

BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM
KERTÉSZETTUDOMÁNYI KAR
GENETIKA ÉS NÖVÉNYNEMESÍTÉS TANSZÉK



Tudományos diákköri dolgozat

Ukrán cseresznyefajták funkcionális nemesítési programbeli
felhasználhatóságának értékelése

Taller Dénes László

Mezőgazdasági biotechnológus

MSc, II. évfolyam

Konzulensek: Dr. habil. Hegedűs Attila, PhD

egyetemi docens

Dr. Szikriszt Bernadett, PhD

tanszéki mérnök

Budapest, 2013

TARTALOMJEGYZÉK

Tartalomjegyzék	1
Rövidítések jegyzéke	2
1. BEVEZETÉS	3
2. CÉLKITŰZÉS	4
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
3.1. A cseresznye származása és csoportosítása	5
3.2. A cseresznye termesztése és felhasználási lehetőségei	6
3.3. A cseresznye biológiailag aktív anyagai és funkcionális nemesítése	9
3.4. A cseresznyenemesítés története és céljai	13
3.5. A cseresznye termékenyülése és a termékenyülés genetikai háttere	15
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	21
4.1. Növényanyag	21
4.2. Minta-előkészítés az antioxidáns kapacitás jellemzéséhez	21
4.3. Vasredukáló képességen alapuló módszer (FRAP)	21
4.4. Troloxra vonatkoztatott Antioxidáns Kapacitás (TEAC)	21
4.5. Folin-Ciocalteu-redukáló kapacitás vagy összes polifenol tartalom meghatározása	23
4.6. DNS-kivonás	23
4.7. S-PCR-analízis	23
4.8. Alkalmazott statisztikai módszerek és programok	23
5. EREDMÉNYEK ÉS EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA	26
5.1. A fajták antioxidáns kapacitásának jellemzése	26
5.2. S-genotípus meghatározása PCR-analízissel	29
5.3. A két különböző vizsgálat eredményeinek együttes értékelése	35
6. ÖSSZEFOGLALÁS	38
7. IRODALOMJEGYZÉK	39
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	45
MELLÉKLETEK	46

Rövidítések jegyzéke

ABTS	2,2'-azinodi-(3-etilbenzotiazolin)-6-szulfoninsav
A	Adenin
AS	Aszkorbinsav
BCE	Budapesti Corvinus Egyetem
Bp	Bázispár
C	Citozin
C1–5	Az <i>S-RN-áz</i> gén 1.- 5. konzervatív régiója
cDNS	komplementer DNS (complementary DNA)
DNS	Dezoxiribonukleinsav
EDTA	etiléndiamin-tetraecetsav
FRAP	vasredukáló képesség (Ferric Reducing Antioxidant Power)
FUFOSE	Európai funkcionális élelmiszer-kutatás (Functional Food Science in Europe)
G	Guanin
GS	Galluszsav
GS1	gametofitikus inkompatibilitás (gametophytic self-incompatibility)
HVa, HVb	A <i>Solanaceae S-RN-áz</i> és valamennyi <i>SFB</i> génre jellemző variábilis régiók
Kb	Kilobázispár
KSH	Központi Statisztikai Hivatal
<i>N</i>	haploid kromoszómaszám
PCR	polimeráz-láncreakció
RC4	A <i>Rosaceae S-RN-ázokra</i> jellemző 4. konzervatív régió
RHV	A <i>Rosaceae S-RN-ázokra</i> jellemző hipervariábilis régió
RNS	Ribonukleinsav
rRNS	riboszomális RNS
SPSS	Statisztikai csomag társadalom tudományokhoz (Statistical Package for Social
S-RN-áz	S-ribonukleáz
T	Timin
TAE	Trisz-ecetsav-EDTA
TBE	Trisz-bórsav-EDTA
TEAC	troloxra vonatkoztatott antioxidáns kapacitás(Trolox Equivalent Antioxidant
TPC	összes polifenol tartalom (Total Phenol Content)
TPTZ	vas-2,4,6-tripiridil-S-triazin
U	Unit enzimaktivitási egység (mikromol átalakított szubsztrát / perc)
USA	Amerikai Egyesült Államok (United States of America)

1. BEVEZETÉS

A cseresznye világszerte ismert és kedvelt gyümölcs. A csonthéjas gyümölcsök közül az elsők között érik. A gyümölcs finom íze és a frissítő hatása mellett számos kedvező egészségi hatást is kínál a fogyasztó számára. Piros színét az antocianin vegyületek adják, melyek más, szintelen polifenolos vegyületekkel együtt jelentős antioxidáns kapacitással rendelkeznek. Ezek egészségvédő, és számos betegség kialakulásával szemben megnyilvánuló gátló hatását széles körben igazolták, és napjainkban is folyamatosan jelennek meg újabb és újabb bizonyítékok.

Az egészséges élelmiszerek iránti kereslet rohamos mértékben bővül. A különleges, nagy antioxidáns kapacitású gyümölcsök (bodza, feketeribiszke, som, homoktövis stb.) mellett a közkedvelt gyümölcsnemeken belül is megjelenik ez az igény. Ez esetben egy új, korábban nem követett tulajdonság, jelenik meg a nemesítési célok között. A fokozott egészségi hatású gyümölcsöket termő genotípusok előállíthatók a hagyományos nemesítési módszerekkel. Az ilyen új cél köré szerveződő nemesítést funkcionális nemesítésnek nevezik, és világszerte egyre intenzívebben alkalmazzák számos gyümölcsfaj nemesítése során.

Ennek a nemesítési stratégiának az első és legfontosabb lépése megismerni, hogy a javítani kívánt tulajdonság (a gyümölcs antioxidáns kapacitása) szempontjából milyen mértékű variabilitás mutatkozik a nemesítéshez felhasználható alapanyagban. Magyarországon a cseresznyenemesítés komoly eredményeket hozott. A termesztési, kereskedelmi és fogyasztói szempontok sokasága fontos tényezőként jelent meg a nemesítési folyamatban, például az öntermékenyülés kialakítása. Soha nem folyt azonban, és ma sem folyik olyan nemesítési program, amelyik a cseresznye egészségvédő hatásának fokozását célozná, jóllehet már számos ország indított ilyen programokat. A funkcionális nemesítési program indításához nagy antioxidáns kapacitású, donor genotípusokra van szükség. Ilyen genotípusokat jó eséllyel találhatunk a korábban ebből a szempontból nem jellemzett fajták (pl. tájfajták) vizsgálatával. Nagy valószínűséggel azonban a régi fajták számos értékmérő tulajdonságán kell javítani ahhoz, hogy árutermő ültetvényekben gazdaságosan termeszthetők legyenek. A perspektivikus fajták S-genotípusának jellemzése közvetlen segítséget nyújthat az első keresztezési kombinációk megtervezéséhez.

Ezek a vizsgálatok érdekes információval gazdagíthatják a termesztett cseresznyével kapcsolatos elméleti ismereteinket, ugyanakkor közvetlenül és haladéktalanul felhasználhatók a gyakorlatban új, kedvező egészségi hatású gyümölcsöt termő fajták előállítására érdekében, ha erre hazánkban vagy nemzetközileg szándék mutatkozik.

2. CÉLKITŰZÉS

Korábbi vizsgálatok alapján, a Magyarországon termesztett, közkedvelt cseresznye árufajták antioxidáns kapacitása korlátozott mértékűnek bizonyult, ami megteremti az igényt és a lehetőséget a tulajdonság fokozására.

Vizsgálataim során ezért először arra kerestem választ, hogy a BCE Genetika és Növénynemesítés Tanszék szigetcsépi ültetvényében fellelhető, ukrán eredetű cseresznyefajták antioxidáns kapacitása hogyan viszonyul az ismert árufajtákra jellemző értékekhez. Fontos kérdés volt, hogy különböző antioxidáns kapacitást mérő módszerekkel találhatók-e olyan genotípusok, melyek jó eséllyel felhasználhatók lennének egy funkcionális nemesítési programban.

Amennyiben sikerülne funkcionális nemesítési programba bevonható genotípusokat találni, hatékony és eredményes felhasználásukhoz ismerni kell a fajták kölcsönös termékenyülési viszonyait meghatározó S-genotípusát.

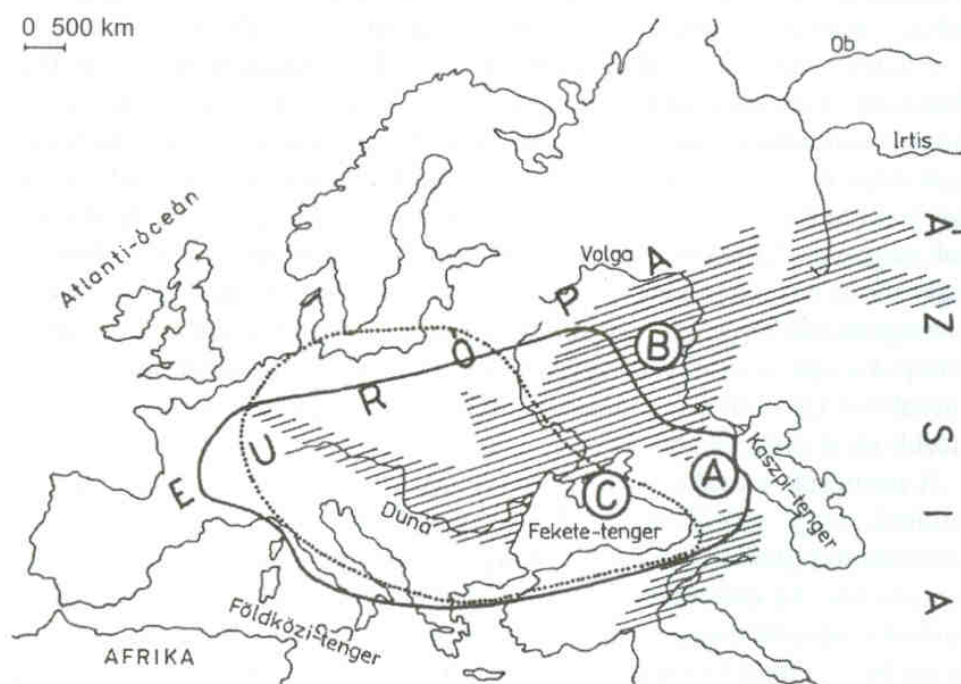
Ezzel kapcsolatban célul tűztem ki a vizsgált ukrán cseresznyefajták S-genotípusának meghatározását, és az S-genotípusok alapján a fajták inter-inkompatibilitási csoportokba (egymást termékenyíteni képtelen fajták) sorolását.

A két különböző szempontból végzett fajtaértékelő munka alapján kijelölhetjük a keresztezéses nemesítés során kerülendő, illetve a speciális céloknak leginkább megfelelő fajtapárosításokat.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A cseresznye származása és csoportosítása

A cseresznye egyike a legrégebb óta termesztett gyümölcsfajoknak, de az első írásos emlékek csak i.e. 300-ban említik (Faust és Surányi, 1997). Elsődleges gécentruma Nyugat-Ázsia mérsékelt övi területein (De Candolle, 1894), a Vavilov-féle elő-ázsiai központban található (Vavilov, 1926) (1. ábra). Ez a terület Kis-Ázsia belső részeit, a Kaukázust, Iránt, valamint Türkmenisztán fennsíkjait foglalja magában. Az európai központ (IX.) másodlagos gécentrumnak tekinthető; feltehetően a ma is termesztett kultúrfaj és más, a cseresznyével rokon fajhibridek is itt alakultak ki. A kultúrfajták szülőfaja valószínűleg a madárcseresznye, ami Közép- és Délkelet-Európa szubmediterrán övezeteiben őshonosnak tekinthető (Tomcsányi, 1979). A vadcsereznye Dél-Európában viszonylag ritka, míg a Kaszpi-tenger és a Fekete-tenger között valamint az ettől délre eső területeken nagy gyakorisággal fordul elő (1. ábra) (Mohácsy és Maliga, 1956).



1. ábra. A meggy (A, összefüggő vonallal körbezárt terület), a vadcsereznye (B, csíkozott terület) és a csepleszmegegy (C, pontozott vonallal határolt terület) származási helye és areája (Faust és Surányi, 1997).

A cseresznye általában diploid ($2n=16$), de előfordulnak triploid ($3n=24$) és tetraploid ($4n=32$) egyedek is. A *Prunus avium* alakköre igen változatos, ebbe a fajba 3 különböző taxont soroltak: ssp. *avium* (*sylvestris*, *actiana*) - valódi madárcseresznye, convar. *juliana* - szívcsereznyék, convar. *duracina* – ropogós cseresznyék (Terpó, 1974). A termesztett

taxonok a vad alakoktól származtathatók (Tóth és Simon, 2009). A termesztők eligazodását segítő mesterséges rendszer 6 csoportot tartalmaz, ami nem egyezik meg a botanikai rendszerezéssel. Ebben a cseresznyefajtákat három fő csoportra osztották színük szerint: fekete, tarka és sárga cseresznyék. Ezeken a csoportokon belül megkülönböztették a szívcsesznyéket és a ropogós cseresznyéket, így alakult ki a 6 különböző csoport (Mohácsy és Maliga, 1956). A cseresznyefajták növekedésében és habitusában is határozott eltérések vannak. A fajták növekedési erélyében (vigor) nincsenek olyan nagy különbségek, mint például az őszibarack esetén. Egy igen erős növekedésű fajta nagyjából kétszer akkora koronát fejleszt, mint egy spur fajta. A növekedésük alapján 4 kategóriába sorolhatjuk a fajtákat: igen erős: 'Germersdorfi 1'; erős: 'Hedelfingeni óriás'; középerős: 'Katalin', 'Alex'; gyenge: 'Compact Stella'. A fák habitusa alapján 3 fő típust különítenek el (feltörő, széthajló, lecsüngő) (Tóth és Simon, 1997).

3.2 A cseresznye termesztése és felhasználási lehetőségei

A nemzetközi szakirodalomban a cseresznyét és a meggyet számtalan esetben együtt kezelik, egyetlen szóval illetik (cherry). Az édes (sweet) és savanyú (sour, tart) jelzőket csak ritkán alkalmazzák. A két fajra vonatkozó statisztikai adatok összevontan jelennek meg, ami nehezíti a cseresznyetermesztés volumenének és helyzetének pontos megítélését. A világ összes cseresznye- és meggytermése meghaladja a 2,1 millió tonnát (Faostat, 2009). A kontinensek közül Ázsiában termelnek a legtöbbet (42,4 %), a második az európai (34,8 %), a harmadik az amerikai kontinens (21,3 %). Törökország, az USA, Irán, Olaszország és Spanyolország az öt legjelentősebb cseresznye- és meggytermesztő ország (1. táblázat). Az öt legnagyobb termesztő ország közül két ország az ázsiai, kettő az európai és egy az amerikai kontinensen található.

A cseresznye és meggy kereskedelmében továbbra is Európa a legjelentősebb a földrészek közül. A világ exportra kerülő termésének megközelítőleg 37 %-a európai országokból származik, de az amerikai (33 %) és az ázsiai (28 %) kontinensen is jelentős mennyiséget exportálnak. A cseresznyének Európa a legnagyobb felvevő piaca, de ez más gyümölcsfajokra is jellemző. A külföldre eladott cseresznye és meggy több mint 64 %-a Európában kerül forgalomba (Faostat, 2009).

1. táblázat. A legjelentősebb cseresznye- és meggytermesztő ország, Ukrajna és Magyarország által 2009-ben elért termésmennyiségek és a hozzájuk tartozó termőterület (Faostat, 2009).

Az öt legjelentősebb cseresznye- és meggytermesztő ország				
	Ország		Termés (ezer t)	Termőterület (ha)
1.	Törökország		418	37900
2.	Egyesült Államok		390	34524
3.	Irán		225	29935
4.	Olaszország		116	30000
5.	Spanyolország		96	26000
12.	Ukrajna		53	12600
32.	Magyarország		8,1	1928
Összesen a világon			2196	381482

Közép-Európában, így Magyarország területén is őshonosnak tekinthető a cseresznye. A gyümölcsstermesztésről írott legkorábbi feljegyzések szerint a magyarság kedvelt gyümölcse volt, szinte az egész ország területén termesztették. Hazánkban a cseresznye-termesztési körzetek korán kialakultak. Ezeket ma már tradicionális termőtájaknak nevezhetjük: Duna-Tisza köze (déli része), Szeged és Kelebia környéke, Mátraalja (Eger-Gyöngyös), Észak-Buda vidéke (Solymár, Szentendre és Dunabogdány). A hazai tájörzetekben már a XV.-XVI.-ik században több mint 12 tájfajta alakult ki, ezek közül több európai hírnévre is szert tett (Aposol és Brózik, 1998).

A KSH első publikált adatai alapján 1895-ben hazánk területén 1,1 millió cseresznyefa volt, ez a szám az 1935-ös általános gyümölcsfa-összeírás idejére megduplázódott. A trianoni béke miatt elcsatolt országrészek gyümölcsstermesztésének kiesését jelentős mennyiségű gyümölcsös telepítésével kívánták ellensúlyozni, de a II. világháború félbeszakította ezt a törekvést. Az 1961 és 1965 között végbemenő kampányszerű telepítéssel az árugyümölcsösökben jelentősen nőtt a faállomány, míg a nagyüzemi műveléssel a szórványgyümölcsösök és a szőlők közötti fák száma lecsökkent. A cseresznye a nagyüzemi termelés 30 éve (1960-1990) között is megmaradt a kisárutermelés gyümölcsének (Kállayné, 2003). Magyarországon jelenleg 6-8 ezer tonna a várható éves mennyiség. A '90-es évek elején 25 ezer tonna körüli cseresznyét termesztettek hazánkban, majd az előregedett, korszerűtlen (3-5 t/ha hozamú) ültetvények kivágásra kerültek. Az elmúlt néhány évben

telepített korszerű fajtaszerkezetű, intenzív cseresznyeültetvények termőre fordulás utáni hazai termésátlaga elérheti a 10-15 t/ha-t is (Tóth és Simon, 2009).

A fajták felhasználási iránya a gyümölcsök színétől, az érési időtől, valamint fizikai és beltartalmi jellemzőitől függ. A termés legnagyobb hányadát világszerte frissen fogyasztják el. A június első dekádjáig beérő, sötét színű gyümölcsöket szinte kizárólag friss fogyasztásra értékesítik. A középidőben és későn érő fajták zöme többhasznosítású, vagyis az elsődleges friss fogyasztási cél mellett valamilyen feldolgozásra is alkalmasak (Soltész, 1998, Kollár, 2003).

A friss fogyasztás piacáról teljesen kiszorultak a piros színű, de puhuló húsú, valamint a tarka és a fekete színű fajták. A friss piac az igen nagyméretű (28-30 mm), bordópiros, ropogós húsú, kézzel szedett kocsányos cseresznyét keresi. Elvárás még, hogy rekeszen belül csak azonos színű, méretű és érettségű áru legyen, és a gyümölcszállításra, tárolásra és gépi osztályozásra is alkalmas legyen (Szabó és mts., 2011). A hazánkban termesztett korai fajták (május közepe-vége) sem gyümölcsminőségben, sem volumenben nem vehetik fel a versenyt a főleg Spanyolországból, Törökországból behozott importáruval. A június elején érő hibridek ('Tünde', 'Carmen', 'Vera') jó eséllyel értékesíthetők az európai piacokon is. A kései szezon (július eleje-közepe) hazánknak kedvez, mert ezekben a hetekben a tőlünk délre elhelyezkedő országok már nem szállítanak cseresznyét a nemzetközi piacokra, azonban az exportpiac gyümölcsminőségi és -menyiségi elvárásainak ebben az időszakban is ugyanúgy meg kell felelni (Tóth és Simon, 2009).

A cseresznye a tartósítóipar főbb nyersanyagainak egyike, főleg befőtt készül belőle, de a légyártás és a gyorsfagyasztás is jelentős. Kisebb mértékben használja az édesipar cukrászati termékek előállítására és a szeszipar pálinkakészítésre (Faluba, 1979, Tóth és Simon 2009). Nyugat-Európában és Amerikában a sárga alapszínű cseresznyéből készült befőtteket keresik a vásárlók, ezért a befőttkészítésre alkalmas célfajták általában sárga vagy tarka színűek. Hazánkban jelenleg kizárólag sötét színű cseresznyék kerülnek az üvegekbe, mivel a sárga fajták aránya elhanyagolható a termesztésben (Tóth és Simon, 2009).

A fekete, festőlevű fajták a legalkalmasabbak gyorsfagyasztásra, légyártásra és élelmiszerszínezésre. A festőlevű fajták iránt megnövekedett a kereslet, mert az élelmiszeriparban növekszik a természetes színezékek iránti kereslet. A festőlevű fajták egészségvédő hatását több mint egy évtizede kutatják, és a színyanyagok mellett más antioxidáns hatású polifenol vegyületek is szerepet játszanak a kedvező élettani hatás kialakításában. A gyümölcs antioxidáns kapacitása a közeljövőben bekerülhet a minőséget meghatározó fontos paraméterek közé (Díaz-Mula és mts., 2009; Tóth és Simon, 2009).

3.3. A cseresznye biológiailag aktív anyagai és funkcionális nemesítése

A funkcionális élelmiszerek „meghatározott egészségi hasznosságú élelmiszerek”. A kifejezést először Japánban használták 1991-ben (Veres és mts., 2003). Európában a *Functional Food Science in Europe* (FUFOSE) nevű EU-szervezet megalapítása után meghatározták a funkcionális élelmiszerek főbb követelményeit. Olyan élelmiszerek tekinthetők funkcionális élelmiszernek, melyek normál tápértékükön kívül elősegítenek egyes testi funkciókat: erősítik a szervezet védekező mechanizmusait, hozzájárulnak betegségek megelőzéséhez, mint pl. magas vérnyomás, cukorbetegség, javítják a fizikai állapotot, és lassítják az öregedést.

A növény eredetű élelmiszerek, például a gyümölcsök tartalmaznak olyan, a szokásos fogyasztás mellett élettanilag hatékony mennyiségű vegyületeket, amelyek kedvezőek az egészség megtartásában, ezeknek a fitokemikáliáknak jelentős részét kémiaiailag azonosították, biológiai hatásukat megvizsgálták, előnyös tulajdonságaikat nem farmakológiai dózisban, hanem az élelmiszer elfogyasztása révén képesek kifejteni (Bíró, 2003). Az utóbbi kritérium azonban megengedi, hogy a növények nemesítésével, megfelelő fajta kiválasztásával a hatóanyagok eredeti szintjét növeljék az élelmiszer sajátos jellegének megőrzésével.

Napjainkban a gyümölcsök egészségmegőrző hatása is egyre fontosabb. E tekintetben az antioxidáns vegyületek különösen jelentősek, mert kimutatták, hogy az antioxidáns anyagok nagyobb mértékű fogyasztásával párhuzamosan csökken a szív- és érrendszeri betegségek, magas vérnyomás és daganatos megbetegedések előfordulásának valószínűsége (Halliwell, 2000). A gyümölcsök kedvező egészségi hatású antioxidáns vegyületei közé tartoznak a C- és E-vitaminok, karotinoidok és a polifenolok. A kedvező hatásért nem egy adott komponens tehető felelőssé, hanem a számtalan vegyület additív és szinergista kapcsolata (Liu, 2003).

A cseresznye általános beltartalmi összetételét és energiatartalmát a 2. táblázat mutatja be. A gyümölcsben számtalan különböző vegyület fordul elő, többek között cukrok (glükóz, fruktóz, szacharóz, szorbitol), szerves savak (almasav, citromsav, fumársav), ásványi anyagok és rostok. Ezeken kívül a cseresznye gazdag forrása az antocianinoknak, kvercetinnek, hidroxifahéjsavaknak, C-vitaminnak, karotinoidoknak és a melatoninnak (McCune és mts., 2010). Ezek között egészségvédő hatásuk szempontjából kiemelt jelentőségük van a polifenolos vegyületeknek (Serrano és mts., 2005; Usenik és mts., 2008). A gyümölcs színét a piros színű antocianinok adják, de a színtelen polifenolok is jelentős antioxidáns hatással rendelkeznek, amit az is igazol, hogy a világos színű ‘Ferrador’ antioxidáns kapacitása közel

azonos volt a nagy antocianin-tartalmú ‘Burlat’ antioxidáns kapacitásával (Usenik és mts., 2008). A gyümölcsök antioxidáns kapacitásának kialakítására hatással van az érettségi állapot, az évjárat hatása, de elsősorban a genetikai háttér, a genotípus (Hegedűs és mts., 2010; Scalzo és mts., 2005; Serrano és mts., 2005).

2. táblázat. A cseresznye főbb összetevői és beltartalmi mutatói friss gyümölcsben (Tóth és Simon, 2009; Usenik és mts., 2008).

Beltartalmi értékek 100g friss gyümölcsre vonatkoztatva	
Víztartalom	78-82 g
Vízben oldható szárazanyag	12-16 g
Vízben nem oldható szárazanyag	1-4 g
Szénhidrát	6-9 g
Összes savtartalom	0,4-0,8 g
Ásványi anyagok	0,5 g
Rosttartalom	0,4 g
Energiatartalom	255 kJ/61 kcal
Összes fenoltartalom	44,3-87,9 mg
Antioxidánskapacitás	8-17 mg

A Budapesti Corvinus Egyetem két tanszéke (Alkalmazott Kémia Tanszék és Genetika és Növénynevelés Tanszék), valamint a Debreceni Egyetem Kutatási és Fejlesztési Intézete közel öt éve közös kutatási programot indított a magyar és Magyarországon termelt gyümölcsök antioxidáns kapacitásának összehasonlító értékelése céljával. A kutatási program keretében magyar (‘Katalin’ és ‘Linda’), illetve Magyarországon termesztett (pl. ‘Sweet red’, ‘Van’, ‘Regina’ és ‘Germersdorfi 3’) cseresznyefajták gyümölcsének antioxidáns kapacitásában több mint 25-szörös különbséget mutattak ki (Szilvássy és Papp, 2008). A legkiemelkedőbb fajták vasredukáló kapacitása (FRAP) megközelítette a 4 mmol AS/L értéket.

A cseresznye farmakológiai hatásai között igazolták a polifenol vegyületek idegsejteket védő hatását (Kim és mts., 2005). A ‘Rainier’ fajta β -karotint, urzolsavat, kumársavat, ferulasavat és kávéssavat tartalmazó sárga gyümölcssei gyulladásgátló hatást és a lipidek oxidatív károsodásával szembeni jelentős mértékű gátló hatást mutattak (Mulabagal és mts.,

2009). A közelmúltban látott napvilágot a cseresznye egészségvédő hatásával kapcsolatos kutatások átfogó elemzése (McCune és mts., 2010), melyek között a daganatgátló, a szív- és érrendszeri megbetegedésekkel szembeni védő hatás, illetve a cukorbetegsége, gyulladásos megbetegedésekre és Alzheimer-kórra gyakorolt kedvező hatásokat vették számba.

A daganatos megbetegedések megelőzéséhez 600-800 g/nap zöldség- és gyümölcsfogyasztás javasolt (World Cancer Research Fund, 1997). Magyarországon az elmúlt 3 évtizedben a gyümölcs- és zöldségfogyasztás 380-440 g/nap volt. Ezzel az értékkel hazánk az EU-ban a 8. helyen áll, de ez még így is kevesebb, mint az EU-átlag (Zajkás, 2004).

Külföldi példák azt mutatják, hogy a vásárlói szokásokban az igen költséges reklámkampányok útján is csak lassan érhető el kismértékű változás, lásd az amerikai *Five a day* program. A gyümölcsfogyasztás növelését számos szociálpszichológiai és finansziális tényező akadályozza: az életstílus, megszokás vagy a kis jövedelem éppúgy gátló tényező lehet, mint az ismeretek hiánya. Járhatóbb utat kínálhat, ha olyan növelt biológiai értékű gyümölcsöket teszünk a fogyasztók asztalára, amelyekből kisebb mennyiség is fedezi a kedvező egészségi hatású fitokemikáliák szükséges bevitelét. Ilyen gyümölcsök hagyományos nemesítéssel történő előállításának első lépése az adott gyümölcsfajon belüli variabilitás felmérése.

A gyümölcsök és más növényi szövetek antioxidáns kapacitásának jellemzésére több egyszerű, gyors és a célnak megfelelő analitikai módszer áll rendelkezésre. Ezek mindegyike valamilyen oxidálószerrel szemben méri a mintában található vegyületek redukáló / gyökfogó (antioxidáns) képességét. Az alkalmazott oxidáló anyagok és a kimutatás módja szerint csoportosíthatjuk a mérőmódszereket elektronátmenettel járó és hidrogénatom átmenettel járó reakciókra (Huang és mts., 2005). Az elektronátmenettel járó reakciók általában színváltozással járnak, ami könnyen mérhetővé teszi az antioxidáns kapacitást. Spektrofotométerrel a kiindulási (oxidált) reagens fogyása vagy a redukált termék keletkezése a megfelelő hullámhosszon mérhető. Az elektronátmenettel járó antioxidáns kapacitás jellemzésére széles körben elterjedt módszerek a vasredukáló képesség mérése (Ferric reducing Antioxidant Power, FRAP-módszer), a 2,2'-azinodi-(3-etilbenzotiazolin)-6-szulfoninsav (ABTS) gyökökkel szembeni gyökfogó kapacitás jellemzése, melyet trolox mesterséges antioxidánsra vonatkoztatva adnak meg (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC), illetve a Folin-Ciocalteu reagenssel szembeni redukáló hatás (Total Phenol Content, TPC) módszer.

A Benzie és Strain (1996) által kidolgozott FRAP módszer alapja, hogy a vas-2,4,6-tripiridil-S-triazin (TPTZ) komplexét az antioxidánsok redukálják, a keletkező Fe^{2+} ionok kék színű terméket adnak. Olcsó, egyszerű, gyors, jól ismételhető, nem igényel drága laboratóriumi felszerelést, ugyanakkor a szervezetben uralkodó viszonyoktól eltérően, jelentősen savasabb környezetben játszódik le a reakció (pH=3,6) (Huang és mts., 2005). Bizonyos antioxidánsok (pl: karotinoidok, glutátion, ferulasav, kávéssav) a leggyakrabban alkalmazott reakciókörülmények között nem képesek a vasionok redukciójára (Apak és mts., 2007).

A TEAC módszer az ABTS molekula mesterséges oxidációja révén létrehozott szabad gyökökkel szembeni gyökfogó hatást méri (Miller és mts., 1993). Előnye, hogy olcsó, egyszerű és gyors. Az alkalmazott hullámhosszon (734 nm) a természetes növényi pigmentek elhanyagolható interferenciát okoznak. Hátránya, hogy nem ad képet arról, hogy a minta antioxidánsai a biológiai gyökökkel szemben mennyire aktívak, mivel az ABTS^+ -kation gyök egy élő sejtekben nem keletkező, mesterséges szabad gyök. A mérés hosszú (12-16 óra) minta-előkészítést igényel. A módszer mennyiségi meghatározásra nem alkalmas, de a minták közötti sorrend felállítására ideális (Balogh, 2010).

A Folin-Cicolteu reagens használatával kidolgozott módszert eredetileg az összes fenoltartalom mennyiségi jellemzésére alkalmas módszerként írták le (Singleton és Rossi, 1965). A reagens foszfor-molibdénsav és nátrium-volfrámsav keveréke. A redukció hatására kék színű ($\lambda=760$ nm) termék keletkezik. Az utóbbi évek vizsgálatai alapján helyesebb elektronátmenettel járó antioxidáns kapacitást jellemző mérésnek tekinteni, mert a fenolos vegyületeken kívül más vegyületek, pl. aszkorbinsav is képesek a reagenst redukálni (Huang és mts., 2005). Szintén könnyen kivitelezhető, kis költségigényű mérés, és az alkalmazott hullámhosszon más komponensek fényelnyelése elhanyagolható (Apak és mts., 2007). Azonban a mérés lúgos (pH 10) körülmények között történik, ami jelentősen eltér a fiziológiai pH-tól.

Ilyen típusú vizsgálatok bogyósgyümölcsök esetében már több mint 15 évre tekintenek vissza, ám a csonthéjas gyümölcsök ilyen irányú vizsgálata még ma is gyermekcipőben jár. Az utóbbi öt évben számos csonthéjas gyümölcsfaj esetében is megjelentek olyan tanulmányok, melyek a nagyobb antioxidáns kapacitású, kedvezőbb egészségi hatású gyümölcsöt termő genotípusok kialakításának lehetőségeit részletezik (Cevallos-Casals és mts., 2006; Hegedűs és mts., 2010; Papp és mts., 2010; Scalzo és mts., 2005). Cseresznye esetében az ilyen célok mentén szerveződő, ún. funkcionális nemesítési programra elsőként Díaz-Mula és mts. (2009) tettek javaslatot, mely szerint a kiemelkedő antioxidáns kapacitású

gyümölcsöt termő ‘Sonata’ és ‘Cristalina’ perspektivikus keresztezési partnerként jöhet szóba a kedvezőbb egészségi hatással rendelkező cseresznyefajták nemesítési programjában.

3.4. A cseresznyenemesítés története és céljai

A gyümölcsfajok, így a cseresznye tudatos nemesítése is viszonylag új keletű. Egészen az időszámításunk előtti időktől a XVII. századig a magról kelt cseresznyefák közül az értékesebb egyedek kiválasztása és továbbszaporítása határozta meg a nemesítést. Ekkor vált elterjedtté Angliában, Franciaországban és Németországban a szabadmegporzású magoncok pomológiai leírása, és fajták kiválasztása ezek közül. Így alakult ki a később hazánkban honosított és elterjedt fajták közül a ‘Germersdorfi óriás’, a ‘Boppardi korai’, és a ‘Hedelfingeni óriás’. Ebben az időben a Kárpát-medence is gazdag volt táj- és helyi cseresznyefajtákban, ilyenek például a ‘Badacsonyi óriás’, a ‘Cserszegi mézes’ és a ‘Disznódi fűszeres’ (Pór és Faluba, 1982).

A tudatos keresztezéses nemesítés országonként változó időszakban kezdődött, de a legtöbb helyen csak a XIX. század végén, a XX. század elején indult meg. Az Egyesült Államokban és Angliában 1895-ben kezdődött a nemesítői munka. A nemesítést 1910 és 1920 között elméleti alapokra helyezték többek között Amerikában (Davis, Geneva), Kanadában (Vineland), Angliában (East Malling) és Németországban (Dresden-Pillnitz) (Pór és Faluba, 1982).

A XX. század folyamán sikerült röntgen- és kobaltbesugárzással öntermékenyülő és gyenge növekedési erélyű fajtákat előállítani; a mutációs nemesítést megelőzően ezeket a tulajdonságokat egyetlen világfajta sem hordozta. Az ötvenes évek közepén az angliai John Innes Intézetben L.K. Lewis indukált mutációval hozott létre öntermékenyülő cseresznyehibrideket (‘Cherry Self Fertil 45’, ‘46’), de ezek termésmennyisége és -minősége gyenge volt (Lewis, 1949). Lapins (1971) állította elő az első gazdasági szempontból is értékes öntermékenyülő fajtát, a ‘Stella’-t. Az ő munkájának a felhasználásával jöttek létre az első gyenge növekedésű és öntermékenyülő fajták (‘Lambert spur 1’, ‘2’, ‘3’; ‘Stella spur’). A módszer további előnye, hogy segítségével elő tudták állítani már elismert fajták spur változatait (pl: ‘Napoleon’, ‘Bing’, ‘Van’). Ezután az Egyesült Államokban és Kanadában több öntermékenyülő fajtát is nemesítettek (‘Sunburst’, ‘Sweet Heart’, ‘Canada Giant’) (Apostol és Brózik, 1998).

A keresztezéses és a mutációs nemesítésen kívül a táj- és helyi fajták felkutatása is megkezdődött. Ez a folyamat kevesebb szaktudást és anyagi befektetést igényelt, ennek ellenére sok termesztési szempontból nagy jelentőségű, elismert fajtát eredményezett, melyek

közül néhányat ma is több országban termesztnek ('Bigarreau Burlat', 'Vega', 'Szomolyai fekete') (Pór és Faluba, 1982).

A második világháború után kezdődött meg a klónszelekció. A cseresznyefajták genetikailag stabilak, és sokkal kevésbé hajlamosak a vegetatív hasadásra, mint például a meggyfajták. Ennek ellenére több cseresznyeklón részesült állami elismerésben ('Germersdorfi 1', 'Germersdorfi 3', 'Germersdorfi 45') (Apostol és Brózik, 1998).

Hazánkban a cseresznyenemesítés meghatározó alakja Brózik Sándor. Nevéhez fűződik a tradicionális cseresznyetermesztő tájakban a népi szelekció során kialakult helyi állományok felmérése, valamint a tájfajták gyűjtése és szelekciója. A legkiválóbb változatokat kisparcellás kísérletekben több termőéven át megfigyelte, és kiválasztotta a legalkalmasabb pollenadó párokat. Brózik Sándor tájszelekciójának az eredménye a 'Solymári gömbölyű', a 'Pomázi hosszúszerű', és a 'Szomolyai fekete' is. A honosításban is komoly szerepet játszott, például az általa honosított 'Germersdorfi óriás' rövid idő alatt az ország legnagyobb felületen termesztett fajtája lett (Apostol, 2003).

Keresztezéses nemesítői munkáját öt ciklusra szokták osztani. Az első ciklus (1953–1957) fő szülőfajtája a 'Germersdorfi óriás' volt, ezt keresztezte többek közt 'Budakalászi helyi fekete', a 'Podjebrád' és a 'Hedelfingeni óriás' fajtákkal, valamint szelektált a 'Germersdorfi' szabadbeporzású magoncaiból is.) (Pór és Faluba, 1982) Ennek eredménye négy államilag elismert fajta lett: 'Margit', 'Linda', 'Katalin' és 'Kavics'.

A második ciklusban (1972-től) az öntermékenyülő fajták előállítására volt a cél. Az angolai 'Cherry Self Fertile 45' és '46'-ossal porozta a 'Ljana', a 'Van' valamint a 'Kavics' fajtákat, majd a kapott magoncokat szelektálta. Ezekből a keresztezésekből származik az öntermékenyülő 'Alex' és a kései érésű 'Vera'. A harmadik ciklusban (1974-84) a 'Ljana', a 'Bigarreau Burlat', a 'Van', a 'Trusenszkaja 2', a 'Sárga Dragán', a 'Hedelfingeni óriás' hibridjei, F₂-es és visszakeresztett nemzedékei, valamint a 'Bigarreau Burlat' és az öntermékenyülő 'Stella' hibridjei adták a szelekció alapját. Ennek a hibridizációs munkának az eredménye a hagyományos fajták közül a 'Rita', a 'Carmen', az 'Aida', illetve az öntermékenyülők közül a 'Petrus', a 'Paulus' és a 'Sándor' (Apostol, 2003).

A negyedik ciklusban (1987-től) az öntermékenyülő világfajták ('Stella', 'Sunburst', 'Celeste') és a magyar öntermékenyülő hibridek keresztezését végezték el. Az ötödik ciklusban (1998-tól) a világon először kezdődött meg a cseresznye gombabetegségeivel (*Blumeriella jaapi*, *Cytospora cincta*) szemben ellenálló fajták előállítása. Ennek a keresztezéses nemesítésnek az eredményei még nem kerültek köztermesztésbe. A magyar cseresznyenemesítés világszinten is elismert, igény mutatkozik a magyar fajták iránt Európa

szinte minden cseresznyetermesztő országában, valamint Ausztráliában, az Egyesült Államokban és Kínában is (Apostol, 2003).

A cseresznyenemesítés céljai közt sok olyat találhatunk, amelyik tulajdonság szinte minden gyümölcsfaj esetén fontos. Ilyen például a termésmennyiség, a termésbiztonság és a gyümölcsminőség. Továbbá a cseresznyeszezon széthúzását célzó korai és kései fajták nemesítése. Ennél a fajnál is egyre fontosabb a jó kötődés, így az öntermékenyülés vagy legalább a megfelelő porzófajták kiválasztása.

Ezekenkívül a cseresznyénél termesztői elvárás még az intenzív művelésre való alkalmasság, a nagyfokú ökotolerancia, elsősorban a repedéssel szembeni ellenállóság, de hazánkban fontos a tél- és fagyűrűrés is. Ezeken túl egy modern fajtának minél több kártevő elleni toleranciával vagy rezisztenciával kell rendelkeznie.

A kereskedők számára fontos a tárolhatóság, a szállíthatóság és a pulton tarthatóság is, ezért ezeket is figyelembe kell venni a nemesítés során. A beltartalmi mutatók követése egyre fontosabb, mivel egyre több feldolgozóipari cég előír bizonyos paramétereket, és a fogyasztók körében is növekszik a kereslet a kedvezőbb egészségi hatású gyümölcsök iránt.

3.5. A cseresznye termékenyülése és a termékenyülés genetikai háttere

A cseresznye a csonthéjasok közül a kajszit és az őszibarackot követően, a meggy és a szilva előtt virágzik. A fajták virágzása genetikailag meghatározott tulajdonság, de bekövetkezése a léghőmérsékleti értékek által szabályozott. Ezáltal a cseresznye virágzási ideje évjáratonként eltérő. Virágzás kezdete szerint megkülönböztetünk korai (április 10. előtt), középidéjű (április 11.-20.) és kései (április 20. után) virágzású éveket (Brózik és Nyéki, 1980).

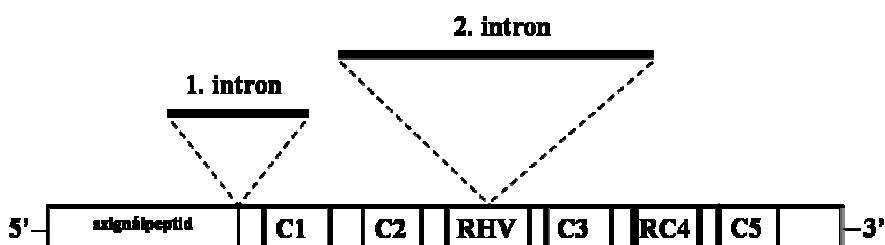
A cseresznye virágzási ideje 3 és 26 nap között változhat. A 3 (korai, középidéjű, kései), illetve az 5 (korai, középkorai, középidéjű, középkései, kései) virágzási időcsoportba képzése egyaránt elfogadott a cseresznyénél (Nyéki, 1974). Kizárólag a virágzási időcsoportok ismeretében nem tudjuk kiválasztani a legalkalmasabb pollenadókat.

Önmeddő fajták esetén az egymást termékenyíteni képes fajták együttlirágzásának mértéke 70 % fölötti kell legyen, hogy a biztonságos megporzás minden évben megvalósulhasson. Sok fajtánál ezt a mértékű átfedést nem tudjuk egy pollenadó fajtával elérni, ilyenkor kettő vagy több pollenadó fajta használata javasolt (lehetőleg előtte és utána virágzó pollenadókat is válasszunk.) (Nyéki és mts., 2003). A virágzás évenkénti nagymértékű váltakozása miatt minden esetben célszerű egynél több pollenadó fajtát választani (Roversi és mts., 1998).

A *Prunoideae* alcsaládba tartozó valamennyi csonthéjas gyümölcsfaj, köztük a cseresznye önmeddősége is gametofitikus típusú, a termékenyülési viszonyokat egy multiallélikus lókus, az *S*-lókus szabályozza (de Nettancourt, 2001). Az *S*-lókusban két gén található, az egyik a bibében kifejeződő ribonukleáz enzimet (*S*-RN-áz) (McClure és mts., 1989), míg a másik a pollentömlőben kifejeződő *S*-haplotípus-specifikus F-box (SFB) fehérjét kódolja (Entani és mts., 2003, Ushijima és mts., 2003). Az *S*-lókus tehát egy multigén komplex, ez alapján a „haplotípus” kifejezés a lókus valamennyi génváltozatára együttesen értendő, míg az „allél” csak az egyik gén változataira használandó (McCubbin és Kao, 2000). A felismerési reakció e két gén terméke, az *S*-RN-áz és az F-box fehérjék között zajlik le.

McClure és mts. (1989) elsőként bizonyították, hogy a *Nicotiana glauca* bibéjében termelődő, az önmeddőség kialakításában résztvevő fehérjék ribonukleáz enzimaktivitással rendelkeznek. Kimutatták, hogy e ribonukleáz (*S*-RN-áz) enzimek bejuthatnak a növekvő pollentömlőbe, és a fehérjeszintézis folyamatában alapvető fontosságú ribonukleinsavakat (rNS) hasíthatják.

A *Prunoideae* alcsaládban az *S*-RN-áz gén öt konzervatív (C1– C3, RC4 és C5) és egy hipervariábilis (RHV) régiót tartalmaz (Sonneveld és mts., 2003). A C1, C2, C3 és a C5 régiók homológok a *Solanaceae* családban leírt, azonos jelölésű régiókkal, míg az RC4 jelentősen különbözik a *Solanaceae* családra jellemző C4 régiótól.

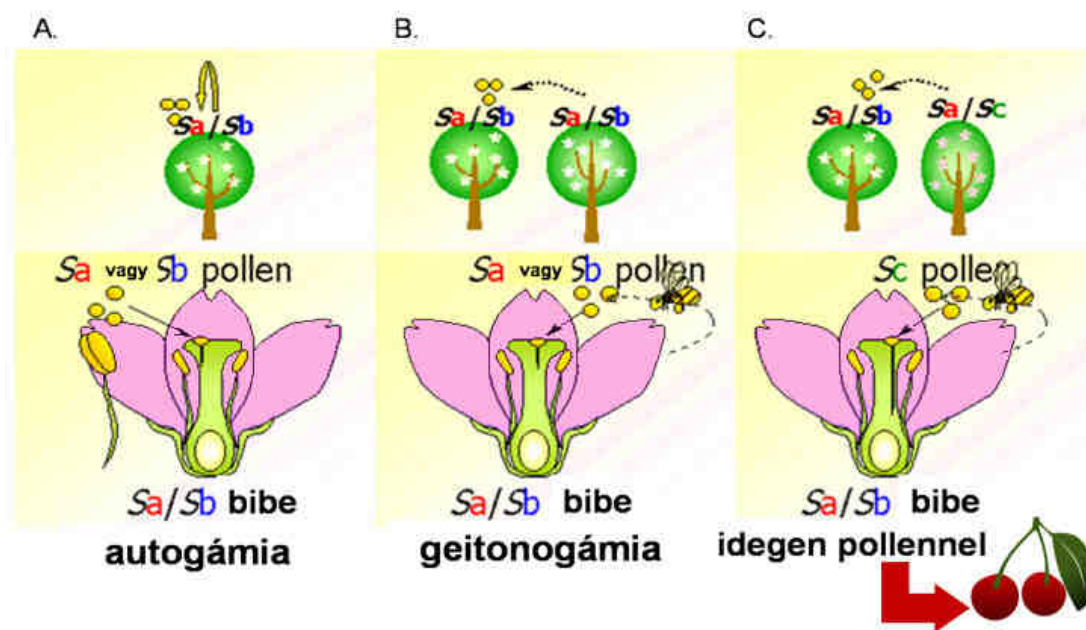


2. ábra. A *Rosaceae* *S*-RN-áz gén öt konzervatív (C1–3, RC4, C5) és egy hipervariábilis (RHV) régiót, illetve két intront tartalmaz, melyek hossza allélspecifikusan változik (Sonneveld és mts., 2003).

A konzervatív régiók az enzim szerkezetének stabilitásáért és az enzimaktivitás kialakulásáért felelősek (Ushijima és mts., 1998). A hipervariábilis régiónak a bibe–pollen közötti allélspecifikus felismerési reakcióban van szerepe. Az *S*-RN-áz gén két intront tartalmaz, melyek hossza allélspecifikusan változik. Az 1. intron a szignálpeptid és a C1 régió között helyezkedik el, a 2. intron a hipervariábilis régióban (2. ábra). A *Prunoideae* alcsalád *S*-RN-áz génszerkezetére általánosan jellemző, hogy a 2. intron mérete (kb. 110-3100 bp) majdnem minden esetben meghaladja az 1. intron méretét (kb. 100-350 bp).

A gametofitikus inkompatibilitási rendszer (GSI) során a pollen fenotípusát saját haploid genotípusa határozza meg. Minden diploid növényegyed két különböző S-allélt hordoz (ezt nevezzük S-genotípusnak), míg az ivarsejtjeikben (pl. a pollenben) csak egyetlen S-allél található. Ha egy önmeddő gyümölcsfa bibéjére érkező pollenszem S-allélja megegyezik a megporzandó növény két S-allélja közül bármelyikkel, a termékenyülés nem lesz lehetséges.

Önmeddő fajták esetén az ugyanarról a virágról (autogámia) vagy növényről származó pollenszemek a bibe felületén kicsíráznak, de pollentömlő-növekedésük a bibeszál felső harmadában leáll, így az embriózsákot nem érik el, a termékenyülés elmarad és inkompatibilis kapcsolat alakul ki (3A. ábra). Abban az esetben, ha ugyanazon fa másik virágjából vagy ugyanolyan S-genotípusú másik növényről (geitonogámia) származnak a pollenszemek, az azonos S-allélok miatt szintén elmarad a gyümölcskötődés; a két növény között kölcsönös meddőség, inter-inkompatibilitás jön létre (3B. ábra). Ha azonban a két növény egy S-allélban (szemi-kompatibilis) vagy mindkét S-allélban különbözik (kompatibilis), a termékenyülés genetikailag akadálytalan (3C. ábra).



3. ábra. A *Rosaceae* családra jellemző gametofitikus típusú önmeddőség genetikai szabályozása. A pollenszem fenotípusát saját haploid genotípusa határozza meg. Amennyiben a pollenben kifejeződő S-allél azonos a diploid bibében kifejeződő bármely S-alléllal, a pollentömlő növekedése a bibeszál felső harmadában leáll, vagyis akár ugyanarról a növényről öntermékenyülés során (A), akár egy másik, de azonos S-genotípusú növényről (B) származik a pollen. Ha legalább egy S-allélban különbözik a két növény, a termékenyülés, és a gyümölcskötődés genetikailag akadálytalan (C).

Minden fajnál sok különböző *S*-allél fordul elő, ezeket leggyakrabban számokkal különböztetik meg egymástól (S_1 , S_2 , S_3 stb.). Ez a sokféleség biztosítja, hogy két különböző növényegyed között a termékenyülés nagy valószínűséggel bekövetkezhesen. Ez a mechanizmus teszi lehetővé ezeknél a fajoknál a beltenyésztesből eredő kedvezőtlen következmények elkerülését.

Ugyanazon fajta két egyede között nem lehetséges a termékenyülés, hiszen a vegetatívan szaporított gyümölcsfajták minden egyede genetikailag azonos. Az azonos *S*-genotípusú fajták nem képesek egymást megtermékenyíteni, tehát az ilyen fajták inkompatibilitási csoportokat alkotnak. Az egy csoportba tartozó fajták egy ültetvénybe telepítve nem adnak gazdaságilag elfogadható termésmennyiséget, ezért a fajták *S*-genotípusának ismerete rendkívül fontos. Napjainkban az önmeddő cseresznyefajták fajtaleírásának elengedhetetlen részét képezi a fajta *S*-genotípusa, illetve hogy melyik inkompatibilitási csoportba tartozik.

A korábban termesztett cseresznyefajták mind önmeddők voltak (Brózik, 1962, 1971). Napjainkban is kevés öntermékenyülő fajta van termesztésben, bár az öntermékenyülő fajták részaránya évről évre növekszik. A világszerte termesztett öntermékenyülő cseresznye áruajták öntermékenyülő képességüket a mutációs nemesítéssel létrehozott angol hibridektől ('Cherry Self Fertile 45', '46') vagy azoktól származó fajtáktól ('Stella' és 'Sunburst') örökölték. Ugyanakkor ma már tudjuk, az öntermékenyülés spontán módon (emberi beavatkozás nélkül) is kialakult a cseresznye evolúciós fejlődése során, erre példa a spanyol eredetű, 'Cristobalina' (Wünsch és Hormaza, 2004) és a szicíliai 'Kronio' fajta (Marchese et al., 2007a).

A röntgensugárzással kialakított öntermékenyülő fenotípus hátterében a JI2420 szelekciós vonal esetében az S_4 -haplotípus pollen komponens génjében bekövetkezett 4 bázispáros deléción, illetve a leolvasási keret ebből fakadó eltolódása áll. Ezzel ellentétben a JI2434 magonc esetében az öntermékenyülés az S_3 -haplotípus *SFB* génszakaszát is magába foglaló deléciónak a következménye (Sonneveld és mts., 2005). Az *F*-box fehérje specifikus felismerési reakcióhoz nélkülözhetetlen HVa és HVb hipervariábilis régiói mindkét esetben hiányoznak a fehérjéből (Ushijima és mts., 2004, Sonneveld és mts., 2005). E két szelekciós vonal felhasználásával állították elő a világszerte sokfelé termesztett, öntermékenyülő cseresznyefajtákat ('Stella' és 'Lapins') és például a magyar nemesítési programból származó 'Alex' fajtát (Apostol, 2005).

Ushijima és mts. (2004) közölték először a cseresznye mutáns, öntermékenyülést okozó *SFB*₄'-allél szekvenciáját. Több DNS-alapú módszert is kifejlesztettek az öntermékenyülést

kialakító allél (*SFB₄*) gyors vizsgálatára (Zhu és mts., 2004, Sonneveld és mts, 2005) Vannak olyan öntermékenyülő fajták is, amik az *SFB₃*-allélt hordozzák, ennek a követésére Sonneveld és mts. (2003) dolgoztak módszert ki egy, a magyar származású 'Alex' fajtán végzett vizsgálatok alapján.

A cseresznye egyike volt azon gyümölcsfáknak, melyeknél az önmeddőség jelenségét már az 1900-as évek elején megfigyelték, szabadföldi keresztezések alapján azonosították az első inter-inkompatibilis fajtákat (Crane és Lawrence, 1929). Crane és Brown (1937; 1955) vizsgálatainak eredményeképp az inkompatibilitási csoportok száma 11-re növekedett, majd a XX. század közepére 12-re. A hatvanas évek végén meghatároztak hat *S*-allélt, és mintegy százhatvan fajta *S*-genotípusát közölték (Matthews és Dow, 1969). A termékenyülési viszonyokat sokáig csak az irányított beporzást követő gyümölcskötődés (kb. 8 hét) megfigyelésével lehetett megállapítani. Később egyre megbízhatóbb molekuláris vizsgálati módszerek alakultak ki az *S*-genotípus meghatározására.

A DNS-alapú technikák gyorsan elterjedtek, mert segítségükkel a szelekció már csírázó magoncokon is elvégezhető, és így csak a kiválasztott egyedeket kell felnevelni. A cseresznye *S-RN-áz* alléljai két intront tartalmaznak (Ushijima és mts., 1998, Sonneveld és mts., 2001), és mindkét intron mérete jellemző az egyes allélokra. A hipervariábilis régióba ékelődő intron (2. intron) méretbeli polimorfizmusa nagyobb mértékű. Az *S-RN-áz* gén 2. intronjától 5'- és 3'-irányokba elhelyezkedő konzervatív régiókra illesztett primereket használva kapott PCR terméket agarózgélen elválasztva, *S*-allélra specifikus, könnyen értékelhető és egyértelmű mintázat kapható (Halász, 2007).

A cseresznye cDNS-szekvenciákból tervezett Pru-T2, Pru-C2 és PruC4R primereket használták először az *S*-genotípus PCR-alapú meghatározására (Tao és mts., 1999), majd Wiersma és mts. (2001) illetve Sonneveld és mts. (2001) újabb konszenzus primereket terveztek. Sutherland és mts. (2004) több *Prunus* (cseresznye, mandula, japánkajszi, japánszilva és cseresznyeszilva) faj összesen mintegy 27 *S-RN-áz* allél szekvenciája alapján tervezett degenerált, konszenzus primerekkel sikeres amplifikációt értek el az ismert cseresznyeallélok esetében. A vizsgálat pontossága jelentősen fokozható az első intronrégiót amplifikáló primerek használatával, hiszen az első intron mérete is jellemző az egyes allélokra.

Amikor az intronok mérete olyan kismértékű eltérést mutat, hogy agaróz gélelektroforézist követően a mintázatok elkülönítése nem megbízható, a genotípusok meghatározására a legkevesbé konzervatív régiókhoz illeszkedő, allélspecifikus primerek tervezhetők. Számos allélspecifikus primert tettek közzé cseresznyében (Sonneveld és mts.,

2001; 2003), az ezekkel végzett vizsgálat megmutatja, hogy a vizsgált fajta hordoz, vagy nem hordoz egy bizonyos allélt (amire a primer specifikus).

A kis méretbeli különbségeket más módon is láthatóvá tehetjük. A mikroszatellit markerekhez hasonlóan, fluoreszcens jelölésű primerek használatával (az 500 bp alatti fragmentumok esetén) néhány bázispárnyi méretkülönbség is jól kimutatható automata szekvenátorral (Ortega és mts., 2005). Cseresznyében 13 allél 1. intronrégiójának hosszát (234–460 bp) határozták meg ezzel a módszerrel (Sonneveld és mts., 2006). Az S_2 és S_7 allél esetén a fragmentumok mérete megegyezett.

Termesztett cseresznyefajtákban összesen 16 allélt mutattak ki, és újabb tizenkettőt azonosítottak vad populációkban (Békefi és mts., 2003; De Cuyper és mts., 2005; Tobutt és mts., 2005). Néhány éve svéd és lett fajták S -genotípusát is publikálták (Lacis és mts., 2008). Napjainkban közel 500 fajta S -genotípusa ismert, amiket 44 inkompatibilitási csoportba soroltak be. A klasszikus és molekuláris adatok összevetésével Tobutt és mts. (2005) 26 inkompatibilitási csoportot írtak le. A csoportok számát később 36-ra bővítették (Schuster és mts., 2007). Hamarosan a XXXVII-XL (Marchese és mts., 2007b), XLI (Gisbert és mts., 2008) és XLII-XLIV csoportokat (Ipek és mts., 2011) is leírták, így jelenleg 44 inkompatibilitási csoport ismert. Az önmeddő, de egyedi S -genotípussal rendelkező, valamint az öntermékenyülő fajtákat bármely más fajta mellé telepíthetjük pollenadóként. Meg kell azonban jegyezni, hogy két fajta közt a gyümölcskötődés mértékét az S -genotípuson kívül számos egyéb tényező befolyásolja (pl. virágzási idők átfedése, virágzásbiológia, fenológia, időjárás stb.), de amennyiben a két fajta S -genotípusa megegyezik, a kölcsönös termékenyülés a többi tényezőtől függetlenül gátolt.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Növényanyag

A 12 vizsgált ukrán fajta, egy kanadai fajta ('Van') és egy hibrid (2115) gyümölcsei és rügyei a BCE Genetika és Növénytermesztés Tanszék szigetcsépi ültetvényéből származnak. A genotípusok főbb jellemvonásait az 3. táblázat mutatja. Az ukrán fajták közül az Állami Gyümölcs- és Dísnövénytermesztési Kutató-Fejlesztő Közhasznú Nonprofit Kft. által honosított 'Krupnoplodnaja' 2009 óta szerepel a Nemzeti Fajtajegyzéken (MgSZH, 2011).

4.2. Minta-előkészítés az antioxidáns kapacitás jellemzéséhez

A gyümölcskivonatokat közel 100 g friss tömegű, magozott, de a héjától meg nem fosztott gyümölcsből készítettük. A termések homogenizálását követően a gyümölcspépet centrifugálással ülepítettük (Hettich Mikro 22 R, 13 500 rpm, 25 perc, 4 °C). A további vizsgálatokhoz a felülúszót használtuk.

4.3. Vasredukáló képességen alapuló módszer - FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma)

Az összes antioxidáns kapacitást, az ún. FRAP-értéket (Ferric Reducing Ability of Plasma) Benzie és Strain (1996) szerint mértük ($\lambda=593$ nm) és az eredményeket mM aszkorbinsav/L présle mértékegységben adtuk meg. A FRAP a legelterjedtebb mérési módszerek közé tartozik, mert olcsó, gyors (reakcióidő:5 perc) és jól ismételhető. Azonban a mérés az élő szervezetre jellemző pH-nál jóval savasabb (3,6-os pH) közegben történik.

4.4. Troloxra vonatkoztatott Antioxidáns Kapacitás – TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

A módszer Miller és munkatársai nevéhez (1993) fűzhető. A reakció az ABTS (2,2'-azinodi-(3-etilbenzotiazolin)-6-szulfoninsav) oxidációján alapszik. Hidrogén-peroxid és metmioglobín jelenlétében sötétzöld színű ABTS⁺-kation gyök keletkezik. Ha a mintában antioxidánsok vannak jelen, akkor a szabadgyökökkel reagálva a színintenzitás csökkeni fog, a minta elszíntelenedik (Stratil és mtsai., 2007). A reakció spektrofotometriásan nyomkövethető 734 nm-en. A reakció 7,4-es pH-n zajlik (Miller és mtsai.,1993).

3. táblázat. A kísérletekben felhasznált cseresznyefajták és –hibrid fajtaneve, pedigréje, átlagos gyümölcstömege és oldható szárazanyag-tartalma.

	Fajtanév	Pedigré	Gyümölcstömeg (g)	Oldható szárazanyag- tartalom (brix°)
1.	Bujnajszkaja	–	5,28±0,74	17,4±1,0
2.	Dagesztanka	Aprelka Csernaja × Drogana Zeltaja	7,33±1,04	16,0±2,4
3.	Junszkaja rannaja	–	5,81±1,18	16,7±0,8
4.	Kodrinszkaja	–	7,30±0,61	17,3±1,9
5.	Krimszkaja nocs	Bigarreau Goshe × Csernyi orel	6,05±0,66	14,9±1,0
6.	Krupnoplodnaja	Napoleon bel. × (Valerij Cskalov + Elton + Zhab)	7,50±0,90	14,8±1,2
7.	Kutuzovka	Bigarreau Goshe × Csernaja rannaja Naita	4,44±0,60	17,7±1,9
8.	Melitopolszkaja krapcsataja	Frantszisz × Vilgelmina Kleidin	6,40±0,57	12,5±1,6
9.	Perszpektivnaja	Csernaja Daibera × (Krasznaja pozdnaja bjutnyera + Csernyi orel)	4,99±0,73	17,5±1,0
10.	Podbelszkaja	–	4,10±0,68	14,9±1,4
11.	Transzportabelnaja	Frantszisz × Velgelmina Kleindinst	5,31±0,84	17,6±0,8
12.	Truzsenyica sztyepi	Vinklera Krasznaja Pozdnaja szabad megporzású magonca	6,55±0,64	17,5±0,9
13.	Van	–	4,03 ±0,33	18,0±1,7
14.	2115	–	5,93±0,95	16,4±2,1

4.5. Folin-Ciocalteu-redukáló kapacitás vagy összes polifenol tartalom meghatározása-TPC (Total Polyphenol Content)

Az összfenoltartalom mennyiségét ($\lambda=760$ nm) a Singleton és Rossi (1965) által leírt módszer alapján, Folin-Ciocalteu reagens használatával Nicolet Evolution spektrofotométeren határoztuk meg, és mM galluszsav/L préslé értékben fejeztük ki.

4.6. DNS-kivonás

A genomi DNS-t fagyasztott rügyekből a DNeasy Plant Mini Kittel vontuk ki (Qiagen). A DNS-koncentrációt NanoDrop 1000 típusú spektrofotométerrel mértük (Thermo Fisher Scientific).

4.7. S-PCR-analízis

Az *S-RN-áz* allélok amplifikációjához használt konszenzus primerek szekvenciáit a 4. táblázat mutatja. Az első intronrégió amplifikációjához a fluorescens festékkel jelölt (JOE) PaConsI-F forward primer és a PaConsI-R reverz primerkombinációt (Sonneveld és mts., 2003) használtuk, míg az EM-PC2consFD és EM-PC3consRD primerpárral a második intronrégiót szaporítottuk fel (Sutherland és mts., 2004). A PCR-hez kb. 20-80 ng DNS-t használtunk 25 μ l végtérfogatban. Az 1 $\times$ PCR puffer (Fermentas) végső koncentrációja 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl és 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 0,4 μ M az adott primerekből és 0,625 U Dream *Taq* DNS-polimeráz (Fermentas).

A PCR-t PTC 200 (MJ Research) típusú készülékben végeztük a primerekhez közölt, eltérő protokollok alapján. A PCR-termékeket 1-1,5%-os TBE vagy TAE agarózgélben választottuk szét (2 h, 70-80 V) és etidium-bromid (4-4,5 μ l/ 120 ml puffer) festéssel, UV-fénnyel átvilágítva tettük láthatóvá. Az 500 bp-nál nagyobb fragmentumok méretének megállapításához 1 kb + DNS-létrát (Promega) használtunk. Az *S-RN-áz* gén első intronrégió 500 bp alatti méretének pontos meghatározásához a fluoreszcens festésű termékeket elemeztettük az ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) segítségével.

4.8. Alkalmazott statisztikai módszerek és programok

Az eredmények statisztikai kiértékelésére az SPSS programcsomagot használtuk. Ennek előnye, hogy a feltételekhez kötött hagyományos módszerek helyett más módszerek alkalmazására is lehetőséget kínál.

Összehasonlító vizsgálataink során a hagyományos, paraméteres módszerek (egytényezős varianciaanalízis) alkalmazásához kevés adat állt rendelkezésre a megbízható

következtetéshez és a minták adatainak normalitása, valamint a szóráshomogenitás gyakran sérült, ezért a nekik megfelelő nemparaméteres módszerek használata is indokolt volt. Többváltozós varianciaanalízist használtunk, mivel több mérhető tulajdonság figyelembe vétele alapján (TEAC, FRAP és TPC) kívántuk kimutatni a 14 vizsgált genotípus antioxidánskapacitása közötti különbségeket.

Az általános lineáris modell szimultán összehasonlítás módszere (multiple comparison) különösen a nemparaméteres esetben nagy jelentőségű, ahol szórásanalízisre, azaz normalitást feltételező eljárásra nem kerülhet sor. A varianciaanalízist kiegészítő középérték-összehasonlító tesztek közül a Duncan-féle szignifikáns differencia ún. post hoc analízist végeztük, létrehozva a kezelések homogén csoportjait a különböző jellemzők alapján. A csoporton belüli varianciák egyezőségét a Levene-teszttel ellenőriztük, és szükség esetén a mintaelemszámok és szórások azonosságát nem feltételező Games-Howell próbát alkalmaztuk.

Az összehasonlításokat az SPSS Programcsomag segítségével, 95%-os szignifikancia szinten végeztük. Az ábrákon az eltérő betűk a szignifikánsan eltérő átlagokat jelölik. Korrelációanalízist alkalmaztunk a különböző antioxidáns módszerek (TEAC, FRAP, TPC) közötti összefüggések vizsgálatára. Korrelációanalízissel oksági kapcsolatot, illetve annak szorosságát vizsgálhatjuk. Minél közelebb van a Pearson-féle korrelációs együttható az 1-hez, annál szorosabb kapcsolatot jelez. Az együttható értékét az MS Excel program segítségével számoltuk.

4. táblázat. A PCR során felhasznált primerek nukleotidsorrendje.

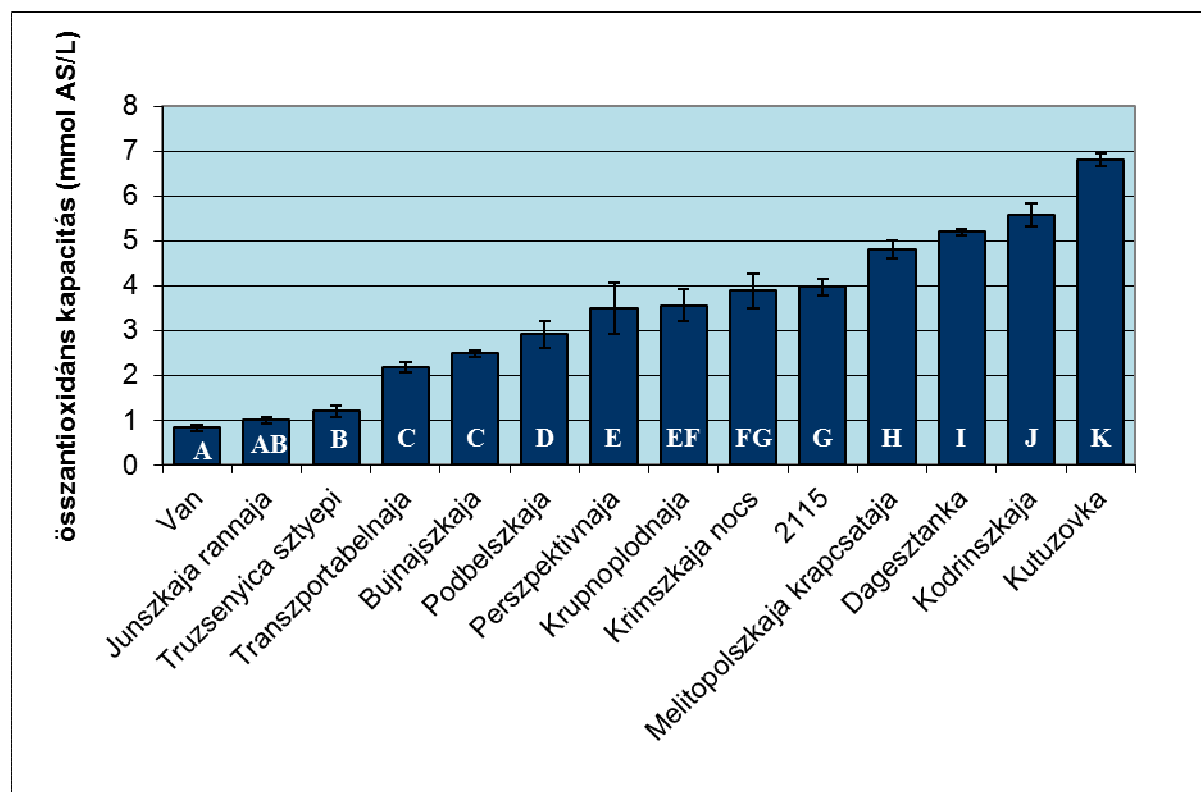
Primer neve	szekvencia 5'–3'	Amplifikált szakasz	Forrás
EM-PC2consFD	TCA CMA TYC ATG GCC TAT GG	S-RN-áz gén 2. intronrégió (forward)	Sutherland és mts., 2004
EM-PC3consRD	AWS TRC CRT GYT TGT TCC ATT C	S-RN-áz gén 2. intronrégió (reverz)	
PaConsI-F	MCT TGT TCT TGS TTT YGC TTT CTT C	S-RN-áz gén 1. intronrégió (forward)	Sonneveld és mts., 2003
PaConsI-R	CAT GRA TGG TGA ART WTT GTA ATG G	S-RN-áz gén 1. intronrégió (reverz)	
PaConsII-F	GGC CAA GTA ATT ATT CAA ACC	S-RN-áz gén 2. intronrégió (forward)	
PaConsII-R	CAW AAC AAA RTA CCA CTT CAT GTA AC	S-RN-áz gén 2. intronrégió (reverz)	

M=A+C, S=C+G, Y=C+T, R=A+G, W=A+T

5. EREDMÉNYEK ÉS EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

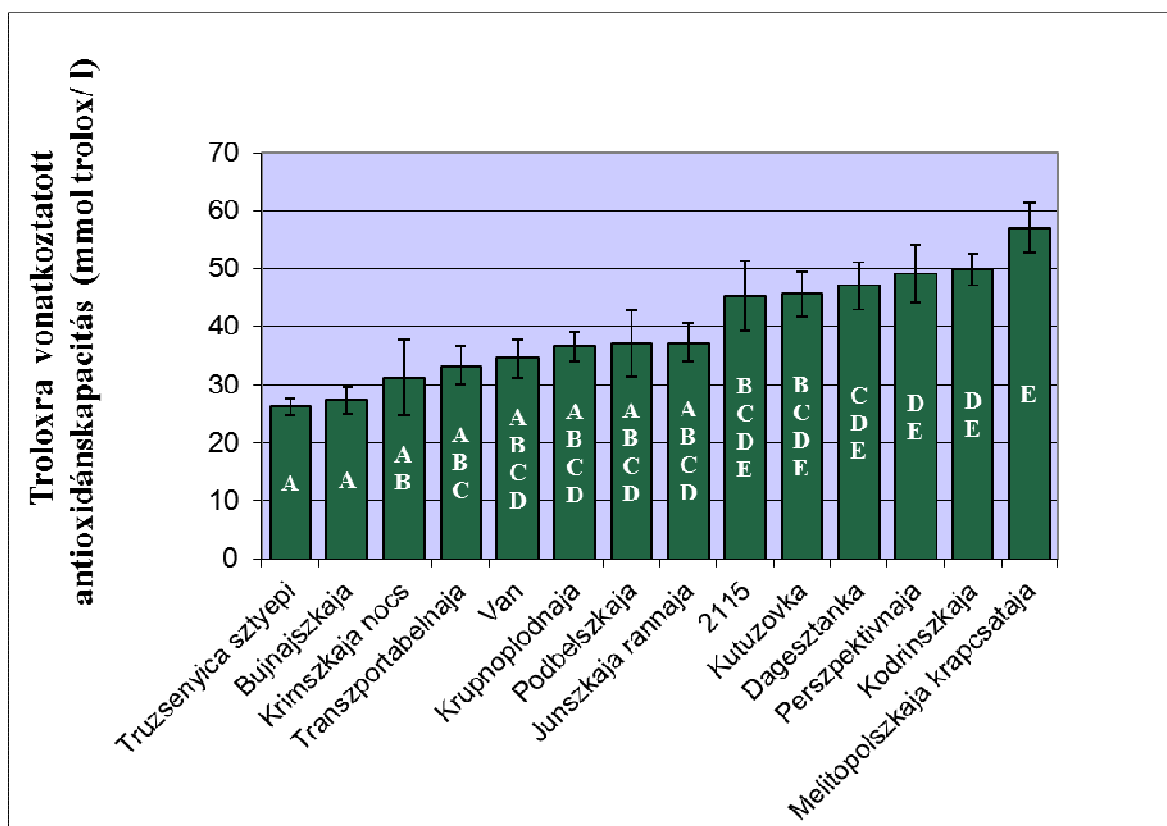
5.1. A fajták antioxidáns kapacitásának jellemzése

A vasredukáló képességen alapuló spektrofotometriás módszerrel (FRAP) meghatározott antioxidáns kapacitás értékeit a 4. ábra mutatja be. A Duncan-féle szignifikáns differencia ún. post hoc analízis alkalmazásával alakítottuk ki az egyes csoportokat (az egyes csoportokat eltérő betűkkel jelöltük), a csoportokon belül nincs szignifikáns mértékű eltérés a fajták között. A FRAP esetén a fajtákat 10 (A-K) csoportba tudtuk besorolni. A legkisebbnek a vizsgálatokhoz viszonyítási céllal használt, kanadai eredetű ‘Van’ (0,83 mmol AS/L) fajta és az ukrán ‘Junszkaja rannaja’ (1,00 mmol AS/L) bizonyultak (nincs köztük szignifikáns eltérés). A legnagyobb vasredukáló képességgel a vizsgált fajták közül a ‘Kutuzovka’ rendelkezik (6,80 mmol AS/L), de kiemelkedőnek bizonyult a ‘Kodrinszkaja’, ‘Dagesztanka’ és ‘Melitopolszkaja krapcsataja’ is. A legnagyobb és a legkisebb érték között több mint hétszeres volt a különbség, a 14 fajtára számított átlagos FRAP-érték 3,40 mmol AS/L volt.



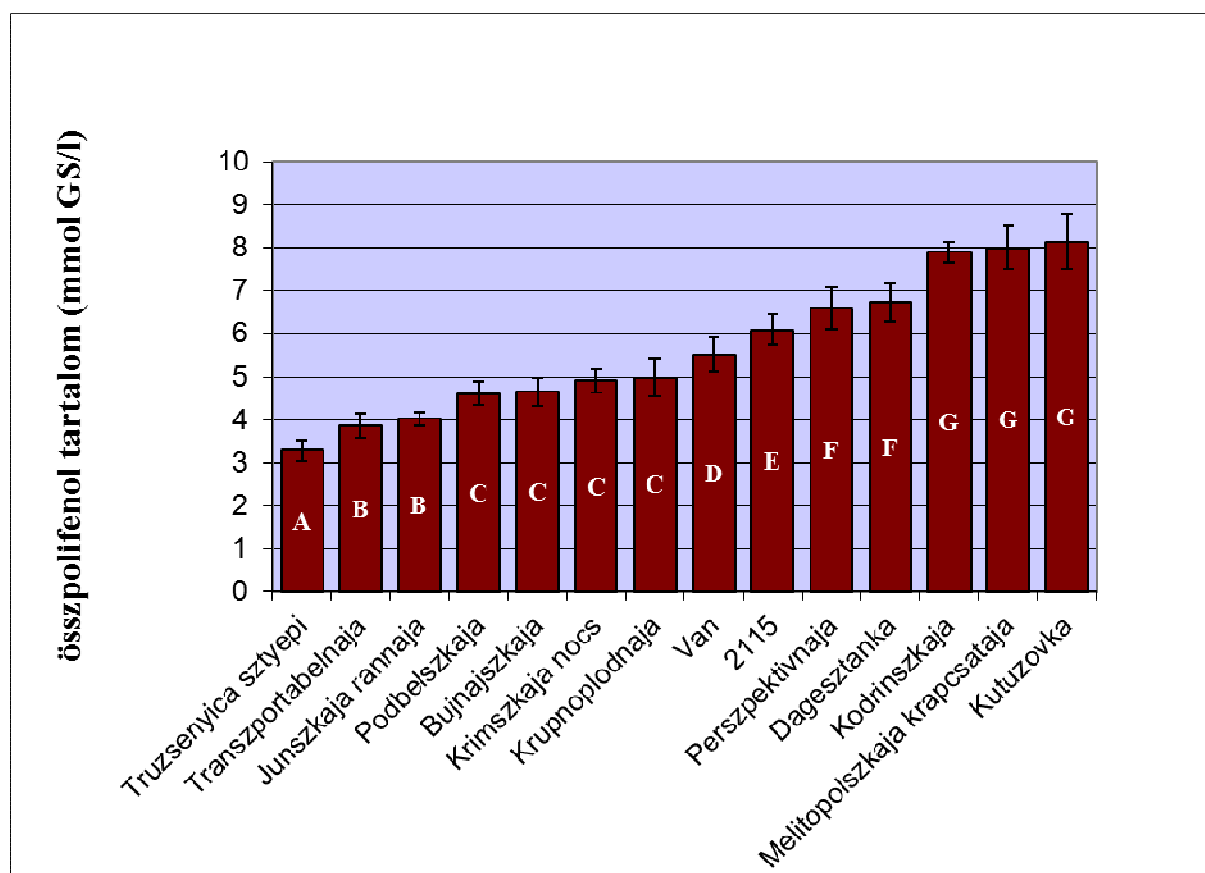
4. ábra. A vizsgált fajták FRAP módszerrel kapott eredményei (mmol aszkorbinsav/L présle). A különböző betűk a szignifikánsan eltérő fajták csoportjait jelölik ($p \leq 0,05$).

Korábbi vizsgálatok azt mutatták, hogy a jelenleg termesztésben lévő magyar ('Katalin', 'Alex', 'Linda') és külföldi származású ('Firm Red', 'Sunburst', 'Sweetheart') áruajták átlagosan 2,21 mmol AS/L-nek megfelelő antioxidáns kapacitással voltak jellemezhetők (Szikriszt et al., 2011). A 'Van' fajtaéhoz hasonlóan, a vizsgált nyolc fajta közül öt fajta gyümölcsének antioxidáns kapacitása a 2 mmol AS/L értéket sem érte el. Az áruajták közül kiemelkedő értéket mutatott a 'Santina' fajta (4,55 mmol AS/L), amit Díaz-Mula és mts. (2009) eredményei is megerősítettek. Ebből következően a 4. ábra I-K szignifikancia csoportjaiba tartozó fajták (a 'Dagesztanká'-tól a 'Kutuzovká'-ig) gyümölcsét jelentősen nagyobb antioxidáns kapacitás jellemzi. A 'Kutuzovka' FRAP értéke például 50 %-kal nagyobb volt, mint a 'Santina' gyümölcseié.



5. ábra. A vizsgált fajták TEAC értékeinek alakulása (mmol trolox/ liter préslé). A különböző betűk a szignifikánsan eltérő fajták csoportjait jelölik ($p \leq 0,05$).

A vizsgált fajták troloxra vonatkoztatott (TEAC) antioxidáns kapacitását az 5. ábra mutatja be. A legnagyobb ABTS gyökfogó kapacitást a vizsgált fajták közül a 'Melitopolszkaja krapcsataja' (56,99 mmol trolox/L) mutatta, de ez az érték és a 'Dagesztanka', 'Kodrinszkaja', 'Kutuzovka', 'Perszpektivnaja' fajtákra illetve a '2115' jelű hibridre jellemző értékek közötti eltérés nem szignifikáns. A legkisebb és legnagyobb értékek között közel kétszeres különbség mutatható ki. A mért adatok szórása ennél a módszernél volt a legnagyobb, ezért itt kevesebb a szignifikánsan eltérő csoportok száma.



6. ábra. A vizsgált fajták összpólfenol tartalma (mmol galluszsav/L présle). A különböző betűk a szignifikánsan eltérő fajták csoportjait jelölik ($p \leq 0,05$).

A fajták összes polifenol-tartalmát (TPC) illetve Folin-Ciocalteu-redukáló kapacitását a 6. ábra mutatja. A ‘Truzsenyica sztyepei’ fajta összfenol-tartalma bizonyult a legkisebbnek. A legnagyobb galluszsavra vonatkoztatott redukáló kapacitást mutató csoportba (G) a ‘Kutuzovka’, ‘Melitopolszkaja krapcsataja’ és ‘Kodrinszkaja’ fajták tartoznak, ezek TPC értéke közel két és félszerese a ‘Truzsenyica sztyepei’ fajtánál mért értéknek. Ennél a mérési módszernél hét csoportba lehetett sorolni a fajtákat, és minden fajta csak egy csoportba volt besorolható. A fajták közti különbségek nagy része szignifikánsnak bizonyult, ezért az egyes csoportokba kevés (1-4) fajta tartozik. A jelenleg termesztett árufajtákra átlagosan 4,05 mg galluszsav/ ml érték volt jellemző (Szikriszt et al., 2011), ami körülbelül a vizsgálatban mért legnagyobb összpólfenol-tartalom felének felel meg. A három kiemelkedő fajta TPC értéke meghaladta a korábban vizsgált árufajták TPC értékeit.

A fenti mérési módszerek közti kapcsolatot korrelációs analízissel vizsgáltuk. A Pearson-féle korrelációs együttható minél közelebb van az egyhez, annál szorosabb összefüggést jelez. Ez a módszer két halmaz vizsgálatára alkalmas, ezért a vizsgálatot páronként végeztük el. A legszorosabb korrelációt ($r=0,88$) a Folin-Ciocalteu-redukáló kapacitás (TPC) és a troloxra vonatkoztatott antioxidáns kapacitás (TEAC) között találtuk.

Eredményeink összhangban vannak a Serrano és mts. (2009) által 11 cseresznyefajta vizsgálata során a TEAC és TPC adatok között mért korrelációs koefficiens értékkel.

A vasredukáló képesség (FRAP) és a Folin-Ciocalteu-redukáló kapacitás (TPC) közti korrelációs együttható is magas volt ($r=0,84$), ahogyan azt korábban számos más gyümölcs esetében is kimutatták (Gorinstein és mts., 2006; Hegedűs és mts., 2010; Ozgen et al., 2008). A szoros korreláció legvalószínűbb magyarázata, hogy ezek az elektronátmenettel járó mérőmódszerek közel azonos antioxidáns vegyületek redukáló képességét mérik (Huang és mts., 2005).

Az aszkorbinsavra (FRAP) és a troloxra vonatkoztatott (TEAC) antioxidáns kapacitás között is találtunk összefüggést ($r=0,69$). A két módszer közti kisebb mértékű összefüggésre a módszerek eltérő kémiai háttere adhat magyarázatot: az egyik módszer (FRAP) a savas körülmények között oldható Fe^{3+} ionok redukálásának hatékonyságát, a másik (TEAC) az ABTS szabad gyökkel szembeni gyökfogó képességet jellemzi (Huang és mts., 2005).

A kiszámított együtthatók alapján a TPC és TEAC módszer között szorosabb, míg a TPC és FRAP között hasonló, de valamelyest kisebb r értéket kaptunk. Hasonló tendenciát mutattak ki számos más gyümölcs (pl. gránátalma és citrusfélék) esetében (Ozgun és mts., 2008; Gorinstein és mts., 2006). Mindez arra utal, hogy a TEAC és TPC mérések eredményei közelebb állnak egymáshoz, mint a FRAP és TPC mérések eredményei. Az elmúlt évtizedben a TEAC és TPC mérések váltak a legnépszerűbb összes antioxidáns kapacitást meghatározó módszerekké, melyek együttes használatát számos analízisben alkalmazták. Ezzel szemben a FRAP használata a gyümölcsök antioxidáns kapacitásának értékelésére kevésbé elterjedt. Eredményeink alapján azonban (legalább is cseresznye esetében) ajánlható lehet a FRAP használata is, mert némileg más antioxidáns hatású molekulákról is információt adhat, mint a TEAC és TPC analízisek.

5.2. S-genotípus meghatározása PCR-analízissel

Az ukrán cseresznyefajták gyümölcsének antioxidáns kapacitásának értékelése igazolta, hogy ezek között számos olyan fajta (pl. 'Kutuzovka', 'Kodrinszkaja', 'Dagesztanka' és 'Melitopolszkaja krapcsataja') található, melyek perspektivikusan felhasználhatók lennének egy, a cseresznye egészségi hatásának fokozása érdekében elindított nemesítési program során. Mivel a cseresznye önmeddő, az eredményes termesztéshez pollenadó fajtákra van szükség. Ehhez azonban ismerni kell a fajták S-genotípusát. A probléma a nemesítés során is jelentkezhet, hiszen a nemesítési programba beemelt ukrán cseresznyefajták nem lesznek keresztezhetők ugyanolyan S-genotípusú (tehát azonos inkompatibilitási csoportba tartozó)

cseresznye árufajtákkal. A dolgozatban vizsgált ukrán cseresznyefajták nemesítési felhasználásának értékelése során ezért a fajták mindeddig nem ismert *S*-genotípusát is meg kellett határozni.

A *Rosaceae* családban a termékenyülési viszonyokat irányító *S*-lókusz bibeszálakban kifejeződő fehérjeterméke egy ribonukleáz aktivitású enzim (McClure és mts., 1989), a pollenben kifejeződő terméke pedig egy *S*-haplotípusra specifikus F-box (SFB) fehérje (Ushijima és mts., 2003). A csonthéjas gyümölcsfajok *S*-ribonukleáz enzimét, valamint F-box fehérjéjét kódoló gének izolálása és szekvenálása (Ushijima és mts., 1998; Tao és mts., 1999) lehetőséget teremtett a DNS-alapú markerek kidolgozására.

Az *S*-*RN*-áz gén intronjainak mérete és szekvenciája allélspecifikus variabilitást mutat, és az intronokat határoló konzervatív exonrégiókra primerek tervezhetők. Diploid fajok önméző egyedei, fajtái bizonyosan két különböző *S*-allélt hordoznak. Az *S*-genotípusok meghatározásának alapja, hogy a PCR-rel felszaporított két különböző méretű fragmentum megfeleltethető egy-egy *S*-allélnak. Ahogyan a többi *Prunus* fajnál, úgy a cseresznyénél is a második intronrégió mérete mutat nagyobb mértékű variabilitást. Az ennek vizsgálatára tervezett primerpár (EM-PC2consFD és EM-PC3consRD) az *S*-*RN*-áz gén C2 és C3 régióihoz kötődik, és használatával a gén hipervariábilis régiója, valamint az ebben található 2. intron amplifikálható (Sutherland és mts., 2004).

A PCR termékek mérete agarózgélen történő szétválasztásukat követően körülbelül a 400 bp és 2000 bp közötti tartományba esett. A vizsgált fajták többségénél csak az egyik allél jelenléte volt kimutatható, csak két fajtánál ('Dagesztanka', és a '2115') tudtuk mindkét fragmentumot láthatóvá tenni. Egy fajtánál ('Truzsenyica sztyepi') többszöri ismétlés után sem találtunk egyértelműen azonosítható fragmentumot (7B. ábra).

A '2115' fajtánál egy kb. 400 bp méretű fragmentum volt megfigyelhető, ami az *S*₆-allélra jellemző fragmentumméret (7B. ábra). A 'Dagesztanka' fajtánál és a '2115' hibridnél egy kb. 550 bp méretű szakasz fordult elő, ami az *S*₉-allélra jellemző fragmentumméret. A vizsgált fajtákban a legnagyobb (850 bp) jól kimutatható PCR-terméket 3 fajtában találtuk meg, ez a méret az *S*₄-allélra jellemző. A kilenc fajtánál ('Bujnajszkaja', 'Dagesztanka', 'Krimszkaja nocs', 'Kutuzovka', 'Melitopolszkaja krapcsataja', 'Perszpektivnaja', 'Podbelszkaja', 'Transzportabelnaja' és 'Van') kimutatott, hozzávetőleg 600-650 bp közötti fragmentum az *S*₁- és az *S*₃-allélra is utalhat. Három fajtánál észleltünk az *S*₅-re jellemző méretű (megközelítőleg 2000 bp) fragmentumokat, amik olyan halványan jelentek meg, hogy ezek alapján nem lehet a fajták *S*-genotípusára vonatkozó következtetést levonni.

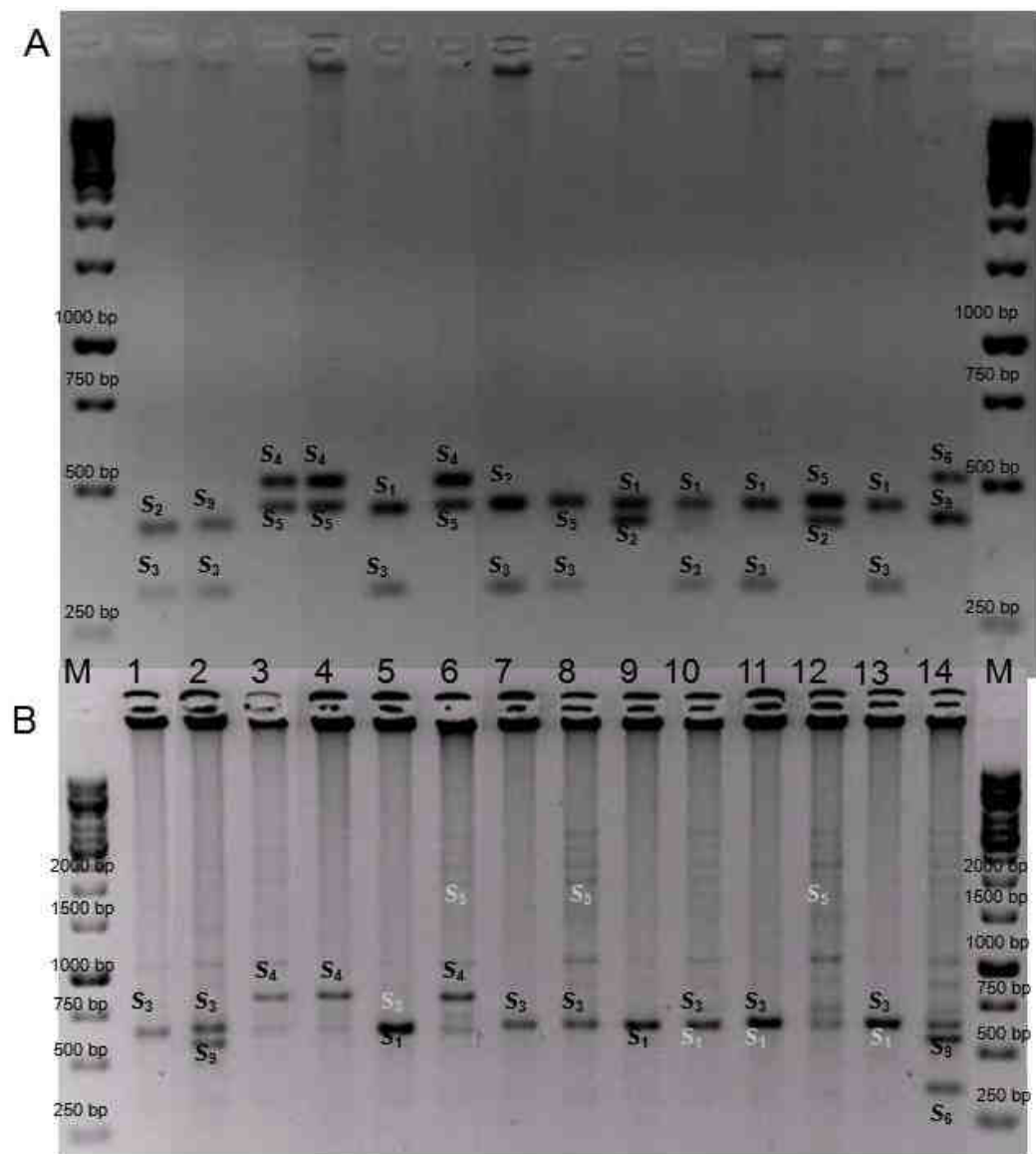
A vizsgált fajták *S-RN*-áz második intronrégióját nem sikerült sem a fent bemutatott EM-PC2 és EM-PC3, sem a PaconsII-F és PaconsII-R konszenzus primerpárral olyan mértékben felszaporítani, hogy méret szerinti elválasztásuk után a fajták teljes *S*-genotípusát egyértelműen meg tudjuk határozni. Mindkét primerpárt kipróbáltuk különböző primerkoncentrációk és hőmérsékleti ciklusok alkalmazásával, de a legtöbb fajtának ezekkel a változtatásokkal is csak a részleges *S*-genotípusát tudtuk meghatározni.

Az intronméretek allélspecifikus variabilitása az 1. intronrégióra is igaz, így ezek vizsgálata segíti az allélok azonosítását és a genotípusok meghatározását. Néhány esetben döntő információt szolgáltat az allélok azonosításához. Ráadásul előfordul, hogy két allél második intronrégiója hasonló méretű (pl. S_1 és S_3), így ezekben az esetekben a két allél az első intronrégiók mérete alapján különíthető el.

Az első intronrégió felszaporítására a PaconsII-F és PaconsII-R (Sonneveld és mts., 2003) konszenzus primereket használtuk. A vizsgált fajták esetén az első intronrégió felszaporítása sokkal eredményesebb volt, mint a második intron vizsgálata. Itt PCR-reakció és agaróz gélelektroforézis segítségével, az összes fajta esetén két egyértelmű fragmentumot kaptunk, ami megfeleltethető egy-egy *S*-allélnak (7A. ábra).

Mivel a *Prunus S-RN*-áz gén 1. intronrégiójának méretei sokkal kisebbek, és az allélok közti eltérések is szűkebb mérettartományban (305-523 bp) jelentkeznek, így lehetőség van a felbontóképesség növelésére a mikroszatellit vizsgálatok során alkalmazott eljárással. A *Prunus avium* első intronját határoló konzervatív régióra tervezett PaConsI-F forward primert JOE fluoreszcens festékkel jelöltük, így az amplifikált fragmentumok méretei automata szekvenátor használatával pontosan meghatározhatók (5. táblázat), ahogyan ezt korábban Sonneveld és mts. (2006) sikerrel alkalmazták. Ez a technika megerősítheti az allélok azonosítását. Az S_1 -allél vizsgálatánál egy 455 bp méretű szakaszt, az S_2 -allélnál 420 bp, az S_3 -allélnál 305 bp, az S_4 -allélnál 523 bp, S_5 allélnál 462 bp méretű fragmentumot tudtunk kimutatni.

Korábban a második intronrégió PCR-vizsgálata alapján 9 fajta esetében nem volt eldönthető, hogy az S_1 - vagy az S_3 -allélt hordozzák. A két allél esetében azonban az első intronrégió méretei jelentősen eltérnek egymástól (S_1 -allél: 455 bp, S_3 -allél: 305 bp), aminek segítségével igazolható volt 8 fajtában az S_3 -allél, 5 fajtában az S_1 -allél jelenléte. Ezek alapján négy olyan fajtát találtunk, aminek a genotípusa S_1S_3 .



7. ábra. Az S-allélok első (A) és második intronjának (B) vizsgálata a PaconSI (A) és az EM (B) jelű primerpárok segítségével. **M:** 1 kb + DNS-marker; **1.** ‘Bujnajszkaja’, **2.** ‘Dagesztanka’, **3.** ‘Junszkaja rannaja’, **4.** ‘Kodrinszkaja’, **5.** ‘Krimszkaja nocs’, **6.** ‘Krupnoplodnaja’, **7.** ‘Kutuzovka’, **8.** ‘Melitopolszkaja krapcsataja’, **9.** ‘Perszpektivnaja’, **10.** ‘Podbelszkaja’, **11.** ‘Transzportabelnaja’, **12.** ‘Truzsenyica sztyepi’, **13.** ‘Van’, **14.** ‘2115’. A gyengén amplifikált allélok neve szürke színnel szerepel.

Az eddig bemutatott eredmények összevetésével sem tudtuk az összes vizsgált fajta S-genotípusát teljes biztonsággal meghatározni. Ezért a kapott S-genotípusok megerősítéséhez allélspecifikus primereket használtunk, ezek eredményeit az 5. táblázatban foglaltuk össze. A próba, akkor tekinthető pozitívnak, ha az allélspecifikus primerek felszaporítják az adott allélra jellemző méretű szakaszt. Amennyiben az adott fajtánál az allélspecifikus primer nem adott terméket (az 5. táblázatban x-szel jelölve), vagy nem olyan méretű terméket adott, a vizsgálat negatív. Ennek a vizsgálatnak a segítségével egy fajtáról megmondható, hogy a vizsgált fajta hordozza, vagy nem hordozza a kérdéses allélt, tehát egy fajta S-genotípusa

egyértelműen meghatározható az összes (a korábbi vizsgálatok alapján) feltételezett allélra elvégzett specifikus reakcióval.

A három vizsgálat (1. és 2. intron agaróz gélelektroforézis, fragmentumhossz-analízis, allélspecifikus reakciók) eredményeinek összevetésével sikerült a fajták (a 'Kutuzovka' kivételével) teljes S-genotípusát egyértelműen meghatározni (5. táblázat). A vizsgált fajták közt a leggyakoribb genotípusnak az S_1S_3 ('Krimszkaja nocs', 'Podbelszkaja', 'Transzportabelnaja' és 'Van') bizonyult, így a legtöbb vizsgált fajta a II. inter-inkompatibilitási csoportba tartozik. Az V. inter-inkompatibilitási csoportba (S_4S_5) két új fajtát tudtunk besorolni. Ide tartozik továbbá az általunk vizsgált 'Kruplopodnaja' nevű fajta, melynek S-genotípusát korábban Békefi és mts. (2003) S_5S_9 -ként határozták meg. Feltehető, hogy az azonos néven nyilvántartott fajták különböző genotípusokat reprezentálnak. Miután az egyik alléljuk közös, elképzelhető, hogy a másik egyed a 'Kruplopodnaja' magonca. Az I., a IV., a VII., a VIII., a X. és a XVI. inter-inkompatibilitási csoportot egy-egy fajtaival tudtuk kiegészíteni.

A 'Kutuzovka' fajtában a PaConsI-F és PaConsI-R primerek használatával amplifikálódott egy kb. 440 bp hosszúságú fragmentum, ami egyetlen korábban ismert cseresznyeallél méretével sem egyezik meg, de igen közel van az S_1 -re jellemző mérethez. Az S_1 -re specifikus reakció nem szaporította fel a várt fragmentumot, tehát a 'Kutuzovka' nem hordozza az S_1 -allélt. Az eredményt igazolta, hogy a fenilalanin-ammónia-liáz génre specifikus primer, az ún. belső kontroll pozitív eredményt adott. A 440 bp méretű fragmentum így valószínűleg egy idáig ismeretlen cseresznyeallélt jelöl, ennek pontos azonosításához a DNS-szekvencia elemzésére lesz szükség. Mivel a 'Kutuzovka' feltehetően új allélt hordoz, és így valószínűleg az egyedi genotípusú önmeddő fajták csoportjába (0) sorolható.

Összességében a 13 ismeretlen S-genotípusú ukrán cseresznyefajtából 12 fajta teljes, és egy fajta részleges S-genotípusát határoztuk meg. Korábban kb. 500 fajta S-genotípusa, illetve ezek között 44 inter-inkompatibilitási csoport volt ismert (Ipek és mts., 2011; Schuster és mts., 2007; Tobutt és mts. 2005). Eredményeink alapján a fajtákat egy kivételével be tudtuk sorolni a már ismert inkompatibilitási csoportokba (5. táblázat), ami alapján meghatároztuk azokat a fajtakombinációkat, melyeket egy funkcionális nemesítési programban kerülni kell, illetve használni lehet.

5. táblázat. A vizsgált cseresznyefajták *S-RN*-áz gén 1. és 2. intronrégiójának mérete (bp), *S*-genotípusa és inkompatibilitási csoportja. Az intronrégiók méretét agaróz gélelektroforézis alapján vagy automata szekvenátorral (piros szín) határoztuk meg. Sárga szín jelöli azt az allélt, amit nem sikerült azonosítani. Az allélspecifikus reakciók közül a pozitív eredménnyel zárult vizsgálatokat zöld, a negatív eredményt piros szín és az X szimbólum mutatja.

	Fajtanév	bp		S-allél	allélspecifikus vizsgálatok								S-genotípus	Inkompatibilitási csoport
		1. intron	2. intron		S ₁ 820 bp	S ₂ 640 bp	S ₃ 960 bp	S ₄ 820 bp	S ₅ 300 bp	S ₆ 470 bp	S ₇ 584 bp	S ₉ 495 bp		
1	Bujnajszkaja	305	680	S ₃									S ₂ S ₃	IV.
		419	–	S ₂							X			
2	Dagesztanka	310	680	S ₃									S ₃ S ₉	XVI.
		440	550	S ₉										
3	Junszkaja rannaja	462	–	S ₅									S ₄ S ₅	V.
		523	850	S ₄										
4	Kodrinszkaja	440	–	S ₅									S ₄ S ₅	V.
		500	850	S ₄								X		
5	Krimszkaja nocs	310	680	S ₃									S ₁ S ₃	II.
		440	600	S ₁								X		
6	Krupnoplodnaja	462	2000	S ₅									S ₄ S ₅	V.
		523	850	S ₄								X		
7	Kutuzovka	310	680	S ₃									S ₃ S _?	0.
		440	–	S _?							X	X		
8	Melitopolszkaja krapcsataja	310	680	S ₃									S ₃ S ₅	VII.
		450	2050	S ₅										
9	Perszpektivnaja	420	–	S ₂									S ₁ S ₂	I.
		455	600	S ₁							X	X		
10	Podbelszkaja	305	680	S ₃									S ₁ S ₃	II.
		455	600	S ₁										
11	Transzportabelnaja	305	680	S ₃									S ₁ S ₃	II.
		455	600	S ₁										
12	Truzsenyica sztyepi	420	–	S ₂									S ₂ S ₅	VIII.
		462	2050	S ₅							X			
13	Van	310	680	S ₃									S ₁ S ₃	II.
		450	600	S ₁										
14	2115	410	550	S ₉									S ₆ S ₉	X.
		500	400	S ₆										

5.3. A két különböző vizsgálat eredményeinek együttes értékelése

A gyümölcsök antioxidáns kapacitásának jellemzésére több egyszerű és gyors analitikai módszer áll rendelkezésre. A munka során három, az antioxidáns kapacitás jellemzésére széles körben elterjedt módszert használtunk (FRAP, TEAC és TPC). A vasredukáló képesség esetén a négy kiemelkedő fajta ('Melitopolszkaja krapcsataja', 'Dagesztanka', 'Kodrinszkaja' és 'Kutuzovka') között szignifikáns különbséget találtunk, ez alapján sikerült ezek között is sorrendet felállítanunk. A vizsgált fajták közül az ABTS gyökfogó képességen alapuló módszernél (TEAC) hat genotípus ('Melitopolszkaja krapcsataja', 'Dagesztanka', 'Kodrinszkaja', 'Kutuzovka', 'Perszpektivnaja' és '2115') értéke volt a kiemelkedő, melyek között nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni. Az összfenoltartalom vizsgálatánál három kiemelkedő fajta ('Kutuzovka', 'Melitopolszkaja krapcsataja' és 'Kodrinszkaja') volt, amelyek között nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni, de mindhárom fajta TPC értékei jelentősen meghaladták a jelenleg termesztésben lévő fajtáknál mért legnagyobb összpolicfenoltartalmat.

A három módszert együttesen figyelembe véve a legnagyobb antioxidáns kapacitású fajtának a 'Kutuzovka' bizonyult, de a 'Melitopolszkaja krapcsataja', 'Dagesztanka' és 'Kodrinszkaja' is felhasználható lehet nagy antioxidáns kapacitású, kedvező egészségi hatású fajták előállítására. A nemesítési programba történő beemelésükről szóló döntésnek természetesen egyéb értékmérő tulajdonságok (gyümölcsméret, cukor- és savtartalom, színeződés stb.) figyelembe vétele is részét képezi, melyeket körültekintően értékelni kell. Előzetes értékelés alapján úgy tűnik, hogy a kiemelkedő antioxidáns kapacitású fajták közül a 'Dagesztanka' és 'Kodrinszkaja' rendelkezik a legnagyobb (> 7 g) gyümölcsmérettel (3. táblázat), ami fontos szempont, hiszen világszerte a 10-11 g körüli méretű cseresznye termesztése a cél (Kállayné, 2003). A gyümölcsméret kvantitatív tulajdonság, öröklődésének hátterében polimer vagy additív génhatás áll, vagyis a nemesítés során a minél nagyobb gyümölcsméretű szülők alkalmazása növeli a nagy gyümölcsű hibridek előfordulási valószínűségét az utódnemzedékben (Pedryc, 2011). Az oldható szárazanyag-tartalom szempontjából a 'Kodrinszkaja' és 'Kutuzovka' bizonyult ezek közül a legkedvezőbbnek, de ki kell emelni, hogy a 'Dagesztanka' és 'Kutuzovka' fajták feketéspiros, festőlevű gyümölcsseinek nagy antocianintartalma is fontos jellemvonás lehet egy nemesítési programban.

Meghatároztuk mind a 14 fajta S-genotípusát, és besoroltuk őket a megfelelő interinkompatibilitási csoportokba. A nagy antioxidáns kapacitású fajták S-genotípusának megismerése konkrét információt adott egy esetleges funkcionális nemesítési program

elindításával kapcsolatban. Egy ilyen program az áruajták antioxidáns kapacitását lényegesen meghaladó ukrán fajták és más, értékes tulajdonságokkal rendelkező áruajták keresztezésével veheti kezdetét (Díaz-Mula és mts., 2009; Hegedűs és mts., 2010). A gyümölcsök antioxidáns kapacitása alapján kiválasztott, perspektivikus fajták közül a ‘Kodrinszkaja’ (S_4S_5) keresztezési partnereként biztosan nem jöhet szóba például a rendkívül nagy gyümölcsméretű ‘Carmen’ fajta. A ‘Dagesztanka’ fajta a XVI. csoportba tartozik, vagyis keresztezési partnereként nem használható például a ‘Bigarreau Burlat’. A ‘Melitopolszkaja krapcsataja’ fajta a VII. csoportba tartozik, így nem keresztezhető a ‘Hedelfingen’ és ‘Tünde’ fajtákkal.

Korábbi vizsgálatok alapján a népszerű áruajták közül a ‘Santina’ rendelkezett kiemelkedő antioxidáns kapacitással (Díaz-Mula és mts., 2009; Szikriszt és mts., 2011). Tekintettel arra, hogy a fajta öntermékenyülő (S_1S_4), porzópartnerként eredményesen használható bármely fajtával történő keresztezés során. A genotípus ismerete alapján olyan keresztezési kombinációt is tervezhetünk, amelyből kizárólag öntermékenyülő utódok keletkeznek. Erre akkor van lehetőség, ha az S_1 -allélt hordozó (S_1S_X genotípusú, S_X : bármely allél) anyafákat a ‘Santina’ pollenjével termékenyítjük, mert ebben az esetben kizárólag az S_4 -allélt hordozó pollenszemek lesznek képesek a termékenyítésre, vagyis a keresztezésből származó utódok mindegyike hordozni fogja ezt az öntermékenyülést biztosító allélt.

Az ukrán fajták közül a ‘Krimszkaja nocs’, ‘Perszpektivnaja’, ‘Podbelszkaja és ‘Transzportabelnaja’ fajták hordozták az S_1 -allélt. Ezek közül, valamennyi antioxidáns értékelő módszer eredményét figyelembe véve, a ‘Perszpektivnaja’ fajta gyümölcsében mértük a legnagyobb antioxidáns kapacitást, mely elmarad a legnagyobb antioxidáns kapacitású ukrán fajták értékétől, de az ismert áruajták többségénél jelentősen nagyobb. Így a ♀ ‘Perszpektivnaja’ × ♂ ‘Santina’ kombináció jó lehetőséget teremt olyan nagy antioxidáns kapacitású gyümölcsöt termő genotípusok létrehozására, melyek termékenyülési viszonyai semmilyen gondot nem okozhatnak a termesztésben, mert bizonyosan öntermékenyülők lesznek.

Amennyiben a legnagyobb antioxidáns kapacitású ukrán fajtákat (pl. ‘Kodrinszkaja’, ‘Kutuzovka’ és ‘Melitopolszkaja krapcsataja’) kívánják keresztezni például a ‘Santina’ fajtával, az utódok kb. 50 %-a lesz öntermékenyülő. Mivel az új fajták esetében az öntermékenyülés képessége is mind jelentősebb követelmény, a nemesítési folyamatban a szelekciót erre a tulajdonságra nézve is ki lehet terjeszteni. Ehhez azonban ma már jól használható molekuláris markerek is rendelkezésre állnak (Zhu és mts., 2004, Sonneveld és mts., 2005).

Külön kiemelném, hogy a legnagyobb antioxidáns kapacitással rendelkező ‘Kutuzovka’ fajta (az egyetlen a vizsgált fajták közül) valószínűleg egyedi genotípussal rendelkezik, így a jelenlegi árufajták univerzális pollenadójaként használható. Ezek alapján a vizsgált fajták közül a ‘Kutuzovka’ tekinthető a legjobb nemesítési alapanyagnak egy nagy antioxidáns értékű fajta előállításához. A fajta egyedi *S*-genotípusának köszönhetően ugyanakkor bármely ültetvénybe telepíthető és eredményesen termeszthető lenne, ha a különlegesen nagy antioxidáns értékű gyümölcsére kereslet mutatkozna az egészséges élelmiszerek egyre bővülő piacán.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban a gyümölcsök egészségmegőrző hatása egyre fontosabb. Az antioxidáns vegyületek különösen jelentősek, mert additív és szinergista kapcsolatuk szerepet játszik több gyakori és súlyos megbetegedés megelőzésében. A hazánkban jelenleg termesztésben lévő cseresznyefajták viszonylag kis antioxidáns kapacitással rendelkeznek. A nagyobb antioxidáns kapacitású cseresznyefajták hagyományos nemesítéssel történő előállításához elengedhetetlen az adott fajon belüli variabilitás felmérése, és a kimagasló antioxidáns kapacitással rendelkező fajták azonosítása és nemesítési szempontok szerinti jellemzése.

A vizsgálatok során 13 ukrán cseresznyegenotípus gyümölcsének antioxidáns kapacitását jellemeztük három vizsgálati módszer használatával (vas-redukálóképesség, ABTS gyökfogó kapacitás, Folin-Ciocalteu-redukáló kapacitás). A három módszer együttes eredményei alapján a legígéretesebb fajtáknak a 'Kutuzovka', a 'Melitopolszkaja krapcsataja', a 'Dagesztanka' és a 'Kodrinszkaja' bizonyultak, melyek antioxidáns kapacitása jelentősen meghaladta az ismert árufajtákét.

A cseresznye egy többségében önmeddő faj, ezért az eredményes termesztéshez és nemesítéshez ismerni kell a fajták S-genotípusát. A cseresznyefajták nem keresztezhetőek az azonos S-genotípusú fajtákkal. A vizsgált ukrán fajták nemesítési felhasználásának értékelése során a fajták eddig nem ismert S-genotípusát is meg kellett határozni. Összességében a 13 ukrán cseresznyéből 11 fajta és egy hibrid teljes, továbbá egy fajta részleges S-genotípusát határoztuk meg. A fajtákat egy kivételével besoroltuk az ismert inkompatibilitási csoportokba. Ezek alapján meghatároztunk egy esetleges funkcionális nemesítési programban az ígéretesen alkalmazható és a kerülendő fajtakombinációkat.

A ♀ 'Perspektivnaja' × ♂ 'Santina' kombináció például jó lehetőséget kínál olyan nagy antioxidáns kapacitású gyümölcsöt termő genotípusok létrehozására, melyek mindegyike öntermékenyülő. A legnagyobb antioxidáns kapacitással rendelkező fajta ('Kutuzovka') nagy valószínűséggel új, ismeretlen allélt hordoz, vagyis egyedi genotípussal rendelkezik, így univerzális pollenadóként használható. Ezek alapján a 'Kutuzovka' is jó nemesítési alapanyagnak tekinthető egy nagy antioxidáns értékű fajta előállításához.

A kutatás eredményei gazdagítják a cseresznyével kapcsolatos ismereteinket, ugyanakkor közvetlenül felhasználhatóak új, kedvező egészségi hatású gyümölcsöt termő fajták előállítására indított nemesítési programokban.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Apak, R., Guclu, K., Demirata, B., Ozyurek, M., Celik, S.E., Bektasoglu, B., Berker, K.I., Ozyurt, D. (2007): Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, (12): 1496–1547.
2. Apostol, J., Brózik, S. (1998): Cseresznye. In: Soltész M. (szerk.) Gyümölcsfajtaismeret és -használat. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 309–328.
3. Apostol J. (2003): A fontosabb cseresznyefajták ismertetése. In: Hrotkó K.(szerk.) Cseresznye és meggy. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 43–73.
4. Apostol, J. (2005): New sweet cherry varieties and selections in Hungary. *Acta Hort.* 667: 59-64, http://www.actahort.org/books/667/667_5.htm
5. Balogh, E. (2010): Antioxidáns kapacitás meghatározása és ennek kialakításában szerepet játszó vegyületek vizsgálata bogyós gyümölcsök esetében. PhD értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest (Kézirat).
6. Békefi, Zs., Tobutt, K.R., Sonneveld, T. (2003): Determination of (in)compatibility genotypes of Hungarian sweet cherry (*Prunus avium* L.) accessions by PCR based methods. *Int. J. Hort. Sci.*, 9: 37–42.
7. Benzie, I.I.F., Strain, J.J. (1996): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measuring of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239: 70–76.
8. Bíró, Gy. (2003): Funkcionális élelmiszerek, természetes antioxidánsok szerepe az egészségmegőrzésben. <http://www.kfki.hu/chemonet/osztaly/eloadas/birgyorgy.html>
9. Brózik, S. (1962): A 'Germersdorfi' cseresznyefajta termékenyülési viszonyai. *Kísérletügyi Közlemények*, 2: 111–144.
10. Brózik, S. (1971): Fontosabb cseresznyefajták termékenyülési viszonyai. *MÉM.* 1970. évi főbb kutatási eredményei, p. 132–143.
11. Brózik, S., Nyéki, J. (1980): A cseresznye. In: Nyéki, J.(szerk.) Gyümölcsfajták virágzásbiológiája és termékenyülése. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, p. 195–204.
12. Cevallos-Casals, B.A., Byrne, D., Okie, W.R., Cisneros-Zevallos, L. (2006): Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. *Food Chem.*, 96: 273–280.
13. Crane, M. B., Lawrence, W.J.C. (1929): Genetical and cytological aspects of incompatibility and sterility in cultivated fruits. *J. Hort. Sci.*, 7: 276–301.
14. Crane, M.B., Brown, A.G. (1937): Incompatibility and sterility in the sweet cherry, *Prunus avium* L. *J. Pomol. Hort. Sci.*, 15: 86–116.
15. Crane, M.B., Brown, A.G. (1955): Incompatibility and varietal confusion in cherries. *Sci. Hort.*, 11: 53–55.
16. De Candolle, A. (1894): Termesztett növényeink eredete. K.M. Természettudományi Társulat, Budapest.
17. De Cuyper, B., Sonneveld, T., Tobutt, K.R. (2005): Determining selfincompatibility genotypes in Belgian wild cherries. *Mol. Ecol.*, 14: 945–955.
18. Díaz-Mula, H.M., Valero, D., Zapata, P.J., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Serrano, M. (2009): The functional properties of sweet cherry as a new criterion in a breeding program. *Acta Hort.*, 839: 275–280.

19. Entani, T., Iwano, M., Shiba, H., Che, S.F., 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 Cells*, 8: 203–213.
20. Faostat (2009): Agriculture data. [http://apps.fao.org/page/collections?subset = agriculture](http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture)
21. Faust, M., Surányi, D. (1997): Origin and dissemination of cherry. *Hort. Rev.*, 19: 263–317.
22. Gisbert, A.D., Badenes, M.L., Tobutt, K.R., Llacer, G., Romero, C. (2008): Determination of the S-allele composition of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars grown in the southeast of Spain by PCR analysis. *J. Hort. Sci. Biotechn.*, 83: 246–252.
23. Gorinstein, S., Huang, D., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Yamamoto, K., Soliva-Fortuny, R., Martin Belloso, O., Martinez Ayala, A.L., Trakhtenberg, S. (2006): Determination of naringin and hesperidin in citrus fruit by high-performance liquid chromatography. The antioxidant potential of citrus fruit. *Acta Chrom.*, 17: 108–124.
24. Halász, J. (2007): A kajszi önmeddőségét meghatározó S-allél-rendszer molekuláris háttere. Doktori Értekezés, BCE KTK, Budapest (Kézirat).
25. Hegedűs, A., Engel, R., Abrankó, L., Balogh, E., Blázovics, A., Hermán, R., Halász, J., Ercisli, S., Pedryc, A., Stefanovits-Bányai, É. (2010): Antioxidant and antiradical capacities in apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruits: variations from genotypes, years and analytical methods. *J. Food Sci.*, 75(9): C722–C730.
26. Huang, D.J., Ou, B.X., Prior, R.L. (2005): The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agr. Food Chem.*, 53: 1841–1856.
27. Ipek, A., Gulen, H., Akcay, M.E., Ipek, M., Ergin, S., Eris, A. (2011): Determination of self-incompatibility groups of sweet cherry genotypes from Turkey. *Gen. Mol. Res.*, 10: 253–260.
28. Kállay, T.-né (2003): A cseresznye és a meggy gazdasági jelentősége, a termesztés jelenlegi helyzete. In: Hrotkó K. (szerk.) *Cseresznye és meggy. Mezőgazda Kiadó*, Budapest, p. 12–22.
29. Kim, D.-O., Heo, H.J., Kim, Y.J., Yang, H.S., Lee, C.Y. (2005): Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. *J. Agr. Food Chem.*, 53: 9921–9927.
30. Kollár, G. (2003) A cseresznye és a meggy tárolása és feldolgozása. In: Hrotkó, K. (szerk.) *Cseresznye és meggy. Mezőgazda Kiadó*, Budapest, p. 365–370.
31. Lacis, G., Kaufmane, E., Rashal, I., Trajkovski, V., Iezzoni, A. (2008): Identification of self-incompatibility alleles in Latvian and Swedish sweet cherry genetic resources collections by PCR based typing. *Euphytica*, 160: 155–163.
32. Lapins, K. O. (1971): ‘Stella’, a self-fruitful sweet cherry. *Can. J. Plant Sci.*, 51: 252–253.
33. Lewis, D. (1948): Structure of the incompatibility gene I. Spontaneous mutation rate. *Heredity*, 2: 219–236.
34. Liu, R.H. (2003): Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 78: 517–520.

35. Marchese, A., Bošković, R.I., Caruso, I., Raimondo, A., Cutuli, M., Tobutt, K.R. (2007a): A new self-compatibility haplotype in the sweet cherry 'Kronio', S_5' , attributable to a pollen-part mutation in the *SFB* gene. *J. Exp. Bot.*, 58: 4347–4356.
36. Marchese, A., Tobutt, K.R., Raimondo, A., Motisi, A., Bošković, R.I., Clarke, J., Caruso, T. (2007b): Morphological characteristics, microsatellite fingerprinting and determination of incompatibility genotypes of Sicilian sweet cherry cultivars. *J. Hort. Sci. Biotechn.*, 82: 41–48.
37. Matthews, P., Dow, K.P. (1969): Incompatibility groups: sweet cherry (*Prunus avium*). In: Knight, R.L. (szerk.) *Abstract Bibliography of Fruit Breeding & Genetics to 1965*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, p. 540–544.
38. 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: 955–957.
39. McCune, L.M., Kubota, C., Stendell-Hollis, N.R., Thomson, C.A. (2011): Cherries and health: a review. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, 51: 1–12.
40. MgSZH (2011): Nemzeti fajtajegyzék. Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal, Budapest, <http://www.mgszh.gov.hu>.
41. Miller, N.J., Rice-Evans C., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner A. (1993): A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.*, 84: 407–412.
42. Mohácsy, M., Maliga, P. (1956): Cseresznye és meggytermesztés. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
43. Mulabagal, V., Lang, G.A., DeWitt, D.L., Dalavoy, S.S., Nair, M.G. (2009): Anthocyanin content, lipid peroxidation and cyclooxygenase enzyme inhibitory activities of sweet and sour cherries. *J. Agr. Food Chem.*, 57: 1239–1246.
44. Nettancourt, de D. (2001): Incompatibility in angiosperms. Springer-Verlag, New York.
45. Nyéki, J. (1974): Meggyfajták virágzása és termékenyülése. Kandidátusi értekezés, MTA, Budapest.
46. Nyéki, J., Szabó, Z., Szabó, T. (2003). A cseresznye és meggy virágzása, termékenyülése és a fajták társítása. In: Hrotkó, K. (szerk.) *Cseresznye és meggy*. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 96–113.
47. Ortega, E., Sutherland, B.G., Dicenta, F., Bošković, R., Tobutt, K.R. (2005): Determination of incompatibility genotypes in almond using first and second intron consensus primers: detection of new *S*-alleles and correlation of reported *S* genotypes. *Plant Breeding*, 124: 188–196.
48. Ozgen, M., Durgac, C., Serce, S., Kaya, C. (2008): Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. *Food Chem.*, 111: 703–706.
49. Papp, N., Szilvássy, B., Abrankó, L., Szabó, T., Pfeiffer, P., Szabó, Z., Nyéki, J., Ercisli, S., Stefanovits-Bányai, É., Hegedűs, A. (2010): Main quality attributes and antioxidants in Hungarian sour cherries: identification of genotypes with enhanced functional properties. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 45: 395–402.

50. Pedryc A. (2011): A növénynemesítés alapfogalmai. In: A genetika és növénynemesítés alapjai. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest.
51. Pór, J., Faluba, Z. (1982): Cseresznye és meggy. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, p. 49–56.
52. Roversi, A., Ughini, V., Albanese, R. (1998): Investigation on the overlapping flowering of 6 varieties of sweet cherry. *Acta Hort.*, 468: 609–613.
53. Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B., Battino, M. (2005): Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21: 207–213.
54. Schuster, M., Flachowsky, H., Köhler, D. (2007): Determination of self-incompatible genotypes in sweet cherry (*Prunus avium* L.) accessions and cultivars of the German Fruit Gene Bank and from private collections. *Plant Breeding*, 126: 533–540.
55. Serrano, M., Diaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillen, F., Martinez-Romero, D., Valverde, J.M., Valero, D. (2009): Maturity stage at harvest determines the fruit quality and antioxidant potential after storage of sweet cherry cultivars. *J Agr Food Chem.*, 57: 3240–3246.
56. Serrano, M., Guillen, F., Martinez-Romero, D., Castillo, S., Valero, D. (2005): Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages. *J. Agr. Food Chem.*, 53: 2741–2745.
57. Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid „reagents”. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16: 144–158.
58. Soltész, M. (1998): A fajták megválasztása. In: Soltész, M. (szerk.) Gyümölcsfajtaismeret és -használat. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 59–73.
59. Sonneveld, T., Robbins, T.P., Boškovic, R., Tobutt, K.R. (2001): Cloning of six cherry self-incompatibility alleles and development of allele-specific PCR detection. *Theor. Appl. Genet.*, 102: 1046–1055.
60. Sonneveld, T., Robbins, T.P., Tobutt, K.R. (2006): Improved discrimination of self-incompatibility *S-RNase* alleles in cherry and high throughput genotyping by automated sizing of first intron polymerase chain reaction products. *Plant Breeding*, 125: 305–307.
61. Sonneveld, T., Tobutt, K.R., Robbins, T.P. (2003): Allele-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (*S*) alleles S_1 to S_{16} using consensus and allele-specific primers. *Theor. Appl. Genet.*, 107: 1059–1070.
62. Sonneveld, T., Tobutt, K.R., Vaughan, S.P., Robbins, T.P. (2005): Loss of pollen *S*-function in two self-compatible selections of *Prunus avium* is associated with deletion/mutation of an *S* haplotype-specific *F-box* gene. *Plant Cell*, 17: 37–51.
63. Stratil, P., Klejdus, B. Kuban, V. (2007): Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*, 71: 1741–1751.
64. Sutherland, B.G., Robbins, T.P., Tobutt, K.R. (2004): Primers amplifying a range of *Prunus* *S*-alleles. *Plant Breeding*, 123: 582–584.
65. Szabó, Z., Balmer, M., Fieszl, Cs., Farkas, J. (2011): Fajtahasználat. In: Nyéki, J., Soltész, M., Szabó, Z. (szerk.) Intenzív cseresznyetermesztés. Debreceni Egyetem, AGTC Kutatási és Fejlesztési Intézet, Kecskeméti Főiskola, Kertészeti Főiskolai Kar, 9–28.

66. Szikriszt, B., Papp, N., Taller, D., Halász, J., Nyéki, J., Szabó, Z., Stefanovits-Bányai, É., Hegedűs, A. (2011): Preliminary evaluation of breeding perspectives of Ukrainian sweet cherry cultivars: nutraceutical properties and self-incompatibility. *Int. J. Hort. Sci.*, in press.
67. Szilvássy, B., Papp, N. (2008): Lehet-e funkcionális élelmiszer a csonthéjas gyümölcsökből? XXIX. Országos Tudományos Diákköri Konferencia dolgozat, BCE-ÉTK Alkalmazott Kémia Tanszék, Budapest.
68. Tao, R., Yamane, H., Sugiura, A. Murayama, H., Sassa, H., Mori, H. (1999): Molecular typing of S-alleles through identification, chracterization and cDNA cloning for S-RNases in sweet cherry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 124: 224–233.
69. Terpó, A. (1974): Gyümölcsstermő növényeink rendszertana és földrajza. In: Gyúró, F. (szerk.) A gyümölcsstermesztés alapjai. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 4: 103–131.
70. Tobutt, K.R., Sonneveld, T., Bekefi, Z., Bošković, R. (2005): Cherry (in)compatibility genotypes an updated cultivar table. *Acta Hort.*, 663: 667–671.
71. Tomcsányi, P. (1979): Gyümölcsfajtáink. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
72. Tóth, M., Simon, G., (2009): Cseresznye. In: Tóth, M. (szerk.) Gyümölcsfaj- és fajtaismeret. Budapesti Corvinus Egyetem Gyümölcsstermő Növények Tanszék, Budapest, p. 85–102.
73. Usenik, V., Fabcic, J., Stampar, F. (2008): Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.*, 107: 185–192.
74. Ushijima, K., Sassa, H., Dandekar, A.M., Gradziel, T.M., Tao, R., Hirano, H. (2003): Structural and transcriptional analysis of the self-incompatibility locus of almond: identification of a pollen-expressed *F-box* gene with haplotype-specific polymorphism. *Plant Cell*, 15: 771–781.
75. Ushijima, K., Sassa, H., Tao, R., Yamane, H., Dandekar, A.M., Gradziel, T.M., Hirano, H. (1998): Cloning and characterization of cDNAs encoding S-RNases from almond (*Prunus dulcis*): primary structural features and sequence diversity of the S-RNases in *Rosaceae*. *Mol. Gen. Genet.*, 260: 261–268.
76. Ushijima, K., Yamane, H., Watari, A., Kakehi, E., Ikeda, K., Hauck, N.R., Iezzoni, A.F., Tao, R. (2004): The S haplotype-specific F-box protein gene, *SFB*, is defective in self-compatible haplotypes of *Prunus avium* and *P. mume*. *Plant J.*, 39: 573–586.
77. Vavilov, N.I. (1926): The mountainous districts as the home of agriculture. Studies on the origin of cultivated plants. *Bul. Appl. Bot. in: Plant Breeding*, 16: 218–220.
78. Veres, Zs., Domokos-Szabolcsy, É., Koroknai, J., Dudás, L., Holb. I., Nyéki, J., Fári, M.G. (2003): Hungarian fruits and vegetables of high antioxidant activity as functional foods (Review). *Int. J. Hort. Sci.*, 9: 13–21.
79. Wiersma, P.A., Wu, Z., Zhou, L., Hampson, C., Kappel, F. (2001): Identification of new self-incompatibility alleles in sweet cherry (*Prunus avium* L.) and clarification of incompatibility groups by PCR and sequencing analysis. *Theor. Appl. Genet.*, 102: 700–708.
80. Wünsch, A., Hormaza, J.I. (2004): Genetic and molecular analysis in ‘Cristobalina’ sweet cherry, a spontaneous self-compatible mutant. *Sex. Plant Reprod.*, 17: 203–210.

81. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (1997): Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, 670.
82. Zajkás, G. (2004): Magyarország nemzeti táplálkozáspolitikája. Nemzeti Népegészségügyi Program, Budapest.
83. Zhu, M., Zhang, X., Zhang, K., Jiang, L., Zhang, L. (2004): Development of a simple molecular marker specific for detecting the self-compatible *S*₄' haplotype in sweet cherry (*Prunus avium* L.). Plant Mol. Biol. Rep., 22: 387–398.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm a témavezetőmnek, *Dr. Hegedűs Attilának* a pozitív hozzáállását, a dolgozat írását segítő tanácsait, ötleteit, bátorítását, az építő kritikákat, és a rengeteg időt és figyelmet, amit a témának szentelt. Külön köszönetet érdemel a dolgozat alapos ellenőrzéséért, a formázási, helyesírási hibák és a hivatkozások többszöri javításáért.

Köszönöm másik témavezetőmnek, *Dr. Szikriszt Bernadettnek* a szakmai útmutatást, a közös munkára fordított sok időt és energiát, a kiemelkedő precízitását és odaadását, amivel a molekuláris munkákat segítette.

Köszönettel tartozom *Dr. Pedryc Andrzejnek*, a BCE Genetika és Növénytermesztés Tanszék vezetőjének kutatási témám támogatásáért és az általam végzett munka iránti érdeklődéséért.

Köszönetet érdemel *Stefanovitsné Dr. Bányai Éva* egyetemi tanár, aki lehetővé tette számomra a BCE ÉTK Alkalmazott Kémia Tanszék laboratóriumában a vizsgált fajták gyümölcsének antioxidáns értékelését.

Hálás vagyok *Papp Nóra PhD hallgatónak*, aki megtanította és figyelemmel kísérte az analitikai módszerek használatát, és a kísérletek és eredmények értékelése során is számíthattam szakmai segítségére.

Köszönet illeti *Dr. Szabóné Erdélyi Éva*, aki segített kiválasztani és elvégezni a szükséges statisztikai módszereket, nem sajnálta az időt a kapott eredmények ellenőrzésére és töretlen jókedvével ösztönözte munkámat.

Köszönöm a mintagyűjtésben nyújtott szakszerű segítségét *Benyóné Dr. György Zsuzsának*, *Gutermuth Ádámnak* és *Dr. Halász Júliának*.

Végül szeretném megköszönni a BCE Genetika és Növénytermesztés és Alkalmazott Kémia Tanszéknek, hogy a rendelkezésemre bocsátotta a vizsgálatokhoz szükséges anyagokat és eszközöket. Továbbá köszönöm mindkét tanszék valamennyi munkatársának idejét, türelmét és segítőkészségét.

A kutatást a TÁMOP- 4.2.2./B-10/1-2010-0023, NKTH-OTKA K68921 és az OTKA K84290 támogatta.

MELLÉKLETEK

Leíró statisztika

FAJTA	FRAP			TEAC			TPC		
	átlag	Szórás	elemszám	átlag	szórás	elemszám	átlag	szórás	elemszám
2115	3,96	0,18	6	45,33	5,91	17	6,09	0,35	5
Bujnajszkaja	2,48	0,07	6	27,4	2,31	6	4,65	0,33	5
Dagesztanka	5,20	0,08	6	47,09	4,05	6	6,72	0,45	6
Junszkaja rannaja	1,00	0,07	5	37,29	3,37	12	4,02	0,16	6
Kodrinszkaja	5,59	0,25	6	49,87	2,75	6	7,90	0,24	5
Krimszkaja nocs	3,88	0,39	6	29,01	21,85	12	4,91	0,27	6
Krupnoplodnaja	3,56	0,35	5	36,57	2,62	18	4,99	0,45	6
Kutuzovka	6,80	0,16	6	45,76	3,88	6	8,14	0,64	5
Melitopolszkaja krapcsataja	4,81	0,20	6	56,99	4,22	18	8,00	0,50	5
Perszpektivnaja	3,49	0,56	10	49,09	4,93	18	6,59	0,49	11
Podbelszkaja	2,92	0,30	5	37,14	5,61	6	4,61	0,27	4
Transzportabelnaja	2,18	0,12	5	33,29	3,22	6	3,86	0,27	4
Truzsenyica sztyepi	1,20	0,12	6	26,3	1,39	12	3,29	0,24	6
Van	0,83	0,06	6	34,52	3,28	11	5,51	0,41	6
összesítve	3,472203	1,73282	84	40,33	16,51	160	5,71	1,55	80

Duncan táblázatok

a. Vasredukáló képesség (Ferric reducing Antioxidant Power)

Fajta	elemszám	FRAP									
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Van	6	0,83									
Junszkaja rannaja	5	1,00	1,00								
Truzsenyica sztyepi	6		1,20								
Transzporthelena	5			2,18							
Bujnajszkaja	6			2,48							
Podbelszkaja	5				2,92						
Perszpektivnaja	10					3,49					
Krupnoplodnaja	5					3,56					
Krimszkaja nocs	6						3,88				
2115	6						3,96				
Melitopolszkaja krapcsataja	6							4,81			
Dagesztanka	6								5,20		
Kodrinszkaja	6									5,59	
Kutuzovka	6										6,80
Sig.		0,28	0,23	0,06	1,00	0,69	0,61	1,00	1,00	1,00	1,00

b. Troloxra vonatkoztatott antioxidáns kapacitás(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

Fajta	elemszám	TEAC				
		A	B	C	D	E
Truzsenyica sztyepi	12	26,30				
Bujnajszkaja	6	27,40				
Krimszkaja nocs	11	31,30	31,30			
Transzportabelnaja	6	33,29	33,29	33,29		
Van	11	34,52	34,52	34,52	34,52	
Krupnoplodnaja	18	36,57	36,57	36,57	36,57	
Podbelszkaja	6	37,14	37,14	37,14	37,14	
Junszkaja rannaja	12	37,29	37,29	37,29	37,29	
2115	17		45,33	45,33	45,33	45,33
Kutuzovka	6		45,76	45,76	45,76	45,76
Dagesztanka	6			47,09	47,09	47,09
Perspektivnaja	18				49,09	49,09
Kodrinszkaja	6				49,87	49,87
Melitopolszkaja krapcsataja	18					56,99
Sig.		0,18	0,05	0,07	0,08	0,05

Összes polifenol tartalom (Total Phenol Content)

Fajta	elemszám	TPC						
		A	B	C	D	E	F	G
Truzsenyica sztyepi	6	3,29						
Transzportabelnaja	4		3,86					
Junszkaja rannaja	6		4,02					
Podbelszkaja	4			4,61				
Bujnajszkaja	5			4,65				
Krimszkaja nocs	6			4,91				
Krupnoplodnaja	6			4,99				
Van	6				5,51			
2115	5					6,09		
Perszpektivnaja	11						6,59	
Dagesztanka	6						6,72	
Kodrinszkaja	5							7,90
Melitopolszkaja krapcsataja	5							8,00
Kutuzovka	5							8,14
Sig.		1,00	0,51	0,16	1,00	1,00	0,58	0,35