

SZENT ISTVÁN EGYETEM

A növényfajták DUS vizsgálatának módszertani fejlesztése

Harangozó Tamás

Doktori értekezés tézisei

Gödöll

2014

Doktori iskola: Növénytudományi Doktori Iskola

Vezet je: Dr. Helyes Lajos
egyetemi tanár, az MTA doktora,
Szent István Egyetem,
Mezőgazdasági és Környezettudományi Kar,

Tudományterület: 4. Agrártudományok

Tudományága: 4.1 Növénytermesztési és kertészeti tudományok

Témavezetők: Dr. Heszky László
professor emeritus, az MTA rendes tagja

Dr. Veress Zoltán PhD

.....
Dr. Heszky László
témavezető

.....
Dr. Veress Zoltán
témavezető

.....
Dr. Helyes Lajos
a Doktori Iskola vezetője

1. A MUNKA EL ZMÉNYEI, ÉS CÉLJAI

A XX. század második felét az új hibridek és rezisztens növényfajták megjelenése a fajtákban rejlő genetikai információ felértékelését eredményezte. Az új típusú fajták elterjedése, igényelte a növényfajták jogvédelmi rendszerének megteremtését. A szellemi tulajdon képez genetikai háttér hatékony védelme érdekében 1963-ban létrejött az UPOV Egyezmény (International Union for the Protection of New Varieties of Plants), aminek keretében az egyezményt aláíró országok kialakították az úgynevezett *DUS vizsgálat* hármas követelményrendszerét. A *megkülönböztethetőség (Distinctness)*, *egyöntetőség (Uniformity)* és *állandóság (Stability)* vizsgálata biztosítja a fajták egyértelmű azonosítását és egymástól való megkülönböztetését.

A DUS vizsgálat nemzetközi módszertan szerint végzett kisparcellás fajta-összehasonlító vizsgálat. A fajtajelölteket a rendelkezésre álló közismert fajtákkal kell összehasonlítani úgy, hogy a vizsgálati irányelvben rögzített mennyiségi és minőségi típusú morfológiai tulajdonságokhoz tartozó úgynevezett *kifejezési fokozat* értékekkel kell a megfelelőt kiválasztani. A DUS vizsgálat alapján kapott kifejezési fokozat értékek egy kódsorozatot alkotnak, amely számvektorként jelenti az úgynevezett DUS fajtaleírást.

A fajtaleírásokból összeállított *mátrixok* alkalmasak a mátrix oszlopait alkotó tulajdonságok, és a sorokat alkotó fajták közötti kapcsolatok részletesebb statisztikai elemzésére. A fajták közötti hasonlóság vonatkozásában a mátrixok belső összefüggéseket tartalmazhatnak, melyek statisztikai módszerekkel feltárhatók. A fajtaleírás mátrix a hasonlósági vizsgálatokon túl a megkülönböztethetőség alapját jelent morfológiai távolság elemzésére is alkalmas. A fajták közötti hasonlóság elemzésére leggyakrabban a *klaszteranalízist* alkalmazzuk, amely a fajták páros összehasonlításán, a morfológiai távolság számításán alapul. A hasonlóság elemzésének új megközelítése a fajtapár távolságok gyakorisági eloszlását bemutató hisztogram értékelése. Az 1-9 véletlenszámos kontroll mátrix ehhez jelent referenciát.

A fajták közötti hasonlóság részletes megismerése a DUS vizsgálat során segíti a fajtajelöltekhez leginkább hasonló fajták kiválasztását. A hasonlóság és a megkülönböztethetőség együttes elemzésével, valamint a megkülönböztethetőség részletes vizsgálatával pontosabbá és hatékonyabbá tehető a fajtavizsgálat eredményének kiértékelése. A fajtaleírás mátrixok felhasználásával a fajtakísérletek módszertani továbbfejlesztéséhez az alábbi *célok*at tűztem ki:

- A kísérletek tervezéséhez, valamint a vizsgálati irányelv hatékonyabb alkalmazásához és fejlesztéséhez a DUS tulajdonságok közötti kapcsolat, illetve a tulajdonságon belüli kifejezési fokozatok eloszlásának elemzése alapján *módszertani javaslat* kidolgozása.

- A fajtapár távolságok gyakorisági eloszlási hisztogramjának értelmezése érdekében a *véletlenszámos kontroll fajtaleírás mátrix* továbbfejlesztési lehet ségeinek részletes vizsgálata az értelmezési tartomány, az adattípus (nominális, ordinális) és az eloszlástípus (normál, egyenletes) változtatásával.
- A fajták közötti hasonlóság feltárása érdekében véletlenszámos fajtaleírás *modellek kialakítása*, és a fajtacsoport modell hisztogramok értékelése.
- A modell hisztogramok összehasonlítása a klaszteranalízis eredményével, illetve a modellek alapján *a valós fajtaleírás mátrixok elemzése*.
- A *sz 1 morfológiai és molekuláris hasonlósága közötti kapcsolat elemzése*, a fajtapárok és hasonlósági csoportok összehasonlítása.
- A *megkülönböztethet ség és hasonlóság viszonyának elemzése*, illetve a küszöbérték megválasztásának hatásvizsgálata a megkülönböztethet ség függvényében.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Vizsgálati anyagok

Modellnövényeim az *szibúza*, a *tavaszi- és szíárpa* és a *sz 1* voltak. A növények DUS vizsgálata (a mennyiségi és min ségi morfológiai tulajdonságok felvételezése) és a molekuláris vizsgálatokhoz a növényi mintavételezés a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal és jogel djei Növényfajtakísérleti Állomásain történt. A *sz 1* fajták molekuláris hasonlósági vizsgálatához a *sz 1* nél általánosan alkalmazott 9 *SSR primer* felhasználásával *mikrosatellit marker allélméret* meghatározást végeztünk Halász et al. (2005) eljárása alapján.

2.2. Felhasznált fajtaleírás mátrixok és adatállományok

A DUS fajtaleírás mátrix a morfológiai tulajdonságok kifejez dési fokozatait, az allélméret mátrix pedig az SSR markerek allél méreteit tartalmazta. A véletlenszámos kontroll fajtaleírás mátrix 1-9 közötti véletlenszámokból állt. Munkámban többféle származtatott mátrixot is alkalmaztam, melyeket számítás eredményeként kaptam (pl. morfológiai távolság vagy hasonlóság mátrix, bináris kód mátrix).

A DUS tulajdonságok korreláció analíziséhez és a kifejez dési fokozat értékek gyakorisági eloszlásának elemzéséhez 350 *szibúza* fajta 3 év alatt összeállított 588 db éves DUS leírását vettem alapul. Az *árpafajták* DUS leírásainak értékeléséhez 44 fajta 28 DUS tulajdonságát tartalmazó mátrixot, a morfológiai és molekuláris hasonlóság elemzéséhez pedig 38 *sz 1* fajta 39 tulajdonsága

alapján állítottam össze fajtaleírás mátrixot. A megkülönböztethet ségi vizsgálatokat 61 szibúza fajta 20 tulajdonsága alapján összeállított mátrix segítségével végeztem. A véletlenszám mátrixok esetében a hasonlósági csoportok modellezését csökkentett értelmezési tartományú véletlenszámos fajtaleírásokkal oldottam meg. A távolság értékek eloszlási hisztogramját a módusszal (x), a szórással (s) a leggyakoribb értékkel (Y_{max}) és az intervallummal jellemeztem.

A fajták morfológiai távolságát a tulajdonságonkénti kifejez dési fokozatérték különbségek összege jelentette. A fajtapárok távolság értékeit a *távolság mátrix* foglalta össze. A molekuláris hasonlóság vizsgálata során az allélméret mátrixból el ször *bináris mátrixot* képeztem, ami a hasonlóság számítás alapját képezte.

2.3. Alkalmazott statisztikai módszerek

A fajtapár gyakorisági eloszlási hisztogramokat egyváltozós, úgynevezett *leíró statisztikai elemzéssel* értékeltem. A leíró statisztikai mutatószámok közül a középérték mutatókat (számtani átlag és módusz), a szóródási mutatókat (szórás, terjedelem, maximális és minimális értékek) és a torzulási mutatókat (csúcsosság és ferdeség) alkalmaztam.

A *többsváltozós statisztikai eljárások* közül a DUS tulajdonságok vizsgálatához *korreláció analízist*, a morfológiai és molekuláris fajták közötti hasonlóság értékeléséhez pedig *klaszter-analízist* alkalmaztam. A korreláció számításához a *Pearson-féle korrelációs együtthatót* és a *Spearman-féle rangkorrelációs együtthatót* alkalmaztam.

Munkám során a hierarchikus klaszterezés módszerei közül a véletlenszámos mátrixoknál az agglomeratív, a molekuláris hasonlóságnál pedig a divizív eljárást alkalmaztam. A távolság számításához City block (Manhattan) távolságképzési függvényt, a csoportképzéshez pedig *csoporthatlag* (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) *algoritmust* választottam Sokal és Michener (1958) nyomán. A molekuláris hasonlóság megállapításához Jaccard's' hasonlósági indexet alkalmaztam.

A megkülönböztethet ség számítása szintén a kifejez dési fokozatokban megmutatkozó különbségeket veszi alapul, azonban itt a kifejez dési fokozatok közötti értékkülönbséget az adott tulajdonságra megállapított $d_{k\ddot{u}s\ddot{o}b}$ megkülönböztethet ségi küszöbértékhez viszonyítottam. Ha legalább egy kifejez dési fokozatban az értékkülönbség nagyobb vagy egyenl volt ezzel a $d_{k\ddot{u}s\ddot{o}b}$ küszöbértékkel, akkor a fajtapár két tagját egymástól megkülönböztethet nek tekintettem.

A statisztikai értékeléshez a számításokat és az ábrák grafikus megjelenítését egyaránt SPSS 11.0 (Software Package for Social Sciences) programmal és MS Excel 2003 programmal végeztem. A véletlenszámok generálásához MS Excel program RND funkcióját használtam.

2.4. A vizuális megjelenítés formái

A kifejezési fokozatok gyakorisági eloszlását és a fajtapár távolságok gyakorisági eloszlását *hisztogram* formájában ábrázoltam. A DUS tulajdonságoknál a hisztogram x tengely a kifejezési fokozat értéket, az y tengely pedig a gyakoriságokat jelentette, a véletlenszám mátrixok esetében az x tengely a páros összehasonlítás során kapott *távolság érték kategóriákat*, az y tengely pedig a *távolság értékek gyakoriságát* mutatta. A görbe alakjának normál eloszlástól való eltérését a *ferdeség* és *csúcsosság* jellemezte. A klaszteranalízis során a hasonló fajtacsoportokat *dendrogram* formájában jelenítettem meg. A dendrogramról leolvasható a *kapcsolódó fajták viszonya*, illetve az a *távolság érték*, ahol az összekapcsolódás megtörténik.

3. AZ EREDMÉNYEK ISMERTETÉSE

3.1. A DUS tulajdonságok közötti korreláció meghatározása

A DUS tulajdonságok közötti korreláció ismerete lényeges szempont a vizsgálandó tulajdonságok kiválasztása során. A 99%-os valószínűségi szinten szignifikáns kapcsolatok közül a legjellemzőbbet kiemelve látható, hogy a viaszossághoz kapcsolódó tulajdonságok 0,32–0,81 között korrelálnak egymással. A *kalásztartó szártag viaszossága* és a *levélhüvely viaszossága* között a korreláció a legnagyobb (0,81), míg a *kalász viaszossága* és a *kalásztartó szártag viaszossága* tulajdonságok között 0,72 figyelhető meg (1. táblázat).

1. táblázat. szibúza viaszosság tulajdonságainak Pearson-féle korrelációs együtthatói

Pearson korreláció	levélhüvely viaszossága	levéllemez viaszossága	kalász viaszossága	kalásztartó szártag viaszossága
levélhüvely viaszossága	-			
levéllemez viaszossága	0,61	-		
kalász viaszossága	0,59	0,32	-	
kalásztartó szártag viaszossága	0,81	0,51	0,72	-

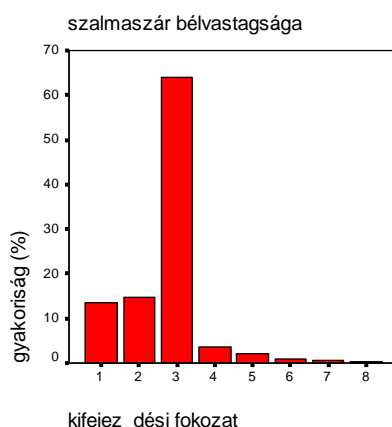
A *kalásztartó szártag viaszossága* tulajdonság hatását parciális korreláció számításával kiszámítottam, hogy tényleges korreláció (0,40) csak a *levéllemez viaszossága* és a *levélhüvely viaszossága* tulajdonságok között áll fenn (2. táblázat).

2. táblázat. szibúza viaszossággal kapcsolatos 3 tulajdonság parciális korrelációs együtthatói

Parciális korreláció	levélhüvely viaszossága	levéllemez viaszossága	kalász viaszossága
levélhüvely viaszossága	-		
levéllemez viaszossága	0,40	-	
kalász viaszossága	0,01	0,08	-

3.2. A kifejez dési fokozatok eloszlási gyakoriságának vizsgálata

A kifejez dési fokozat értékek eloszlását tulajdonságonként vizsgáltam szibúza végs DUS fajtaleírások segítségével. A kifejez dési fokozatok gyakorisági eloszlását hisztogramok segítségével mutattam be min ségi és mennyiségi tulajdonságok esetén. Az értékelt min ségi tulajdonságok alapján a fajták könnyen csoportosíthatóak voltak. A búza mennyiségi DUS tulajdonságai a felvett fokozat értékek eloszlási gyakoriságait tekintve közel egyenletes, normál és atipikus eloszlás mintát követtek. Közel egyenletes eloszlást mutatott például a *levéllemez viaszossága* tulajdonság, közel normál eloszlást a *kalászföldes ideje* tulajdonság esetén figyeltem meg. Az atipikus eloszlást mutató hisztogramok esetében valamely kifejez dési fokozat érték gyakorisága jelentősen meghaladta a többi értékét. Ilyen hisztogramok jellemző leíró statisztikai paramétere a normál eloszlás görbéjétől való eltérést jelző ferdeség és a csúcsosság. Magas csúcsossági értéket a *szalmaszár bélvastagsága* tulajdonságnál (1. ábra), kiemelkedő ferdeségi értéket pedig a *csíra antociánossága* tulajdonságnál tapasztaltam. A kiugró csúcsossággal vagy ferdeséggel jellemzett görbék egyértelműen jelzik a kifejez dési fokozatok nem optimális eloszlását, és a tulajdonság használhatóságának csökkenését.

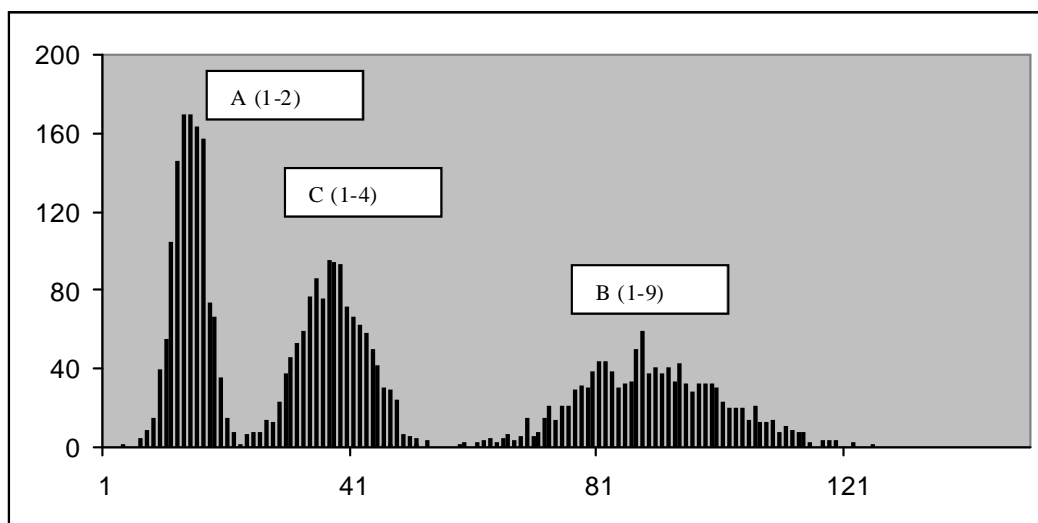


1. ábra. Az *szibúza szalmaszár bélvastagsága* tulajdonság kifejez dési fokozatainak gyakorisági eloszlása

3.3. A véletlenszámos kontroll mátrix továbbfejlesztése

Az 1-9 értelmezési tartományú és egyenletes eloszlású 50x30 elem véletlenszámos kontroll mátrix továbbfejlesztését az értelmezési tartomány, az eloszlások (normál és egyenletes), és az adattípusok (nominális, ordinális) változtatása jelentette.

Az értelmezési tartomány 3 jellegzetes modell változatát a minimális (1-2 A hisztogram), a maximális (1-9 B hisztogram), és egy közepes szint (1-4 C hisztogram) morfológiai változatosságot modellez fajtaleírás mátrix jelentette. A hisztogramokat (2. ábra) összehasonlítva a távolság értékek intervalluma, a leggyakoribb távolság érték nagysága (Y_{max}) és x tengely pozíciója (módusz) alapján számszer sítettem a hisztogramokat, melyekkel az adatállomány bels változatossága jellemezhető (3. táblázat).



2. ábra. Három morfológiai változatosságot reprezentáló A, B és C véletlenszámos kontroll mátrix hisztogramja

3. táblázat. Három morfológiai változatosságot reprezentáló mátrix hisztogramjának (A, B és C) statisztikai paraméterei

	Mátrix A (1-2)	Mátrix B (1-9)	Mátrix C (1-4)
intervallum min.	4	46	24
intervallum max.	19	125	53
módusz	15	88	37
Y_{max}	169	59	95

A minden tulajdonságnál normál eloszlást követ mátrix a kicsi és nagy távolság értékek csökken aránya miatt keskenyebb hisztogramot eredményezett, és a módusz értéke az origóhoz közelebb esett az egyenletes eloszlású hisztogramhoz képest. Nominális, azaz min ségi tulajdonságok adattípusának modellezése esetén a távolság csak egyezés vagy különböz ség lehet 0 vagy 1

értékkel. Nominális tulajdonságok szerint összeállított mátrix modell esetén a kapott hisztogram nagyon keskeny lett, $x=24$ módusz értékkel.

A véletlenszám mátrix egy különleges esetét fejlesztettem ki, amelyet az eredeti adatállomány felhasználásával állítottam el. Az összes oszlopnál (tulajdonság) az oszlopokon belüli kifejezési fokozat értékek véletlenszerű összekeverésével megszüntettem a belső kapcsolati rendszert, azaz a meglévő hasonlósági viszonyt. Az ilyen oszlopkevert DUS mátrix a hisztogram alakja szerint megtartotta az eredeti DUS fajtaleírás mátrix értékkészletét és eloszlását úgy, hogy annak véletlenszerű sémát sikerült biztosítani. A véletlenszám, a valódi DUS leírás és az oszlopkevert mátrix hisztogram x tengely pozícióját, (móduszát) tekintve megállapítható, hogy a DUS mátrix és az oszlopkevert mátrix esetén kedvező egybeesés figyelhető meg ($x_b=62$ és $x_a=64$), míg a teljesen véletlenszámú mátrix hisztogramja esetén a módusz $x_c=28$ (4. táblázat). Az oszlopkevert mátrix és a valódi DUS mátrix hisztogramok egybevetésével a ténylegesen hasonló fajtapárok könnyebben azonosíthatóak.

4. táblázat. A DUS, az oszlopkevert és a véletlenszámú mátrix hisztogramjainak statisztikai paraméterei

	A	B	C
	DUS fajtaleírás mátrix	Oszlopkevert mátrix	Véletlenszámú kontroll mátrix
Módusz (\bar{x})	64,00	62,00	28,00
Szórás (s)	6,98	5,54	6,09
Minimum	44,00	46,00	11,00
Maximum	94,00	84,00	52,00

3.4. Hasonlósági csoportok modellezése véletlenszám mátrixok segítségével

A fajtaleírás mátrixban rejlő hasonlósági csoportok függvényében a fajtapár távolságok gyakorisági eloszlása változatos mintát mutathat. A belső hasonlósági viszonyok komplexitásának növekedésével a hisztogramot egyre nehezebb értelmezni. A hasonlósági csoportok néhány egyszerű alaptípusa modellként szolgált a referencia hisztogramok meghatározásához. A modellek az alábbi hasonlósági csoportokat alkották:

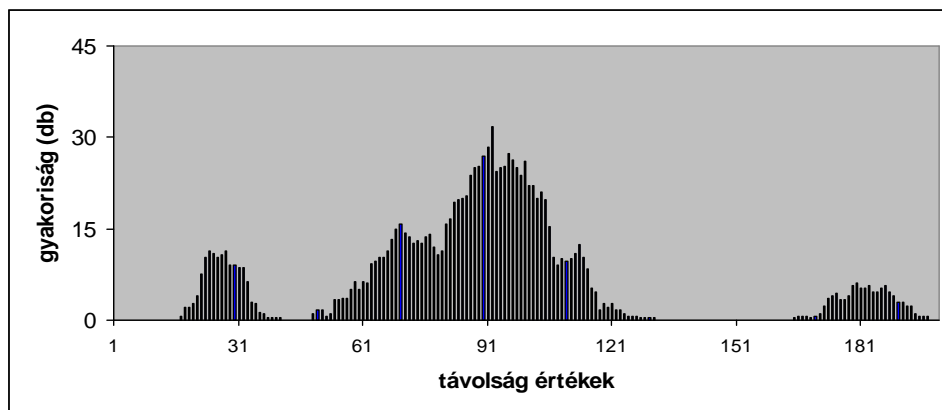
- egy hasonlósági csoport modellek egy 10 elem és egy 40 elem hasonlósági csoporttal,
- két hasonlósági csoport modellek a két csoport egyre nagyobb mértékű átfedésével,
- három nem átfedő hasonlósági csoport modell.

Az egy hasonlósági csoport esetében kapott két modell hisztogramon a csúcsok jól visszatükrözték a távolság értékek gyakoriságát és nagyságát.

A következő két hasonlósági csoport esetében két egyenlő részre osztottam a mátrixot úgy, hogy a 25-25 elemű csoport értelmezési tartományát egyre növeltem. A kifejezési fokozat értékek és az átfedések beállítása az alábbi 3 modellt eredményezte: az értelmezési tartomány 1-5 és 5-9, 1-6 és 4-

9, illetve 1-7 és 3-9. A kapott hisztogramokon az átfedés növelése azt eredményezte, hogy a csúcsok egyre közelebb kerültek egymáshoz. A legnagyobb átfedés esetén kapott hisztogramon megfigyelhet volt, hogy a csoportokon belüli és a csoportok közötti távolságértékek csúcsai már egybeolvadtak.

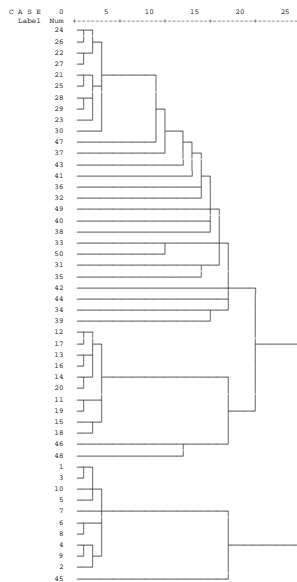
A 3 nem átfedésben lévő hasonlósági csoportnál 3x10 fajta 1-3, 4-6 és 7-9 közötti értéket vett fel, a fennmaradó 20 fajta pedig 1-9 közötti értéket. Az eloszlási hisztogram bal és jobb szélén egy-egy kisebb csúcs megfigyelhet meg, középen pedig egy nagy csúcs két kisebbel egybeolvadva a két oldalán (3. ábra). A bal oldali csúcs $x=25$ körüli módusz értéknél jelzi a 3 hasonlósági csoport belső egymás közötti távolság értékeit. A jobb oldali kisebb csúcs $x=180$ -nál az 1-3 és 7-9 közötti jelentős távolság különbségekre utal. A nagy csúcs a 20 fajta belső távolság értékeinek eloszlását jelzi. Ettől közvetlenül balra található kis csúcs az 1-3/4-6, és a 4-6/7-9 csoportok közötti távolság különbségeket mutatja. A jobb oldali még kisebb csúcs az 1-3 illetve a 7-9 csoport és a 20 többi fajta közötti nagyobb távolságokat mutatja.



3. ábra. Három hasonlósági csoportot tartalmazó véletlenszám mátrix távolságok gyakorisági eloszlási hisztogramja

3.5. A véletlenszám hisztogramok és a dendrogramok összehasonlítása

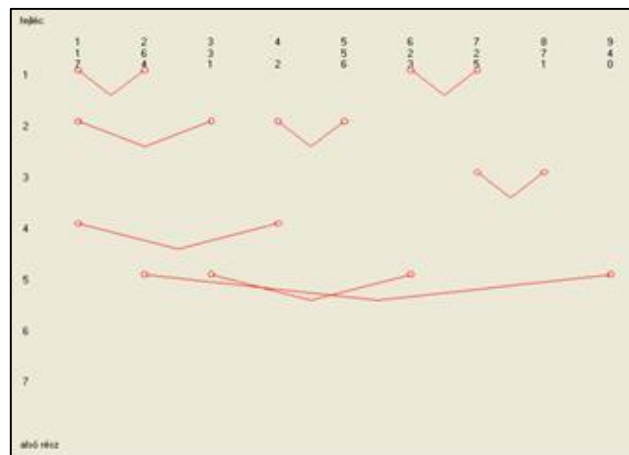
A véletlenszámos kontroll mátrixok klaszteranalízisét elvégezve, a kapott dendrogramok egyértelműen jelezték, hogy ezek a véletlenszámos mátrixok homogén állományúak, mert egyértelmű csoport-szétválasztási pontokat nem lehetett találni. A klaszteranalízist az egy és két hasonlósági csoportot tartalmazó mátrixok esetében is elvégezve, a dendrogramokon már jól láthatóvá váltak a hasonlósági csoportok. A három csoportot tartalmazó mátrix esetén is egyértelműen azonosíthatóak voltak a kialakított mátrix csoportok (4. ábra). A hisztogramok és a dendrogramok közötti analógia tehát kimutatható és a tendenciák egyértelműen felismerhetők.



4. ábra. Három hasonlósági csoportot tartalmazó véletlenszám mátrix dendrogramja

3.6. Az új típusú fajtapáros ábrázolás

A klaszteranalízissel kapott fajtacsoportok leggyakoribb vizuális megjelenítési formája a dendrogram. A dendrogram felépítéséhez a fajtapár távolság alapadatokat felülíródnak, és ez a tény megnehezíti a tényleges fajta-fajta kapcsolatokat csoporton belüli feltárását. A probléma megoldására kidolgoztam egy olyan új alternatív ábrázolási módszert, amely a kiindulási távolság értékeket megtartva mutatja be a meghatározott hasonlósági szintekhez tartozó fajtapárokat. Az ábrázolás lényege, hogy a fajtapárok nem kapcsolódnak össze egyre nagyobb csoportot alkotva, hanem az azonos szinthez tartozó párokat egymás mellett jeleníti meg (5. ábra). A különböző hasonlósági szintekhez tartozó fajtapárokat így egyedileg is be lehet mutatni.

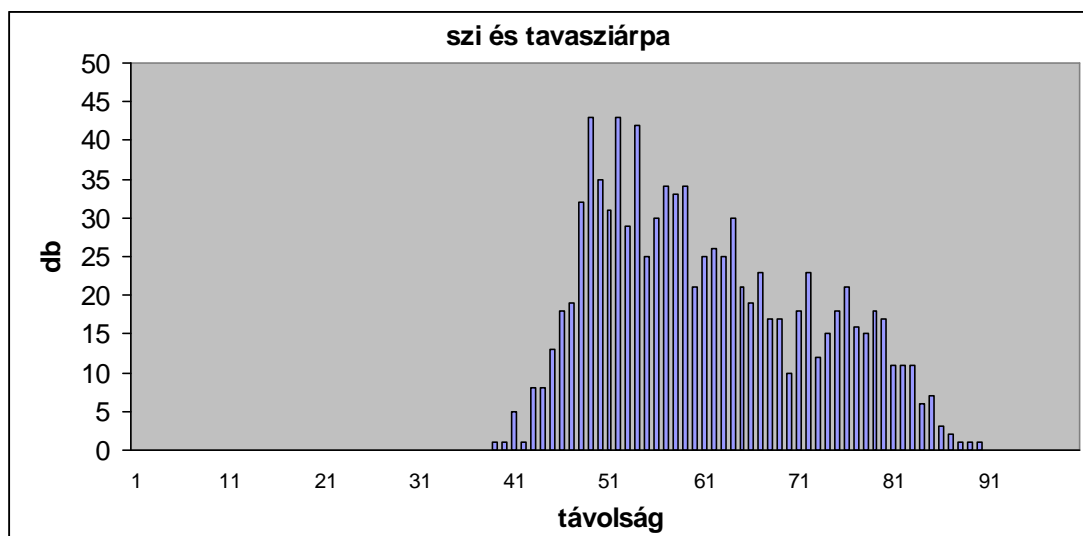


5. ábra. A fajtapáros ábrázolás sémája 9 fajta és 8 fajtapár esetén

A fajtapáros ábrázolás elnye, hogy a legnagyobb hasonlósági szinteken egyértelműsíti a fajtapárok hasonlósági viszonyát. A fajtapáros ábrázolás nagy fajtaszámmal már nehezen áttekinthető, ezért a klaszteranalízist úgy egészítheti jól ki, ha a dendrogramról leolvasott kisebb hasonlósági csoportra alkalmazzuk.

3.7. Árpa fajtaleírás mátrix hisztogramok összehasonlítása

A modell hisztogramok alkalmazhatóságát árpafajták elemzésével végeztem. A tavaszi és sziárpa fajták morfológiai tulajdonságok szerint jól elkülönülnek egymástól, mégis egy DUS vizsgálatban szerepelnek. A 27 sziárpa és 17 tavaszi árpa fajtát együtt összehasonlítva kétszcúcsos hisztogramot kaptam. A hisztogram $x=59$ és $x=76$ módusz értéknél egy nagyobb és egy kisebb csúccsal rendelkezett, ami egyértelműen azt jelezte, hogy egy kisebb és egy nagyobb hasonlósági csoportból állt a fajtaleírás mátrix (6. ábra). Az sziárpa és tavasziárpa fajtákat külön-külön is összehasonlítva a két hisztogram alapján megállapítható volt, hogy az sziárpa hisztogram módusza $x=55$ -nél, a tavasziárpa fajták hisztogramja $x=76$ -nál mutatott csúcsot. A közös hisztogramról megállapítható tehát, hogy a nagyobb csúcsot baloldalon az sziárpa fajták hasonlósági csoportja, míg a jobb oldali kisebb csúcsot a tavaszi árpa fajták hasonlósági csoportja alakította ki.



6. ábra. 44 árpafajta morfológiai távolság gyakorisági eloszlási hisztogramja

3.8. Sz 1 fajták morfológiai és molekuláris hasonlóságának összehasonlítása

A PCR technológia fejlődése új utat nyitott a fajta vizsgálatok módszertani fejlesztésének irányába is. A DNS vizsgálat a rokonsági viszonyok kimutatására, fajták elkülönítésére, vagy az azonosság igazolására egyaránt alkalmas módszer. A molekuláris és morfológiai hasonlóság értékelése során a sz 1 fajták földrajzi eredetét és a származását is figyelembe vettem.

A fajtapárok molekuláris hasonlósági értékeit csökkenő sorrendbe rendezve megállapítottam, hogy mely fajtapároknál nem fordult elő közös SSR allél. Nagyfokú hasonlóságot tapasztaltam a 'Rózsák'/'Zeusz' (72,2%) párnál, illetve a 'Pátia'/'Tramini', az 'Irsai Olivér'/'Csabagyöngye', és a 'Generosa'/'Tramini' párok esetében (50-60%).

A fajtapárok morfológiai hasonlósága tekintetében kiemelkedő volt a 'Pátia'/'Kabar' (89,4%) és a 'Trilla'/'Csillám' (87,0%) fajtapár hasonlósága, pedig ezeknél nem igazolható szülő-utód jelleg kapcsolat. A molekuláris és morfológiai hasonlóság szempontjából leghasonlóbb és legtávolabbi fajtapárokat 4 csoportba soroltam. Az 1. és 4. csoportba tartozó fajtapárok esetében a molekuláris és morfológiai hasonlóság egybeesett, a 2. és 3. csoportba sorolt fajtapárok rávilágítottak arra, hogy a morfológiai és molekuláris hasonlóság nagymértékben különbözhet. Ennek nyilvánvaló oka, hogy a morfológiai tulajdonságok kifejeződését meghatározó gének és az SSR marker gének egymástól függetlenül örökölhetnek.

A fajták hasonlóságát az általam kifejlesztett *átlagos hasonlósági index* fejezi ki, amit a fajta n-1 párkombinációhoz tartozó hasonlósági értékek átlaga jelentett. Nagy index érték esetén az adott fajta sok másikkal van hasonlósági kapcsolatban. Az index alapján a fajtákat sorba rendeztem, majd a molekuláris és morfológiai hasonlósági index sorrendek közötti különbség alapján megállapítottam, hogy mely fajtánál dominált inkább a molekuláris hasonlóság és melynél a morfológiai hasonlóság a másikkal szemben.

A fajtapár hasonlósági értékekből kiindulva divizív klaszteranalízist végeztem 4 és 12 közötti klaszterszámmal. A csoportok mérete alapján *nagyobb* (6-13 elem) és *kisebb* (2-4 elem) csoportok, illetve *egyedi* fajták alkották a klasztereket. A két adatsor fajtacsoportjai között csak részleges volt az átfedés.

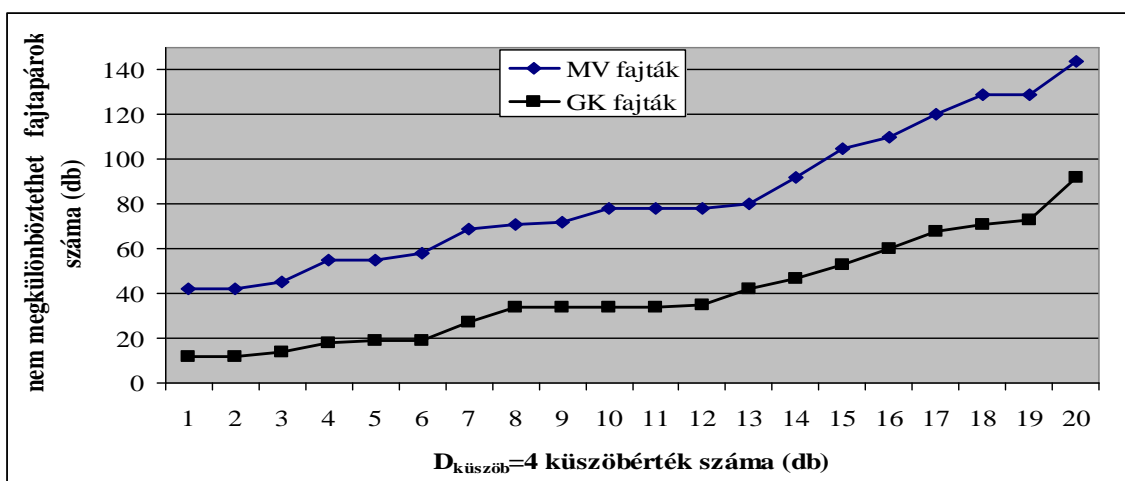
3.9. Fajtaleírás mátrix alkalmazása a DUS megkülönböztethetőség vizsgálatában

A megkülönböztethetőséget a fajtapárok kalkulált távolság értéke és a megkülönböztethetőségi küszöbérték viszonya határozza meg. A DUS vizsgálat során minden egyes tulajdonságra külön-külön állapítjuk meg a megkülönböztethetőséget. Ha egy tulajdonságnál a kifejeződési fokozat különbség eléri a küszöbérték szintjét, akkor a fajtapárt *megkülönböztethetőség* tekintettem.

Az szibúza 61 fajtaleírását felhasználva 1830 fajtapár távolságot kaptam. A fajtapárok megkülönböztethetőségének vizsgálatához a $d_{\text{küszöb}}=4$, $d_{\text{küszöb}}=3$ és a $d_{\text{küszöb}}=2$ érték hatását vizsgáltam. A páros összehasonlítást elvégezve a megkülönböztethető fajtapárokhoz $DI=1$ értéket, a nem megkülönböztethető fajtapárokhoz $DI=0$ értéket rendeltem. A $d_{\text{küszöb}}=4$ feltétel (legszigorúbb) mellett a 610 leghasonlóbb párt jelentő harmadban a fajtapárok 30%-a, 188 pár volt nem megkülönböztethető. A másik két - csökkenő hasonlósági - csoporthoz viszonyítva a nem megkülönböztethető párok a leghasonlóbbak között sokkal gyakrabban fordultak elő és a gyakoriság

növekedés nem lineáris. A $d_{\text{küszöb}}=3$ esetében a megkülönböztethetetlen párok száma a leghasonlóbb els harmadban már csak 62 lett, a küszöbértéket $d_{\text{küszöb}}=2$ -re csökkentve pedig már csak 4 megkülönböztethetetlen pár maradt az els , leghasonlóbb 610 pár között. A fajtakísérletekben érdemes részletesen megvizsgálni azon konkrét eseteket, ahol a megkülönböztethet fajtapárok a leghasonlóbb fajtapárok közé esnek. Az azonos küszöbérték homogén küszöbvektorok alkalmazása a megkülönböztethet ség mértékének, arányának kalibrálásához nyújtott segítséget.

A heterogén küszöbvektor alkalmazásával a DUS tulajdonságokat egyedileg lehet vizsgálni. A $d_{\text{küszöb}}$ elemzéséhez kiemeltem egy Martonvásáron nemesített fajtákból (Mv), és egy Szegeden nemesített fajtákból (Gk) álló adatállomány. El ször a $D_{\text{küszöb}}=3$ $D_{\text{küszöb}}=4$ vektor átmenet alakulását néztem a $d_{\text{küszöb}}$ értékek 1 tulajdonságtól 20-ig történt kumulatív növelésével. Az eredmény azt mutatta, hogy az MV fajtáknál 42 darab nem megkülönböztethet fajtapártól a 144 darab nem megkülönböztethet fajtapárig lehetett eljutni, a GK fajták esetében pedig 14 darab nem megkülönböztethet fajtapártól 92 darab nem megkülönböztethet fajtapárig (7. ábra).



7. ábra. A nem megkülönböztethet fajtapárok aránya $D_{\text{küszöb}}=3-4$ kumulatív küszöbvektor alkalmazása esetén a GK és MV fajtáknál

A következ vizsgálatban a kiindulási küszöbvektor $d_{\text{küszöb}}=3$ -as értékeit minden egyes tulajdonságnál el ször $d_{\text{küszöb}}=2$ -re, majd $d_{\text{küszöb}}=4$ -re cseréltem. Az adott küszöbvektor alkalmazásával a nem megkülönböztethet fajtapár szám alakulása jelezte, hogy a vizsgált tulajdonság miként reagált az adott $d_{\text{küszöb}}$ változtatására. A küszöbérték növelése a nem megkülönböztethet fajtapár szám növekedését eredményezte. A $d_{\text{küszöb}}$ küszöbérték növelése 9 Mv és 11 Gk tulajdonságnál eredményezett nem megkülönböztethet fajtapár szám növekedést, a csökkentés pedig 19 Mv és 20 Gk tulajdonságnál jelentett csökkenést. A küszöbérték csökkentésére tehát a tulajdonságok sokkal nagyobb mértékben reagáltak. Az *csíra antociánossága (1.)*, a *növekedési típus (2.)*, a *levéllemez viaszossága (6.)* és a *kalász tömötsége (11.)* tulajdonságok stabilnak mutatkoztak. A két fajtakör között a legszembet n bb különbség a küszöbérték változtatása szempontjából a *kalásztartó szártag viaszossága*, a *szalmaszár bélvastagsága*, a

legfels orsótag konvex oldal sz rözsöttsége, a kalászkapelyva váll alakja és a kalászkapelyva fog alakja tulajdonságok esetében mutatkoztak. A két fajtakör 20-20 tulajdonságát a változtatásra való érzékenységük alapján 5 osztályba soroltam (5. táblázat). Az 5. táblázatban alkalmazott bet kódok jelentése a következ :

- A) Egyáltalán nem érzékeny
- B) Csak küszöbérték csökkentésre érzékeny
- C) Csökkentésre és növelésre egyaránt érzékeny, de a csökkentésre jobban
- D) Csökkentésre és növelésre egyaránt érzékeny, de a növelésre jobban
- E) Csökkentésre és növelésre egyaránt er sen érzékeny.

Az egyes tulajdonságokat külön-külön tekintve megállapítottam, hogy mely tulajdonságok bizonyultak a küszöbérték változtatásra legérzékenyebbnek. Ahol a küszöbérték változtatása jelent sen befolyásolja a megkülönböztethet séget, ott a kifejez dési fokozat megállapítása nagy jelent séggel bír.

5. táblázat. szibúza 20 DUS tulajdonság érzékenysége a küszöbérték egyedi változtatására GK és MV fajták esetén

DUS tulajdonság	Kategória GK 1-10	Kategória MV 1-10	DUS tulajdonság	Kategória GK 11-20	Kategória MV 11-20
1. csíra antociánossága	B	B	11. kalász tömötsége	B	A
2. növekedési típus	B	B	12. kalász hossza	C	B
3. visszahajló zászlóslevel növények gyakorisága	C	C	13. szálka/szálkacsonk hossza	E	B
4. kalászolás ideje	C	C	14. legfels orsótag konvex oldal sz rözsöttsége	C	D
5. levélhüvely viaszossága	B	B	15. kalászkapelyva váll szélessége	C	C
6. levéllemez viaszossága	B	B	16. kalászkapelyva váll alakja	C	B
7. kalász viaszossága	D	C	17. kalászkapelyva fog hossza	E	C
8. kalásztartó szártag viaszosság	D	B	18. kalászkapelyva fog alakja	B	C
9. növény magasság	B	B	19. kalászkapelyva bels sz rözsöttség	B	B
10. szalmaszár bélvastagsága	B	C	20. szem fenolos elszínez dése	E	C

3.10. Új tudományos eredmények

1. Igazoltam, hogy a DUS tulajdonságok közötti kapcsolat a fajtaleírás mátrix oszlopainak korreláció analízisével jól feltárható, ez a statisztikai módszer alkalmas a szorosan kapcsolt DUS tulajdonságok azonosítására.

2. A kifejezési fokozatok gyakorisági eloszlásának elemzésével igazoltam, hogy az eloszlási hisztogramok alapján megállapítható az adott DUS tulajdonság gyakorlati alkalmazhatósága. Az eloszlások értékelése a DUS vizsgálati irányelv fejlesztését hatékonyan segíti.
3. Véletlenszámos kontroll mátrix továbbfejlesztésével bizonyítottam, hogy a kifejezési fokozatok értelmezési tartományának, eloszlás- és adattípusának változtatása jelentősen befolyásolja a fajtapár távolságok gyakorisági eloszlását, és a kapott hisztogramok statisztikai paraméterei számszerűsített referenciát jelentenek a DUS fajtaleírás mátrixok értékeléséhez.
4. Kidolgoztam a DUS fajtaleírás mátrix véletlenszerűen oszlopkevert változatát, amely a véletlenszámos kontroll mátrix továbbfejlesztett változataként hozzájárul a hasonló fajtapárok pontosabb kimutatásához.
5. Példák segítségével igazoltam, hogy a hasonlósági csoportokat tartalmazó véletlenszámos fajtaleírás mátrix hisztogramja és a klaszteranalízissel kapott dendrogram között jól értelmezhető kapcsolat van, és a kifejlesztett fajtapáros ábrázolási módszer külön információt is szolgáltat a klaszteranalízis eredményéhez.
6. Meghatároztam 38 fehér színű fajta molekuláris és morfológiai hasonlóságát. A morfológiai és molekuláris hasonlóság vonatkozásában megállapítottam, hogy azok összességében nem korrelálnak egymással, azonban fajtapártól függően hasonlóság egybeesés és jelentős különbség egyaránt adódhat. A bevezetett átlagos hasonlósági index segítségével jellemeztem a fajták hasonlósági pozícióját.
7. Munkámban igazoltam, hogy a fajtapárok hasonlóságának növekedésével a nem megkülönböztethető fajtapárok száma a küszöbérték megválasztás függvényében jelentősen növekedhet, továbbá a megkülönböztethető fajtapárok tulajdonságonkénti változtatása eltérően befolyásolja a nem megkülönböztethető fajtapárok számát, ami alapján az egyes DUS tulajdonságokat kategorizálni tudtam.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A DUS tulajdonságok statisztikai elemzése, a morfológiai távolság és a megkülönböztethetőség kapcsolatának vizsgálata nem része az irányelvekben rögzített fajtakísérleti módszertannak. A DUS vizsgálatok hatékonyságának növelése érdekében a kísérletek tervezéséhez, a vizsgálati irányelv

fejlesztéséhez, a fajták közötti hasonlóság alaposabb megismeréséhez és a megkülönböztethetőség pontos megállapításához több módszertani fejlesztést javasoltam.

Új DUS vizsgálati irányelv összeállítása és a hatályban levő korábbi szakmai felülvizsgálata során lényeges kérdés a felvételezésre kerülő morfológiai tulajdonságok, illetve a hozzájuk tartozó kifejezési fokozatok meghatározása. Szibúza fajtaleírások elemzési eredményei igazolták, hogy a fajtaleírás mátrix oszlopait alkotó tulajdonságok közötti kapcsolat megfelelő számú vizsgált fajta esetén korrelációanalízis módszerével meghatározható. Több tulajdonság együttes korrelációja esetén parciális korreláció számításával az összeadó hatás kiszámítható. A tulajdonságok nagyfokú korrelációja esetén eldönthető, hogy szükséges-e az ilyen tulajdonságok együttes alkalmazása.

A morfológiai tulajdonságok közötti kapcsolat vizsgálata mellett lényeges kérdés a tulajdonságon belüli kifejezési fokozat értékek eloszlásának vizsgálata is. Szibúza fajtaleírás mátrixot vizsgálva a mennyiségi tulajdonságok nagy része széles kifejezési fokozat intervallummal rendelkezett, és a kifejezési fokozatok közel egyenletes, normál vagy atipikus – azaz valamilyen kiugró értékkel rendelkező – mintát követtek. Eredményeim alapján Veress (1999) és Huw et al (2003) megállapításával összhangban látható, hogy az atipikus eloszlást mutató tulajdonságoknál a felvett kifejezési fokozat értékek eltolódása csökkenti a tulajdonság alkalmazásának hatékonyságát a megkülönböztethetőségben.

A fajtaleírás mátrix alkalmasnak bizonyult a sorokat alkotó fajták közötti összefüggések, hasonlósági viszonyok megismerésére is. A hasonlóság kimutatására széleskörűen alkalmazott klaszteranalízis eredményeként kapott dendrogram a hasonló csoportokról átfogó képet ad, de a DUS vizsgálat során szükség van a konkrét fajtapár kapcsolatok ismeretére is. A klaszteranalízissel kapott hasonlósági csoportok részletesebb vizsgálatához segítséget jelent a kidolgozott *fajtapáros ábrázolás*, ahol az adott távolság szintekhez tartozó párok kerültek grafikusán bemutatásra. A fajtapáros ábrázolás elnyelése, hogy egy kiválasztott csoport esetében egyértelműen megállapítható a tényleges fajta-fajta hasonlósági kapcsolat.

A véletlenszámos mátrix értelmezési tartományának, eloszlás típusának változtatása alapvetően meghatározta a kapott hisztogram alakját és koordináta rendszerben elfoglalt pozícióját. Eredményeim alapján megállapítható volt, hogy minél jobban közelíti az eredeti 1-9 kiindulási hisztogram alakját és pozícióját a valós mátrix hisztogramja, annál nagyobb a morfológiai változatosság. A véletlenszámos kontroll mátrix felhasználható olyan kalibrációs sorozat összeállítására, amely bármely DUS leírás mátrixból képzett hisztogram számszerű értékelését is lehetővé teszi a módusz, a magasság és az intervallum alapján.

Szibúza fajtaleírás esetén azonban a valós és a véletlenszámos kontroll mátrix hisztogram nem esett teljesen egybe. Az oszlopkeveréssel módszerrel összeállított hisztogramok már jobban illeszkednek egymásra.

A hasonlósági csoportokat tartalmazó véletlenszámos modellek különböző hisztogram csúcsok formájában egyértelműen megmutatták a hasonlósági csoporton belüli, és a csoportok közötti megnövekedett távolságérték gyakoriságokat. A modellekhez kapcsolódó hisztogram alakja eredményeim alapján hatékonyan segítik komplexebb DUS fajtaleírás mátrixok esetében a kapott hisztogram értelmezését.

A szőlő fajtapárok molekuláris és morfológiai hasonlóságát elemezve megállapítottam, hogy a kétféle hasonlóság esetenként egybeeshet, azonban korrelációt nem mutattak összhangban a vonatkozó szakirodalmi adatokkal (Lopez et al 2008). A fajták közötti kétféle hasonlóságot érdemes megállapítani annak ellenére, hogy a morfológiai és molekuláris hasonlóság alapvetően más genetikai hátteret feltételez. A morfológiai alapú DUS vizsgálat ugyanis nem veszi figyelembe a származási hasonlóságot, amit a molekuláris eredmények egyértelműen igazolhatnak vissza.

A megkülönböztethetőség vizsgálata során eredményeim megállapították Garzó et al (1997) korábbi megállapítását, hogy a küszöbértékeket minden növényfajnál tulajdonságonként egyedileg és nagy körültekintéssel kell meghatározni. A küszöbérték tulajdonságonkénti változtatása a nem megkülönböztethető fajtapárok számában jelentős módosulást eredményezett, ezért a módszertan részeként javasolható egy elemzés, mely feltárja a megkülönböztethetőség változási dinamikáját. A küszöbérték pontos meghatározásához és finomításához segítséget jelent még a javasolt érzékenységi kategóriák figyelembe vétele.

Irodalomjegyzék

- Garzó L., Barcs L., Veress Z. (1997): Néhány szántóföldi növény DUS-vizsgálata, a vizsgálatokban szereplő tulajdonságok típusokba osztása (szőlő, árpa, cirok). *Növénytermelés* 46, (6) 631-642.
- Halász G., Veres A., Kozma P., Kiss E., Balogh A., Galli Zs., Székely A., Hoffmann S., Heszky L. (2005): Microsatellite fingerprinting of grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties of the Carpathian Basin. *Vitis* 44, 173-180.
- Huw J., Jarman R. J., Austin L., White J., Cooke R. J. (2003): The management of variety reference collections in distinctness, uniformity and stability testing of wheat. *Euphytica* 132, 175-184.
- Lopez P. A., Widrlechner M. P., Simon P. W., Satish R., Boylston T. D. (2008): Assessing phenotypic, biochemical, and molecular diversity in coriander (*Coriandrum sativum* L.) germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55, 247-275.
- Sokal R., Michener C. (1958): A statistical method for evaluating systematic relationships. *University of Kansas Science Bulletin* 38, 1409-1438
- Veress Z. (1999): Új értékelési módszerek kidolgozása és alkalmazása a DUS-ra alapozott fajtavizsgálatban. PhD értekezés, SZIE Gödöllő

5. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Nemzetközi lapokban megjelent impakt faktorral rendelkező tudományos cikkek angol nyelven

Harangozó T., Veress Z. (2012): Comparing dissimilarity frequency distributions and dendrograms of cluster analysis in case of plant variety description matrices. *Cereal Research Communications* 40, (1) 107–115. (IF: 0,549)

Harangozó T., Pernesz Gy., Veress A., Heszky L., Kiss E. (2013): Assessment of morphological and molecular similarity of Hungarian white grape varieties. *Acta Biologica Hungarica* 64, (2) 231-248. (0,504)

Veress Z., Harangozó T. (2011): Study of new application of plant variety descriptions used in DUS test. *Cereal Research Communications* 39, (4) 598-606. (IF: 0,549)

Hazai tudományos lapokban megjelent tudományos cikkek magyarul

Harangozó T., Veress Z., Heszky L. (2007): Hasonlóság és megkülönböztethetőség összefüggései a növényfajták DUS vizsgálatában *Növénytermelés* 56. (5-6) 279-286.

Harangozó T., Veress, Z. (2009): A küszöbvektor hatása a megkülönböztethetőségre a növényfajták DUS vizsgálatában. *Növénytermelés* 58, (1) 25-38.

Konferencia összefoglalók

Harangozó T., Veress Z. (2007): Új ábrázolási módszer a növényfajták hasonlósági vizsgálatához. XIII. Növénytermelési Tudományos Napok konferencia Összefoglalók 127.

Harangozó T., Veress Z., Garzó L., Somogyi F. Heszky L. (2008): szibúza DUS tulajdonságainak értékelése. XIV. Növénytermelési Tudományos Napok konferencia Összefoglalók 35.

Harangozó T., Veres A., Kis Erzsébet: (2011) SSR markereken alapuló hasonlósági számítási módszerek a szőlőben. XVII. Növénytermelési Tudományos Napok konferencia Összefoglalók 35.

Harangozó T., Veress, Z. (2011): Távolság hisztogramok felhasználása DUS fajtaleírás mátrixok értékelésére. XVIII. Növénytermelési Tudományos Napok konferencia. Összefoglalók 165.

Harangozó T., Veress, Z. (2012): Véletlenszerűen transzformált fajtaleírás mátrix alkalmazása a növényfajták hasonlósági vizsgálatában. XIX. Növénytermelési Tudományos Napok konferencia. Összefoglalók 88.

Harangozó T., Pernesz Gy., Veres A., Kiss E. (2013): Államilag elismert fehér borszőlő fajta molekuláris hasonlóságának elemzése. XX. Növénytermelési Tudományos Napok konferencia Összefoglalók 96.