



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Budai Campus

Genetika és Biotechnológia Intézet

Növénybiotechnológia Tanszék

Kertészmérnök alapképzési szak

Kajszi fajtajelöltek molekuláris vizsgálata a termékenyülési
fenotípus és kajszihimlő-rezisztencia tekintetében

Témavezető: Dr. Halász Júlia, PhD egyetemi tanár

Készítette: Huszár Balázs Pál

2023

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés	2
2. Célkitűzés	3
3. Irodalmi áttekintés	4
3.1. A kajszi származása, jellemzői, nemesítése és termesztése	4
3.2. Az inkompatibilitás szerepe a növényvilágban	8
3.3. A <i>Prunus</i> fajok inkompatibilitási rendszere	10
3.4. A bibe és pollenkomponens	12
3.5. A kajszi öntermékenyülése	14
3.6. Az <i>S</i> -allélok meghatározása	15
3.7. A kajszihibrid eredete, jelentősége és molekuláris háttere	17
3.8. A <i>plum pox virus</i> kimutatása	20
3.9. A rezisztencia molekuláris háttere	22
3.10. A rezisztencia öröklődése	23
3.11. A rezisztencianemesítés jelenlegi helyzete	24
3.12. Modern molekuláris módszerek a nemesítésben	26
4. Anyag és módszer	30
4.1. Növényanyag	30
4.2. Módszer	32
5. Eredmények és megvitatásuk	34
5.1. A hibridek <i>S</i> -alléljainak meghatározása PCR-rel	34
5.2. Az öntermékenyülő fajták azonosítása	38
5.3. Az egyes kajszihibridek <i>S</i> -genotípusa, a lehetséges szülőkombinációk megállapítása	39
5.4. A <i>plum pox virus</i> rezisztencia azonosítása	41
5.5. A fajtabejelentésre érdemes hibridek ismertetése	43
6. Összefoglalás	45
7. Irodalomjegyzék	46
8. Ábra és táblázatjegyzék	51
8.1. Ábrajegyzék	51
8.2. Táblázatjegyzék	51
9. Köszönetnyilvánítás	52

1. BEVEZETÉS

A kajsi (*Prunus armeniaca* L.) az ötödik legnagyobb területen termesztett gyümölcs Magyarországon. Termése igen népszerű mind a magyar, mind a külföldi piacon, friss és feldolgozott formában egyaránt. Rövid szüreti időszaka révén frissen csak rövidebb ideig fogyasztható, azonban a feldolgozóipar változatos felhasználási módjait alkalmazza, gondoljunk csak az aszalt vagy lekvár formára. Rendkívül jellegzetes zamatos ízével és kiváló beltartalmi értékeivel megállja a helyét a korszerű táplálkozásunkban is. A Kínából származó csonthéjas gyümölcs gazdaságos termesztési területe a 30. és a 50. szélességi fokok között terül el az északi és a déli féltekén egyaránt. Magyarország ennek a területnek az északi határán található. A kajsi kicsi adaptációs képessége miatt az országok zömében helyi fajtákat termesztnek. A magyarországi fajtaválasztékban még mindig számos hazai fajtát találunk, de egyre több értékes külföldi fajta került termesztésbe az elmúlt években.

A termesztett fajta kiválasztása a kajsi esetében is több szempont alapján történik. Elsődleges szempont a gyümölcs minősége és piacossága. A különféle felhasználási területek más-más tulajdonságokat igényelnek a sikeres értékesítés érdekében. A friss piac számára a külső fedőszín, a különleges íz és a minél további polcon tarthatóság a legfontosabb szempontok. A feldolgozóipar első sorban a megfelelő húskeménységet és a magvaválóságot keresi. A gyümölcs tulajdonságain kívül fontosak még a termesztéshez szükséges minél jobb tulajdonságok. Ezek közé tartozik a fajták növekedési erélye, termékenyülési viszonyaik, vízigényük, hőtűrésük és a különféle biotikus és abiotikus tényezőkkel szembeni ellenállóképességük. Ezen tulajdonságok közül is három kap kiemelkedő szerepet. A fagy-tűrés az utóbbi évek egyre szélsőségesebb időjárási viszonyai miatt kerül előtérbe. A tavaszi fagyokat vagy a minél későbbi virágzású fajták kiválasztásával lehet elkerülni, vagy olyan fajták használatával, amelyek kibírják a fagyponthoz alatti körülményeket.

A kajszifajták másik fontos tulajdonsága termesztésük szempontjából a termékenyülési viszonyuk. A hazai termesztett fajták többségében öntermékenyülők, de léteznek önmeddő fajták is, amik az ültetvény telepítésekor pollenadó fajták ültetését igénylik a kielégítő termésmennyiség eléréséhez. A kajsi önmeddősége vagy öntermékenyülése az *S*-allélrendszeren alapul. Az *S*-lókuszbán található az *F*-box fehérjét kódoló allél, aminek a mutációja okozza az öntermékenyülést. Az allélok kimutatására igen megbízható DNS-alapú markereket fejlesztettek ki. Ezek segítségével az utóbbi években egyre több fajtának írták le az *S*-genotípusát, ezzel megismerve a termékenyülésük genetikai hátterét, és ún. inkompatibilitási csoportokat kialakítva az ideális ültetvényszerkezet jól tervezhető. Ezek ismerete nem csak az új ültetvények telepítésekor, hanem a további keresztezések során is nélkülözhetetlen segítséget nyújt.

A harmadik kiemelkedő tulajdonság a károsítókkal szembeni ellenállóképesség. A termesztés során jelentősen megkönnyíti a gazdálkodó munkáját, ha a fajta minél több biotikus vagy abiotikus

tényezővel szemben toleráns, vagy még kedvezőbb, ha rezisztens. Különösen ma, az ökológiai és biogazdálkodás elterjedésével, a fogyasztók fokozottan keresik a növényvédőszer-mentes árut, ezért egyre több termelő igyekszik átállni ezekre a gazdálkodási formákra. Azonban vannak olyan kórokozók, amik ellen nem lehet védekezni, kizárólag a rezisztens fajták használatával lehet kiküszöbölni a gazdasági kárt. Ilyen a kajszihimlő (*Plum pox potyvirus*). Ez a betegség a leveleket és a gyümölcsöt is károsítja, eladhatatlanná téve az árut, és jelentősen rontja a fa kondícióját. Előrejelzésre és védekezésre nincs lehetőség, kizárólag az egészséges magoncok vagy rezisztens fajták telepítésével lehet megelőzni a megjelenését. Ma már azonban ennek a rezisztenciának is ismert a genetikai háttere, és kifejlesztették a szükséges molekuláris markereket az ellenálló és fogékony fajták elkülönítéséhez. Az ellenálló fajtákban egy mutáció hatására bekövetkező kereteltolódás miatt nem a vírus nem tudja megfertőzni a növényt.

A molekuláris markerek ma már nagyban hozzájárulnak a nemesítők munkájához, hiszen segítségükkel megismerhetjük az egyes tulajdonságok genetikai hátterét, öröklődésüket, és azonosítani tudjuk őket a fajtajelöltekben. A fás növények esetében kiemelt a jelentőségük, mert a keresztezésből született magoncokat nem kell felnevelni és megvárni a termőre fordulásukat, hanem már akár a csíranövényekből is tudunk DNS-t izolálni és annak segítségével információt szerezni a fajta tulajdonságairól. Ezzel a nemesítői munka lényegesen felgyorsítható.

2. CÉLKITŰZÉS

A kísérlet fő célja 15 kajszi fajtajelölt molekuláris hátterének megismerése két kiválasztott tulajdonság szempontjából, ezzel megkönnyítve Dr. Gutermuth Ádám nemesítő munkáját és a fajtabejelentés folyamatát.

1. A fajtajelöltek *S*-genotípusának meghatározása molekuláris diagnosztikai módszerekkel, ezzel megismerve termékenyülési viszonyaikat, és önmeddő fajták esetén megkönnyítve az inkompatibilitási csoportokba való besorolásukat. Így megállapítható ezekről a fajtákról, hogy termeszthetőek-e monokultúrában, vagy szükséges-e pollenadó fajtákkal együtt telepíteni őket, és ha igen, akkor milyen *S*-allélokkal rendelkező pollenadókat kell választania a termesztőknek.
2. A fajtajelöltek vizsgálata specifikus primerekkel végzett PCR-rel. Egy 2018-as kutatásnak köszönhetően ezzel a módszerrel nagy biztonsággal eldönthetjük, hogy az egyes hibridek rezisztensek vagy fogékonyak a *plum pox virus*-ra. Ez a tulajdonság az egyik legfontosabb információ mind a fajtabejelentés során, mind a későbbi termesztésbe vonáskor.
3. A fajtajelöltekről fajtaleírások készítése, mind a kutatás során megszerzett információkat felhasználva, mind a fajtajelöltek egyéb tulajdonságait összegyűjtve. Ezután a fajtajelöltek közül kiválasztjuk a bejelentésre és későbbi termesztésbe vonásra leginkább ígéretes hibrideket.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A kajszi származása, jellemzői, nemesítése és termesztése

A kajszi (*Prunus armeniaca* L.) géncentruma Kína hegyvidéki területein található, itt ma is megtalálhatóak vadon élő egyedek a száraz, köves domboldalakon. A kajszi az egyik legrégebben termesztett gyümölcsfaj, egyes régészeti leletek szerint őshazájában már időszámításunk előtt 4-5 ezer évvel termesztetni kezdték. Innen terjedt el nyugatra, a Selyemút vonalán, emberi közvetítéssel. Örményországot tartják a másodlagos géncentrumának, ugyanis a kiváló környezeti adottságoknak köszönhetően itt is több ezer évre nyúlik vissza termesztés története (Szalay et al. 2004). Időszámításunk kezdetén jelent meg először Itáliában, Törökországban, Szíriában és Görögországban (Zhebentyayeva et al. 2012). Nyugat-Európában csak a XIV. században vonták termesztésbe, Amerikába és a déli féltekére pedig a XIX. század környékén került (Szalay et al. 2004). Amerikába két különböző irányból, Európa felől és Kína felől érkezett. Így Amerikában különféle tulajdonságú kajszi fajták alakultak ki a terjedésük irányának köszönhetően (Zhebentyayeva et al. 2012). A gazdaságos termesztéséhez optimális területek mind az északi, mind a déli féltekén a 30. és 50. szélességi fok között találhatóak. Magyarország ennek az övezetnek az északi határán fekszik (Tóth 2015). Hazánkba több útvonalon került be, dél felől a Mediterráneumból, kelet felől a Volga mentéről. Így többféle típust hoztak Magyarország területére. Ezen típusok keveredéséből kialakult egy egyedi közép-európai fajtakör, amelynek fajtái még mai is megtalálhatóak az európai termesztésben. Ennek a fajtának az egyik fő kialakulási területe Magyarország, ezért egyes kutatók hazánkat nevezik a kajszi „harmadik géncentrumának” (Szalay et al. 2004).

A kajszi a *Rosaceae* család *Prunus* nemzetségének a tagja. Négy fő fajt ismerjük, ezek a *Prunus armeniaca* L., a *P. sibirica* L., a *P. mume* Sieb. et Zucc és a *P. madschurica* (Maxim.) Koehne. Ezek közül termesztésben a közönséges kajszit használják, a mandzsúriai és a szibériai fajok nemesítési programok alapanyagául szolgálnak, fagyűrűsük és betegség ellenállóságuknak köszönhetően. A kajszi fajták többségének kicsi az ökológiai alkalmazkodóképessége, így a fajták hő és szárazságtűrése, hidegigénye és kórokozókkal szembeni ellenállósága gyakran egy bizonyos országra, tájra korlátozza a fajta termesztetőségét (Tóth 2015). A *P. armeniaca* fajon belül több ökológiai-földrajzi csoportot különböztetnek meg a kialakulási helyük szerint. Ezek a csoportok változó tulajdonságokat hordoznak, és szintén jó alapanyagul szolgálhatnak a későbbi nemesítési programok során (Szalay et al. 2004).

A kajszi termése valódi csonthéjas termés. Piaci szempontból a gyümölcs mérete, színe és alakja a legfontosabb tulajdonságok. A kajszinál is a különféle felhasználási módok szerint változnak a keresett tulajdonságok. A maghoz kötöttség egy kiemelten fontos pomológiai jellemző. A hazai fajták között, az igen korai fajták kivételével, zömében jó magvaváló fajtákat találunk. A csonthéj alakja és mérete jellegzetes fajtabélyeg, használható az egyes fajták azonosítására, elkülönítésére (Tóth 2015). A kajszi gyümölcse különösen értékes ételkészítmény, sokoldalú felhasználásának és kiváló beltartalmi értékeinek

köszönhetően. Magas a rosttartalma, bioaktív anyagokban gazdag, miközben az energiatartalma alacsony. A szénhidrátartalma 11% és 13% között változhat, emellett fontos fehérjét, ásványi anyagokat és vitaminokat tartalmaz (Khursheed 2020). Az egészségre gyakorolt jótékony hatását főként a magas karotinoid, flavonoid, antioxidáns és vitamintartalmának köszönheti, emiatt funkcionális élelmiszerként tekintenek rá. Főként frissen fogyasztják, de a feldolgozóiparban is fontos alapanyag, készítenek belőle lekvárt, gyümölcslevet és aszalt barackot (Alajil et al. 2021). A Magyarországon készített barackpálinka a világpiacon is keresett termék. Az világon a legnagyobb aszalvány-előállító ország Törökország (Szalay et al. 2004).

Az első kajszifajták szelektálása időszámításunk után 600 körül kezdődött kínai ültetvényekben, ahol a kiemelkedő gyümölcsminőségű fajtákat válogatták ki. A tudatos nemesítés az oltványok használata után kezdődött. Ekkoriban a fajták nagyrészt önmeddőek voltak, így az ültetvényekben véletlenszerűen történt a beporzás, és ennek köszönhetően az értékes fajták keresztezése. Az első, névvel ellátott fajták az 1600-as években jelentek meg az európai feljegyzésekben. Ezek a fajták még mindig csupán szelekciós nemesítés során keletkeztek, de a későbbiekben fontos alanyok voltak a tudatos keresztezésekben (Ledbetter 2008).

Az első keresztezéses nemesítési program 1925-ben kezdődött, a yaltai Nikita Botanikus kertben, az akkori Ukrajna területén (Polo-Oltra et al. 2020). Olaszországban három jelentős egyetemi nemesítési program zajlott, Milánóban, Bolognában és Pisában. 2006-ban megjelent három új olasz fajta, a 'Boreale', az 'Ardore' és a 'Pieve'. Ezek a fajták jobb gyümölcsminőséggel és meghosszabbított érési időszakkal rendelkeznek. Franciaországban egy 1982-ben indult program során 11 új fajtát hoztak létre a nemesítők. Görögországban a kajszihimlő-rezisztens fajták nemesítése zajlott 1989-től, ahol észak-amerikai fajtákat használtak keresztezési alanyként, az európai jó gyümölcsminőségű fajtákkal keresztezve. Ennek a programnak 9 rezisztens fajta volt az eredménye. Silistrában, Bulgáriában, egy kajszii kutatóintézetben a kajszifajták genetikai változatosságának gazdagítása érdekében indítottak nemesítési programot az 1990-es években. Csehországban 1981-ben indult egy program, ami hét új hidegtűrő és hosszú érési idejű fajtát eredményezett. Európán kívül Ausztráliában, Új-Zélandon, Dél-Afrikában, Kínában és Amerikában zajlottak jelentősebb nemesítési programok. Ezek célja gyakran az európai fajták honosítása volt, az adott régió környezeti tényezőihez (Zhebentyayeva et al 2012). Észak-Amerikában 1980-tól napjainkig több mint 50 új fajtát hoztak létre a nemesítők. Észak-Amerikában az utóbbi években a kajszii népszerűsége csökkent a fogyasztók körében, így kevés nem magánkézben lévő nemesítő program zajlik. Az amerikai nemesítők is főként az érési szezon elnyújtását és a betegség ellenállóságot tartják szem előtt a nemesítés során. A kaliforniai nemesítők abban a szerencsés helyzetben vannak, hogy a kajszihimlő vírus nem jelent meg ebben a régióban, így koncentrálhattak a gyümölcsminőség és termés hozam javítására, a rezisztencianemesítés helyett (Ledbetter 2010).

Magyarországon az 1930-as években Magyar Gyula már foglalkozott a tájszelekciós nemesítéssel, ezt folytatta Maliga Pál és Nyújtó Ferenc az 1950-es évektől. Ennek során az ültetvényekből szelektálták és szaporították a 'Magyar kajszii' kedvező tulajdonságú klónjait. Maliga Pál

az 1960-as években tudatos nemesítésbe kezdett, és létrehozta a 'Pannónia' fajtát. Egyetemünkön Pedryc Andrzej professzor úr folytatott nemesítési munkát, új nemesítési módszereket is alkalmazva a hagyományos technológiák mellett (Szalay et al. 2004). Ma hazánkban nem zajlik egyetemi nemesítési program, csak magánnemesítők foglalkoznak kajszinemesítéssel.

A nemesítés fő célja a mai napig a minél jobb minőségű és minél gazdaságosabban termesztető fajták létrehozása. A közönséges kajszit gazdag genetikai változatossággal rendelkezik, de a magas fokú heterozigótaság lassítja az új fajták létrehozását. A legtöbb nemesítői alapanyag ma is a helyi fajtákból kerül ki, a már kész környezeti alkalmazkodásnak köszönhetően. A kajszit változó környezeti feltételekhez való gyenge alkalmazkodóképessége nagyban nehezíti a más régiókból származó fajták honosítását (Hormaza et al. 2007). A nemesítőknek számos szempontot kell szem előtt tartaniuk az új fajták előállításánál. A legfontosabb tulajdonság a kezdetektől fogva a gyümölcs minősége. Ide tartozik a gyümölcshús keménysége, a méret, a fedőszín aránya és színe, a hús színe és a gyümölcs nedvességtartalma. Ezek műszeresen mérhető értékek. Egy 1995-ös kutatásban kimutatták, hogy ezek a tulajdonságok nagy valószínűséggel öröklődnek tovább a keresztezések során. A korai érésű fajtáknál azt találták, hogy a korai érés és a savasság összefügg, ami gyakori probléma a gyümölcs értékesítésénél (Ledbetter 2008).

A környezeti tényezőkkel szembeni ellenállóság az elmúlt években hangsúlyosabb lett, köszönhetően az egyre később jelentkező tavaszi fagyoknak. Ennek a kiküszöbölésére későbbi virágzású fajtákat próbálnak létrehozni, azonban ezeknek a gyümölcs hozama elmarad a korai virágzású fajtákétól. Ezeket a fajtákat magas hőigényű fajtákkal keresztezik, így várva jobb termésmennyiséget a kései virágzás után. A gyümölcsrepedést is a környezeti tényezők váltják ki, az éréshez közeledő gyümölcsök vízegyensúlyának felborításával. Erre a problémára az olasz nemesítők számos ellenálló fajta létrehozásával találtak megoldást (Bassi és Audergon 2006).

Az érési idő elnyújtása a minél későbbi piaci megjelenés, ezáltal drágábban eladható termés miatt fontos szempont. Amerikai nemesítők mexikói és afrikai fajták keresztezésével tudtak igen kései érésű fajtákat létrehozni, ezeknek a fajtáknak azonban gyenge az alkalmazkodóképessége, így nem termesztetők gazdaságosan a származási helyükön kívül (Zhebentyayeva 2012).

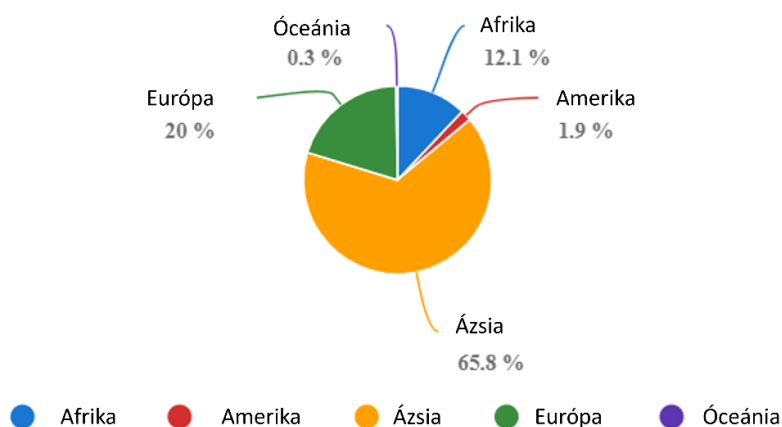
A gyümölcs hozam növelése, mint minden termesztett növénynél, a kajszinál is kiemelt fontosságú tulajdonság. Egy folyamatosan bőven termő, de közepes gyümölcsminőséget adó ültetvény jövedelmezőbb, mint egy jó minőségű, de változó terméshozamú. A gyümölcs hozam változásának vagy alternálásnak több oka is lehet. Vannak erre hajlamos fajták, okozhatja a gyenge fagyűrész és az önmeddőség is (Bassi és Audergon 2006).

A kajszit viszonylag kevés biotikus károsító veszélyezteti, de ezek komoly gazdasági kárt tudnak okozni. Éppen ezért a betegségellenállóság az utóbbi években egyre hangsúlyosabb nemesítési szempont lett. A kajszit fő kórokozói a *Monilinia* spp. gombák, amik mind a leveleket, mind a gyümölcsöt károsíthatják; a kajszihimlő *plum pox virus*, ami a fák jelentős gyümölcs hozam-csökkenését

okozza, eladhatatlanná téve a termést; a baktériumos betegségek közül pedig a *Pseudomonas* spp. és a *Xanthomonas* spp. jelent növényvédelmi gondot (Bassi és Audergon 2006).

A termesztőknek és a nemesítőknek is figyelembe kell venniük az egyes kajszifajták önmeddőségét, mivel ez a tulajdonság mind az ültetvény létesítésekor, mind az egyes keresztezések során fontos lehet. Az öntermékenyülő fajtákat lehet monokultúrában termesztetni, míg az önmeddő fajták mellé kompatibilis pollenadókat kell telepíteni (Ledbetter 2008).

A kajszi a 10. legnagyobb mennyiségben termesztett gyümölcsfaj a világon. 2021-ben 3,5 millió tonnát termesztettek belőle, mintegy 550 ezer hektár területen. Az elmúlt 30 évben a kajszi termésmennyisége világszinten nőtt, egészen a 2010-es évekig, amikor is stagnálni kezdett. A termőterület mértéke ezzel párhuzamosan nőtt a 2010-es évekig, majd ott beállt egy állandó szintre. A világ két legnagyobb kajszitermesztő régiója mindig is Ázsia és Európa volt, az előbbi 56, az utóbbi 26 százalékos hozzájárulással a világ termésmennyiségéhez. 2021-ben Ázsia a világtermesztés 65,8%-át adta (1. ábra). A legnagyobb kajszitermesztő ország Törökország 800 ezer tonna terméshozammal, öt követi Üzbegisztán, Irán és Algéria. Európában Olaszország az első a kajszitermesztő országok listáján, utána következik Spanyolország, Görögország, Ukrajna és Franciaország (FAOSTAT 2021).



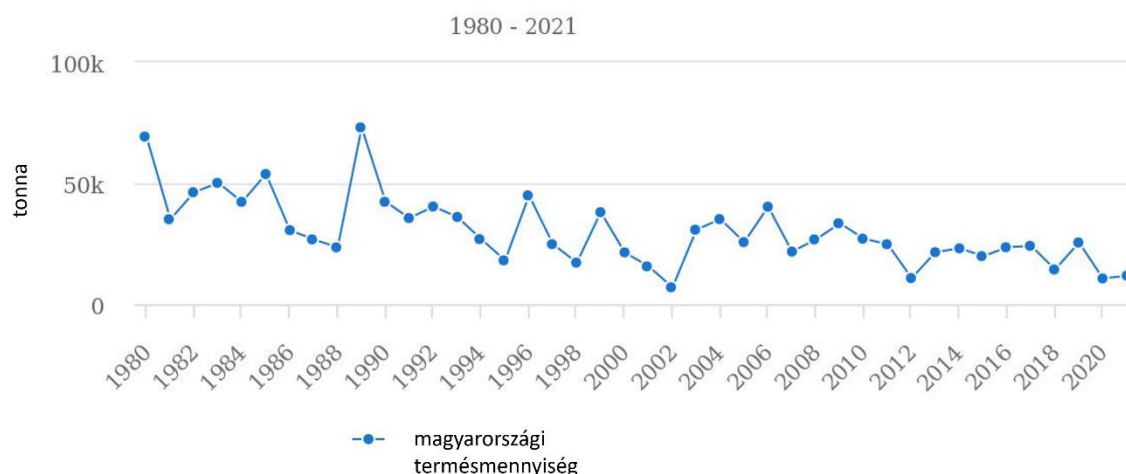
1. ábra: A kajszitermesztés megoszlása régiók szerint. 2020-2021-es átlag termésmennyiség alapján.

(Forrás: FAOSTAT 2021)

Magyarországon a XVII. század végén a kajszinak a Duna-Tisza közti területeken a futóhomok megkötésében volt jelentős szerepe, annak ellenére, hogy ez a terület ökológiailag nem optimális a kajszi számára. Nálunk már legalább három évszázada zajlik kiterjedt termesztés, de az igazi fellendülés az 1950-es években kezdődött, a termelőszövetkezetek kialakulásával. A fagyérzékenység a termesztés teljes története során fontos szempont volt. A kezdetekben fagytűrő helyi fajtákat telepítettek szőlővel együtt, így jó termésbiztonság volt elérhető. Azonban ezeknek a fajtáknak a gyümölcsminősége gyengébb volt. Az értékes, nagy gyümölcsű fajtákat viszont az Alföldön rendszeresen megtizedelte a

fagy. Ezek az események alakították ki a kajszi kedvező termőtájakat hazánkban, a Balaton környékén, a Gödöllői-dombságban, a Mecsek alján és az Északi-középhegység déli lejtőin (Radóczné 2012).

Magyarországon mind a kajszi terméshozama mind a termesztőterület mérete jelentősen ingadozott az elmúlt 40 évben (2. ábra). A terméshozam ingadozásának fő oka a fagykár (Szalay et al. 2016). Hazánkban a legnagyobb terméshozam az 1989-es évben volt, amikor az éves össztermés elérte a 73 ezer tonnát. Ehhez képest az ezredforduló után jelentős csökkenés tapasztalható, a 2000-es évektől napjainkig az éves termésátlag körülbelül 20 ezer tonna (FAOSTAT 2021). A 2000-es években a legjobb év 2009 volt, amikor a terméshozam elérte a 47 ezer tonnát. Az ezt megelőző és követő években ennek a közelébe sem ért a hozam, a tavaszi fagyoknak köszönhetően (Radóczné 2012). 2022-ben összesen 24 ezer tonna volt a kajszi hozama az országban, ami jelentős növekedés a 2021-es 11 ezer tonnához képest. Ezt a termésmennyiséget nagyjából 6 ezer hektáron érték el a magyar termesztők. Ezzel a kajszi a 4. legnagyobb mennyiségben termesztett gyümölcsfaj Magyarországon. 2021-ben az import 1200 tonna volt, több mint 600 millió forint értékben, míg az export mindössze 611 tonna volt, 300 millió forint értékben. Utoljára 2019-ben előzte meg az exportra kerülő kajszi mennyisége az import mennyiségét. A három legnagyobb kajszitermő vidékünk 2022-ben a Dél-Dunántúl, a Dél-Alföld és Észak Magyarország volt. Az éves termésmennyiség mintegy egynegyedét, 6 ezer tonnát, Borsod-Abaúj-Zemplén vármegyében termelték. Magyarországon körülbelül 73 ezer hektáron termesztnek gyümölcsöt, ennek a 34%-a almatermesztő terület, és mindössze 7,4% kajszi (KSH 2021).



2. ábra: A magyarországi kajszitermés mennyiségének ingadozása 1980 és 2021 között.
(Forrás: FAOSTAT 2021)

3.2. Az inkompatibilitás szerepe a növényvilágban

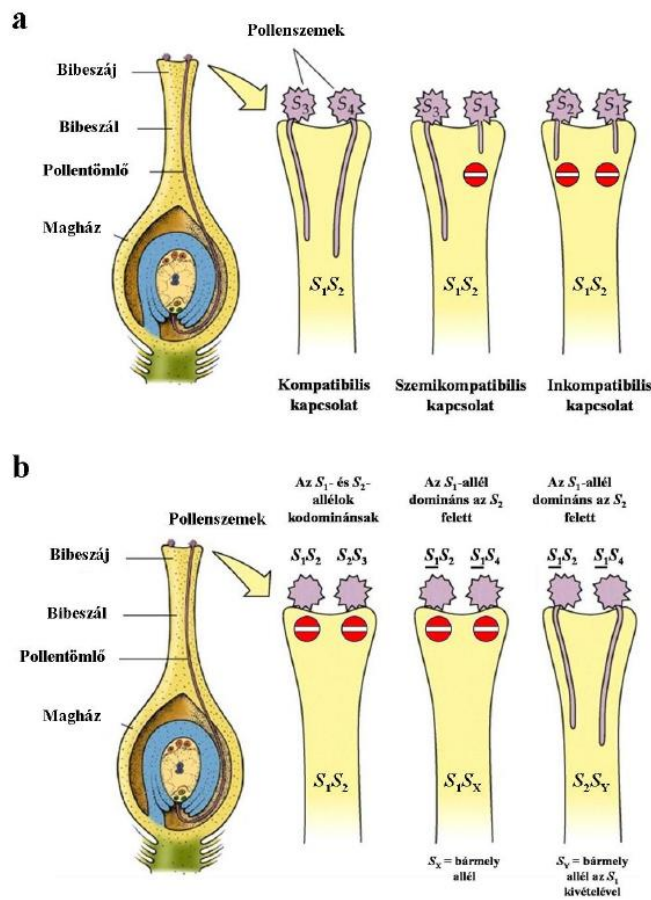
Charles Darwin úgy írta le a virágos növények inkompatibilitását, mint „a legmeglepőbb dolog, amit valaha látott”. Darwin óta számtalan kutató vizsgálja egyes növények azon képességét, hogy

önmaguk általi beporzás során nem képesek fertilis magot hozni. Az önmeddőség előnyös tulajdonság az evolúció során. A rendszer, amivel a növények megkülönböztetik az idegen pollent a saját pollenjüktől merőben eltér az élővilág egyéb tagjainak stratégiáitól (Matton et al. 1994).

A virágos növények családjainak több mint a felében megjelenik az önmeddőség genetikailag kódolt mechanizmusként. Ezzel a növények megakadályozzák a beltenyésztést, és így fenntartják a genetikai változatosságot egy fajon belül (Takayama és Isogai 2005). A kutatók úgy gondolják, hogy az önmeddőség volt az az evolúciós előny, aminek következtében a magasabbrendű növények elterjedtek az egész Földön (Newbiggin et al. 1993).

Kétféle inkompatibilitási csoportot különböztethetünk meg: a heteromorfikust és a homomorfikust. A heteromorfikus inkompatibilitáskor a termékenyülésnek térbeli akadályát képezi, hogy az ivarszervek morfológiailag elkülönülnek egymástól. A homomorfikus inkompatibilitás hátterében genetikailag kódolt akadály áll, az ivarszervek térbeli elhelyezkedése lehetővé tenné az önmegporzást. Ezt a tulajdonságot általában az *S*-lókusz kódolja, aminek elnevezése a sterilitásra utal. Az *S*-lókuszban a hím és női tulajdonságokat különálló gének kódolják, így ez egy multigén komplex. A „haplotípus” kifejezés az *S*-lókusz génváltozataira, az „allél” kifejezés az egyik gén változataira értendő (Halász 2007).

A homomorfikus önmeddőségnek (self-incompatibility, SI) két formáját különböztjük meg: a gametofitikus (GSI) és a sporofitikus (SSI) típust (3. ábra). A GSI során a pollen fenotípusát a saját haploid genotípusa határozza meg, míg az SSI során a pollenanyasejt diploid genotípusa határozza meg a pollen fenotípusát. A *Brassicaceae* az egyetlen növénycsalád, ahol a sporofitikus inkompatibilitás pontos molekuláris hátterét ismerjük. Itt akkor lép fel inkompatibilitás, ha a pollenadó egy vagy két *S*-haplotípusban megegyezik a bibe *S*-haplotípusával. A gametofitikus inkompatibilitást négy növénycsaládban határozták meg molekuláris szinten, ezek a következők: *Solanaceae*, *Rosaceae*, *Scrophulariaceae* és *Papaveraceae*. Közülük három családra azonos mechanizmuson alapuló önmeddőség jellemző, míg a *Papaveraceae* családban egy eltérő működés okozza az öntermékenyülés megakadályozását. A *Papaveraceae* családban a pollenkomponensben található receptorfehérje és a bibekomponens között létrejövő allélspecifikus kapcsolatnak köszönhetően megemelkedik a Ca^{2+} tartalom, ami aktin depolimerizációhoz és növekedésgátláshoz vezet (Kao 2004). A többi GSI rendszerű növénycsaládban az inkompatibilitás hátterében az *S*-ribonukleáz enzimek állnak, amik a ribonukleinsav lebontásáért felelnek a pollentömlőben, így megakadályozva a megtermékenyítést (Takayama és Isogai 2005).

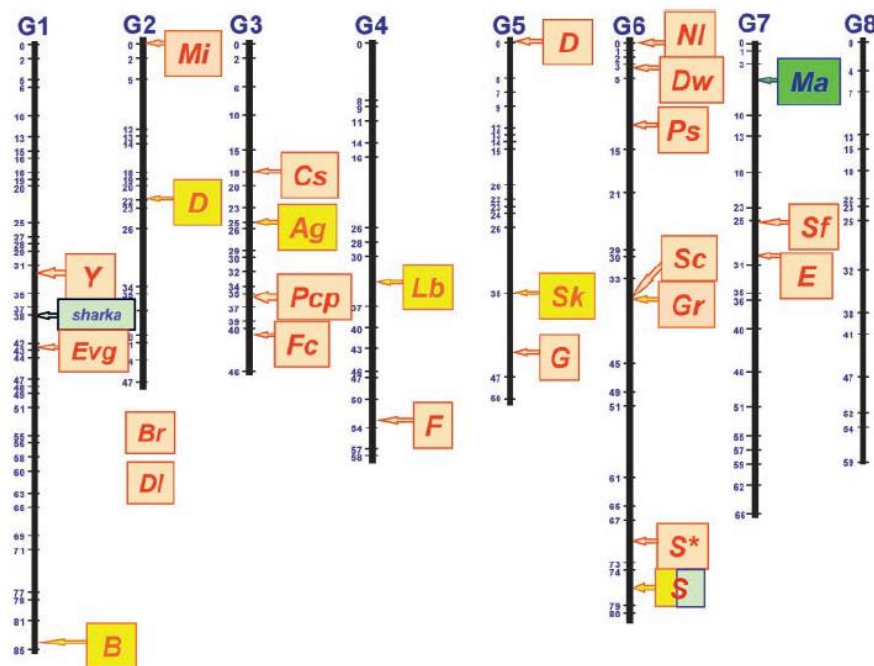


3. ábra: A gametofitikus (a) és a sporofitikus (b) önmeddőség genetikai háttere.
(Forrás: Halász 2007)

3.3. A *Prunus* fajok inkompatibilitási rendszere

A *Prunoideae* alcsaládba tartozó *Prunus* fajok mind gametofitikus inkompatibilitási rendszert hordoznak, amiben az idegen vagy saját pollen felismerését egy multiallélikus lókus, az *S*-lókus kontrollálja. Az ön-inkompatibilitás akkor lép fel, ha azonos *S*-allél fejeződik ki mind a bibében, mind a pollentömlőben. Ennek a felismerése még a bibeszálban megtörténik. Ez a rendszer jellemző a többi *Rosaceae* családban található nemzetségekre is. A *Prunus* fajok nem képesek partenokarp gyümölcsözésre, így a megtermékenyítés és maghozás elengedhetetlen a gazdaságos termesztéshez (Fernández i Martí et al. 2009). A legtöbb önmeddő fajtákat használó ültetvényben megfelelő pollenadó fajtákat telepítenek az ültetvénybe, és sokszor méhcsaládokat is kihelyeznek, hogy így biztosítsák a megfelelő terméshozamot. Emiatt kiemelt fontosságú az inkompatibilitási csoportok meghatározása (Zhang et al. 2008). Régen ezt hagyományos szabadföldi irányított keresztbeporzással, és a pollentömlő növekedésének mikroszkópos vizsgálatával kutatták. Ez azonban egy rendkívül időigényes és a környezeti tényezők által nagyban befolyásolt módszer (Fernández i Martí et al. 2009).

A *Prunus* fajokra jellemző gametofitikus ön-inkompatibilitás során az inkompatibilis pollenszem a bibe felületére érkezve kicsírázik, és elkezdi belenőni a bibeszálba. Azonban ez a növekedés még a bibeszál felső harmadában megtorpan és leáll. Így nem éri el az embriózsákot, és nem tudja megtermékenyíteni a petesejtet (Franklin-Tong et al. 2003). Ennek a molekuláris hátterében két, az *S*-lókuszban található gén áll. Az egyik a bibében kifejeződő ribonukleáz enzimet (*S*-RN-áz) kódolja. A másik gén a 2000-es évek elején azonosított, a pollentömlőben kifejeződő, *S*-haplotípus specifikus F-box (SFB) fehérjét kódolja. Ezeknek a molekuláknak a segítségével, az *S*-RN-áz és az F-box fehérje között történik az inkompatibilitás felismerése. Ezeknek a géneknek a genetikai kapcsoltsága lehetővé teszi, hogy együttesen öröklődjenek, így a rekombinációs esély lecsökken (Romero 2004). A tulajdonságok öröklődésének vizsgálatában fontos módszer a genetikai térképek kialakítása. Dirlewanger és munkatársai több mint 560 marker és 13 kapcsoltsági térkép felhasználásával összehasonlították hét *Prunus* faj genomját, és ennek segítségével meghatározták 28, gazdasági szempontból fontos tulajdonságot kódoló gén pozícióját a különféle fajokban. Ezeket a tulajdonságokat 8 kapcsoltsági csoportba térképezték (4 ábra). A kajszi *S*-lókusza a hatodik csoportban található, ahogyan a többi csonthéjas fajé is (Dirlewanger et al. 2004).



4. ábra: A kajszi 28 különböző tulajdonságát meghatározó kromoszómarégió pozíciója a 8 kapcsoltsági csoportban (G1-G8). Az *S*-lókusz a 6. kapcsoltsági csoportban található.

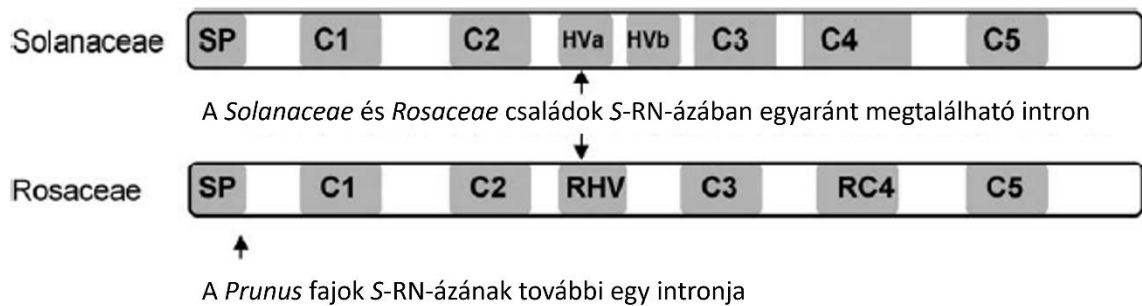
(Forrás: Dirlewanger et al. 2004)

3.4. A bibe és pollenkomponens

A GSI molekuláris szintű működését legtöbbször a *Solanaceae* növény családban vizsgálták. A *Nicotiana glauca* fajban izolált glikoproteineknek meghatározták és klónozták a cDNS szekvenciáját. A bibeszálban kimutatták a ribonukleáz enzimek szerepét a felismerési és elutasítási folyamatokban. Az *S*-allél által kódolt fehérjetermék tehát egy glikoprotein, az *S*-RN-áz (Tao és Iezzoni 2010). Ennek a glikoproteinnek a további vizsgálatával, az enzimet kódoló szekvenciában két gomba RN-ázának a szekvenciájával homológ szekvenciákat találtak (Franklin-Tong 2008). Később bebizonyították, hogy a *Rosaceae* családba tartozó *Malus* és *Pyrus* nemzetségekben is az *S*-RN-ázok állnak a GSI hátterében. Ez a felfedezés meglepő volt, mert a *Solanaceae* és a *Rosaceae* családok filogenetikailag messze állnak egymástól. Bár a két család *S*-RN-áz fehérjét kódoló aminosavsorrendje nagyrészt azonos, találtak eltéréseket a szekvenciákban. Feltételezték, hogy a szintén a *Rosaceae* családba tartozó *Prunus* nemzetségre is az *S*-RN-ázok által irányított gametofitikus inkompatibilitási rendszer jellemző, de az alma és körte fajok inkompatibilitási hátterének feltárása után még több évet kellett várni, hogy ezt a *Prunoidae* alcsaládban is pontosan megismerjék. Ennek a hátráltató tényezője a két nemzetség DNS-szekvenciájának kismértékű egyezősége volt. Először a mandula *S*-RN-áz szekvenciáját azonosították, 2010-ben pedig már több mint 100 *Prunus* *S*-RN-áz szekvenciát találhattunk meg az adatbázisokban (Tao és Iezzoni 2010).

Az *S*-RN-áz gének szekvenciáinak összehasonlításával megállapították, hogy a gén öt konzervatív (C1-C5) régiót, és két hipervariábilis (HVa és HVb) régiót tartalmaz. Mind a konzervatív, mind a hipervariábilis régiók fontos szerepet játszanak az allélspecifikus felismerésben. Ezeket először szintén a *Solanaceae* családban írták le. Később, a *Rosaceae* család tagjainak *S*-RN-áz szekvenciáival való összehasonlítás után kiderült, hogy a C1, C2, C3 és C5 régiók homológok a *Rosaceae* és *Solanaceae* családokban, de a C4 régió szekvenciája különbözik a két családban. Ezt a régiót RC4-nek nevezték el. Emellett csupán egy hipervariábilis régió található a *Rosaceae* családra jellemző *S*-RN-áz génben, a C2 és C3 szakaszok között (Yamane és Tao 2009). Az *S*-RN-ázok eléggé eltérőek, az allélok által kódolt fehérjék aminosavsorrend azonossága 30% és 90% között változhat. A filogenetikai és a strukturális vizsgálatok is azt mutatták, hogy a különböző családokban található *S*-RN-ázok egy közös őstől származnak.

A *Solanaceae* családban és a *Malus* és *Pyrus* nemzetségekben egy intron található a szekvencia hipervariábilis régiójában, míg a *Prunus* nemzetségben még egy további intront mutattak ki a szignálpeptid és az első konzervatív régió között (5. ábra). Ennek a segítségével tudtak molekuláris módszereket kifejleszteni a különböző *Prunus* *S*-RN-áz allélok megkülönböztetéséhez (Tao és Iezzoni 2010).



5. ábra: A Solanaceae és Rosaceae családok *S-RN-áz* génjének szerkezete az ismert régiók jelölésével.

(Forrás: Tao és Iezzoni 2010)

1994-ben egy kísérletsorozattal bizonyították az *S-RN-áz* enzim citotoxikus hatását a pollentömlőben. Ugyanekkor találták meg egy *Lycopersium peruvianum* fajban az öntermékenyülésért felelős *S_C*-allélt, ami nem képes kifejteni a citotoxikus RN-áz hatást (Huang et al. 1994). A *Nicotiana glauca* fajban kimutatták, hogy az *S-RN-ázok* bejutnak a pollentömlőbe, és inkompatibilis *S*-allél esetén lebontják a riboszomális RNS-t, míg kompatibilis pollentömlő esetében nem történik lebontás. Ezek a kísérletek azt bizonyítják, hogy az inkompatibilitást a pollen rRNS-ének a lebontásáért felelős *S-RN-ázok* irányítják, a pollentömlő bibében való növekedése közben. Ezek a glikoproteinek extracelluláris enzimek, amik a pollentömlőbe bejutva hasítják a riboszomális RNS-eket, ezzel megakadályozva a növekedéshez elengedhetetlen fehérjeszintézist, és gátolva a pollentömlő növekedését (McClure et al. 1989). Az *S*-glikoproteinek szekrécióját egy szignálszekvencia irányítja, ennek segítségével jutnak el a bibe elnyálkásodott sejtközötti állományába, a pollentömlő növekedésének helyszínére (Halász 2007).

A *Rosaceae*, *Solanaceae* és *Plantaginaceae* családokban a gametofitikus önmeddőségért felelős pollenkomponenst évekkel később találták meg, mint a bibekomponenst. Az első nyom a kutatásban a *Plantaginaceae* család *S*-lókuszából származott. Az *Anthurrium hispanicum* szekvenálása fedte fel az *F-box* fehérje jelenlétét, 9 kilobázispár távolságra az *S-RN-áz* kódoló szakasztól (Tao és Iezzoni 2010). Elsőként Entani írta le az *F-box* fehérjét kódoló gént, a *Prunus mume* fajban, 2003-ban. Kimutatták azt is, hogy az *S-RN-áz* körüli kromoszomális régió több *F-box* gént is tartalmaz, összesen négyet. Ezeknek az aminosavsorrendje kismértékű hasonlóságot mutatott a korábban vizsgált *Anthurrium hispanicum* *F-box* fehérjével (Entani 2003). Ezzel párhuzamosan egy másik japán csoport is felfedezte a *Prunus nemzetség* *S*-lókuszát, a „kromoszómaséta” nevezetű molekuláris technikát alkalmazva, az *S-RN-áztól* kiindulva. A másik csoport a mandulában találta meg az *SFB* gént.

Az *F-box* gén egy intront tartalmaz az 5' nem transzlálódó régióban. Az intron mérete allélonként ugyan változhat, a különbségek viszont olyan aprók, hogy nem lehet agaróz gélen futtatva kimutatni. Fluoreszcens primerekkel és fragmentumhossz-analízissel megvizsgálták az *SFB* gén intronhossz polimorfizmusát is. Az *S-RN-áz* analízise megbízhatóbb és egyszerűbb módszer az *S*-haplotípusok elkülönítésére, mint az *F-box* régió azonosítása. A *SFB* polimorfizmust csak a mutálódott

pollenkomponensek kimutatásához használják. Az *F-box* gén két variábilis (V1 és V2), és két hipervariábilis (HVa és HVb) régiót tartalmaz. Ezek a régiók hidrofil, vagy legalábbis nem erősen hidrofób aminosavakból épülnek fel. Ebből arra következtetnek, hogy feltehetőleg a fehérje felületén helyezkednek el, és az allélspecifikusság felismerésében van szerepük (Tao és Iezzoni 2010).

Az pollenkomponensben található F-box fehérje más fehérjékkel kapcsolatba lépve egy enzimkomplexet alkot. Ezt E3 ubikvitin ligáz komplexnek nevezik. Az E3 enzim együttesen működik az E2 enzimmel, hogy ubikvitinnel jelölje meg a célfehérjét. Az ubikvitinnel megjelölt fehérjét a 26S proteasóma lebontja. A E3 enzimet hordozó pollenkomponens célpontja az idegen *S-RN-áz*. A megjelölt *S-RN-áz*t lebontja a 26S proteasóma, így megakadályozva annak a működését, és a pollen riboszomális RNS-ének hasítását (Quiao et al. 2004).

Először 2004-ben azonosították a kajsziban az SFB fehérjét. Az *SFB* gén orientációja megegyezik az *S-RN-áz* gén transzkripció irányával. A japánkajsz, cseresznye és mandula esetében a két gén orientációja ellentétes irányú (Halász 2007).

3.5. A kajszii öntermékenyülése

Az önmeddőség értékes evolúciós tulajdonság a növényekben, ugyanis így elkerülhető a genetikai variabilitás leromlása és jobb alkalmazkodóképességre tehetnek szert a fajok. Az öntermékenyülés egy populációban beltenyésztéshez vezet. A nemesítői programok eredményeként számos önmeddő fajta keletkezett. Ezeknek a fajtáknak a gazdaságos termesztéséhez pollenadók telepítésére van szükség az ültetvény létesítésekor. A két első inkompatibilitási csoportot már a 1990-es évek közepén leírták a kutatók. Az új fajták bejelentésekor fontos, hogy a nemesítők jellemezzék a fajtajelölt termékenyülési viszonyait (Bassi és Audergon 2006). A legtöbb *Rosaceae* családba tartozó faj önmeddő, de találtak néhány igen értékes öntermékenyülő fajtát. Ezeknek a fajtáknak a monokultúras termesztésével is kiváló terméshozamot lehet elérni. A 1990-es években a kutatók komoly eredményeket értek el a termékenyülési viszonyok molekuláris hátterének meghatározásában. Ezt a folyamatot nagyban segítették az öntermékenyülő és önmeddő fajták összehasonlító vizsgálatai (Halász 2007). A kajszii őshazájából, Kínából származó fajták nagy része önmeddő, de az európai fajták között számos öntermékenyülő fajtát találunk (Wu et al. 2009).

Az öntermékenyülő fajták molekuláris hátterének első vizsgálati eredményei azt mutatták, hogy a bibeszálakban csökken az *S-RN-áz* enzim aktivitása. Ezt mind japánkajsziban, mind mandulában kimutatták. A csökkent enzimaktivitás hátterében egy, az *S-RN-áz* génben található mutáció áll. A bibeszálban kifejeződő ribonukleáz enzimek vizsgálatával meghatározhatóak az öntermékenyülő fajták. Ehhez a meghatározási módszerhez azonban virágzó növényekre van szükség, amit már 3 éves korban is el lehet érni, és mindössze 5 virágra van szükség a ribonukleáz vizsgálatához. Ez a módszer azonban így is időigényes, és további tesztek szükségesek, hogy a gazdaságos termesztetőségi tulajdonságok meglétéről megbizonyosodjunk (Boskovic 1999).

Az öntermékenyülés genetikai hátterében azonban nem csak az *S-RN-áz* gén mutációja állhat, hanem a pollenkomponensben szereplő F-box fehérjét kódoló gén sérülése is. Az első mesterségesen előidézett mutációval létrehozott genetikai módosítás is erre irányult. Az Egyesült Királyságban két cseresznyemagoncot állítottak elő úgy, hogy a keresztezési partnerek közül a pollenadó pollenanyasejtjeit röntgensugárzással kezelték. Ennek eredményeként az *SFB* génben bekövetkezett egy delécia, ami egy kereteltolódást eredményezett. Ezáltal a leolvasási keretben egy korai terminációs szignál jelent meg, ami az *F-box* gén két hipervariábilis régiójának a translálódását blokkolja. Így a fehérjéből hiányoznak az allélspecifikus felismeréshez nélkülözhetetlen elemek. Ennek a mutációnak a felhasználásával nemesítették a ma is népszerű öntermékeny cseresznyefajtákat (Halász 2007).

Az öntermékenyülő kajszifajtákban az *SFB* gén egy másik féle mutációja található. Ezekben nem egy delécia található a génben, hanem egy inszercia, vagyis egy idegen DNS-szakasz beékelődése. Az inszertálódott szakasz elején egy STOP kodon található, ami megakadályozza a funkcióképes F-box fehérjék kifejeződését. Ennek hátterében nem emberi beavatkozás, hanem természetes mutáció áll (Tao és Iezzoni 20010). Az öntermékenyülést okozó mutáció a kajszii *F-box* génjében egy transzpozon. A transzpozonok lemásoló és beékelődő, vagy kivágódó és beékelődő szekvenciák a DNS-láncban. Különböző mutációkat okozhatnak, mind a kivágódásukkal, mind a beékelődésükkel, és ezek által a bázissorrend megváltoztatásával. A kajsziban található transzpozon 2014-ben írták le, és *Falling Stones* (*FaSt*)-nak nevezték el. A kajszii *SFB_C*-génben egy 358 bázispárból álló idegen szakasz ékelődött be a génbe. Ez az inszercia kereteltolódást okoz, ezzel egy STOP kodont alkotva a leolvasási keretben. Így az öntermékenyülő genotípusokban az *F-box* gén funkcióképtelen lesz (Halász et al. 2014).

3.6. Az *S*-allélok meghatározása

Hagyományosan az ültetvényekben, megfigyeléssel végezték az önmeddő és öntermékenyülő fajták vizsgálatát, azonban ezt a módszert nagyban befolyásolják a környezeti tényezők. Emellett mikroszkópos vizsgálatokkal, a pollentömlő növekedésének monitorozásával is eldönthetőek a fajták termékenyülési viszonyai. Azonban ezt a módszert is nehezíthetik a környezeti tényezők, ezért újabban ezeket a kísérleteket inkább laboratóriumi körülmények között végzik, ugyanakkor termőkorú fákra van szükség a mintavételezéshez. Az elmúlt évek molekuláris vizsgálatainak fejlődésével az *S*-allélok meghatározásában is jelentős sikereket értek el. Az *S-RN-áz* génben található két polimorf hosszúságú intron szekvenciájának felhasználásával el lehet különíteni az egyes *S*-allélokat tartalmazó fajtákat, ezzel inkompatibilitási csoportokba rendezve őket. Az egy inkompatibilitási csoportba tartozó fajták egymást kölcsönösen nem termékenyítik, de a két külön csoportból választott fajta az eltérő *S*-alléljaiknak köszönhetően képes az eredményes megtermékenyítésre. Jelenleg 23 inkompatibilitási csoportja létezik a kajszifajtáknak (Herrera et al. 2018a).

Az első *S*-allélokat Egea és Burgos írták le, szabadföldi keresztezések és termékenyülésvizsgálatok után. Három észak-amerikai fajtát vizsgáltak, a 'Goldrich', 'Lambert-1' és a 'Hargarand' fajtákat. A kölcsönös megporzásokból semmilyen kombinációban sem történt

termékenyülés, így megállapították, hogy a három kajszifajta azonos *S*-genotípussal rendelkezik. Ezt a genotípust S_1S_2 -ként határozták meg (Egea és Burgos 1993). A Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetemen is zajlott egy kutatás, aminek során Halász és munkatársai további 13 *S*-allélt írtak le, és meghatározták a hozzájuk tartozó intronméreteket is, ezzel megkönnyítve az azonosításukat (Halász et al. 2007). PCR-alapú technikák használatával 2022-ig már 33 *S*-allélt (S_1 -től S_{20} -ig, S_{22} -től S_{30} -ig, S_{52} , S_{53} , S_v , és S_x) írtak le a kutatók a különböző kajszifajtákban. Ezek között szerepel az öntermékenyüléssel kapcsolatos S_C -allél is (Herrera 2022).

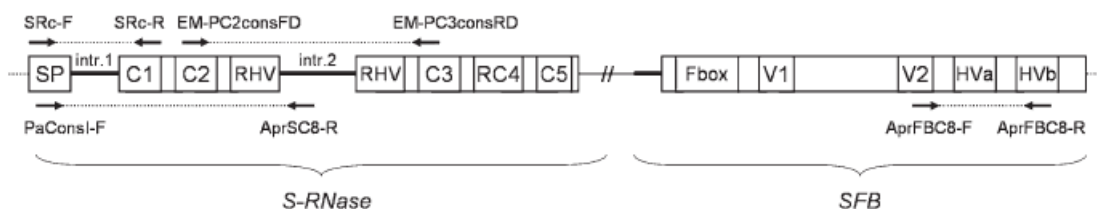
Elsőként Brace és munkatársai használtak PCR-alapú módszereket, a *Brassica oleracea* sporofitikus önmeddőségének a vizsgálatakor. Primereket terveztek az azonosításhoz, a korábban meghatározott konzervatív régiók alapján (Brace et al. 1993). A gametofitikus önmeddőségi rendszerű növények közül a *Solanum carolinense* *S*-allél szekvenciáit határozták meg először. Ennél a fajnál a bibeszövetből izolált mRNS-t használták a vizsgálat alapanyagaként (Halász 2007). A GSI rendszerben minden ön-inkompatibilis fajta genotípusa heterozigóta, csak a két funkcióvesztett *S*-allélú fajták lehetnek homozigóták. Másik lehetősége az önmeddő homozigóta fajtának, ha a termés partenokarpia útján keletkezett (Verdoot et al. 1998).

A csonthéjasok *S*-genotípusának azonosításához a *Maloidae* alcsalád DNS-alapú vizsgálata során született eredményeket és technikákat használták. A *Prunus* fajokban a primereket a második, az *S-RN-áz* gén C2 és C3 régiók közötti hipervariábilis régióba ékelődött szakasz azonosítására tervezték. Ennek az intronnak a nagymértékű polimorfizmusa megkönnyíti az egyes csonthéjas gyümölcsfajták *S*-genotípusának a meghatározását. Az introntól upstream és downstream irányban elhelyezkedő konzervatív régiókra tervezett primereket használva, és a PCR-terméket agaróz gélen futtatva, jól elkülöníthető, allélspecifikus fragmentumokat kapunk (Halász 2007).

Yamane és munkatársai 2003-ban sikeresen leírták két *SFB*-gén szekvenciáját japánkajsziban, gyors amplifikálást használva a komplementer DNS-szálon, *SFB*-specifikus primerek használatával. Így már az *F-box* régió alapján is el lehetett különíteni a fajtákat az *S*-alléljuk szerint (Yamane és Tao 2009). A kajsziban az *F-box* gén egy intront tartalmaz, aminek a hosszúsága 90 és 108 bázispár között változik. Ezen régió szekvenciájának az ismeretével, több primert is terveztek a különböző intronhosszúságú genotípusok elkülönítésére. A PCR eredményei jól kimutathatók agaróz gélelektroforézissel (Wu et al. 2009).

2010-ben egy magyar-török program keretein belül specifikus primereket terveztek és használtak az S_C -allélok azonosítására magyar és török kajszifajtákban. Ezt két lépésben tették meg. Egy allélspecifikus reverz primerrel amplifikálták az S_C/S_8 -RN-áz allélt. Egy forward és egy reverz, allélspecifikus primert terveztek az *SFB_C/SFB₈*-allél azonosítására. A primereket az *SFB* gén második variábilis és második hipervariábilis régiója alapján tervezték, a közöttük található első hipervariábilis régióba inszertálódott intron azonosítására (6. ábra). Az öntermékeny, mutálódott S_C -allél eredeti változata az S_8 -allél. Ezeknek az alléloknak a kódoló régiói megegyeznek, de az S_8 -allélban nem található meg a 358 bázispáros inszerció. A PCR-terméket agaróz gélen futtatva az inszerciót tartalmazó

fragmentumok elkülöníthetők az eredeti S_8 -alléloktól. Ebben a kutatásban 51 kajszifajtának határozták meg a teljes S -genotípusát. Az 55 vizsgált fajtából csupán 7 öntermékenyülőt találtak (Halász et al. 2010).



6. ábra: A kajszii S -lókuszának sematikus ábrája, a genotipizáláshoz használt primerek kötődési helyeinek feltüntetésével.

(Forrás: Halász et al. 2010)

A specifikus primert az SFB_C -allél azonosítására több kutatás során is sikeresen használták, az öntermékeny genotípusok felderítésére. 2013-ban 55 marokkói fajta S -genotípusát határozták meg. Ezek közül 37-ben megtalálták az öntermékenyülést okozó mutálódott gént. A 37 öntermékeny fajtából 33 homozigóta volt erre a tulajdonságra nézve (Kodad et al. 2013). Egy újabb, török kajszifajtákkal foglalkozó kutatás keretein belül 236 különböző fajtát vizsgáltak meg. Ezekben a fajtákban 11 különböző S -allélt határoztak meg. Közöttük volt az S_C -allél is, amit 52 fajtában mutattak ki (Yilmaz et al. 2016). Herrera és kutatócsoportja 2018-ban 44, 2022-ben 66 kajszifajta S -genotípusát írta le Spanyolországban. A 2018-as kutatás eredményeként 43 új fajtában mutatták ki az S -allélokat, ebből 30 fajta öntermékenyülő allélokat hordoz. A 2022-es kutatás során a vizsgált fajták közül 47-ben találták meg az S_C -allélt (Herrera et al 2018,2022). Törökországban 59 kajszifajtát vizsgáltak 2022-ben, ebből 17 török, és 42 külföldi fajtát. A török fajták között 11 új fajta volt, ebből 7 öntermékenyülő. A külföldi fajták közül is a legtöbb öntermékenyülő volt, 28 a 42-ből (Pinar et al. 2022). 2023 augusztusában, Spanyolországban a híres nemesítő, Luther Burbank munkájának eredményét, a japánszilva (*P. salicina*) és a kajszii (*P. armeniaca*) keresztezéséből keletkezett „plumcot” -ot vizsgálták. Ennek a keresztezésnek a célja az öntermékenyülés és a kajsziihimlő rezisztencia tulajdonságok szilvába történő átvitele volt. A spanyolországi, japánszilva nemesítő program eredményeként létrejött több mint 600 magoncon végeztek molekuláris vizsgálatokat. 33 interspecifikus fajtának vizsgálták az S -genotípusát, közülük 30-ban megtalálták az öntermékenyülésért felelős S_C -allélt (Nicolás-Almansa et al. 2023).

3.7. A kajsziihimlő eredete, jelentősége és molekuláris háttere

A kajsziihimlő, vagy más néven sarkavírus kórokozója, a *plum pox potyvirus* (PPV) a vírusok *Potyviridae* családjába tartozik. Először Bulgáriában jelent meg, 1917-ben, szilvaültvényekben. Kajszifákon először közel 20 évvel később, 1933-ban észlelték. A betegség gyorsan terjedt és komoly károkat okozott a bolgár ültvényekben, de még így is két évtizedig Bulgária határain belül maradt. A

második világháború után jelent meg először Romániában, Jugoszláviában és Magyarországon. Az 1980-as évekbe eljutott Európa minden országába, és a Közel-Keletre is. 1991-ben tűnt fel először Amerikában. Sokáig csak a szilván okozott problémát, később jelent csak meg kajszin, őszibarackon és a legtöbb *Prunus* nemzetségbe tartozó csonthéjas gyümölcsfajon (Németh 1994). Mandulafajtákon, meggyen és cseresznyén nem okoz komoly kártételt, de ezeken a fajokon is kimutatták már a jelenlétét. 1993-ban Bordeauxban tartották az EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organisation) konferenciát, ahol a tagállamoknak be kellett számolniuk a sarkavírus járvány helyzetéről. Addigra minden európai országban komoly gondot okozott a vírus, de vannak országok, ahol sikerült kiszorítani a kórokozót (Roy és Smith 1994). Az 1980-as évektől 2010-ig több mint 10 millió euró kár keletkezett a gyümölcsültetvényekben a sarkavírusnak köszönhetően (Zurianga et al. 2013).

A kajszihimlő az egyik legelterjedtebb és legjelentősebb betegség a vírusos betegségek között. Fő tünetei a leveleken és a gyümölcsön jelentkeznek. A levélen gyűrű alakú, sárgászöld, elmosódott szélű foltok jelentkeznek, a levélfonákon az erek sárgászöldre színeződnek. A gyümölcsön besüppedő sárgásbarna, gyűrű vagy szabálytalan alakú rajzolatok jelennek meg, deformált lesz a gyümölcs (7. ábra). A gyümölcshúsban vörösesbarna szövetrészek találhatóak, a csonthéjon gyűrű alakú foltok alakulnak ki. A vírusfertőzésnek köszönhetően a fák állapota leromlik, visszamaradnak a fejlődésben, a gyümölcsük pedig eladhatatlan lesz (Glits és Folk 2007).



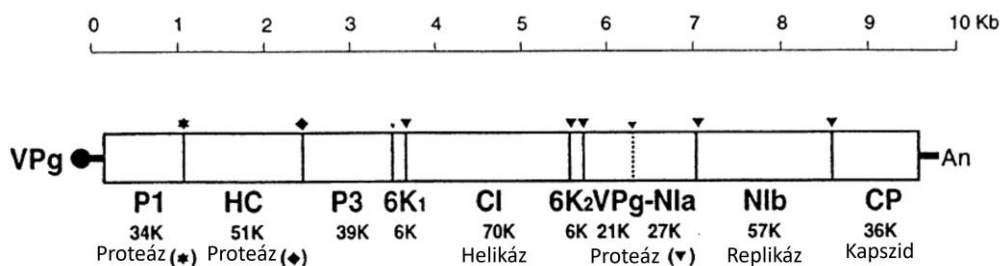
7. ábra: A *plum pox virus* tünetei a levélen és gyümölcsön.

(Forrás: García és Cambra 2007)

A vírus terjesztéséért elsősorban a különféle levéltetű fajok felelősek. Ezek a vírusvektorok minden régióban előfordulhatnak. Emellett a fertőzött szaporítóanyagnak is jelentős szerepe van a sarkavírus terjesztésében (López-Moya et al. 2000). A fertőzött anyanövényről származó

szemzőhajtások és vegetatív úton szaporított alanyok is fertőzési források lehetnek, ahogyan a beteg növényekről származó pollen és fertőzött magvak is. A kajszin a levéltetvek nem károsítanak, a vírusátvitel az esetleges próbaszívásokkor történhet (Glits és Folk 2007).

A PPV genomja, a legtöbb potyvírushoz hasonlóan, egy egyszálú ribonukleinsav molekula. Ezt egy körülbelül 660-750 nm hosszúságú, és 12,5-20 nm szélességű, rugalmas, rúd alakú fehérjeburok veszi körül. A vírus RNS-e 9786 nukleotid hosszúságú, az 5' végén egy terminális fehérjével (VPg) és egy poly-A farokkal a 3' végén (García és Cambra 2007). A két végén két nem kódoló régió helyezkedik el (8. ábra). Ezek között található a leolvasási keret, ami egy 355,5 kDa poliproteinné transzlálódik. Ez a poliprotein utána feldarabolódik, 10 funkcionális fehérjére (Myrta et al. 2006).



8. ábra: A *plum pox virus* genomi térképe. A függőleges vonalak jelölik a feldarabolódási pontokat.

(Forrás: Lopez-Moya et al. 2000)

A genom elrendezése a különböző PPV változatokban megegyezik, de mind a nukleotid-, mind az aminosav-sorrendben találtak eltéréseket. Ezeknek az eltéréseknek a vizsgálatával több alcsoportot alakítottak ki. Öt vírustörzs teljes szekvenciáját ismerik már a kutatók, ezek a D, M, C, EA, Rec, és W neveket kapták. A további törzsek teljes szekvenciájának felderítése segítheti a vírus filogenetikai és molekuláris hátterének a megismerését (Myrta et al. 2006). Az egyes törzsek elkülönítésére régen főként klasszikus módszereket használtak, mint az izolátumok fizikai tulajdonságainak vizsgálata, különféle levéltetvek általi terjesztésű csoportok elkülönítése és a gazdanövényekből kivont izolátumok koncentrációja. Ezek a módszerek csak azt bizonyították, hogy a sarkavírus genetikailag igen változatos, de valódi specifikus csoportokat nem tudtak kialakítani a segítségükkel. A következő próbálkozások már szerológiai vizsgálatokkal történtek, azonban genetikailag elkülöníthető csoportokat így sem sikerült alkotni. A molekuláris genetikai technikák fejlődése ebben a kutatásban is új eredményeket hozott. Segítségükkel kialakították a fentebb említett csoportokat, és megrajzolták a *plum pox virus* filogenetikai törzsfáját (Candresse és Cambra 2006). A poliprotein hasadásával keletkező fehérjéknek mind más-más szerepük van a vírus működésében. A vírus sejtről-sejtre történő mozgásáért a CI fehérje felelős. A HCPro fehérjéről mutatták ki elsőként, hogy a növények védelmi mechanizmusait megzavarja. Ez a fehérje szükséges a vírus levéltetvekkel való terjedéséhez is, mégpedig annak köszönhetően, hogy

egy hidat képez a levéltetű szűrő-szívó szájszerve és a vírus fehérjeburka között. A CP fehérje alakítja ki a fehérjeburkot a vírus RNS körül.

A vírus virulenciája több tényezőtől is függ. A vírus azon képességétől, hogy a gazdanövényt használva szaporodni és terjedni tudjon, a növény ösztönös, és vírus-indukált védelmi mechanizmusait kiküszöbölje, valamint a vírus transzlációjához szükséges körülményektől (Garcia és Cambra 2007). A potyvírusok genomi RNS-e a vírustermékek transzlációjáért felel. A fertőzést követően a növényi sejtekben megkezdődik a vírustermékek képződése és felhalmozódása. A HC fehérjéről feltételezik, hogy a növények természetes védekezését gátolja, de ennek a gátlásnak a háttere még nem ismert (López-Moya et al. 2000).

Számos kutatás foglalkozott a PPV-vel fertőzött növények fiziológiai és biokémiai vizsgálatával. Ezek a vizsgálatok kimutatták, hogy a fertőzött növényekben az antioxidáns anyagok egyensúlya felborul, ami oxidatív stresszhez vezet. Ennek hatására lipidperoxidáció és fehérjeoxidáció zajlik a sejtekben. A fertőzött levelekben felhalmozódik a H_2O_2 , és lecsökken az antioxidáns enzimek mennyisége a kloroplasztiszbán. Az antioxidáns enzimeknek a H_2O_2 egyensúly fenntartásában fontos szerepük van, ha a koncentrációjuk lecsökken, a hidrogénperoxid a sejt plazmába áramolhat. A vírushatás hatására a fotoszintézisben szerepet játszó fluoreszcens paraméterek is megváltoznak. Emellett a kloroplasztiszok struktúrája is megváltozik. A fertőzött levelekben kevesebb kloroplasztiszt mutattak ki, mint a kontroll növényekben, és ezek a kloroplasztiszok deformáltak, a tilakoidmembrán és a keményítőtartalom redukálódásának következtében. A fertőzés gátolja bizonyos fehérjék szintézisét is, mint például az aldoláz és ADP-glükóz pirofoszforiláz. Ezek a fehérjék kulcsfontosságúak a szénhidrátok lebontásában. A sarkavírus fertőzés főként a fotoszintézist és a szénhidrát lebontást gátolja, ezzel jelentősen legyengítve a gazdanövényt (Clemente-Moreno et al. 2014).

A védekezés egyetlen módja a megelőzés. Vírusmentes szaporítóanyag használatával kell telepíteni az ültetvényt, ehhez a szaporítóanyagot és az anyanövényeket is tesztelni kell. A szilva és őszibarack-ültetvényekben, ahol a levéltetvek vírusvektorokként jelen lehetnek, a levéltetvek ellen feltétlenül védekezni kell. Ha a vírus egy növényen megjelenik, a beteg fát meg kell semmisíteni (Glits és Folk 2007). Azonban a megsemmisítés sem tökéletes megoldás az ültetvény többi fáinak megvédésére, mert jelentős idő telik el a fertőzés és a tünetek megjelenése között. Így az ültetvényben lévő beteg növény fertőzési forrásként szolgálhat, anélkül, hogy a termesztő észlelné a fertőzést (Zuriaga et al. 2013).

3.8. A *plum pox virus* kimutatása

A vírus kimutatása mind a szaporítóanyag előállításakor, mind az ültetvény vizsgálata során fontos. Hagyományosan a tünetek vizsgálatával állapították meg egy növényről, hogy fertőzött-e. Azonban nem minden esetben jelentkeznek külső tünetei a vírushatásnak, ezért laboratóriumi tesztekre van szükség a fertőzés kimutatásához. A laboratóriumi tesztek első lépése a megfelelő mintagyűjtés. A tüneteket mutató fákról könnyebb mintát szedni, ebben az esetben mind levelet, mind

termést szoktak gyűjteni. A tünetmentes növényekről 5 kifejlett hajtást, vagy 10 kifejlett levelet gyűjtenek be növényenként. Emellett virágokból, gyümölcsökből és a gyümölcsök héjéből is szoktak mintát venni. Kialakítottak egy Európai Protokollt a PPV kimutatására és azonosítására. Az előírt módszerbe beletartozik a biológiai állapotvizsgálat, a szerológiai vizsgálat és a molekuláris azonosítás. Mindezeket a technikákat pontosan meghatározták a protokollban (Garcia és Cambra 2007).

Már 1991-ben léteztek molekuláris módszerek a sarkavírus kimutatására. Ekkorra már három himlővírus szekvenciája ismert volt, ezek alapján a kutatók primereket terveztek PCR-alapú analízishez. A mintákat bizonyítottan vírusfertőzött ültetvényekből gyűjtötték, feldarabolták és kémiai úton kivonták a vírus RNS-ét. Ezután egy polimeráz láncreakcióval amplifikálták és felszaporították. A PCR-terméket gélen futtatva vizsgálták. Ezt a módszert tovább tökéletesítve, egy gyors és megbízható technikát alkottak a PPV azonosítására (Wetzel et al. 1991). Bár a PCR-alapú technikák a legmegbízhatóbbak, több egyéb módszert is kidolgoztak a kutatók a vírus azonosítására, például szerológiai vizsgálatokat, antitestekkel történő azonosítást, a vírus burokfehérjéjének elektroforetikus mozgását kimutató western blot módszer. Ma már az egyes vírustörzsek azonosítása is könnyen lehetséges, léteznek specifikus molekuláris technikák mind a hat ismert törzs kimutatására (García és Cambra 2007). Japán kutatók megalkottak egy terepen is használható, immunokromatográfián alapuló, azonosító felszerelést, a vírus gyors kimutatására. A technikát egyszerű használni, és mindössze 15 perc alatt eredményt is mutat (Maejima et al. 2014).

A betegség leküzdésének a leghatékonyabb módja a rezisztens fajták nemesítése. Ennek köszönhetően a betegséggel szembeni ellenállóság lett az egyik legértékesebb tulajdonság a kajszinemesítők szemében. A rezisztens fajták kialakítása azonban egy hosszú és bonyolult folyamat. Ma már azonban számos molekuláris módszer áll a nemesítők rendelkezésére, mind a rezisztencia hátterének megismeréséhez, mind a rezisztens fajták azonosításához (García és Cambra 2007).

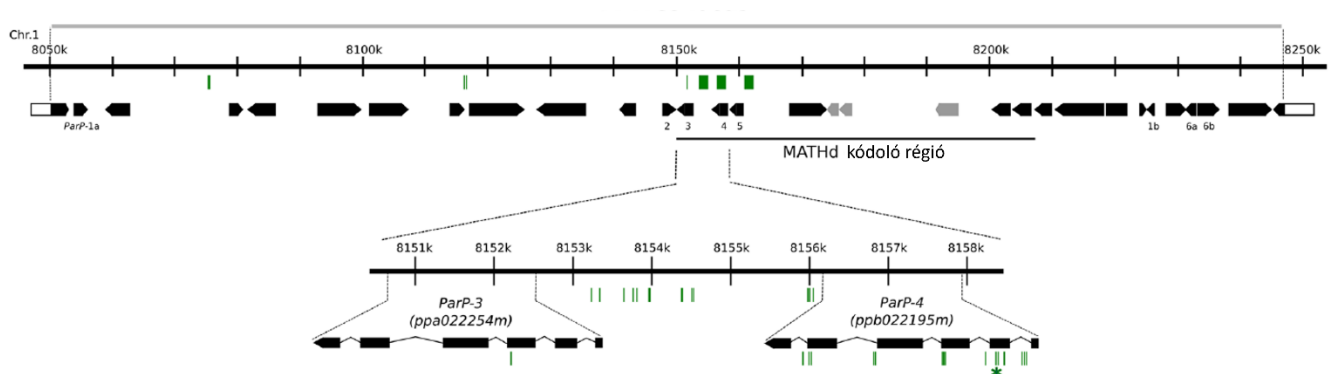
A növényeknek két fő védekezési módjuk van a kórokozók ellen. Vagy eltűrik a kórokozó kártételét, vagy teljesen megakadályozhatják azt. Az első eset a tolerancia. Erről akkor beszélhetünk, ha a növény eltűri a kártételt, a kondíciója leromlása nélkül. Ekkor a kórokozó behatol a növénybe, de nem jelentkeznek tünetek, és a növény semlegesíti a kórokozót. A rezisztencia során a növény ellenáll a kórokozónak, gátolja a fertőzést (Mauricio et al 1997). A gazdanövények rezisztencia tulajdonságát rezisztenciagének kódolják. Ezek a gének azonban az egyes kórokozók különböző fiziológiai rasszaival szemben eltérően viselkedhetnek (Glits és Folk 2007). A rezisztenciát Van der Plank két kategóriára bontotta: horizontális és vertikális rezisztenciára. Horizontális rezisztencia esetén a növényfajta ellenáll a kórokozó összes fiziológiai rasszával szemben. Vertikális rezisztencia esetén csak az egyes meghatározott kórokozórasszokkal szemben mutat rezisztenciát a gazdanövény (Politowski és Browning 1978).

3.9. A rezisztencia molekuláris háttere

A kajsziiban a *plum pox virus* rezisztenciáért felelős lókuszt a kapcsoltsági térkép első csoportjának a szubtelomerikus részére térképezték. Ezt a régiót leszűkítették egy körülbelül 196 kilobázispár hosszúságú szakaszra, és elnevezték *PPVres*-lókusznak. A kutatók több molekuláris módszer segítségével igyekeztek kimutatni a régióban a rezisztenciáért felelős gént. Ehhez régebbi kutatások eredményeit vették alapul. Ismert tény, hogy a rezisztenciáért egy domináns allél felel, és a különféle fajtákban megtalálható rezisztenciagének egy közös őstől származnak (Zuriaga et al. 2013).

A *PPVres* lókuszban hat, a kajszihihlő fertőzéssel kapcsolatos gént mutattak ki, *ParP-1*-től *ParP-6*-ig. A rezisztenciáért ezek közül két gén felel, a *ParP-3* és *ParP-4* gének. Ezek a gének MATHd fehérjét kódolnak, ezért a két gént *ParPMC1* és *2*-nek (*Prunus armeniaca PPVres MATHd-containing*) nevezték el (Zuriaga et al. 2018). A MATHd (meprin and TRAF-C homology domain) gének által szintetizált fehérjék a *Potyvirus*-ok mozgásáért felelősek. Ezeknek a géneknek a gátlása a vírusok mozgásának akadályozásához vezet (Cosson et al 2010). A *Prunus* fajokban is a MATHd fehérjék szintézisének gátlása áll a vírusrezisztencia hátterében. Ez azonban csak az egyik bizonyított komponens a rezisztencia kialakításában, a rezisztencia teljes komplex molekuláris hátterét még nem sikerült megismerni (Rubio et al. 2015).

A *ParPMC1* génnek 1, a *ParPMC2* génnek 15 változatát különböztetik meg. A két gén nagymértékben hasonló, 87,5%-ban egyezőséget mutat. A fogékony és rezisztens *PPVres* lókuszaik szekvenciáit összehasonlítva megállapították, hogy egy, a *ParPMC2* génben található mutáció áll a rezisztencia hátterében. A *ParPMC2* gén második exonjában található egy 5 bázispár hosszúságú delécia (9. ábra). A fogékony és ellenálló fajtákban megvizsgálták a PPV fertőzés hatására expresszáldó különböző géneket, és kimutatták, hogy a mutálódott lókuszban jóval alacsonyabb a biológiailag aktív anyagok kifejeződése, mint az eredeti lókuszban. A nem mutálódott lókuszt hordozó fogékony fajtákban 793 különböző génkifejeződést mértek, míg a rezisztens fajtákban csupán 23-at. A mutáció kereteltolódással jár, és ennek következtében egy korai STOP kodon jelenik meg a leolvasási keretben. Ez a terminációs jel blokkolja a gének kifejeződését. A PPV fertőzés során ennek a régióknak a génei nem fejeződnek ki, így nem történik kártétel a sejtekben a biológiai anyagok hatására. Ezek a vizsgálatok igazolták, hogy a rezisztens fajtákban a mutálódott *ParPMC2* gén felelős az ellenállóság molekuláris hátteréért (Zuriaga et al. 2018).



9. ábra: A kajszi *PPVres* lókusza. Kiemelve a *MATHd* kódoló régióban található *ParPMC1* (*ParP-3*) és *ParPMC2* (*ParP-4*) gének. A *ParPMC2* génben található deléción * -gal van jelölve. (Forrás: Zuriaga et al. 2018)

3.10. A rezisztencia öröklődése

Az utóbbi évtizedekben kiemelt fontosságú tulajdonság a nemesítők és termesztők számára az új kajszifajtákban a sarkavírus rezisztencia. Ehhez azonban meg kellett ismerni ennek a tulajdonságnak az öröklődését. A 1990-es évek végén, és a 2000-es évek elején több kutatás is indult a PPV rezisztencia öröklődésének vizsgálatára. Ezek során fogékony és rezisztens fajtákat kereszteztek, különféle kombinációkban. Egy spanyol programban 291 hibridet állítottak elő és fertőzték meg kajszihimlő vírussal, hogy kiderítsék rezisztensek vagy fogékonyak-e. A magoncokat fertőzés után a vírustünetek szemrevételezésével, és ELISA teszttel vizsgálták, hogy kimutassák a vírusfertőzést. A fogékony × fogékony keresztezésekből született magoncok mind fogékonyak lettek. A fogékony × rezisztens keresztezésekből, csupán 45% volt fogékony, 13% toleráns és 42% rezisztens fajta keletkezett. Ennek a keresztezésnek a reciprok keresztezéséből (rezisztens × fogékony), ahol a fogékony fajta volt a pollenadó, hasonló eredmények születtek, azzal a különbséggel, hogy ennél a keresztezésnél a toleráns fajta aránya mindössze 2% volt. A két rezisztens fajta keresztezéséből létrejött magoncok 71%-a rezisztens, 25%-a fogékony volt. A fennmaradó 4% toleránsnak bizonyult a tesztek során. A kutatásban megfigyelték, hogy néhány fajtánál csak hosszabb vegetatív időszak elteltével jelentkeztek a vírusfertőzés tünetei. A program eredményei alapján a kutatók azt feltételezték, hogy a rezisztenciát egy dominánsan öröklődő gén váltja ki (Dicenta et al. 2000). Egy későbbi kutatásban újabb keresztezéseket hajtottak végre görög kutatók, 1178 hibridet létrehozva. A kutatást több kutató hipotézisére alapozták. Ekkoriban még nem volt bizonyított, hogy a rezisztenciát egy, kettő vagy három gén alakítja-e ki. Erre a kérdésre adták meg a választ 2008-ban. A keresztezések után természetes és mesterséges módon is megfertőzték a magoncokat, levéltetvekkel, illetve fertőzött rügyek szemzésével. Ezután a hibrideket a PPV-re erősen fogékony GF-305 alanyokra oltották. A hibridek külső vizsgálata után itt is szerológiai módszerekkel vizsgálták a fertőzés jelenlétét a növényekben. A különböző keresztezési kombinációkból származó hibridek fogékonysági és ellenállósági arányai megközelítőleg ugyanazok voltak, mint a

spanyol kutatásban. További tudatos keresztezésekkel bebizonyították, hogy a rezisztencia hátterében álló gén tényleg dominánsan öröklődik. A rezisztens szülők zöme heterozigóta volt, egyedül a 'Stella' fajta bizonyult homozigóta rezisztensnek. A kutatás során kimutatták, hogy a rezisztencia bizonyos fajtákban lassan, idővel alakul csak ki. Ezeken a fajtákon megjelentek a vírus tünetei, de néhány tenyészedzőszakkal később a tünetek eltűntek, és a levelekben mért víruskoncentráció is jelentősen lecsökkent (Karayiannis et al. 2008).

Az európai kajszifajták többsége fogékony a sarkavírusra. Először az észak-amerikai 'Stella' és 'Stark Early Orange' fajták bizonyultak rezisztensnek az 1980-as években. Azóta több amerikai és kanadai rezisztens fajtát találtak a kutatók. Ezek a fajták képezték az első európai rezisztencianemesítési programok alapanyagát. A kajszifajták genetikai változatosságának vizsgálatával kimutatták, hogy az ellenálló amerikai fajták bár ugyanúgy Kínából származnak, genetikájukban messze állnak az európai fajtáktól (Karayiannis 2006a). Az észak-amerikai fajták azonban több tulajdonság tekintetében is elmaradnak az európai termesztők és fogyasztók igényeitől, például gyenge gyümölcsminőségükkel, önmeddőségükkel vagy a fokozott hideghatás igényükkel. Ezek a tulajdonságok megakadályozzák a közvetlen termesztésbe vonásukat Európában. Az 1980-as években Európa-szerte több nemesítési program is indult az európai elvárásoknak megfelelő minőségű, rezisztens fajták előállítására érdekében (Martinez-Gomez és Dicenta 2000). A programokat nehezíti, hogy a kajszihimlővírusnak számos törzse van, amelyek különböző virulenciát mutatnak. Emellett az egyes kajszifajták sem ugyanúgy reagálnak a különböző vírustörzsek általi fertőzésekre. Például az Amerikában rezisztensként ismert 'Harcot' és 'Goldrich' fajták görögországi kísérletekben először fogékonyak, később toleránsnak mutatkoztak a sarkavírusra (Bassi és Audergon 2006).

3.11. A rezisztencianemesítés jelenlegi helyzete

Görögország az egyik legnagyobb kajszitermesztő ország volt, de a *plum pox virus* elterjedése komoly visszaesést okozott az ország termelésében. A fő helyi fajták mind fogékonyak voltak a vírusra, ezért a görög nemesítőknek hasonló gyümölcsminőségű, de rezisztens új fajtákat kellett előállítaniuk. Az 1980-as években indult, NAGREF-Pomológiai Intézmény nemesítési programjában elsősorban hagyományos nemesítési technikákat használtak, kasztrálást, kézi beporzást és szabad beporzást is. Ezekhez a keresztezésekhez helyi görög fajtákat, és rezisztens, különböző kedvező tulajdonságú észak-amerikai fajtákat használtak. A 'Goldrich' fajtát a gyümölcsmérete, a 'Harcot' fajtát a kiváló ízű és fedőszínű gyümölcse, a 'Sundrop' fajtát pedig a kiemelkedő gyümölcshozama miatt választották szülőfajtának a kombinációkhoz. A keresztezésekből származó több mint 3000 magoncot elvetették és különböző módon vizsgálták a rezisztenciagén beépülését. Több vegetatív időszakon keresztül figyelték a tünetek megjelenését, a tüneteket nem mutató magoncokat fertőzött alanyokra oltották. A hibrideken ELISA teszteket végeztek a vírusfertőzés meglétének vagy hiányának bizonyítására. Emellett a hibridek gyümölcshozamának és gyümölcsminőségének az értékelése is zajlott a területen. A program végeredményeként több rezisztens fajtát sikerült előállítani, de a magas hideghatás-igény és az

önmeddőség továbbra is gondot okozott az új fajtákban (Karayiannis és Mainou 1999). A programban később új technológiákat is használtak a nemesítési folyamat megkönnyítésére, például a mesterséges fertőzést. Az 1980-as évektől 2006-ig több mint 7000 hibridet állítottak elő, és a keresztezések során a rezisztencia tulajdonság öröklődésének megértésében is előrelépések történtek. Ennek a programnak az eredményei a 'Pandora' és 'Lito' fajták (Karayiannis 2006b).

Csehszlovákiában, a Lednicei Egyetem Kertészeti Tanszékén zajlott egy jelentős nemesítési program. Bár Csehszlovákiában a kajszihimlő vírus elterjedt, a szaporítóanyag-előállító anyatelepeket sikerült sokáig vírusmentesen tartani. Emellett azonban fontos volt az ellenálló fajták nemesítése is. A görög nemesítői programhoz hasonlóan, a csehszlovák kutatók is 10 rezisztens amerikai fajtát kereszteztek a cseh termesztők számára értékes helyi fajtákkal. Ebben a programban a hagyományos szerológiai vizsgálatok mellett már biotechnológiai módszereket is alkalmaztak (Polák 1994).

Spanyolországban 12 kajszifajtát vizsgáltak a helyi PPV törzsek elleni rezisztencia tekintetében ellenőrzött körülmények között a D törzzsel fertőzve. A fertőzött növényeket zárt üvegházakban helyezték el és tartották megfigyelés alatt. A tünetek megfigyelése mellett itt is ELISA teszteket végeztek a víruskoncentráció kimutatására. A kísérlet eredményeként a 12-ből nyolc fajta rezisztensnek, négy fajta fogékonnak bizonyult a PPV-D fertőzésre (Martinez-Gómez és Dicenta 2000).

A fogékony és rezisztens fajták közötti genetikai különbség ma már ismert. A kajszifajták *PPVres*-lókuszában, a MATHd fehérjét kódoló *ParPMC2* génben található 5 bázispár hosszúságú deléció felelős a rezisztencia kialakításáért. A molekuláris markerezési módszerek fejlődésével ennek a génnek az azonosítása is egyszerűbb és hatékonyabb lett. A hagyományos fertőzési és kimutatási tesztek jelentősen lassabbak és drágábbak, mint a molekuláris laboratóriumi vizsgálatok. A hagyományos, ültetvényben zajló rezisztenciavizsgálat 3-4 évet vesz igénybe, míg a csíranövényekből kivont DNS-sel és molekuláris markerekkel akár két nap alatt több száz mintának lehet meghatározni a *ParPMC2* allélját (Polo-Oltra et al. 2020). A primereket a *ParPMC2* génben található második intronrégió azonosítására tervezték (10. ábra). A ParP-4 F₋alleleS primer a fogékony allélt amplifikálja, míg a ParP-4 F₋alleleR a deléciót tartalmazó rezisztens allélt. A DNS-kivonás után egy PCR-t végeznek el a specifikus primerekkel, és a PCR-terméket agaróz gélen futtatják. A gélen akkor jelenik meg fragmentum az egyes mintáknál, ha az adott allél megtalálható bennük. A primerek fejlesztésekor vizsgált rezisztens fajtákban mind a két allél megjelent, ez azt mutatja, hogy mind heterozigóták erre a tulajdonságra. A fogékony fajtákban a rezisztens allélt amplifikáló primerrel nem keletkezett PCR-termék (Zuriaga et al 2018).



10. ábra: A *ParP-4* gén szekvenciája, és a rezisztenciáért felelős 5 bázispár hosszúságú deléció azonosításához fejlesztett primerek kötődési helye. A deléciót a zöld téglalap jelzi a rezisztens allélban. A késsel és pirossal jelölt nyilak a forward, a fekete nyilak a reverz primereket jelölik.

(Forrás: Zuriaga et al. 2018)

3.12. Modern molekuláris módszerek a nemesítésben

A hagyományos szelekciós nemesítési módszerek egyik fő problémája a környezeti tényezők befolyásoló hatása, és a rendkívül hosszú munkafolyamat. A hagyományos nemesítésben a tulajdonságok öröklődését fenotípusos vizsgálatokkal monitorozzák, így főként a fásszárú növényeknél évekbe telhet, mire ezek a tulajdonságok megjelennek. Ennek köszönhetően egy új fajta előállítása akár több évtizedig is eltarthat. A molekuláris módszerek ezekre a problémákra adnak tökéletes megoldást. A molekuláris nemesítés alatt azokat a nemesítési programokat értjük, amelyek során DNS-alapú azonosítási technikákat használnak a tulajdonságok követésére a keresztezések során (Rafalski és Tingey 1993).

A fenotípusos tulajdonságok a növények megfigyelhető, vagy műszerekkel vizsgálható tulajdonságai, míg a genotípusos tulajdonságok az egyed DNS-ben kódolt tulajdonságai. A tulajdonságok lehetnek kvalitatív és kvantitatív tulajdonságok. A kvalitatív tulajdonságok könnyen azonosíthatóak, mind a genetikai kódoltságuknak, mind a kifejeződésüknek köszönhetően. A kvantitatív tulajdonságok igen változékonyak, és az időjárási körülmények is befolyásolják a kifejeződésüket. Ezáltal a fenotípus alapú vizsgálatok nem megbízhatóak az egyes fajták genotípusának meghatározásában. Ezért a kutatók olyan módszereket kezdtek kidolgozni, amelyek megbízhatóan elkülönítik a különböző genotípusú fajtákat és segítik az egyes tulajdonságok követését. Így születtek meg először a fehérje-alapú, később a DNS-alapú növénynemesítési technikák (Singh és Singh 2015). A markerek az egyik legfontosabb elemei a molekuláris alapú nemesítésnek. Segítségükkel azonosíthatunk, feltérképezhetünk, megjelölhetünk és akár beépíthetünk bizonyos géneket. Ahogy egyre több gazdaságilag fontos tulajdonság azonosítására terveznek markereket, úgy lehet egyre több növényfaj különböző tulajdonságait nyomon követni (Ranade et al. 2001). A DNS-alapú markerek a különböző fajták genomjainak változásait mutatják ki. A markerek DNS-szakaszok, amelyek a genom

nem kódoló és kódoló régiókban is lehetnek, és az egyed minden sejtjében megtalálhatóak. Ezek a DNS szakaszok alkalmasak fajok, fajták, populációk, és egyedek elkülönítésére. A molekuláris markerek fejlesztését 1974-ben kezdték meg, először az adenovírusok DNS-szekvenciájáról készítettek fizikai térképet, restrikciós endonukleázok használatával. Az 1980-as években a humán genetikában ismerték fel a különböző egyének azonos genomi régióiból, restrikciós endonukleázokkal nyert fragmentumok polimorfizmusát. Ezeknek a fragmentumoknak a méretkülönbségeit gélelektroforézissel ki lehet mutatni (Singh és Singh 2015).

Az elektroforézis az 1960-as évek óta elengedhetetlen kelléke a molekuláris vizsgálatoknak. A technológia kidolgozásának kezdetén szűrőpapírt, később pedig keményítő gélét használták közegként. Igazán hatékonynak az agaróz gél bizonyult (Johansson 1972). A gél egy speciális kádba öntik, és zsebeket alakítanak ki a folyékony gélben egy úgynevezett fésű segítségével. Ha megdermed a gél, eltávolítják a fésűt, és pipettával a zsebekbe juttatják a DNS-mintákat. A mintákhoz egy színes festéket kevernek, hogy nyomon lehessen követni a későbbi mozgásukat. Ezután a kádban egy elektromos mezőt képeznek, az elektromos térben a negatív töltésű DNS-molekulák a pozitív töltés felé vándorolnak. A különböző méretű molekulák szétválnak a gélben. A kisebb molekulák adott idő alatt nagyobb távolságot tesznek meg, mint a nagyobb molekulák (Lee et al. 2012). A mintákat leggyakrabban UV-fényben foszforeszkáló etidium-bromid festékkel jelölik meg. Ezután a gélről egy fotót készítenek, UV-fény használatával, így kirajzolódik a mintázat a gélen. A gélen egy ismert hosszúságú fragmentumokat tartalmazó „létrát” is futtatnak, ezzel megkönnyítve az ismeretlen fragmentumhosszúságok meghatározását az egyes mintáknál (Green és Sambrook 2019b).

Ma már számos különböző markerezési technológia alakult ki a különböző igényeknek megfelelően (Singh és Singh 2015). A növényfajtól és az alkalmazás módjától függően számos szempontnak kell megfelelnie egy markernek. Ezek a tulajdonságok például: a genomban gyakran előforduljon, megismételhető legyen, polimorfikus legyen, kodominánsan öröklődjön a homo és heterozigóták elkülönítése érdekében, könnyen és gyorsan vizsgálható legyen, kis mennyiségű mintából is el lehessen végezni a vizsgálatot, és a vizsgálati módszer és a marker megalkotása ne legyen túl költséges. Ha egy marker mindegyik tulajdonsággal rendelkezik, akkor ideális a használatra, azonban olyan marker nem létezik, amelyik mindegyik fent említett szempontnak megfelel, a vizsgálat célja dönti el, melyik a legalkalmasabb. A markerek a kimutatás alapján két csoportba sorolhatóak: hasításon alapuló és PCR-alapú markerekre (Jiang 2013).

A legjelentősebb hasítás alapú markerezési módszer az elsőként leírt RFLP, vagyis a restrikciós fragmentumhossz polimorfizmuson alapuló technika (Ramesh et al. 2020). A PCR-alapú markereket tartják a markerezési eljárások második generációjának. A PCR-hez tetszőleges vagy specifikus nukleotidsorrendű primereket használnak. Ezek a primerek adják az egyes marker rendszerek alapját, és a különböző markerek különböző primereket igényelnek (Singh és Singh 2015).

A PCR (Polimerase Chain Reaction), polimeráz láncreakció technológiáját az 1980-as években dolgozták ki. A feltalálója, Kary Mullis 1993-ban Nobel-díjat kapott a módszerért. A technológia a

nukleinsavak meghatározott szakaszainak felszaporítására szolgál, és használatával a biológiai kutatások nagyban felgyorsíthatóak. Ez egy *in vitro* módszer, ami a sejtekben természetes módon végbemenő DNS-replikációt utánozza (György 2018). A reakcióhoz két oligonukleotid primerre van szükség, amelyek a DNS-szál megfelelő szakaszához kötődnek. Az egyik primer az 5', a másik a 3' végéhez köt a felszaporítani kívánt szakasznak. A felszaporításért a növényekben is megtalálható DNS-polimeráz enzim felel. A falszaporított szakasz mintaként szolgál a következő felszaporításhoz, így egy láncreakció indul be, ahol a DNS szakaszok száma exponenciálisan nő. A módszer előnye, hogy kis mennyiségű DNS-minta is elég hozzá, a láncreakciónak köszönhetően. Egy reakció több ciklusból áll, minden ciklusban a DNS-szál denaturálódik, a primerek kötődnek, és megtörténik a felszaporítás (Erich 1989). A denaturáció 90 és 95 °C között következik be, ez a hőmérséklet azonban túl magas volt az első kísérletekben használt *E. coli* baktériumból izolált polimeráz enzim számára, így minden ciklus után új enzimeket kellett adni a reakcióhoz. Később felfedezték, hogy a *Thermus aquaticus* baktériumfaj DNS-polimeráz enzime (*Taq* polimeráz) magasabb hőtűréssel rendelkezik, ennek köszönhetően több cikluson keresztül is működőképes marad. A második lépésben a hőmérsékletet 45 és 65 °C közé csökkentik, a primerek kötődéséhez. A harmadik lépésben újra felemelik a hőmérsékletet 72 °C-ra, a polimeráz enzim működéséhez szükséges optimális hőfokra (Joshi és Deshpande 2011). A reakciónak hat fő komponense van: a DNS minta; egy hőtűrő DNS-polimeráz enzim; a két oligonukleotid primer; nukleotid-trifoszfátok (dNTP), amelyeket a polimeráz enzim az új DNS-szálba épít bele; egy puffer, ami a reakcióhoz szükséges optimális körülményeket biztosítja és az enzim működéséhez elengedhetetlen Mg^{2+} ionokat biztosító $MgCl_2$. Ma már a teljes folyamatot automatizálták PCR készülék használatával, így egy gyors és megbízható eleme lett a DNS vizsgálati módszereknek (Green és Sambrook 2019a). A PCR-technika rendkívül sokoldalúan felhasználható, különböző genetikai kutatásokhoz. Ilyen felhasználási módok például: mutációk kimutatása, gének izolálása, DNS-ujjlenyomat készítése, bakteriális és virális fertőzések kimutatása, ivar meghatározása és transzgénikus élőlények ellenőrzése (György 2018).

A molekuláris markereknek köszönhetően a nemesítési folyamat gyorsabb, biztosabb és egyszerűbb lett. A MAS (marker assisted selection) megoldotta a fenotípusos vizsgálatokból adódó problémákat. A markereket elsősorban az úgynevezett speed-breeding során és a visszakeresztezéses nemesítés során használják, a beépítendő tulajdonságot kódoló gén követésére (Samantara et al. 2021).

Napjaink egyik legmodernebb nemesítési technológiája az úgynevezett speed-breeding, vagyis gyors nemesítés. Ezt először 2003-ban írták le amerikai kutatók, a gabonanemesítés felgyorsításának módszereként. A technológia pontos protokollja még mindig kidolgozás alatt áll számos növényfaj esetében. A módszer alapja a lehető legoptimálisabb *in vitro* körülmények biztosítása, a fényviszonyok, hőmérséklet és nappalhossz szabályozásával. Ezzel lerövidíthető a nemzedékek időtartama, és elérhető a minél korábbi virágzás, a minél hamarabb elvégezhető keresztezések érdekében. Emellett a nemesítési program szempontjából értékes tulajdonságokat folyamatosan monitorozzák molekuláris markerezési módszerekkel (Ahmar et al. 2020). A gyümölcsfák zöme hosszú juvenilis szakasszal rendelkezik a

virágzás és maghozás előtt. Ezért ezeknél a fajoknál a generáció lerövidítése kiemelt fontosságú. A speed-breeding technikák alkalmazásával rövidíthető az egyes fajták virághozási ideje a körülmények optimalizálásával és a fotoperiódus szabályozásával. (Samantara 2021) Igazán rövid juvenilis szakaszt azonban csak transzgénikus növények használatával tudtak elérni. Az almánál sikeresen tíz hónapra rövidítették a virághozás idejét öt év helyett, a gesztenyénél pedig két évre hét év helyett. Ezzel a módszerrel az új fajták előállítása drasztikusan felgyorsítható (van Nocker és Gardiner 2014).

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Növényanyag

A kísérlet során dr. Gutermuth Ádám nemesítő hibridjeit vizsgáltuk. A hibridek és kontrollfajták egy gyúrói termesztő és nemesítő ültetvényből (47.382944, 18.743098) származnak. Összesen 18 egyedről gyűjtöttünk mintát, ezek közül 15 fajtajelölt, és három kontrollfajta (1. táblázat). A számmal jelölt nyolc fajtajelölt egy korábbi nemesítési programból származik (Genetika és Növénynemesítés Tanszék, Budapesti Corvinus Egyetem). Ezek mellett hét gyúrói magoncot is megvizsgáltunk, amelyek Fazekas Márton mucusi kajszitermesztő ültetvényéből származnak. Az idegentermékenyülő 'Bergerouge' fajta gyümölcséből gyűjtött magokat vetették el és nevelték fel, majd 2019-ben a gyúrói ültetvényben eltelepítették őket. Ezen magoncok szülőkombinációjának csak az egyik fele ismert biztosan, a pollenadó lehet 'Kioto', 'Pinkcot', 'Bergeron' és 'Spring Blush' fajta. A három kontroll fajtának ismert a termékenyülési viszonya és a PPV rezisztenciája. A kontrollok közül mindhárom bizonyítottan PPV rezisztens fajta (CEP-Innovation) A 'Sefora' és 'Bergeval' kontroll fajták önmeddőek, a 'Congat' fajta önmeddő (CEP-Innovation). A hibridek és a magoncok 3 évesek voltak a mintagyűjtéskor, és folyamatos fenológiai vizsgálatokkal szelektálják őket a kajszihimlő megjelenése alapján. A kísérletre kiválasztott fajták egyike sem mutatta a betegség tüneteit, valamint gyümölcsminőségük és egyéb tulajdonságaik alapján értékesnek találta őket a nemesítő fajtabejelentésre.

1. táblázat: A kísérlet során vizsgált fajtajelöltek és kontroll fajták a szülőkombinációikkal. Az o.p. (open pollination) szabad megporzást jelent, ezeknél a fajtáknál csak a pollenfogadó szülőfajta ismert.

(Forrás: saját táblázat, kontroll fajták: CEP-INNOVATION^{1;2;3})

Sorszám	Név	Pedigré	
1	47/20	‘Harostar’ x ‘Orangered’	fajtajelölt
2	49/42	‘Harostar’ x ‘Pinkcot’	fajtajelölt
3	Gyúrói magonc 29	‘Bergarouge’ o.p.	fajtajelölt
4	‘Bergeval’		rezisztens és öntermékenyülő kontroll ¹
5	48/1	‘Harostar’ x ‘Orange red’	fajtajelölt
6	‘Congat’		rezisztens és önmeddő kontroll ²
7	Gyúrói magonc 18	‘Bergarouge’ o.p.	fajtajelölt
8	24/55	‘Pannónia’ x ‘Orange red’	fajtajelölt
9	‘Sefora’		rezisztens és öntermékenyülő kontroll ³
10	Gyúrói magonc 38	‘Bergarouge’ o.p.	fajtajelölt
11	Gyúrói magonc 76	‘Bergarouge’ o.p.	fajtajelölt
12	Gyúrói magonc 63	‘Bergarouge’ o.p.	fajtajelölt
13	68/57	‘Goldrich’ x ‘Pinkcot’	fajtajelölt
14	Gyúrói magonc 9	‘Bergarouge’ o.p.	fajtajelölt
15	31/11	‘Goldrich’ o.p.	fajtajelölt
16	63/8	‘Goldrich’ o.p.	fajtajelölt
17	31/12	‘Goldrich’ o.p.	fajtajelölt
18	Gyúrói magonc 32	‘Bergarouge’ o.p.	fajtajelölt

4.2. Módszer

A fákról 2022. augusztus 17-én gyűjtöttünk mintát, fajtánként 5-7 darab, fiatal hajtásról származó levelet. Ezeket feliratozott zacskókba helyeztük, és -20 °C-on tároltuk őket a vizsgálat megkezdéséig. A levelekből a DNeasy Plant Mini Kittel (Qiagen) vontuk ki a genomi DNS-t. A kivonás során a leveleket folyékony nitrogénnel lefagyasztottuk, majd mozsárban megőröltük. Az egyéb sejtrészeket centrifugálással és szűréssel távolítottuk el a mintából. A folyamat során kötődést elősegítő pufferekkel és etanollal a DNS-molekulát a DNeasy membránhoz kötöttük. A megkötött DNS-t ezután több lépésben megtisztítottuk az összes egyéb anyagtól, például fehérjéktől és poliszacharidoktól. Az így kinyert DNS mintákat -20 °C-on tároltuk a további kísérletek folyamán.

A PCR -elegy összetétele a kísérletek során minden primernél ugyanazokból a komponensekből állt, 12,5 µl végtérfogatban: 40-60 ng DNS-minta, 10× DreamTaq™ Green puffer; 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP-mix, 0,4 µM mindkét primerből, 0,625 U DreamTaq™ DNS polimeráz (Thermo Fisher Scientific). A reakció Swift MaxPro thermocycler (ESCO Healthcare, Singapore) készülékben történt.

A kísérletet az *S*-allélok meghatározásával kezdtük. Az első intronrégió amplifikálásához az SRc-F forward és SRc-R reverz primereket használtuk, fluoreszcens festékkel megjelölve. Ezek a primerek az első intronrégió körül található konzervatív régiók alapján lettek tervezve (Vilanova et al. 2005). A következő PCR-programot futtattuk le: 3 perc 95 °C-os denaturációs szakasszal; 35 darab 95 °C-os, 30 másodperces ciklus; egy 54 °C-os 45 s hosszúságú szakasz; 72 °C 1 perc 15 másodpercig és végül 72 °C 10 percig. A PCR-termékeket az amplifikáció ellenőrzéseként agaróz gélen futtattuk. A fragmentumhossz-analízist a Biomi Kft. végezte el. Az eredményeket a Thermo Fisher Scientific Peak Scanner V1.0 szoftverével értékeltük ki.

A második intronrégió azonosításához az EM-PC2consFD forward és EM-PC3consRD reverz primereket használtuk (Sutherland et al. 2004). Ezekhez a primerekhez az alábbi a PCR-programot használtuk: 2 perc 94 °C-os denaturáció; 35 darab 94 °C-os, 10 másodperces ciklus; 58 °C 2 percig és 68 °C 2 percig. A PCR-termékeket 1%-os agaróz gélen különítettük el, 0,1 µg/mL ethidium-bromiddal festve és a GeneRuler 1 kb létrát használva (Thermo Fisher Scientific). Az fragmentumok mintázatát UV fényvel átvilágítva fotóztuk le a kiértékeléshez.

Az öntermékenyülésért felelős, *F-box*-ban található *S_C*-allélok meghatározásához a 2010-ben leírt AprFCB8-F és AprFCB8-R primerpárt használtuk (Halász et al 2010). A primerhez előírt PCR program szerint végeztük el az amplifikálást: 2 perc denaturálás 94 °C-on; 35 30 másodperces, 94 °C-os ciklus; 55 °C 1,5 percig; 72 °C 5 percig. A fragmentumokat ebben az esetben is 1%-os agaróz gélben választottuk szét, ethidium-bromiddal festve. A szétválasztott fragmentumokat UV-fényben fényképeztük le.

A PPV rezisztencia tulajdonságot hordozó allélok kimutatásához a ParP-4 *FalleleS* fogékony allélt amplifikáló forward primert, a ParP-4 *FalleleR* rezisztens allélt amplifikáló forward primert és a ParP-4 R reverz primeert használtuk (Zuriaga et al. 2018). A primerekhez a következő PCR-programot

használtuk: 5 perc 95 °C; 35 ciklus, először 30s 95 °C-on, majd 45s 55 °C-on, végül 45s 72 °C-on és végezetül 10 perc 72 °C-on. A PCR-termékeket 1%-os agaróz gélen futtattuk, ethidium-bromiddal festve. Ehhez a GeneRuler 100 bp DNS-létrát (Thermo Fisher Scientific) használtuk a méretmeghatározáshoz. A fragmentumokról UV-fényben készítettünk fényképet.

2. táblázat: A dolgozat készítése során használt primerek, szekvenciáik, amplifikált szakaszaik és forrásuk.

(Forrás: saját táblázat)

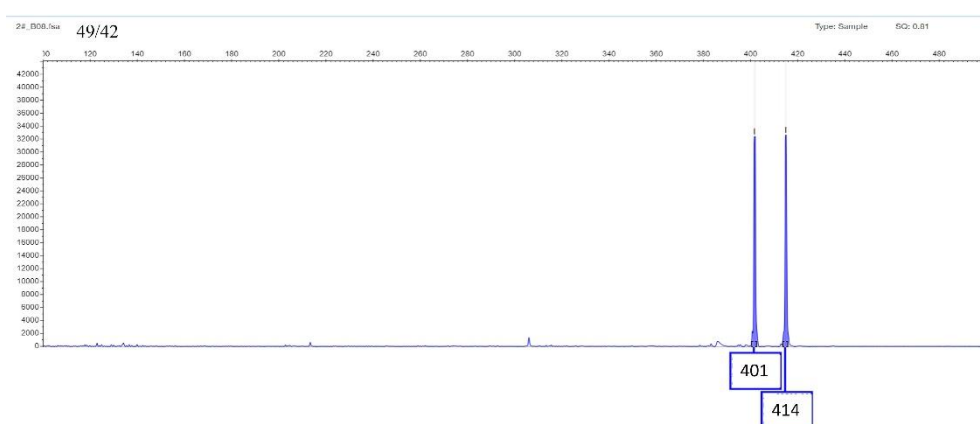
Primer neve	Szekvencia (5'-3')	Amplifikált szakasz	Forrás
SRc-F	CTCGCTTTCCTTGTCTTGC	<i>S-RN-áz</i> gén 1. intronrégió (forward)	Vilanova et al. 2005
SRc-R	GGCCATTGTTGCACAAATTG	<i>S-RN-áz</i> gén 1. intronrégió (reverz)	
EM-PC2consFD	TCACMATYCATGGCCTATGG	<i>S-RN-áz</i> gén 2. intronrégió (forward)	Sutherland et al. 2004
EM-PC3consRD	AWSTRCCRTGYTTGTTCCATTC	<i>S-RN-áz</i> gén 2. intronrégió (reverz)	
AprFCB8-F	CATGGAAAAAGCTGACTTATGG	<i>F-box</i> gén (forward)	Halász et al. 2010
AprFCB8-R	GCCTCTAATGTCATCTACTCTTAG	<i>F-box</i> gén (reverz)	
ParP-4 FalleleS	GTCGTTTTATTGATGTCCAAAC	<i>ParP-4</i> gén fogékony (forward)	Zuriaga et al. 2018
ParP-4 FalleleR	GTCATTTTCATTGATGTCATTCA	<i>ParP-4</i> gén rezisztens (forward)	
ParP-4 R	GTGCTCTTTCACATTCTTGCTC	<i>ParP-4</i> gén reverz)	

5. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

5.1. A hibridek *S*-alléljainak meghatározása PCR-rel

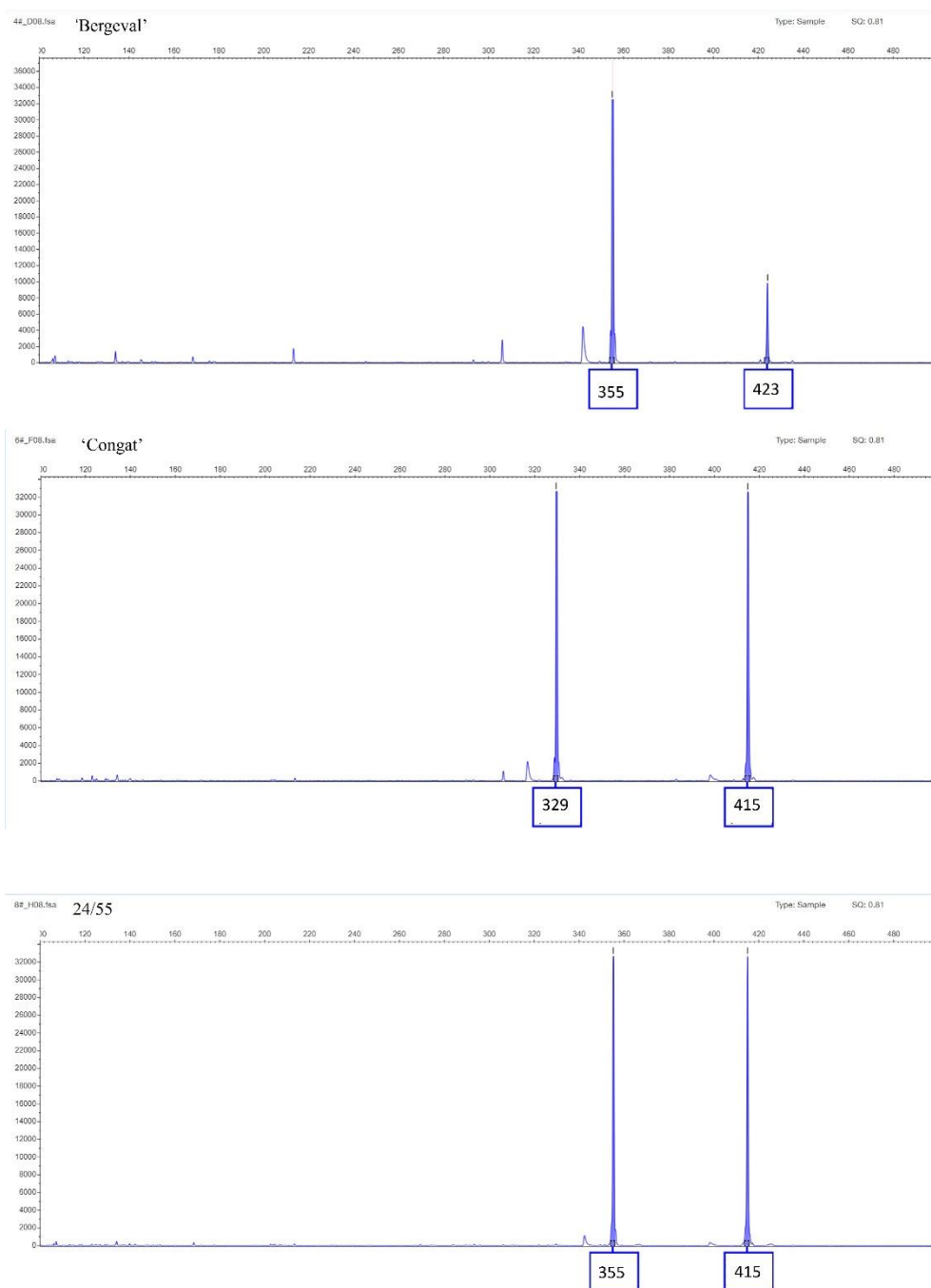
Elsőként az egyes hibridek és kontroll fajták *S*-alléljait határoztuk meg, az *S-RN-áz* gén két intronrégiójának a vizsgálatával. A génben található mindkét intronrégió nagymértékű polimorfizmust mutat, és a szakaszok hosszúsága allélonként eltérő. Az intronokat konzervatív exonrégiók határolják, így ezekre a régiókra primereket terveztek. A primerek használatával az intronrégiók PCR-rel felszaporíthatóak, és a PCR-termékek szekvenciahosszúság meghatározásával meghatározhatóak az egyes allélok. Minden diploid önmeddő faj egyedei, fajtái két különböző allélt tartalmaznak. Így mind az első, mind a második intronban két különböző hosszúságú fragmentum amplifikálódik. A két intron mérete nagyban eltér egymástól, ezért különböző módszerekkel vizsgáltuk a fragmentumhosszúságokat (Sutherland et al. 2004).

Az *S-RN-áz* gén első intronrégióját az SRc-F forward és SRc-R reverz primerekkel szaporítottuk fel (Vilanova et al. 2005). A forward primer az intron előtt található szignálpeptidhez kötődik, a reverz primer az intron után található első C1 konzervatív régióhoz. Az első intronrégió mérete kisebb polimorfizmust mutat, mint a második intronrégióé, és a fragmentumok szekvenciahosszúsága körülbelül 200 és 500 bázispár közé esik. Az ilyen kis bázispár hosszúságú és kismértékű polimorfizmus mutató minták esetében az agaróz gélelektroforézissel történő fragmentumhossz meghatározás nem ad pontos eredményt (Halász et al 2010). Ezért az első intronrégió esetében fluoreszcens festékkel jelölt primereket használtunk a PCR során a fragmentumméret meghatározásához a mikroszatellit analízishez hasonlóan. Az analízist egy külső laborban végezték el, az eredmények kiértékeléséhez a Thermo Fisher Scientific Peak Scanner V1.0 szoftverét használtuk (11. ábra).



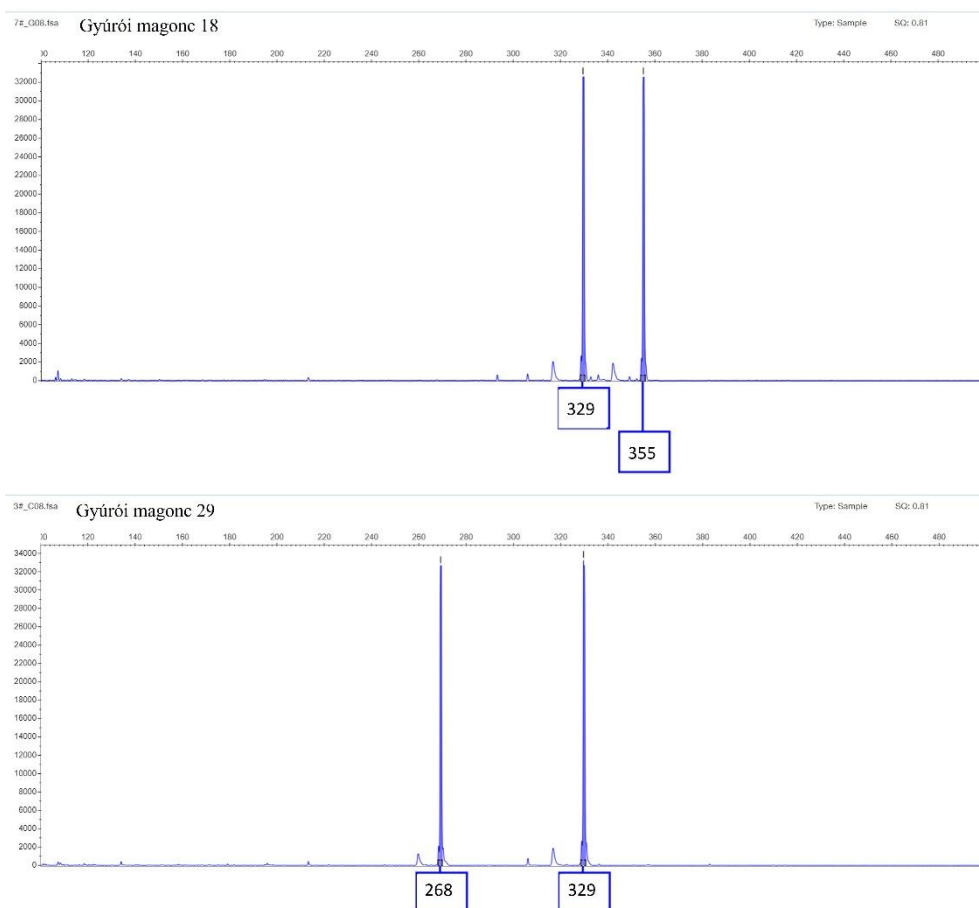
11. ábra (1. rész): A 49/42-es hibrid első intron méretei. A kék csúcsok jelentik a PCR során legnagyobb mennyiségben amplifikált DNS-szakaszokat, alattuk a szövegdobozban van jelölve az adott fragmentum bázispárban megadott hossza.

(Forrás: Thermo Fisher Scientific PeakScanner; saját szerkesztés)



11. ábra (folytatás): Egy öntermékenyülő kontroll ('Bergeval'), egy önmeddő kontroll ('Congat') és egy hibrid (24/55) minták automata szekvenátorral meghatározott első intronméretei.

(Forrás: Thermo Fisher Scientific PeakScanner, saját szerkesztés)



11. ábra (folytatás): Két gyúrói magonc (18, 29) automata szekvenátorral meghatározott első intronméretei.

(Forrás: Thermo Fisher Scientific PeakScanner, saját szerkesztés)

Az első intronrégió azonosításakor a 15 vizsgált hibrid és kontroll fajta közül 16 mintánál (1.,2.,3.,4.,6.,7.,8.,9.,10.,11.,12.,13.,14.,15.,17.,18.) mindkét fragmentum hosszúságát meghatároztuk, két mintánál (5., 16.) azonban csak egy fragmentum méretét tudtuk megállapítani. A fragmentumok hosszúsága a vizsgált minták esetén 260 és 430 bázispár közé esett. Az első intron pontos fragmentumméretei alapján lehet következtetni a minták S-alléljaira, de az allélok pontos azonosításához a második intronrégió fragmentumméreteit is ismerni kell. Az első intronrégió fragmentumméreteit a korábbi kutatásokban (Halász 2007) leírt jellemző méretekkkel vetettük össze, így határozva meg az allélokat.

A vizsgált minták közül kettőben mutatta ki az automata szekvenátor az S_1 -allélra jellemző 401 bp hosszúságú szakaszt (2.,15.) (Burgos et al. 1998). A 329 bp hosszúságú fragmentumméret hat mintában jelentkezett (3.,6.,7.,11.,17.,18.), ez az S_2 -allélra jellemző (Alberquerque et al. 2002). Két mintában azonosítottuk az S_3 -allélra jellemző 269 bp hosszúságú fragmentumot (3.,16.) (Alberquerque et al. 2002). A leggyakrabban előforduló allél a 423 bp fragmentumhosszúságú S_6 -allél volt, ez összesen nyolc mintában jelentkezett (1.,4.,5.,12.,13.,14.,15.,17) (Burgos et al. 1998). Két mintában (10.,13.)

mutattuk ki az S_{14} -allélt, aminek a jellemző fragmentumhossza 380 bázispár (Halász et al. 2005). Az S_{17} -es allél 414 bázispár hosszúságú fragmentumait öt minta esetén azonosítottuk (Halász 2007). Összesen öt vizsgált mintában (4.,7.,8.,9.,12.) mutattuk ki az öntermékenyülő fajtákban megtalálható, 355 bp első intronhosszúságú S_C -allélt (Halász et al. 2010). Ezek között volt a két öntermékenyülő kontroll fajta is, a 'Bergeval' és a 'Sefora'. A fajtaleírásokban önmeddőként szereplő, és a dolgozat során önmeddő kontrollként használt 'Congat' fajtában nem mutatta ki az automata szekvenátor a 355 bp hosszúságú fragmentumot. Az S_C - és az S_8 -allélokra ugyanaz a 355 bp méretű első intron és 2800 bp méretű második intron jellemző (Halász 2007). Ennek a hasonlóságnak köszönhetően az egyes fajtákról nem lehet kizárólag az *S-RN-áz* gén intronrégióinak vizsgálatával eldönteni, hogy az S_C vagy S_8 -allélt hordozzák-e (Halász et al. 2010, Herrera et al. 2022). Négy vizsgált minta esetén (10.,11.,14.,18.) a szoftver kimutatott egy 357 bázispár hosszúságú fragmentumot, ami eddigi cikkekben nincs megemlítve, így az ehhez a mérethez tartozó S -allél sem ismert, a szekvencia meghatározására lenne szükség a pontos azonosításhoz.

Az *S-RN-áz* gén második intronrégiójának méretmeghatározásához az EM-PC2consFD forward és az EM-PC3consRD reverz primereket használtuk (Sutherland et al. 2004). A PCR-termékeket agaróz gélelektroforézissel vizsgáltuk. A gélen a 18 vizsgált minta közül csak kettőnek tudtuk egyértelműen megállapítani mind a két allélhoz tartozó fragmentumméretét (3.,6.). Hét mintánál egy fragmentum jelent meg (1.,2.,5.,8.,9.,11.,16.) és a kilenc mintánál nem jelent meg beazonosítható mintázat a gélen (4.,5.,10.,12.,13.,14.,15.,17.,18.). A fragmentumméret a 310 és 950 bázispár hosszúságú mérettartományba estek. Két mintánál azonosítottuk az S_3 -allélra jellemző 310 bp hosszúságú fragmentumot (3.,16.). A 700 bp hosszúságú, S_{17} -es allélra jellemző fragmentumot öt mintában mutattuk ki (1.,2.,6.,8.,9.). Az S_2 -allélra jellemző 950 bp méretű fragmentum négy minta esetén jelentkezett (3.,6.,7.,11.). Bár a második intronrégió fragmentumainak azonosítása hiányos volt, az első intronrégió pontos fragmentumméretének meghatározásával nagy bizonyossággal azonosíthatóak az egyes minták S -alléljai (Halász 2007).

A két intronrégió méreteinek meghatározásával és a régebbi kutatások eredményeinek összevetésével a vizsgált 18 minta közül 12-nek pontosan meghatároztuk mindkét S -allélját. Hat minta esetén csak egy S -allélt tudtunk biztosan meghatározni. Ezek közül négyben az ismeretlen 357 bp-os első intronrégió miatt, kettőben pedig az első intronrégió egyik fragmentumának hiánya miatt nem tudtuk azonosítani mindkét allélt. Az azonos fragmentummérettel rendelkező S_C és S_8 -allélokat további vizsgálatokkal eldöntendőnek jelöltük (3. táblázat).

3. táblázat: A vizsgált minták *S*-genotípusa, az *S-RN-áz* gén első és második intronrégiójának méreteivel (bp). A különböző színek jelölik az egyes allélokra jellemző fragmentumméreteket.

(Forrás: saját táblázat)

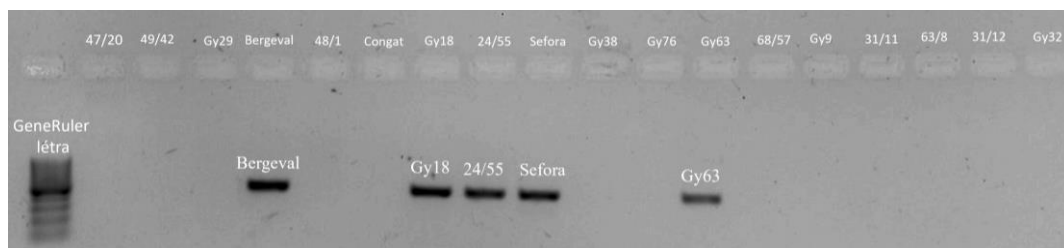
Sorszám	Név	S-genotípus		1. intronrégió (bp)		2. intronrégió (bp)	
1	47/20	S ₆	S ₁₇	414	424	1300	700
2	49/42	S ₁	S ₁₇	401	414	-	700
3	Gy29	S ₂	S ₃	268	329	950	310
4	‘Bergeval’	S _C /S ₈	S ₆	355	423	2800	1300
5	48/1	S ₆		423	-	1300	-
6	‘Congat’	S ₂	S ₁₇	329	415	950	700
7	Gy18	S _C /S ₈	S ₂	355	329	2800	950
8	24/55	S _C /S ₈	S ₁₇	355	415	2800	700
9	‘Sefora’	S _C	S ₁₇	355	414	2800	700
10	Gy38	S ₁₄		357	382	1400	-
11	Gy76	S ₂		329	357	950	-
12	Gy63	S _C	S ₆	355	423	2800	1300
13	68/57	S ₆	S ₁₄	382	423	1300	1400
14	Gy9	S ₆		357	423	1300	-
15	31/11	S ₁	S ₆	401	423	-	1300
16	63/8	S ₃		268	-	310	-
17	31/12	S ₂	S ₆	329	423	950	1300
18	Gy32	S ₂		329	357	950	-

5.2. Az öntermékenyülő fajták azonosítása

Az S_C- és S₈-allélok elkülönítése az *S-RN-áz* régió intronméreteinek meghatározásával nem lehetséges, a fragmentumméretek azonosságának köszönhetően. A két allél között kizárólag az *SFB*-génben található eltérés, egy inszerció következtében az S_C-allélban (Halász et al. 2014). Ezen allélok megkülönböztetésére fejlesztettek ki egy primerpárt, az öntermékenyülésért felelős, *F-box* génben található 358 bázispáros inszerciót tartalmazó allélok kimutatására. Ezek az AprFCB8-F forward és az AprFCB8-R reverz primerek. Az allélspecifikus primerek használatával az S_C-allélt hordozó minták esetén egy kb. 500 bp méretű fragmentumot kapunk, míg az S₈-allélt hordozó minták esetén egy kb. 150 bp méretű fragmentum jelenik meg. Emellett a homo- és heterozigóta típusok is elkülöníthetők a használatukkal, vagyis a marker kodominánsként működik (Halász et al. 2010). Ezeket a primereket számos korábbi kutatás során használták a két allél elkülönítésére, Halász és munkatársai 2010-ben alkalmazták először az öntermékenyülés kimutatására kifejlesztett allélspecifikus primereket. Összesen 55 török és magyar kajszifajtát vizsgáltak, ezek közül hét fajtát írtak le öntermékenynek. Hat fajta heterozigóta, egy fajta homozigóta volt a tulajdonságra nézve. Egy marokkói kajszifajta foglalkozó

kutatás keretein belül szintén 55 fajtát vizsgáltak, amelyek közül a legtöbb, 39 fajta hordozta az S_C -allélt (Kodad et al. 2013).

Az öntermékenyülő allélok azonosítását a fent említett primerekkel végeztük. A vizsgálat eredményeként a 18 vizsgált mintából ötben azonosítottuk az S_C -allélt (12. ábra). Ezek mind azok a minták voltak, ahol az S_C - és S_8 -allélokat nem tudtuk az S - RN -áz intronrégiók alapján megkülönböztetni. tehát minden kérdéses minta öntermékenynek bizonyult. A két öntermékenyülő kontroll fajtában ('Sefora', 'Bergeval') kimutattuk az S_C -allélt, ezáltal biztosítva, hogy a primerek megfelelően működtek. A fajtajelöltek közül három mintában azonosítottuk az öntermékenyülő allél jelenlétét (Gyúrói magonc 18, 24/55, Gyúrói magonc 63). A bizonyítottan önmeddő, kontrollként használt 'Congat' fajta esetén nem jelent meg PCR-termék a gélelektroforézis során, így a negatív kontroll is igazolta a marker megbízhatóságát. Az első intronrégió vizsgálatakor megjelent, 357 bázispár hosszúságú fragmentum mérete csupán két bázispárral tér el az S_C/S_8 -allélok méretétől, így fennállt a lehetősége, hogy a 357 bp hosszúságú fragmentumok is az öntermékenyülésért felelős allélhoz tartoznak. Az allélspecifikus primerekkel történő vizsgálat a 357 bp-os első intronrégiót hordozó mintákról is bizonyította, hogy nem az S_C -allélt hordozzák, hanem egy, az eddig vizsgálatok során nem ismert allélt tartalmaznak.



12. ábra: Az S_C -allélt hordozó minták azonosítása az AprFCB8-F/R primerpár használatával. A gélelektroforézis során csak azoknál a mintáknál mutatható ki fragmentum (500 bp), amelyek tartalmazzák az öntermékenyülésért felelős allélt.

(Forrás: saját fotó, UVIDOC HD6)

5.3. Az egyes kajszihibridek S -genotípusa, a lehetséges szülőkombinációk megállapítása

A vizsgált fajtajelöltek közül öt hibridnek ismert a szülőkombinációja, a többi tíz hibrid szabad beporzás során jött létre, így ezeknek a mintáknak csak az anyai szülőpárja ismert. A minták és a lehetséges pollenadók S -genotípusának megismerésével azonban következtethetünk a szülőkombinációkra. A diploid kajsziiban a termékenyülési viszonyokat egy poliallélikus gén alakítja ki, amely a klasszikus mendeli öröklődést mutatja, így ezeknek az alléloknak a megjelenése az utódpopulációban jól követhető (Burgos et al. 1998). A Gyúrói magonc hibridek mind szabad beporzással kereszteződtek, és több, az ültetvényben található lehetséges pollenadót is ismerünk. Az S -allélok alapján próbáltuk meghatározni az egyes magoncok pontos pedigrijét.

A 24/55-ös kódú hibridnek az *S*-genotípusa $S_C S_{17}$. Ez az egyetlen keresztezett hibrid, amelyikben megjelent az öntermékenyülő allél. A szülőkombinációja ‘Pannónia’ $\times$ ‘Orangered’. A ‘Pannónia’ fajta egy homozigóta öntermékenyülő fajta, *S*-genotípusa $S_C S_C$ (Halász et al. 2007b). Az ‘Orangered’ fajta *S*-genotípusa $S_6 S_{17}$, tehát heterozigóta önmeddő (Herrera et al. 2018b). Ezen adatok alapján megállapítható, hogy az öntermékenyülő allélt a ‘Pannónia’ fajtától kapta. Egy homozigóta öntermékenyülő és heterozigóta önmeddő fajta keresztezéséből az utódnak biztosan hordoznia kell az S_C -allélt. Ennél a hibridnél a pedigré megfelel a leírásnak, hiszen az S_{17} -allélt is megtaláljuk a hibridben, amit az ‘Orangered’ fajta hordoz.

A 18-as számú Gyúrói magonc fajtajelölt is öntermékenyülőnek bizonyult. Ennél a mintánál csak az anyanövény fajtája ismert, a pollenadó fajtát csak feltételezni tudjuk. A magonc *S*-genotípusa $S_C S_2$. A szabad beporzással megtermékenyített anyanövény az önmeddő ‘Bergarouge’ fajta, *S*-genotípusa $S_2 S_6$ (Herrera et al. 2018b). A szaporítóanyag egy mucsí ültetvényből származik, ahol két lehetséges pollenadó fajta található, amelyekből az öntermékenyülő allélt örökölhette. Ezek a fajták a bizonyítottan öntermékenyülő ‘Kioto’ (S_C) és ‘Bergeron’ ($S_C S_2$) fajták lehetnek (Herrera et al. 2018c, Halász et al. 2007b). Ennél a hibridnél ezek alapján nem dönthető el biztosan a pollenadó fajta, hiszen mindkét lehetséges pollenadóban megtalálható az S_C -allél.

A harmadik öntermékenyülő hibrid fajta a 63-as Gyúrói magonc, *S*-genotípusa $S_C S_6$. A Gym18-hoz hasonlóan, ennek a hibridnek is csak az anyanövényét ismerjük biztosan, a ‘Bergarouge’ fajtát. Ebben a magoncban viszont az S_C -allél mellett az S_6 -allélt mutattuk ki, ami szintén a ‘Bergarouge’ fajtából származik, tekintve, hogy ennek a magoncnak is a ‘Kioto’ és ‘Bergeron’ öntermékenyülő fajták a lehetséges pollenadói. Így ennél a fajtajelöltnél sem dönthető el biztosan a pollenadó szülő, azonban az anyanövény jelenléte bebizonyítható a Gyúrói magoncokban, hiszen a két öntermékenyülő hibridben megjelent a ‘Bergarouge’ fajta két különböző *S*-allélja.

A 47/20-as számú hibrid *S*-genotípusa $S_6 S_{17}$. A hivatalosan önmeddő ‘Harostar’ (S_1) és a szintén önmeddő ‘Orangered’ ($S_6 S_{17}$) fajták keresztezésének eredménye (Marchesano et al. 2022). A ‘Harostar’ fajtának csak az egyik *S*-allélja ismert, így nem tudjuk, hogy pontosan melyik allélt melyik fajtától örökölte a hibrid, hiszen mind az S_6 -allél, mind az S_{17} -allél megtalálható az ‘Orangered’ fajtában.

Az ugyancsak a ‘Harostar’ és az ‘Orangered’ fajták keresztezésével előállított 48/1-es számú hibrid, szintén önmeddő, azonban ebben a mintában csak egy allélt tudtunk meghatározni, az S_6 -ot. Ez alapján nem bizonyítható a pedigré helyessége, habár az ‘Orangered’ fajta biztosan tartalmazza ezt az allélt.

A 49/42-es hibrid is önmeddő, ez az S_1 - és S_{17} -allélokat hordozza. Az S_1 -allélt biztosan a ‘Harostar’ fajtától örökölte, mert a pollenadó ‘Pinkcot’ fajta *S*-genotípusa $S_9 S_{17}$ (Herrera et al. 2018c).

A 29-es Gyúrói magonc esetében is csak a ‘Bergarouge’ anyanövény fajtáját ismerjük. Ennek a magoncnak az *S*-genotípusa $S_2 S_3$, ennek segítségével pedig nagy eséllyel meghatározható a pollenadó fajtája. Az S_2 -allélt szinte bizonyosan az önmeddő ‘Bergarouge’-től örökölte, az ültetvényben található pollenadók között ugyanis csak a ‘Spring blush’ ($S_3 S_8$) fajta hordozza az S_3 -allélt (Herrera 2018b).

A 68/57-es hibrid mindkét *S*-allélját meghatároztuk, *S*-genotípusa S_6S_{14} . Ennek a fajtának a pedigréje ‘Goldrich’ × ‘Pinkcot’. Az *S*-allélok alapján ez a szülőkombináció nem lehetséges, hiszen sem a ‘Goldrich’ (S_1S_2) fajta, sem a ‘Pinkcot’ (S_9S_{17}) fajta nem tartalmazza ezeket az allélokat (Vilanova et al. 2005, Herrera et al 2018c).

A szabadon beporzott ‘Goldrich’ fajta keresztezéséből keletkezett 31/11-es számú hibrid *S*-genotípusa S_1S_6 , tehát ez a fajtajelölt is önmeddő. A ‘Goldrich’ fajta tartalmazza az S_1 -allélt, de ezeknek a hibrideknek az esetében nem ismerjük a lehetséges pollenadókat, így nem tudjuk meghatározni az S_6 -allél pontos eredetét. Lehetséges pollenadók lehetnek a ‘Bergarouge’ (S_2S_6), az ‘Orangered’ (S_6S_{17}) és a ‘Bergeval’ ($S_C S_6$) fajták.

A 31/12-es hibridet szintén a ‘Goldrich’ fajta szabad beporzású magoncaként hozták létre. Ebben a hibridben az S_2 - és a S_6 -allélokat azonosítottuk. Ez azt jelenti, hogy megjelenik a ‘Goldrich’ fajta másik *S*-allélja is, azonban az S_6 -allél eredetét itt sem tudjuk biztosan meghatározni. Hasonlóan a 31/11-es hibridhez, származhat a ‘Bergarouge’, az ‘Orangered’ és a ‘Bergeval’ fajtákból.

A 63/8-as hibrid a harmadik genotípus, amelynek a ‘Goldrich’ fajta az anyanövénye, de ismeretlen a pollenadó fajtája. Ennél a hibridnél csak egy allélt, az S_3 -at tudtuk azonosítani. A ‘Goldrich’ fajta nem hordozza ezt az allélt, így feltehetőleg ez a pollenadóból öröklődött tovább. Ennél a hibridnél sem ismerjük pontosan a lehetséges pollenadókat, de a ‘Spring blush’ (S_3S_8) fajtában megtalálható ez az allél. Azonban ezen adatok alapján nem bizonyítható a pollenadó fajta.

A 357 bázispár méretű első intronrégióból felszaporított fragmentum, négy minta esetén jelent meg, négy Gyúrói magonc esetén. Ezeknek az anyai szülőpárja biztosan a ‘Bergarouge’ (S_2S_6) fajta. A Gy76 és Gy32 hibridek esetén az ismeretlen allél mellett az S_2 -allélt, a Gy9-es mintában pedig az S_6 -os allélt határoztuk meg. Egyedül a Gy38-as magoncban jelent meg az ismeretlen allél mellett az anyanövényre nem jellemző S_{14} -allél. Ennek az allélnak az eredete ebben az esetben nem bizonyítható.

A három kontroll fajtában a korábban leírt genotípusoknak megfelelően alakultak az eredmények. A két öntermékenyülő kontroll fajtában, azonosítottuk az S_C -allélt. A ‘Sefora’ fajta az öntermékenyülő allél mellett az S_{17} -es allélt hordozta, míg a ‘Bergeval’ az S_6 -os allélt. Az önmeddő ‘Congat’ fajta *S*-genotípusa S_2S_{17} .

5.4. A *plum pox virus* rezisztencia azonosítása

A fajtabejelentésre szánt hibrideket a nemesítő az ültetvény telepítése óta folyamatosan szelektálja, a kajszihimlő tüneteinek megjelenése alapján. Azokat a hibrideket, amelyek megfertőződnek az ültetvényben, eltávolítja a többi közül. A kísérlet során vizsgált fajtajelöltek nem mutattak fenotípusos fogékonyságot a sarkavírussal szemben, így jó eséllyel feltételezhető, hogy rezisztensek vagy toleránsak a vírusfertőzéssel szemben. A betegség ellenállóság pontos meghatározásakor a molekuláris módszerek nagy hatékonysággal használhatóak, és megbízható eredményt adnak.

A kajsziiban a *PPVres*-lókuszbán találhatóak a rezisztencia kialakításáért felelős gének. A lókuszt *MATHd*-fehérjekódoló régiójában található *ParP-4* génből kivágódott 5 bp-hosszúságú delécia okozza

az ellenálló fajták rezisztenciáját. Ennek a génnek az azonosítására fejlesztettek primereket, amelyek mind a mutációt mutató rezisztens allél, mind az eredeti, fogékony allél kimutatására alkalmasak. A mutációt tartalmazó *ParP-4* allél a *ParPMC2* nevet kapta (Zuriaga et al. 2013). A rezisztens allél azonosítására használt primer a ParP-4 F_alleleR forward primer, a fogékony allélok kimutatásakor használt primer a ParP-4 F_alleleS primer. Mind a fogékony, mind a rezisztens allélok esetén a ParP-4 R reverz primert használják a felszaporításhoz (Zuriaga et al. 2018).

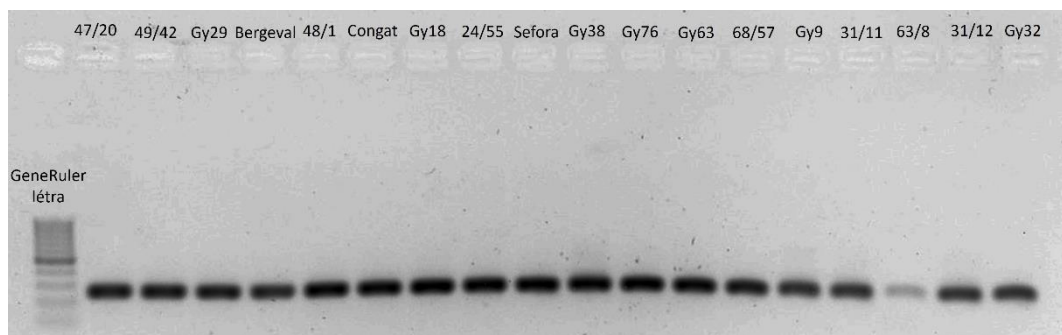
A kísérlet során mi is a fent említett primerekkel dolgoztunk. A rezisztens és a fogékony allélok kimutató primerek termékeit két külön gélen választottuk szét. A primerek előnye, hogy a kimutatás során a gélen csak akkor jelenik meg fragmentum, ha az adott minta tartalmazza a felszaporítandó allélt. A két allél esetében az 5 nukleotidos deléciónak köszönhetően 214 és 219-bázispár hosszúságú fragmentumok keletkeznek (Zuriaga et al. 2018). A kísérlet eredményeként a 18 vizsgált mintából mind a 18-ban kimutattuk a rezisztens allél jelenlétét (13/a ábra). A fogékony allélt amplifikáló primer esetén is minden mintában megjelent a fragmentum (13/b ábra). A fragmentumok méretei a mi vizsgálatunk esetén is kb. 220 bázispáros méretet mutattak. Ez azt bizonyítja, hogy az összes vizsgált minta heterozigóta a rezisztencia allél tekintetében, és mind a rezisztens, mind a fogékony allélt tartalmazzák. A rezisztencia tulajdonság domináns jelleg, így az összes minta betegség-ellenállónak tekinthető (Zuriaga et al. 2018). Három bizonyítottan rezisztens kontroll fajtát használtunk a vizsgálat során, a ‘Bergeval’, a ‘Congat’ és a ‘Sefora’ fajtákat (CEP-INNOVATION). Mindhárom kontroll fajta esetében kimutattuk a rezisztens allél jelenlétét.

A gyűrói magoncok esetében a rezisztencia tulajdonság a heterozigóta rezisztens ‘Bergarouge’ anyanövényekből kerülhetett az utódnövényekbe (CEP-INNOVATION). A keresztezett hibridek szülőkombinációiban az ‘Orangered’, a ‘Goldrich’ és a ‘Harostar’ heterozigóta rezisztens fajták lehetnek felelősek a rezisztencia tulajdonság megjelenéséért (Karayiannis 2006a, Zuriaga et al. 2018, Layne és Hunter 2003).



13/a ábra: A ParP-4 F_alleleR primerrel felszaporított rezisztens allél fragmentumai az egyes mintákban, agaróz gélelektorforézissel szétválasztva, és UV fényen fotózva.

(Forrás: saját kép, UVIDOC HD6)



13/b ábra: A ParP-4 F₁ alleleS primerrel felszaporított fogékony allél fragmentumai az egyes mintákban, agaróz gélelektorforézissel szétválasztva, és UV fényvel fotózva.

(Forrás: saját kép, UVIDOC HD6)

Zuriaga és munkatársai 2018-ban ezen primerpár használatával négy ellenálló fajtában bizonyították a rezisztens allélok jelenlétét és öt fogékony fajtában pedig a hiányát. A vizsgált rezisztens fajták közül csak az észak-amerikai ‘Stella’ fajta bizonyult homozigóta rezisztensnek (Zuriaga et al. 2018). Egy spanyol kutatás során a Zuriaga és munkatársai által fejlesztett primerek alkalmazásával összesen 325 kajszifajtának állapították meg a sarkavírus elleni molekuláris reakcióját. A vizsgált fajták 46,8%-a, 152 bizonyult ellenállónak, ezek közül 15 homozigóta a rezisztencia tulajdonságra nézve, tehát a heterozigóták aránya jóval nagyobb. A további 173 fajta csak a fogékony allélt tartalmazta (Polo-Oltra et al. 2020).

5.5. A fajtabejelentésre érdemes hibridek ismertetése

A gyúrói ültetvényről, ahol a nemesítői munka zajlik, adatbázist vezet dr. Gutermuth Ádám nemesítő. Ebben az adatbázisban feljegyzik az egyes hibridek vizsgálati eredményeit, tulajdonságaikat. Ebben az adatbázisban évről évre frissítik az adatokat, így átfogó képet kapunk az egyes hibridek tulajdonságairól. Az adatbázis használatával kiválogattuk a kutatás során vizsgált hibridek közül az ígéretes tulajdonságaik alapján fajtabejelentésre legérdemesebb egyedeket. Az öntermékenyülő hibridek különösen értékesek, hiszen ezeket lehet önmagukban, pollenadó telepítése nélkül is termesztani a későbbiekben (Burgos et al. 1997).

A 24/55-ös hibrid sarkavírus rezisztens és öntermékenyülő ($S_C S_{17}$). A termés kb. 60-70 g tömegű, alakja kerekded, fedőszíne szép piros, kitűnően magvaváló és a magja apró. A gyümölcshús állaga puha, az íze zamatos, a ‘Magyar kajszai’ ízéhez hasonló. A 2023-as fagykárak ellenére is bőven hozott termést, az optimális szedési idő július eleje (Gutermuth szóbeli közlés, 2023). A nagy méret, szép fedőszín és kerekded alak a fogyasztók számára fontos és értékes külső tulajdonságok. A belső tulajdonságok közül a zamatos íz és a magvaválóság szintén keresettek a piacon. A puha gyümölcshús állag a tárolás és szállítás során azonban gondot okozhat (Gatti et al. 2009). Magyar viszonyok között a július eleji érési idő középkorainak számít (Szalay et al. 2004).

A 18-as Gyúrói magonc is öntermékenyülő ($S_C S_2$) és PPV rezisztens. A gyümölcs kb 50 g tömegű, enyhe fedőszínű, sima héjú és tetszetős. A termés nem különösen zamatos ízű, és félig maghoz kötött. Mind 2022-ben, mind 2023-ban nagyon jó termést hozott a fa. Azonban a 2022-es aszály hatására nem tudott beérni a termés. Az magonc érési ideje július közepén van (Gutermuth szóbeli közlés, 2023). A terméshús kemény állagú, ami a feldolgozóipar és egyes fogyasztók számára kedvező tulajdonság, emellett a tárolhatóságot és a szállíthatóságot is elősegíti (Gatti et al. 2009).

A 63-as Gyúrói magonc a harmadik öntermékenyülő fajtajelölt ($S_C S_6$). A fa PPV rezisztens, kis méretű és oszlopos növekedésű. A kis faméretű fontos eleme az intenzív termesztési technológiának (Adobatta 2021). A gyümölcs mérete kicsi, mindössze kb. 35 g tömegű. A fedőszíne kiemelkedő, 30-60%-ban borított, sötétlila színű. A gyümölcshús nem kemény, de nem folyós, az íze különösen zamatos. A termések július elején érnek be. A 2023-as koratavaszi fagyok hatására ebben az évben nem termett (Gutermuth szóbeli közlés, 2023). A kis gyümölcsméret okozhat problémát az értékesítés során, a vásárlók elsősorban a nagyméretű gyümölcsöket kedvelik (Bassi és Audergon 2006).

A nem öntermékenyülő genotípusok között három igazán értékes hibridet találtunk. Az első a 49/42-es hibrid, egy korai, június közepén érő, kajszihihlő rezisztens fajtajelölt. S -genotípusa $S_1 S_{17}$, tehát a hibrid önmeddő. A gyümölcse nagy méretű, kb. 61 grammos, egyöntetű színű, kissé dudoros felületű. Gyümölcshúsa kemény, íze édes. A hús szétválasztáskor kissé rajtamarad a csontáron, de ettől még magvaváló (Gutermuth szóbeli közlés, 2023). A húskeménység fontos szerepet játszik a pulton-tarthatóságban és a szállításban is (Gatti et al. 2009). A június közepi érési idő a magyarországi fajták között korainak számít (Szalay et al. 2004).

Az $S_2 S_3$ -genotípusú Gyúrói 29-es magonc is önmeddő. Kajszihihlő-rezisztens és igen korán, június elején érő hibrid. A gyümölcse közepes méretű, kb. 47 g tömegű. A termés fedőszíne szép, az íze kifejezetten zamatos és kellő mértékben savas. A húsa kemény, a csontár varratánál kissé kötöttebb (Gutermuth szóbeli közlés, 2023). A bibepontnál kissé felrepedhet a gyümölcs, ami a tárolási idő rövidülését eredményezheti (Bassi és Audergon 2006). A gyümölcs savassága nagyban hozzájárul a karakteres íz kialakításához (Gatti et al. 2009).

Az utolsó kiemelt hibrid a 31/11-es fajtajelölt. Július közepi érési ideje középkéseinek mondható (Szalay et al. 2004). Önmeddő ($S_1 S_6$), sarkavírus rezisztens, bőven termő hibrid. A gyümölcs fedőszíne egyöntetű, mérete nagy, 54 g. A termés húsa kemény, ennek köszönhetően jól bírja a fán állást, a vizsgálat során 10 nap alatt is kevés szem hullott le. Az gyümölcs íze egyoldalúan savanyú (Gutermuth szóbeli közlés, 2023). Az önmeddő hibridek jó pollenadói lehetnek az öntermékenyülő fajták, melyek virágzási időben átfednek.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A kajszi (*Prunus armeniaca* L.) a negyedik legnagyobb mennyiségben termesztett gyümölcsfaj Magyarországon. Felhasználása igen sokoldalú, főként frissen fogyasztják, de a feldolgozóiparban is keresett alapanyag. A különböző felhasználási célok és termesztő területek eltérő fajtákat igényelnek, amiket a nemesítők állítanak elő.

A nemesítési programok során elsősorban a minél értékesebb pomológiai tulajdonságok kialakítása és a minél gazdaságosabban és hatékonyabban termeszthető fajták előállítását volt a cél. A fagyűrűs, a betegség ellenállóság és a terméshozam növelése kiemelt fontosságú tulajdonságok a nemesítők számára. A 20. század végén fejlődésnek indult molekuláris genetikai módszerek segítségével az új fajták előállítása is gyorsabb és hatékonyabb lett. A kutatás során mi is molekuláris markereket használtunk az egyes hibridek vizsgálatához.

A *Prunus* nemzetségbe tartozó fajok többsége önmeddő, ugyanakkor a magyarországi kajszi fajták zömében öntermékenyülők. Az értékes tulajdonságokat hordozó külföldi fajtákkal való keresztezés eredményeként azonban egyre több önmeddő kajszi fajta jelent meg hazánkban. A kajszi öntermékenyülésének hátterében az *S*-allél rendszer áll. Az öntermékenyülő fajták nem igényelnek pollenadókat a termesztéshez, az önmeddő fajtákat pedig kompatibilis pollenadókkal együtt telepítik az ültetvényekben. Ezért az új fajták létrehozásakor kiemelten fontos a hibridek termékenyülési viszonyainak megismerése.

A kutatás során egy magyar nemesítő 15 hibridjének a termékenyülési típusát határoztuk meg molekuláris vizsgálati módszerekkel. Kilenc hibridnek a teljes *S*-genotípusát megismertük, míg a további négy fajtajelöltnek csak a részleges *S*-genotípusát azonosítottuk. A vizsgált minták közül három bizonyult heterozigóta öntermékenyülőnek. Az *S*-allélok alapján és az öröklődésük hátterének ismeretével meghatároztuk a szabad beporzással keletkezett hibridek valószínűsíthető szülőkombinációit.

A kajszi termesztése során az egyik legnagyobb problémát a kajszihimlő vírus (*plum pox virus*) okozza. A vírusbetegségek ellen a szerekkel való védekezés nem lehetséges, így kiemelten fontos az egészséges szaporítóanyag használata és az ellenálló fajták nemesítése, majd termesztésbe vonása. Az európai és ázsiai kajszi fajták fogékonyak a kajszihimlő vírusra, de Észak-Amerikában számos ellenálló fajtát találtak, és vontak be európai nemesítési programokba. A kajszi genomjában a rezisztenciáért felelős gént azonosították, és megbízható molekuláris módszereket dolgoztak ki a kimutatására.

A 15 hibridet a nemesítő fenotípusos vizsgálatokkal szelektálta a rezisztencia tulajdonságra nézve. A kísérlet során ezeknek a hibrideknek rezisztenciáját molekuláris markerek segítségével határoztuk meg. A vizsgált minták mindegyike rezisztensnek bizonyult.

A vizsgálat végeredményeként összegeztük a legnagyobb fajtaértékkel bíró hibrideket, az újonnan megismert tulajdonságok és a nemesítő fenotípusos vizsgálati eredményei alapján. Ezek a 24/55, a Gym18, a Gym63, a 49/42, a Gym29 és a 31/11 hibridek.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Abobatta, W. F. (2021). Intensive fruit orchards cultivation. *Journal of Plant Science and Phytopathology*, 5(3), p. 72-75.
2. Ahmar, S., Gill, R. A., Jung, K.-H., Faheem, A., Qasim, M. U., Mubeen, M., Zhou, W. (2020). Conventional and Molecular Techniques from Simple Breeding to Speed Breeding in Crop Plants: Recent Advances and Future Outlook. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7). DOI: 10.3390/ijms21072590
3. Alajil, O., Sagar, V. R., Kaur, C., Rudra, S. G., Sharma, R. R., Kaushik, R., Verma, M. K., Tomar, M., Kumar, M., and Mekhemar, M. (2021). Nutritional and Phytochemical Traits of Apricots (*Prunus armeniaca* L.) for Application in Nutraceutical and Health Industry *Foods* 10 1344 Online: DOI: 10.3390/foods10061344
4. Alburquerque, N., Egea, J., Pérez-Tornero, O., Burgos, L. (2002). Genotyping apricot cultivars for self-(in)compatibility by means of RNases associated with S alleles. *Plant Breeding*, 121(4), p. 343–347. DOI: 10.1046/j.1439-0523.2002.725292.x
5. Antoni Rafalski, J., Tingey, S. V. (1993). Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines. *Trends in Genetics*, 9(8), p. 275–280. DOI: 10.1016/0168-9525(93)90013-8
6. Bassi, D. and Audergon, J.M. (2006). Apricot Breeding: Update And Perspectives. *Acta Hort.* 701, p. 279-294
DOI: 10.17660/ActaHortic.2006.701.43
7. Bosković, R., Tobutt, K. R., Duval, H., Batlle, I., Dicenta, F., Vargas, F. J. (1999). A stylar ribonuclease assay to detect self-compatible seedlings in almond progenies. *Theoretical and Applied Genetics*, 99(5), p. 800–810. DOI: 10.1007/s001220051299
8. Brace, J., Ockendon, D. J., King, G. J. (1993). Development of a method for the identification of S alleles in Brassica oleracea based on digestion of PCR-amplified DNA with restriction endonucleases. *Sexual Plant Reproduction*, 6(2), p. 133–138. DOI: 10.1007/BF00227658
9. Burgos, L., Berenguer, T., Egea, J. (1993). Self- and Cross-compatibility among Apricot Cultivars. *HortScience HortSci*, 28(2), p. 148–150. DOI: 10.21273/HORTSCI.28.2.148
10. Burgos, L., Egea, J., Guerriero, R., Viti, R., Monteleone, P., Audergon, J. M. (1997). The self-compatibility trait of the main apricot cultivars and new selections from breeding programmes. *Journal of Horticultural Science*, 72(1), p. 147–154 DOI: 10.1080/14620316.1997.11515501
11. Burgos, L., Pérez-Tornero, O., Ballester, J., Olmos, E. (1998). Detection and inheritance of stylar ribonucleases associated with incompatibility alleles in apricot. *Sexual Plant Reproduction*, 11(3), p. 153–158. DOI: 10.1007/s004970050133
12. Candresse, T., Cambra, M. (2006). Causal agent of sharka disease: historical perspective and current status of Plum pox virus strains. *EPPO Bulletin*, 36(2), p. 239–246. DOI: 10.1111/j.1365-2338.2006.00980.x
13. Clemente-Moreno, M. J., Hernández, J. A., Diaz-Vivancos, P. (2015). Sharka: how do plants respond to Plum pox virus infection? *Journal of Experimental Botany*, 66(1), p. 25–35. DOI: /10.1093/jxb/eru428
14. Cosson, P., Sofer, L., Hien Le, Q., Léger, V., Schurdi-Levraud, V., Whitham, S. A., Yamamoto, M. L., Gopalan, S., le Gall, O., Candresse, T., Carrington, J. C., Revers, F. (2010). RTM3, Which Controls Long-Distance Movement of Potyviruses, Is a Member of a New Plant Gene Family Encoding a Meprin and TRAF Homology Domain-Containing Protein. *Plant Physiology*, 154(1), p. 222–232. DOI: 10.1104/pp.110.155754
15. Dicenta, F., Martínez-Gómez, P., Burgos, L., Egea, J. (2000). Inheritance of resistance to plum pox potyvirus (PPV) in apricot, *Prunus armeniaca*. *Plant Breeding*, 119(2), p. 161–164. DOI: 10.1046/j.1439-0523.2000.00458.x
16. Dickinson, H. G., Hiscock, S. J., Crane, P. R., Franklin-Tong, V. E., Franklin, F. C. H. (2003). The different mechanisms of gametophytic self-incompatibility. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 358(1434), p. 1025–1032. DOI: 10.1098/rstb.2003.1287
17. Dirlewanger, E., Graziano, E., Joobeur, T., Garriga-Calderé, F., Cosson, P., Howad, W., Arús, P. (2004). Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(26), 9891–9896. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307937101>

18. Entani, T., Iwano, M., Shiba, H., Che, F.-S., Isogai, A., Takayama, S. (2003). Comparative analysis of the self-incompatibility (S-) locus region of *Prunus mume*: identification of a pollen-expressed *F-box* gene with allelic diversity. *Genes to Cells*, 8(3), p. 203–213. DOI: 10.1046/j.1365-2443.2003.00626.x
19. FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2023). Letöltés dátuma: 2023.09.28. forrás: <https://www.fao.org/faostat>
20. Fernández i Martí, A., Hanada, T., Alonso, J. M., Yamane, H., Tao, R., Socias i Company, R. (2009). A modifier locus affecting the expression of the S-RNase gene could be the cause of breakdown of self-incompatibility in almond. *Sexual Plant Reproduction*, 22(3), p. 179–186. DOI: 10.1007/s00497-009-0102-7
21. Franklin-Tong, V. E. (2008). Self-incompatibility in flowering plants. Evolution, diversity, and mechanisms, Springer Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-540-68486-2
22. García, J. A., Cambra, M. (2007). Plum pox virus and sharka disease. *Plant Viruses*, 1(1), p. 69-79.
23. Gatti, E., Defilippi, B., Predieri, S., Infante, R. (2009). Apricot (*Prunus armeniaca* L.) quality and breeding perspectives. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 7.
24. Glits, M., Folk, G. (2000). *Kertészeti növénykórtan*. Mezőgazda kiadó. Budapest p. 191-200.
25. Green, M. R., Sambrook, J. (2019a). Polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019(6), pdb-top095109.
26. Green, M. R., Sambrook, J. (2019b). Agarose Gel Electrophoresis. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019(1). DOI: 10.1101/pdb.prot100404
27. Halász, J., Hegedűs, A., Hermán, R., Stefanovits-Bányai, É., Pedryc, A. (2005). New self-incompatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) revealed by stylar ribonuclease assay and S-PCR analysis. *Euphytica*, 145(1), p. 57–66. DOI: 10.1007/s10681-005-0205-7
28. Halász, J., Kodad, O., Hegedűs, A. (2014). Identification of a recently active *Prunus*-specific non-autonomous Mutator element with considerable genome shaping force. *The Plant Journal*, 79(2), p. 220–231. DOI: 10.1111/tpj.12551
29. Halász, J., Pedryc, A., Ercisli, S., Yilmaz, K. U., Hegedűs, A. (2010). S-genotyping Supports the Genetic Relationships between Turkish and Hungarian Apricot Germplasm. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 135(5), p. 410–417. DOI: 10.21273/JASHS.135.5.410
30. Halász, J., Pedryc, A., Hegedűs, A. (2007). Origin and dissemination of the pollen-part mutated *S_c* haplotype which confers self-compatibility in apricot (*Prunus armeniaca*). *New Phytologist*, 176(4), p. 792–803. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2007.02220.x
31. Halász, J., (2007). *A kajszai önmeddőségét meghatározó S-allél-rendszer molekuláris háttere*. PhD értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Doktori Iskola
32. Herrera, S., Lora, J., Hormaza, J. I., Herrero, M., Rodrigo, J. (2018b). Optimizing production in the new generation of apricot cultivars: self-incompatibility, S-RNase allele identification, and incompatibility group assignment. *Frontiers in Plant Science*, 9, p. 527.
33. Herrera, S., Lora, J., Hormaza, J. I., Rodrigo, J. (2022). Self-Incompatibility in Apricot: Identifying Pollination Requirements to Optimize Fruit Production. *Plants*, 11(15). DOI: 10.3390/plants11152019
34. Herrera, S., Rodrigo, J., Hormaza, J. I., Lora, J. (2018a). Identification of Self-Incompatibility Alleles by Specific PCR Analysis and S-RNase Sequencing in Apricot. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11). DOI: 10.3390/ijms19113612
35. Herrera, S., Rodrigo, J., Hormaza, J.I., Herrero, M. and Lora, J. (2018c). *S-RNase* allele identification and incompatibility group assignment in apricot cultivars. *Acta Hort.* 1229, p. 9-14 DOI: 10.17660/ActaHortic.2018.1229.2
36. Hormaza, J. I., Yamane, H., Rodrigo, J. (2007). Apricot. In C. Kole (Ed.), *Fruits and Nuts*. Springer Berlin Heidelberg. p. 171–187 DOI: 10.1007/978-3-540-34533-67
37. Huang, S., Lee, H. S., Karunanandaa, B., Kao, T. H. (1994). Ribonuclease activity of *Petunia inflata* S proteins is essential for rejection of self-pollen. *The Plant Cell*, 6(7), p. 1021–1028. DOI: 10.1105/tpc.6.7.1021
38. Jiang, G. L. (2013). Molecular markers and marker-assisted breeding in plants. *Plant breeding from laboratories to fields*, 3, p. 45-83.
39. Johansson, B. G. (1972). Agarose Gel Electrophoresis. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 29(sup124), p. 7–19. DOI: 10.3109/00365517209102747
40. Joshi, M., Deshpande, J. D. (2011). Polymerase chain reaction: methods, principles and application. *International journal of biomedical research*, 2(1), p. 81-97.

41. Kao, T., Tsukamoto, T. (2004). The Molecular and Genetic Bases of S-RNase-Based Self-Incompatibility. *The Plant Cell*, 16, p. 72–83. DOI: 10.1105/tpc.016154
42. Karayiannis, I. (2006a). Progress In apricot breeding for Resistance to sharka disease (plum pox virus, PPV) in Greece. *Acta Hortic.* 717, p. 93-96. DOI: 10.17660/ActaHortic.2006.717.17
43. Karayiannis, I. (2006b). Breeding for resistance: conventional breeding for Plum pox virus resistant apricots (*Prunus armeniaca* L.) in Greece. *EPPO Bulletin*, 36(2), p. 319–322. DOI: 10.1111/j.1365-2338.2006.01006.x
44. Karayiannis, I., Mainou, A. and Tsaftaris, A. (1999). Apricot breeding in Greece for fruit quality and resistance to plum pox virus disease. *Acta Hortic.* 488, p. 111-118. DOI: 10.17660/ActaHortic.1999.488.12
45. Karayiannis, I., Thomidis, T., Tsaftaris, A. (2008). Inheritance of resistance to Plum pox virus in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Tree Genetics & Genomes*, 4(2), p. 143–148 DOI: 10.1007/s11295-007-0095-z
46. Khursheed, A. Rasool, A., Nazir, R., Rather, M.A., Shalla, A.H. (2020). Apricot. In: Nayik, G.A., Gull, A. (eds) *Antioxidants in Fruits: Properties and Health Benefits*. Springer, Singapore. p. 523-545. DOI: 10.1007/978-981-15-7285-227
47. Kodad, O., Hegedűs, A., Socias i Company, R., Halász, J. (2013). Self-(in)compatibility genotypes of Moroccan apricots indicate differences and similarities in the crop history of European and North African apricot germplasm. *BMC Plant Biology*, 13(1), 196. DOI: 10.1186/1471-2229-13-196
48. KSH (Központi Statisztikai Hivatal) (2021). Letöltés dátuma: 2023.10.02. forrás: <https://www.ksh.hu/stadat>
49. Layne, R. E. C., Hunter, D. M. (2003). “AC Harostar” Apricot. *HortScience HortSci*, 38(1), p. 140–141. DOI: 10.21273/HORTSCI.38.1.140
50. Ledbetter, C. (2008). Apricots. In: Hancock, J.F. (eds) *Temperate Fruit Crop Breeding*. Springer, Dordrecht. DOI: 10.1007/978-1-4020-6907-92
51. Ledbetter, C.A. (2010). Apricot breeding in North America: Current status and future prospects. *Acta Hortic.* 862, p. 85-92 DOI: 10.17660/ActaHortic.2010.862.12
52. Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C.-Y., Kim, Y. H. (2012). Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *JoVE*, 62, e3923. DOI: 10.3791/3923
53. López-Moya, J. J., Fernández-Fernández, M. R., Cambra, M., García, J. A. (2000). Biotechnological aspects of plum pox virus. *Journal of Biotechnology*, 76(2), p. 121–136. DOI: 10.1016/S0168-1656(99)00196-0
54. Maejima, K., Himeno, M., Netsu, O., Ishikawa, K., Yoshida, T., Fujita, N., Hashimoto, M., Komatsu, K., Yamaji, Y., Namba, S. (2014). Development of an on-site plum pox virus detection kit based on immunochromatography. *Journal of General Plant Pathology*, 80(2), p. 176–183. DOI: 10.1007/s10327-014-0504-8
55. Martínez-Gómez, P., Dicenta, F., Weber, W. E. (2000). Evaluation of resistance of apricot cultivars to a Spanish isolate of plum pox potyvirus (PPV). *Plant Breeding*, 119(2), p. 179–181. DOI: 10.1046/j.1439-0523.2000.00457.x
56. Matton, D.P., Nass, N., Clarke, A.E., Newbigin, E. (1994) Self-incompatibility: How plants avoid illegitimate offspring. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 91:1992-1997. DOI: 10.1073/pnas.91.6.1992
57. Mauricio, R., Rausher, M. D., Burdick, D. S. (1997). Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive? *Ecology*, 78(5), p. 1301–1311. DOI: 10.1890/0012-9658(1997)078[1301:VITDSO]2.0.CO;2
58. McClure, B. A., Haring, V., Ebert, P. R., Anderson, M. A., Simpson, R. J., Sakiyama, F., Clarke, A. E. (1989). Style self-incompatibility gene products of *Nicotiana glauca* are ribonucleases. *Nature*, 342(6252), p. 955–957. DOI: 10.1038/342955a0
59. Myrta, A., Varga, A., James, D. (2006). The complete genome sequence of an El Amar isolate of plum pox virus (PPV) and its phylogenetic relationship to other PPV strains. *Archives of Virology*, 151(6), p.1189–1198. DOI: 10.1007/s00705-005-0703-x
60. Németh, M. (1994). History and importance of plum pox in stone-fruit production1. *EPPO Bulletin*, 24(3), p. 525–536. DOI: 10.1111/j.1365-2338.1994.tb01065.x
61. Newbigin, E., Anderson, M. A., Clarke, A. E. (1993). Gametophytic Self-Incompatibility Systems. *The Plant cell*, 5(10), p. 1315–1324. DOI: 10.1105/tpc.5.10.1315

62. Nicolás-Almansa, M., Ruiz, D., Salazar, J. A., Guevara, A., Cos, J., Martínez-Gómez, P., Rubio, M. (2023). Phenotypic and molecular characterization of new interspecific Japanese plum × apricot hybrids (plumcots). *Scientia Horticulturae*, 318, 112131. DOI: 10.1016/j.scienta.2023.112131
63. Orlando Marchesano, B. M., Chiozzotto, R., Baccichet, I., Bassi, D., Cirilli, M. (2022). Development of an HRMA-Based Marker Assisted Selection (MAS) Approach for Cost-Effective Genotyping of S and M Loci Controlling Self-Compatibility in Apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Genes*, 13(3). DOI: 10.3390/genes13030548
64. Pedryc, A., Halász, J., Hegedűs, A., Oláh, R., György, Zs. (2018) *A genetika és növénynevelés alapjai*. Szent István Egyetem, Genetika és Növénynevelési Tanszék, Budapest p. 94-103.
65. Pinar, H., Bircan, M., Uzun, A. (2022). Determination of self-(in) compatibility using molecular markers of some apricot cultivars which cultivated in Turkey. *Current Trends in Natural Sciences*, 11(22), p. 59-67. DOI: 10.47068/ctns.2022.v11i22.008
66. Polák, J. (1994). Breeding for resistance to plum pox potyvirus in the Czech Republic1. *EPPO Bulletin*, 24(3), p. 781–782. DOI: 10.1111/j.1365-2338.1994.tb01097.x
67. Politowski, K., Browning, J. A. (1978). Tolerance and resistance to plant disease: an epidemiological study. *Phytopathology*, 68(8), p. 1177-1185.
68. Polo-Oltra, Á., Romero, C., López, I., Badenes, M., Zuriaga, E. (2020) Cost-Effective and Time-Efficient Molecular Assisted Selection for PPV Resistance in Apricot Based on ParPMC2 Allele-Specific PCR *Agronomy* 10 1292 DOI: 10.3390/agronomy10091292
69. Qiao, H., Wang, H., Zhao, L., Zhou, J., Huang, J., Zhang, Y., Xue, Y. (2004). The F-Box Protein AhSLF-S2 Physically Interacts with S-RNases That May Be Inhibited by the Ubiquitin/26S Proteasome Pathway of Protein Degradation during Compatible Pollination in Antirrhinum. *The Plant Cell*, 16(3), p. 582–595. DOI: 10.1105/tpc.017673
70. Radócné Kocsis, T. (2012): *Egyes perspektivikus gyümölcsfajok piaci helyzete (dió, kajszi, körte, cseresznye)*. Agrárgazdasági Tanulmányok ISSN 1418-2122. Agrárgazdasági Kutató Intézet, Budapest. p. 19-32.
71. Ramesh, P., Mallikarjuna, G., Sameena, S., Kumar, A., Gurulakshmi, K., Reddy, B. V., Reddy, P. C. O., Sekhar, A. C. (2020). Advancements in molecular marker technologies and their applications in diversity studies. *Journal of Biosciences*, 45(1), p. 123. DOI: 10.1007/s12038-020-00089-4
72. Ranade, S. A., Farooqui, N., Bhattacharya, E., Verma, A. (2001). Gene Tagging with Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers for Molecular Breeding in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 20(3), p. 251–275. DOI: 10.1080/20013591099227
73. Romero, C., Vilanova, S., Burgos, L., Martínez-Calvo, J., Vicente, M., Llácer, G., Badenes, M. L. (2004). Analysis of the S-locus structure in *Prunus armeniaca* L. Identification of S-haplotype specific S-RNase and F-box genes. *Plant Molecular Biology*, 56(1), p. 145–157. DOI: 10.1007/s11103-004-2651-3
74. Roy, A. S., Smith, I. M. (1994). Plum pox situation in Europe. *EPPO Bulletin*, 24(3), p. 515–523. DOI: 10.1111/j.1365-2338.1994.tb01064.x
75. Rubio, M., Ballester, A. R., Olivares, P. M., Castro de Moura, M., Dicenta, F., Martínez-Gómez, P. (2015). Gene Expression Analysis of Plum pox virus (Sharka) Susceptibility/Resistance in Apricot (*Prunus armeniaca* L.). *PLOS ONE*, 10(12), e0144670-. DOI: 10.1371/journal.pone.0144670
76. Samantara, K., Bohra, A., Mohapatra, S. R., Prihatini, R., Asibe, F., Singh, L., Reyes, V. P., Tiwari, A., Maurya, A. K., Croser, J. S., Wani, S. H., Siddique, K. H. M., Varshney, R. K. (2022). Breeding More Crops in Less Time: A Perspective on Speed Breeding. *Biology*, 11(2). DOI: 10.3390/biology11020275
77. Singh, B. D., Singh, A. K. (2015). Marker-assisted plant breeding: principles and practices. Springer New Delhi, DOI: 10.1007/978-81-322-2316-0
78. Sutherland, B. G., Robbins, T. P., Tobutt, K. R., Weber, W. E. (2004). Primers amplifying a range of *Prunus* S-alleles. *Plant Breeding*, 123(6), p. 582–584. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2004.01016.x
79. Szalay, L. (2004). *Kajszi, A gyümölcsök termesztése*. Mezőgazda Kiadó, Budapest. p. 209-232.
80. Szalay, L., Ladányi, M., Hajnal, V., Pedryc, A., Tóth, M. (2016): Changing of the flower bud frost hardiness in three Hungarian apricot cultivars. *Hort. Sci.* (Prague), 43: p. 134-141. DOI: 10.17221/161/2015-HORTSCI
81. Takayama, S., Isogai, A. (2005). Self-incompatibility in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 56(1), p. 467–489. DOI: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144249

82. Tao, R., Iezzoni, A. F. (2010). The S-RNase-based gametophytic self-incompatibility system in *Prunus* exhibits distinct genetic and molecular features. *Scientia Horticulturae*, 124(4), p. 423–433. DOI: 10.1016/j.scienta.2010.01.025
83. Tóth, M., Dénes, F., Ficzek, G., Göndör, J., Kovács, Sz., Simon, G., Szabó, Z., Szalay, L. (2015). *Gyümölcsismeret*. Budapesti Corvinus Egyetem, Gyümölcsstermő Növények Tanszék, Budapest. p. 145–158.
84. van Nocker, S., Gardiner, S. E. (2014). Breeding better cultivars, faster: applications of new technologies for the rapid deployment of superior horticultural tree crops. *Horticulture Research*, 1, 14022. DOI: 10.1038/hortres.2014.22
85. Verdoodt, L., van Haute, A., Goderis, I. J., de Witte, K., Keulemans, J., Broothaerts, W. (1998). Use of the multi-allelic self-incompatibility gene in apple to assess homozygosity in shoots obtained through haploid induction. *Theoretical and Applied Genetics*, 96(2), p. 294–300. DOI: 10.1007/s001220050739
86. Vilanova, S., Romero, C., Llácer, G., Badenes, M. L., Burgos, L. (2005). Identification of Self-(in)compatibility Alleles in Apricot by PCR and Sequence Analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science Jashs*, 130(6), p. 893–898. DOI: 10.21273/JASHS.130.6.893
87. Wetzel, T., Candresse, T., Ravelonandro, M., Dunez, J. (1991). A polymerase chain reaction assay adapted to plum pox potyvirus detection. *Journal of Virological Methods*, 33(3), p. 355–365. DOI: 10.1016/0166-0934(91)90035-X
88. Wu, J., Gu, C., Zhang, S. L., Zhang, S. J., Wu, H. Q., Heng, W. (2009). Identification of S-haplotype-specific S-RNase and SFB alleles in native Chinese apricot (*Prunus armeniaca* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84(6), p. 645–652. DOI: 10.1080/14620316.2009.11512580
89. Yamane, H., Tao, R. (2009). Molecular Basis of Self-(in)compatibility and Current Status of S-genotyping in Rosaceous Fruit Trees. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 78(2), p. 137–157. DOI: 10.2503/jjshs1.78.137
90. Yilmaz, K. U., Basbug, B., Gurcan, K., Pinar, H., Halász, J., Ercisli, S., Uzun, A. Cocen, E. (2016) “S-Genotype Profiles of Turkish Apricot Germplasm”, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(1), p.67–71. DOI: 10.15835/nbha44110350.
91. Zhang, L., Chen, X., Chen, X., Zhang, C., Liu, X., Ci, Z., Zhang, H., Wu, C., Liu, C. (2008). Identification of self-incompatibility (S-) genotypes of Chinese apricot cultivars. *Euphytica*, 160(2), p. 241–248. DOI: 10.1007/s10681-007-9544-x
92. Zhebentyayeva, T., Ledbetter, C., Burgos, L., Llácer, G. (2012). Apricot. In: Badenes, M., Byrne, D. (Eds.), *Fruit Breeding. Handbook of Plant Breeding*, vol 8. Springer, Boston, MA. p. 415–458. DOI: 10.1007/978-1-4419-0763-912
93. Zuriaga, E., Romero, C., Blanca, J. M., Badenes, M. L. (2018). Resistance to Plum Pox Virus (PPV) in apricot (*Prunus armeniaca* L.) is associated with down-regulation of two MATHd genes. *BMC Plant Biology*, 18(1), 25. DOI: 10.1186/s12870-018-1237-1
94. Zuriaga, E., Soriano, J. M., Zhebentyayeva, T., Romero, C., Dardick, C., Cañizares, J., Badenes, M. L. (2013). Genomic analysis reveals MATH gene(s) as candidate(s) for Plum pox virus (PPV) resistance in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Molecular Plant Pathology*, 14(7), p. 663–677. DOI: 10.1111/mp.12037

8. ÁBRA ÉS TÁBLÁZATJEGYZÉK

8.1. Ábrajegyzék

1. ábra: A kajszi termesztés megoszlása régiók szerint.	7
2. ábra: A magyarországi kajszi termés mennyiségének ingadozása	8
3. ábra: A gametofitikus (a) és a sporofitikus (b) önmeddőség genetikai háttere.	10
4. ábra: A kajszi 28 különböző tulajdonságát meghatározó kromoszómarégió	11
5. ábra: A Solanaceae és Rosaceae családok <i>S-RN-áz</i> génjének szerkezete	13
6. ábra: A kajszi <i>S</i> -lókuszának sematikus ábrája	17
7. ábra: A <i>plum pox virus</i> tünetei a levélen és gyümölcsön.	18
8. ábra: A <i>plum pox virus</i> genomi térképe.	19
9. ábra: A kajszi <i>PPVres</i> lókusza.	23
10. ábra: A <i>ParP-4</i> gén szekvenciája	26
11. ábra (1. rész): A 49/42-es hibrid első intron méretei.	34
11. ábra (folytatás): Egy öntermékenyülő kontroll ('Bergeval'), egy önmeddő kontroll ('Congat') és egy hibrid (24/55) minták automata szekvenátorral meghatározott első intronméretei	35
11. ábra (folytatás): Két gyűrői magonc (18, 29) automata szekvenátorral meghatározott első intronméretei.	36
12. ábra: Az <i>S_C</i> -allélt hordozó minták azonosítása az AprFCB8-F/R primerpár használatával	39
13/a ábra: A ParP-4 F ₋ alleleR primerrel felszaporított rezisztens allél fragmentumai	42
13/b ábra: A ParP-4 F ₋ alleleS primerrel felszaporított fogékony allél fragmentumai	43

8.2. Táblázatjegyzék

1. táblázat: A kísérlet során vizsgált fajtajelöltek és kontroll fajták a szülőkombinációikkal.	31
2. táblázat: A dolgozat készítése során használt primerek, szekvenciáik	33
3. táblázat: A vizsgált minták <i>S</i> -genotípusa	38

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm a témavezetőmnek, *Dr. Halász Júliának* a sok szakmai tanácsot, gyakorlati segítséget, időt és figyelmet.

Köszönöm *Dr. Gutermuth Ádám* nemesítőnek, hogy rendelkezésemre bocsátotta a vizsgálathoz szükséges növényanyagot, és szakmai tanácsokkal látott el.

Köszönöm *Chikhi Melisa* laboránsnak a segítségét és türelmét a DNS-kivonás során.

Köszönöm *Dr. Hegedűs Attilának* az irányítást és támogatást a témaválasztásban.

Továbbá szeretném megköszönni a MATE Növénybiotechnológia Tanszék minden munkatársának a kísérlet során nyújtott segítőkészségüket.

NYILATKOZAT

szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Huszár Balázs Pál
A Hallgató Neptun kódja: DJYT0L
A dolgozat címe: Kajszi fajtajelöltek molekuláris vizsgálata a termékenyülési fenotípus és kajszihimlő-rezisztencia tekintetében
A megjelenés éve: 2023
A konzulens intézetének neve: Genetika és Biotechnológia Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Növénybiotechnológia Tanszék

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

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan 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 mindenkori szellemitulajdonkezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. 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 könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Budajenő, 2023. 11. 05.

Hallgató aláírása

NYILATKOZAT

Huszár Balázs Pál hallgató (Neptun azonosítója: DJYT0L) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védeésre **javaslom**.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem*¹

Kelt: Budapest, 2023. november 5.



belső konzulens

¹ A megfelelő aláhúzendó.