

**BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM
SZŐLÉSZETI ÉS BORÁSZATI INTÉZET
SZŐLÉSZETI TANSZÉK
BUDAPEST**

**Az SCC8 marker alkalmazhatóságának vizsgálata a magvatlan
csemegeszőlő-nemesítésben**

Sojnóczki Annamária
Kertészmérnök Bsc szak
IV.évfolyam

Témavezető: Dr. Deák Tamás, egyetemi adjunktus

Tartalom

1	Bevezetés	3
1.1	Célkitűzések	4
2	Irodalmi áttekintés	5
2.1	A szőlő (<i>Vitis vinifera</i> L.) és termesztése	5
2.2	A szőlőnemesítés rövid története különös tekintettel a rezisztencianemesítésre	6
2.2.1	A szőlő rezisztencianemesítése napjainkban	8
2.3	Csemegeszőlő nemesítés	9
2.3.1	Csemegeszőlő-nemesítés Magyarországon	9
2.4	A magvatlan csemegeszőlő termesztési jelentősége	11
2.5	A szőlő magvatlanságának típusai	12
2.6	A szőlő-magvatlanság genetikai háttere	14
2.6.1	A magvatlanság lehetséges génjelöltjei	15
2.7	A szőlő magvatlanságának markerezése	16
2.7.1	Molekuláris genetikai markerek	16
2.7.2	SCAR, CAPS markerek	17
2.7.3	A szőlő sztenospermokarp magvatlanságához kapcsolt markerek keresése	18
2.7.4	A szőlő magvatlanságához kapcsolt SCC8 SCAR-CAPS marker	19
2.7.5	A marker továbbfejlesztése	21
3	Anyagok és módszerek	25
3.1	A vizsgált növényanyag	25
3.2	Felhasznált módszerek	27
3.2.1	Mintagyűjtés	27
3.2.2	DNS kivonás	27
3.2.3	A szőlő-magvatlanságához kapcsolt SCAR-CAPS marker használata	28
4	Eredmények és megvitatásuk	30
4.1	Magyarországi rezisztens csemegeszőlő-nemesítésben használt fajták és vonalak	30
4.2	Hibridcsaládok	32
4.2.1	03-7 család (40/4 × Superior seedless) kiemeltek	32
4.2.2	06-7 család (VRH 3082-1-42 (BC4) × Kismis moldavszkij) × Fantasy seedless kiemeltek	32
4.2.3	07-12 család (Dzsandzsál kara × Laszta) × (Katta kurgan × Perlette)	33
4.3	Az irodalomban közölt és a továbbfejlesztett marker összehasonlítása	35
4.4	A marker alkalmazhatósága az ismert SCC8 genotípusok alapján	35
4.4.1	Az SCC8 marker elméleti alkalmazhatósága az egyes keresztezésekben	37
5	Összefoglalás, következtetések	40
6	Irodalomjegyzék	41
7	Köszönetnyilvánítás	48

1 Bevezetés

Az emberi történelem kezdetekor őseink is alkalmazták a szelekciót eleinte véletlenszerűen, később a megfigyeléseik alapján egyre tudatosabban. Az ókori Rómában Vergilius is a legnagyobb gabonamag szemek évenkénti kiválogatásáról és nemesítéséről tudósít. CELSUS írta: „Ahol a gabona és a termés kicsi, a legjobb búzakalászt kell kiválogatnunk, és ezeknek magjait külön megőriznünk.” (CZEIZEL, 1983). A látható tulajdonságok fenotípusos megfigyelésének vizsgálata, az organizmus szintű megfigyelések a klasszikus genetika ma is élő tudományterületét képezik, ami máig meghatározza a gyakorlati növénynemesítés módszertani bázisát (VELICH, 2001).

A 20. sz. második felétől, a DNS szerkezetének és biológiai funkciójának felfedezésétől eltelt alig több mint 50 év alatt a DNS alapú vizsgálatok széles körben elterjedtek, mára már nem csak célzottan az adott témával foglalkozó kutatók mindennapjainak részei. A DNS alapú molekuláris markerezés témaköre széles területet ölel fel számos alkalmazási lehetőséggel, megközelítéssel, technikával. A molekuláris markerek több szinten szolgálhatnak értékes információval a növénynemesítő számára. A nemesítés során számításba vehető genotípusok – és általában egy adott növényfaj fajtái, fajtái – származásának és rokonsági kapcsolatainak molekuláris markereken alapuló precíz meghatározása segíti a keresztezések megtervezését. A keresztezések elvégzésével nem fejeződik be azonban a nemesítő munkája, sőt, ekkor kezdődik csak igazán. A szelekció összetett folyamatát a nemesítési programban egyes kiemelt hangsúllyal kezelt tulajdonságok molekuláris markerezése felgyorsíthatja, leegyszerűsítheti. Egyes esetekben (pl. rezisztenciagének piramidálása) molekuláris markerekkel olyan genotípus szelekció is lehetővé válik, amelynek kivitelezése fenotípusos értékeléssel a gyakorlatban rendkívül időigényes és nehézkes, szinte lehetetlen.

A csemegeszőlő-nemesítésben alapvető igény a magvatlan genotípusok nemesítése, a világpiacon egy-két fajta kivételével kizárólag magvatlan csemegeszőlő kereskedelme folyik (SPIEGEL-ROY és mts., 1990; BOUQUET és DANGLOT, 1996). A szőlőnek 3-4 év kell, hogy termőre forduljon, vagyis hogy fürtöt fejlesszen, tehát a magvatlanságra utaló jeleket a nemesítési eljárás korai szakaszában nem lehet még megfigyelni. A molekuláris markerek használatával lehetőség van rá, hogy magonc korban már szelekciót lehessen végrehajtani. Ezzel számottevő időt és helyet lehet megtakarítani, nem is beszélve a tőkék felnevelésének, fenntartásának költségeiről. Bizonyos esetekben – mint pl. a magvatlan $\times$ magvatlan keresztezések – az utódnemzedék felneveléséhez *in vitro* embriómentésre van szükség, amelynek használata szintén rendkívül munka- és időigényes. Ezekben az esetekben szintén központi szerep juthat a molekuláris markereknek.

A szőlő nemesítése során kiemelt figyelmet érdemel a rezisztencia. Különösen igaz ez a csemegeszőlő nemesítésre, ahol a frissen fogyasztott gyümölcs növényvédőszer-maradvány

tartalma illetve a biotermesztésre való alkalmasság fontos szempont. A különböző rezisztencia-forrásokból származó rezisztenciagének beépítését az értékes, jó minőségű fajtákba nagymértékben felgyorsítja a markerekre alapozott szelekció. A markerek használata nélkülözhetetlen azokban az esetekben, amelyekben azonos fenotípusos hatású, de különböző rezisztencia gének kombinálása a cél.

1.1 Célkitűzések

Munkám során a magyarországi rezisztens csemegeeszőlő-nemesítésben használt nemesítési alapanyagokat, vonalakat, fajtákat vizsgáltam a szőlő sztenospermokarp magvatlanságához kapcsolt DNS alapú markerrel. Ennek során az alábbi célokat tűztem magam elé.

- A szakirodalomból ismert, a sztenospermokarp magvatlanságának kialakulásáért felelős *Sd1* domináns inhibitor génhez kapcsolt SCC8 SCAR-CAPS marker alkalmazhatóságát a vizsgált genotípusokon.
- Az SCC8 marker alapján korábban a Szőlészeti Tanszéken kifejlesztett marker validálását, illetve alkalmazhatóságának a fentiekhez hasonló széles körű tesztelését.
- Céлом volt továbbá annak megállapítása, hogy az esetleges rekombinánsok, illetve null allélok jelenléte, gyakorisága mennyiben befolyásolhatja, korlátozhatja a marker alkalmazhatóságát?

2 Irodalmi áttekintés

2.1 A szőlő (*Vitis vinifera* L.) és termesztése

A *Vitis* nemzetséget magába foglaló *Vitaceae* család az APG (Angiosperm Phylogeny Group) III (BREMER és mts., 2009) rendszerezése szerint a virágos növények evolúciós törzsfáján a Valódi kétszikűek (*Eudicots*) Központi helyzetű kétszikűek (*Core eudicots*) csoportjába, ezen belül a *Rosid* klád *Vitales* vagyis szőlővirágúak rendjébe tartozik. Az APG III rendszere szerint a rend izolált, alapi helyzete a *Rosid* kládon belül és az, hogy a *Fabids* és *Malvids* kládoknak testvérkládja, jelenleg elfogadható ugyan, de ennek támogatottsága viszonylag alacsony (WANG és mts., 2009). A *Vitis* nemzetség 2 alnemzetséget tartalmaz: az *Euvitis*-t vagy valódi szőlőt és a *Muscadinia* alnemzetséget (PATIL és mts., 1995).

A kerti szőlő (*Vitis vinifera* L., *Euvitis*), az egyetlen ma élő európai eredetű szőlőfaj. Számtalan fajtát tartalmaz, ideértve a kék és a fehér szőlőket is (KANELLIS és ROUBELAKIS-ANGELAKIS, 1993). A *V. vinifera* és hibridjei adták a világ szőlőfajtáinak több mint 90%-át (PATIL és mts., 1995). A kerti szőlőt a legtöbb szerző a ligeti szőlőtől (*Vitis vinifera* L. *subsp. sylvestris* [C.C.GMEL.] HEGI *syn. Vitis sylvestris* C.C.GMEL.) származtatja.

A szőlő az emberiség legrégebben termesztett kultúrnövényei közé tartozik. A szőlőtermesztésbe vonásának története szorosan összefügg a borkészítés kultúrájával. A borkészítésre vonatkozó legrégebbi bizonyítékot a mai Irán északi részéről Hajji Firuz Tepe területéről írták le, Kr.e. 5400-5000 körülről. A legrégebbi termesztett szőlő mag leletek Grúzia és Törökország területéről ismertek Kr.e. 6000-ból. (BÉNYEI és mts., 1999, THIS és mts., 2006). A szőlőtermesztés és a szőlő, továbbá a belőle készített bor szorosan kapcsolódik a mezőgazdaság, a kereskedelem fejlődéséhez, meghatározó eleme volt – és a mai napig az is maradt – az emberi kultúra fejlődésének. Európa szinte minden népének folklórjában szerepel a szőlőültetés legendája. Az antik kultúrák isteneket rendeltek a borhoz. A görög mitológiában Dionüszosz, a rómaiban Bacchus a szőlőtermesztés, a bor, és a mámor istene, és az, aki elhozta az első szőlővenyigét az embereknek. A szőlő és a bor Homérosz Iliászában és az Odüsszeiában is többször előfordul. A görög épületedíszek gyakran szőlőindát mintáznak. A szőlőből készült borra egész gazdaságok és közösségek épültek (OLMO, 1976). COLUMELLA római író a *De re rustica* című 12 kötetes munkájában részletes tanácsokat ad a szőlő metszésével kapcsolatban, amelyek többsége ma is megfontolandó. A magyarországi szőlőtermesztés első jeleit az ásatásokból előkerülő sokféle szőlőművelő szerszám (metszőkés, kapa stb.) is igazolja. A honfoglaló magyarok már itt találták a szőlőt, és letelepedésük után hamar elsajátították a szőlőművelést. Mátyás király adókedvezményt adott a szőlőt telepítőknek, a korvinák iníciáléjait pedig szőlőmotívumok gazdagítják. A szőlőnek mint gyümölcsnek nem tulajdonítottak nagy jelentőséget, csak a filoxéravész utáni felújításkor

került hazánkba néhány, akkor korszerű csemegeaszőlőfajta, és ezt követően indult meg a nagy sikereket hozó hazai csemegeaszőlő-nemesítés is. (BÁLINT GYÖRGY, 2011)

A világon évente mintegy 64,5 millió tonna szőlőt termesztenek, az alma és a banán után a szőlő a harmadik legnagyobb mennyiségben termesztett gyümölcs¹. A világon körülbelül 7,6 millió hektáron termesztenek szőlőt, a termés jelentős része a bortermelésben hasznosul. A világ szőlőtermésének mintegy 33%-ka² kerül felhasználásra csemegeaszőlőként.³

2.2 A szőlőnemesítés rövid története különös tekintettel a rezisztencianemesítésre

A szőlőmagok szállításának, vagyis a generatív szaporításnak, a nagy jelentősége lehetett a szőlő domesztikációjának kezdetén és az új szőlőtermő vidékek kialakulása során (THIS és mts., 2006). Az egyes bortermő vidékeken bizonyított „fajtákat” ezután vegetatív úton szaporították, amíg az 1860-as években az Észak-Amerikából érkező filoxéra (szőlőgyökér-tetű) megtizedelte Európa szőlőültetvényeit. Az amerikai kontinensről származó kártevő, a szőlőgyökér-tetű Európában először Franciaországban bukkant fel 1863-ban. Az itteni, európai szőlőket termeszto gazdák, nem ismerve fel a kártevő életkörülményeit, sokáig nem tudtak védekezni ellene. Így mintegy 30 év alatt a filoxéra elpusztította a kontinens kötött talajra települt nagy múltú szőlőkultúráját. A termőszőlők mintegy 2/3 része esett áldozatul. Magyarországon 1875-ben észlelték először Pancsován (ORTUTAY, 1979). A kártevő minden eurázsiai szőlőfajta gyökerét megtámadja, és egy-két éven belül a tőke pusztulását okozza.

Tartós megoldást a problémára a filoxérával szemben ellenálló alanyok használata jelentette, amelyekre a nemes *V. vinifera* fajtákat oltják. Az ellenálló alanyok és ún. direkttermő fajták nemesítésével a 19. sz. második felében kezdetét vette a szőlő rezisztencia-nemesítése Európában (ALLEWELDT és POSSINGHAM, 1988). Az első ilyen irányú keresztezések „gyümölcsei” a direkttermők. A direkttermő kifejezés egyébként arra utal, hogy az ilyen szőlőoltás nélkül, tehát közvetlenül telepíthető. Az ellenálló képesség és a minőség a direkttermők esetében negatív korrelációban áll egymással. Ennek ellenére a korabeli gyűjtők erős növekedésük és tetszetős lombozatuk miatt számos direkttermőt hoztak be Európába. Magyarországon a TELEKI család volt az alanynemesítés legnevesebb képviselője, akik feltehetően különböző észak-amerikai *Vitis* fajok szabadbeporzású állományából szelektált alanyfajtáikkal ('Teleki 5C', 'Teleki 5BB') írták be magukat a szőlőnemesítés történelmébe (BAKONYI és BAKONYI, 2002). Teleki alanyfajtái és ezek szelekciói még mindig világszerte ismertek és használatban vannak.

A filoxéra (*Daktulosphaira vitifoliae*) mellet a lisztharmat (*Uncinula necator*), és a peronoszpóra (*Plasmopara viticola*) által előidézett gazdasági katasztrófa hatására indult meg tehát

¹ www.faostat.org

² 2008 OIV (International Organisation of Vine and Wine) statisztika, <http://www.oiv.int/oiv/info/enstatovivextracts>

³ 2010, OIV gyorsjelentés, <http://www.oiv.int/oiv/info/enstatistiquessecteurvitivinicole>

Európában a betegségellenálló szőlőfajták nemesítése elsősorban Észak-Amerikából származó vad fajok bevonásával. A szőlőrezisztencia nemesítésének kiinduló pontja jó 100 éve az „ideális szőlőfajta” előállításának gondolata volt. E cél elérését úgy tartották megoldhatónak, hogy az észak-amerikai *Vitis* fajok ellenálló képességét kombinálják az európai szőlő minőségével. Európai, kezdetben főként francia szőlészek, OBERLIN, COUDREC, CASTEL, SEIBEL, BACO, MALEGUE és KÜHLMANN igen nagy számban állították elő az amerikai és eurázsiai fajták komplex hibridjeit, amelyek kezdetben a nemesítő neve és kódszáma alapján váltak ismertté. Az így létrehozott termőhibridek a – direkttermőkkel szemben – nem filoxéra-ellenállóságuk, hanem gombás betegségekkel szembeni ellenálló képességük, valamint elfogadható minőségük miatt voltak jelentősek. Az ezen az úton előállított, ún. franko-amerikai hibrideket, ill. fajtákat a 20. sz. derekán jelentős területen termesztették Európában. A minőség tekintetében részleges sikereket tudtak elérni, mivel a peronoszpóra, lisztharmat és az európai fajták minősége egyaránt poligénikusan öröklődnek. Így a magas szintű rezisztenciák és a minőség egy genotípusba történő kombinálása rendkívül nehéz, vagyis egyedül a poligénikus rezisztenciák felhasználásával „ideális szőlőfajta” nem állítható elő (HOFFMAN, 2008).

Az interspecifikus fajták elsősorban asztali borok készítésére voltak alkalmasak. A fajok közötti keresztezésből származó hibridek elvileg egyenértékűek a *V. vinifera* fajtákkal. Erről az O.I.V. XVI. Kongresszusán, Stuttgartban született határozat. A fajhibrideket azóta nevezzük általánosan „rezisztens” fajtáknak. Ennek ellenére már az EU 2003 előtti borjoga is előírta, hogy minőségi bor készítéséhez csak *V. vinifera* fajhoz sorolható fajták használhatók fel. Az EU új borpiaci rendtartásának kialakítása céljából egy független tanulmányt készítettek a fajhibridekről. A vizsgálatba a 'Villard blanc', a 'Seyval blanc', a 'Bianca', a 'Zalagyöngye', a 'Medina', a 'Regent', a 'Villard noir' és a 'Couderc noir' fajtákat vonták be. Az Európai Bizottság a tanulmány eredményeire való hivatkozással változatlanul fenntartotta a korábbi korlátozását. A tanulmány megállapította, hogy a hibridek a *V. vinifera* fajtákénál rosszabb minőségű bort adnak (ZANATY, 2004). Az Európai Tanács 2008-as rendeletében (479/2008/EK) bortermelésre *Vitis vinifera* fajták mellett már olyan szőlőfajta is használható, amely a *Vitis vinifera* faj és a *Vitis* nemzetséghez tartozó egyéb fajok keresztezéséből jött létre; kivéve a következő interspecifikus fajtákat: 'Noah', 'Othello', 'Isabelle', 'Jacquez', 'Clinton' és 'Herbemont'.

A filoxéravész feltehetően lecsökkentette a szőlőfajták variabilitását, a mai genetikai háttér már csak töredéke a korábbinak, a hazai tájfajták helyett főként a népszerű francia fajták kerültek be a termesztésbe. Mára pedig globalizáció hatására – amely a borászati cégeket és a borpiacokat is elérte – egy-két népszerű világfajta emelkedett fel és uralja a fajtaszortimentet ('Chardonnay', 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot') (THIS és mts., 2006). Bár a világon több mint 10 000 szőlőfajtát

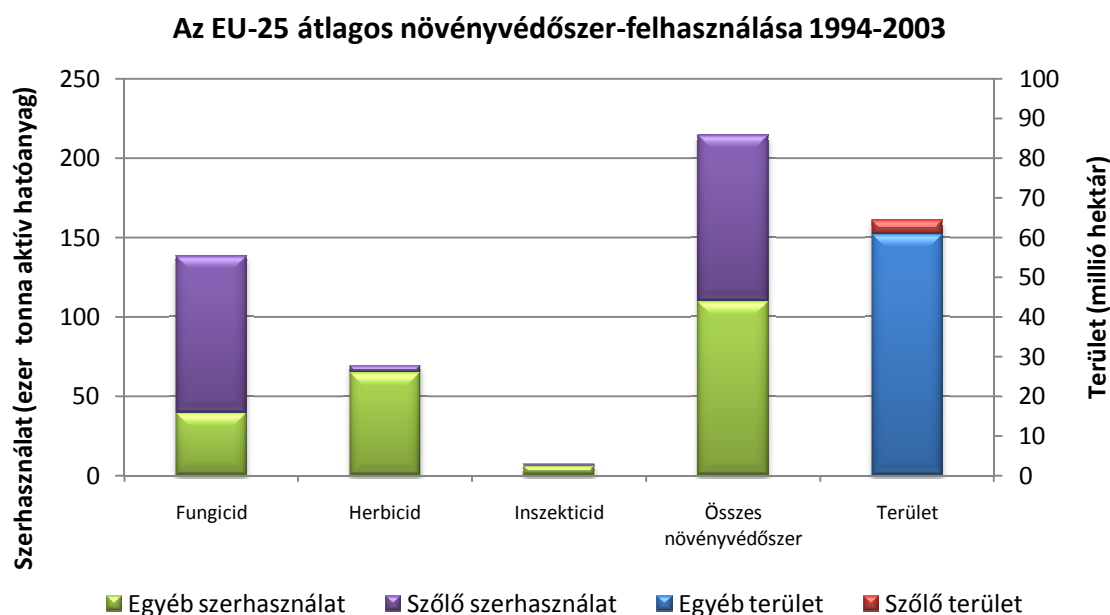
tartanak számon (ALLEWELDT és DETTWEILER, 1994), ezek nagy része mára már csak gyűjteményekben, génbankokban található meg.

2.2.1 A szőlő rezisztencianemesítése napjainkban

Az eurázsiai szőlő, a *V. vinifera* kiváló minőségű termést ad, de fogékony többek között a peronoszpórára, a lisztharmatra és a filoxérára. Más, elsősorban amerikai szőlőfajok e károsítókkal szemben rezisztensek vagy toleránsak, termésük viszont nem igazán alkalmas borkészítésre. Nemesítőink régi törekvése, hogy fajok közötti, idegen szóval interspecifikus hibridekben egyesítsék a szőlőfajok kedvező tulajdonságait.

Mind környezetvédelmi, mind pedig gazdasági szempontból elengedhetetlen a magasfokú rezisztenciákkal és minőséggel rendelkező szőlőfajták előállítása és a gyakorlatba történő bevezetése. A legtöbb nemesítőműhely a mai napig folytatja fajhibrideken alapuló nemesítési programjait. Az újabb (*mono-*, illetve *oligogenikus*) rezisztenciaforrások bevonása lehetővé teszi a visszakeresztezési programok következetes végig vitelét. Mára számos országban bejelentésre kerültek olyan fajhibrid szőlőfajták, amelyek bora nem, vagy csak nehezen különböztethető meg a tiszta *V. vinifera* fajták borától (ALLEWELDT és POSSINGHAM, 1988; BOUQUET és mts., 2000, KOZMA, 2002).

A szőlőtermesztésben kémiai növényvédő szerek használatával a betegségek és kártevők ellen hatékonyan lehet védekezni. Azonban a túlzott növényvédőszer felhasználás azonban mind környezeti, mind egészségi szempontból előnytelen. Kiváltképp csemegeaszőlő termesztéskor, aminek elsődleges célja a friss fogyasztás, a vegyszermaradványok sok esetben kimutathatók és egyes esetekben a kifogásolható szintet is átlépi mind az import, mind a hazai csemegeaszőlő vizsgálata során (MGSZH, 2009). Az Európai Unió területén a növényvédőszer-felhasználásának statisztikai adatait (EUROSTAT, 2007) elemezve kimutathatjuk, hogy az összes növényvédőszer 50%-a, azon belül a fungicidek 70%-a a szőlőültetvényekben kerül felhasználásra, míg az összes művelt területnek csupán a 6%-át foglalják el a szőlőterületek (1. ábra.). Az egyre nagyobb számban megjelenő ökológiai gazdaság, valamint a növényvédőszerek felhasználását korlátozó EU-rendelet is arra mutat, hogy minél ellenállóbb, minőségi fajták nemesítése jelentheti a kiutat (EUROSTAT, 2009).



1. ábra: Az EU-25 átlagos növényvédőszer-felhasználásának adatai 1994-2003 között (forrás: EUROSTAT, 2007).

2.3 Csemegeszőlő nemesítés

A csemegeszőlő-nemesítés jelentős eredményeket ért el már a 19. században és a 20. század elején, amikor Olaszországban BRUNI, PROSPERI és PIROVANO ('Itália' fajta), Franciaországban VIBERT és MOREAU-ROBERT ('Madeleine Royale', a 'Müller Thurgau' pollenadója, DETTWEILER és mts., 2000), az Egyesült Királyságban FOSTER és THOMSON, Magyarországon pedig MATHIÁSZ JÁNOS és STARK ADOLF ('Csaba gyöngye') nemesítettek csemegeszőlő-fajtákat. A nemesítők viszonylag szűk fajtasortimentet használtak fel keresztezéseikben, mint pl. a 'Chasselas', 'Afuz ali', 'Alexandriai muskotály' (VARGAS és mts., 2009). Ez utóbbi fajta a Nemzetközi Szőlőfajta Katalógus (VIVC, Vitis International Variety Catalogue⁴) adatai szerint 207 szőlő genotípus szülőkombinációjában szerepel.

2.3.1 Csemegeszőlő-nemesítés Magyarországon

Magyarországon a tudatos csemegeszőlő-nemesítés MATHIÁSZ JÁNOS és öccse, József munkájával indult. Munkásságuk nemzetközileg is kiemelkedő eredményeket hozott. Mathiász János (1838–1921) világszerte elismert szaktekintély volt, mintegy 3500 hibridet állított elő. Mathiász János előbb Szőlőskén, majd Kecskemét mellett, Katonatelepen nemesített csemegeszőlőt. A fajták folyamatos tanulmányozása és megismerése vezette őt állandó válogatásukhoz, majd értékes tulajdonságaik javításához. Nemesítői célkitűzése nagyfürtű, jól eltartható és szállítható, finom zamatú, bőtermő és az elemi csapásoknak (pl. fagy) ellenálló csemegeszőlő-fajták előállítására.

⁴ <http://www.vivc.de/index.php>

(HAJDU, 2001). Fajtái közül 12 terjedt el nagyobb mértékben (pl. 'Cegléd szépe', 'Erzsébet királyné emléke', 'Ezeréves Magyarország emléke', 'Kecskemét virága', 'Mathiász Jánosné muskotály', 'Szőlőskertek királynője', 'Szaute Gusztávné muskotály'). A világon legismertebb a 'Szőlőskertek királynője' és a 'Csaba gyöngye' (Mathiász hibridje, amelyet Stark Adolf nevelt fel). Fajtái Olaszországban és Kaliforniában is megállták helyüket (GANCZAUGHNÉ A. K., 1999). Az általa előállított új fajtákat keresztezési partnerként használták és használják még ma is – itthon és külföldön egyaránt. Például a 'Pannónia kincse', 'Gloria Hungariae', 'Kocsis Irma', 'Attila', 'Rekord', 'Olympia', Amerikában pedig 'Perlette' és a 'Delight' szülei, vagy egyik szülője Mathiász-fajta. De hasonlóan felhasználják fajtáit Európa számos országban, sőt Izraelben és Japánban is.⁵ A legtöbb szerző a világ egyik legkorábban termő csemegeszőlő fajtáját is, a 'Csaba gyöngyét', MATHIÁSZ nevéhez köti, amelyet azonban már STARK ADOLF szelektált és nevelt fel (PETTENKOFFER, 1930; CSEPREGI és ZILAI, 1988; HAJDU, 2003). Az utóbbi időben végzett molekuláris vizsgálatok azonban cáfolják a fajta feltételezett származását, a 'Bronnerstraube', 'Ottonel muskotály' szülőpárt nem igazolja a fajta RAPD (KOZMA és mts., 2003) és mikroszatellit ujjlenyomata (KISS és mts., 2005; GALBÁCS és mts., 2009).

A 20. századi csemegeszőlő-nemesítés jellegzetes alakja a Kossuth-díjas KOCSIS PÁL (1884–1967). Az általa előállított 14 csemegeszőlő-fajta közül fajtaelismerésben részesült: a 'Gloria Hungariae', a külföldön is elterjedt 'Irsai Olivér', a 'Kocsis Irma' és az 'Attila'. KOCSIS PÁL Kecskeméten végezte munkáját, korai, ízletes, szárazságtűrő fajta nemesítését tűzte ki célul. Az intézményes szőlőnemesítés a Szőlészeti Kutató Intézet Mathiász-telepén (Katona-telep) indult meg MATHIÁSZ JÁNOS és KOCSIS PÁL munkájának folytatásaként. A csemegeszőlő-fajták vizsgálati módszerét DARNAY ERNŐ dolgozta ki. Az intézetben 1958-tól nagyarányú hibridizálás indult meg korai érésű, nagy bogyójú, magvatlan csemegeszőlő és peronoszpóra-rezisztens fajták előállítása érdekében. Az intézeti nemesítői munka eredménye többek között a DARNAY ERNŐ, SZEGEDI SÁNDOR és ERŐS JÁNOS által előállított 'Olimpia', 'Rekord' (GANCZAUGHNÉ A. K., 1999). SZEGEDI SÁNDOR Kecskeméten *V. vinifera* fajták mellett franko-amerikai hibridek felhasználásával is állított elő csemegeszőlő-fajtákat. Munkatársaival közel 40 000 hibridet állítottak elő. Fajtái közül a legfontosabbak a 'Pölöskei muskotály', 'Téli muskotály', 'Kósa', 'Narancsízű', 'Boglárka', 'Favorit' és a 'Teréz' (HAJDU, 2002). A Kecskeméti Szőlészeti Borászati Kutatóintézetben elődei munkáját jelenleg HAJDU EDIT folytatja, elsősorban klónszelekcióval.

Az Egri Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet jogelődjén CSIZMAZIA JÓZSEF és BEREZNAI LÁSZLÓ szintén franko-amerikai hibridek visszakeresztezésével állítottak elő új,

⁵ <http://www.omgk.hu/MGP/MathiaszJanos/mathiasz.html>

rezisztens fajtákat, legfontosabb csemegeszőlő fajtáik a már említett 'Zalagyöngye', 'Bianca', 'Medina' és a 'Nero'.

A Budapesti Corvinus Egyetem Szőlészeti Tanszékének jogelődjén KOZMA PÁL kezdte meg munkatársaival a keresztezéses és szelekciós nemesítést az 1940-es évek végén. Csemegeszőlő-nemesítési munkájában hangsúlyt helyezett a muskotályos ízre és részben a fagy- illetve téltűrésre, a betegség ellenállóságra, a termésidőre és a szállíthatóságra. Bor- és csemegeszőlő –nemesítési tevékenysége során közel 10 000 *V. vinifera* és interspecifikus magoncot állított elő. Legfontosabb csemegeszőlő fajtái a 'Palatina' ('Augusztusi muskotály') és a 'Kozma Pálné muskotály'. A rezisztencianemesítésben 'Seibel' és 'Seyve-Villard' franko-amerikai hibrideket használt rezisztenciaforrásként. SZ. NAGY LÁSZLÓ – immár magán-nemesítőként – részben továbbvitte KOZMA PÁL munkáját. (SZ. NAGY, 2002)

A Budapesti Corvinus Egyetem Genetika és Növény-nemesítés Tanszékének jogelődjén KOLEDÁ ISTVÁN *V. amurensis* RUPRECHT génforrást használt rezisztencianemesítési programjában. Munkáját KORBULY JÁNOS folytatta, továbbra is a *V. amurensis* fajra, illetve lisztharmat-ellenállóság szempontjából a 'Dzsandzsál kara' fajtára alapozva bor- és csemegeszőlő-nemesítési munkáját, amelyben a csemegeszőlő esetében már a magvatlanság is megjelent nemesítési célként. Legutóbb a Pécsi Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetben ifj. KOZMA PÁL kezdett csemegeszőlő-nemesítési programot, amelynek elsődleges célja a magas szintű, „teljes” rezisztencia elérése lisztharmattal és peronoszpórával szemben. Rezisztencia-forrásként *Vitis rotundifolia* × *V. vinifera* BC4 nemzedékéből származó hibridet keresztezett vissza magvatlan fajtákkal. A *V. rotundifolia* eredetű, immunitáns szintű domináns lisztharmat-rezisztencia védelme érdekében a nemesítési programban ezt a gént kombinálja a *V. vinifera* eredetű, szintén domináns *Ren1* génnel. A keresztezési programban magvatlanság forrásként *V. vinifera* fajtákat ('Kismis vatkana', 'Kismis moldavszkij', 'Superior seedless', 'Festival seedless') használ (KOZMA és HOFFMANN, 2010).

2.4 A magvatlan csemegeszőlő termesztési jelentősége

A csemegeszőlő piacának fejlődésével, valamint a trópusi csemegeszőlő-termesztés terjedésével párhuzamosan a csemegeszőlő fajtákkal szemben egyre inkább alapvető igény a magvatlanság (sztenospermokarpia). Ennek megfelelően a korszerű programok mindegyikében magvatlan csemegeszőlő-fajták nemesítése az egyik fő cél (TROGGIO és mts., 2008).

A magnélküli csemegeszőlő kedvelt gyümölcs a fogyasztók körében (PIVA és mts., 2006). Az ősidők óta termesztett, magvatlan, ill. csökevényes magvú, s ezáltal apró bogyójú mazsolaszőlő-fajták keresztezéses nemesítésben való felhasználása nagy bogyójú, magnélküli csemegeszőlő-fajták előállítása céljából a 20. század elején fogalmazódott meg (SLATE és mts., 1962). Azóta a

magnélküli csemegeszőlő-fajták világszerte a csemegeszőlő-fajtaválaszték jelentős részét képezik (PERL és mts., 2000). E fajták általában közepes bogyómérettel rendelkeznek, s fokozatosan felváltják a közepes bogyóméretű magvas fajtákat. A csemegeszőlő-piacokon a magvas fajták közül valóban csak az igen nagy bogyójú, tetszetős, laza fürtökkel rendelkező fajták ('Red Globe', 'Afuz Ali', 'Italia') általánosan elfogadottak és keresettek (KORPÁS, 2008).

2.5 A szőlő magvatlanságának típusai

A termesztett szőlőfajták között *in natura* két eltérő magvatlansági formát ismerünk: a partenokarpiát és a sztenospermokarpiát (STOUT, 1936). Partenokarp termés jellemzi a mazsolaszőlő céllal termesztett 'Fekete korintusi' fajtát, míg a magvatlan csemegeszőlő-fajták esetében a sztenospermokarpia a magvatlanság alapvető formája.

A partenokarp magvatlanság esetében megtermékenyítés nem történik, a bogyók teljes mértékben magvatlanok. A szőlőnél STOUT (1936) megkülönböztetett fakultatív és obligát partenokarpiát. Fakultatív partenokarpiára különböző mértékben és környezeti tényezőktől függően minden fajta hajlamos, legyen az magvas vagy sztenospermokarp magvatlan. Az ún. partenokarp fajták ugyanakkor obligát partenokarpiát mutatnak: az embriózsákok nem funkcióképesek, így a megtermékenyítés nem történik meg a fürt egyetlen bogyójában sem. Igen kis bogyóméretüknél fogva, de főleg amiatt, hogy első- és másodgenerációs keresztezéseik között sem fordultak elő magvatlan egyedek (SLATE és mts., 1962), a kizárólag partenokarp bogyóképzést mutató fajtákat nem használták a magnélküli csemegeszőlő-nemesítés során.

A szőlő sztenospermokarp bogyóképzése, mely a Szultán fajtacsoportra kizárólagosan jellemző, nagyobb bogyóméretet eredményez (PRATT, 1971). Az egyes szőlőfajtákra jellemző sztenospermokarp magvatlanság jelenségét PEARSON (1932) írta le, STOUT (1936) jellemezte részletesen. A sztenospermokarp bogyókban a normális kettős megtermékenyülés bekövetkezik ugyan, ám magok nem fejlődnek ki teljesen az embrió és/vagy az endospermium (tápláló szövet) korai abortálódása miatt. A sztenospermokarp fajták virágai általában hímnősek, funkcionálisak, a 'Thompson Seedless' ('Sultana') pollenje 90 %-os csírázást mutat cukor-agar táptalajon. A 'Sultanina rose' és a 'Black monukka' pollenjei is magas százalékban mutattak csírázást, így ezek a fajták kiválóan alkalmasak pollenadónak. A sztenospermokarp fajták megfelelő terméséhez mindenképpen szükség van megporzásra és termékenyülésre. Ezeknél a fajtáknál is előfordul fakultatív partenokarpia, ám ennek mértéke általában nem haladja meg a magvas fajtáknál tapasztaltakat.

A sztenospermokarpiára hajlamos fajtáknál a magkezdemények épek, ám megporzáskor a belső integumentum megnyúlt, a csírapu mérete pedig meghaladja a magvas fajtáknál tapasztalható méreteket. STOUT (1936) vizsgálatai alapján a sztenospermokarp bogyókban a

legtöbb termő egyes magkezdeményeibe eljut a pollen csíratömlője, ezekben általában bekövetkezik a megtermékenyülés, ám az embriófejlődés megreked. A sztenospermokarp bogyók a legtöbb esetben tartalmaznak többé-kevésbé fejlett magkezdeményeket, ám azok általában puha szövetűek, csökevényesek és jóval kisebbek a normál magméretnél.

Az ilyen bogyók – bár méretük elmarad a magvas csemegeszőlő-fajták bogyóméretétől – jóval nagyobbak, mint a partenokarp magvatlan fajták bogyói, így a csemegeszőlő nemesítésben elsősorban a sztenospermokarpiára hajlamos fajtákat használják magvatlanság-forrásként. A sztenospermokarp, csökevényes magvak tulajdonságai: a magtömeg, a táplálószövet jelenlétének mértéke, a maghéj keménysége kvantitatív bélyegként viselkednek (STRIEM és mts., 1992; DOLIGEZ és mts., 2002; MEJÍA és mts., 2007). A magvatlanság mértéke széles skálán mozog: az apró, de érezhető magkezdeményektől a nagy, de szinte észrevehetetlen magkezdeményekig a tulajdonságnak számos típusa van (STRIEM és mts., 1992). A magoncok között az elenyésző magtömegű, táplálószövet nélküli, puha, zöld maghéjú, a fogyasztó számára nem érezhető magvakkal rendelkezőktől kezdve egészen a kb. 40–50 mg magtömegű, táplálószövet nélküli, kemény, barna maghéjú, hagyományos körülmények között csírázásra képtelen, de a fogyasztó számára érezhető magvakkal rendelkezőkig számos típus előfordulása várható. Késérű ízűknél fogva a fogyasztó számára különösen kellemetlenek az épphogy csak szklerifikálódott, könnyen elharapható magvak, melyek tovább nehezítik a szelekciós munkát (KORPÁS, 2008). A magvatlanságra történő nemesítés során ezért problémát jelent, hogy a tulajdonság kvantitatív jellegű, ugyanis a szabad szemmel nem látható magokkal rendelkező bogyókat ugyanúgy magvatlannak tekintjük, mint az egy-két mm-es, puha magkezdeményeket tartalmazó bogyókat. Mind a termesztés, mind pedig a nemesítés egyik legfontosabb magvatlanság-forrása a 'Thompson Seedless' syn. 'Sultanina' fajta. A VIVC adatai szerint a fajta több mint 100 magvatlan keresztezésben szerepelt közvetlen szülőpartnerként a második generációs 'Thompson Seedless' leszármazottakat nem számítva. Több fajtánál anyai és apai vonalon is megtalálható a fajta, pl. a 'Flame Seedless' esetében [('Cardinal' × 'Sultanina') × (('Red Malaga' × 'Tifafihi Ahmer') × ('Alexandriai muskotály' × 'Sultanina'))]. Kisebb mértékben használják magvatlanság forrásként pl. 'Sultanina rose' syn. 'Kismis rozovij' és a 'Black monukka' fajtákat.

A sztenospermokarp bogyóképzés komplexitásából adódóan a molekuláris biológia fejlődésével egyéb, magvatlanságot kiváltó nemesítési módszerek is felmerültek, úgymint a triploid, ill. a genetikailag módosított fajták. Ezek közül a tetraploid és diploid fajták reciprok keresztezéseiből nyert triploid fajták járnak legelőrébb. Ugyanakkor piacképes fürtöket csak virágzáskori gibberellin-kezelést követően fejlesztenek, mely kedvezően hat a bogyóképzésükre és az egyelőre kicsi-közepes bogyóméretükre (WAKANA és mts., 2007).

A nemesítés mellett a szőlő magvatlansága előidézhető vegyszeres kezelésekkel is. Gibberellinsavval régóta indukálnak magvatlan fürtöket magvas fajtákon (DASS és RANDHAWA, 1968). A magvatlanság kiváltható sztreptomicinnel is (POMMER és mts., 1996), a magvatlanság miatt bekövetkezett bogyóméret-csökkenés pedig gibberellinsavval ellensúlyozható (IKEDA és mts., 2004). Azonban nem megfelelő időpontban, ill. nem megfelelő koncentrációval végzett gibberellin-kezelés viszont elrúgást vagy túl tömött fürtöket, piacképtelen árut eredményez (MAVRIKIOS, 1977). A gibberellin-kezelés továbbá egy-két többletpermetezést igényel. Ráadásul amennyiben az egész lombfelületet kezelik, a virágzatdifferenciálódás a kacskepződés felé tolódik el (BOSS és THOMAS, 2002), s ez által jelentősen csökkenhet a következő évi termés mennyisége (COELHO DE SOUZA LEAO, 2003). Ezt szem előtt tartva a világ számos pontján gibberellin-kezelés nélkül is nagy bogyójú, magnélküli csemegeszőlő-fajtákra törekvő, komoly nemesítői programok alakultak ki (PERL és mts., 2000).

2.6 A szőlő-magvatlanság genetikai háttere

A magvatlan csemegeszőlővel foglalkozó nemesítők a kezdetektől fogva arra törekedtek, hogy a magvatlanság genetikai hátterét minél jobban megismerjék. Több mint 70 év alatt a nemesítők által elért fejlődés és számos eredmény ellenére a szőlő magvatlanságának öröklődése még nem értelmezhető egyértelműen (BOUQUET és DANGLOT, 1996). Bár a sztenospermokarp magvatlan típusok nagy változatosságot mutatnak, számos keresztezéses kísérlet arra engedett következtetni, hogy a tulajdonságot behatárolható számú gén határozza meg.

STOUT (1939) a magvatlan csemegeszőlő nemesítési programjának eredményeinek ismertetése során a Korinthusi fajták magvas fajtákkal való keresztezésekor az F₁-es hibridjeiben nem talált partenokarp utódokat. Az elterjedten használt sztenospermokarp magvatlan fajták egy része ('Concord Seedless', 'Sultana') nem öröközte a magvatlanságot, míg másik részük ('Thompson Seedless', 'Black monukka') közel 1:1 arányú hasadást eredményezett az F₁ nemzedékben. További keresztezéseket végzett saját fajtájával ('Stout Seedless') és szintén 1:1 arányú hasadást kapott. Eredményei alapján STOUT arra a következtetésre jutott, hogy a 'Thompson Seedless' magvatlanságát egy domináns gén határozza meg.

Egy domináns génen alapuló öröklődés nem tudja megmagyarázni, hogy magvas és magvatlan szülőpárosítás esetén, szülőválasztástól függően, gyakran nagyon alacsony százalékban figyelhető meg a magvatlanság az utódok között. WEINBERGER és HARMON (1964) hipotézise szerint, a szőlő sztenospermokarp magvatlansága recesszív tulajdonság, amelyet egynél több recesszív gén határoz meg. LOOMIS és WEINBERGER (1979) számos magvas × magvatlan keresztezés utódnemzedékének, illetve magvatlan típusok öntermékenyítéséből kapott nemzedékek értékelése alapján megerősítették ezt az állítást. SPIEGEL-ROY és mts. (1990) szintén magvas és

magvatlan fajták keresztezései alapján két recesszív génnel magyarázták a tulajdonság öröklődését. Ugyancsak a recesszív öröklődés mellett tette le voksát ROYTCHEV (1998), aki 27, többféle magvatlanság-forrásra épülő hibridcsaládot értékelt magvatlanság szempontjából. Ennek ellenére a pusztán recesszív géneken alapuló öröklődést, RAMMING és mts., (1990) kizárják arra alapozva, hogy különböző magvatlan szülők keresztezéséből illetve egyes magvatlan genotípusok öntermékenyítéséből kaptak magvas utódokat.

Magvas $\times$ magvatlan keresztezésekből kapott utódnemzedékek magvatlanság-fenotípusában megtalálható széles és folyamatos skála alapján a magvatlanságot SANDHU és mts. (1984) teljes mértékben mennyiségi tulajdonságként kezelik (LEDBETTER és RAMMING, 1989).

Számos feltételezés egyike SATO és mts. (1994), valamint LEDBETTER és mts. (1994) hipotézise, ami többféle magvatlanság-forrás alapján 5, illetve 3 domináns génnel magyarázták a sztenospermokarp magvatlanság öröklődését.

A sztenospermokarp bogyók magjainak részletekbe menő vizsgálatához STRIEM és mts. (1992) 'Oz' és 'Early muscat' anyanövényeket ugyanazzal a magvatlan pollenadóval ('Flame Seedless') kereszteztek. Eredményeikkel bebizonyították, hogy a sztenospermokarp szőlőfajták magkezdeményének burka és az endospermium fejlettsége külön, egymástól függetlenül öröklő tulajdonságok. KORKUTAL (2005) az embriók abortálódását az integumentum fejlődésének zavarai magyarázza.

Ma a legelfogadottabb modell – amelyet azóta több térképezési munka is alátámasztott – BOUQUET és DANGLLOT (1996) állította fel. Tanulmányukban magvas $\times$ magvatlan, valamint magvatlan $\times$ magvatlan keresztezések utódnemzedékeit egyaránt vizsgálták. Modelljük három, egymástól függetlenül öröklődő, egymással komplementer recesszív gént ($a1$, $a2$, $a3$) feltételez, amelyek expresszióját egy domináns regulátor (inhibitor) gén szabályozza. Ezt a gént később *Sdi*-nek nevezték el (seed developed inhibitor – mag-fejlődés gátló) (LAHOGUE és mts., 1998).

2.6.1 A magvatlanság lehetséges génjelöltjei

A sztenospermokarp magvatlanság mögött álló sajátos embriófejlődés biológiai szempontból érdekes, míg maga a magvatlanság gazdasági szempontból jelent központi kérdést. Ennek megfelelően világszerte számos kutatócsoport kerete és keresi a tulajdonság kialakulásáért felelős genetikai faktorokat.

HANANIA és mts. (2007) 'Thompson Seedless' magnélküli és magvas mutánsán végzett expressziós szintű összehasonlító vizsgálat során azonosítottak egy fehérjét (kloroplaszt chaperonin 21, ch-Cpn21). A fehérje vírus-indukálta géncsendesítése (VIGS, Virus Induced Gene Silencing) dohány és paradicsom termésében a magok abortálódását eredményezte. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy a ch-Cpn21 fehérje elengedhetetlen a szőlőmag fejlődéséhez és

szerepet játszhat a szőlő sztenospermokarp magvatlanságában. Ugyanebben a kísérletben azonosították a magvas és magvatlan Thompson típusban különböző képpen kifejeződő ubiquitin extension protein S27a fehérjét. *In situ* hibridizációval azt az eredmény kapták, miszerint a fehérje magasabb szinten expresszálódik a magvatlan genotípus termőiben és magkezdeményeiben, mint a magvas genotípusában. A fehérje túltermeltetése gátolta a növényregenerálást, csendesítése az embriógén kalluszok nekrozisához vezetett. A szerzők ezek alapján arra következtetnek, hogy – mivel a fehérje bizonyítottan szerepet játszik a fejlődésben –, a magkezdeményben történő túltermelődése vezethet a szőlő sztenospermokarp magvatlanságának kialakulásához (HANANIA és mts., 2009). Fontos megjegyeznünk azonban, hogy a 'Pinot noir' publikált genomszekvenciája (JAILLON és mts., 2007) alapján ezeknek a géneknek egyike sem kapcsolódik az *SdI* lókuszhhoz.

COSTANTINI és mts. (2008) térképezési munkájuk során a QTL elemzések kijelöltek olyan régiókat, amelyek hozzájárulnak a magvatlansághoz kapcsolható tulajdonságok (friss magtömeg, bogyótömeg, stb.) kialakulásához. Megállapították, hogy az *sdI* lókusztól 0,8 cM távolságra lévő VMC7F2 mikroszatellit marker közvetlen közelében található a *Vitis vinifera* MADS Box protein 5 gén. A MADS-box család tagjai kulcsfontosságú szerepet játszanak a virág és termés fejlődésében. Boss és mts. (2002) a szőlő virágzása és bogyó fejlődése során, ezen és három másik Mads-box gén kifejeződését vizsgálta. A gén fehérje-termékéről kimutatták, hogy csak a nőivarú virágokban nyilvánul meg, a hímivarúakban nem, ez arra utal, hogy a *VvMADS5* szerepet játszik a magkezdemény fejlődésében. Annak ellenére, hogy a szőlő sajátos jellemzőkkel bír, a MADS-box gén betöltheti ugyanazt a szerepet, mint funkcionálisan jellemzett ortológjai a modell fajokban. MEJÍA és mts. (2011) a *VvAGL11* (*VvMADS5*) gén expresszióját vizsgálták magvas és magvatlan fajtákban. Az expressziós szintek alapján a *VvAGL11* gént határozzák meg, mint a magvatlanság legfőbb génjelöltjét.

2.7 A szőlő magvatlanságának markerezése

2.7.1 Molekuláris genetikai markerek

„A genetikai marker felismerhető fenotípust, tulajdonságot meghatározó gén” (Kiss 2005). A molekuláris genetikai markerek alapvetően két nagy csoportba sorolhatók: nukleinsav alapú markerek, melyek a genom vagy genomok nukleinsav-szekvencia szintű polimorfizmusát használják azok jellemzésére, valamint a nem nukleinsav alapú pl. fehérje vagy mikromorfológiai bélyegeket (pl.: membránszerkezet, sztómanyílás formája, pollen felületi jellemzői) használja fel jellemzésére. Ez utóbbi markerek a környezettől nem függetlenek. A molekuláris markerezés két szélsőséges esete a tulajdonság (gén vagy gének) követése molekuláris markerekkel, vagy genomok azonosítása illetve genomok közötti különbség megállapítása akár egyetlen bélyeg szintjén is. A nukleinsav alapú molekuláris markerek általában a genom egyes részleteinek (fragmentumainak)

fizikai méretkülönbsége alapján például a gélen elválasztott fragmensek méretének, meglétének megállapításával, vagy bizonyos szekvenciák meglétének kimutatásával (pl. hibridizációval) esetleg e módszerek kombinálásával tudnak azonosítást végezni. A fragmensek képzésének két alapvető módszere a restrikciós enzimek használata, vagy a genomrészletek amplifikálása PCR technikával. (BISZTRAY,2001)

A molekuláris markereket felhasználhatjuk polimorfizmus vizsgálatra, kapcsoltság keresésre, marker segített szelekcióra (MAS), genetikai térképezésre, evolúciós vizsgálatokra (génáramlás), extrakromoszomális jellegek vizsgálatára, génazonosításra, kórokozók kimutatására, transzgén kimutatására (BISZTRAY és VELICH 1999).

2.7.2 SCAR, CAPS markerek

A RAPD primerek (véletlenszerűen felszaporított DNS-polimorfizmus: Random Amplified Polymorphic DNA, WELSH és MCCLELLAND, 1990; WILLIAMS és mts., 1990) megbízhatóságának javítása érdekében, Paran és Michelmore (PARAN AND MICHELMORE, 1993) javasolták az ismert szekvenciájú amplifikált régió (SCAR, Sequence Characterized Amplified Region) felszaporításán alapuló markerek kifejlesztését. A SCAR markerek a RAPD módszerrel kimutatott és polimorfizmust jelző DNS szakaszok további jellemzéséből származnak. Miután a kérdéses RAPD fragmentumot klónozták és végeinek szekvenciáját meghatározták, a szekvencia ismeretében olyan specifikus primer páros tervezhető, amely segítségével egy adott polimorfizmus nagy biztonsággal vizsgálható. A SCAR primereket speciális DNS régiók sokszorozására használják. Használatuk kedvezőbb, mint a RAPD markereké, mert általában csak egy szakaszt jelölnek, és PCR reakció körülményeinek változtatására kevésbé érzékenyek. A SCAR markereket géntérképezésre, marker alapú klónozásra, vagy markeren alapuló szelekcióra (MAS, Marker-Assisted Selection), valamint közel rokon fajták azonosítására használják (HORVÁTH, 2011). Egyes tulajdonságok kialakulásáért felelős lókuszok markerezésére is használatos (LAHOUE és mts., 1998). A módszer a vizsgált lókusz két alléljának nukleotidszekvenciája közötti különbségeken alapul, PCR alapú. Sajnos, ezek az újonnan meghatározott primerek gyakran vezetnek monomorf amplifikációkhoz és elveszik az eredeti polimorfizmus (PARAN és MICHELMORE 1993). A CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) módszer által visszakaphatjuk a polimorfizmust, ami egy restrikciós lépést is tartalmaz és még specifikusabbá tehető a random amplifikációs mintázat (KONIECZNY és AUSUBEL 1993). A specifikus primerekkel felszaporított fragmensek hossz-polimorfizmust, hasítási mintázatban (SCAR-RFLP, CAPS) különbséget mutatnak (MOURY és mts., 2000; WEILAND és YU, 2003), illetve igen-nem választ adnak, azaz az egyik allélról kapunk PCR-terméket, a másiktól nem (ebben az esetben a marker domináns jellegű). A technika specifikus, kodomináns, ugyanakkor minden markert külön

kell fejleszteni, így átfogó vizsgálatokra kevésbé használható. Amennyiben rendelkezésre állnak ilyen markerek adott növényfajban, azokat a legtöbb kapcsoltsági térképezési munkában bevonják a vizsgálatokba (DOLIGEZ és mts., 2002; WU és mts., 2004), ily módon a hozzá kapcsolt tulajdonság is lokalizálható a kapcsoltsági csoportokon.

2.7.3 *A szőlő sztenospermokarp magvatlanságához kapcsolt markerek keresése*

A magvatlanság csemege-szőlő-nemesítésben betöltött központi szerepének köszönhetően hamar megindult a tulajdonság marker-támogatott szelekcióját (MAS, Marker Assisted Selection) lehetővé tévő markerek keresése.

Az első kísérletet a magvatlanság marker támogatott szelekciójára STRIEM és mts. (1996) végezték. RAPD analízist alkalmaztak az 'Early Muscat' (magvas) és a 'Flame Seedless' (magvatlan) keresztezésből származó 82 utódon. 12 RAPD marker mutatott összefüggést valamely a magvatlanságra utaló tulajdonsággal. Ezek közül 7 marker kombinálásával lehetővé vált a legtöbb magvatlan egyed kizárása, ez körülbelül a populáció 44%-át jelenti. Ezeknek a markereknek az alkalmazhatóságát nem vizsgálták azonban más hibrid családokon, továbbá nem határozták meg a kapcsoltság mértékét sem.

LAHOGUE és mts. (1998) 140 RAPD primert vizsgálva kerestek a magvatlansághoz kapcsolt markert. Azonosítottak két RAPD markert: az opC08-1020 és opP18-530. Az elsőből kifejlesztették az SCC8 SCAR markert, a másodikból ADAM-BLONDON és mts. (2001) fejlesztettek SSCP markert (SCP18). A két marker a magvatlanság *SdI* génjétől egyazon irányban helyezkedik el.

CABEZAS és mts. (2006) a mag és a bogyó tömeg mennyiségi genetikai analízise során azonosított 2 mikroszatellit markert, amik szoros kapcsolatban vannak az *SdI* lókusszal és kimutatható a szoros összefüggés a specifikus alléloknaál a VMC6F11 és VMC7F2 lókusz és a magvatlanság között. A VMC6F11 marker több esetben null-allélt mutatott, így ennek alkalmazhatóságát a szerzők elvetették. A VMC7F2 marker alkalmazása nehézkesnek ígérkezik: a domináns *SdI* allélhoz kapcsolt 198 bp hosszú fragmens mellett a magvasságért felelős *sdI* allélhoz egy 200-210 bp hosszúságú allél kapcsolt, amely mindazonáltal a legtöbb esetben 200 bp hosszúságú, a fragmenshosszak között tehát mindössze 2 bp a különbség, ami jelentősen megnehezítheti az eredmények kiértékelését. A markert 23 magvatlan és 19 magvas fajtán tesztelték, a magvatlan típusok között nem találtak rekombinánsokat, azonban a magvas egyedek közül 2 rekombinánsnak bizonyult. A marker kapcsoltságát COSTANTINI és mts. (2008) is megerősítették, az *sdI* lókusztól való távolságát 0,7 cM-ban állapították meg.

YANG és mts. (2006) a magvatlansághoz kapcsolt RFLP illetve Southern blot markereket azonosítottak ám LI és mts. (2009) bebizonyították, hogy ezekkel a markerekkel nem lehet

különbséget tenni a magvas és magvatlan genotípusok között. Továbbá az adatok azt mutatják, hogy a SCAR marker egy feltehetően hisztidin triád fehérje (HIT) génrégió belül helyezkedik el, de ez nem kapcsolódik a szőlő magvatlanságához.

2.7.4 A szőlő magvatlansághoz kapcsolt SCC8 SCAR-CAPS marker

A Szőlészeti Tanszéken a sztenospermokarp magvatlanság markerezésére az SCC8 markert használják, mivel egyszerűen, gyorsan és olcsón, ezáltal rutinszerűen, nagyszámú egyeden használható szemben az egyes szerzők által javasolt mikroszatellit markerekkel (CABEZAS és mts. 2006). Ugyanakkor a szakirodalomban számos fajta SCC8 genotípusát már közölték.

LAHOGUE és mts. (1998) egy magvatlanságra hasadó nemzedék (Mtp 3140) csoportos elemzése (BSA, Bulk Segregant Analysis) során 140 RAPD oligonukleotidot teszteltek. A BSA során nyolc olyan oligonukleotidot azonosítottak (opA11, opC08, opC12, opD15, opE05, opE08, opE13 és opP18), amelyek specifikus sávot adtak a magvatlan típusokra de a magvasokra nem adtak. A magvas genotípusra specifikus DNS-szakaszt nem találtak. Miután a csoportos elemzésbe vont 16–16 egyedet önállóan is megvizsgálták ezzel a nyolc primerrel, ebből csak egyetlen marker – az opC08 primerrel felszaporított 1020 bp hosszú fragmens – mutatott teljes kapcsoltságot a fenotípussal, azaz a kérdéses sáv megjelent az összes magvatlan egyedben, míg hiányzott az összes magvas egyedből. Két további oligonukleotid, az opP18 és az opC12 esetében minden magvatlan templátról felszaporodott egy fragmens (opP18- 530 és opC12-950), ám ezek néhány magvas egyedben is megjelentek. További elemzések során az eredményeket megerősítették ahol még 14 (7 magvas és 7 magvatlan) egyeden vizsgálták az opC08-1020 markert, kivéve egy esetet, amikor a magvatlanok mellett megjelent egy magvas is mintában.

Ezután csak az opC08 és opP18 markereket tesztelték az összes nemzedék egyedein. Mindkét markert szoros összefüggésben találták a magvatlan jelleggel. Az opC08-1020 markernél egy rekombinánszt azonosítottak, tehát a marker közelebb van az *sdI* génhez, mint az opP18-530, amely öt rekombinánszt mutatott. A kapcsoltsági elemzés alapján a magvatlan fenotípus és a markerek közötti kapcsoltság mértéke az opP18-530 marker esetében 3,5 cM, az opC08-1020 marker esetében 0,7 cM, a két marker egymástól való távolsága 4,2 cM. Az elemzések során tehát két, az *SdI* génnel kapcsoltságot mutató RAPD markert azonosítottak.

Annak érdekében, hogy sokkal megbízhatóbb markert kapjanak, a magvatlansághoz legszorosabban kapcsolt opC18-1020 fragmens klónozásával és szekvenálásával LAHOGUE és mts. a RAPD markert továbbfejlesztették SCAR markerré (SCC8). A kérdéses szakaszra tervezett specifikus primerek mind a magvatlan, mind pedig a magvas egyedek esetében felszaporítják a várt, mintegy 1 kbp hosszú DNS-szakaszt. A PCR-terméket 6-féle restriktáz enzimmel hasították, hogy a polimorfizmus láthatóvá váljon. A magvas és magvatlan genotípusok közötti különbségtételre a

Bgl/II restrikciós endonukleáz bizonyult alkalmasnak. A vizsgálatokból alapján két allélt azonosítottak az *SCC8*⁺ és *scc8*⁻, ezek közül az *scc8*⁻ tartalmazza *Bgl*/II hasítási helyét.

A PCR-termékek végéről a *Bgl*/II restrikciós endonukleáz mindkét esetben (magvas és magvatlan) levág egy 73 bp hosszúságú darabot, a magvassághoz kapcsolt *scc8*⁻ allél esetében pedig hasítja a 777. bázisnál, míg a magvatlansághoz kapcsolt *SCC8*⁺ allél esetében ez a hasítóhely hiányzik. A PCR reakcióban specifikus primerekkel felszaporított mintegy 1014 bp hosszú terméket *Bgl*/II restrikciós enzimmel hasítva tehát a magvatlanságért felelős domináns allélhoz kapcsolt fragmens mérete kis mértékben csökken (73 bp), míg a magvas fenotípusért felelős allél esetében egy ~700 bp és egy ~240 bp hosszúságú szakaszt kapunk.

Az így kapott marker kodomináns, amely lehetővé teszi, hogy homozigóta és heterozigóta egyedeket is megkülönböztessünk. A marker megkülönböztetni egymástól a domináns homozigóta magvatlan (*SCC8*⁺/*SCC8*⁺), a heterozigóta magvatlan (*SCC8*⁺/*scc8*⁻) és a homozigóta recesszív magvas (*scc8*⁻/*scc8*⁻) genotípusokat.

Az *SCC8* SCAR-CAPS markert a szerzők tesztelték a keresztezett szülők szülein és más hasadó nemzedékeken, köztük olyanokon is, melyek pedigréjében nem szerepelt a 'Thompson Seedless' fajta. A marker minden vizsgált egyed esetében a fenotípusnak megfelelő eredmény adott. ADAM-BLONDON és mts. (2001) további három hasadó nemzedéken – amelyek mindazonáltal rokonságban vannak a marker kifejlesztéséhez használt nemzedékkel – és számos magvas és magvatlan csemegeszőlő-fajtán tesztelték az *SCC8* és *SCP18* markereket. Az *SCP18* markert kevésbé találták használhatónak, mint az *SCC8*-at, az előbbi távolságát ugyanis az *SdI* lókusztól 10,8 cM-ban határozták meg. ADAM-BLONDON és mts. vizsgálataiban az *SdI* lókusztól és az *SCC8* marker távolsága nagyobbra bizonyult (4,0 cM), mint amit LAHOGUE és mts. meghatároztak (0,7 cM). ADAM-BLONDON és mts. megállapítják továbbá, hogy a marker jobban használható magvatlan × magvatlan keresztezésekben, mint magvas × magvatlan keresztezésekben, mivel az *SCC8* csupán a domináns inhibitor gént markerezi, miközben a fenotípust nagyban befolyásolják a kisebb QTL-ek (recesszív gének) is.

REVERS és mts (2005) az *SCC8* marker alkalmazhatóságát vizsgálták különböző hasadó nemzedékeken és több, a magvatlan csemegeszőlő nemesítésben használt fajtákon. Eredményeik alapján megerősítették, hogy a marker alkalmazhatósága nem populáció-specifikus. Az előbbi eredményekhez hasonlóan ők is számos null allélt és rekombinánsokat is detektáltak.

A fentiekől eltérő – ám továbbra is viszonylag szűk – genetikai háttéren tesztelték az *SCC8* és *SCF27* (MEJÍA és HINRICHSSEN, 2003) markereket KORPÁS és mts. (2009) (1. táblázat). Ebben a tanulmányban ADAM-BLONDON és mts. (2001) eredményeihez hasonlóan detektáltak számos null allélt, ill. rekombináns egyedet (1. táblázat). Eredményeik szerint a markerek alkalmasak az *SdI* lókusztól nyomon követésére, ám megerősítik ADAM-BLONDON és mts. (2001)

megállapítását, miszerint a tulajdonság öröklődésének összetett mivolta miatt a marker csak korlátozott mértékben használható, mivel a domináns *SdI* allél szükséges, de nem elégséges feltétele a sztenospermokarp magvatlanságnak.

2.7.5 A marker továbbfejlesztése

DEÁK TAMÁS (2010) az *SCC8* lókuszt elemzése során megállapította, hogy a LAHOGUE és mts. (1998) által tervezett primerek nem csak a magfejlődés inhibitor *SdI* lókuszt hordozó 18 hanem a szőlő 4. és 19. kapcsoltsági csoportjáról is felszaporít(hat)nak egy közel 1 kbp hosszúságú szakaszt, amelyek nem kapcsolnak a magvatlansághoz, így torzíthatják az eredményeket. Ennek a lehetőségnek a kiküszöbölése érdekében új primereket tervezett. Az új primerek megtervezése során az egyik legalapvetőbb szempont az volt, hogy azok ne legyenek komplementerek a 4. és 19. kapcsoltsági csoportok *SCC8* lókuszhhoz hasonló szakaszaival. Legfontosabb szerepe a megbízhatóság növelése volt. Az új primerpárok nem kötődtek *in silico* a 'Pinot noir' genomszekvenciájának 4. és 19. kapcsoltsági csoportjához még 30% hibás bázispárosodás engedélyezésével sem, ugyanakkor mindkét allélon megtalálják a komplementer szekvenciákat. A magvatlanság nyomon követésére változatlanul alkalmasnak ígérkeznek; az *scc-F6* – *sccR914* primerpár az eredeti *SCC8* primerpárral megegyező eredményt adott. Továbbá megállapította, hogy az *scc-F6* – *sccR914* primerpárokkal sem lehet felszaporítani a null allélt. Mind a magvas, mind pedig a magvatlan szőlőfajtákban megfigyelt null allél tehát feltehetően nem a PCR során használt primerek „tökéletlensége” miatt viselkedik null allélként, hanem ezekben az egyedekben nagyobb mértékű kromoszóma átrendeződések, mutációk történhettek.

1. táblázat: A szakirodalomban korábban közölt magvatlan és magvas fajták, valamint nemesítési vonalak, hibridek ismert *SCC8* genotípusa, ADAM-BLONDON és mts. (2001), KÖRÖS és mts. (2009), REVERA és mts. (2005) nyomán. (+: *SCC8*⁺ allél, -: *scc8*⁻ allél, 0: null allél, ?: ismeretlen allél)

Név	Szülők	SCC8
Sztenospermokarp magvatlan genotípus		
1992-9	Dattier de Beyrouth × Sultana Moscata	+/0 ^a
296364	Madaleine angevine × Canner seedless	+/? ^a
2120-30c	Alphonse Lavallée × Sultana	+/- ^a
2121-30	Alphonse Lavallée × Sultana moscata	+/- ^a
2121-61	Alphonse Lavallée × Sultana	+/- ^a
2223-27	Dattier de Beyrouth × Sultana Moscata	+/- ^a
2223-32	Dattier de Beyrouth × Sultana Moscata	+/0 ^a
2715-23	Bicane × Sultana	+/- ^a
3041-153	Muscat of Alexanria × Perlette	-/0 ^a
3046-20	Italia × Canner seedless	+/0 ^a
3047-1	Italia × Sultana	+/0 ^a
3048-30	Itália × (Gros Coleman × Sultana)	-/? ^a
3049-166	Italia × (Dattier de Beyroth × Sultana Moscata)	+/- ^a
Askeri	-	+/? ^a
Autumn Royal	Autumn Black × Fresno C74-1	+/? ^c

Bayad	-	+/- ^a
Bidaneh ghelmez	-	+/? ^a
Black monukka(Kishmish chernyi)	-	+/+ ^a
Blush seedless	Emperor × (Szőlőskertek királynője × (Alphonse Lavallée × Sultana moscata))	+/? ^a
BV 16-16-3	BV 35-4-3 × B6 (+/-)	+/? ^b
Bv 16-20-2	BV-35-4-7 × BV 47-1-6 (+/-)	+/? ^b
BV 47-1-6	Arkadiia × Remaily seedless	+/- ^b
Canadice	Bath × Himrod	+/- ^c
Canner seedless	Hunisa × Sultana	+/- ^a
Carina	Moscato rosa × (Cardinal (-/0) × Sultana (+/?))	+/? ^b
Centennial seedless	Komplex eredetű fajta	+/? ^{a c}
Chasselas seedless	Chasselas mutáns	-/? ^a
Crimson Seedless	Emperor × C33-199	+/? ^c
Danuta	Dattier de Beyrouth × Sultana Moscata	+/0 ^a
Dawn seedless	Gold (-/?) × Perletta (+/0)	+/- ^b
Edro bezseme	Rusensko edro (0/) × Chibrid bezsemen VI-4 (+/)	+/0 ^b
Elma	Uraan (-/0) × Kismis moldavszkij (+/-)	-/? ^b
Emperor seedless	Emperor mutáns	-/? ^a
Fantasy Seedless	B36-27 × C78-68	+/? ^c
Flame seedless	(Cardinal (-/0) × Sultana (+/?))x ((Red Malaga × Tifafifi Ahmer) × (Muscat of Alexandria (-/-) × Sultanina (+/?)))	+/? ^{abc}
Helios	Katta Kurgan (0/) × Perletta (+/0)	0/0 ^b
Jupiter	Chaouch rose (+/-) × Chibrid bezsemen V-6 (+/)	+/+ ^b
Khalili piskases	-	+/? ^a
Kichmich chichraou	Nimrang × Kishmish chernyi	+/? ^a
Kichmich rond	-	+/? ^a
Kishmish luchistyi	Cardinal (-/0) × Kismis rozovyi (Pink sultana) (+/?)	+/0 ^b
kishmish moldavszkij	Pobeda (+/?) × Kismis rozovyi (Pink sultana) (+/?)	+/- ^b
Madina	Cardinal × Sultana	+/0 ^a
Maroo Seedless		+/- ^c
Merkur	Chaouch rose (+/-) × (Szőlőskertek királynője (0/0) × Afuz Ali (-/0))	+/0 ^b
Muscat Seedless	Muscat Of Alexandria × Perlette	+/- ^c
Naosé	-	+/? ^a
Neptuun	Chaouch rose (+/-) × Perlette (+/0)	-/0 ^b
Ozaan daii	-	+/? ^a
Perlette	Szőlőskertek királynője × Sultana	+/0 ^{ac}
Perlon	Emperor (-/0) × Perlette (+/0)	0/0 ^b
Picurka	Chaouch rose (+/-) × Delight (0/)	+/? ^b
Pink Sultana	Sultana mutáns	+/? ^a
Red Seedless	Emperor × Sultanina	+/? ^c
Red Sultana	Sultana mutáns	+/? ^a
Reliance	Ontario × Suffolk Red	+/? ^c
Roozsika	Palatina (-/0) × Jupiter (+/+)	+/- ^b
Rosina	Palatina (-/0) × Jupiter (+/+)	+/- ^b
Rouchaki	Mskhali × Arakseni chernyi	+/? ^a
Ruby seedless	Emperor (-/0) × Sultana moscata (+/-)	+/0 ^b +/? ^c
Rusalka+	Mirni × Chibrid bezsemen V-6 (+/)	+/0 ^b
Saturn	Dunstan 210 × New York 45791	+/? ^c

Slavianka	Bicane (-/?) × Sultana (+/?)	+/- ^b
Sultana	-	+/? ^a
Sultana moscata	Muscat of Alexandria × Sultana	+/- ^a
Sunred seedless	Datal (-/0) × Ruby seedless (+/0)	+/0 ^b
Superior Seedless	Cardinal × ? (Seedless variety)	-/? ^a +/- ^c
Tarnaou	Nimrang × Kishmich chernyi	+/? ^a
Thompson Seedless	-	+/? ^c
Urkim	Uraan (-/0) × Kismis moldavszkij (+/-)	+/0 ^b
Venussha	Katta kurgan (0/) × Kismis moldavszkij (+/-)	+/? ^b
Yaghasti	-	-/? ^a
Sztenospermakarp genotípus, nyomokban kemény maggal de endospermium nélkül		
Mars	Katta kurgan (0/) × Chibrid bezsemen V-6 (+/)	+/- ^b
Parthenokarp magvatlan genotípus		
Cape currant	Muscat a petit grains mutáns	-/? ^a
Corinthe blanc	-	-/? ^a
Black Corinth	-	-/? ^a
Corinto bianco	-	0/0 ^a
Magvas genotípus		
Aetonychi	-	0/0 ^a
Aledo	-	-/? ^a
Alphonse Lavallée	Karistvala kolkhuri × Muscat Hamburg	-/- ^a
Alphonse Lavallée	Bellino × Lady Downes seedling	-/- ^b
Bicane	-	-/? ^a
Bouchouka	-	0/0 ^a
Cardinal	Alphonse Lavallée × Szőlőskertek királynője	-/0 ^a
Carla	Cardinal × Alphonse Lavallée	-/? ^a
Chaouch blanc	-	+/- ^a
Chaouch rose	ismeretlen	+/- ^b
Chasselas blanc	-	-/? ^a
Csaba gyöngye muskotály	Madeleine angevine × Muscat fleur d'oranger	na ^a
Danlas	Dabouki × Chasselas	-/? ^a
Dastachine	Feltételezett ősz vagy Sultana sarj	+/? ^a
Dattier de Beyroth (Afuz Ali)	-	-/0 ^a
Emperor	-	-/? ^a
Frankentahl	-	na ^a
Gora Chirine	Feltételezett Sultana mutáns	+/? ^a
Gros vert(SERVANT)	-	-/? ^a
Heliotrop	Katta kurgan × Chibrid bezsemen V-6	-/? ^b
Itália	Bicane × Muscat de Hambourg	-/0 ^a
Karneol	Katta kurgan × Chibrid bezsemen V-6	-/? ^b
Khoussaine blanc	-	0/0 ^a
Lival	Alphonse Lavallée × Lignan	-/? ^a
Luna	Katta kurgan × Perletta	+/? ^b
Madaleine de Céline	Alphonse Lavallée × Molinera gorda	-/? ^a
Matilde	Cardinal × Italia	-/? ^a
Michele Paliere	-	-/? ^a
Muscat de Hambourg	Muscat of Alexandria × Frankenthal	-/? ^a
Muscat of Alexandria	Muscat blanc a petits grains × Axina de Tres Bias	-/- ^a
Nehelescol	-	-/? ^a
Olivette noire	-	-/? ^a

Olshava	Kossuth Lajos × Boskolena	0/0 ^b
Opsimos edessis	-	-/? ^a
Ora	(Cinsaut × Perle de Csaba) × Cardinal	-/? ^a
Ouroum Uzumu	Feltételezett Sultana mutáns	+/? ^a
Phakri	-	-/? ^a
Pizutello nero	-	+/? ^a
Prima	Lival × Cardinal	0/0 ^a
Red Globe	Emperor × Hunisa × Nocera	-/? ^a
Sabalskankoi	-	-/? ^a
Santa Paula	-	+/? ^a
Servant	-	-/? ^a
Sultana monococco	Sultana mutáns	+/? ^a
Szőlőskertek királynője	Souvenir of Queen Elisabeth × Csaba gyöngye	0/0 ^b
Uraan	Chaouch rose × Delight	-/0 ^b
Victoria	Cardinal × Afus Ali	-/? ^b

^a SCC8 lókuszon megfigyelt genotípusok ADAM-BLONDON és mts.(2001) vagy ADAM-BLONDON és mts.(2001) alapján.

^b SCC8 lókuszon megfigyelt genotípusok KÖRPÁS A. és mts. (2009) alapján.

^c SCC8 lókuszon megfigyelt genotípusok LUÍS FERNANDO REVERS és mts.(2005) alapján.

na – nincs adat

3 Anyagok és módszerek

3.1 A vizsgált növényanyag

A szőlő sztenospermokarp magvatlanságához kapcsolt marker alkalmazhatóságának vizsgálatára a Pécsi Tudományegyetemhez tartozó Pécsi Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetben ifj. KOZMA PÁL **multirezisztens magvatlan** csemegeszőlő nemesítési programjában használt fajtákat, nemesítési vonalakat és egyes utódnemzedékeket vizsgáltam.

Magvas fajták és vonalak

A sztenospermokarp bogyók mérete kisebb a normál magot tartalmazó bogyókénál, ezért a csemegeszőlő nemesítési programok a rezisztencia mellett a bogyók tömegének növelését is kiemelt fontosságú célként kezelik. Ez alapján a magvas szülők esetében fontos tulajdonság az esetleges gomba-rezisztencia, valamint a nagy bogyóméret.

- A 'Dunav' fajta esetében nem ritka az 1 kg-os fürt sem, amely nagy és tömött. Erős növekedésű, talaj és fekvés iránt nem igényes, nem fagyérzékeny, rothadásra nem hajlamos fajta. Bogyója hosszúkás lilás-kékes, íze semleges.
- Az 'Itália' szintén bőven termő fajta, tetszetős fürtöket növeszt és kiválóan szállítható, eltartható ami nagy előny a csemegeszőlő termesztésekor.
- A közép-ázsiai eredetű 'Dzsandzsar kara' fajtát főként rezisztencia forrásként használják.
- A 'Talizmán' nagy bogyókkal rendelkező, partenokarpiára hajlamos közép-ázsiai eredetű fajta, ami a sztenospermokarp bogyóméret növelésére kitűnő anyanövényként szolgálhat. Magas fokú peronoszpóra- és közepes fokú lisztharmat-toleranciája, valamint magas fokú fagytűrése tovább növelik értékét (Korpás,2008).
- A 'Katta kurgan' kései érésű fajta, fürtje nagy, vállas, világos színű bogyója nagy magot tartalmaz, húsa édes és lédús.
- A 02-2/105 és 02-2/82 hibridek ugyanabból a VRH 3082-1-42 (BC4) × 'Cardinal' nemzedékből kerültek kiemelésre.

Magvatlan fajták és vonalak

A magvatlan fajták között megtalálhatók a magvatlan nemesítésben gyakran használt fajták mellett közép-ázsiai eredetű, és Amerikában előállított magvatlan fajták is.

- A 'Superior seedless' fajtának világoszöld, hosszúkás bogyói vannak. A laza fürtök, finom édes muskotályos íze, kiváló étkezési minősége és a jó eltarthatósága tette ezt a világ egyik legnépszerűbb magvatlan fajtájává.
- A 'Sultanina' fajta a sztenospermokarp magvatlanság „archeotypusa”. 'Thompson seedless' néven az újvilági csemegeszőlő termesztés fontos szereplője, míg az óvilágban a mazsolaszőlő-termesztésben van jelentős szerepe. A világ legnagyobb területen termesztett

szőlőfajtája erős növekedésű, bőtermő, kissé fagyérzékeny, fürtje és bogyója is kicsi, íze semleges.

- A 'Kismis vatkana' közép-ázsiai eredetű magvatlan fajta, amely a 'Dzsandzsar kara' mellett az egyetlen ismert originális, természetes eredetű *V. vinifera* lisztharmat forrás.
- A 'Kismis lucsisztűj' fajta 'Cardinal' × 'Kismis rozovűj' keresztezés eredménye. Erőteljes növekedésű, igen korán érésű. Bőtermő, fürtje igen nagy előfordul 850-1100 g-os is, bogyója közepes méretű, zamatos. Peronoszpórára ellenálló képessége igen gyenge, lisztharmatra gyenge-közepes, szürkerothadásra viszont magas.
- A 'Black monukka' lilás-fekete megjelenését kivéve a legtöbb tekintetben a 'Thompson Seedless'-re hasonlít. Fagytűrő képessége gyenge. Bár nagyon régi fajta, mégis az egyik legjobb étkezési szőlő, nagyon jó minőségű gyümölcsöt ad. A fürtök lazák, közepes-nagyok, a bogyók is viszonylag nagyok.
- Az 'Emerald seedless' nagy tetszetős fürtökkel és közepestől nagy bogyó mérettel rendelkezik, Lisztharmatra rendkívül és a kissé napégésre is érzékeny.
- A 'Regal' fajta egy *V. labrusca* × *V. vinifera* keresztezésből született interspecifikus hibrid. Világoszöld, hosszúka, nagy méretű bogyói és fürtje a 'Thompson Seedless'-re hasonlít.
- A 'Crimson seedless' fajtát Amerikában nemesítették az 'Emperor' × 'C33-199', párosításával közepes, nagy méretű, kissé ovális alakú, édes ízű bogyói vannak, erős növekedésű, fagyra kissé érzékeny. Mazsolakészítésre kiválóan alkalmas.
- 'Autumn seedless' egy késői érésű fajta, világos színű nagy bogyókkal és közepes fürtökkel rendelkezik, kissé érzékeny a hidegre.
- A 'Centennial seedless' közepes – nagy fürtű, bogyói ovális alakúak szintén kissé érzékeny a hidegre.

Hibridcsaládok

A vizsgált növényanyagban továbbá négy hibridcsalád kiemelt egyedei is szerepeltek. Ezek általában olyan keresztezésekből származnak, ahol a fő nemesítési cél a magvatlanság mellett a magas szintű rezisztencia volt. A családok némelyikében az összes vizsgált egyed magvatlanság-fenotípusa ismert, míg más esetekben csak részleges ismeretekkel rendelkezünk a vizsgált egyedek magvatlanságának mértékéről.

- A 03-7 család anyai ágon a 40/4-es hibridtől származik, míg az apaként használt 'Superior seedless' a magvatlanság génforrásaként szerepel a keresztezésben. A 40/4-es hibrid genetikai háttere komplex, pedigréjében megtalálhatók a betegségek és az abiotikus (fagy, aszály) stresszhatásokkal szembeni rezisztencia génforrásaként a *V. amurensis* és a Seyve Villard hibrid is.

- A 06-7 jelzésű család (VRH 3082-1-42 (BC4) × Kismis moldavszkij) × 'Fantasy seedless' rezisztencia forrása a fenti 03-07 családdal szemben nem egy komplex franko-amerikai hibrid, hanem egy korszerű visszakeresztezéses nemesítésből származó, a peronoszpórával és a lisztharmattal szemben egyaránt oligogénes öröklődésű rezisztenciát hordozó negyedik visszakeresztezett nemzedékből kiválasztott vonal: a VRH 3082-1-42 (BC4).
- Végül a 07-12 család utódnemzedékét vizsgáltam. A család pedigjét az Eredmények fejezetben részletesen ismertetem. A felmenők között megtalálható a közép-ázsiai, lisztharmat rezisztenciát hordozó 'Dzsandzsar kara' fajta, a 'Seyve Villard' felmenőkkel rendelkező 'Laszta', valamint a szintén közép-ázsiai 'Katta kurgan' mellett a 'Perlette' is, ami a magvatlanságért felelős szülő.

3.2 Felhasznált módszerek

3.2.1 Mintagyűjtés

A vizsgálatokhoz felhasznált egyedek esetében a mintagyűjtés ősszel történt és idős leveleket gyűjtöttünk, amelyeket feldolgozásig -20 °C-on fagyasztva tároltunk.

3.2.2 DNS kivonás

1. 50 mg levélmintát dörzscsészében, hűtés nélkül tártam fel 1 ml mosópufferben (100 mM Tris-HCl [pH 8,0], 5 mM EDTA [pH 8,0], 0,35 M glükóz, 2% PVP, 0,4% 2-merkapto-etanol [közvetlenül a felhasználás előtt hozzáadva]).
2. A feltárt mintát áttöltöttem 1,5 ml-es centrifuga-csövekbe, majd 30 másodperc intenzív keverés (vortex) után 30 percig jégen inkubáltam.
3. A mintákat 10 percig centrifugáltam 2 800 g-n szobahőmérsékleten, majd a felülúszót leöntöttem.
4. A pelletre 600 µl feltáró puffert (100 mM Tris-HCl [pH 8,0], 1,5 M NaCl, 50 mM EDTA [pH 8,0], 3 w/v % cetil-trimetil-ammónium-bromid [CTAB], 0,4% 2-merkapto-etanol [közvetlenül a felhasználás előtt hozzáadva]) pipettáztam.
5. Ezután a pelletet erősen vortexelve feloldottam, majd 65 °C hőmérsékleten 30 percig inkubáltam.
6. A mintákhoz kloroform és izoamil-alkohol 24:1 arányú, a mintával azonos (600 µl) térfogatú keverékét, valamint 0,1 térfogatnyi (60 µl) 5 M kálium-acetátot adtam. A mintákat óvatosan forgatva elegyítettem a szerves és szervesetlen fázist.
7. A csöveket 15 percig centrifugáltam 5 000 g-n, szobahőmérsékleten.
8. A centrifugálás után 600 µl felülúszót átvittem új centrifugacsőbe, majd ismét hozzáadtam 600 µl kloroform:izoamil-alkoholt.
9. Alapos összeforgatás után centrifugáltam az előbbiekhöz hasonlóan 15 percig 5000 g-n.

10. 500 µl új centrifugacsőbe pipettázott felülúszóhoz 1 térfogatnyi izopropanolt és 0,1 térfogatnyi 3 M nátrium acetátot (pH 5,2) adtam.
11. Óvatos keverés után a mintát 30 percig inkubáltam -20 °C-on.
12. Inkubálás után a mintákat 10 percig centrifugáltam 9 000 g-n, szobahőmérsékleten.
13. A pelletet kétszer mostam 70% etanollal: az etanol hozzáadása után 10 percig inkubáltam szobahőmérsékleten majd 10 percig centrifugáltam szintén szobahőmérsékleten asztali centrifugában maximális fordulatszámmon.
14. A pellet szárítása után a tisztított DNS-t 100 µl 1xTE oldatban (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8,0) oldottam vissza. A kivont DNS-mintákat -20°C-on tároltam.

3.2.3 A szőlő-magvatlansághoz kapcsolt SCAR-CAPS marker használata

A magvatlanság nyomon követéséhez a LAHOGUE és mts. (1998) által kifejlesztett SCAR-CAPS markereket és DEÁK TAMÁS (2010) által továbbfejlesztett, az SCC8 lókuszra tervezett, a 4. és 19. kapcsoltsági csoportokat kizáró primerek is használtam.

Az SCC8 primerpár (SCC8F 5' GGTGTCAAGTTGGAAGATGG-3' és SCC8R 5'-TATGCCAAAAACATCCCC-3') és az scc-F6 (5'-CAAGTTGGAAGATGGGGAGT-3') és scc-R914 (5'-TCAAAAGAGGGTTGGCTCAC-3') magvas *sdl* és magvatlan *Sdl* allélhoz kapcsolt *scc8⁻* és *SCC8⁺* allélok egyaránt felszaporítja standard reakciókörülmények között (2. táblázat). A PCR reakciót 20 µl végtérfogatban végeztem. A PCR reakció lépéseit a 3. táblázat összegzi. Az első lépés a 4 perc elődenaturáció 94°C-on, ezután 35 ciklus következett, amelyben 45 másodperc 94°C-on végzett denaturációt, 45 másodpercnyi primerkötés követett 60 °C-on, majd 90 másodperc lánchosszabbítás zárt 72°C hőmérsékleten. Az utolsó lépés 7 perc lánczáró szintézis 72°C-on.

A minták emésztése (4. táblázat) során 8,7 µl PCR termékhez 3 U *Bgl*/II restrikciós endonukleázt és 1 µl 10x koncentrációjú enzim-puffert adtam, az elegyet 1,5 órán keresztül inkubáltam 37 °C-on.

Az emésztett PCR-terméket agaróz gélelektroforézissel választottam el 75 V-on, 1,2 %-os 1xTBE gélben. A géleket ethidium-bromiddal festettem meg és UV megvilágítással tettem láthatóvá, dokumentáltam.

2. táblázat: A kísérletek során alkalmazott PCR reakció összetétele.

Összetevő	Törzsoldat koncentrációja	Bemért mennyiség	Végkoncentráció
PCR puffer (KCl)	10×	10 µl	1 ×
MgCl ₂	25 mM	6 µl	1,5 mM
dNTP	2,5 mM minden nukleotid	8 µl	200 µM
Primer F	10 µM	2 µl	0,2 µM
Primer R	10 µM	2 µl	0,2 µM
Taq polimeráz	1 U/µl	2 µl	0,4 U / reakció
DNS	~50 ng / µl	5 µl	50 ng / reakció
MQ víz		65 µl	

3. táblázat: A kísérletek során alkalmazott PCR program.

Hőmérséklet	Időtartam	Ismétlés
94°C	5 min	35 x
94°C	45 sec	
60°C	45 sec	
72°C	90 sec	
72°C	5 min	
4°C	∞	

4. táblázat: A PCR termék emésztéséhez használt reakció összetétele.

Összetevő	Törzsoldat koncentrációja	Bemért mennyiség	Végkoncentráció
PCR reakciótermék		8,7 µl	
<i>Bg</i> /II puffer	10x	1 µl	1x
<i>Bg</i> /II	10 U/µl	0,3 µl	3 U

4 Eredmények és megvitatásuk

Munkám során összesen több mint 100 DNS-kivonást végeztem a különböző vizsgált fajták, vonalak és családok vizsgálatához. A kitisztított DNS mintákból PCR-rel felszaporítottam az SCC8 lókuszt, majd a PCR terméket emésztettem és meghatároztam a vizsgált egyedek SCC8 genotípusát (5. táblázat). Bizonyos esetekben a DNS-kivonás többszöri ismétlésével sem kaptam PCR-re alkalmas kivonatot. A 0/0 genotípus kizárása érdekében a sikertelen PCR-t egy mikroszatellit lókuszt (VvMD27) vizsgálatával igazoltam.

4.1 Magyarországi rezisztens csemegeszőlő-nemesítésben használt fajták és vonalak

A fajták vizsgálata során a legtöbb esetben nem határozható meg a pontos genotípus. Bár az SCC8 marker elvileg kodomináns, és így a pontos genotípus meghatározható lehetne, a szakirodalomban számos fajta esetében leírták a null allél előfordulását (ADAM-BLONDON és mts., 2001, KÖRÖS és mts., 2009). Ez a jelenség a gyakorlatban lehetetlenné teszi a pontos genotípus meghatározását, így az egy allélt mutató genotípusokat +/-, ill. -/? jelzéssel illetttem. Annak tisztázására, hogy az adott fajta két ugyanolyan allélt hordoz, vagy esetleg az adott allél mellett null allélt, minden egyes esetben egy megfelelően nagy egyedszámú utódpopuláció értékelésére lenne szükség.

A vizsgált fajtáknál nagyrészt követte a marker az egyedek ismert fenotípusát: a marker alapján magvatlan növények valóban magvatlanok, míg a marker alapján magvasnak mutató növények valóban magvasak voltak.

Az általam vizsgált magvas fajták jelentős része hordozza azonban a magvatlansághoz kapcsolt marker-allélt. A 'Dzsandzsál kara' nevű fajta valószínűleg rekombináns $SCC8^{+[R]}$ allélt tartalmaz, a 'Katta kurgan' fajtához hasonlóan. További vizsgálatok alapján null allél is megjelent az utódnemzedékében ezért valószínűleg a 'Dzsandzsál kara' a rekombináns allél mellett null allélt is tartalmaz. A magvas vonalak között felsorolt 02-2/105 és 02-2/82 hibridek $SCC8^{+[R]}$ allélja feltehetően a keresztezéshez használt VRH 3082-1-42 (BC4) rekombináns allélját hordozza (DEÁK, 2010).

A magvas fajtákkal ellentétben a magvatlan fajták esetében az SCC8 marker minden esetben a várt módon megfelelően működött. A 'Superior seedless' fajta esetében a szakirodalom adatai ellentmondásosak: ADAM-BLONDON és mts. $scc8^{-}/?$, míg REVERS (2005) és DEÁK (2010) $SCC8^{+}/scc8^{-}$ genotípust határoztak meg (1. táblázat). Eredményeim alapján – amelyek az előzőektől független negyedik forrásból származó növényanyagon alapulnak – az $SCC8^{+}/scc8^{-}$ genotípus felel meg a valóságnak.

5. táblázat: A dolgozatban vizsgált magvas és magvatlan szőlőfajták, nemesítési vonalak és hibridcsaládok általam meghatározott SCC8 genotípusa. (+: SCC8⁺ allél, -: scc8⁻ allél, 0: null allél, ?: ismeretlen allél; *: a null allél jelenlétét szakirodalmi adatok, ill. saját eredményeim igazolják)

magvas fajták és hibridek	
Talizmán	n. a.
Itália	-/?
Dzsandzsál kara	+/0*
Dunav	-/?
Katta kurgan	+/?
02-2/105	+/-
02-2/82	+/?

magvatlan fajták és hibridek	
Superior seedless	+/-
Sultanina	+/?
Kismis vatkana	+/?
Kismis lucsisztűj	+/0*
Black monukka	+/**
Emerald seedless	+/?
Regal	+/?
Crimson seedless	+/?
Kahib 23	+/?
Autumn seedless	+/?
Centennial seedless	+/?
Fantasy seedless	n. a.
Melissa	+/-

Hibrid családok	
03-7 család(40/4 × Superior seedless)kiemelték	
03-7/49 magvatlan	+/?
03-7/24 magvatlan	+/?
03-7/16 magvatlan	+/?
03-7/95 magvas	-/?

06-7 család(VRH 3082-1-42(BC4) × Kismis moldavszkij) × Fantasy seedless kiemelték	
06-7 13/1 magvas	-/?
06-7 13/2 magvatlan	+/?
06-7 13/3 nincs termés	na.
06-7 13/4 magvatlan	+/?
06-7 13/5 magvas	+/?
06-7 14/1 nincs termés	+/?
06-7 14/2 magvatlan	+/?
06-7 14/3 magvatlan	+/?
06-7 14/4 magvatlan	+/?
06-7 14/5 magvas	+/?

* A null allél jelenlétét az általam vizsgált hasadó nemzedék genotípuseloszlása igazolja. (+: SCC8⁺ allél, -: scc8⁻ allél, 0: null allél, ?: ismeretlen allél)

06-7 család(VRH 3082-1-42(BC4) × Kismis moldavszkij) × Fantasy seedless kiemelték	
1/1	+/?
1/2	-/?
1/3	+/?
1/4	+/?
1/5	+/?
1/6	+/-
2/1	+/?
2/2	-/?
2/3	+/?
2/4	-/?
3/1	-/?
3/5	+/?
4/5	n. a.
5/2	+/?
5/5	+/-
6/2	+/-
6/3	+/?
6/4	+/?
6/5	na
7/2	+/?
7/3	+/?
8/2	n.a.
8/3	+/?
9/3	+/-
9/4	+/-
9/5	+/?
10/1	+/-
10/2	+/-
10/3	+/?
11/1	+/?

4.2 Hibridcsaládok

4.2.1 03-7 család (40/4 × *Superior seedless*) kiemelvek

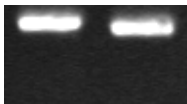
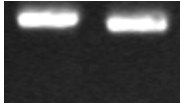
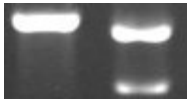
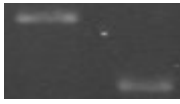
A 40/4 × *Superior seedless* keresztezésből négy egyedet emeltek ki, ezeknek az SCC8 markerrel határoztam meg genotípusát. A család a hagyományos nemesítési irányvonalat követi, azaz franko-amerikai hibridekre építi a rezisztenciát. A *Superior seedless* az *Sd1* lokuszra nézve heterozigóta genotípusú, magvatlan fenotípusú. A három domináns $SCC8^+$ allélt hordozó egyed, fenotípusban is magvatlanságot mutatott. A magvas fenotípusú 03-7/95 esetében $scc8^-/?$ genotípust azonosítottam. Bár a vizsgált család mérete nem engedi meg messzemenő következtetések levonását, eredményeim alapján a marker alkalmazhatósága nem zárható ki ezen család esetében.

4.2.2 06-7 család (VRH 3082-1-42 (BC4) × *Kismis moldavszkij*) × *Fantasy seedless* kiemelvek

A családból először 10 db 3 éves oltványt vizsgáltam meg. A családból először ez a 10 egyed került felszaporításra, ezért ezek fenotípusa nagyrészt ismert. A genotipizálás során a magvatlan fenotípusú egyedek kivétel nélkül hordozták a magvatlansághoz kapcsolt $SCC8^+$ allélt. A magvas fenotípusú egyedeknél már nem ennyire egyértelmű az eredmény, a három magvas hibrid közül csak egy esetben (06-7 13/1) fordult elő, hogy a marker csak a magvasságért felelős *sdl* allélhoz kapcsolt $scc8^-$ allélt mutatta. A másik két magvas fenotípusú utód (06-7 13/5 és 06-7 14/5) az SCC8 mintázat alapján magvatlan genotípusúnak bizonyult. Mivel a rezisztens, magvas szülőről tudjuk, hogy a sztenospermokarp magvatlanság szempontjából heterozigóta 'Kismis moldavszkij' $SCC8^+$ és $scc8^-$ alléljai mellett a magvas BC4 rekombináns ($SCC8^{+[R]}$) és null alléljait hordozhatja (DEÁK, 2010). A magvatlan szülőről az irodalomból tudjuk, hogy $SCC8^{+/?}$ (REVERS és mts., 2005) a genotípusa. Mindezek ismeretében az utódok genotípus összetételéből arra lehet következtetni, hogy a (BC4 × *Kismis moldavszkij*) szülő $SCC8^{+[R]}/scc8^-$, a 'Fantasy seedless' $SCC8^{+}/0$ allélokot hordoz, mivel az egyedek között recesszív $scc8^-/?$ allélú magvas genotípus is megjelent. Ez csak akkor lehetséges, ha vagy mind a két szülő heterozigóta ($SCC8^{+}/scc8^-$) vagy az egyik heterozigóta a másik pedig null alléllal rendelkezik, ebben az esetben – mivel a 'Fantasy seedless' esetében az $scc8^-$ allél kizárható – az utóbbi lehetőség a valószínű (2. ábra).

A 06-7 hibrid családból további 31 egyedet is vizsgáltam, de ezek fenotípusa még ismeretlen. A vizsgálat során ezekben az esetekben heterozigóta egyedek is megjelentek, ami arra utal, hogy a (BC4 × *Kismis moldavszkij*) keresztezésből származó szülő $SCC8^{[R]}/SCC8^-$ genotípusú. A rekombináns $SCC8^{+[R]}$ allél jelenléte miatt az $SCC8^{+/?}$ allélú egyedeknél nem lehet a magvasságot kizárni (2. ábra), ezért a marker használata ebben a családban jelentősen korlátozódik. Ebben az esetben csak a heterozigóta $SCC8^{+}/scc8^-$ allélú egyedekről tudjuk biztosan, hogy magvatlanok, mert a Fantasy seedless $SCC8^+$ allélja mellett a (BC4 × *Kismis moldavszkij*) szülő

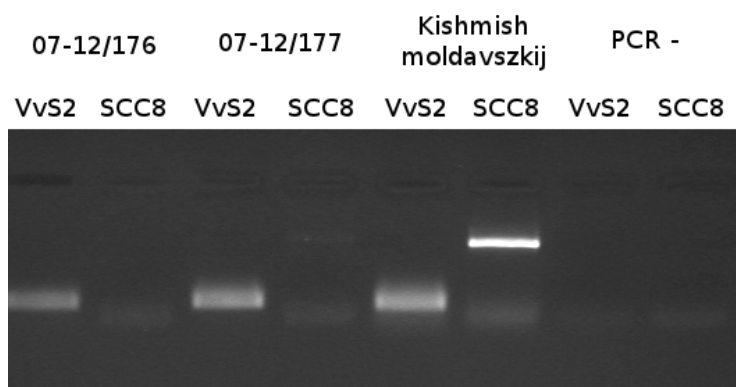
scc8⁻ allélját örökölték. Ugyanakkor az *scc8*-/0 genotípusú egyedekben a magvatlanság kizárható, mivel ezek biztosan a 'Fantasy seedless' magvassághoz kapcsolt null allélját örökölték (2. ábra). Ezek alapján a marker az egyedek mintegy felénél nem használható.

	FS SCC8 ⁺	FS ?
(BC4xKM)	SCC8 ⁺ [R]/SCC8 ⁺	SCC8 ⁺ [R]/?
SCC8 ⁺ [R]		
(BC4xKM)	SCC8 ⁺ /scc8 ⁻	scc8 ⁻ /?
scc8 ⁻		

2. ábra: Az SCC8 marker öröklődésének feltételezett Punett-táblája a 06-7 hibridcsaládban tapasztalt hasadási arányok és genotípus-eloszlás alapján.

4.2.3 07-12 család (*Dzsandzsál kara* × *Laszta*) × (*Katta kurgan* × *Perlette*)

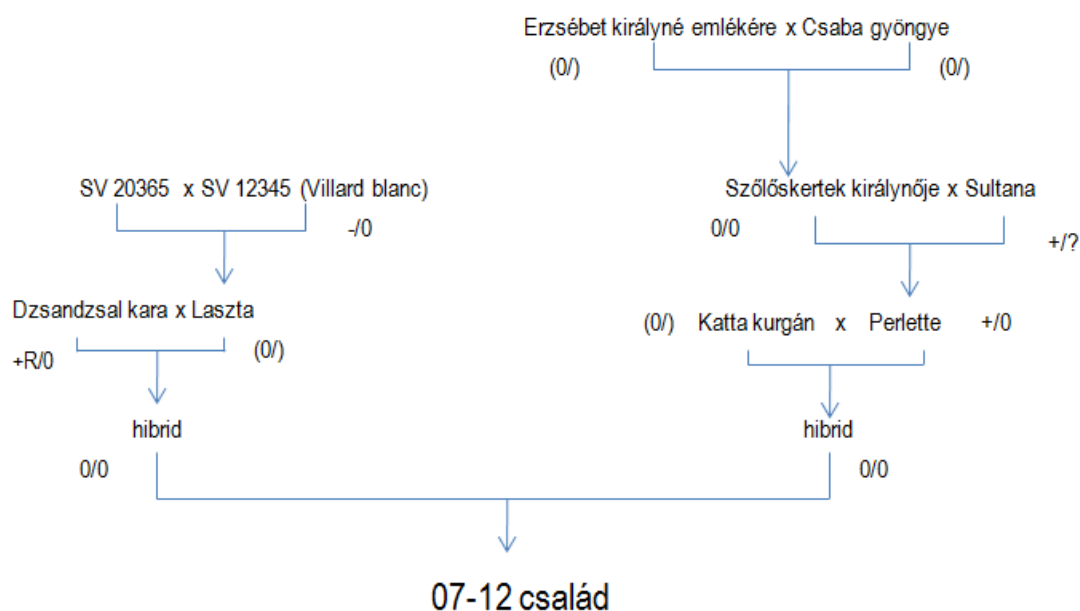
A 07-12 család vizsgálatakor 175 egyede közül a kezdetekben mintegy 20 genotípus vizsgálatát kezdtük meg. A PCR reakció azonban nem adott terméket sem az eredeti SCC8, sem pedig a továbbfejlesztett SCC8 markerrel. A DNS reakcióképességét, illetve alkalmasságát a PCR reakcióra kontroll PCR-rel ellenőriztem, amihez a VvS2 mikroszatellit primereket használtam (3. ábra).



3. ábra: A 07-12 családból kiválasztott két egyed (07-12/176 és 07-12/177) DNS-kivonatának ellenőrzése. Az SCC8 marker mellett a VvS2 mikroszatellit primerpárt használtam PCR reakcióban. A pozitív kontrollként használt 'Kismis moldavszkij' mintegy 1000 bp hosszú PCR terméke méretmarker is egyben.

Mivel a család minden vizsgált egyede 0/0 genotípusúnak bizonyult, részletesen elemeztem a család pedigréjét, illetve a felmenők ismert SCC8 genotípusát (4. ábra). A 'Dzsandzsál kara' közép-ázsiai eredetű magvas fajta, rezisztencia-nemesítésben játszik fontos szerepet mivel *Ren1*

lisztharmat rezisztencia gént tartalmazza. Érdekessége, hogy a szintén közép-ázsiai magvatlan Kismis vatkana rezisztenciával kapcsolt alléljaik megegyeznek (COLEMAN és mts., 2009). Vizsgálataim során a Dzsandzsál kara SCC8^{+[R]}/0 genotípusúnak bizonyult (5. táblázat). A 'Laszta' fajta 'Seyve Villard' eredetű, pedigrijében megtalálható mind a 'SV 20365', mind a 'SV 12375' ('Villard blanc'). A 'Laszta' fajtáról nincs adat az SCC8 genotípust illetően de REVERS és mts. (2005) vizsgálatai alapján tudjuk, hogy a pedigrijében megtalálható 'SV 12375' genotípusa scc8⁻/0. A 07-12 családban szülőként felhasznált 'Dzsandzsál kara' × 'Laszta' hibrid neve SK9 1-4/27, amelyet több további keresztezésekben is alkalmaztak azzal a céllal, hogy egyesítsék a peronoszpóra és a lisztharmat rezisztenciát a csemegeiszteőkben. A másik szülői ágról a 'Katta kurgán' szintén közép-ázsiai eredetű és ugyanonnan származik, mint a 'Dzsandzsál kara', 'Kismis vatkana' vagy a 'Nimrang'. A 'Perlette' egy közelmúltban nemesített magvatlan *V. vinifera* fajtahibrid. A 'Dzsandzsál kara' kivételével, mindegyik nagyszülő lisztharmatra fogékony, és a "Villard blanc" az egyetlen felmenő, ami nem *V. vinifera* a 07-12 család pedigrijében (COLEMAN és mts., 2009). Sajnos a keresztezésben használt szülőktől nem volt vizsgálható minta ezért a genotípusokra csak a felmenőkből lehet következtetni. A keresztezésben csupán egy nagyszülő a Perlette rendelkezik a magvatlansághoz kapcsolt SCC8⁺ alléllal, de KÖRPAŠS és mts. (2009) null allélt is detektáltak a fajtában.



4. ábra: 07-12 család származása.

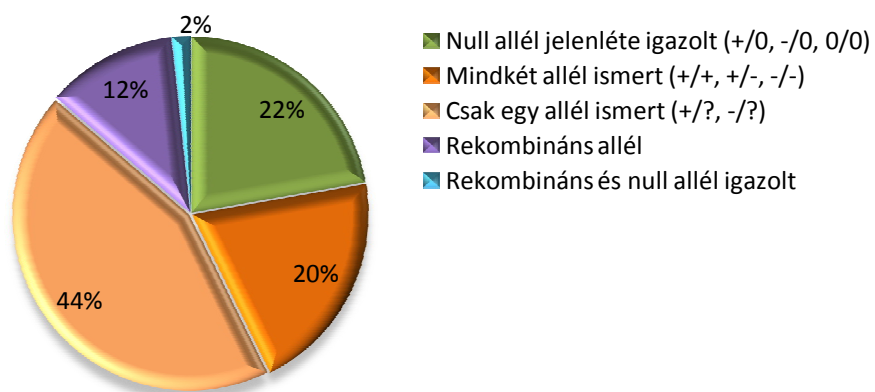
4.3 Az irodalomban közölt és a továbbfejlesztett marker összehasonlítása

Dolgozatomban célom volt az irodalomban közölt SCC8 marker és az ennek alapján továbbfejlesztett marker (SCC8dt) összehasonlíthatóságának vizsgálata, illetve az SCC8dt marker validálása. A vizsgált magvas és magvatlan fajták esetében az SCC8dt markerekkel végeztem el az elemzést. A más szerzők által is vizsgált fajták esetében az SCC8dt marker az irodalmi adatokkal megegyező eredményt adott. Az 5. táblázatban ismertetett eredmények az SCC8dt marker használatán alapulnak. A már ismert SCC8 genotípusú fajták mellett teszteltem az SCC8dt markert a 07-12 hibridcsaládon is. Az SCC8dt marker specifikusságát igazolja, hogy a 0/0 genotípusú egyedek esetében is az SCC8 markerrel megegyező eredményt adott, nem mutatott aspecifikus PCR terméket.

4.4 A marker alkalmazhatósága az ismert SCC8 genotípusok alapján

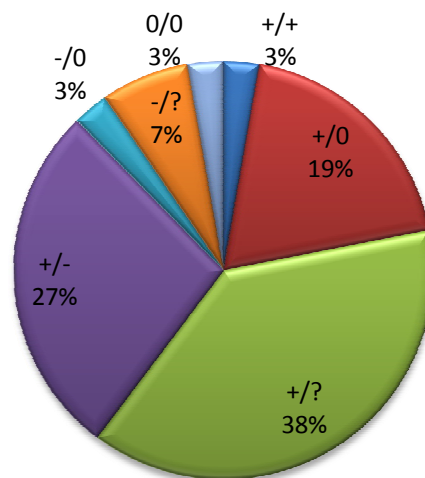
Eredményeim és a szakirodalomban közölt információk alapján átfogó képet kaphatunk arról, hogyan alakul a magvatlan, illetve magvas fenotípusú egyedek SCC8 genotípus-eloszlása, és ez hogyan befolyásolja a marker alkalmazhatóságát a nemesítésben. A továbbiakban ezt tekintem át röviden, kiemelt figyelmet szentelve a magyarországi multirezisztens csemegeszőlő-nemesítésben felhasznált genotípusokra.

Összesen 117 darab magvas és magvatlan, a szakirodalomból ismert, illetve részben genotípusú fajtát vettem össze (5. ábra) azt vizsgálva, hogy milyen gyakorisággal vannak jelen a rekombináns és/vagy null allélt tartalmazó egyedek. Azok az egyedek, amelyek fenotípusa megfelel az SCC8 SCAR-CAPS marker által előre jelzett fenotípussal, összesen 64%-ot képviselnek beleértve az SCC8^{+/?} és scc8^{-/?} genotípusokat is. Az eddig igazolt null allélok viszonylag nagy számban vannak jelen, a fajták 24%-ában megtalálhatók. Ez azt jelenti, hogy minden negyedik egyed tartalmaz legalább egy null allélt. A rekombináns allél gyakorisága az ismert fajták között 12%.

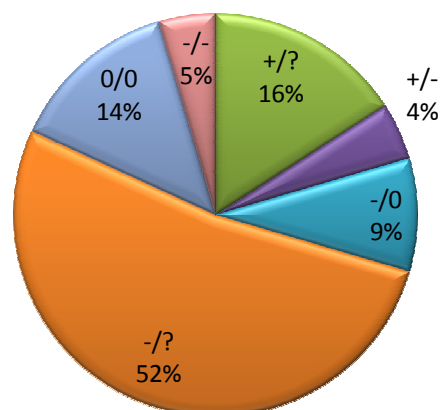


5. ábra: A rekombináns és null allélok gyakorisága az ismert SCC8 genotípusú fajták esetében. (+: SCC8⁺ allél, -: scc8⁻ allél, 0: null allél, ?: ismeretlen allél)

Összevetve az összes eddig megfigyelt sztenospermokarp magvatlan fenotípusú egyedet az *SCC8* lokuszon, a diagramon (6. ábra) bemutatott eloszlásából kitűnik, hogy alacsony (13 %) volt azon genotípusok aránya, amelyek nem hordozzák a magvatlansághoz kapcsolt domináns *SCC8*⁺ allélt. Ebből 10 % az *scc8*⁻ magvassághoz kapcsolt allélt hordozza, ami feltehetően rekombinációra utal, és csupán 3 % a homozigóta null allél. A magvatlan genotípusok alapján tehát a marker szoros kapcsolatot mutat a tulajdonság kialakulásáért felelős *Sd1* lokusszal, miközben a null allél igazolt előfordulásának aránya mindössze 25%.



6. ábra: Az ismert *SCC8* genotípusú sztenospermokarp magvatlan szőlőfajták genotípus-eloszlása. . (+: *SCC8*⁺ allél, -: *scc8*⁻ allél, 0: null allél, ?: ismeretlen allél)



7. ábra: Az ismert *SCC8* genotípusú magvas szőlőfajták genotípus-eloszlása. . (+: *SCC8*⁺ allél, -: *scc8*⁻ allél, 0: null allél, ?: ismeretlen allél)

A magvas genotípusok 6 csoportot alkotnak (7. ábra), ebből 3 típus ($scc8^-/?$, $scc8^-/0$, $scc8^-/scc8^-$) az esetek kétharmadát (66 %) adja. Ezekben az esetekben a magvas fajtában kizárólag a magvassághoz kapcsolt recesszív $scc8^-$, illetve null allélok található meg. A vártnak megfelelő SCC8 genotípusú fajták mellett viszonylag nagy (20%) az aránya a domináns allélt tartalmazó mégis magvas fenotípusú fajtáknak ($SCC8^+/scc8^-$ és $SCC8^+/?$ ami jelenthet $SCC8^+/SCC8^+$ vagy $SCC8^+/0$ -t). Az ilyen, rekombináns allélt hordozó, vagy esetleg a *Bgl*II hasítóhelyre mutáns PCR termékre utaló egyedek az esetek legnagyobb részében gátolják a marker alkalmazhatóságát. Kifejezetten magas (14%) azoknak a fajtáknak az aránya, amelyek SCC8 genotípusa 0/0, ám ezek – a magvatlan szülőpartnertől függően – kevésbé korlátozzák az alkalmazhatóságát.

A fentiek alapján a magvas fajták között viszonylag nagy arányban előforduló domináns markerallél ($SCC8^+$) akadályozza tehát leginkább a marker alkalmazhatóságát. Az irodalomból ismert ilyen fajták ('Chaouch' konkulta, 'Pizutello nero', 'Santa Paula', 'Luna') közül a legtöbb legalább részben kis-ázsiai ősökre vezethető vissza (1. táblázat, ADAM-BLONDON és mts., 2001, DEÁK, 2010), míg más ilyen fajtákat ('Dastachine', 'Ouroum Uzumu', 'Sultana monococco') a 'Szultán' fajta közvetlen leszármazottaként, esetleg rügymutánsaként tartanak számon.

A pécsi keresztezésekben rezisztenciaforrásként, illetve egyéb értékes tulajdonságaik miatt használt magvas fajták nagy része szintén kis-ázsiai eredetű és hordozza a rekombináns SCC8 allélt ('Dzsandzsar kara', 'Katta kurgan'). A domináns allél jelenlétéhez sokszor elegendőnek tűnik tehát a kis-ázsiai eredet függetlenül attól, hogy az adott fajta magvas, vagy magvatlan (a sztenospermokarp magvatlan típusok szinte kivétel nélkül a 'Szultán' fajtára vezethetők vissza). Annak igazolására, hogy ez a sejtés valóban megállja-e a helyét, természetesen további, célzott kísérletekre lenne szükség. A kis-ázsiai eredet mellett a magvas fajták domináns SCC8 alléljának másik fontos forrása az oligogénes rezisztenciaforrásként használt VRH 3082-1-42 (BC4) vonal. A vizsgált magvas vonalak (02-2/105, 02-2/82) és családok (06-7 család, 5. táblázat) közül több erre a vonalra vezethető vissza, amely szintén hordozza a rekombináns allélt (DEÁK, 2010).

4.4.1 Az SCC8 marker elméleti alkalmazhatósága az egyes keresztezésekben

A magvas, illetve magvatlan egyedek genotípus-eloszlása alapján megbecsülhető, hogy az ismert SCC8 genotípusú fajták és vonalak közül véletlenszerűen kiválasztott szülőkombinációk esetén mekkora az elméleti esélye annak, hogy a marker alkalmazható lesz az utódpopulációban.

Magvatlan × magvatlan keresztezések

Összevetve a magvatlan egyedek közötti összes keresztezési lehetőséget, a 7 különböző magvatlan genotípus keresztezésével 28 lehetőséget kapunk (a rekombinánsokat és a null allélt tartalmazó genotípusokat is figyelembe véve) (6. táblázat). Magvatlan × magvatlan keresztezésekben 94%-os esélye annak, hogy a marker használható lesz, és hogy lehet azt alkalmazni a magvatlan

egyedek kiszűrésére (7. táblázat). A kombinációk negyedénél az egyik szülőpár homozigóta domináns genotípussal rendelkezik, ilyenkor a marker használata feleslegesnek tűnhet, hiszen a domináns sztenospermokarpia lehetősége minden utódban fennáll. Ugyanakkor egyes szerzők szerint az *Sdl* génnek megfigyelhető bizonyos intermedier jellege: a homozigóta domináns egyedekben a magvatlanság mértéke nagyobb, mint a heterozigóta egyedekben (LAHOGUE és mts., 1998). A marker használata ezekben az esetekben is indokolt lehet tehát. Viszonylag alacsony: 6% az esélye annak, hogy a marker nem fog működni. A marker főként azokban a keresztezésekben nem használható, ahol rekombináns allél található, mivel a kiértékelésnél nem kapunk egyértelmű genotípusokat.

6. táblázat: Kereszt táblázat az összes lehetséges magvatlan × magvatlan keresztezésről. (- R): rekombináns recesszív allélt jelenti, amihez magvatlanság kapcsolódik. A ?-lel jelölt ismeretlen allélok vagy megegyeznek a másik detektált alléllal, vagy 0 allélt jelentenek. A táblázat fejlécében feltüntetett számok az adott genotípus gyakoriságát mutatja a vizsgált fajták között. Zöld szín jelöli azokat az eseteket, amelyben a marker alkalmas a magvatlanság követésére, a lila színnel jelölt keresztezések esetén a marker alkalmazhatósága az ismeretlen alléltól (?) függ, míg a pirossal jelölt esetekben a marker nem alkalmas a magvatlanság követésére.

		0,03		0,19		0,38		0,27		0,03		0,07		0,03	
		+	+	+	0	+	?*	+	-	- ^R	0	- ^R	?*	0	0
0,03	+	++	++	++	+0	++	+	++	+-	+ ^R	+0	+ ^R	+	+0	+0
	+	++	++	++	+0	++	+	++	+-	+ ^R	+0	+ ^R	+	+0	+0
0,19	+	++	++	++	+0	++	+	++	+-	+ ^R	+0	+ ^R	+	+0	+0
	0	+0	+0	+0	+0	+0	?0	+0	-0	- ^R 0	00	- ^R 0	?0	00	00
0,38	+	++	++	++	+0	++	+	++	+-	+ ^R	+0	+ ^R	+	+0	+0
	?*	+	+	+	+0	+	??	+	-?	- ^R ?	?0	- ^R ?	??	?0	?0
0,27	+	++	++	++	+0	++	+	++	+-	+-	+0	+ ^R	+	+0	+0
	-	+-	+-	+-	-0	+-	-?	+-	--	- ^R	-0	- ^R	-?	-0	-0
0,03	- ^R	+ ^R	+ ^R	+ ^R	- ^R 0	+ ^R	- ^R ?	+ ^R	- ^R	- ^R	- ^R 0	- ^R	- ^R ?	- ^R 0	- ^R 0
	0	+0	+0	+0	00	+0	?0	+0	-0	- ^R 0	00	- ^R 0	?0	00	00
0,07	- ^R	+ ^R	+ ^R	+ ^R	- ^R 0	+ ^R	- ^R ?	+ ^R	- ^R	- ^R	- ^R 0	- ^R	- ^R ?	- ^R 0	- ^R 0
	?*	+	+	+	?0	+	??	+	-?	- ^R ?	?0	- ^R ?	??	?0	?0
0,03	0	+0	+0	+0	00	+0	?0	+0	-0	- ^R 0	00	- ^R 0	?0	?0	00
	0	+0	+0	+0	00	+0	?0	+0	-0	- ^R 0	00	- ^R 0	?0	?0	00

7. táblázat: A 6. táblázatban bemutatott magvatlan × magvatlan keresztezések értékelése. A keresztezésekben a marker használhatóságának esélye a szülők genotípusának gyakoriságától függ. A lilával jelölt esetekben az alkalmazhatóság az ismeretlen alléltól függ, így ezek valószínűsége megoszlik a zölddel jelölt kedvező, illetve a pirossal jelölt kedvezőtlen esetek között.

		0,03	0,19	0,38	0,27	0,03	0,07	0,03
		+/+	+/0	+/?	+/-	-/0	-/?	0/0
0,03	+/+	0,0009	0,0057	0,0114	0,0081	0,0009	0,0021	0,0009
0,19	+/0	0,0057	0,0361	0,0722	0,0513	0,0057	0,0133	0,0057
0,38	+/?	0,0114	0,0722	0,1444	0,1026	0,0114	0,0266	0,0114
0,27	+/-	0,0081	0,0513	0,1026	0,0729	0,0081	0,0189	0,0081
0,03	-/0	0,0009	0,0057	0,0114	0,0081	0,0009	0,0021	0,0009
0,07	-/?	0,0021	0,0133	0,0266	0,0189	0,0021	0,0049	0,0021
0,03	0/0	0,0009	0,0057	0,0114	0,0081	0,0009	0,0021	0,0009
Összesítés								
0,8807	0,1184	0,0009						
0,0592		0,0592						
0,9399		0,0601						
96%		6%						

Magvas × magvatlan keresztezések

A magvatlan fajták 7féle genotípusát keresztezve a magvas fajták 5féle genotípusával, 35 variációt kapunk (8. táblázat). A magvas × magvatlan keresztezéseknél 72% az esély a marker megfelelő működésére és 28%-ban nem használható (9. táblázat). A marker használata felesleges és nem is használják abban az esetben, ha a magvatlan szülőpár homozigóta domináns genotípusú mivel itt minden egyednél biztosan magvatlan utódokat kapunk. Általában abban az esetben nem használható a marker, ahol rekombináns allélok és/vagy null allélok is megtalálhatók. Ennek ellenére vannak olyan esetek, ahol alkalmazható a marker bár nem a megszokott módon. Például ha rekombináns és null allélokat ($SCC8^{+R}/0$) hordozó magvas egyedet (pl. VRH 3082-1-42) keresztezünk heterozigóta magvatlan, $SCC8^{+}/scc8^{-}$ genotípusú egyeddel, a magvas egyedek kimutathatóak lesznek.

8. táblázat: Kereszt táblázat az összes lehetséges magvas × magvatlan keresztezésről. Az „R”: rekombináns allélt jelöl. A ?-lel jelölt ismeretlen allélok vagy megegyeznek a másik detektált alléllal, vagy 0 allélt jelentenek. A táblázat fejlécében feltüntetett számok az adott genotípus gyakoriságát mutatja a vizsgált fajták között. Zöld szín jelöli azokat az eseteket, amelyben a marker alkalmas a magvatlanság követésére, a lila színnel jelölt keresztezések esetén a marker alkalmazhatósága az ismeretlen alléltól (?) függ, míg a pirossal jelölt esetekben a marker nem alkalmas a magvatlanság követésére.

	0,03		0,19		0,38		0,27		0,03		0,07		0,03		
0,05		+	+	+	0	+	?	+	-	- ^R	0	- ^R	?	0	0
	-	+-	+-	+-	-0	+-	-?	+-	--	- ^R -	-0	- ^R -	-?	-0	-0
	-	+-	+-	+-	-0	+-	-?	+-	--	- ^R -	-0	- ^R -	-?	-0	-0
0,09	-	+-	+-	+-	-0	+-	-?	+-	--	- ^R -	-0	- ^R -	-?	-0	-0
	0	+-	+-	+-	00	+-	?0	+-	-0	- ^R 0	00	- ^R 0	?0	00	00
0,52	-	+-	+-	+-	-0	+-	-?	+-	--	- ^R -	-0	- ^R -	-?	-0	-0
	?	+?	+?	+?	?0	+?	??	+?	-?	- ^R ?	?0	- ^R ?	??	?0	?0
0,14	0	+0	+0	+0	00	+0	?0	+0	-0	- ^R 0	00	- ^R 0	?0	00	00
	0	+0	+0	+0	00	+0	?0	+0	-0	- ^R 0	00	- ^R 0	?0	00	00
0,16	+ ^R	++ ^R	++ ^R	++ ^R	+ ^R 0	++ ^R	+ ^R ?	++ ^R	+ ^R -	+ ^R - ^R	+ ^R 0	+ ^R - ^R	+ ^R ?	+ ^R 0	+ ^R 0
	-	+-	+-	+-	-0	+-	-?	+-	--	- ^R -	-0	- ^R -	-?	-0	-0
0,04	+ ^R	++ ^R	++ ^R	++ ^R	+ ^R 0	++ ^R	+ ^R ?	++ ^R	+ ^R -	+ ^R - ^R	+ ^R 0	+ ^R - ^R	+ ^R ?	+ ^R 0	+ ^R 0
	?	+?	+?	+?	?0	+?	??	+?	-?	- ^R ?	?0	- ^R ?	??	?0	?0

9. táblázat: A 8. táblázatban bemutatott magvas × magvatlan keresztezések értékelése. A keresztezésekben a marker használhatóságának esélye a szülők genotípusának gyakoriságától függ. A lilával jelölt esetekben az alkalmazhatóság az ismeretlen alléltól függ, így ezek valószínűsége megoszlik a zölddel jelölt kedvező, illetve a pirossal jelölt kedvezőtlen esetek között.

		0,03	0,19	0,38	0,27	0,03	0,07	0,03
		+/+	+0	+/?	+/-	-0	-/?	0/0
0,05	-/-	0,0015	0,0095	0,019	0,0135	0,0015	0,0035	0,0015
0,09	-0	0,0027	0,0171	0,0342	0,0243	0,0027	0,0063	0,0027
0,52	-/?	0,0156	0,0988	0,1976	0,1404	0,0156	0,0364	0,0156
0,14	0/0	0,0042	0,0266	0,0532	0,0378	0,0042	0,0098	0,0042
0,16	+/-	0,0048	0,0304	0,0608	0,0432	0,0048	0,0112	0,0048
0,04	+/?	0,0012	0,0076	0,0152	0,0108	0,0012	0,0028	0,0012
Összesítés								
0,7074	0,0234	0,2692						
0,0117		0,0117						
72%		28%						

5 Összefoglalás, következtetések

A három értékelhető hibridnemzedékből kettőnél lehetett megfigyelni (06-7 és 07-12), hogy a marker használata korlátozott, illetve egyáltalán nem használható. A 07-12 család [(Dzsandzsalkara × Laszta) × (Katta kurgan × Perlette)] esetében a null allélok jelenlétét bizonyítja a család szülőpárjának származási vonala és SCC8 genotípusuk is. A család szinte minden felmenője rendelkezik null alléllal és valószínűleg a szülőpárba is csak ezek öröklődtek. Az eredmények alapján a korábban megállapított Dzsandzsalkara SCC8^{+[R]}/? genotípusa feltételezhetően SCC8^{+[R]}/0 az utódokban észlelt null allélok alapján. Ezek alapján kiderült, hogy a 07-12 család esetében a marker egyáltalán nem használható a null allélok jelenléte miatt, tehát itt az esetleges magvatlan egyedeket nem lehet szelektálni a markerre alapozva. Ugyanígy a 06-7 család kiemeltjein sem alkalmazható 100%-osan, a BC4 rekombináns allélja miatt csupán az egyedek negyedénél lehet a magvatlanságot biztosan megállapítani a marker alapján. A marker egyedül a 03-7 családnál használható a magvatlan egyedek szelekciójára.

ADAM-BLONDON és mts. (2001) és KORPÁS és mts. (2009) munkájuk során egyaránt arra a következtetésre jutottak, hogy magvatlan × magvatlan keresztezésekben az SCC8 marker jobban használható, mint a magvas × magvatlan. A keresztezési kombinációkon végzett számításokból kiderül, hogy nem minden keresztezési esetben használható az SCC8 marker, legfőképp a rekombináns és a null allél jelenléte csökkentheti az esélyt a marker működésére. Ha azonban figyelembe vesszük a genotípusokat és ezek alapján válogatjuk össze mind a magvas mind a magvatlan szülőket, akkor a marker jó eséllyel alkalmazható.

Az általam vizsgált magvas × magvatlan keresztezésekből származó kiemelték is alátámasztják ADAM-BLONDON és mts. (2001) és KORPÁS és mts. (2009) eredményeit. A magvatlan × magvatlan keresztezések esetében a marker használhatóságának az esélye 94% azonban vannak esetek, amikor a szülő pontos genotípusától függ, hogy használható-e vagy sem. A magvas × magvatlan keresztezések esetében a marker használhatóságának esélye alacsonyabb (72%). A magyarországi multirezisztens csemegeszőlő nemesítésben használt magvas fajták és vonalak azonban nagy arányban tartalmazzák a marker alkalmazhatóságát ellehetetlenítő rekombináns allélt. Ahhoz, hogy ezekben a nemesítési programokban a szőlő sztenospermokarp magvatlansága nagy hatékonysággal markerezhető legyen, vagy az SCC8 lokuszra tervezett marker további fejlesztésére, vagy pedig újabb markerek bevonására van szükség.

6 Irodalomjegyzék

1. ADAM-BLONDON, A. F., F. LAHOUGE-ESNAULT, A. BOUQUET, J. M. BOURSIQUOT és P. THIS (2001): Usefulness of two SCAR markers for marker-assisted selection of seedless grapevine cultivar. *Vitis*, 40 (3): 147-155.
2. ALLEWELDT, G. és E. DETTWEILER (1994): The Genetic Resources of Vitis: World List of Grapevine Collections. Geilweilerhof, második kiadás.
3. ALLEWELDT, G. és J. POSSINGHAM (1988): Progress in grapevine breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 75 (5): 669-673.
4. BAKONYI, K. és L. BAKONYI (2002): History and results of rootstock breeding in Hungary. *International Journal of Horticultural Science*, 8 (1): 13-17.
5. BÁLINT GYÖRGY (2011): Csemegeszőlő - a kertek kötelező "kelléke", <http://www.balintgazda.hu/mindenheten-szuret/augusztus/csemegeszolo.html> (elérés: 2011. november 2.)
6. BÉNYEI, F., A. LŐRINCZ és L. SZ. NAGY (szerk.) (1999): Szőlőtermesztés. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 3. kiadás, pp. 435.
7. BISZTRAY, GY. (2001): A genom összetétele. In: I. VELICH (szerk.): Növénygenetika. Mezőgazda kiadó, Budapest. 407-431.
8. BISZTRAY, GY. és I. VELICH (1999): Molekuláris markerezési eljárások kertészeti növényeknél. In: M. H. NOVÁK (szerk.): Genetikai variabilitás a növénynevelésben. Mezőgazda kiadó, Budapest. 61-65.
9. BOSS, P. K., THOMAS, M. R. (2002): Association of dwarfism and floral induction with a grape 'green revolution' mutation. *Nature*, 416. (6883): 847-850.
10. BOSS, P., E. SENSI, C. HUA, C. DAVIES és M. R. THOMAS (2002): Cloning and characterisation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) MADS-box genes expressed during inflorescence and berry development. *Plant Science*, 162 (6): 887-895.
11. BOUQUET, A., Y. DANGLLOT (1996): Inheritance of seedlessness in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*, 35 (1): 35-42.
12. BOUQUET, A., J. PAUQUET, A. F. ADAM-BLONDON, L. TORREGOSA, D. MERDINOGLU és S. WIEDEMANN-MERDINOGLU (2000): Towards the obtention of grapevine varieties resistant to powdery and downy mildews by conventional breeding and biotechnology. *Bulletin de l'OIV*, 833-834: 445-452.
13. BREMER, B., K. BREMER, M. W. CHASE és mts. (2009): An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161 (2): 105-121.

14. CABEZAS, J. A., M. T. CERVERA, L. RUIZ-GARCÍA, J. CARREÑO és J. M. MARTÍNEZZAPATER (2006): A genetic analysis of seed and berry weight in grapevine. *Genome*, 49 (12): 1572-1585.
15. COELHO DE SOUZA, L. P. (2003): Viticulture in the Brazil's semi-arid regions. *Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.* (47): 90-92.
16. COLEMAN, C., D. COPETTI, CIPRIANI és mts. (2009): The powdery mildew resistance 110 gene *REN1* co-segregates with an NBS-LRR gene cluster in two Central Asian grapevines. *BMC Genetics* 10: 89.
17. COSTANTINI, L., J. BATTILANA, F. LAMAJ, G. F. EMAIL és M. S. GRANDO (2008): Berry and phenology-related traits in grapevine (*Vitis vinifera* L.): From Quantitative Trait Loci to underlying genes. *BMC Plant Biology*, 8 (1): 38-54.
18. CZEIZEL, E. (1983): Az emberi öröklődés. Gondolat Könyvkiadó, Budapest. pp. 500.
19. CSEPREGI, P., J. ZILAI (1988): Szőlőfajta-ismeret és -használat. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest. pp. 508.
20. DASS, H. C. és G. S. RANDHAWA (1968): Effect of gibberellin on seeded *Vitis vinifera* with special reference to induction of seedlessness. *Vitis*, 7 (1): 10-21.
21. DEÁK T. (2010): Molekuláris markerek alkalmazása a szőlő magvatlanságának követésére és Rosa L. taxonok rokonsági viszonyainak vizsgálatára. Doktori értekezés. Budapesti Corvinus Egyetem, Szőlészeti és Borászati Intézet. Budapest pp. 157.
22. DETTWEILER, E., A. JUNG, E. ZYPRIAN és R. TÖPFER (2000): Grapevine cultivar Müller-Thurgau and its true type descent. *Vitis*, 29 (2): 63-65.
23. DOLIGEZ, A., A. BOUQUET, Y. DANGLLOT, F. LAHOGUE, S. RIAZ, C. MEREDITH, K. EDWARDS és P. THIS (2002): Genetic mapping of grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight. *Theoretical and Applied Genetics*, 105 (5): 780-795.
24. EUROSTAT (2007): The use of plant protection products in the European Union. Data 1992-2003. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
25. EUROSTAT (2009): Organic farming statistics 2007-2008. (elérés: 2011. november 13.) http://epp.eurostat.ec.europa.eu/statistics_explained/index.php/Organic_farming_statistics
26. FAOSTAT (2011): <http://faostat.fao.org> (elérés: 2011. július 4.)
27. GALBÁCS, Z., S. MOLNÁR, G. HALÁSZ és mts. (2009): Identification of grapevine cultivars using microsatellite-based DNA barcodes. *Vitis*, 48 (1): 17-24.
28. GANCZAUGHNÉ, A. K. (1999): Filoxéra. In.: KOLLEGA TARSOLY, I. (Szerk.): Magyarország a XX. században (IV. kötet), Babits Kiadó, Szekszárd 647-690.
29. HAJDU, E. (2001): Új magyar szőlőfajták, Mezőgazda Kiadó, Budapest. pp. 170.

30. HAJDU, E. (2002): Table grape (*Vitis vinifera* L.) breeding and results in Hungary. *International Journal of Horticultural Science*, 8 (1): 25-29.
31. HAJDU, E. (2003): Magyar szőlőfajták. Mezőgazda Kiadó, Budapest. pp. 258.
32. HANANIA, U., M. VELCHEVA, E. OR, M. FLAISHMAN, N. SAHAR és A. PERL (2007): Silencing of chaperonin 21, that was differentially expressed in inflorescence of seedless and seeded grapes, promoted seed abortion in tobacco and tomato fruits. *Transgenic Research*, 16 (4): 515-525.
33. HANANIA, U., M. VELCHEVA, N. SAHAR, M. FLAISHMAN, E. OR, O. DEGANI és A. PERL (2009): The ubiquitin extension protein S27a is differentially expressed in developing flower organs of Thompson seedless versus Thompson seeded grape isogenic clones. *Plant Cell Reports*, 28 (7): 1033-1042.
34. HOFFMAN S, (2008): Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása a szőlőlisztharmat és peronoszpóra rezisztenciára nemesítésében. Doktori értekezés, Szent István Egyetem, Gödöllő. pp. 127.
35. HORVÁTH SZABINA (2011): Agrobacterium rezisztencia térképezése szőlőben. Diplomamunka, Pécsi Tudományegyetem.
36. IKEDA, F., K. ISHIKAWA, S. YAZAWA és T. BABA (2004): Induction of compact clusters with large seedless berries in the grape cultivar Fujimori by the use of steptomycin, gibberellins, and CPPU. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 640: 361-368.
37. JAILLON, O., J.-M. AURY, B. NOEL és mts. (2007): The grape genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature*. 449 (7161): 463-467.
38. KANELIS, A. K., K. A. ROUBELAKIS-ANGELAKIS (1993): Grape. In G. B. Seymour, J. E. Taylor, G. A. Tucker (szerk.): Biochemistry of fruit ripening. London, Chapman and Hall. 189–220.
39. Kiss, E. (2005): Molekuláris növénynemesítés. In: Heszky L., Fésüs L., Hornok L. (Szerk.): Mezőgazdasági Biotechnológia. Agroinform Kiadó, Budapest. 194-210.
40. KISS, E., P. KOZMA IJF., G. HALÁSZ és mts.(2005): Microsatellite based fingerprints and pedigree analysis of grapevine of Carpathian Basin origin. *Proceedings of the Grape Genomics Symposium*, St. Louis, Missouri, USA: 79-87.
41. KONIECZNY A., AUSUBEL F.M. (1994): A procedure for mapping Arabidopsis mutations using co-dominant ecotypespecific PCR-based markers. *Plant Journal*, 4: 403-410.
42. KORPÁS ANDRÁS (2008): Egy interspecifikus csemegeszőlő-fajta rendkívüli partenokarp bogyóméretéről, *Kertgazdaság*, 40. (2) 39.

43. KOZMA, P. (2002): Goals and methods on grape resistance breeding in Hungary. *International Journal of Horticultural Science*. 8 (1) 41-46.
44. KOZMA, P., A. BALOGH, E. KISS, ZS. GALLI, T. KONCZ, L. HESZKY (2003): Study of origin of cultivar 'Csaba Gyöngy' ('Pearl of Csaba'). *Acta Horticulturae (ISHS)* 603. 585-591.
45. KOZMA, P., S. HOFFMANN (2010): New generation of resistant table grape cultivars. 10th International Conference on Grapevine Genetics and Breeding.. *Book of Abstracts*. 21 Geneva, NY USA.
46. LAHOUE, F., P. THIS és A. BOUQUET (1998): Identification of a codominant SCAR marker linked to the seedlessness character in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 97 (5-6): 950-959.
47. LEDBETTER, C. A., D. W. RAMMING (1989): Seedlessness in grapes. *Horticultural Reviews*, (11) 159-184.
48. LEDBETTER, C. A., és L. BURGOS (1994): Inheritance of stenospermocarpic seedlessness in *Vitis vinifera* L., *Journal of Heredity*, 85 (2): 157-160.
49. LI, Z. T., S. A. DHEKNEY és D. J. GRAY (2010): Molecular characterization of a SCAR marker purportedly linked to seedlessness in grapevine (*Vitis*). *Molecular Breeding*. 25: 637-644.
50. LOOMIS, N. H. és J. H. WEINBERGER (1979): Inheritance studies of seedlessness in grapes. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 104: 181-184.
51. MAVRIKIOS, C. (1977): Problems concerning the use of gibberellins in dessert grapes. *Bull. OIV*, 50. (554): 243-252.
52. MEJÍA, N. és P. HINRICHSEN (2003): A new, highly assertive SCAR marker potentially useful to assist selection for seedlessness in table grape breeding. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 603: 559-564.
53. MEJÍA, N., M. GEBAUER, L. MUÑOZ, N. HEWSTONE, C. MUÑOZ, P. HINRICHSEN, (2007): Identification of QTLs for seedlessness, berry size, and ripening date in a seedless × seedless table grape progeny. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58. (4): 499-507.
54. MEJÍA, N., B. SOTO, M. GUERRERO, X. CASANUEVA, (2011): Molecular, genetic and transcriptional evidence for a role of VvAGL11 in stenospermocarpic seedlessness in grapevine, *BMC Plant Biology*, 11: 57.
55. MEZŐGAZDASÁGI PANTHEON
<http://www.omgk.hu/MGP/MathiaszJanos/mathiasz.html> (elérés: 2011. július 10.)

56. MGSZH (2009): Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Központ Növény- és Talajvédelmi Igazgatóság Növényvédőszer vizsgálati eredmény.
57. MOURY, B., S. PFLIEGER, A. BLATTES, V. LEFEBVRE és A. PALLOIX (2000): A CAPS marker to assist selection of tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in pepper. *Genome*, 43 (1): 137-142.
58. OLMO, H. P. (1976): Grapes. In: N. W. SIMMONDS (szerk.), *Evolution of crop plants*, Longman, London. 294-298.
59. ORTUTAY, GY. (Szerk.) (1979): Magyar néprajzi lexikon II. (F–Ka). Akadémiai Kiadó, Budapest. 163-164.
60. PARAN I., MICHELMORE R.W. (1993): Development of reliable markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theoretical and Applied Genetics*, 85: 985-993.
61. PATIL, V. K., CHAKRAWAR, V. R., NARWADKAR, P. R., & SHINDE, G. S. (1995). Grape. In D. K. SALUNKHE, & S. S. KADAM (szerk): *Handbook of fruit science and technology*. New York: Marcel Dekker . 7-38.
62. PEARSON, H. M. (1932): Parthenocarpy and seedlessness in *Vitis vinifera*. *Science*, 76 (1982): 594.
63. PERL, A., SAHAR, N., SPIEGEL-ROY, P., GAVISH, S., ELYASI, R., ORR, E., BAZAK, H. (2000): Conventional and biotechnological approaches in breeding seedless table grapes. *Acta Horticulturae (ISHS)* (528): 607-612.
64. PETTENKOFFER, S. (1930): Szőlőművelés. Pátria Irodalmi Vállalat és Nyomdai Részvénytársaság, Budapest, 431 p.
65. PIVA, C.R., GARCIA, J.L.L., MORGAN, W. (2006): The ideal table grapes for the Spanish market. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28. (2): 258-261.
66. POMMER, C. V., E. J. P. PIRES, M. M. TERRAE és I. R. S. PASSOS (1996): Streptomycininduced seedlessness in the grape cultivar Rubi (Italia Red). *American Journal of Enology and Viticulture*, 47 (3): 340-342.
67. PRATT, C. (1971): Reproductive anatomy in cultivated grapes – a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 22. (2): 92-109.
68. RAMMING, D. W., C. A. LEDBETTER és R. TARAIOLO (1990): Hybridization of seedless grapes. In: *Proceedings of the 5th International Symposium on Grape Breeding*, 12-16 September 1989, St. Martin/Pfalz, FR of Germany. 439-444.
69. REVERS, L. F., V.S. LAMPE, P. R. D. DE OLIVEIRA és mts. (2005): Practical use of molecular markers for seedlessness assisted selection in grapevine breeding. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP*, 27 (3), 104-108

70. ROYTCHEV, V. (1998): Inheritance of grape seedlessness in seeded and seedless hybrid combinations of grape cultivars with complex genealogy. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49 (3): 302-305
71. SANDHU, A. S., J. S. JAWANDA és D. K. UPPAL (1984): Inheritance of seed characters in hybrid populations in intercultural crosses of grapes (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Research Punjab Agricultural University*, 21: 39-44.
72. SATO, A., H. YAMANE, M. YAMADA és K. YOSHINAGA (1994): Inheritance of seedlessness in grapes. *Journal of the Japan Society of Horticultural Science*, 63: 1-7.
73. SLATE, G.L., WATSON, J., EINSET, J. (1962): Seedless grape breeding at Geneva. *New York State Agricultural Experiment Station Bulletin*, Geneva, New York, USA. 794
74. SNYDER, E. (1934): Breeding for seedless *Vinifera* Grape. *American Society for Horticultural Science*, 380-383.
75. SPIEGEL-ROY, P., Y. BARON és N. SAHAR (1990): Inheritance of seedlessness in seeded $\times$ seedless progeny of *Vitis vinifera* L. *Vitis*, 29: 79-83.
76. STOUT, A. B. (1936): Seedlessness in grapes. *New York State Agricultural Experiment Station Bulletin*, Geneva, New York, USA. 238.
77. STOUT, A. B. (1939): Progress in Breeding for Seedless Grapes. *Proceedings of the American Society for Horticultural Sciences*, 37 (8): 627-629.
78. STRIEM, M.J., SPIEGEL-ROY, P., BARON, I., SAHAR, N. (1992): The degrees of development of the seed-coat and the endosperm as separate subtraits of stenospermocarpic seedlessness in grapes. *Vitis*, 31: 149-155.
79. STRIEM, M.J., G. BEN-HAYYIM, P. SPIEGEL-ROY. (1996): Identifying molecular genetic markers associated with seedlessness in grape. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences*. 121(5):758-763.
80. SZ. NAGY, L. (2002): Some important results in vine breeding at the Faculty of Viticulture of the Horticultural Department of the Szent István University. *International Journal of horticultural Science*, 8 (1): 37-40.
81. THIS, P., T. LACOMBE, M. R. THOMAS (2006): Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics*, 22 (9): 511-519.
82. TROGGIO, M., S. VEZZULLI, M. PINDO és mts.(2008): Beyond the genome, opportunities for a modern viticulture: A research overview. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59 (2): 117-127.
83. VELICH, I. (2001): Szemelvények a genetika történetéből. In: I. VELICH (szerk.): *Növénygenetika*. Mezőgauda Kiadó, Budapest. 23-35.

84. VARGAS, A. M., M. T. DE ANDRÉS, J. BORREGO és J. IBÁÑEZ (2009): Pedigrees of fifty table-grape cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60 (4): 525-532.
85. WAKANA, A., SARIKHANI, H., HANADA és mts. (2007): Characteristics of seedless berries of triploid hybrid grapes (*Vitis vinifera* complex) derived from eighteen crosses. *Journal Of The Faculty Of Agriculture, Kyushu Univescity*, 52. (2): 337-344.
86. WANG, H., M. J. MOORE, P. S. SOLTIS, C. D. BELL, S. F. BROCKINGTON, R. ALEXANDRE, C. C. DAVIS, M. LATVIS, S. R. MANCHESTER és D. E. SOLTIS (2009): Rosid radiation and the rapid rise of angiosperm-dominated forests. *PNAS*, 106 (10): 3853-3858.
87. WEILAND, J. J. és M. H. YU (2003): A Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) marker associated with root-knot nematode resistance in sugarbeet. *Crop Science*, 43 (5): 1814-1818.
88. WEINBERGER, J. H. és F. N. HARMON (1964): Seedlessness in *vinifera* grapes. *Proceedings of the American Society of Horticultural Science*, 85: 270-274.
89. WELSH, J. és M. MCCLELLAND (1990): Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, 18 (24): 7213-7218.
90. WILLIAMS, J. G. K., K. J. KUBELIK, J. A. LIVAK, RAFALSKI és S. V. TINGEY (1990): DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18: 6526-6535.
91. WU, S.-B., G. COLLINS és M. SEDGLEY (2004): A molecular linkage map of olive (*Olea europaea* L.) based on RAPD, microsatellite, and SCAR markers. *Genome*, 47 (1): 26-35.
92. YANG, K. Q., Y. J. WANG, J. J. ZHANG, X. P. WANG, Y. Z. WAN és J. X. ZHANG (2006): Analysis of restriction sites and Southern blotting of two molecular markers linked to grape seedless gene. *Chinese Journal of Agricultural Biotechnology*, 3 (1): 13-17.
93. YU, M. H., L. M. PAKISH és H. ZHOU (2001): An isozyme marker for resistance to rootknotnematode in sugarbeet. *Crop Science*, 41 (4): 1051-1053.
94. ZANATHY, G. (2004): A rezisztens, toleráns szőlőfajtákról. *Agro napló*, 8.(12).

7 Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni Deák Tamás konzulens tanáromnak fáradhatatlan segítségét és magas szintű szakmai irányítását mind a kísérletek elvégzésében, mind a dolgozatom megírása közben, melyek által betekintést nyerhettem a molekuláris genetika világába, technikai hátterébe. Külön köszönettel tartozom a dolgozatom elkészítésében nyújtott hasznos tanácsaiért és segítő gondolataiért Dr. Bisztray György Dénes tanszékvezetőnek.

Köszönöm továbbá Lózsa Ritának segítségét, akinek tanácsaira és segítőkészségére mindig számíthattam laboratóriumi munkám során.

Köszönet illeti Dr. Kozma Pált, a Pécsi Tudományegyetem Szőlészeti és Borászati Intézet vezetőjét, amiért rendelkezésünkre bocsátotta a vizsgálatok során használt szőlőfajtákat és különböző hibridcsaládokat, valamint Hoffmann Saroltát, aki a növényanyag hátterének megismerésében és a mintagyűjtésben nyújtott segítséget.

Köszönöm továbbá a BCE Szőlészeti Tanszék összes dolgozójának kedvességét és segítőkész hozzáállását.