársítása. Kandidátusi értekezés.
33. Stoll R. (1888): Oesterreichisch – Ungarische Pomologie. Klosterneuburg bei Wien.
34. Tommasini L., Batley J., Arnold G. M., Cooke R. J., Donini P., Lee D., Law J. R., Lowe C., Moule C., Trick M., Edwards K. J. (2003): The development of multiplex simple sequence repeat (SSR) markers to complement distinctness, uniformity and stability testing of rape (*Brassica napus* L.) varieties. *Theor Appl Genet*, 106:1091–1101.
35. Tóth M., Hudák K., Geiszler J. (2007): Gyümölcsfajta-kutatás az Aggteleki Nemzeti Park területén. XIII. Növénynevelési Tudományos Napok 2007. március 12. Budapest, Összefoglalók, 179.
36. Tóth M., Ficzek G., Király I., Honty K., Hevesi M. (2013): Evaluation of old Carpathian apple cultivars as genetic resources of resistance to fire blight (*Erwinia amylovora*). *Trees*, 27:597-605.
37. UPOV. International Union for the Protection of New Varieties of Plants. (2005): Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability. Apple. Technical Guideline TG/14/9. 45 p. <http://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg014.pdf>
38. Urbanovich O.Y., Kazlovskaya Z.A. (2007): Identification of apple tree cultivars growing in Belarus using SSR-markers. *Acta Hort*, 839:479-486.

39. van Treuren R., Kemp H., Ernsting G., Jongejans B., Houtman H., Visser L. (2010): Microsatellite genotyping of apple (*Malus × domestica* Borkh.) genetic resources in the Netherlands: application in collection management and variety identification. *Genet Resour Crop Ev*, 57:853-865.
40. Wichmann B., Galli Zs., Molnár S., Galbács Zs., Kiss E., Szabó T., Heszky L. (2007): Molecular identification of old Hungarian apple varieties. *Int J Hortic Sci*, 13(3):37-42.
41. Wichmann B., Galli Zs., Szabó T., Kovács L., Heszky L., Kiss E. (2010): Alma kereskedelmi és tájfajták elkülönítése európai standard SSR markerekkel. *Kertgazdaság*, 42(1):68-75.

Az értekezés témakörében megjelent publikációk jegyzéke

Impakt faktoros folyóiratcikkek

Király I., Redeczki R, Erdélyi É., Tóth M. 2012. Morphological and molecular (SSR) analysis of old apple cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 40(1):269-275. IF 2011 = 0,652

Nem impakt faktoros, lektorált folyóiratcikkek

Király I., Szabóné Erdélyi É., Tóth M. 2012. A Batul és Sívári fajtacsoport fajtáinak elkülönítése biológiai, morfológiai és genetikai vizsgálatokkal. *Kertgazdaság*. 44(4):16-32.

Egyéb folyóiratcikkek:

Király I., Tóth M. 2009. Újra termesztésbe vonható régi magyar almafajták. *Agrofórum Extra* 28, pp. 28–29.

Nemzetközi konferencia kiadványok (full paper)

Király I., Nagyistván O., Szabóné Erdélyi É., Tóth M. 2013. Identification of synonyms among old Hungarian apple cultivars using morphological and molecular markers. *Acta Horticulturae* 976:243-249

Király, I., Pedryc, A., Halász, J., Deák, T., Tóth, M. 2009. Parent identification of Hungarian apple cultivars using SSR markers. First International Symposium on Biotechnology of Fruit Species. *Acta Horticulturae* Vol. 839, pp. 471-477.

Nemzetközi konferencia kiadványok (abstract)

Király I., Nagyistván O., Szabóné Erdélyi É., Tóth M. 2011. Identification of synonyms by old Hungarian apple cultivars using morphological and molecular markers. XIII. Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics. September 11-15. 2011. Warsaw, Poland. Abstracts p. 218.

Király I., Tóth M. 2011. Identification of old apple cultivars in the Carpathian Basin using SSR markers. 1. Transilvanian Horticulture and Landscape Studies Conference. April 8-9, 2011, Tîrgu-Mureş, Romania. Abstracts, p. 40.

Király, I., Deák, T., Bisztray, G. D., Pedryc, A., Tóth, M. 2008. Parent identification of hungarian apple cultivars using ssr markers. *Biotechfruit 2008*. First International Symposium on Biotechnology of Fruit Species. Sept. 01-05. 2008. Dresden, Abstracts, ISBN 978-3-930037-41-4, p. 96.

Magyar nyelvű konferencia kiadványok (abstract)

Király I., Ladányi M., Tóth M. 2013. A Budapesti Corvinus Egyetem Gyümölcsstermő Növények Tanszék almagénbankjának diverzitása. XIX. Növénynevelési Tudományos Napok. 2013. március 7., Keszthely, Összefoglalók p. 46.

Király I., Ladányi M., Tóth M. 2012. Régi magyar almafajták virágzás-fenológiai tulajdonságai. XVIII. Növénynevelési Tudományos Napok. 2012. március 6., Budapest, Összefoglalók p. 96.

Király I., Nagyistván O., Tóth M. 2011. Néhány renet almafajta jellemzése morfológiai és molekuláris markerekkel. XVII. Növénynevelési Tudományos Napok. 2011. április 27., Budapest, Összefoglalók p. 34.

Király I., Tóth M. 2009. Kárpát-medencei régi almafajták azonosítása hagyományos és molekuláris biológiai módszerekkel. Identification of old apple cultivars originating from the Carpathian basin using conventional and molecular biological methods. Lippay-Ormos-Vas Tudományos Ülésszak. Összefoglalók, ISBN 978-963-503-397-3, pp. 178-179.

Király I., Tóth M. 2009. Kárpát-medencei régi almafajták génbanki megőrzése és vizsgálata. Fiatal agrárkutatók az élhető Földért. Szaktudás Kiadó Ház. Budapest. ISBN 978-963-9935-02-0, p. 31.

Király I., Kőrösi S., Szani Zs., Tóth M. 2008: Kárpát-medencei régi almafajták morfológiai és fenológiai jellemzőinek vizsgálata. XIV. Növénynevelési Tudományos Napok. 2008. március 12. Budapest, Összefoglalók, p. 46.

Az értekezés témaköréhez nem, vagy nem közvetlenül kapcsolódó publikációk jegyzéke

Impakt faktoros folyóiratcikkek

Tóth M., Ficzek G., **Király I.**, Kovács Sz., Hevesi M., Halász J., Szani Zs. 2012. 'Artemisz', 'Cordelia', 'Hesztia', and 'Rosmerta': New Hungarian Multiresistant Apple Cultivars. HortScience 47(12):1795-1800. IF 2011 = 0,778

Tóth M., Ficzek G., **Király I.**, Honty K., Hevesi M. 2013. Evaluation of old Carpathian apple cultivars as genetic resources of resistance to fire blight (*Erwinia amylovora*) Trees. 27(3):597-605. IF 2011 = 1,685

Sipos L, **Király I.**, Bábel L, Kókai Z, Tóth M. 2011. Role of sight in flavour perception: Sensory assesment of apple varieties by sighted and blind panels. Acta Alimentaria. Vol. 40 (Special Issue), pp. 198-213. IF 2010 = 0,379

Végh A, Palkovics L, Hevesi M, **Király I.**, Tóth M. 2011. Susceptibility of traditional pear cultivars to fire blight caused by Hungarian *Erwinia amylovora* isolates. Acta Alimentaria. Vol. 40 (Special Issue), pp. 230-239. IF 2010 = 0,379

Nem impakt faktoros, lektorált folyóiratcikkek

Szalay L., **Király I.**, Battey, N. H., Tóth M. 2012. Magyar történelmi almafajták ventúriás varasodásra való fogékonyságának összehasonlító értékelése két helyszínen. Kertgazdaság 44(2):35-40.

Papp D., Ficzek G., Stégerné Máté M., Nótin B., **Király I.**, Tóth M. 2011. Kárpát-medencei régi almafajták beltartalmi értékei és perspektívái a XXI. század hazai gyümölcshozamának növelésében. Kertgazdaság 43(1): 23-27.

Hevesi M., **Király I.**, Honty K., Tóth M. 2006. Új almahibridek tűzelhalással szembeni fogékonyságának összehasonlító vizsgálata a hajtások, a virágok és a gyümölcsök inokulációjára alapján. Kertgazdaság. Vol. 38 (3), pp. 8–13.

Egyéb folyóiratcikkek:

Papp D., **Király I.**, Tóth M. 2012. Régi magyar almafajták előnyben! Biokultúra. XXIII (1): 15-17.

Nemzetközi konferencia kiadványok (full paper)

Király I., Peil, A., Halász, J., Dunemann, F., Hanke, M. V., Deák, T., Tóth, M. 2009. Ratio of homozygous and heterozygous Vf genotypes in progenies of Vf_{vf} x Vf_{vf} crosses. Acta Horticulturae, Vol. 814, pp. 819-824.

Peil, A., Dunemann, F., Richter, K., Hofer, M., **Király I.**, Flachowsky, H., Hanke, M-V. 2008. Resistance Breeding in Apple at Dresden-Pillnitz. Ecofruit - 13th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing: Proceedings to the Conference from 18th February to 20th February 2008 at Weinsberg/Germany. pp. 220-225.

Nemzetközi konferencia kiadványok (abstract)

Tóth M., Ficzek G., **Király I.**, Hevesi M., Gyökös G., Kovács Sz. 2010. Hungarian Apple Breeding for Organic Fruit Production. 28th International Horticultural Congress. August 22–27, 2010. Lisboa, Portugal. Abstracts. p. 635.

Király I., Peil, A., Halász, J., Dunemann, F., Hanke, M-V., Deák, T., Tóth, M. 2007. Ratio of homozygous and heterozygous Vf genotypes in progenies of Vf_{vf} x Vf_{vf} crosses, 12th Eucarpia Symposium on Fruit Breeding Section. 16–20. Sept. 2007. Zaragoza, Spain, Abstracts, p. 209.

Király I., Dunemann, F., Hanke, M-V., Peil, A. 2007. Application of scab resistance markers in apple, COST Action 864. Combining traditional and advanced strategies for plant protection in pome fruit growing. Abstract book of the Work Groups 1-4 meetings in 2007. 31.05–01. 06. 2007. Skierniewice, Poland, ISBN 978-3-900962-76-0, pp. 7–8.

Magyar nyelvű konferencia kiadványok (full paper)

Kovács Sz., **Király I.**, Tóth M. 2010. Malus taxonok és utódok szerepe a hazai rezisztencia nemesítésben. Magyar Biológiai Társaság XXVIII. Vándorgyűlés. 2010. szeptember 30. ISBN 978-963-87343-5-8. p. 45-49.

Király I., Tóth M. 2009. Régi almafajták fogyasztói megítélése gyümölcsbírálat alapján. XV. Növénynemesítési Tudományos Napok. Hagyomány és haladás a növénynemesítésben. Kongresszusi lektorált teljes terjedelmű kiadvány, Budapest. ISBN 978-963-508-575-0, pp. 238–242.

Magyar nyelvű konferencia kiadványok (abstract)

Király I., Tóth M. 2009. Régi almafajták fogyasztói megítélése gyümölcsbírálat alapján. XV. Növénynemesítési Tudományos Napok. Budapest. 2009. március 17. Összefoglalók, ISBN 978-963-8351-34-0, p. 90.

Tóth M., Bodor P., Hevesi L., Honty K., Kovács Sz., **Király I.**, Mesterné Ficzek M. 2009. Hazai almanemesítés – Eredmények és perspektívák. XV. Növénynemesítési Tudományos Napok. Budapest. 2009. március 17. Összefoglalók, ISBN 978-963-8351-34-0, p. 29.