



**Budapesti Corvinus Egyetem**

CSERESZNYEFAJTÁK TERMÉKENYÜLÉSI SAJÁTOSSÁGAINAK  
VIZSGÁLATA HAGYOMÁNYOS ÉS MOLEKULÁRIS MÓDSZEREKKEL

**Doktori értekezés tézisei**

Békefi Zsuzsanna

Budapest, 2005.

## 1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK

A cseresznye alapvetően önmeddő gyümölcsfaj, az ültetvényekben ezért csak együtt virágzó és egymást kölcsönösen jól termékenyítő fajták telepítésével várható termés. Az 1970-es évektől jelentek meg az első öntermékeny cseresznyefajták, melyek pollenadó nélkül is jól teremnek.

A magyar nemesítő munka eredménye az a fajtasorozat, melynek tagjai május végétől július végéig friss cseresznyét kínálnak a fogyasztóknak. A sorozatban számos állami elismerésre, illetve európai uniós szabadalomra bejelentett fajtajelölt található, amelyek a közeljövőben a termesztésbe kerülnek, ezért a fajtatársításhoz szükséges tulajdonságaik ismerete különösen indokolt.

Az új nemesítésű cseresznyefajták termékenyülésével kapcsolatban kevés információval rendelkezünk, de a régi fajtákat sem ismerjük eléggé. Munkánk fő célja ezért a hazai cseresznyefajták termékenyülési viszonyainak tisztázása, melyet hagyományos és molekuláris módszerek felhasználásával kívántunk megvalósítani.

A gyümölcsfajok többségének önmeddősége gametofitikus jellegű, a termékenyülését genetikailag az ún. *S*-lókuszt szabályozza, amelyhez tartozó allélok (*S*-allélok) sorozatot alkotnak. Az azonos allélváltozatokat hordozó fajták egymást kölcsönösen nem termékenyítik és egyazon inkompatibilitási csoportba tartoznak. A gyümölcsfajok termékenyülési vizsgálatait a molekuláris technikák térhódításának következtében nagy változáson mentek át. A termékenyülés kérdéseit az *S*-lókuszt bibeszálban és pollenszembben kifejeződő génjeinek (az *S*-RNáz gén és F-box gén) DNS- és fehérjeszintű vizsgálatával közelítik meg, az eredmények alapján egymást kölcsönösen nem termékenyítő inkompatibilitási csoportokat állítanak fel. A nemzetközi szakirodalomban a hagyományos termékenyülési vizsgálatok megfogyatkoztak, ugyanakkor a molekuláris szinten kapott eredményeket szabadföldi körülmények között a gyakorlatban nem minden esetben ellenőrzik. Bár a gyümölcsfajok *S*-allél kutatásában a cseresznye inkompatibilitási rendszerével kiterjedten foglalkoznak, a magyar fajták genotípusát azonban eddig még nem írták le.

A dolgozat témáját Brózik Sándor javasolta, mivel új fajtáinak termékenyülésére vonatkozóan csak hiányos ismeretek álltak rendelkezésre. Erre vonatkozó kutatásainkat hagyományos szabadföldi termékenyülési vizsgálati módszerekkel kezdtük el 1999-ben. A kapott eredmények azonban több esetben ellentmondóak voltak. Munkánk egy része a

2001-ben és 2002-ben fellépő tavaszi fagy miatt megghiúsult. Időközben a termékenyülés vizsgálatának új lehetőségeit ismertük meg. Először a Magyarországon kevesek által használt pollentömlő-növekedés vizsgálatokat kezdtük el, mely a termékenyülést a szövetek szintjén követi nyomon. A cseresznye-termékenyülés molekuláris genetikai ismereteinek felhasználásával kutatásunk a kezdeti elképzelésekhez képest új irányba indult. A cseresznye-termékenyülés DNS-szintű vizsgálatainak meghonosításával elindítottuk a gyümölcsfajok termékenyülésének genetikai alapokon történő kutatását. Munkánk mindkét - hagyományos és molekuláris - kutatási módszerrel kapott eredményeinket tartalmazza.

### **Munkánkban az alábbi célokat tűztük ki:**

1. Cseresznyefajták szabad- és öntermékenyülési mértékének megállapítása szabadföldi körülmények között, autogám és geitonogám megporzási módszerekkel.
2. Cseresznyefajta-kombinációk idegentermékenyülési mértékének megállapítása szabadföldi körülmények között.
3. A fenti eredmények alapján társítható és nem társítható fajták körének meghatározása.
4. Termékenyülési vizsgálatok molekuláris módszerének bevezetése hazai cseresznye-fajtáknál.
5. A hazánkban termesztett cseresznyefajták S-alléljainak molekuláris módszerekkel történő meghatározása.
6. A molekuláris módszerekkel kapott eredmények összevetése szabadföldi termékenyülési vizsgálatok eredményeivel.
7. Cseresznyefajták *in vivo* és *in vitro* pollentömlő-növekedésének vizsgálata.

## 2. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 2.1. Szabadföldi teszt-keresztezők

A mesterséges megporzási kísérleteket az Érdi Gyümölcs- és Dísznövénytermesztési Kutató-Fejlesztő Kht. Érd-Elvira majori telepén állítottuk be. A virágzáskori hőmérséklet adatokat a telep saját meteorológiai állomása rögzítette.

#### 2.1.1. Öntermékenyülési vizsgálatok

A kísérleteket 1999 és 2001 években végeztük. A vizsgált fajták: 'Sándor', 'Pál', IV-6/66, IV-6/240, 'Alex', 'Stella'.

Az elvégzett kezelések az alábbiak voltak:

- Szabadtermékenyülés: a vizsgált fajták virágait a környezetükben levő fajták szabadon megporozhatták, természetes pollenátvitel segítségével.
- Izolált-megporzatlan virágok (autogámia): az izolált virágokra csak saját pollen kerülhetett, pollenátvitelt nem biztosítottunk (csak gravitáció).
- Saját virággal megporzott virágok (geitonogámia): az izolált virágokat a fajta saját virággal mesterségesen poroztuk meg.

A megporzott virágok és kötődött gyümölcsök darabszámából határoztuk meg a kötődött gyümölcsök %-os arányát, az adott fajta teljes érési idejében.

Az öntermékenységi és szabadtermékenyülés mértékének megállapítására az alábbi skálákat használtuk:

- **öntermékenyülés izolált-megporzatlan virágok esetén (NYÉKI 1989):**

1 teljesen önmeddő	0%
2 önmeddő	0,1-1%
3 részben öntermékenyülő	1,1-10%
4 öntermékenyülő	10,1-20%
5 igen nagy mértékben öntermékenyülő	>20%

- **szabadtermékenyülés képessége (BRÓZIK és NYÉKI 1980):**

1 kicsi	<10%
2 közepes	10,1-20%
3 nagy	20,1-30%
4 igen nagy	>30%

Az évek, kezelések és fajták termékenyülésre gyakorolt hatását, valamint ezen tényezők kölcsönhatását variancia-analízissel vizsgáltuk. Az öntermékenyülés szabadtermékenyülést követő terméskötődésre gyakorolt hatását egyváltozós lineáris regresszió-analízissel vizsgáltuk.

### 2.1.2. Idegentermékenyülési vizsgálatok

Cseresznyefajta-kombinációk idegentermékenyülési mértékének megállapítása céljából a mesterséges megporzási kísérleteket 1999-2003 között állítottuk be 27 fajtakombinációban. A vizsgált fajtakombinációk az alábbiak voltak:

<b>Anyai szülők:</b>	<b>Apai szülők:</b>
'Aida'	'Sándor', IV-6/66, IV-6/240
'Rita'	'Sándor', IV-6/66, IV-6/240
'Vera'	'Sándor', IV-6/66, IV-6/240
'Carmen'	'Alex', 'Katalin', 'Linda', 'Stella', 'Sunburst'
'Germersdorfi 3'	'Alex', 'Katalin', 'Linda', 'Stella', 'Sunburst'
'Kavics'	'Alex', 'Carmen', 'Katalin', 'Linda', 'Sunburst'
'Margit'	'Alex', 'Katalin', 'Stella'

A fajtapárok tagjait úgy választottuk ki, hogy azok virágzási ideje átfedje egymást.

2003-ban a PCR-technikával meghatározott S-allélok működését a gyakorlatban szabadföldi idegentermékenyülési vizsgálatokkal 36 kombináció esetén ellenőriztük. A kísérletben részt vevő fajták S-alléljainak ismeretében kompatibilis, részben kompatibilis és inkompatibilis kombinációkat válogattunk össze. A vizsgálatba bevont fajták (mindegyik anyai és apai partnerként is szerepelt):

III-42/114 ('Carmen'), IV-6/240, H 264 ('Botond'), 'Germersdorfi 3', 'Hedelfingeni óriás', 'Katalin', 'Krupnoplodnaja', 'Linda', 'Margit', 'Rita', 'Van', 'Vera'.

Az anyai partnerek izolált virágait az apai partnerek bimbóiból begyűjtött pollennel mesterségesen megporoztuk. A kötődött gyümölcsöket az adott fajta teljes érési idejében számoltuk meg. A megporzott virágok és kötődött gyümölcsök darabszámából kombinációként, azon belül izolátoronként meghatároztuk a kötődött gyümölcsök %-át. Kombinációként 2-5 év adatait összesítettük. A fajtapárok közül meghatároztuk az inkompatibilis kombinációkat (gyümölcskötődés: 0-5%) és a gazdaságosan együtt termeszthető fajtákat (gyümölcskötődés >15%).

## 2.2. Pollentömlő-növekedés

### 2.2.1. In vivo pollentömlő-növekedés

A pollentömlő-növekedést *in vivo* körülmények között három vizsgálati évben (2000, 2001, 2002) tanulmányoztuk. A vizsgálat tárgyát képező fajtakombinációk:

'Margit' x 'Alex', 'Germersdorfi 3' x 'Alex'.

A 'Margit' és 'Germersdorfi 3' fajtákat az 'Alex' fajtával megporoztuk. A megporzott és izolált virágokból a megporzást követő 24, 48, 72, 96 és 120 óra múlva mintát

gyűjtöttünk. A virágokat 70%-os FPA oldatban fixáltuk, majd a pollentömlőket PREIL (1970) módszerét követve anilinkékes festéssel tettük láthatóvá.

A mikroszkópos vizsgálatokhoz a bibeszálból ún. "Quetsch" preparátumokat készítettünk. A pollentömlőket fluoreszcens mikroszkóp segítségével tanulmányoztuk. A bibén kihajtó polleneket és a bibeszál felső, középső és alsó harmadában található pollentömlőket megszámloltuk. A pollentömlő-növekedés dinamikájának tanulmányozásához az egyes bibeszálrészekben pollentömlőt tartalmazó virágok arányát mintánként a begyűjtött virágok számának százalékaként fejeztük ki. A pollentömlő-növekedés fajták szerinti különbségeit varianciaanalízis segítségével értékeltük.

### 2.2.2. *In vitro* pollentömlő-növekedés

Az *in vitro* pollentömlő-növekedést 2002-ben vizsgáltuk az alábbi kombinációkban:

‘Vera’ ( $S_1S_3$ ) x ‘Van’ ( $S_1S_3$ ) - *S*-allélok alapján inkompatibilis kombináció

‘Alex’ ( $S_3S_3'$ ) x ‘Van’ - *S*-allélok alapján részben kompatibilis kombináció

A mesterséges megporzást SCHMIDT és TIMMANN (1997) módszere szerint végeztük, a következők szerint:

Az ‘Alex’ virágait - mivel öntermékeny fajta - kasztráltuk. A ‘Vera’ és ‘Alex’ virágait a begyűjtést (ill. kasztrálást) követően a kocsányuknál fogva 1%-os agar táptalajba szűrtük és szobahőmérsékleten, letakart Petri csészékben tartottuk. 24 óra múlva a ‘Van’ fajta pollenjével a virágokat egyesével megporoztuk. 48 óra elteltével a virágokat az *in vivo* megporzásnál leírtaknak megfelelően kezeltük és vizsgáltuk.

### 2.3. Termékenyülési vizsgálatok DNS-technikával

A DNS-technikára alapozott vizsgálatokat az East Malling Research kutatóintézet laboratóriumában 2003-ban végeztük.

A növényanyag az Érdi Gyümölcs- és Dísznövénytermesztési Kutató-Fejlesztő Kht. érdi telepéről származott. A kontroll fajtákat az angliai East Malling Research kutatóintézet bocsátotta rendelkezésünkre, mely fajták genotípusát már leírták (SONNEVELD et al. 2001, 2003; TOBUTT et al. 2001) és a cseresznyében eddig leírt allélok mindegyikét képviselték.

A kísérletbe vont fajták az alábbiak voltak:

‘Aida’, ‘Anita’, ‘Alex’, ‘Badacsonyi óriás’, ‘Botond’, ‘Carmen’, ‘Cherry Self Fertile 46’, ‘Germersdorfi 1’, ‘Germersdorfi 3’, ‘Hedelfingeni óriás’, ‘Katalin’, ‘Kavics’, ‘Krupnoplodnaja’, ‘Linda’, ‘Magyar porc’, ‘Margit’, ‘Münchebergi korai’, ‘Pál’,

‘Péter’, ‘Rita’, ‘Sándor’, ‘Solymári gömbölyű’, ‘Szomolyai fekete’, ‘Trusenszkaja 2’, ‘Tünde’, ‘Valerij Cskalov’, ‘Vera’, IV-5/5, IV-6/66, IV-6/240, IV-13/120.

A kontroll fajták a következők voltak: ‘Early Rivers’ ( $S_1S_2$ ), ‘Victor’ ( $S_2S_3$ ), ‘Lapins’ ( $S_1S_4$ ), ‘Napoleon’ ( $S_3S_4$ ), ‘Late Black Bigarreau’ ( $S_4S_5$ ), ‘Colney’ ( $S_5S_6$ ), ‘Charger’ ( $S_1S_7$ ), ‘Inge’ ( $S_4S_9$ ), ‘Orleans 171’ ( $S_7S_{11}$ ), ‘Schneiders Späte Knorpelkirsche’ ( $S_3S_{12}$ ), ‘Noble’ ( $S_6S_{13}$ ), ‘Dikkeloen’ ( $S_5S_{14}$ ).

A DNS kivonását alvörügyekből, a DOYLE és DOYLE (1987) által leírt CTAB miniprep módszernek SONNEVELD et al. (2001) általi módosításaival végeztük.

Molekuláris módszerekkel a termékenyülést szabályozó *S*-lokusz bibeszálban kifejeződő komponensét, az *S*-RNáz gént vizsgáltuk. A Rosaceae *S*-RN-áz szekvenciája két intront tartalmaz (az 1. és 2. intront), melyek hossza allélenként polimorfizmust mutat. Vizsgálatainkban konszenzus primer párokkal - amelyek a fenti intronokat közrefogják - végzett PCR reakciókban a *S*-RN-áz gén 1. és 2. intron régióit felszaporítottuk. Az egyes *S*-allélokot az 1. és a 2. intron hosszúságuk alapján különböztettük meg.

A reakcióelegy összetevőinek végső koncentrációját, a PCR reakció ciklusait és a gélelektroforézist SONNEVELD et al. (2003) szerint állítottuk be.

Az 1. és 2. intron analízis gélmintázatait a SONNEVELD et al. (2003) által megadott PCR-termékek méretei alapján értékeltük.

A konszenzus primerek segítségével megállapított genotípusokat allélspecifikus primerekkel végrehajtott PCR reakciókkal ellenőriztük. Ezt a vizsgálatot minden fajta esetében a cseresznyénél a kísérlet elvégzésekor ismert összes allélra ( $S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_6, S_7, S_9, S_{10}, S_{12}, S_{13}, S_{14}, S_{16}$ ) nézve elvégeztük. A reakcióelegy összetevőinek végső koncentrációját, a PCR reakció ciklusait és a gélelektroforézist SONNEVELD et al. (2001 és 2003) által leírtak szerint állítottuk be.

### 3. EREDMÉNYEK

#### 3.1. Öntermékenyülési vizsgálatok

A vizsgált fajták többsége mindkét vizsgálati évben 10% feletti terméskötődést adott mindkét öntermékenységet vizsgáló módszerrel (autogám és geitonogám megporzás). Egyedüli kivétel a IV-6/240 fajta volt, mely autogám megporzást követően 1999-ben 0,0%, 2001-ben 3,3% kötődést, geitonogám megporzást követően mindkét évben 0,0% kötődést mutatott. A hőmérséklet adatok és a terméskötődés eredményeit összevetve a fajták közti kötődési különbségek az évjárat hatásával nem magyarázhatóak.

Az évek terméskötődéseit átlagoltuk. A IV-6/240 fajta kivételével mindegyik fajta öntermékenynek bizonyult. Izolált-megporzatlan kezelést követően kiemelkedő öntermékenységet a IV-6/66 (44,0%) és a 'Stella' (26,0%) mutatott (5-ös érték, igen nagymértékben öntermékenyülők). Legkevésbé a 'Pál' fajta volt hajlamos autogám úton kötődni (12,2%).

A saját virággal történő megporzásnál minden öntermékeny fajta kötött gyümölcsöt. A legnagyobb terméskötődést a 'Sándor' fajtánál kaptuk (71,7%), a legkisebb - az önmeddő IV-6/240-tól eltekintve - a 'Pál' fajta esetében volt (45,5%).

A IV-6/240 szabadtermékenyülése volt a leggyengébb (20,6%). Öntermékenyek között a 'Pál' gyümölcskötődése volt a legkisebb (33,6%). A szabadtermékenyülés mértéke az 'Alex' fajtánál volt a legnagyobb (50,5%).

A terméskötődés mértékét tekintve az évek közt szignifikáns különbséget tapasztaltunk.

A kezelések között szignifikáns különbségeket figyelhettünk meg. Az izolált-megporzatlan kezelés szignifikánsan különbözött a szabadtermékenyüléstől és a saját virággal való megporzástól, azoknál mindig gyengébb kötődést eredményezett. A legnagyobb kötődést a geitonogám megporzás adta (46,9%), ezt követte a szabadtermékenyülés (39,5%), végül az autogám megporzás (20,2%).

A szabadtermékenyülés mértéke és az öntermékenyülést követő terméskötődés között összefüggést kerestünk. Lineáris regresszió-analízis eredményei szerint a vizsgált öt fajta esetében az öntermékenyülés mértéke nem befolyásolja lényegesen a szabadtermékenyülésben mutatkozó terméskötődést. Az  $R^2$  értékek összehasonlítása alapján a geitonogám megporzás valamivel közelebb áll a természetes úton való megporzódáshoz, mint az autogám.



### 3.2. Idegentermékenyülési vizsgálatok, fajtatársítás

Az idegentermékenyülési vizsgálatok alapján a 'Vera' x IV-6/240, a 'Germersdorfi 3' x 'Linda' és a 'Margit' x 'Katalin' kombináció inkompatibilis, melyet a későbbiekben a DNS vizsgálatok is alátámasztottak. A további inkompatibilis fajtacsoportokat molekuláris módszerekkel határoztuk meg (ld. később, **1 táblázat**).

Az idegentermékenyülési vizsgálatok terméskötődési eredményei és a fajták virágzási idejének ismerete alapján a fajtakombinációkat az alábbiak szerint csoportosíthatjuk:

- Jól termékenyülő (>15%), együtt virágzó, együttes telepítésre alkalmas fajtakombinációk:  
'Aida' x IV-6/66, 'Carmen' x 'Katalin', 'Germersdorfi 3' x 'Stella', 'Germersdorfi 3' x 'Katalin', 'Rita' x IV-6/66, 'Rita' x 'Sándor', 'Vera' x IV-6/66.
- Jól termékenyülő, de nem együtt virágzó fajtakombináció, együttes telepítésük nem javasolt: 'Vera' x 'Sándor'.
- Rosszul termékenyülő vagy termékenyülés alapján inkompatibilis kombinációk:  
'Carmen' x 'Alex', 'Germersdorfi 3' x 'Alex', 'Germersdorfi 3' x 'Linda', 'Germersdorfi 3' x 'Sunburst', 'Kavics' x 'Alex', 'Kavics' x 'Carmen', 'Kavics' x 'Linda', 'Kavics' x 'Sunburst', 'Margit' x 'Alex', 'Margit' x 'Katalin', 'Margit' x 'Stella'.
- Fajtakombinációk, melyek termékenyülésének további vizsgálata szükséges: 'Aida' x IV-6/240, 'Aida' x 'Sándor', 'Carmen' x 'Linda', 'Carmen' x 'Sunburst', 'Kavics' x 'Katalin', 'Rita' x IV-6/240.

Az *S*-allélok gyakorlati működésének ellenőrzését célzó idegentermékenyülési vizsgálatok során a fajták termékenyülése megfelelt az *S*-genotípusok alapján megállapított kompatibilitás-viszonyoknak. A várhatóan kompatibilis kombinációkban a kötődés minden esetben - általában jóval - meghaladta az 5%-ot. A feltételezhetően inkompatibilis kombinációkban az igen jó termékenyülést hozó év ellenére is a kötődés értéke a legtöbb esetben 0% volt és nem lépte túl az 5%-ot.

### 3.3. Pollentömlő-növekedés vizsgálatok

#### 3.3.1. Pollentömlő-növekedés vizsgálata in vivo

A pollentömlő-növekedés dinamikáját egy teljesen kompatibilis ('Margit' x 'Alex') és egy részben kompatibilis ('Germersdorfi 3' x 'Alex') fajtakombináció példáján tanulmányoztuk. A 'Germersdorfi 3' x 'Alex' kombináció pollentömlő-növekedése egyik vizsgálati évben sem követte a kompatibilis és részben kompatibilis kombinációknál elméletileg várt utat, az idő múlásával a bibeszál egyre mélyebb részeiben pollentömlőt tartalmazó virágok aránya nem növekedett. A teljesen kompatibilis 'Margit' x 'Alex' kombinációnál a bibeszál középső-alsó részében pollentömlőt tartalmazó virágok aránya az idő múlásával növekedett.

A pollentömlők számát illetően varianciaanalízis eredményei alapján a 'Germersdorfi 3' x 'Alex' és a 'Margit' x 'Alex' kombinációk között egyik bibeszálrészben sincs számottevő különbség. A három év adatainak átlagai alapján a bibeszál felső harmadában a megporzást követő első-második napon a 'Germersdorfi 3' virágokban találunk több pollentömlőt, míg a bibeszál középső és alsó harmadában a harmadik-ötödik napon a 'Margit' termőjében.

#### 3.3.2. Pollentömlő-növekedés vizsgálat in vitro

A részben kompatibilis 'Alex' x 'Van' kombinációban a virágok 50%-ában a pollentömlők leértek a bibeszál alsó harmadába. Ezzel szemben az elméletileg inkompatibilis 'Vera' x 'Van' kombináció összes virágában a pollentömlők a bibeszálnak csak a felső harmadáig jutottak le. Ennél a kombinációnál a pollentömlő vége több esetben megvastagodott és anilinkékkel megfestve erősen fluoreszkált, ami az inkompatibilitás egyértelmű tünete.

### 3.4. Hazai fajták S-genotípusának vizsgálata PCR-technikával

Az 1. és 2. intron analízist követően a kontroll fajták fragmentumainak mérete megegyezett az egyes allélokra közölt adatokkal (SONNEVELD et al. 2003), így a kontroll fajták mintázata alapján az egyes allélok megbízhatóan beazonosíthatóak voltak. Az allélspecifikus primerekkel kapott eredmények igazolták a konszenzus primerekkel meghatározott genotípusok helytállóságát (1. táblázat). A genotípusok ismeretében a fajtákat nemzetközileg használt inkompatibilitási csoportokba soroltuk. Az azonos csoportba tartozó fajták kölcsönösen nem termékenyítik egymást.

**1. táblázat:** Cseresznyefajták PCR-vizsgálatokat követően megállapított S-genotípusa inkompatibilitási csoportok szerint

Fajta	Konszenzus primerekkel kapott előzetes genotípus	Allélspecifikus primerek, megerősítés														Végső eredmények	
		S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	S <sub>7</sub>	S <sub>9</sub>	S <sub>10</sub>	S <sub>12</sub>	S <sub>13</sub>	S <sub>14</sub>	S <sub>16</sub>	Genotípus	Inkomp. csoport	
Vera	S <sub>1</sub> S <sub>3</sub>	+		+											S <sub>1</sub> S <sub>3</sub>	II	
IV-6/240	S <sub>1</sub> S <sub>3</sub>	+		+											S <sub>1</sub> S <sub>3</sub>		
13/120	S <sub>1</sub> S <sub>3</sub>	+		+											S <sub>1</sub> S <sub>3</sub>		
Münchebergi korai	S <sub>3</sub> S <sub>4</sub>			+	+										S <sub>3</sub> S <sub>4</sub>	III	
Solymári gömbölyű	S <sub>3</sub> S <sub>4</sub>			+	+										S <sub>3</sub> S <sub>4</sub>		
Hedelfingeni óriás	S <sub>3</sub> S <sub>4</sub>			+	+										S <sub>3</sub> S <sub>4</sub>		
Kavics	S <sub>3</sub> S <sub>4</sub>			+	+										S <sub>3</sub> S <sub>4</sub>		
Botond	S <sub>3</sub> S <sub>4</sub>			+	+										S <sub>3</sub> S <sub>4</sub>		
5/5	S <sub>4</sub> S <sub>5</sub>				+	+									S <sub>4</sub> S <sub>5</sub>	V	
III-42/114 (Carmen)	S <sub>4</sub> S <sub>5</sub>				+	+									S <sub>4</sub> S <sub>5</sub>		
IV-3/41 (Anita)	S <sub>3</sub> S <sub>6</sub>			+			+								S <sub>3</sub> S <sub>6</sub>	VI	
IV-13/51 (Tünde)	S <sub>3</sub> S <sub>5</sub>			+		+									S <sub>3</sub> S <sub>5</sub>	VII	
Szomolyai fekete	S <sub>2</sub> S <sub>4</sub> ? S <sub>4</sub> S <sub>7</sub> ?		+		+				-						S <sub>2</sub> S <sub>4</sub>	XIII	
Trusenszkaja 2	S <sub>5</sub> S <sub>6</sub>					+	+								S <sub>5</sub> S <sub>6</sub>	XV	
Valerij Cskalov	S <sub>1</sub> S <sub>9</sub>	+							+						S <sub>1</sub> S <sub>9</sub>	XVIII	
Linda	S <sub>3</sub> S <sub>12</sub>			+							+				S <sub>3</sub> S <sub>12</sub>	XXII	
Germersdorfi 1	S <sub>3</sub> S <sub>12</sub>			+							+				S <sub>3</sub> S <sub>12</sub>		
Germersdorfi 3	S <sub>3</sub> S <sub>12</sub>			+							+				S <sub>3</sub> S <sub>12</sub>		
Badacsonyi óriás	S <sub>3</sub> S <sub>12</sub>			+							+				S <sub>3</sub> S <sub>12</sub>		
Magyar porc	S <sub>3</sub> S <sub>12</sub>			+							+				S <sub>3</sub> S <sub>12</sub>		
IV-13/20 (Aida)	S <sub>6</sub> S <sub>12</sub>						+				+				S <sub>6</sub> S <sub>12</sub>	XXIV	
Katalin	S <sub>4</sub> S <sub>12</sub>				+						+				S <sub>4</sub> S <sub>12</sub>	XXVII (új)	
Margit	S <sub>4</sub> S <sub>12</sub>				+						+				S <sub>4</sub> S <sub>12</sub>		
Krupnoplodnaja	S <sub>5</sub> S <sub>9</sub>					+			+						S <sub>5</sub> S <sub>9</sub>	O	
Rita	S <sub>5</sub> S <sub>2</sub> ? S <sub>5</sub> S <sub>7</sub> ? S <sub>5</sub> S <sub>új</sub> ?		-			+			-						S <sub>5</sub> S <sub>22</sub>		
IV-6/5 (Péter)	S <sub>3</sub> S <sub>4</sub> '			+	+										S <sub>3</sub> S <sub>4</sub> '	SC	
IV-6/66	S <sub>3</sub> S <sub>4</sub> '			+	+										S <sub>3</sub> S <sub>4</sub> '		
IV-6/12 (Sándor)	S <sub>4</sub> 'S <sub>9</sub>				+				+						S <sub>4</sub> 'S <sub>9</sub>		
IV-6/39 (Pál)	S <sub>4</sub> 'S <sub>9</sub>				+				+						S <sub>4</sub> 'S <sub>9</sub>		
Alex	S <sub>3</sub> S <sub>3</sub> '			+											S <sub>3</sub> S <sub>3</sub> '		
Cherry Self Fertile 46	S <sub>1</sub> S <sub>3</sub> '	+		+											S <sub>1</sub> S <sub>3</sub> '		

### 3.5. Új tudományos eredmények

1. Termékenyülési vizsgálatokkal igazoltuk a 'Sándor', 'Pál' és IV-6/66 fajták öntermékenységet és a IV-6/240 fajta önmeddőségét.
2. Idegentermékenyülési vizsgálatokkal meghatároztuk az együttes telepítésre ajánlott fajtakombinációkat ('Aida' x IV-6/66, 'Carmen' x 'Katalin', 'Germersdorfi 3' x 'Stella', 'Germersdorfi 3' x 'Katalin', 'Rita' x IV-6/66, 'Rita' x 'Sándor', 'Vera' x IV-6/66).
3. A cseresznyénél hazánkban elsőként alkalmazott pollentömlő-növekedési vizsgálati módszerekkel különbséget mutattunk ki a 'Margit' x 'Alex' - kompatibilis - és 'Germersdorfi 3' x 'Alex' - részben kompatibilis - fajtakombinációk pollentömlő-növekedése között.
4. Molekuláris biológiai módszerekkel meghatároztuk 28 cseresznyefajta termékenyülésének genetikai hátterében álló *S*-alléljait, a fajtákat inkompatibilitási csoportokba soroltuk.  
Az eredmények alapján megállapítottuk a magyar cseresznyefajták körében kölcsönösen inkompatibilis kombinációkat.
  - A cseresznye inkompatibilitási csoportjaiba illeszkedő új csoportot (XXVII) határoztunk meg, melybe a 'Katalin' és 'Margit' fajta sorolható.
  - A 'Rita' fajtajelöltben egy eddig természetett cseresznyénél le nem írt, csak vadcseresznyékben előforduló új allélt ( $S_{22}$ ) fedeztünk fel.
  - Az *S*-allélok molekuláris szintű vizsgálatával megállapítottuk, hogy a 'Hedelfingeni óriás' ( $S_3S_4$ ) és a 'Valerij Cskalov' ( $S_7S_9$ ) fajták nem azonosak a világon másutt azonos/hasonló néven természetett 'Hedelfingen' ( $S_3S_5$ ), illetve 'Valerij Chkalov' ( $S_7S_6$ ) fajtákkal.
  - Azonosítottuk a magyar cseresznyenemesítésben az öntermékenység bevitelének céljából széleskörűen felhasznált 'Cherry Self Fertile 46' fajtát és meghatároztuk *S*-genotípusát ( $S_7S_3$ ).

#### 4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Hagyományosan a cseresznye ön- és kölcsönös termékenyülését szabadföldi vizsgálatokkal tanulmányozták. A szabadföldi vizsgálatok eredményét számos tényező befolyásolhatja - időjárási viszonyok, termőhely, a fa kondíciója, egészségi állapota, a megporzó fajta pollenjének minősége stb. - így könnyen előfordulhat, hogy egymásnak ellentmondó kötődési eredményeket kapunk. A PCR-technikával kapott *S*-allél eredmények alapján azonos inkompatibilitási csoportba tartozó, egymást nem termékenyítő fajták köre megbízhatóan meghatározható. Azonban az *S*-genotípusok alapján elméletileg kompatibilis – részben kompatibilis fajtakombinációk között is akadtak olyanok, melyek gyengén kötődnek (pl. a rossz termékenyülő-képességű 'Germersdorfi óriás' leszármazottai körében), ezért a szabadföldi termékenyülési vizsgálatok továbbra is szükségesek ezen kombinációk kötődésének ellenőrzéséhez. Termékenyülési vizsgálataink a cseresznyeültetvények fajtatársításhoz adnak információt, melyet a termesztők és nemesítők a gyakorlatban hasznosíthatnak. Ugyanakkor a társítható fajták körének megállapításához egyéb virágzásbiológiai ismeretekre - a fajták együttvirágzásának tisztázására, a méhlátogatottság értékelésére - is elengedhetetlenül szükség van.

A 'Germersdorfi 1', 'Germersdorfi 3', 'Badacsonyi óriás' és 'Magyar porc' fajták genotípusa megegyezik és azonos a német 'Schneiders Späte Knorpelkirsche' fajta genotípusával ( $S_3S_{12}$ ). A fajták rokonságát mikroszatellit vagy más DNS-alapú ujjlenyomat vizsgálatokkal tisztázni kell. A 'Hedelfingeni óriás' ( $S_3S_4$ ) / 'Hedelfingen' ( $S_3S_5$ ), valamint a 'Valerij Cskalov' ( $S_1S_9$ ) 'Valery Chkalov' ( $S_1S_6$ ) fajtakérdések tisztázására szintén DNS-vizsgálatokat kell végezni. A fentiek bizonyítják, hogy mennyire fontos, hogy kísérleteinkben a magyar fajtaváltozatokat vizsgáljuk és információkat csak a fajtaazonosság biztos tudatában vegyünk át.

A magyar cseresznyenemesítésben az öntermékenység bevitelének céljából széles körűen felhasznált 'Cherry Self Fertile 46' fajtát *S*-genotípusa és irodalmi adatok egyeztetése alapján azonosnak véljük az angol JI 2538 öntermékeny klónnal.

Az öntermékeny fajták véleményünk szerint is univerzális termékenyítők. Termékenyítőképességükben mutatkoznak különbségek - amelyek oka feltehetően az eltérő pollenképzés, pollen-minőség vagy mennyiség - , amit a fajtatársításnál figyelembe kell venni.

Szabadföldi idegtermékenyülési vizsgálati eredményeinkből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a részben kompatibilis kombinációk terméskötődése gyakorlatilag nem kisebb, mint a teljesen kompatibilis kombinációk esetében.

A 'Margit' x 'Alex' és 'Germersdorfi 3' x 'Alex' kompatibilis és részben kompatibilis kombinációk pollentömlő-növekedése között különbséget találtunk. Az viszont nem tisztázott, hogy a 'Germersdorfi 3' x 'Alex' kombináció vontatottabb pollentömlő-növekedése a részben kompatibilis jellegből adódik, vagy a 'Germersdorfi 3' fajta örökletes tulajdonsága. Véleményünk szerint az *in vitro* pollentömlő-növekedés az ellenőrzött, egyenletes körülmények biztosításából fakadóan alkalmasabb az inkompatibilitás tanulmányozására, mint *in vivo*. A radikális kasztrálás nem befolyásolta hátrányosan a pollentömlő-növekedést.

Az öntermékeny cseresznyefajták nemesítése szempontjából az S-allélok DNS-szintű vizsgálatának szintén kiemelt jelentősége van. Egy adott fajtakombináció utódnemzedékének öntermékenyülését eddig csak termőkorú fák vizsgálatával lehetett megállapítani. DNS-alapú technika használatával – a szülők genotípusának ismeretében – az utódpopulációban az öntermékeny utódok már magonc korban kiemelhetők. A jövőben olyan, a pollen-komponens (F-box) gén vizsgálatán alapuló DNS-szintű módszer megjelenése várható, amely alkalmazásával az öntermékeny cseresznyefajták szelekciójához nem lesz szükség a szülők genotípusának ismeretére.

## 5. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

### Idegen nyelven megjelent folyóiratcikkek:

- BÉKEFI ZS., TOBUTT K. R., SONNEVELD T.** (2003): Determination of (in)compatibility genotypes of Hungarian sweet cherry (*Prunus avium* L.) accessions by PCR based methods. *International Journal of Horticultural Science* 9: 37-42.
- BÉKEFI ZS.** (2004): Incompatibility studies of Hungarian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars by traditional test crossings. *International Journal of Horticultural Science* 10: 43-47.
- BÉKEFI ZS.** (2004): Self-fertility studies of some sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars and selections. *International Journal of Horticultural Science* 10: 21-26.
- BÉKEFI ZS., HALÁSZ J.** (2005): Pollen tube growth in sweet cherry (*Prunus avium* L.) styles in compatible, half compatible and incompatible pollinations. *International Journal of Horticultural Science* 11: 63-68.

### Konferencia kiadványban megjelent idegen nyelvű cikkek:

- BÉKEFI Z., APOSTOL J., BORONKAY G.** (1999): Flowering dynamics in the Hungarian sour cherry genebank. *Acta Horticulturae* 538: 117-122.
- HALÁSZ J., HEGEDŰS A., HERMÁN R., BÉKEFI ZS., PEDRYC A.** (2004): Compatibility assesment of Pannonian apricot genotypes by PCR analysis and isoelectric focusing. In: **MARTÍNEK J., POKLUDA R., KOBZA F.** (Eds.): *International Conference on Horticulture Post-graduate (PhD) Study System and Conditions in Europe. 17-19 November, 2004. CD-ROM, 77-82. p.* (ISBN 80-7157-801-0.)
- BÉKEFI Z., BRÓZIK S.** (2005): Cross-compatibility studies in some Hungarian sweet cherry hybrids. *Acta Horticulturae* 667: 75-81.
- BÉKEFI Z., TOBUTT K. R., SONNEVELD T.** (2005): Genotyping Hungarian sweet cherry cultivars for self-incompatibility. *Acta Horticulturae* 663: 657-660.
- TOBUTT K.R., SONNEVELD T., BEKEFI Z., BOŠKOVIĆ R.** (2005): Cherry (in)compatibility genotypes - an updated cultivar table. *Acta Horticulturae* 663: 667-671.
- HALÁSZ J., HEGEDŰS A., HERMÁN R., BÉKEFI ZS., PEDRYC A.** (2005): Preliminary results of the investigation of the genetic background of self-incompatibility in apricot. In: **KUČERA L., KRŠKA B.** (Eds.): *Seminář nové metody ve studiu a šlechtění ovochných dřevin, Lednice, 2005. Febr. 25.* 65-70. p. ISBN 80-86555-59-3.

**Konferencia kiadványban megjelent magyar nyelvű összefoglalók:**

**BÉKEFI ZS., TOBUTT K. R., SONNEVELD T.** (2003): Hazai cseresznye fajták termékenyülési kérdéseinek tisztázása PCR-technikával (Clarification of fertility conditions among Hungarian sweet cherry cultivars by PCR based method). *Lippay János - Ormos Imre - Vas Károly Tudományos ülésszak 2003. november 6-7. Összefoglalók.* 62-63. p.

**BÉKEFI ZS., TOBUTT K. R., SONNEVELD T.** (2004): A cseresznye termékenyülés genetikai hátterében álló S-allélok előfordulása hazai fajtákban. *X. Növénynevelési Tudományos Napok Összefoglalók.* 77. p.

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

**Konferencia kiadványban megjelent idegen nyelvű összefoglalók:**

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

HALÁSZ J., RUTHNER S., **BÉKEFI Z.**, PEDRYC A. (2004): S-genotype characterization of several Hungarian apricot varieties. 14<sup>th</sup> FESPB Congress, Cracow. Book of Abstracts. *Acta Physiologiae Plantarum* 26: 168-169.