

DIPLOMADOLGOZAT

Mihályfi Csilla Rita

2024



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Szent István Campus

Genetika és Biotechnológia Intézet

Mezőgazdasági biotechnológus MSc

**CSERESZNYE GENOTÍPUSOK BELTARTALMI
ÉRTÉKEINEK VIZSGÁLATA**

Belső konzulens:	Dr. Veres Anikó Egyetemi docens
Belső konzulens intézete/tanszéke:	Genetika és Biotechnológia Intézet
Belső konzulens:	Bedő Janka Egyetemi tanársegéd
Belső konzulens intézete/tanszéke	Genetika és Biotechnológia Intézet
Belső konzulens:	Dr. Halász Gábor Endre Egyetemi docens
Belső konzulens intézete/tanszéke	Környezettudományi Intézet-Környezetanalitikai és Technológiai Tanszék

Készítette: Mihályfi Csilla Rita

Gödöllő

2024

Tartalom

1.	Bevezetés és célkitűzések.....	3
2.	Szakirodalmi áttekintés	4
2.1.	A faj rövid bemutatása, rendszertani besorolása	4
2.2.	Termesztés	5
2.3.	A vizsgált genotípusok rövid bemutatása	5
2.4.	A cseresznye színének alakulása az érés során	9
2.5.	Az antocianin-bioszintézis útvonala	10
2.6.	A flavonoid-bioszintézis útvonala	12
2.7.	Antocianinok és flavonoidok vizsgálata.....	12
2.8.	Polifenolmintázat eltérései a különböző cseresznyefajtákban.....	13
2.9.	MYB transzkripció faktorok	14
2.10.	PCR alapú technikák.....	15
2.11.	A fagyasztás hatása a gyümölcsre.....	16
2.12.	A termőterület meteorológiai jellemzői	17
3.	Anyag és módszer	19
3.1.	Felhasznált növényanyag és tárolása	19
3.2.	A termőterület időjárási adatai	19
3.3.	A gyümölcsök antocianin-tartalom mérése HPLC kromatográfiás módszerrel, a kivonás lépései	19
3.4.	DNS kivonása cseresznyelevelekből, a kivonás lépései.....	20
3.5.	PCR.....	21
4.	Eredmények és értékelésük	23
4.1.	Az antocianin-tartalom HPLC kromatográfiás vizsgálatának eredménye.....	23
4.1.1.	Egész cseresznye gyümölcs elemzése	24

4.1.2.	A cseresznye hús- és héj összehasonlítása	25
4.2.	CDDP markerek alkalmazása a levelekből kivont DNS mintákon	28
4.2.1.	Myb1 primer.....	28
4.2.2.	Myb2 primer.....	30
4.3.	A tárolás hatása a gyümölcsre	31
5.	Következtetések és javaslatok.....	35
6.	Összefoglalás.....	38
7.	Irodalomjegyzék.....	39
8.	Köszönetnyilvánítás	45

1. Bevezetés és célkitűzések

A cseresznye világszerte kedvelt gyümölcs. Táplálkozástudományi szempontból fontos tápanyagokban és bioaktív összetevőkben gazdag, mint például C-vitamin, rostok, valamint antocianin, és flavonoidok. Az utóbbiak hidrophil, másodlagos metabolitok, melyek narancssárga, piros színt kölcsönöznek a cseresznye termésének. Elsődleges ökológiai funkciójuk, hogy vonzzák a magok szétszórását végző ágenseket, valamint védelmet nyújtanak a növényi szöveteknek az abiotikus és biotikus stresszorokkal szemben.

A cseresznyét teljesen érett állapotban kell leszedni a jó minőség biztosítása érdekében, a rövid eltarthatósága miatt pedig a hidegtárolás segíti a piaci ablak meghosszabbítását.

Kutatások kimutatták, hogy a gyümölcs bioaktív összetevői számos biológiai folyamatot erősíthetnek vagy gátolhatnak, hozzájárulva a rák, a szív- és érrendszeri betegségek, a cukorbetegség és más gyulladásos állapotok megelőzéséhez. Az oxidatív stressz csökkenése segíthet a gyulladásos és tumoros növekedés elnyomásában, a glükózsztint szabályozásában, a húgysavtermelés gátlásában, valamint pozitív hatással van az agyműködésre is. A vonzó szín tehát nemcsak a piaci értéket növeli, hanem fontos szerepet játszik az egészséges táplálkozásban, mivel a gyümölcsök és zöldségek e bioaktív vegyületekkel gazdagítva hozzájárulnak az egészség megőrzéséhez.

A mesterséges élelmiszer-színezékekkel kapcsolatos aggodalmak miatt nőtt a kereslet a természetes, gyümölcscsszövetekből kivont antocianinok iránt, amelyeket a fogyasztók előnyben részesítenek. Ezért fontos, hogy a nemesítők figyelembe vegyék a gyümölcsök antocianin-tartalmát és olyan új fajtákat állítsanak elő, amelyek antocianinban gazdagok, vonzó színűek és egészségjavító tulajdonságokkal rendelkeznek.

Dolgozatomban különböző cseresznye genotípusokat elemzünk kémiai és molekuláris genetikai módszerekkel. Célunk, hogy HPLC-vel mérjük és összehasonlítsuk a különböző fajták antocianin és polifenol összmenntiségét az egész termésben, valamint külön a gyümölcshúsban és a héjban. Továbbá, hogy molekuláris módszerek segítségével megvizsgáljuk az antocianin biosztintézisben szerepet játszó főbb géneket és azok expresszióját. A kapott értékeket összevetjük a HPLC adatokkal, meghatározzuk az antocianin-biosztintézisben vagy annak szabályozásában szerepet játszó gének expresszióját és a kémiai analízissal kapott eredmények közötti összefüggéseket.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. A faj rövid bemutatása, rendszertani besorolása

A cseresznye (*Prunus avium*) zárvatermők (*Magnoliophyta*) törzsébe, rózsavirágúak (*Rosales*) rendjébe, rózsafélék (*Rosaceae*) családjába és a *Prunus* nemzetséghez tartozik, alapvető kromoszómaszáma $x=8$, diploid ($2n=16$) (Chockchaisawasdee et al., 2016).

Az alapfaj a vadcsesznye (*Prunus avium*), a legtöbb termesztett cseresznyefajtát ebből nemesítették. Mára több, mint ezer nemesített fajtája ismeretes (Faust és Surányi, 1997). Feltételezések szerint a cseresznye a Kaukázus hegyrendszertől délre fekvő területéről származik, és másodlagosan terjedt el Európában, Ázsia egyes részein, különösen Észak-Iránban, valamint Ukrajnában is (Dirlewanger et al., 2007). Európában a romániai és georgiai vadcsesznyefák nagyon eltérőnek tűntek a közép- és nyugat-európai vadcsesznyefákhoz képest. A georgiai vadcsesznyefák voltak a genetikailag legváltozatosabbak. A modern termesztett cseresznye ősei feltehetően a Kaszpi- és a Fekete-tenger környékéről származnak, ahonnan lassan terjedtek el madarak által. A cseresznyét ma már a világ több mint 40 országában termesztik kereskedelmi céllal, mérsékelt égövi, mediterrán, sőt szubtrópusi területeken is (Dirlewanger et al., 2007).

A cseresznye első írásos említése *Theophrastus* Kr. e. 300 körül írt növénytörténeti művében található. Valószínű, hogy a cseresznyét már évszázadokkal korábban háziassították Kis-Ázsiában és Görögországban. A Görögországból származó, termesztett cseresznyéről szóló feljegyzések arra utalnak, hogy nemcsak gyümölcsként, hanem a faanyag felhasználása miatt is termesztették. Termesztett formái az egész Római Birodalomban elterjedtek, a nyugati határt Angliáig kiterjesztve. A Római Birodalomból i.e. 72-ből származnak írásos emlékek (Faust és Surányi, 1997). Amerikában a hasznosítása az őskorig vezethető vissza, az amerikai őslakosok kőkorszak-beli barlangjaiban talált cseresznyemagok alapján (Mohácsy és Maliga 1959). A Kr. u. I. században *Plinius* római polihisztor leírta az édes, a savanyú és az örölt cseresznye fajtáit, amelyek vadon nőttek Itália egyes részein (Iezzoni et al., 1991). Meleg- és fényigénye miatt a mérsékelt égöv déli országaiban termesztik. Bár leginkább a déli országokban elterjedt, Olaszországtól Norvégiáig egyaránt jól termesztethető. Magyarországon Pest, Bács-Kiskun, Heves és Csongrád megyében a legintenzívebb a termesztésük, de az ország egész területén megtalálható (Gonda és Vaszily, 2014).

2.2. Termesztés

A cseresznye globális termesztése 2001 és 2021 között nagyjából 50%-kal nőtt, 1,8 millió tonnáról 2,7 millió tonnára. Napjainkra a gyümölcs magas tápértéke miatt rendkívül népszerűvé vált (Aubert et al., 2024).

Az utóbbi évek során a cseresznye termőterülete állandó maradt, 2018-ban 2 593 hektárról 2022-re 3 079 hektárra nőtt, míg a betakarított termés mennyisége jelentősen ingadozott: 2018-ban 12 018 tonna volt, 2020-ban 8 614 tonna, 2022-re pedig 11 607 tonnára emelkedett. A felvásárlási átlagár folyamatosan növekedett, 2018-ban 224 Ft/kg-ról 2022-re 370 Ft/kg-ra, míg a termelői-piaci átlagár ingadozott, 2018-ban 717 Ft/kg volt, 2021-re 1 094 Ft/kg-ra emelkedett, majd 2022-ben 1 064 Ft/kg-ra csökkent. A bruttó termelési érték is jelentős növekedést mutatott, 2018-ban 3 086 millió Ft-ról 2022-re 4 740 millió Ft-ra. Az értékesítés 2018-ban 8 878 tonna volt, 2022-ben pedig 10 271 tonnára nőtt, míg a közvetlen kivitel mennyisége 304 tonnáról 672 tonnára emelkedett. A külkereskedelemben a behozatal 2018-ban 66 tonna volt, amely 2022-re 106 tonnára nőtt, míg a kivitel 185 tonnáról 2021-ben 90 tonnára csökkent, de 2022-ben újra emelkedett 142 tonnára (URL1, Központi Statisztikai Hivatal). Az elmúlt években a fogyasztók egyre inkább tudatában vannak az élelmiszerek egészségre gyakorolt hatásának és sokan hajlandók magasabb árat fizetni a frissebb, jobb minőségű, ízletesebb és egészségesebb termékekért (Alsubhi et al., 2023).

A cseresznye termesztése Magyarországon az elmúlt években változatos képet mutatott. A termesztési terület nagyságában és a betakarított termés mennyiségében volt némi ingadozás, de az árak többnyire növekedtek. A külkereskedelmi adatok szerint Magyarország inkább exportál, de az import is növekedett az évek során. Az ágazat bruttó termesztési értékében szintén jelentős növekedést tapasztalunk, ami arra utal, hogy a cseresznye termesztése gazdaságilag egyre fontosabbá válik (URL1, Központi Statisztikai Hivatal).

A Központi Statisztikai Hivatal adatai alapján (URL2) a „Germersdorfi 3”, „Carmen”, „Bigarreau Burlat”, „Katalin”, „Szomolyai fekete”, „Linda”, „Kordia”, „Regina”, „Vera” és a „Van” fajták voltak a legnépszerűbb termesztett fajták 2017-ben.

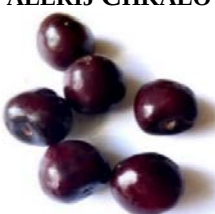
2.3. A vizsgált genotípusok rövid bemutatása

- ❖ A vizsgált genotípusokat az **1. táblázat** tartalmazza, amely saját és szerkesztett ábrákkal szemlélteti a gyümölcsök színét, átlagos méreteit, valamint külső tulajdonságait. Az összefoglaló jól bemutatja az egyes cseresznyefajták tulajdonságait, megkönnyítve az egyes típusok közötti választást. A fajtákat tulajdonságaik alapján (Forrás: URL3-URL16 alapján) különböző csoportokba lehet rendezni.

- ❖ Gyümölcs átmérője alapján: A kisebb átmérőjű (22-24 mm) fajták közé tartozik az „Anita”, „Bigarreau Burlat”, „Sándor” „Valerij Chkalov”. A nagyobb átmérőjű (24-28 mm) gyümölcsök közé sorolható az „Aida”, „Carmen”, „Krupnoplodnaja”, „Négus”, „Péter”, „Sárga hibrid”, „Szomolyai fekete”, „Tünde”, „Vega” és a „Vera”.
- ❖ Gyümölcs tömege szerint: A kisebb, 4-6 grammos fajták a „Bigarreau Burlat”, „Sándor”, „Szomolyai fekete” és a „Valerij Chkalov”, míg a nagyobb, 6-8 grammos típusok közé tartozik az „Aida”, „Anita”, „Carmen”, „Krupnoplodnaja”, „Négus”, „Péter”, „Sárga hibrid”, „Tünde”, „Vega” és a „Vera”.
- ❖ **Héj-és hússzín alapján:** A genotípusok három osztályba csoportosíthatók a gyümölcs színe alapján. Ez adja a vizsgálat alapját a későbbiekben.
 - **Világos típus:** „Sárga hibrid”, „Vega”
 - **Piros/bordó típus:** „Aida”, „Anita”, „Bigarreau Burlat”, „Krupnoplodnaja”, „Sándor”, „Tünde”, „Carmen”
 - **Sötét típus:** a „Négus”, „Péter”, „Szomolyai fekete”, „Valerij Chkalov”, „Vera”.
- ❖ Héj állaga szerint: Kemény héjú fajták az „Aida”, „Anita”, „Carmen”, „Krupnoplodnaja”, „Négus”, „Sándor”, „Szomolyai fekete”, „Tünde”, „Valerij Chkalov” és a „Vega”, míg vékonyabb héjjal rendelkezik a „Bigarreau Burlat”, „Sárga hibrid”, „Péter”, „Vera”.
- ❖ Felhasználási cél alapján: Friss fogyasztásra és tárolásra alkalmas az „Aida”, „Négus”, „Krupnoplodnaja”, „Sándor”, „Szomolyai fekete”, és a „Vera” míg friss fogyasztásra és befőzésre alkalmas a „Carmen”, „Péter”, „Valerij Chkalov”, a „Vega”, „Sárga hibrid”, és a „Tünde”.

1. táblázat: A vizsgálatban szereplő 14 cseresznye genotípus fő jellemzői (Forrás: saját munka, URL3-URL16 alapján)

	Adatok	Jellemzők	Szín
AIDA 	Átmérő: 26-29 mm Tömeg: 9-10 g	Húsa közepesnél keményebb, magja kicsi, héj középvastag	Hús: sötétpiros Héj: sötétpiros
ANITA 	Átmérő: 24 mm Tömeg: 6-7 g	Enyhén csúcsos, megnyúlt, kemény hús, roppanós héj	Hús: sötétpiros Héj: sötétpiros
BIGARREAU BURLAT 	Átmérő: 22-24 mm Tömeg: 5-6 g	Széles, kúp alak, hasi varratnál lapított, vékony héj, lédús, roppanós hús	Hús: sötétbordó Héj: sötétbordó
CARMEN 	Átmérő: 27-30 mm Tömeg: 8-11 g	Nyomott gömb alak, nagy termés, magja nagy, kocsánya hosszú	Hús: sötétpiros Héj: bordó
KRUPNOPLODNAJA 	Átmérő: 25-28 mm Tömeg: 8 g	A kocsány felől lapított, gömb alakú, magja kicsi, húsa kemény	Hús: sötétvörös Héj: sötétvörös
NÉGUS 	Átmérő: 25-28 mm Tömeg: 6-7 g	Kemény héj, friss fogyasztásra és tárolásra is alkalmas, hűtőipari célokra a legalkalmasabb	Hús: sötétvörös/ fekete Héj: sötétvörös/ fekete

PÉTER 	Átmérő: 25 mm Tömeg: 5-6 g	Kissé megnyúlt alak, közepesen vastag héj, nyers fogyasztásra és befőzésre is alkalmas	Hús: sötétpiros Héj: sötétpiros/ bordó
SÁNDOR 	Átmérő: 24-25 mm Tömeg: 4 g	Kissé megnyúlt gömb alak, húsa közepesen kemény	Hús: piros Héj: piros
SÁRGA HIBRID 	Átmérő: 24-25 mm Tömeg: 6-7 g	Héja közepesen vastag, jól tárolható	Hús: sárga Héj: sárga
SZOMOLYAI FEKETE 	Átmérő: 18 mm Tömeg: 4-5 g	Széles, lapított alak, bibepont enyhén besüllyedt, héj közepesen vastag hús félkemény	Hús: sötétbordó/ fekete Héj: sötétbordó/ fekete
TÜNDE 	Átmérő: 24-26 mm Tömeg: 5-6 g	Kocsány felől lapított gömb alak, héj közepes vastagságú	Hús: sötétpiros Héj: sötétbordó
VALERIJ CHKALOV 	Átmérő: 23-24 mm Tömeg: 5-6 g	Tompá, kúp alak, közepesen kemény, nem roppanós, hús a varrat mentén a maghoz tapad	Hús: sötét-rózsaszín Héj: sötétbordó

VEGA 	Átmérő: 24 mm Tömeg: 6-8 g	Alakja nyomott gömb, hék vastag, hús közepesen kemény, nem reped, roppanós	Hús: sárga Hék: sárgás-piros, tarka
VERA 	Átmérő: 24-27 mm Tömeg: 7-9 g	Alakja lapított gömb, hús nem roppanós, magja közepesen nagy, kocsánya hosszú	Hús: sötétbordó Hék: sötétbordó

Romániában 2023-ban végeztek egy kísérletet, mely során 13 román nemesítésű hasonlítottak össze 11 nemzetközi fajtával, amelybe az általunk is vizsgált „Bigarreau Burlat” is beletartozott. Különböző fizikai-kémiai módszereket alkalmaztak, mint például gyümölcsméret-meghatározása, hússzilárdság mérése penetrométerrel, oldható szárazanyag-tartalom digitális refraktométerrel, pH mérés, valamint érzékszervi vakteszt, melynek során a tesztelők egy egytől kilencig skálán értékelték a gyümölcsöket. Bár az érzékszervi teszteken a román genotípusok szerepeltek jobban néhány tized ponttal, a fizikai teszteken a nemzetközi genotípusok magasabb pontszámot értek el (Stan et al., 2023). Egy horvát vizsgálatban a „Bigarreau Burlat” fajtánál igen magas antocianin és flavonoidtartalmat határoztak meg (Veršić et al., 2022).

2.4. A cseresznye színének alakulása az érés során

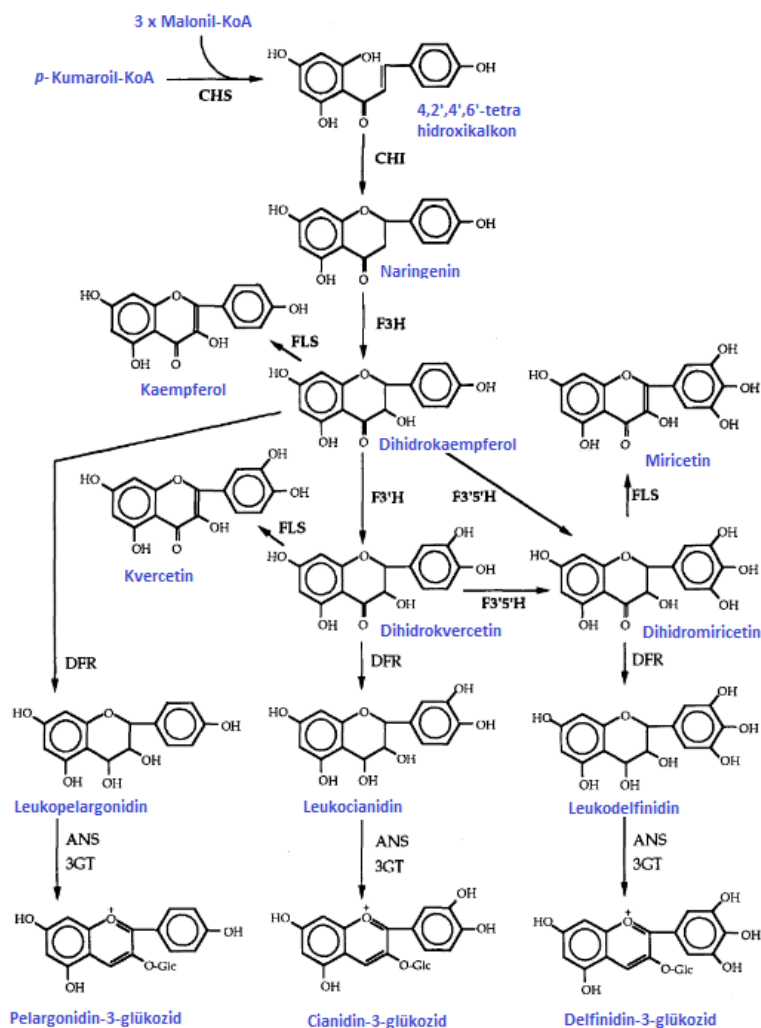
Az antocianinok fontos természetes vízoldható flavonoid pigmentek, amelyek széles körben elterjedtek a levelekben, gyümölcsökben, magvakban, virágokban, valamint felelősek a vörös, lila, fekete és kék színért ezekben a növényi szervekben. Különböző biológiai és fiziológiai funkciókat látnak el, amelyek elősegítik a beporzást és a magvak szétterjedését, biotikus és abiotikus stresszrezisztenciát biztosítanak, és meghosszabbítják a növények termésének élettartamát (Qi et al., 2022). A folyamatot irányító biokémiai jelek és útvonalak azonban még mindig ismeretlenek sok esetben. Az viszont ismert, hogy a sötétvörös és a kétszínű cseresznyefajták közötti különbségek a MYB transzkripciós faktor génmutációin alapulnak (Allan et al., 2008). Különböző növényfajokon végzett vizsgálatokból egyértelművé vált, hogy ezt a koordinált expressziót transzkripciós szinten szabályozza, általában egy R2R3 MYB és/vagy egy alapvető hélix-hurok-hélix (bHLH) transzkripciós faktor (TF) (Allan et al., 2008).

Az antocianintermelés szabályozása számos külső tényezőtől függ, mint a fény és a hőmérséklet (Muhammad et al., 2023). A belső jelek, beleértve a fitohormonokat, mint például az abszcizinsavat, szintén fontosak, mivel kulcsszerepet játszanak a nem klimakterikus fajok érésének megindításában (Wheeler et al., 2009). Ezt a folyamatot Acevedo és munkatársai vizsgálták 2023-ban. Céljuk, hogy meghatározzák az abszcizinsav szerepét a színkontrasztos fajták színezési folyamatában. Egy kétszínű fajtával („Royal Rainier”) és egy sötétvörös fajtával („Lapins”) vizsgálták a fenolok felhalmozódási mintázatait, melyek különböztek egymástól. Az abszcizinsav bioszintetikus gének (PavPSY, PavZEP és PavNCED1) transzkripció növekedési rátája drámaian csökkent a rózsaszíntől a vörösig a „Royal Rainier”-ben, de nőtt a „Lapins”-ban, ami összefüggést mutatott a magasabb abszcizinsav-tartalommal ebben a sötétvörös fajtában. Az abszcizinsav jelátvitelében szerepet játszó géneket (PavPP2Cs, PavSnRKs és PavMYB44.1) nagyon kis mennyiségben detektálták a „Royal Rainier” vörös szakaszában. A terepi kísérletek kimutatták, hogy a „Royal Rainier” színfejlődés érzéketlen volt az exogén abszcizinsavra, míg a „Lapins”-nál megnövekedett. Ezenkívül az abszcizinsav kezelés növelte a jelátviteli gének transzkriptumszintjét a „Lapins”-ban. Foglalkoztak továbbá azzal, hogy az abszcizinsav-útvonal legyengül-e a kétszínű fajtákban. Az antocianinszintek elemzése kimutatta, hogy a cianidin-3-O-glükozid, peonidin-3-O-glükozid és peonidin-3-O-galaktozid nem volt kimutatható a „Royal Rainier” fajtában, de a „Lapins” különböző színtáriumában növekedett. Nevezetesen, a teljes antocianin-tartalom magasabb volt a „Lapins”-ban a „Royal Rainier”-hez képest az összes fejlődési szakaszban.

2.5. Az antocianin-bioszintézis útvonala

Az egyes fajok által termelt antocianinok típusai között van néhány fontos különbség. Némely faj nem termel pelargonidin pigmenteket (pl. petúnia), míg más fajok nem képesek delfinidin pigmenteket termelni (pl. kukorica), illetve különböző az antocianinok módosulásának mértéke is. Az összes flavonoid, köztük az antocianinok szintézisének prekursorai a malonil koenzim A és a *p*-kumaroil koenzim A kalkon-szintáz katalizálja a malonil koenzim-A három acetátegységének lépésenkénti kondenzációját *p*-kumaroil koenzim-A-val, így tetrahydroxi-kalkon keletkezik. A kalkon-izomeráz ezután katalizálja a sárga színű tetrahydroxi-kalkon sztereospecifikus izomerizációját a színtelen naringeninné. A naringenint a flavanon-3-hidroxiláz dihidrokaempferollá alakítja. A dihidrokaempferol ezt követően a flavonoid 3'-hidroxilázal hidroxilezhető dihidrokvercetin vagy flavonoid 3,5'-hidroxilázal dihidromiricetin előállítására. A flavonoid 3'-hidroxiláz a dihidrokvercetint is képes dihidromiricetinre konvertálni. Legalább három enzim szükséges a színtelen dihidroflavonolok

(dihidrokaempferol, dihidrovercetin és dihidromiricetin) antocianinokká történő átalakításához. Az első ilyen enzimatiszus átalakulás a dihidroflavonolok flavan 9,4-cisz-diolkká (leukoantocianidinek) történő redukálása dihidroflavonol-4-reduktáz által. A különböző leukoantocianidinek további oxidációja, dehidratálása és glikozilációja a megfelelő téglavörös pelargonidin, vörös cianidin és kék delfinidin pigmenteket eredményezi. Az antocianidin-3-glükozidok sok fajban tovább módosíthatók glikozilezéssel, metilezéssel és acilezéssel. Mind a fajok, mind a fajták eltérései vannak a módosítás mértékében, valamint a kapcsolódó glikozidok és acilcsoportok típusaiban (Holton és Cornish, 1995). Az antocianinok általánosított bioszintetikus útvonala az **1. ábrán** látható (Holton és Cornish, 1995).



1. ábra: Antocianin- és flavonoid bioszintetikus út (Forrás: saját szerkesztés Holton és Cornish, 1995 nyomán)

2.6. A flavonoid-bioszintézis útvonala

A flavonoidok a másodlagos anyagcseretermékek egy olyan osztálya, amely minden magasabb rendű növényben megtalálható. Olyan fenolos vegyületek, amelyek két, C3-egység által összetartott aromás gyűrűből épülnek fel. A C3 egység oxidációs foka alapján a flavonoidokat olyan alosztályokra osztják, mint a flavonolok, flavanonok, izoflavonoidok és antociánok. Minden egyes flavonoid típus további módosításokon megy keresztül, mint például hidroxilálás, metilálás, acilálás, glükózilálás vagy ramnozilálás, ami a természetben található flavonoidok hatalmas változatosságát és színeit eredményezi. A flavonoidok szintézise 1 molekula 4-kumaroil-koenzim-A és három molekula malonil-koenzim-A kondenzációjával kezdődik, melynek eredményeként naringenin-kalkon keletkezik. Ezt a reakciót a kalkonszintáz enzim végzi. A kalkon két közvetlen prekursora az elsődleges anyagcsere két különböző útvonaláról származik. A kumaroil-koenzim-A a fenilalanin aminosavból szintetizálódik három enzimatis lépéssel, amelyeket együttesen általános fenilpropanoid útvonalnak neveznek, mivel az érintett szerkezetek fenilpropan-alapúak, és számos vegyület, például lignin, kumarinok, sztilbenek és flavonoidok bioszintézisében közösek. A malonil-koenzim-A az acetil-koenzim-A, a Krebs-trikarbonsavciklus központi intermediérének karboxilálásával szintetizálódik. A kalkont ezt követően a kalkon-flavanon-izomeráz enzim izomerizálja, és így egy flavanon keletkezik. Ezekből a központi közttermékekből az útvonal több oldalára ágazik szét, amelyek mindegyike a flavonoidok különböző osztályát eredményezi (Koes et al., 1994).

2.7. Antocianinok és flavonoidok vizsgálata

A cseresznye antocianintartalmát már a XX. század elején felfedezték: 1916-ban azonosították a 3-rutinozid és 3-glükozid cianidineket érett cseresznyékben, 1964-ben a peonidint, illetve két glikozidos származékot, 1968-ban pedig további cianidin származékokat. A '60-as évek végén papírkromatográfiával próbálták azonosítani a cseresznyében található fenolokat. Kilenc pigmentet el tudtak választani egymástól, de ez a fajta mérési módszer nem volt hosszú távon sikeres a felhasznált oldószerek és a pigmentek bomlékonysága miatt, a nagy teljesítményű folyadékkromatográfiát (HPLC) pedig a '70-es években kezdték el antocianinok mérésére használni, viszont cseresznye esetében még nem volt elterjedt mérési módszer (Gao és Mazza, 1995).

Egy 2007-es kísérletben többek között a „Burlat” cseresznyefajta antocianin-tartalmát is vizsgálták HPLC-DAD módszerrel az érés és betakarítás után. A vizsgálat során nagy mennyiségben mértek cianidin-3-rutinozid és cianidin-3-glükozid komponenseket. A szín és az árnyalat kromatikus funkciói szorosan korreláltak a szín és az antocianin-szintek alakulásával

a cseresznye tárolása során és azt mutatták, hogy a színmérésekkel nyomon követhető a cseresznye pigmentevolúciója és antocianin tartalma (Gonçalves et al., 2007).

A cseresznye színe nyilvánvalóan változik az érés során az antocianinok és a flavonoidok változásainak köszönhetően így heterogén színt kialakítva. A szín kialakulásáért mégis, elsősorban az antocianinok felelnek (Liu et al., 2011). A sárgás-pirosas és a teljes piros cseresznyefajta közötti különbség hét antocianin komponensnek köszönhető (cianidin-3-O-arabinozidnak, cianidin-3,5-O-diglükózidnak, cianidin-3-xilozid, peonidin-3-O-glükózid, peonidin-3-O-rutinozid, cianidin-3-O-galaktozid, cianidin-3-O-glükózid, peonidin-3-O-rutinozid-5-O-glükózid, pelargonidin-3-O-glükózid és pelargonidin-3-O-rutinozid). MYB transzkripciós faktorok segítségével kimutatták, hogy pozitív korreláció van az antocianin-tartalommal, ami azt jelenti, hogy a struktúrgének különböző mértékű génexpressziója fog felelni a színváltozatokét (Chu et al., 2023).

2.8. Polifenolmintázat eltérései a különböző cseresznyefajtákban

Oancea és társai 2015-ben megállapították, hogy a „Black Gold” cseresznyefajta összes antocianin tartalma 183,63 és 328,28 mg/100 g között változott. Egy 2009-es tanulmányban (Jakobek et al., 2009) a vörös cseresznye cianidin-3-O-rutinozidot tartalmazott, mint fő antocianin. A legmagasabb cianidin-3-O-rutinozid tartalmat a „Kordia” fajta mutatta, 185 mg/100 g-al. A „Regina” és „Skeena” piros cseresznye a „Kordiához” hasonlított, 159 mg/100 g cianidin-3-O-rutinozidot, illetve 134 mg/100 g mértek. A neoklorogénsav koncentrációja 15-65 mg/100 g között volt, szintén a „Black Gold” fajtából mérve. Ez a fajta sötét hússal és héjjal rendelkezik, antocianinban gazdag. (Antognoni et al., 2020). Moeller B. és Herrmann K. tanulmányában (1983) a „Maibigarreau” fajtában 21,80 mg/100 g kumaroil-kinasavat mértek. Ez egy világosabb, tarkább fajta, míg a „Souvenir de Charme” és a „Grosse Schwarze Knorpel” sötétbordó fajtákban ennél némileg kevesebbet, 18,30 mg/100 g és 10,20 mg/100 g koncentrációt mértek. Gao és Mazza (1995) „Sam” nevű fajtában 131,45mg/100 g kumaroil-kinasavat mért, ami a többi fajtához képest kiemelkedett. Egy 2000-ben készült vizsgálat során (Arts) az epikatechin volt a legnagyobb mennyiségben előforduló flavanol, ezt követte a katechin és a procianidin B2. Általánosságban elmondható, hogy katechint minden flavanol tartalmú fajtában találtak. Különböző fajtákban 5,45 mg/100 g epikatechint mértek (de Pascual-Teresa et al., 2000), míg Arts és munkatársai 9,53 mg/100 g-ot (2000). Magas flavonoid tartalommal rendelkezik a „Kavics” és a „Hedelfinger”, 1,94 mg/g rutin detektálható bennük, míg a legalacsonyabb összes flavonoid tartalmú fajta a „Rita” 0,44 g mg/g-kal (Prvulovic et al., 2011). A kvercetin-3-O-glükózid koncentrációja 1,6 és 7,9 µg/g közötti tartományban van

Nunes és munkatársai vizsgálatában (2021a). Bizonyos flavonoidokról, különösen a kvercetinről kimutatták, hogy javítják az endoteliális diszfunkciót és csökkentik a vérnyomást, valószínűleg az erős értágító nitrogén-monoxid biológiai hozzáférhetőségének növelésével (Bondonno et al., 2016). Jakobek és munkatársai (2009) a „Lapins” cseresznyefajtát vizsgálták, melynek fő fenolsavai a neoklorogénsav (0,018-0,05 mg/g), a klorogénsav (0,019 mg/g) és a kumaroil-kinasav (0,015-0,125 mg/g) származékok voltak. A kvercetin-3-rutinozid (0,008-0,037 mg/g) mennyisége is jelentős volt. Szintén a „Lapins”-ban a kaempferol-3-O-glükozid 6,6 µg/g (Clodoveo et al., 2023). Boskov és munkatársai 2022-ben igen kis koncentrációban, 0,0034 µg/g mennyiségben detektálták a dikaffeoil-kinasavat a „Carmen” fajtában, neoklorogénsav koncentrációt pedig Nunes és munkatársai (2021b), valamint Jakobek és munkatársai 2009-ben publikáltak. Az előbbi tanulmányban a „Saco” típusban detektáltak 19 µg/g-ot, az utóbbi vizsgálat során pedig a „Lapins” fajtában mértek 6,6 µg/g-ot.

2.9. MYB transzkripció faktorok

A transzkripció faktorok (TF-ek), azaz szekvencia-specifikus DNS-kötő faktorok azok a fehérjék, amelyek szabályozzák a genetikai információnak a DNS-ből a hírvivő RNS-be történő transzkripciójának sebességét egy meghatározott DNS-szekvenciához való kapcsolódás révén. A TF-ek úgy szabályozzák a géneket, hogy be- és kikapcsolják azokat, hogy biztosítsák, hogy azok a megfelelő sejtben a megfelelő időben és mennyiségben fejeződjenek ki a sejt és a szervezet élete során (Karin et al., 1990, de Mendoza et al., 2013). A növényvilág egyik legnagyobb TF családját a MYB géncsaládba sorolták (Peng et al., 2016). A c-MYB-szerű TF volt az, amelyet *Zea mays*-ban fedeztek fel, és igazolták az antocianin bioszintézisét is (Paz-Ares et al., 1987). Háromféle MYB TF-et (A-MYB, B-MYB, c-MYB) fedeztek fel később számos nyálkacsepészben, gombában, rovarban és gerincesben (Weston, 1998). A MYB transzkripció faktorok (TF) a legnagyobb géncsalád a növényekben, amelyek részt vesznek a fejlődésben, az anyagcserében, a védekezésben, a differenciálódásban és a stresszválaszban. Különféle növényfajokon tanulmányozták átfogó vizsgálata azonban a cseresznyében még hiányos. A MYB fehérjét egy erősen konzervált MYB DNS-kötő domén jelenléte jellemzi az N-terminálison. A MYB domének általában legfeljebb négy tökéletlen aminosav szekvencia ismétlődésből (R) állnak, körülbelül 50-53 aminosavból, és három alfa-hélixet alkotnak. Az egyes ismétlődések második és harmadik hélicei egy hélix-turn-helix szerkezetet építenek fel három, egymástól gyakran elhelyezkedő triptofánnal, amely hidrofób magot hoz létre (Ogata et al., 1996). Az egyes ismétlődések harmadik hélixét a DNS-felismerő hélixként ismerték fel, amely közvetlenül megközelíti a DNS-t (Jia et al., 2004). Két MYB ismétlődés sűrűn tömörül

a központi barázdában a DNS-kölcsönhatás során, és lehetővé teszi, hogy a két felismerő hélix kötődjön az egyedi DNS felismerő szekvencia motívumhoz. A MYB TF-et 1-4 MYB-ismétlődés jelenléte alapján négy kategóriába sorolják (1RMYB, R2R3MYB, 3RMYB és 4RMYB) (Roy et al., 2016, Cao et al., 2019, Yifan et al., 2020).

Sabir és munkársai (2022) a MYB család genomszintű elemzését végezték el cseresznyében, amely magában foglalta a PavMYB génmodell segítségével végzett adatbázis-kereséseket és filogenetikai kapcsolatokat, génstruktúrákat, kromoszómapozíciókat, szinténikus kapcsolatokat. A géncsaládot még nem vizsgálták alaposan, és több funkciója egyelőre tisztázatlan. A kutatásban a PavMYB családot alaposan tanulmányozták a filogenetika, a génstruktúrák, a promóter régiók, a génduplikációs események, a szekvencia jellemzők, a kromoszómális elhelyezkedések, és az expressziós minták elemzésével. Az *in silico* analízis és a qRT-PCR expressziós mintázata azt mutatták, hogy a PavMYB létfontosságú szerepet játszhat a rügyek nyugalmi állapotában. A nyugalmi állapot indukciójában részt vevő PavMYB gének azonosítása és értékelése segít megérteni azokat a nyugalmi folyamatokat, amelyek végső soron hozzájárulnak a gyümölcstermelés fokozásához.

2.10. PCR alapú technikák

A polimeráz láncreakció (PCR) szinte minden modern molekuláris vizsgálat alapja. A PCR segítségével egy meghatározott célszekvencia gyorsan és szelektíven amplifikálható egy kvázi-exponenciális láncreakció során, amely több millió másolatot generál. A reakció egyszerűen beállítható, olcsó, gyors, rugalmas és érzékeny, az egyetlen követelmény a célnukleotid szekvenciájának némi ismerete (Green és Sambrook, 2019).

A valós idejű, kvantitatív PCR (**qPCR**) alkalmas a PCR-termékek kimutatására és pontos mennyiségi meghatározására. Segít csökkenteni a kimutatási időt, és kevesebb DNS-vagy RNS-koncentrációt igényel. Nincs szükség gélelektroforézisre a PCR-termék ellenőrzéséhez és nem áll fenn a szennyeződés kockázata. A valós idejű PCR futási folyamata közvetlenül nyomon követhető a számítógép képernyőjén az exponenciális görbe elemzésével. Az eljáráshoz kezdetben reverz transzkriptáz enzimre van szükség, hogy az egyszálú RNS-t cDNS-sé alakítsák át (Gautam és Kumar, 2020). Alkalmas mikroorganizmusok kimutatására és mennyiségi meghatározására (Postollec et al., 2011). Cseresznye esetén Miranda és munkársai (2020) génexpressziós profilozást végeztek két kereskedelmi cseresznyefajtában („Santina” és „Royal Rainier”) a hűtőtárolás során, exogén melatoninnal szembeni metabolikus és transzkripciós reakciót vizsgáltak, a kiértékeléshez pedig RT-qPCR-t alkalmaztak.

Collard és Mackill 2009-es tanulmányában a konzervált DNS-eredetű polimorfizmus (CDDP) technikát alkalmazta DNS-markerek előállítására. Növényi gének konzervált DNS-régióit használták fel, amelyek elsősorban az abiotikus és biotikus stresszre adott válaszbán vagy a növény fejlődésében vesznek részt. Ezek a rövid konzervált génszekvenciák több helyen jelen vannak növényi genomban, így több primer kötőhely is található. A RAPD módszerhez képest ez a módszer hosszabb primereket és magasabb hőkezelési hőmérsékletet használ, ami javítja a módszer reprodukálhatóságát. Továbbá, a módszer olyan régiókra összpontosít, amelyek előnyösebbek lehetnek a véletlenszerű markerekkel szemben a QTL-térképezés során. A technikát több növényfaj esetén is alkalmazták. A szőlő esetén hatékony a genetikai variabilitás vizsgálatára, különböző minták azonosítására és különböző variációk elkülönítésére (Alotaibi, 2020).

Egy friss kutatás során (Holušová et al., 2024) új markerek segítettek a cseresznye virágzási időszak genetikai kiválasztásában. A cseresznye termőképessége csökkenhet az egyre enyhébb telekkel rendelkező régiókban a rövid nyugalmi állapot miatt, ami jellemzően a későn virágzó genotípusokat érinti. Ezzel szemben a késő tavaszi fagyok veszélyeztetik a termést a hidegebb területeken, különösen a korán virágzó fajták esetén, ami fontos lehet a különböző éghajlati viszonyokhoz való alkalmazkodásban. Az ilyen típusú genotípusok marker-asszisztált molekuláris szelekciójának megkönnyítése érdekében új, korai virágzással kapcsolatos markereket kutattak. A kutatás során 298 cseresznye genotípust elemeztek, és 163 egyedi nukleotid-polimorfizmust azonosítottak, amelyek a virágzás időpontjával volt összefüggésben. Az így kifejlesztett markerek lehetővé teszik a kései virágzású genotípusok és az időben virágzó fajták azonosítását, ezáltal segítve a fajták helyi éghajlathoz való igazítását. A CDDP markereket tehát a cseresznye termesztésében és a virágzási idő optimalizálásában használták, hogy minimalizálják a fagykárokat és javítsák a termés hozamát.

2.11. A fagyasztás hatása a gyümölcsre

A tárolás és a szállítás során a cseresznye gyümölcse megpuhul, elsötétedik, és a cukor-sav egyensúlyban változások következnek be, amelyek befolyásolják az ízeket (Kupferman, 1995). A betakarítás utáni főbb minőségben bekövetkező romlási tulajdonságok közé tartozik a nedvességvesztés, a puhulás, a rothadás és a szár barnulása (Bernalte et al., 2003).

Számos olyan betakarítás utáni kezelés létezik, amely késlelteti ezeket a változásokat, mint például a vegyszerek, a besugárzás vagy az alacsony hőmérsékletű kezelések. Mindazonáltal egyre inkább tudatosul a fogyasztók körében, hogy a gyümölcsökön alkalmazott vegyszeres kezelések közül sok potenciálisan káros az emberre (Klein és Lurie, 1991).

A fagyasztás megőrzi a cseresznye eredeti ízét és biológiailag aktív anyagait a lehető legnagyobb mértékben. A fagyasztással szemben támasztott fő követelmény, hogy olyan feltételeket biztosítsunk, amelyek mellett a cseresznye termése nem deformálódik, integritása megmarad, az egyes termések összezsugorodásának lehetősége kizárt, olyan fagyasztott termék készüljön, amely könnyen fogyasztható, csomagolható és feldolgozható (Bernalte et al., 2003).

Vasylyshyna 2016-os tanulmányában a „Lotovka” fajtából származó gyümölcsöket vizsgálta. Különböző módon fagyasztott le azokat: polietilén zacskókba csomagolva és 20%-os cukoroldatban tárolva, valamint ugyanígy, 4%-os aszkorutin hozzáadása mellett. A fagyasztott termékeket -18°C -nál nem magasabb hőmérsékleten tárolta hat hónapig. Az aszkorutinnal kezelt gyümölcsök előnyei a következők: az aszkorbinsav 20%-os megőrzése, a cseresznye- és színezőanyag-tartalom csökkentése maximum 27%-kal, az oldható szárazanyag 7%-kal, a cukor 4%-kal, a savak pedig 12%-kal való csökkenése. Ez a módszer ideális lehet a cseresznye hosszú távú tartósítására.

Gonçalves és munkatársai (2004) szüretkor, hat és harminc napig tartó 2 és 15°C -on történő tárolás után vizsgálta a komponenseket. Tanulmányuk arra az eredményre jutott, hogy a hőmérséklet és a tárolási idő befolyásolja a fenolok koncentrációját, a rutin komponens esetén. A 15°C -on végzett tárolás növelte a vegyület koncentrációját a „Saco” és „Summit” fajtákban, míg a „Burlat” fajtában a neoklorogénsav koncentrációja is nőtt. Oliveira és munkatársai (2016) kutatása az őszibarackra vonatkozott. A hosszú távú fagyasztás után a klorogénsav és más fenolos vegyületek koncentrációja csökkent, ami alátámasztja, hogy a hosszú tárolás általában a fenolok csökkenéséhez vezet. Zhao és munkatársai (2019) tanulmányában a „Tieton” cseresznye esetében a neoklorogénsav szintje szintén csökkent a tárolás során, ami arra utal, hogy a tárolási hőmérséklet közvetlen hatással van a fenolos összetevőkre.

2.12. A termőterület meteorológiai jellemzői

Kutatásunkban nem csak a tárolásnak, hanem a hőmérsékletnek is befolyása lehetett a komponensek keletkezésére, így érdemes megvizsgálni a különböző évekre vonatkozó meteorológiai adatokat.

A 2019-es nyár rendkívül meleg volt, az évszak középhőmérséklete $22,3^{\circ}\text{C}$ volt, ami $2,1^{\circ}\text{C}$ -kal magasabb az 1981–2010-es átlaghoz képest. Ez 1901 óta a második legmelegebb nyárnak számított Magyarországon. Június volt a legmelegebb hónap. Gyakori hóhullámok fordultak elő, amikor a napi középhőmérséklet meghaladta a 25°C -ot. A csapadék 11%-kal

kevesebb volt a sokéves átlagnál, de felhőszakadások és jégesők több alkalommal okoztak károkat, különösen június közepén (URL17, Országos Meteorológiai Szolgálat).

2021 nyara rendkívül forró és száraz volt, különösen június, amikor Pest megyét, így Érdet is több hőhullám érintette. A legintenzívebb hőhullám június 18-30. között zajlott, amikor a hőmérséklet gyakran meghaladta a 35°C-ot, sőt egyes napokon 36-38°C közötti csúcsokat mértek. Az országos átlag hőmérséklete elérte a 28,6°C-ot (URL18, Országos Meteorológiai Szolgálat).

2022 nyarán meleg időjárás uralkodott, különösen júniusban, amikor a csúcshőmérsékletek 25-35°C között mozogtak. Záporok és zivatarok is előfordultak, de ezek szórványosak voltak. A hónap végére már szárazabb, napos idő vált jellemzővé. A csapadék mennyisége átlagos volt, de néhány nap erősebb zivatarokat hozott, például június 8-án (URL19, Agrárszektor).

2024 nyara rendkívüli hőséget hozott, gyakori hőhullámokkal. Június közepétől 35°C feletti hőmérsékleteket mértek Érden, és több helyen a 40°C-ot is elérték (URL20, Országos Meteorológiai Szolgálat).

3. Anyag és módszer

3.1. Felhasznált növényanyag és tárolása

A vizsgált 14 genotípust a MATE Gyümölcstermesztési Kutatóközpont Érd, Érdi Elvira Major biztosította. A mintavételezés random történt. Négy év genotípusait használtuk fel: 2019, 2021, 2022, 2024. A vizsgálatok során felhasználtam a gyümölcsöket- egyben, illetve külön a hús és héj-, valamint a leveleket is.

A vizsgálat genotípusok:

- | | | |
|----------------------|----------------------|---------------------|
| • „Aida” | • „Négus” | • „Tünde” |
| • „Anita” | • „Péter” | • „Valerij Chkalov” |
| • „Bigarreau Burlat” | • „Sándor” | • „Vega” |
| • „Carmen” | • „Sárga hibrid” | • „Vera” |
| • „Krupnoplodnaja” | • „Szomolyai fekete” | |

A 2019-es és 2024-es mintákat a szedés után azonnal folyékony nitrogénbe helyeztük, míg a 2021-es és 2022-es mintákat nem helyeztük közvetlenül folyékony nitrogénbe, hanem 30 perc elteltével. Mind a két esetben a későbbiekben -70°C-on, felhasználásig tároltuk a mintákat.

3.2. A termőterület időjárási adatai

Az adatok feldolgozásához az Országos Meteorológiai Szolgálat biztosította az adatokat, melyeket a 2.12. alfejezetben részleteztem.

3.3. A gyümölcsök antocianin-tartalom mérése HPLC kromatográfiás módszerrel, a kivonás lépései

A fagyasztott mintákból 1,5-2 g mennyiséget dörzsöltünk el dörzsmozsárban, kevés kvarchomokkal. Oldatot készítettünk 3 vegyesszázalékos metafoszforsav oldatból, ami 70%-át alkotta az oldatnak és metanolból. Minden mintára 30 ml-t számoltunk. A kivonatot 15 percig rázattuk 300 fordulat/perc sebességen, majd 24 óráig hűtőben tároltuk 4°C-on. A mintáknak ultrahangos kezelést adtunk 5 percig, 18 °C-on, majd centrifugáltuk 5 percig 5000 g sebességen. A kivonatot leszűrtük 0,45 µm pórusméretű hidrofób PVDF anyagú fecskendőszűrőn keresztül üvegmintatartóba, majd a HPLC rendszerbe helyeztük (Hitachi Chromaster, Supelco Ascentis® Express 90 Å C18-PCP 15 cm x 4,6 mm, 2,7 µm oszloptípus).

A mintákat összesen tíz hullámhosszon vizsgáltuk, a **2. táblázat** szemlélteti a komponensek neveit és az adott hullámhosszt, amin detektáltunk. Az összes antocianin koncentrációja tartalmaz cianidin-3-glükozidot, cianidin-3-rutinozidot, pelargonidin-3-rutinozidot és peonidin-3-rutinozidot. Ezeket a vizsgálat során összesítettük, így összes antocianin-tartalmat mértünk. A HPLC rendszer vezérlését és a kromatogramok értékelését

OpenLab 2.8. szoftverrel végeztük. Az oldószermennyiség és a tömeg alapján meghatároztuk a komponensek faktorát, ezzel korrigáltuk az eredményt. A koncentrációt a terület, a mért hullámhossz és a faktor segítségével kaptuk meg az alábbi képlet szerint: $\frac{\text{Terület}}{1.000.000} * \text{faktor}$. Eredményül a cseresznye egyes komponenseinek mennyiségének koncentrációját kaptuk, µg/g-ban.

2. táblázat: Az adott hullámhosszon detektált komponensek (Forrás: saját munka)

Komponens	Detektált hullámhossz (nm)
Össz. antocianin	516
Neoklorogénsav	325
Kumaroil-kinasav	311
Epikatechin	279
Rutin	355
Kvercetin-3-glükózid	355
Naringenin-dihexóz	289
Dikaffeoil-kinasav	288
Kaempferol-glükózid	348
Klorogénsav	325

3.4. DNS kivonása cseresznyeleveléből, a kivonás lépései

A begyűjtött, majd -70°C-on tárolt levelekből a Qiagen DNeasy® Plant Mini Kit DNS kivonó kit protokollja alapján DNS-t izoláltunk. A mintákat késhegynyi PVP-vel (polivinil-pirrolidon) dörzsöltük el. A dörzsöléshez előre behűtött dörzsmozsarakat és botokat használtunk, a folyamat során pedig ügyeltünk rá, hogy a minták ne olvadjanak ki, így folyamatosan folyékony nitrogént adagoltunk a mozsárba. A porrá dörzsölt mintákat előre előkészített, 400 µl AP1 puffert tartalmazó csövekbe adagoltuk detergenssel kezelt spatulával. Jégen 4 µl RNáz-t adagoltunk a csövekbe. A jég biztosította a folyamatos hűtést. Az oldatot vortex segítségével összekevertük, majd inkubáltuk 10 percig, 65 °C-on, közben 2-3 alkalommal megfordítottuk a csöveket. Ezt követően hozzáadtunk 130 µl P3 puffert, összekevertük és inkubáltuk 5 percig, jégen, majd centrifugáltuk 5 percig 20.000 x g (14.000 rpm) sebességen. A lizátumot QIAshredder spin oszlopba pipettáztuk, amit 2 ml-es gyűjtőcsőbe helyeztünk. Ezt 2 percig 20.000 x g sebességen centrifugáltuk. Az áthaladó folyadékot átöntöttük egy új csőbe anélkül, hogy megzavarnánk az esetlegesen jelen lévő pelletet. Ezután hozzáadtunk 1,5-szeres térfogatnyi AW1 puffert, és pipettával összekevertük. A keverékből 650 µl-t pipettáztunk DNeasy® Mini spin oszlopra, amelyet egy 2 ml-es gyűjtőcsőbe helyeztünk. Centrifugáltuk 1 percig ≥6000 x g (≥8000 rpm) sebességen. Az áthaladó folyadékot kidobtuk. A lépést megismételtük a maradék mintával. A spin oszlopot egy új 2 ml-es gyűjtőcsőbe helyeztük,

hozzáadtunk 500 µl AW2 puffert és 1 percig centrifugáltuk $\geq 6000 \times g$ sebességen. Az áthaladó folyadékot kidobtuk. További 500 µl AW2 puffert adtunk hozzá és centrifugáltuk 2 percig $20,000 \times g$ sebességen. Áthelyeztük a spin oszlopot egy új 1,5 ml-es vagy 2 ml-es mikrocentrifugacsőbe. A leoldás során hozzáadtunk 50 µl AE puffert és 5 percig inkubáltuk 65 °C-on. Centrifugáltuk 1 percig $\geq 6000 \times g$ sebességen, majd a lépést megismételtük.

A DNS koncentrációt a Nanodrop spektrométerrel (Thermo Scientific NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer) ellenőriztük. A vizsgálathoz a NanoDrop 1000 3.8.1. szoftvert használtuk.

3.5. PCR

A CDDP markertechnika esetén a PCR paramétereit Collard és Mackill (2009) publikációja nyomán állítottuk be, melyet a saját vizsgálatunkra optimalizáltunk a Phusion polimeráz enzimhez. A reakcióelegyet 10 µl-re állítjuk össze, amelyből 2 µl a templát, a maradék mennyiség pedig a PCR mastermix összetevője alkotja. Ennek összetevőit és azok mennyiségét egy mintára vetítve a **3. táblázat** tartalmazza. Az alkalmazott CDDP marker szekvenciákat a **4. táblázat** tartalmazza. A PCR paramétereit az **5. táblázat** tartalmazza. A PCR-hez Thermal Cycler Bioer GeneExplorer™ gépet (Bioer Technology) használtunk.

3. táblázat: A PCR-hez szükséges reakció mix összetevői (Forrás: saját munka)

Komponens neve	Térfogat (µl)
Steril víz	4,2
5X GC puffer	2
10 mM dNTP	0,2
DNS templát	2
Primer (100 pg/µl)	1,5
Phusion DNS polimeráz (2 U/µl)	0,1
Végtérfogat	10

4. táblázat: A CDDP markerek szekvenciái (Forrás: saját munka, Collard és Mackill 2009 nyomán)

Primer	Szekvencia (5'-3')	Hossz (nt)	GC tartalom
MYB 1	GGCAAGGGCTGCCGC	15	80%
MYB 2	GGCAAGGGCTGCCGG	15	80%

5. táblázat: PCR protokoll a CDDP markerekhez (Forrás: saját munka)

Lépés	1. Elő-denaturáció	2. Denaturáció	3. Primer kitapadás	4. Lánchosszabbítás	5. Végső lánchosszabbítás
Időtartam	0:30	0:10	0:15	0:45	5:00
Hőmérséklet	98°C	98°C	50°C	72°C	72°C
Ciklus hossza	1x	32x			1x

A termékeket agaróz gélelektroforézissel ellenőrizzük. Az agaróz gélelektroforézis egy egyszerű és rendkívül hatékony módszer a kisméretű DNS-fragmensek elválasztására,

azonosítására és tisztítására. A módszerrel ellenőrizzük a DNS kivonás sikerességét is. A gél elkészítéséhez 100 ml 0,5 x TBE pufferben elkevertünk 1 g agarózt (Lonza, SeaKem LE Agarose), majd addig melegítettük, amíg víz tisztaságú keveréket kaptunk. Ezt követően hideg vízzel lehűtöttük, majd 5 µl etídium-bromidot kevertünk hozzá, melynek segítségével közvetlenül UV-fénnyel való megvilágításkor láthatóvá válnak a fragmentumok. Amíg a gél szilárdult, a mintákhoz 1 µl Loading Dye-t (Thermo Scientific 6x DNA Loading Dye) pipettáztunk. Miután megszilárdult a gél és a futtatókádba helyeztük, 5 µl-t pipettáztunk a mintákból a zsebekbe. Az első zsebbe 2 µl DNS létrát (Thermo Scientific GeneRuler Plus 100 bp) tettünk. A futtatást 110 V-on végeztük 15 percig, majd Multimage Light Cabinet (Alpha Innotech Corporation) berendezésbe helyezzük a gél és UV fénnyel átvilágítottuk és az eredményt dokumentáltuk.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. Az antocianin-tartalom HPLC kromatográfiás vizsgálatának eredménye

A 6. táblázat tartalmazza a vizsgálat összes eredményét. A táblázat elemzése során először a különböző fajtákban és években mért komponenseket hasonlítottuk össze. Az egész minta, a hús és a bőr vizsgálatokat egymástól külön választottuk, először a fajtán belüli éves különbségeket vizsgáltuk az egész minta esetén, majd a hús és bőr mintákkal folytattuk.

6. táblázat: A vizsgált genotípusok HPLC-vel mért komponenseinek összehasonlítása. A mértékegységek $\mu\text{g/g}$ -ban vannak megadva. (Forrás: saját munka)

Fajta	Típus	Év	Össz. Antocianin	Neo-klorogén-sav	Kumaroil-kinasav	Epikatechin	Rutin	Kvercetin-3-glükózid	Naringenin-dihexóz	Dikaffeoil-kinasav	Kaempferol-glükózid	Klorogén-sav
Aida	héj	2024	1456,24	307,73	33,11	23,94	19,14					
	hús	2024	226,90	100,336	270,27	2,464	16,514	6,122				8,63
Anita	egész	2022	500,86	294,33	505,39	1,25	87,06	14,72	21,37			
	egész	2024	451,48	177,1	188,25	2,7	61,78				24,26	38,58
	héj	2024	624,15	299,25	226,26	3,13	107,41				34,11	72
	hús	2024	278,81	54,94	150,25	2,28	16,14				14,42	5,15
Bigarreau Burlat	egész	2022	441,08	138,27	623,89	2,66	38,55	14,65				
	egész	2024	1139,7	179,59	220,81	3,39	77,5	12,02			16,21	12,36
	héj	2024	1886,77	290,77	220,54	2,69	133,04	17,8			20,87	17,58
	hús	2024	392,63	68,41	221,08	4,09	21,97	6,23			11,55	7,15
Carmen	héj	2024	2630,14	309,01	153,49	3,28	211,71	30,96			59,15	80,22
	hús	2024	320,65	124,16	257,42	1,38	18,36					11,71
Krupnoplodnaja	egész	2022	470,04	403,5	489,66	2,53	60,6	36,35	11,42		19,51	
	egész	2024	474,71	496,8	422,89	1,55	79,62				22	51,63
	héj	2024	781,31	834,94	543,44	1,76	79,62	17,55			22	90,18
	hús	2024	168,11	158,65	302,34	1,34						13,09
Négus	egész	2019	2919,35	586,47	1689,39	12,33	170,14	42,28	20,58			
	egész	2021			110,4							
	egész	2022	1882,9	559,47	1229,14	16,81	124,5		18,77			
	héj	2019	3409,72	775,97	1829,6	11,36	237,4	38,02	33,24			
	hús	2019	2428,97	396,97	1549,19	13,31	102,87	46,54	14,25			
	héj	2021			73,55							
Péter	egész	2022	401,41	344,29	320,78	1,69	54,45	16,18	8,51	10,48	35,65	
	egész	2024	1257,04	684,78	128,16	4,36	90,15					81,58
	héj	2024	2252,44	1024,1	141,33	6,07	169,16	15,24			39,31	146,97
	hús	2024	261,63	345,47	114,98	2,65	11,15					16,19
Sándor	egész	2022	1014,75	216,7	794,81	4,47	88,43	38,1	7,45			
	egész	2024	1507,93	227,49	204,33	3,35	128,29	17,79				51,52
	héj	2024	2359,65	348,27	166,92	3,78	226,5	27,57			72,75	91
	hús	2024	656,21	106,71	241,74	2,92	30,09	8				12,04
Sárga hibrid	egész	2019	5,97	119,09	87,11	0,96	5,31		8,46	4,72		27,51
	egész	2021		12	30,65					7,55		21,46
	egész	2022	8,92	210,71	292,3		24,92		20,27			
	héj	2019	4,45	120,67	45,53	1,07	5,31		4,6			
	hús	2019	7,49	117,51	128,68	0,84			12,33			
	héj	2021		12	30,65					7,55		21,46
Szomolyai fekete	egész	2022	1615,98	259,32	1188,47	8,48	77,07	20,25	21,68			
	héj	2021	283,17	28,31	258,33							139,81
	hús	2021			220,94							
Tünde	héj	2024	1589,61	358,90	318,16	4,36	77,89	7,48			8,53	34,61
	hús	2024	776,15	132,31	298,48	4,07	35,65	5,99				9,84
Valerij Chkalov	egész	2022	947,07	803,13	386,95	6,15	94,96	32,39	18,76			
	egész	2024	924,23	351,49	77,83	4,93	61,65	10,25				23,23
	héj	2024	1032,58	429,85	62,52	7,37	93,66	14,28			9,89	36,24
	hús	2024	815,88	273,12	93,13	2,49	29,64	6,23				10,23
Vega	egész	2019	66,71	334,2	505,5							
	egész	2021		20,94	63,51	1,5	91,96		6,1			12,79
	egész	2022	9,38	145,81	686,35	1,55	15,15		8,79			
	héj	2019	104,47	434,27	434,14	1,66	182,43					
	hús	2019	28,94	234,13	576,85	2,17	2,99		15,75			
	héj	2021										9,97
Vera	héj	2024	1229,97	661,92	52,18	11,38	118,21	11,55			13,65	57,31
	hús	2024	666,76	366,06	57,63	3,23	43,43	7,00			10,94	

4.1.1. Egész cseresznye gyümölcs elemzése

A 2022-ben és 2024-ben gyűjtött „Anita” esetén több komponenst össze tudtuk hasonlítani. A 2022-ből származó minta esetén az összehasonlított komponensek közül az összes antocianin-tartalom 10,4%-kal, a neoklorogénsav 49,7%-kal, a kumaroil-kinasav 91,4%-kal, a rutin koncentrációja pedig 34%-kal volt több a 2024-ben gyűjtött genotípushoz képest. A 2024-ben gyűjtött fajta esetén az epikatechin koncentrációja 73,3%-kal haladta meg a 2022-ben detektált mennyiséget. A 2022-ben gyűjtött típusban találtunk kvercetin-3-glükozidot és naringenin-dihexózt, 2024-ben pedig kaempferol-glükozidot és klorogénsavat.

A „Bigarreau Burlat” fajtánál a 2022-ben gyűjtött vizsgálati anyag esetén két komponens koncentrációja volt több a 2024-ben gyűjtött anyagéhoz képest. A kumaroil-kinasav koncentrációja 95,1%-kal, a kvercetin-3-glükozid koncentrációja pedig 19,7%-kal volt több. Az összehasonlítás közti különbséget az is adta, hogy a 2024-es mintákban érzékeltünk kaempferol-glükozidot és klorogénsavat is.

A „Krupnoplodnaja” vizsgálati értékei változatos eredményeket hoztak: a 2022-ből származó mintánál a kumaroil-kinasav, epikatechin, a kvercetin-3-glükozid esetén volt nagyobb a mért koncentráció, míg 2024-ben az összes antocianin-tartalom, a neoklorogénsav és kaempferol-glükozid koncentrációja volt több.

A „Négus” esetén három év adatát hasonlítottuk össze. A 2021-ben gyűjtött mintából csak a kumaroil-kinasavat tudtuk kimutatni kis koncentrációban, a 2019-es minta 175,5%-kal többet tartalmazott ahhoz képest. A 2022-es változatban az epikatechin koncentrációja volt több 115,4%-kal. Az összes antocianin-tartalom, neoklorogénsav, kumaroil-kinasav, rutin és naringenin-dihexóz koncentrációja több volt a 2019-ben vett mintában, ezen kívül ebben az évben kimutattunk még epikatechint és kvercetin-3-glükozidot is.

A „Péter” genotípus vizsgálata során csak a kumaroil-kinasav koncentrációja volt több a 2022-es gyümölcsben 85,8%-kal, mint 2024-ben, azonban ebben az évben több komponenst is észleltünk, amit a 2024-es gyümölcsben nem. Ezek voltak a kvercetin-3-glükozid, naringenin-dihexóz, dikaffeoil-kinasav, valamint a kaempferol-glükozid. Az összes antocianin esetén 103,2%-kal, a neoklorogénsav 66,2%-kal, az epikatechin 88,2%-kal és a rutin koncentrációja 49,4%-kal. 2024-ben találtunk továbbá klorogénsavat is.

A „Sándor” fajta mérési eredményei vegyes képet mutattak. Az összes antocianin-tartalom 39,1%-kal, a neoklorogénsav 4,9%-kal, a rutin 36,8%-kal volt több a 2024-es genotípusban, mint 2022-ben. A kumaroil-kinasav 118,2%-kal, az epikatechin 28,5%-kal és a kvercetin-3-glükozid koncentrációja pedig 72,7%-kal volt több 2022-ben. Ebben az évben detektáltunk naringenin-dihexózt, 2024-ben pedig kaempferol-glükozidot és klorogénsavat is.

A „Sárga hibrid” mintánál három év adatát vetettük össze. A legkevesebb komponens 2021-ben tudtuk kimutatni. A legnagyobb koncentrációkat a 2022-ben vett minta komponenseiben tapasztaltuk. A 2019-es fajtához képest például az összes antocianin-tartalom 119,8%-kal, a neoklorogénsav 174,4%-kal, a kumaroil-kinasav 191,4%-kal, a rutin 129,8%-kal és a naringenin-dihexóz 82,2%-kal volt több a 2022-ből származó gyümölcsben.

A „Valerij Chkalov” 2022-ben gyűjtött típusa esetén a 2022-es típusban detektáltunk nagyobb koncentrációt az egyes komponenseknél. Az összes antocianin-tartalom 2,4%-kal, a neoklorogénsav 78,2%-kal, a kumaroil-kinasav 133%-kal, az epikatechin 22,1%-kal, a rutin 42,5%-kal, a kvercetin-3-glükózid 103,8%-kal volt több mint 2024-ben. Ebben az évben érzékeltünk naringenin-dihexózt is, míg 2024-ben klorogénsavat tudtunk kimutatni.

A „Vega” esetén három év adatát hasonlítottuk össze. A 2019-es változatban kevés komponens érzékeltünk, de 150%-kal volt több az összes antocianin-tartalom és 78,5%-kal a neoklorogénsav koncentrációja a 2022-es változathoz képest. A 2022-ben gyűjtött vizsgálati anyagban 148,8%-kal volt több a kumaroil-kinasav koncentrációja, az epikatechin koncentrációja pedig mintegy 3%-kal a 2019-ben vett mintához képest, a naringenin-dihexóz koncentrációja pedig 36,1%-kal volt több 2021-hez képest. A 2021-es gyümölcsben 143,4%-kal volt több rutin 2022-höz képest, illetve ebben az évben detektáltunk klorogénsavat is.

4.1.2. A cseresznye hús- és héj összehasonlítása

Az „Aida” esetén csak a 2024-es mintákat elemeztük. A kumaroil-kinasavon kívül, ami a húsban 156,4%-kal volt több, az összes mért komponens koncentrációja több volt a héjban, mint a húsban. Az antocianin koncentráció kiemelkedett a 146,1%-os értékével.

Az „Anita” genotípus vizsgálata során az összes érzékelt komponens koncentrációja több volt a héjban, mint a húsban. A legnagyobb különbség a rutin esetén, illetve a neoklorogénsav esetén tapasztaltuk. Az előbbi esetben 147,8%-kal, az utóbbi esetben pedig 138%-kal volt több a húsmintához képest.

A „Bigarreau Burlat” fajtánál a mért komponensek koncentrációjának többségénél a héjban detektáltunk többet. Kivételt képeztek a kumaroil-kinasav, aminek koncentrációja szinte megegyezett a 2024-ben mért adatokkal, 0,2%-os különbséget mutatott, és az epikatechin, melynek koncentrációja 41,1%-kal volt több 2024-ben.

A „Carmen” esetén csak a 2024-ben gyűjtött mintát elemeztük. A kumaroil-kinasavon kívül, ami a húsban 50,6%-kal volt több, az összes mért komponens koncentrációja több volt a héjban, mint a húsban. Az antocianin koncentrációja kiemelkedett a 156,5%-os értékével, valamint a klorogénsav is, ami 149,1%-kal volt több a héjban.

A „Krupnoplodnaja” gyümölcs vizsgálata során az összes komponens koncentrációja több volt a héjban, mint a húspan. Kiemelkedő eredményt mutatott az összes antocianin-tartalom, ami 129,2%-kal, a neoklorogénsav pedig 136,1%-kal volt több, mint a héjmintában. A kumaroil-kinasav 57%-kal, az epikatechin 27%-kal, a klorogénsav koncentrációja pedig 149,3%-kal volt több. A héjban detektáltunk továbbá rutint, kvercetin-3-glükozidot és kaempferol-glükozidot.

A „Négus” esetén két komponenst találtunk, ami nagyobb koncentrációban volt a húsmintában az epikatechin 15,8%-kal, a kvercetin-3-glükozid pedig 20,2%-kal volt több.

A „Péter” esetén a héjmintában magasabb koncentrációkat detektáltunk az egyes komponensek tekintetében, mint a húsmintában. Az összes antocianin 158,4%-kal, neoklorogénsav 99,1%-kal, a kumaroil-kinasav 20,6%-kal, az epikatechin 78,5%-kal, a rutin 175,3%-kal, a klorogénsav pedig 160,3%-kal volt több a héjban. Kimutattunk továbbá kvercetin-3-glükozidot és kaempferol-glükozidot is.

A „Sándor” húsminta esetén a kumaroil-kinasav koncentrációja több volt 36,6%-kal, mint a héjban. A többi kimutatott komponens több volt a héjban, illetve ez esetben detektáltunk kaempferol-glükozidot is.

A „Sárga hibrid” 2019-ben gyűjtött hús és héj mintái vegyes képet mutattak. A héjban magasabb koncentrációban volt a neoklorogénsav, 2,7%-kal és az epikatechin 24,2%-kal, valamint kimutattunk rutint is. Az összes antocianin-tartalom 50,8%-kal, a kumaroil-kinasav 95,5%-kal, a naringenin-dihexóz koncentrációja pedig 91,3%-kal volt több a húsmintában.

A 2021-es vizsgálati anyagból kevés komponenst tudtunk kimutatni. A neoklorogénsav koncentrációja 164,2%-kal és a dikaffeoil-kinasav a 120,3%-kal volt több a héjban, a húspan a kumaroil-kinasav koncentrációja 68,7%-kal, a klorogénsav pedig 44%-kal volt több a héjban.

A „Szomolyai fekete” 2021-ből származó vizsgálati anyagában kevés komponenst tudtunk detektálni. Egyedül a kumaroil-kinasavat tudtuk összehasonlítani, ez esetben a héj tartalmazott többet 15,6%-kal. Kimutattuk továbbá az összes antocianintartalmat, neoklorogénsavat és klorogénsavat. A 2022-ben vett egész gyümölcsminta szemlélteti, hogy mennyivel több összetevőt tudtunk kimutatni.

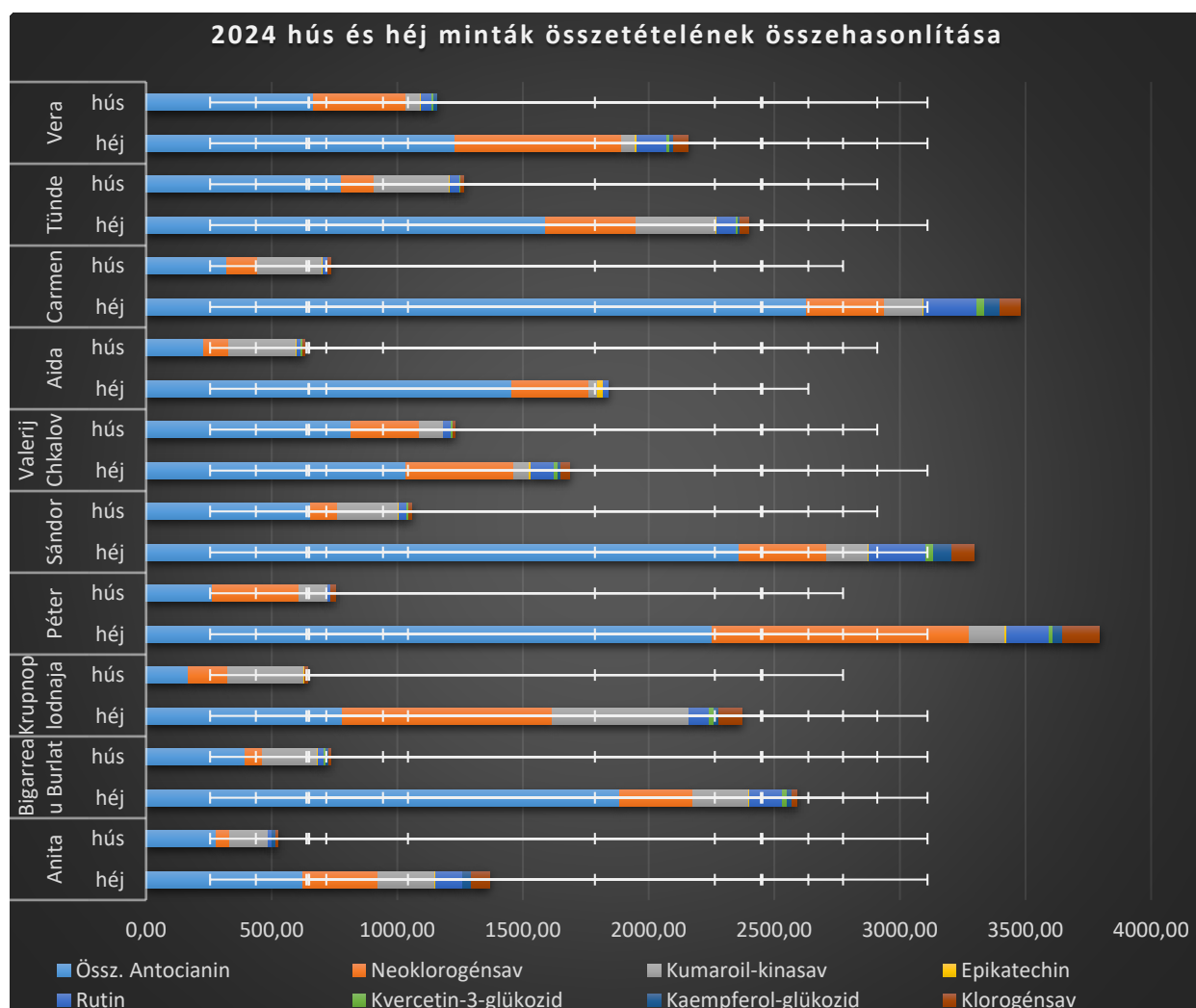
A „Tünde” esetén csak a 2024-es típust elemeztük és az összes mért komponens koncentrációja több volt a héjban, mint a húspan. A klorogénsav koncentrációja kiemelkedő volt a 111,5%-os értékével.

A „Valerij Chkalov” esetén a kumaroil-kinasavon kívül az összes esetben a héjban tapasztaltunk magasabb koncentrációkat az egyes komponensek tekintetében. A héjban kimutattunk továbbá kaempferol-glükozidot is.

A „Vega” komponenstartalma vegyes képet mutatott a 2019-es vizsgálati anyagban. Az összes antocianin-tartalom 113,2%-kal, neoklorogénsav 59,9%-kal, a rutin koncentrációja pedig 193,5%-kal volt több a héjban. Azonban a kumaroil-kinsav 28,2%-kal, az epikatechin 27%-kal, a naringenin-dihexóz pedig 113,7%-kal volt több a húspan. A 2021-es mintákban a klorogénsav koncentrációja a húspan több volt, mint a héjban 44,1%-kal, illetve érzékeltünk még neoklorogénsavat és kumaroil-kinsavat is a húsmintában.

A „Vera” esetén csak a 2024-es típust elemeztük. A kumaroil-kinsavon kívül, ami a húspan csak 9,9%-kal volt több, az összes mért komponens koncentrációja több volt a héjban, mint a húspan. Az epikatechin koncentrációja kiemelkedett a 111,5%-os értékkel.

A **2. ábra** szemlélteti a 2024-es hús és héj adatait, melyen látható, hogy az összes antocianin-tartalom és a neoklorogénsav jelentős mennyiségben volt a héjban.

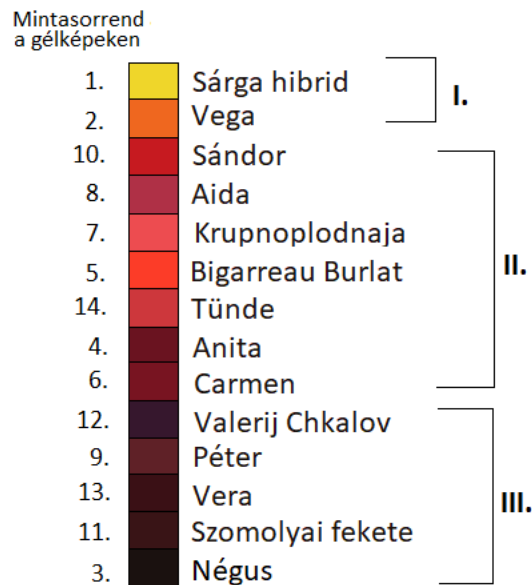


2. ábra: A 2024. évi „Anita”, „Bigarreau Burlat”, „Krupnoplodnaja”, „Péter”, „Sándor” és „Valerij Chkalov” hús- és héj mintáinak HPLC-vel elemzett komponensei. A mértékegységek µg/g-ban vannak megadva (Forrás: saját munka).

4.2. CDDP markerek alkalmazása a levelekből kivont DNS mintákon

A cseresznye leveleiből kivont genomi DNS minden vizsgált genotípus esetén megfelelő mennyiségű és minőségű volt, ezért kísérleteink során végig ezekkel dolgoztunk. A következő alfejezetekben bemutatjuk vizsgálati eredményeinket.

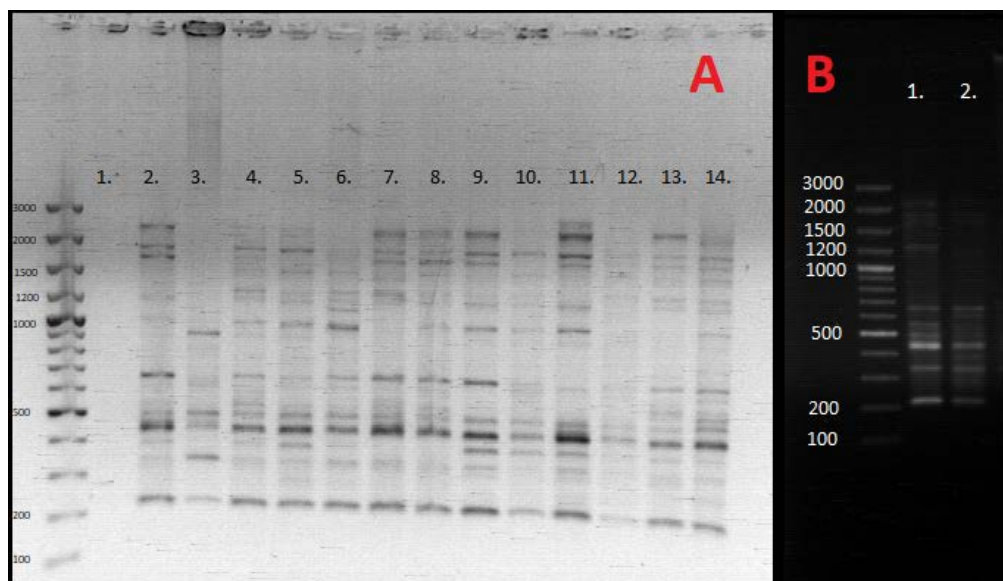
A géleképek elemzése során jól látható, hogy a kapott fragmentumok 2500 és 200 bázispár között találhatók. Az alábbiakban ismertetjük a polimorfizmust mutató fragmenteket, amit az egyes minták között találtunk. A kiértékeléshez a 2.3. alfejezet szolgált alapul, mely során csoportba rendeztük a típusokat a szerint, hogy milyen hús és héj színnel és színmélységgel rendelkeznek. A **3. ábra** szemlélteti a sorrendet, ami a további vizsgálatok alapját szolgáltatta. A fajták között természetesen lehetnek átmenetek leginkább a II. és III. csoport között. A kiértékelést továbbá a 6. táblázat adatai biztosították.



3. ábra: A vizsgált genotípusok hús és héj jellemzőiből alkotott színskála (Forrás: saját munka) Az I. csoportba tartoznak a világos jeggyel rendelkező típusok. A II. csoportba a piros, sötétpiros hússal és héjjal rendelkező fajták, míg a III. csoportba a sötétbordó, fekete jegyekkel rendelkező fajták kerültek.

4.2.1. Myb1 primer

A **4. ábra** szemlélteti az összes mintát és a polimorf fragmentumok jelenlétét vagy hiányát a MYB1 primerrel alkalmazott mintákon.



4. ábra: A MYB1 primerrel kapott fragmentek. A-MYB1, 13 mintával; B-MYB1, 2. mintával. A-MYB1 minták sorszáma: 1: „Sárga hibrid”, 2: „Vega”, 3: „Négus”, 4: „Anita”, 5: „Bigarreau Burlat”, 6: „Carmen”, 7: „Krupnoplodnaja”, 8: „Aida”, 9: „Péter”, 10: „Sándor”, 11: „Szomolyai fekete”, 12: „Valerij Chkalov”, 13: „Vera”, 14: „Tünde”. B-MYB1 minták sorszáma: 1: „Sárga hibrid”, 2: „Vega” (Forrás: saját munka).

„A II. csoportba, azaz a piros, sötétpiros jellegű minták esetén nem kaptunk fragmentumot 1700 bp-nál a 3, 5, 6, 12 fajtáknál és kaptunk fragmentumot 1100 bp magasságában a 6 fajta esetén. Ezekre jellemző az alacsony epikatechin koncentráció.

A III. csoportba, azaz a sötétbordó, fekete jellegű minták esetén nem kaptunk fragmentumot

- 1200 bp magasságában a 3, 12 változat esetén
- 650 bp magasságában a 3, 11 mintáknál

Jellemző rájuk a magas antocianin, neoklorogénsav és alacsony epikatechin koncentráció.

A 900 bp magasságában a 1,2,6,7,8 minta esetén nem kaptunk fragmentumot, esetükben az a közös, hogy az I. és II. csoport tagjai, világos vagy piros jegyekkel rendelkeznek alacsony antocianin-tartalommal.

Az alábbi minták esetén nem szaporodott fel fragmentum, esetükben az a közös, hogy a II. és III. csoport tagjai, sötétbordó, fekete jegyekkel rendelkeznek.

- 2300 bp magasságában a 3, 10, 12 minta esetén,
- 1800 bp magasságában a 3, 6, 12 genotípus esetén,
- 1000 bp magasságában a 3,7 minták esetén,
- 550 bp magasságában a 3,9,10,11 genotípus esetén,
- 400 bp magasságában a 3,6,7, változat esetén nem kaptunk jelet.

A közös bennük, hogy az antocianin-tartalom, a neoklorogénsav és a rutin koncentrációja e fajtáknál magas.

Polimorfizmust mutattak az alábbi magasságban

- 620 bp-nál a 3,6,8,11,14 fajták,
- 280 bp-nál a 5,6,7,13,14 fajták, esetükben kaptunk fragmentumot,

polimorfizmust mutatott

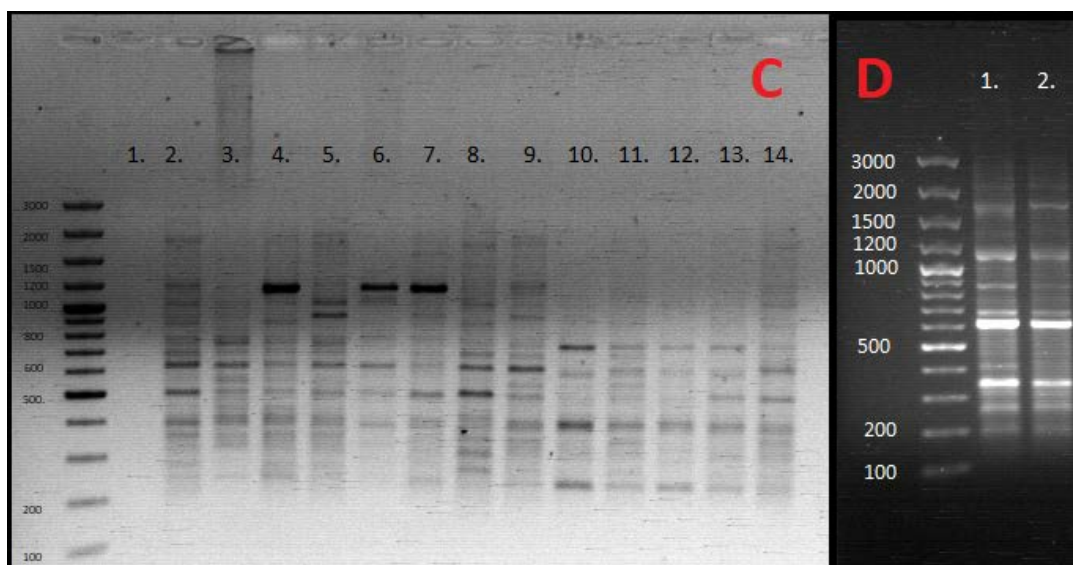
- 1400 bp magasságában a 1,2,3,7,9,11 ,
- 1300 bp magasságában a 1,2,3,9,10,11 minták,

melyek az I., II. és a III. csoport tagjai. Mindegyik típusban magas a neoklorogénsav, kumaroil-kinasav, rutin, kvercetin-3-lükózid és naringenin-dihexóz koncentrációja és kevés az epikatechin koncentráció.

Összességében az I. és II. csoport világosabb vagy piros árnyalatú, alacsony antocianin- és epikatechin-tartalommal rendelkeznek. A III. csoport sötétbordó, fekete mintákat tartalmaz, magas antocianin-, neoklorogénsav- és rutin-tartalommal. Ezek a minták gazdagabbak antioxidánsokban, különösen a sötét pigmenteket tartalmazó gyümölcsök.

4.2.2. Myb2 primer

Az 5. ábrán látható az összes minta és a polimorf fragmentumok jelenléte vagy hiánya a MYB2 primerrel alkalmazott mintákon.



5. ábra: A MYB2 primerrel kapott fragmentek. A-MYB2, 13 mintával; B-MYB2, 2. mintával. A-MYB1 minták sorszáma: 1: „Sárga hibrid”, 2: „Vega”, 3: „Négus”, 4: „Anita”, 5: „Bigarreau Burlat”, 6: „Carmen”, 7: „Krupnoplodnaja”, 8: „Aida”, 9: „Péter”, 10: „Sándor”, 11: „Szomolyai fekete”, 12: „Valerij Chkalov”, 13: „Vera”, 14: „Tünde”. B-MYB1 minták sorszáma: 1: „Sárga hibrid”, 2: „Vega” (Forrás: saját munka).

A III. csoport tagjainál 380 bp magasságában a 3,6,7, változat esetén kaptunk fragmentumot.

Az alábbi mintáknál polimorfizmust tapasztaltunk, nem kaptunk fragmentumot:

- 2500 bp magasságában a 3, 10, 12,
- 1400 bp magasságában a 1,2,3,7,9,11 változatok esetén. Bennük közös, hogy az I. és II. csoportba tartoznak.

Nem szaporodott fel fragmentum:

- 1900 bp magasságában a 3, 5, 6, 12,
- 550 bp magasságában a 3,9,10,11,
- 450 bp magasságában a 3,6,8,11,14 fajták esetén. Közös vonásuk, hogy a II. III. csoport tagjai.

Az I. II. és III. csoportba is tartoztak azok a minták, melyek esetén nem kaptunk jelet:

- 2000 bp magasságában a 3, 6, 12,
- 900 bp magasságában a 1,2,6,7,8,
- 700 bp magasságában a 3, 11,
- 250 bp magasságában a 5,6,7,13,14 genotípusok esetén.

Összességében, a sötétbordó és fekete árnyalatú fajták (III. csoport) magas antocianin- és neoklorogénsav-koncentrációval rendelkeznek, és a polimorfizmusok ezeknél többnyire mutatnak fragmentumokat 380 bp magasságában. Az I. és a II. csoport tagjai, különösen a világosabb színű fajták, jellemzően alacsonyabb antocianin- és epikatechin-tartalommal rendelkeznek és polimorfizmust mutatnak 1400 bp és 900 bp magasságban. A fragmentumok hiánya, különösen a II. és a III. csoportban, egyedi genetikai különbségekre utalhat.

4.3. A tárolás hatása a gyümölcsre

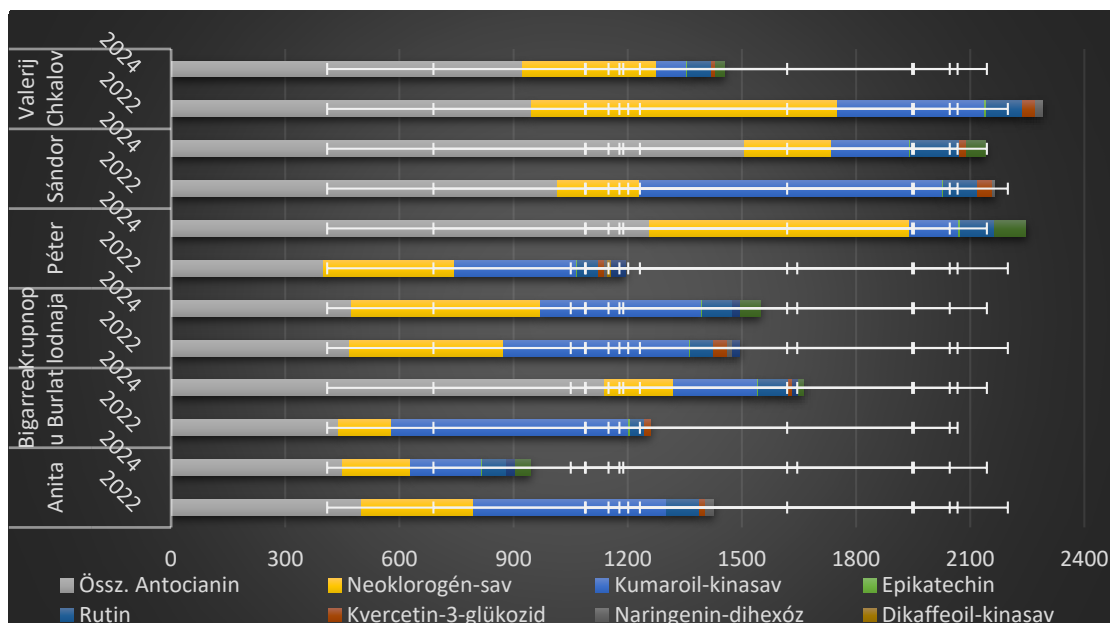
A gyümölcsök vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a hosszú mélyfagyasztásnak komoly hatása van az egész gyümölcsök beltartalmi összetevőire. A 2019-es és 2024-es mintákat a szedés után azonnal folyékony nitrogénbe helyeztük, azonban 2021-es és 2022-es minták nem közvetlenül lettek a szedésnél folyékony nitrogénben tárolva, hanem 30 perc elteltével. Mind a két esetben a későbbiekben -70°C-on, felhasználásig tároltuk.

Az alábbiakban összehasonlítottam 2022 (nem azonnal tárolt) és 2024 (azonnal tárolt) egész gyümölcsök komponenseinek alakulását az **7. táblázatban**. A vizsgálat alapját hat fajta képezte.

7. táblázat: A tárolás hatásának alakulása. Pirossal jelölve a 30 perccel később tárolt (2022. évi) adatok, zölddel jelölve az azonnal, -70°C-on tárolt (2024. évi) adatok az „Anita”, „Bigarreau Burlat”, „Krupnoplodnaja”, „Péter”, „Sándor” és „Valerij Chkalov” egész gyümölcs esetén. A mértékegységek µg/g-ban vannak megadva (Forrás: saját munka).

Fajta	Év	Össz. Antocianin	Neo-klorogén-sav	Kumaroil-kinasav	Epi-katechin	Rutin	Kvercetin-3-glükózid	Naringenin-dihexóz	Dikaffeoil-kinasav	Kaempferol-glükózid	Klorogén-sav
Anita	2022	500,86	294,33	505,39	1,25	87,06	14,72	21,37			
	2024	451,48	177,1	188,25	2,7	61,78				24,26	38,58
Bigarreau Burlat	2022	441,08	138,27	623,89	2,66	38,55	14,65				
	2024	1139,7	179,59	220,81	3,39	77,5	12,02			16,21	12,36
Krupnoplodnaja	2022	470,04	403,5	489,66	2,53	60,6	36,35	11,42		19,51	
	2024	474,71	496,8	422,89	1,55	79,62				22	51,63
Péter	2022	401,41	344,29	320,78	1,69	54,45	16,18	8,51	10,48	35,65	
	2024	1257,04	684,78	128,16	4,36	90,15					81,58
Sándor	2022	1014,75	216,7	794,81	4,47	88,43	38,1	7,45			
	2024	1507,93	227,49	204,33	3,35	128,29	17,79				51,52
Valerij Chkalov	2022	947,07	803,13	386,95	6,15	94,96	32,39	18,76			
	2024	924,23	351,49	77,83	4,93	61,65	10,25				23,23

Az antocianinok vizsgálata során a legtöbb fajta esetén kisebb koncentrációt figyeeltünk meg 2024-ben. Az „Anita” és „Valerij Chkalov” változatok kivételt képeztek, ezeknél a fajtáknál a fagyasztás nem, vagy csak kis mértékben befolyásolta a komponensek bomlását. Az „Anita” 10,4%-kal, a „Valerij Chkalov” pedig csupán 2,4%-kal volt több 2022-ben. A neoklorogénsav esetén az szintén „Anita” és „Valerij Chkalov” képeztek kivételt 49,7%-kal és 78,2%-kal. A két fajta esetén a komponenseket kisebb mértékben károsította mélyfagyasztás, mint a többi típus esetén. A kumaroil-kinasav esetén mindegyik fajtánál befolyásoló tényező volt a fagyasztás, 2022-ben átlagosan 90%-kal volt több a 2022-ben mért komponens koncentrációja. Legjobban a „Krupnoplodnaja” fajtánál bomlott le a komponens, csak 14,6%-kal volt több 2022-ben. Az epikatechin esetén az „Anita”, a „Bigarreau Burlat” és a „Péter” típusoknál volt több a mért koncentráció 2024-ben, 73,4%-kal és 24,1%-kal, valamint 88,3%-kal. A rutin esetén 2022-ben csak az „Anita” és „Valerij Chkalov” fajtáknál figyeeltünk meg több koncentrációt, a komponens és a fajták jobban tűrték a fagyasztást. A kvercetin-3-glükózidot nem detektáltunk minden változatnál, az összehasonlított fajtáknál általában 2022-ben volt több a komponens koncentrációja. A naringenin-dihexóz, dikaffeoil-kinasav, kaempferol-glükózid, klorogénsav esetén nem tudtunk elvégezni összehasonlítást, mivel csak néhány esetben érzékeltük a komponenseket. A **6. ábra** szemlélteti a 2022-es és 2024-es egész minták adatait, melyen látható, hogy az összes antocianin-tartalom és a neoklorogénsav jelentős mennyiségben volt a héjban.



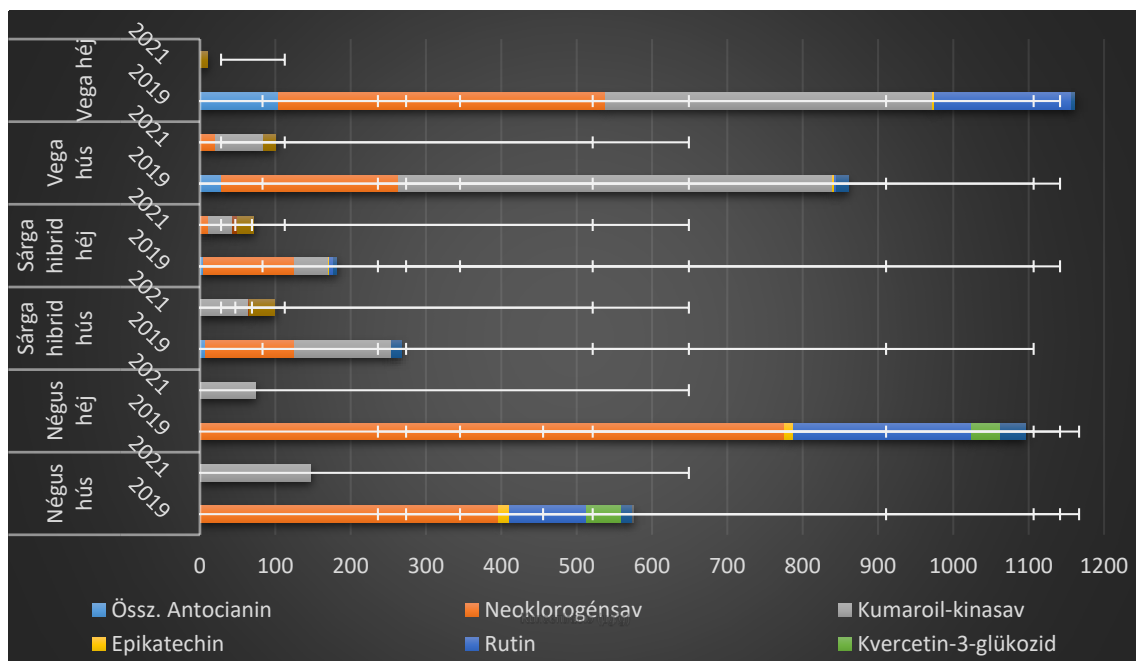
6. ábra: A 2022. és 2024. évi „Anita”, „Bigarreau Burlat”, „Krupnoplodnaja”, „Péter”, „Sándor” és „Valerij Chkalov” egész gyümölcs mintáinak HPLC-vel elemzett komponensei. A mértékegységek µg/g-ban vannak megadva (Forrás: saját munka).

Összehasonlítottam továbbá a hús- és héjminták komponenseinek alakulását is. 2019-ben azonnal tároltuk, míg 2021-ben nem. Három fajtát vettem alapul, amit a **8. táblázat** szemléltet.

8. táblázat: A tárolás hatásának alakulása- 2021: nem azonnal tárolt, 2019: azonnal tárolt és szeparált „Négus”, „Sárga hibrid”, „Vega” genotípusok esetén. A mértékegységek µg/g-ban vannak megadva (Forrás: saját munka).

Fajta	Típus	Év	Össz. Antocianin	Neo-klorogén-sav	Kumaroil-kinasav	Epi-katechin	Rutin	Kvercetin-3-glükózid	Naringenin-dihexóz	Dikaffeoil-kinasav	Klorogén-sav
Négus	hús	2019	2428,97	396,97	1549,19	13,31	102,87	46,54	14,25		
	hús	2021			147,25						
	héj	2019	3409,72	775,97	1829,6	11,36	237,4	38,02	33,24		
	héj	2021			73,55						
Sárga hibrid	hús	2019	7,49	117,51	128,68	0,84			12,33		
	hús	2021		1,18	62,75					1,88	33,57
	héj	2019	4,45	120,67	45,53	1,07	5,31		4,6		
	héj	2021		12	30,65					7,55	21,46
Vega	hús	2019	28,94	234,13	576,85	2,17	2,99		15,75		
	hús	2021		20,94	63,51						15,61
	héj	2019	104,47	434,27	434,14	1,66	182,43		4,33		
	héj	2021									9,97

Azt tapasztaltuk, hogy a gyümölcs elválasztva már sokkal bomlékonyabb, mint egészben tárolva. Minden évre jellemző volt, hogy a húsban sokkal kevesebb komponenst detektáltunk. Egyedül a kumaroil-kinasavat tudtam összehasonlítani az egyes évek és típusok között, ez átlagosan 124%-kal volt több a héjban. A **7. ábra** szemlélteti a 2019-es és 2021-es hús és héj adatait, melyen látható, hogy a kumaroil-kinasav és a neoklorogénsav jelentős mennyiségben volt a héjban 2019-ben.



7. **ábra:** A 2019. és 2021. évi „Négus”, „Sarga hibrid” és „Vega” fajták hús- és héj mintáinak HPLC-vel elemzett komponensei. A mértékegységek µg/g-ban vannak megadva (Forrás: saját munka).

5. Következtetések és javaslatok

Saját eredményeinket összehasonlítottuk a szakirodalmi adatokkal, amit a **9. táblázat** szemléltet. Az összehasonlítás során felfedeztünk jelentős különbségeket, kiugró értékeket az egyes komponensek vizsgálata során, mint például az összes antocianin vagy kumaroil-kinasav. Egyes komponensek tágabb tartományban mozognak, mint a szakirodalmi adatok, más esetben, pl. az epikatechin esetén a saját mért eredményeink alacsonyabbak.

Az eltérések oka lehet különböző mérési módszerek, mintaeredet, környezeti tényezők vagy más biokémiai különbségek.

9. táblázat: A HPLC adatok összevetése a szakirodalmi adatokkal (Forrás: saját munka)

Komponens	Szakirodalom	Fajta	Szakirodalmi adat (µg/g)	Saját eredmény (µg/g)
Össz. antocianin	Oancea et al., 2015	„Black Gold”	282,8-1836,3	5,97-2919,35
Neoklorogénsav	Antognoni et al., 2020	„Black Gold”	150-650	1,18-1024,1
Kumaroil-kinasav	Moeller B. és Herrmann K. 1983	„Maibigarreau”	218	30,65-1829,6 (2024-ben kimutattunk a „Carmen”-ben :205,45)
	Moeller B. és Herrmann K. 1984	„Souvenir de Charme”	183	
	Gao és Mazza , 1995	„Sam”	1314,5	
	Nunes et al., 2021a	„Saco”	15-125	
	Boskov et al., 2022	„Carmen”	36,3-38,7	
Epikatechin	de Pascual-Teresa et al., 2000	N/A	54,5	0,84-16,8
	Arts, 2000	N/A	95,3	
Rutin	Prvulovic et al., 2011	„Kavics”	19,4	3-237,4
Kvercetin-3-O-glükózid	Nunes et al., 2021a	„Saco”	1,6-7,9	6,23-46,5
Naringenin-dihexóz	Nunes et al., 2021b	„Saco”	0,1–0,2	4,33-33,24
Dikaffeoil-kinasav	Boskov et al., 2022	„Carmen”	0,034	1,9-10,5 („Carmen”-ben nem tudtuk kimutatni)
Neoklorogénsav	Nunes et al., 2021b	„Saco”	19	5,15-146,97
	Jakobek et al., 2009	„Lapins”	18-50	
Kaempferol-3-O-glükózid	Clodoveo et al., 2023	„Lapins”	6,6	9,9-72,75

A tárolási módok jelentős hatással vannak a cseresznye és más gyümölcsök fenolos összetevőinek alakulására. A különböző kutatások, mint Gonçalves és munkatársai (2004) szüretkor, valamint hat és harminc napig tartó 2 és 15°C-on történő tárolás után vizsgálta a komponenseket. Tanulmányuk arra az eredményre jutott, hogy a hőmérséklet és a tárolási idő befolyásolja a fenolok koncentrációját, rutin esetében. A 15°C-on végzett tárolás növelte a vegyület koncentrációját a „Saco” és „Summit” fajtákban, míg a „Burlat” fajtában a neoklorogénsav koncentrációja is nőtt.

Oliveira és munkatársai (2016) kutatása az őszibarackra vonatkozott, de hasonló eredményeket mutatott ki, mint a cseresznyénél. A hosszú távú fagyasztás után a klorogénsav és más fenolos vegyületek koncentrációja csökkent, ami alátámasztja, hogy a hosszú tárolás általában a fenolok csökkenéséhez vezet. Zhao és munkatársai (2019) tanulmányában a

„Tieton” cseresznye esetében a neoklorogénsav szintje szintén csökkent a tárolás során, ami arra utal, hogy a tárolási hőmérséklet közvetlen hatással van a fenolos összetevőkre.

Vizsgálatunkban az antocianin koncentráció jelentősen csökkent a hosszú távú tárolás alatt. Eredményeinkből is azt a következtetést tudtuk levonni, hogy a tárolási körülmények és a tárolás hossza jelentősen befolyásolják az antocianinok és flavonoidok összetételét, és a különböző fajták komponenseinek bomlékonysága eltérő lehet.

A két tárolási típus között találtunk különbséget, ami adódhat abból is, hogy az adott komponens eleve nagyobb koncentrációban volt, vagy más, külső hatások nem hatottak rá. A tárolási körülmények (hőmérséklet, tárolás hossza), kritikus szerepet játszanak a flavonoidok stabilitásában. A különböző fajták eltérően reagálnak a tárolási módszerekre, ami fontos szempont a cseresznye minőségének megőrzésében és a flavonoidok egészségvédő hatásainak maximalizálásában. Ezen kutatások alapján a gyümölcsök tárolási módjának optimalizálása érdekében figyelembe kell venni a hőmérsékletet és a tárolási időt, hogy megőrizzük a hasznos flavonoid komponenseket. Mivel az eredmények alapján az azonnal fagyasztott minták esetén a bomlási értékek alacsonyabbak voltak, ezért mindenképpen javasoljuk, hogy a hosszú távú vizsgálatokhoz a mintákat azonnal tároljuk egész gyümölcs formájában a későbbi felhasználáshoz.

A cseresznyetermés szempontjából a hőmérséklet és a csapadék döntő fontosságú tényezők, mert a tavaszi fagyok és a nyári aszályok befolyásolják a termés hozamot. Az időjárási adatok azt mutatták, hogy Érd környékén a nyári hónapok az elmúlt években egyre melegebbé váltak, gyakori hőhullámokkal és hőségnapokkal. Emellett az időjárási szélsőségek, mint a felhőszakadások és jégesők is gyakoribbá váltak, különösen a meleg időszakokat követő hidegfrontok idején. Általános adatok alapján megállapítható, hogy a 2022-es év időjárási feltételei lehettek a legkedvezőbbek a cseresznyeterméshez az elmúlt években. Ennek oka, hogy 2022 nyarán a hőmérséklet meleg volt (25-35°C), de nem érte el olyan szélsőségeket, mint a 2021-es vagy a 2024-es év. A csapadékmennyiség is kiegyensúlyozottabb volt, bár voltak zivataros napok, de ezek jellemzően június elején fordultak elő, amikor a cseresznyék többsége még érik. A túlzott hőség, amely a cseresznye érzékenységet fokozhatja, csak június végén és júliusban volt jellemző, amikor a betakarítások nagy része már lezajlott. A 2021-es és 2024-es extrém hőhullámok valószínűleg negatív hatással voltak a termés hozamra, különösen, ha a hőség korábban, már a virágzás idején beköszöntött. A különböző évi mérési adataink is alátámasztották, hogy a 2022-es évjáratú mintákban nagyobb koncentrációban mértünk számos komponenst, például az antocianin és a kumaroil-kinasav esetén az „Anita”, „Bigarreau Burlat” és „Valerij Chkalov” fajtákánál.

Tudomásunk szerint az eddigi szakirodalomban nem foglalkoztak külön a hús és a héj antioxidáns vegyületeivel, csak egyben az egész gyümölcsöt vizsgálták. Sok esetben a héj és a hús színezete is eltérő, így feltételezhető volt, hogy azokban a mért vegyületek mennyisége is eltérő lesz. Eredményeink is azt mutatták, hogy a héjban szinte minden összetevő magasabb értéket adott, mint a húsban.

A CDDP markerek vizsgálata során a különböző fragmentumok jelenléte vagy hiánya genetikai polimorfizmusra utal. Mivel a MYB transzkripció faktoroknak nagy szerepe van az antocián-bioszintézis szabályozásában, így nagy valószínűséggel a kapott polimorfizmus összefüggésbe hozható az egyes fajták antioxidáns és flavonoidok tartalmával, arra utaló tendenciát mutat, a vizsgálatokat mindenképpen érdemes folytatni, illetve javítani. A PCR során érdemes a tapadási hőmérsékletet növelni, hogy minél specifikusabban tapadjon a primer. A kapott polimorf fragmenteket érdemes kivágni, visszaizolálni és szekvenálni. Ezután olyan markereket tudunk fejleszteni, amelyek segíthetik a nemesítőket olyan fajták szelektálásában és nemesítésében, amelyek antioxidáns kapacitása magasabb és ezzel jobb minőségű és egészségesebb gyümölcsöt adnak. A génexpressziós vizsgálatokat elkezdtük, de egyelőre még nem kaptunk publikálható eredményeket, de azokat folytatjuk, hogy megvizsgáljuk, hogy az antocianin-bioszintézisben szerepet játszó gének expressziós mintázata korrelációba hozható-e egyrészt a színezettel, másrészt az összetevők mennyiségével.

6. Összefoglalás

A cseresznye nemcsak ízletes gyümölcs, hanem tápanyag- és antioxidáns-forrás is, mely számos jótékony hatást gyakorol egészségünkre. Gazdag színe és bioaktív összetevői, mint az antocianinok és flavonoidok, vonzóvá teszik a fogyasztók számára, ráadásul hozzájárulnak az idült betegségek megelőzéséhez is. A természetes színezékek iránti kereslet növekedésével a cseresznye szerepe még inkább előtérbe került egészségvédő tulajdonságai miatt.

Tanulmányunkban különböző cseresznye genotípusokat elemeztünk kémiai és molekuláris genetikai módszerekkel. HPLC-vel mértük és összehasonlítottuk a különböző fajták antocianin és flavonoid összmenyiségét az egész termésben, külön a gyümölcshúsban és a héjban, valamint figyelembe vettük a különböző tárolási módok befolyását a mintákra. Jelentős különbséget tapasztaltunk az egyből fagyasztva tárolt, illetve késleltetve tárolt fajták komponenseinek mennyisége között. Azt tapasztaltuk, hogy egyes komponensek, mint az antocianin és a naringenin-dihexóz, valamint kumaroil-kinasav kevésbé bomlékonyabb a többi komponenshez képest. Továbbá, hogy a héjban nagyobb koncentrációan vannak egyes komponensek, mint a húsban. Az adatainkat összevetettük más szakirodalmi adatokkal, melyek egyeztek a mi vizsgálati eredményeinkkel. A hús és héj vizsgálat unikális tanulmánynak bizonyult, mivel eddig nem foglalkozott a témával szakirodalom.

Cseresznyeleveléből DNS-t izoláltunk, majd CDDP markertechnika segítségével, MYB konzervált régiókat vizsgálva, kerestük az egyes fajták közötti polimorfizmust. Az eredményeket összevetettük a HPLC adatokkal és a polimorfizmus, valamint egyes komponensek különbségei közt kerestünk összefüggést.

Eredményeink azt mutatták, hogy a tárolásnak jelentős hatása van a komponensek bomlékonyságára, melyet további szakirodalmak is alátámasztottak, valamint, hogy az időjárás és évjáráthatás is befolyásolja az egyes komponensek keletkezését.

A molekuláris markerek fejlesztésével és alkalmazásával DNS szinten is nyomon követhető a fajták antioxidáns tartalma, így hatékonyan növelhető a genotípusok potenciális egészségügyi előnyei, ezáltal segítséget nyújthatnak a nemesítés során.

7. Irodalomjegyzék

- Acevedo, O., Ponce, C., Arellano, M., Multari, S., Carrera, E., Donoso, J.M., Martens, S., Kuhn, N., Meisel, L.A. (2023): ABA Biosynthesis- and Signaling-Related Gene Expression Differences between Sweet Cherry Fruits Suggest Attenuation of ABA Pathway in Bicolored Cultivars. *Plants* 2023, 12, 2493. DOI: 10.3390/plants12132493
- Allan, A. C., Hellens, R. P., Laing, W. A. (2008): MYB transcription factors that colour our fruit. *Trends in plant science*, 13(3), 99–102. DOI: 10.1016/j.tplants.2007.11.012
- Alotaibi, S. S. (2020): Genetic variation analysis of Taif's grapevine plants using three different types of gene targeted molecular markers. *Pak. J. Bot*, 52(6), 2125–2132.
- Alsubhi, M., Blake, M., Nguyen, T., Majmudar, I., Moodie, M., & Ananthapavan, J. (2023): Consumer willingness to pay for healthier food products: A systematic review. *Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 24(1), e13525.
- Antognoni, F., Potente, G., Mandrioli, R., Angeloni, C., Freschi, M., Malaguti, M., Hrelia, S., Lugli, S., Gennari, F., Muzzi, E., & Tartarini, S. (2020): Fruit Quality Characterization of New Sweet Cherry Cultivars as a Good Source of Bioactive Phenolic Compounds with Antioxidant and Neuroprotective Potential. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(8), 677.
- Arts, I. C., van de Putte, B., Hollman, P. C. (2000): Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(5), 1746–1751.
- Aubert, C., Bulver, F., Chalot, G. et al. (2024): Effects of hot water treatments on the main physicochemical characteristics and the levels of vitamin C and polyphenols of two sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.) during cold storage and shelf-life. *Eur Food Res Technol* 250, 1641–1651. doi: 10.1007/s00217-024-04495-y.
- Bernalte, M. ., Sabio, E., Hernández, M. ., & Gervasini, C. (2003): *Influence of storage delay on quality of "Van" sweet cherry*. *Postharvest Biology and Technology*, 28(2), 303–312. doi:10.1016/s0925-5214(02)00194-1
- Bondonno, N. P., Bondonno, C. P., Rich, L., Mas, E., Shinde, S., Ward, N. C., Hodgson, J. M., & Croft, K. D. (2016): Acute effects of quercetin-3-O-glucoside on endothelial function and blood pressure: a randomized dose-response study. *The American journal of clinical nutrition*, 104(1), 97–103. doi: 10.3945/ajcn.116.131268
- Boskov, D., Milatovic, D., Rakonjac, V., Zec, G., Hudina, M., Veberic, R., & Mikulic-Petkovsek, M. (2022): The phenolic profile of sweet cherry fruits influenced by cultivar/rootstock combination. *Plants*, 12(1), 103.
- Cao, Y. W., Xu, L. F., Yang, P. P., Xu, H., He, G. R., Tang, Y. C., ... & Ming, J. (2019): Differential expression of three R2R3-MYBs genes regulating anthocyanin pigmentation patterns in *Lilium* spp.
- Chockchaisawasdee, S., Golding, J. B., Vuong, Q. V., Papoutsis, K., & Stathopoulos, C. E. (2016): Sweet cherry: Composition, postharvest preservation, processing and trends for its future use. *Trends in Food Science & Technology*, 55, 72–83. doi:10.1016/j.tifs.2016.07.002
- Chu, L., Zheng, W., Wang, J., Wang, Z., Zhao, W., Zhao B., Xu G., Xiao, M., Lou, X., Pan, F., Zhou, Y. (2023): Comparative analysis of the difference in flavonoid metabolic pathway

- during coloring between red-yellow and red sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Gene*, 880, 147602. doi:10.1016/j.gene.2023.147602
- Clodoveo, M.L., Crupi, P., Muraglia, M., Naeem, M.Y., Tardugno, R., Limongelli, F., Corbo, F. (2023): The main phenolic compounds responsible for the antioxidant capacity of sweet cherry (*Prunus avium* L.) pulp, *LWT, Volume 185*, 2023, 115085, ISSN 0023-6438, doi: 10.1016/j.lwt.2023.115085
- Collard, B.C.Y., Mackill, D. (2009): Conserved DNA-derived polymorphism (CDDP): A simple and novel method for generating DNA markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter*. 27. 558-562. doi: 10.1007/s11105-009-0118-z.
- de Mendoza A, Sebé-Pedrós A, Šestak MS, Matejčić M, Torruella G, Domazet-Lošo T, et al. (2013): Transcription factor evolution in eukaryotes and the assembly of the regulatory toolkit in multicellular lineages. *Proc Natl Acad Sci*. 2013;110(50):E4858–66.
- de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2000): Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish foodstuffs and beverages. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(11), 5331–5337. doi:10.1021/jf000549h
- Faust, M., Surányi, D. (1997): Origin and dissemination of cherry. *Horticulture Review of New York*.
- Gao, L., Mazza, G. (1995): Characterization, quantification and distribution of anthocyanins and colourless phenolics in sweet cherry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43, 343–346.
- Gautam, A. K., & Kumar, S. (2020): *Techniques for the Detection, Identification, and Diagnosis of Agricultural Pathogens and Diseases. Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control*, 135–142. doi:10.1016/b978-0-12-819304-4.00012-9
- Gonçalves, B., Paula Silva, A., Moutinho-Pereira, J., Bacelar, E., Rosa, E., Meyer, A. S. (2007): Effect of ripeness and postharvest storage on the evolution of colour and anthocyanins in cherries (*Prunus avium* L.), *Food Chemistry, Volume 103*, Issue 3, 2007, p. 976-984. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.08.039
- Gonçalves, B., Landbo, A. K., Let, M., Silva, A. P., Rosa, E., & Meyer, A. S. (2004): Storage affects the phenolic profiles and antioxidant activities of cherries (*Prunus avium* L) on human low-density lipoproteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(9), 1013-1020.
- Gonda I., Vaszily B. (2014): Gyümölcstermesztés. Egyetemi jegyzet. Debrecen: Debreceni Egyetemi Kiadó, p.4.
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2019): Polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019(6), pdb-top095109. doi: 10.1101/pdb.top095109
- Holton, T. A. - Cornish, E. C. (1995): Genetics and Biochemistry of Anthocyanin Biosynthesis. *The Plant Cell*. 7(7), 1071–1083. doi: 10.2307/3870058
- Holušová, K., Čmejlová, J., Žďárská, I., Suran, P., Čmejla, R., Sedlák, J., Bartoš, J. (2024): New markers for flowering-time selection in sweet cherry. *Scientia Horticulturae*, 332, 113226.
- Iezzoni, A., Schmidt, H., & Albertini, A. (1991): Cherries (*Prunus*). *Acta Horticulturae*, (290), 111–176. doi:10.17660/actahortic.1991.290.4. DOI: 10.17660/ActaHortic.1991.290.4
- Jakobek, L., Šeruga, M., Voća, S., Šindrak, Z., Dobričević, N. (2009): Flavonol and phenolic acid composition of sweet cherries (cv. Lapins) produced on six different vegetative

- rootstocks, *Scientia Horticulturae*, Volume 123, Issue 1, 2009, Pages 23-28, ISSN 0304-4238, DOI: 10.1016/j.scienta.2009.07.012
- Jia L, Clegg MT, Jiang T. (2004): Evolutionary dynamics of the DNA-binding domains in putative R2R3-MYB genes identified from rice subspecies indica and japonica genomes. *Plant Physiol.* 2004;134(2):575–85.
- Karin, M. (1990): Too many transcription factors: positive and negative interactions. *The new biologist*, 2(2), 126-131. Klein, J.D., Lurie, S., 1991. Postharvest heat treatment and fruit quality. *Postharvest News Inform.* 2, 15-19
- Koes, R. E., Quattrocchio, F., & Mol, J. N. (1994): The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *BioEssays*, 16(2), 123-132.
- Kupferman, E.M., (1995): Managing cherry temperature for optimum quality. *Good Fruit Grower* June, 39-41
- Liu, Y., Liu, X., Zhong, F., Tian, R., Zhang, K., Zhang, X., Li, T. (2011): Comparative study of phenolic compounds and antioxidant activity in different species of cherries. *Journal of food science*, 76(4), C633–C638. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02150.x
- Miranda, S., Vilches, P., Suazo, M., Pavez, L., García, K., Méndez, M. A., ... & Del Pozo, T. (2020): Melatonin triggers metabolic and gene expression changes leading to improved quality traits of two sweet cherry cultivars during cold storage. *Food Chemistry*, 319, 126360.
- Moeller B., Herrmann K. (1983): Quinic acid esters of hydroxycinnamic acids in stone and pome fruit. *Phytochemistry* 22:477-481
- Mohácsy, M., Maliga, P. (1959): Cseresznye és meggytermesztés. 2. kiadás. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, p.221.
- Muhammad, N., Luo, Z., Yang, M., Liu, Z., Liu M. (2023): The underlying molecular mechanisms of external factors influencing fruit coloration in fruit trees, *Scientia Horticulturae*, Volume 309, 111615, ISSN 0304-4238. DOI: 10.1016/j.scienta.2022.111615
- Nunes, A. R., Gonçalves, A. C., Alves, G., Falcão, A., Garcia-Viguera, C., A. Moreno, D., & Silva, L. R. (2021a): Valorisation of *Prunus avium* L. by-products: Phenolic composition and effect on Caco-2 cells viability. *Foods*, 10(6), 1185
- Nunes, A.R., Gonçalves, A.C., Falcão, A., Alves, G., Silva, L.R. (2021b): *Prunus avium* L. (Sweet Cherry) By-Products: A Source of Phenolic Compounds with Antioxidant and Anti-Hyperglycemic Properties—A Review. *Appl. Sci.* 2021, 11, 8516. DOI: 10.3390/app11188516
- Oancea, S., Draghici, O., Ketney, O. (2015): Changes in total anthocyanin content and antioxidant activity in sweet cherries during frozen storage, and air-oven and infrared drying. Department of Agricultural Sciences and Food Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, Food Industry and Environmental Protection, *Fruits*, 2016, vol. 71(5), p. 281-288 c_ Cirad / EDP Sciences 2016. doi: 10.1051/fruits/2016025
- Ogata K, Kanei-Ishii C, Sasaki M, Hatanaka H, Nagadoi A, Enari M, et al. (1996): The cavity in the hydrophobic core of Myb DNA-binding domain is reserved for DNA recognition and trans-activation. *Nat Struct Biol.* 3(2):178–87.

- Oliveira, A., Alexandre, E. M., Coelho, M., Barros, R. M., Almeida, D. P., & Pintado, M. (2016): Peach polyphenol and carotenoid content as affected by frozen storage and pasteurization. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 361-368.
- Paz-Ares J, Ghosal D, Wienand U, Peterson P, Saedler H. (1987): The regulatory c1 locus of *Zea mays* encodes a protein with homology to myb proto-oncogene products and with structural similarities to transcriptional activators. *EMBO J.*6(12):3553–8.
- Peng X, Liu H, Wang D, Shen S. (2016): Genome-wide identification of the *Jatropha curcas* MYB family and functional analysis of the abiotic stress responsive gene JcMYB2. *BMC Genomics*.17(1):1–12.
- Postollec, F., Falentin, H., Pavan, S., Combrisson, J., & Sohier, D. (2011): Recent advances in quantitative PCR (qPCR) applications in food microbiology. *Food microbiology*, 28(5), 848-861.
- Prvulovic, D., Malenčić, Đ., Popović, M., Ljubojević, M., Ognjanov, V. (2011): Antioxidant Properties of Sweet Cherries (*Prunus avium* L.) - Role of Phenolic Compounds. *World Academy of Science, Engineering and Technology*. 59. 1149-1152.
- Qi, X., Liu, C., Song, L., Dong, Y., Chen, L., Li, M. (2022): A Sweet Cherry Glutathione S-Transferase Gene, PavGST1, Plays a Central Role in Fruit Skin Coloration. *Cells*, 11(7), 1170. DOI: 10.3390/cells11071170
- Roy S. (2016): Function of MYB domain transcription factors in abiotic stress and epigenetic control of stress response in plant genome. *Plant Signal Behav.*11(1):e1117723.
- Sabir, I. A., Manzoor, M. A., Shah, I. H., Liu, X., Zahid, M. S., Jiu, S., Zhang, C. (2022): MYB transcription factor family in sweet cherry (*Prunus avium* L.): genome-wide investigation, evolution, structure, characterization and expression patterns. *BMC Plant Biology*, 22, 1-20.
- Stan, A., Mareși, E., Chivu, M., Butac M. (2023): Fruits Quality Of Some Sweet Cherry Cultivars In Correlation With Consumer Preferences. *Fruit Growing Research*, Vol. XXXIX, 2023. Research Institute for Fruit Growing Pitești, Romania. DOI 10.33045/fgr.v39.2023.08
- Vasylyshyna, E. (2016): Influence of freezing and storing cherry fruit on its nutritional value. *Acta scientiarum polonorum technologia alimentaria*, 15(2), 145-150.
- Veršić Bratinčević, M., Jukić Špika, M., Gadže, J., & Radunić, M. (2022): A cherry on top—but which one? Use of physicochemical coupled to multivariate analysis for the distinction of fourteen sweet cherry cultivars in Croatia. *Journal of food processing and preservation*, 46(4), e16442.
- Weston K. (1998): Myb proteins in life, death and differentiation. *Curr Opin Genet Dev*. 8(1):76–81.
- Wheeler, S., Loveys, B., Ford, C., & Davies, C. (2009): The relationship between the expression of abscisic acid biosynthesis genes, accumulation of abscisic acid and the promotion of *Vitis vinifera* L. berry ripening by abscisic acid. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 15(3), 195-204.
- Yifan Y, Bin D, Chengyong F, Liyuan Y, Hongbo Z. (2020): Identification of the R2R3-MYB family of *Osmanthus fragrans* and its expression in the process of flower opening. *Acta Horticulturae Sin.* 47(10):2027.

Zhao, H., Liu, B., Zhang, W., Cao, J., & Jiang, W. (2019): Enhancement of quality and antioxidant metabolism of sweet cherry fruit by near-freezing temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, 147, 113-122.

Internetes források

- URL1: Központi Statisztikai Hivatal honlapja. Letöltés dátuma: 2024.08.06. Forrás: https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0025.html
- URL2: Központi Statisztikai Hivatal honlapja. Letöltés dátuma: 2024.08.06. Forrás: https://www.ksh.hu/elemzesek/gyumolcs2017_elozetes/gyumolcs2017_elozetes.pdf
- URL3: (Aida) Tündérkertek.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.22. Forrás: <https://tunderkertek.com/webaruhaz/gyumolcsfa-csemetek/cseresznye/aida-cseresznye-505>
- URL4: (Anita) Neo Inactive Kft.–Gyümölcspédia honlapja. Letöltés dátuma: 2024.08.06. Forrás: <http://gyumolcspedia.hu/anita-cseresznye>
- URL5: (Bigarreau Burlat) Tündérkertek.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024.08.06. Forrás: <https://tunderkertek.com/webaruhaz/gyumolcsfa-csemetek/cseresznye/bigarreau-burlat-cseresznye-578>
- URL6: (Carmen) Tündérkertek.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.22. Forrás: <https://tunderkertek.com/webaruhaz/gyumolcsfa-csemetek/cseresznye/carmen-cseresznye-477>
- URL7: (Krupnoplodnaja) Tündérkertek.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.22. Forrás: <https://tunderkertek.com/webaruhaz/gyumolcsfa-csemetek/cseresznye/krupnoplodnaja-cseresznye-597>
- URL8: (Négus) Tündérkertek.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024.08.06. Forrás: <https://tunderkertek.com/webaruhaz/gyumolcsfacsemetek/cseresznye/negus-cseresznye-511>
- URL9: (Péter) Csodakertész Barna Faiskola Kft. honlapja. Letöltés dátuma: 2024.08.06. Forrás: <https://www.csodakertesz.hu/Peter-cseresznye-Konteneres>
- URL10: (Sándor) Tündérkertek.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.22. Forrás: <https://tunderkertek.com/webaruhaz/gyumolcsfa-csemetek/cseresznye/sandor-cseresznye-601>
- URL11: (Sárga hibrid) A Kertem Kertészet honlapja. Letöltés dátuma: 2024.08.06. Forrás: <https://www.akertemkertesz.hu/termek/Gyumolcstermok/sarga-cseresznye>
- URL12: (Szomolyai fekete) A Sweet Garden honlapja. Letöltés dátuma: 2024.08.06. Forrás: https://sweetgarden.hu/szomolyai_fekete_cseresznye
- URL13: (Tünde) A Gyümölcspédia honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.22. Forrás: <http://gyumolcspedia.hu/tunde-cseresznye>
- URL14: (Valerij Chkalove) Tündérkertek.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.22. Forrás: <https://tunderkertek.com/webaruhaz/gyumolcsfa-csemetek/cseresznye/valerij-cskalov-cseresznye-588>
- URL15: (Vega) Tündérkertek.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.22. Forrás: <https://tunderkertek.com/webaruhaz/gyumolcsfa-csemetek/cseresznye/vega-cseresznye-515>

- URL16: (Vera) Tündérkertek.com honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.22. Forrás:
<https://tunderkertek.com/webaruhaz/gyumolcsfa-csemetek/cseresznye/vera-cseresznye-516>
- URL17: Országos Meteorológiai Szolgálat honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.21. Forrás:
<https://www.met.hu/rolunk/hirek/index.php?id=2670>
- URL18: Országos Meteorológiai Szolgálat honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.21. Forrás:
https://www.met.hu/rolunk/hirek/index.php?id=3083&hir=Az_otodik_legmelegebb_nyar_%E2%80%93_elozetes_elemzes
- URL19: NET Média Zrt- Agrárszektor.hu honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.21. Forrás:
<https://www.agrarszektor.hu/noveny/20220607/friss-agrarszektor-idojaras-elorejelzes-20220607-kedd-38519>
- URL20: Országos Meteorológiai Szolgálat honlapja. Letöltés dátuma: 2024.10.21. Forrás:
https://www.met.hu/eghajlat/magyarorszag_eghajlata/eghajlati_visszatekinto/elmult_evszakok_idojarasa/main.php

8. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek, Dr. Veres Anikónak, Bedő Jankának és Dr. Halász Gábor Endrének, akik végigkísérték és folyamatosan segítettek munkámat mind szakmailag, mind emberileg. Támogatásukkal és iránymutatásaikkal hozzájárultak egy igényes és alapos dolgozat elkészítéséhez. Hálás vagyok a Genetika és Biotechnológia Intézet munkatársainak, Dr. Kovács Zsófiának, aki mindig rendelkezésemre állt szakmai tanácsaival és támogatásával.

Külön szeretnék köszönetet mondani Dr. Hussein Daoodnak, akinek szakértelme nélkülözhetetlen volt a HPLC mérések elvégzéséhez. Szeretném megköszönni továbbá Leith Al Hassani segítségét is, melyet a HPLC mérésekhez nyújtott.

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Mihályfi Csilla Rita

A Hallgató Neptun kódja: TIJW80

A dolgozat címe: Cseresznye (*Prunus avium* L.) genotípusok antocianin- és polifenol tartalmának vizsgálata HPLC-vel és molekuláris genetikai módszerekkel

A megjelenés éve: 2024

A konzulens intézetének neve: Genetika és Biotechnológia Intézet (Dr. Veres Anikó, Bedő Janka)
MATE Környezettudományi Intézet (Dr. Halász Gábor Endre)

A konzulens tanszékének a neve: Genetika és Genomika Tanszék (Dr. Veres Anikó, Bedő Janka)
Környezetanalitikai és Környezettudományi Tanszék (Dr. Halász Gábor Endre)

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlant állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

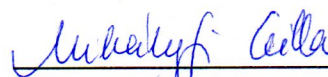
Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkor szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumába. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után

nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumában.

Kelt: Gödöllő, 2024. 10. 28.


Hallgató aláírása

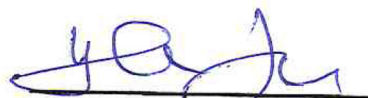
NYILATKOZAT

Mihályfi Csilla Rita (TIJW80) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A diplomadolgozatot a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: Gödöllő, 2024. 10. 28.


Dr. Halász Gábor Endre

NYILATKOZAT

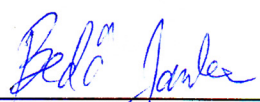
Mihályfi Csilla Rita (TIJW80) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakedolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: Gödöllő, 2024. 10. 28.


Dr. Veres Anikó


Bedő Janka

Dr. Halász Gábor Endre