



SZILVAFAJTÁK JELLEMZÉSE SSR- ÉS S- LÓKUSZ MARKEREKKEL

Doktori (PhD) értekezés

MAKOVICSNÉ ZSOHÁR NOÉMI

TÉMAVEZETŐ: DR. HALÁSZ JÚLIA

habilitált egyetemi docens, Ph.D.

BUDAPEST

2019

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

Tudományága: Kertészeti biológia

Vezetője: Zámboriné dr. Németh Éva
egyetemi tanár, DSc
tanszékvezető, Gyógy- és Aromanövények Tanszék
Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar

Témavezető: Dr. Halász Júlia
habilitált egyetemi docens, Ph.D.
Genetika és Növénynevelés Tanszék
Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar

A jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhely vitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Zámboriné dr. Németh Éva
Iskolavezető

.....
Dr. Halász Júlia
Témavezető



Az az anya, aki gyermeke szívébe a természet szeretetét beojtotta, mesés kincsek birodalmával ajándékozta meg szülöttét; olyan kincseket ad annak, melyeket az idő vasfoga sem emészthet meg; melyek azt boldogítva kísérendik végig az élet utain.

Hazám lelkes leányai! Ajándékozzátok meg gyermekeiteket eme kincsekkel, a természet szent szeretetének boldogító érzésével! Karoljátok fel hazai gyümölcsészetünk ügyét! Szeressétek, ápoljátok a gyümölcsészetet!

A gyümölcsészet egy áldásdús tudomány, olyan mint a szeretet vallása, mely nem egyes népeket hanem az egész világot törekszik boldoggá tenni, keblére ölelni.

(Bereczki Máté: Gyümölcsészeti vázlatok, 1877)

TARTALOMJEGYZÉK

Jelölések, rövidítések jegyzéke.....	6
1. BEVEZETÉS.....	8
2. CÉLKITŰZÉS	10
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	11
3.1. Az európai szilva rendszertani helye, rokonsági kapcsolatai és növényföldrajzi áttekintése	11
3.2. A szilvatermesztés története és a történelmi szilvafajták elterjedési területe	16
3.3. A szilva termőterületének és termés mennyiségének változása hazánkban.....	19
3.4. A szilva genetikai variabilitásának elemzése DNS-markerekkel.....	20
3.4.1. RAPD- és AFLP-markerek alkalmazása a szilvánál	21
3.4.2. Az SSR-polimorfizmus felhasználása a szilvánál	22
3.5. Az önmeddőség jelentősége a zárwatermő növények esetében	25
3.6. A <i>Prunus</i> fajokra jellemző gametofitikus inkompatibilitási rendszer molekuláris háttere és modellje	29
3.6.1. Az S-ribonukleáz (S-RN-áz) enzim: a bibekomponens	31
3.6.2. Az S-haplotípus-specifikus F-box fehérje: a pollenkomponens	34
3.7. A szilva-termékenyülés kutatásának hagyományos módszerei.....	36
3.7.1. A szilva öntermékenyülésének szabadföldi vizsgálata	37
3.8. Az S-genotípus meghatározásának molekuláris diagnosztikai módszerei.....	39
3.9. A poliploid gyümölcsfajok S-allélrendszere	41
3.9.1. Meggy (<i>Prunus cerasus</i> L.).....	42
3.9.2. Európai szilva (<i>Prunus domestica</i> L.).....	46
4. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	48
4.1. A vizsgálat tárgyát képező növényanyag.....	48
4.2. DNS-alapú vizsgálatok.....	52
4.2.1. DNS-kivonás	52
4.2.2. SSR-vizsgálat	52
4.2.3. S-PCR-analízis	54
4.2.4. DNS tisztítása agaróz gélből	56
4.2.5. PCR-termékek klónozása	56

4.3. Statisztikai analízis	58
5. EREDMÉNYEK.....	59
5.1. Az európai szilva genotípusok genetikai jellemzése SSR-markerekkel	59
5.1.1. Az SSR-lókuszt polimorfizmusa	59
5.1.2. A vizsgált egyedek genetikai távolsága	65
5.1.3. A vizsgált fajták STRUCTURE analízise	67
5.1.4. A vizsgált szilvafajták főkomponens-analízise	70
5.2. Az S-genotípus meghatározása ILP-marker alapján.....	72
5.2.1. Az S-allélok azonosítása DNS-szekvencia alapján.....	75
5.2.2. Funkcióvesztéssel járó mutációs események	78
5.2.3. Az újonnan azonosított szilva S-RN-áz allélok jellemzése	80
5.2.4. Az új európai szilva S-RN-áz allélok filogenetikai elemzése.....	84
5.2.5. A vizsgált szilvafajták S-genotípusának meghatározása.....	90
5.2.6. Az újonnan és a már azonosított teljes S-RN-áz allélok meghatározása az európai szilvában.....	94
5.2.7. Az európai szilva F-box gén polimorfizmusa	98
6. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA	107
6.1. <i>Prunus domestica</i> fajták genetikai jellemzése mikroszatellit markerek (SSR) segítségével	107
6.2. A vizsgált európai szilvafajták genetikai távolsága.....	109
6.3. A vizsgálatba vont egyedek főkomponens-analízise.....	111
6.4. Az európai szilva S-RN-áz gén polimorfizmusa	113
6.4.1. Az újonnan azonosított szilva S-RN-áz allélok jellemzése	115
6.4.2. A vizsgálatba vont egyedek S-genotípusa.....	116
6.4.3. Az új európai szilva S-RN-áz allélok filogenetikai elemzése.....	117
6.4.4. Az újonnan azonosított teljes S-RN-áz allélok meghatározása az európai szilvában	119
6.5. Az európai szilva F-box gén polimorfizmusa	119
6.5.1. Az SFB-allélok filogenetikai vizsgálata.....	121
6.6. Új tudományos eredmények	122
7. ÖSSZEFOGLALÁS.....	123
8. SUMMARY	125
9. MELLÉKLETEK.....	127
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	156

Jelölések, rövidítések jegyzéke

AFLP.....	Amplified Fragment Length Polymorphism – amplifikált framentumhossz-polimorfizmus
BAC	Bacterial Artificial Chromosome – bakteriális mesterséges kromoszóma
bp	bázispár
C1-3 és C5.....	Az <i>S-RN-áz</i> gén 1–3. és 5. konzervatív régiója
CAPS.....	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence – felszaporított szekvencia hasítási polimorfizmusa
cDNS.....	komplementer DNS
CI	Competitive interaction – versenyképes kölcsönhatás
cpDNS.....	Chloroplast DNA – kloroplasztisz DNS
D	dalton
DNS	deoxiribonukleinsav
Ehrh.....	Jacob Friedrich Ehrhart nevének a rövidítése botanikai szakmunkákban
FVM.....	Földművelésügyi Minisztérium
GSI.....	Gametophytic self-incompatibility – gametofitikus inkompatibilitás
HVa, HVb.....	A Solanaceae <i>S-RN-ázok</i> és valamennyi <i>SFB</i> hipervariábilis régiói
ILP	Intron Length Polymorphism – intron hosszúság polimorfizmus
KSH	Központi Statisztikai Hivatal
L.....	Carl von Linné nevének a rövidítése botanikai szakmunkákban
MAS.....	Marker Assisted Selection – markerekre alapozott szelekció
ML	maximum likelihood
MRCA.....	most recent common ancestor – közös ős
NAIK.....	Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ
NAK.....	Nemzeti Agrárgazdasági Kamara
OST.....	oligoszacharid-transzferáz
ÖM.....	önmeddő
ÖT	öntemékenyülő
PA1	<i>Prunus avium</i> <i>S-RN-áz</i> lineage 1 csoport génje
Pall.	Peter Simon Pallas nevének rövidítése botanikai szakmunkákban

PCR.....	Polymerase Chain Reaction – polimeráz láncreakció
PepS	<i>Papaver rhoeas</i> pollen S
pI.....	izoelektromos pont
PPV	Plum Pox Potyvirus – szilvahimlő
RAPD.....	Random Amplified Polymorphic DNA – random amplifikált polimorf DNS
RC4.....	A Rosaceae <i>S-RN-áz</i> 4. konzervatív régiója
RHV	A Rosaceae <i>S-RN-áz</i> hipervariábilis régiója
RNS.....	ribonukleinsav
rRNS	riboszomális RNS
SC	Self-compatible – Öntermékenyülő
SCR.....	S-locus Cistein-Rich protein
SFB	S-haplotípus-specifikus F-box fehérje
SFBB.....	S-lókusz F-box brother – <i>Malus</i> nemzetség <i>SFB</i> génje
SFL.....	S-lókusz F-box fehérje
SI.....	Self-incompatible – Önmeddő
SLFL	S-locus F-box like – S-lókusz F-box-hoz hasonló gén
SRK.....	S-receptor-kináz
S-RN-áz.....	S-ribonukleáz
SSI.....	Sporophytic self-incompatibility – sporofitikus inkompatibilitás
SSR	Simple Sequence Repeat – mikroszatellit régió
UPS	ubikvitin/26S proteaszóma
V ₁ , V ₂ és V _n	<i>SFB</i> -re jellemző variábilis régió

1. BEVEZETÉS

A nemzeti hagyományunk értékes részét képező szilva évszázadok óta kedvelt és igen változatos formában fogyasztott gyümölcs. Mára számos hungarikumnak tekinthető szilva fajtakör alakult ki, ám bár többségük eredetének igazolására sajnos nem áll rendelkezésünkre hiteles történelmi forrásadat. Egy bizonyos, hogy a szilva egész régóta jelen van a köztudatban, hiszen mi sem igazolja ezt jobban, mint a fennmaradt régészeti kőmagleletek illetve az okleveles adataink. Elég csupán megemlíteni a ‘Besztercei szilva’ és muskotályos változatainak kiterjedt kultúrgéncentrumát (a *domestica* típusok) vagy a Tisza-Szamos vidéki ‘Nemtudom’ (‘Penyigei’) szilvaerdőségeket.

A szilvatermelés jelentős nemzetgazdasági értéket teremt, a tradicionális és házikerti termesztése hazánk egyes területein, évtizedeken keresztül sok falun és tanyán élő család megélhetését biztosította, azonban az igazán intenzív termesztés nem terjedt el az országban. A termelés volumenét tekintve az elmúlt fél évszázadban jelentős fluktuációk voltak megfigyelhetők. SURÁNYI (2008) szerint a fő gondok, amelyek nehezítik a magyarországi szilvatermesztés előretörését a „helytelen fajtapolitika és kedvezőtlen fajtaösszetétel, Plum pox potyvirus rezisztens fajták hiánya a termesztésben, elmaradott fitotechnika és alanyhasználat, hiányos növényvédelem, alacsony gépesítettség, az öntözés hiánya, feldolgozó kapacitásaink összezsugorodása, gyenge piacpolitika, egészségtelen táplálkozási szokások, az új fajták meghonosításának nehézsége, szilvatermesztéssel kapcsolatos kutatások minimalizálása, Hungaricum fajták, tájfajták leértékelése, valamint gyenge marketing a megtermelt szilvára”. E problémák miatt nemcsak a hazai termesztés „akadozik”, hanem az exportrészesedésünk is egyre kisebb a nemzetközi piacokon.

Különböző szilvanemesítő műhelyek működnek Európában annak érdekében, hogy a korszerű intenzív termesztésben biztonsággal alkalmazható illetve a termesztoi és fogyasztói oldalról is a legkedvezőbb tulajdonságú fajták kerülhessenek: öntermékenyülő, korán termőre forduló, az adott termőhelyhez alkalmazkodó, nagy és rendszeres termést hozó, betegségekkel szemben ellenálló, kedvező érési idejű, kiváló ízű és zamatú, nagy gyümölcsű új fajták. A gyümölcsnemesítés intenzitásának és hatékonyságának növeléséhez nélkülözhetetlenek az adott faj genetikájára vonatkozó kutatások, melyekre a molekuláris biológiai módszerek igen gazdag tárháza áll a rendelkezésünkre. Az európai szilva poliploid genomszerkezete nagymértékben megnehezíti a molekuláris vizsgálatokat. Ezzel magyarázható, hogy mindmáig a gazdasági szempontból értékes tulajdonságok kapcsoltsági térképe nem készült el és a teljes genom szekvencia sem ismert még. Szilva esetében az alábbi vizsgálatok indultak el genetikai markerek felhasználásával: a genetikai

polimorfizmus felmérése és a termesztett fajták azonosítása, megkülönböztethetősége; az áruajták pedigreanalízise; az áruértéket meghatározó tulajdonságok nyomon követése; a faj eredetének tisztázása, valamint a termékenyülési viszonyokat meghatározó S-lókuszt jellemzése.

A gyümölcstermő növények egyik legfontosabb termesztéstechnológiai tulajdonsága az termékenyülési képesség. A csonthéjas gyümölcsfák termésbiztonsága környezeti tényezőktől és genetikailag meghatározott mechanizmusoktól függ. A termékenyülési képesség, illetve a csonthéjas gyümölcsfajok nagy többségére jellemző önmeddőség a legfőbb befolyásoló faktorok egyike. Noha a Rosaceae családba tartozó legtöbb gyümölcsfaj önmeddő, mára már számos öntermékenyülő fajta jelent meg a piacon. A folyamat háttérében álló genetikai rendszer komponenseit három évtizeddel ezelőtt sikerült tisztázni, amely alapjául szolgált a legkülönbözőbb gyümölcsfajok molekuláris vizsgálatának. A legtöbb információ a diploid fajokra korlátozódik (pl. őszibarack, mandula, cseresznye), míg a poliploid fajokról kevés ez irányú ismeret áll a rendelkezésünkre. Hazánkban gazdasági szempontból a csonthéjas gyümölcsfajok közül a tetraploid meggy és a hexaploid európai szilva tekinthető kiemelkedő jelentőségűnek. Jól ismert, hogy mindkét poliploid fajnak számos önmeddő és öntermékeny fajtáját termesztik. A meggy esetében mára már japán és amerikai kutatók tisztázták a jelenség genetikai alapjait és a legfontosabb termesztett fajták S-genotípusát. Ezzel szemben azonban mind a mai napig csak néhány európai szilvafajta S-genotípusát sikerült meghatározni.

A termékenyülési (önmeddő, öntermékenyülő) fenotípus az adott faj genetikai változékonyságát közvetlenül képes befolyásolni, mely a nemesítői gyakorlatban a szelekció nélkülözhetetlen alapját jelenti. Erre több csonthéjas faj esetében már számos adat rendelkezésre áll. Az önmeddőség, mely a növény-nemesítők számára jelentős segítséget nyújthat a tervszerűen megalapozott keresztezések kivitelezéséhez, a termelők számára nem kedvelt tulajdonság. Hiszen az önmeddő fajtákból létesített ültetvényben elengedhetetlen a megfelelő pollenadó fák telepítése. Mindazonáltal a fajták S-genotípusának ismerete nemcsak a kertészeti gyakorlatban nyújt közvetlenül felhasználható információt az optimális fajtatársításhoz, hanem az alap kutatás szempontjából is értékes információval szolgálhat a termékenyülést irányító molekuláris rendszer működésének feltárására vonatkozóan. Ugyanakkor a szilvafajták genetikai variabilitásának vizsgálatából származó eredményeink, adatokat nyújthatnak akár a *Prunus domestica* régóta vitatott eredetének tisztázására is.

2. CÉLKITŰZÉS

A poliploid európai szilva (*Prunus domestica* L. ($2n=6\times=48$)) jelentős genetikai potenciált képvisel Közép-Európában, ezáltal igen értékes alapanyagának számít a különböző nemesítési programokban. A hazánkban fellelhető szilva tájfajták genetikai hátteréről eddig semmilyen információ nem volt elérhető, ezért munkánk során az alábbi célkitűzéseinknek szeretnénk volna eleget tenni:

- A hazai tájfajták genetikai variabilitásának felmérése mikroszatellit (SSR) markerek segítségével.
- Az így kapott eredmények összevetése a gazdaságilag jelentősebb szilvafajtákkal.
- A poliplod szilva növény S-allél-rendszerének a megismerése.
- A hexaploid szilvafajták önmeddőségéért felelős S-lókusz jellemzése, variabilitásának felmérése.
- Az eddig ismert, három szilva S-allélon túl, további allélok azonosítása.
- A vizsgálatba vont szilvafajták S-genotípusának meghatározása.
- A molekuláris adatok alapján a szilva genetikai polimorfizmusának felmérése.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

„A Kárpátok felől állandóan leáramló hűvös párás levegő, a folyóktól öntözött rendkívül gazdag televényes talaj, nyílt fekvések, állandó napsugaras fényözön a legzamatosabb téli almát, szilvát, s a legdúsabb olajtartalmú diót érlelik, amit csak a legválogatottabb ízlés megkívánhat.” (KORPONAY 1939)

3.1. Az európai szilva rendszertani helye, rokonsági kapcsolatai és növényföldrajzi áttekintése

Az európai szilva (*Prunus domestica* L.) (1. ábra) a rózsafélék (Rosaceae Juss.) családjának és a szilvafélék (*Prunoideae*) alcsaládjának a tagja. DOMIN (1944) végezte el elsőként a már régóta ismert szilva rendszerezések kritikai értékelését. Hosszú időn át kizárólag a svájci botanikus, GUSTAV HEGI (1923) koncepciója volt hazánkban az elfogadott, de e kérdés RAPAICS RAJMUND (1935) magyar botanikust is foglalkoztatta. Majd a hatvanas években TERPÓ (1974) egy új szilvarendszertant publikált KÁRPÁTI és mts. (1968) nyomán. Az általuk felállított rokonság azonban még a mesterséges rendszerezés fogalmain alapult, amely morfológiai bélyegek alapján rendezi rokonságba a fajokat.

A természetes rendszerezés az élővilágot, a mesterséges rendszerezéstől eltérően, a fejlődéstörténet, a származás és a genetikailag bizonyítható rokonság alapján filogenetikailag rendszerezi (GÁL 2016). A mai, molekuláris alapú, filogenetikai rendszerben (STEVENS 2017) a *Prunus* nemzetség besorolása módosult:

Angiosperme/ Magnoliophyta – Zárva termők törzse

Eudicots – Valódi kétszikűek osztálya

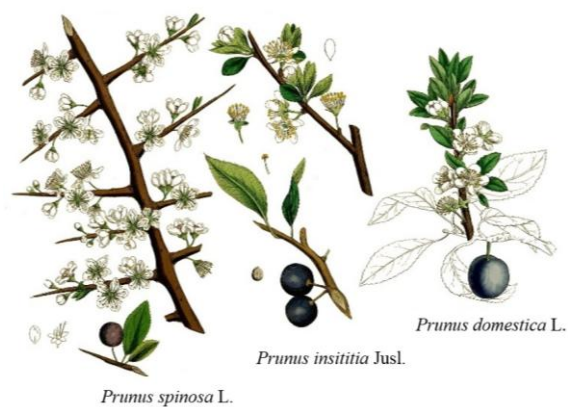
Core Eudicots/Gunneridae – Központi helyzetű, valódi kétszikűek kládja

Rosids – Rosid-klád

Eurosid I. – Valódi Rosid I. klád

Rosales – Rózsavirágúak rendje

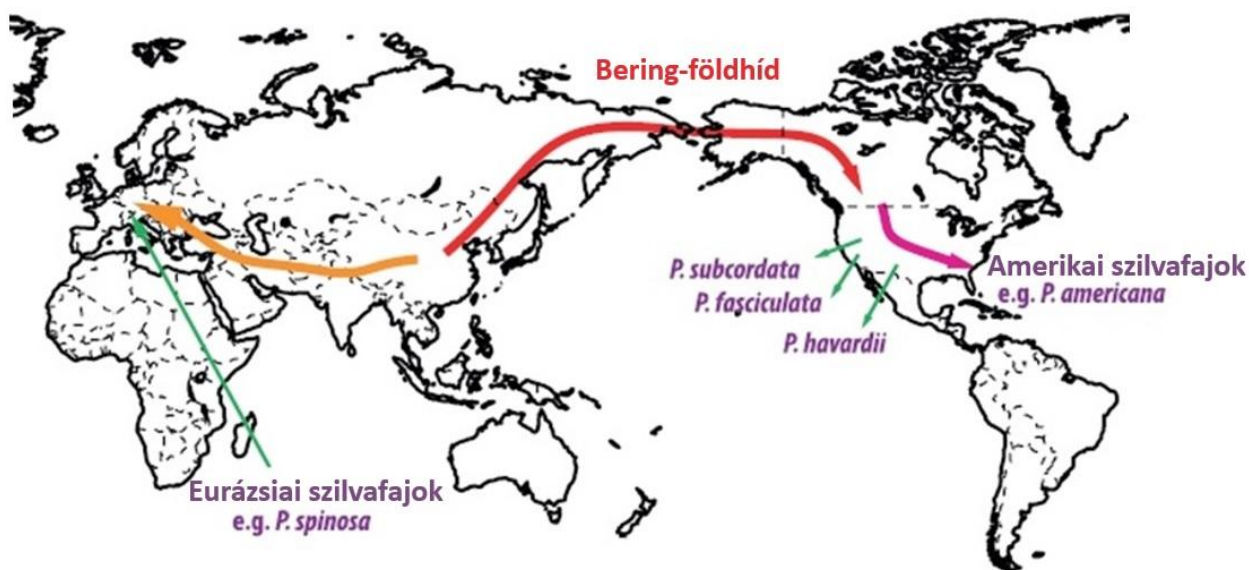
Rosaceae – Rózsafélék családja



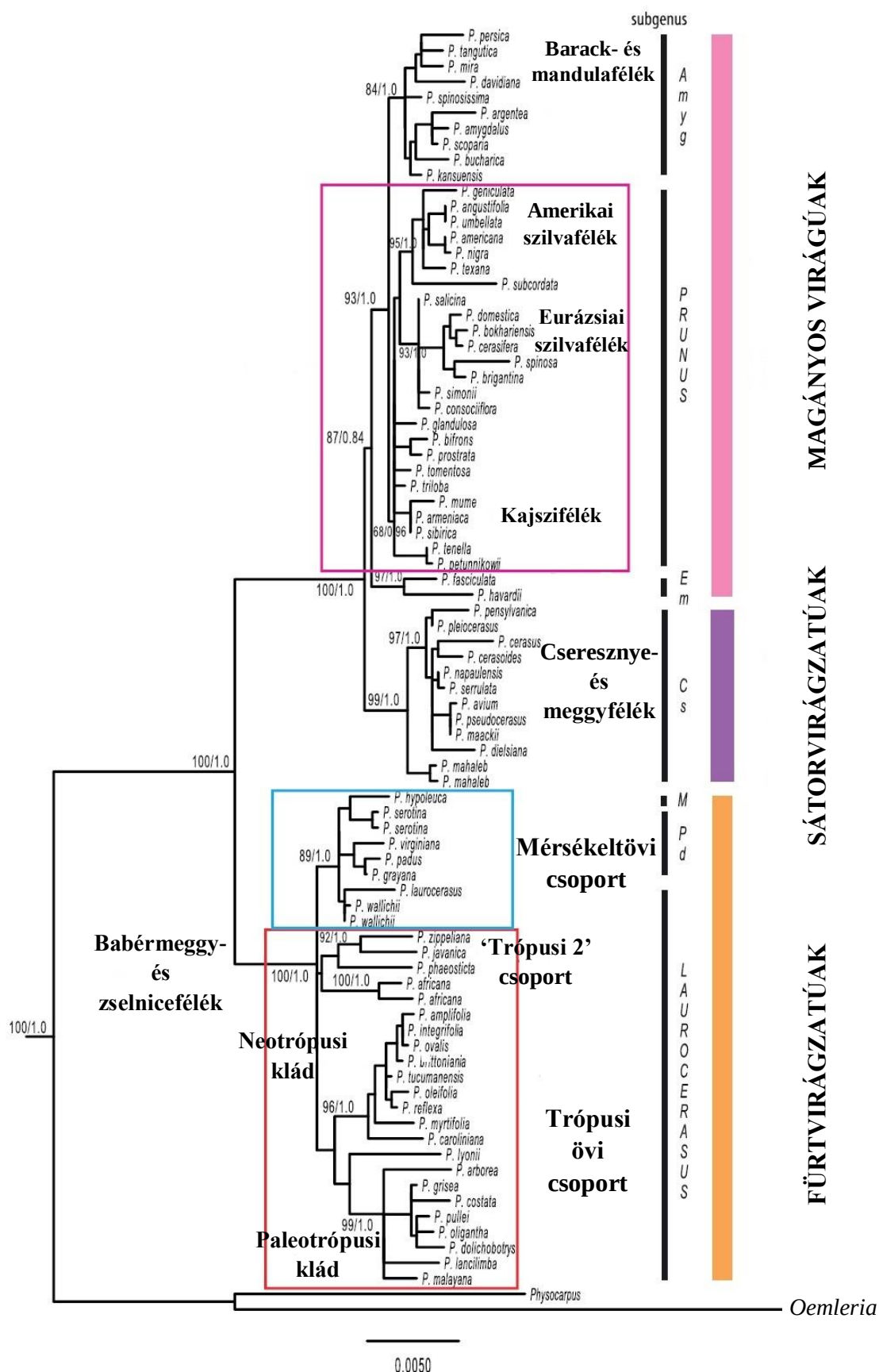
1. ábra: *P. spinosa*, *P. insititia*, *P. domestica* botanikai rajza (forrás:

<https://delphimt.wordpress.com/about/>).

A 88-90 nemzetséget és mintegy 2500-3000 fajt felölelő Rosaceae Juss. család képviselői világszerte megtalálhatóak, de elsősorban az északi féltekén terjedtek el. (POTTER és mts. 2007). CHIN és mts. (2014) tanulmánya alapján a Rosaceae család őse („most recent common ancestor”, MRCA) Észak-Amerika területén jelent meg mintegy 84-93 millió évvel ezelőtt, a földtörténeti középkor végén, a késő kréta időszakban. A Rosaceae család elválása a Rosales rend többi tagjától 63-72 millió évvel ezelőtt történt meg a Kréta korban szintén az észak-amerikai kontinensen (MORLEY 2000). A családba tartozó nemzetségek nagy része a poliploidia, hibridizáció és agamospermia (a mag kialakulása megtermékenyítés nélkül) következtében alakult ki rendkívüli formagazdagsággal (pl. *Sorbus*, *Cotoneaster*, *Rosa*, *Rubus*, *Alchemilla*) (BORHIDI 2015). A *Prunus* nemzetség Kelet-Ázsiában jelent meg mintegy 56-67 millió évvel ezelőtt, illetve részben Észak-Amerikában fejlődött tovább a Bering-földhíd és az ún. boreotrópusi erdőöv jelenlétének köszönhetően (2. ábra). Ezt követően a *Prunus* leszármazási vonalak földtörténeti szempontból igen gyors egymásutániságban alakultak ki. Az európai szilvafélék (*P. spinosa*, *P. cerasifera*, *P. domestica*) az eurázsiai szilvaféléktől 31 millió évvel ezelőtt váltak szét (3. ábra) (CHIN és mts. 2014).



2. ábra: *Prunus* fajok történelmi biogeográfiai útja (CHIN és mts. 2014).



3. ábra: A *Prunus* nemzetség filogenetikai törzsfája maximum likelihood (ML) módszer felhasználásával riboszómális ITS régiók alapján (CHIN és mts. 2014).

A *P. domestica* származásáról számos elméletet publikáltak, azonban mindmáig egyik sem tisztázott teljesen. Mindennek köszönhetően az sem tudható pontosan, hogy genomja autohexaploid (egy diploid faj megháromszorozódott kromoszómakészletével rendelkezik) vagy allohexaploid (különböző, de rokon fajok kromoszómaát hordozza). Az egyik talán legkorábbi feltételezés szerint az ősei között szerepelhet a *P. spinosa* L. (kökény) és a *P. cerasifera* Ehrh. (cseresznyeszilva) (CRANE és LAWRENCE 1934). A Kaukázus-hegységben mindkét faj megtalálható. Képesek egymással hibridizálni, akárcsak a *Prunoideae* alcsaládnak a többsége. Szabadföldi keresztezési kísérletek alapján az allotetraploid kökény ($2n=4\times=32$) és a diploid cseresznyeszilva ($2n=2\times=16$) spontán hibridizációjával alakulhatott ki az allohexaploid szilva ma ismert formája (RYBIN 1936). Mindemellett a szerző fenntartotta azt a hipotézisét is, miszerint a két faj mesterséges keresztezéséből származó triploid utódok mellett spontán genomduplikációval kialakult nagyobb és robosztusabb egyedek az európai szilva újbóli előállításai lehetnek. Az ezt követő keresztezési vizsgálatai során az első generáció még majdnem steril volt, majd a későbbi generáció már 50%-ban hexaploid és fertilis tulajdonságokat mutatott (ENDLICH és MURAWSKI 1962). Ezt a hipotézist citogenetikai- és morfológiai összehasonlító vizsgálatokkal nem lehetett alátámasztani (ZOHARY és HOPF 2000). Más vélemények (SALESSES 1975) nem tartják elfogadhatónak a kökény szülőpartnerként való elismerését.

A kökény (*Prunus spinosa* L.) a *Prunus* nemzetségbe tartozó vadgyümölcs. Európában őshonos, de az egész világot meghódította a sarkkörök és Izland kivételével. Széles tűrőképességének (xerofil faj) köszönhetően hazánkban szinte bárhol megtalálható. Habitusát szemlélve nagyobb, zömökebb bokor alkatú faj, de ismertek kis fa méretű alakjai is, e tekintetben kismértékben hasonlít a szilvához. Ágai tövisekkel borítottak, rajtuk a macrocarpa jellegű, sötétkék termései savanykás-fanyar ízvilággal bírnak. Feltehetően allotetraploid ($2n=4\times=32$), önmeddő faj (SALESSES 1973, REYNDERS-ALOISI és GRELLET 1994, NUNES és mts. 2006). Mind a *P. cerasifera*, mind a *P. domestica* képes vele kereszteződni. A *P. spinosa* $\times$ *P. domestica* kereszteződéséből jellemzően pentaploid, steril hibrid keletkezik, mely *P. fruticans* (Weih) néven ismert (HANELT 1997).

A cseresznyeszilvát (*P. cerasifera* Ehrh.) közismertebb nevén mirobálánt, az európai szilva legelterjedtebb alanyaként tartják számon, de a szubmediterrán-mediterrán övezetben nemesített fajtáit is termesztik. A balkáni területeken, a Kaukázus-hegységben és Délnyugat-Ázsiában őshonos faj. A *P. cerasifera* gyenge növekedéséből fakadóan változó nagyságú fa vagy cserje. Tövises hajtásain és ágain a termései gömbölydedek és lényegesen nagyobbak a kökénynél és színük is nagyobb változatosságot mutat (feketés lila, liláskék, piros, sárga, sárgás fehér, fehéres zöld). A

cseresznyeszilva diploid, de találhatók tetraploid és hexaploid változatok is. Könnyen képes kereszteződni *Prunus* fajokkal, így sok hibridjét tartják számon (WATKINS 1981). ZOHARY (1992) elmélete az európai szilva allopoliploid származását cáfolja, mely szerint egyedüli őse a *P. cerasifera* $2\times$, $4\times$, vagy $6\times$ kromoszómaszámmal rendelkező változata lehet.

Az európai szilva igen gazdag genetikai potenciállal bír, ami ERYOMINE (1991) szerint, csak úgy magyarázható meg, ha a faj kialakulásában a *Prunus* fajok szélesebb köre is részt vett. A szerző feltételezései alapján a *P. domestica* kialakulásához a *P. cerasifera* és a *P. spinosa* mellett a *P. salicina*, *P. armeniaca*, *P. persica* és a *P. microcerasus* fajok is hozzájárultak interspecifikus kereszteződések útján.

HORVATH és mts. (2011) átfogó vizsgálatában az európai szilva eredetére vonatkozó eredményeik nem zárják ki, hogy a *P. domestica* a *P. cerasifera* és a *P. spinosa* hibridizációja során jött volna létre, mivel a három faj allélkészlete átfedést mutatott a kloroplasztisz DNS (cpDNS) és SSR-markerek alapján. Az eredményeik megerősítették, hogy a *P. cerasifera* minden bizonnyal a *P. domestica* egyik őse lehet, még hozzá az anyai vonalon. Vizsgálatukba összesen 80 szilva, 36 cseresznyeszilva és 14 kökénygenotípust vontak be. E három faj együttes elemzése kapcsán nagyobb allélgazdagságot találtak a *P. cerasifera* és a *P. spinosa* egyedeknél, mint az európai szilvánál, ahol mindössze ötféle cpDNS-haplotípust azonosítottak, melyek közül az egyik 80%-ban fordul elő. Csoportosítva a haplotípusokat, azt tapasztalták, hogy a *P. domestica*- és a *P. cerasifera* haplotípusok közösen egy nagyobb csoportot alkotnak, míg a *P. spinosa* haplotípusok egy független, külön klaszterbe rendeződnek.

CHIN és mts. (2014) eredményei alapján az európai szilvafélék közös őstől származnak, mely a Turgai-tenger eltűnését követően terjedt tovább Nyugat-, majd Közép-Ázsia területére az oligocénben, miután az eurázsiai szilvaféléktől szétváltak (**2. ábra**). Legújabb átfogó tanulmánya jelent meg ZHEBENTYAYEVA és kutatócsapatának (2019), melyben a világ legkülönbözőbb pontjáról begyűjtött (Franciaország, Kalifornia, Argentína, Ausztrália, Portugália, Svédország, Ukrajna) szilva DNS-mintákat jellemezték szekvencia alapú genotipizálási módszer használatával. Eredményeik megerősítették azokat a feltételezéseket, mely szerint az európai szilva a *P. cerasifera* és a *P. spinosa* lehetséges interspecifikus hibridje. Felvetették, hogy esetleg a kökény maga is a *P. cerasifera* és egy ismeretlen eurázsiai szilva interspecifikus kereszteződéséént jött létre. Ha összevetjük az eurázsiai szilva ismert termesztéstörténeti adatait azzal, hogy a *P. domestica* valódi vad változatai természetes élőhelyeken nem fordulnak elő, akkor az is lehetséges, hogy a *P. domestica* a korai eurázsiai agrártársadalmak interspecifikus keresztezéses nemesítésének és ezt követő mesterséges szelekciójának terméke.

„Ha olykor az tűnik ki a szavamból, hogy az embereknél többre becsülöm a fákat, ezt nem csupán azzal okolnám meg előttem, hogy a fának folytonosan megújuló gyönyörűségeket köszönhetek, és hogy az emberek, igen kevés kivétellel, mindig csak rosszakaróim voltak. Főleg azért szeretem a fákat, mert közelről és távolról szünetlenül igaz valóságukban mutatkoznak meg előttem.”
(Karr Alphonse: Utazás a kertem körül)

3.2. A szilvatermesztés története és a történelmi szilvafajták elterjedési területe

A Kárpát-medencében a gyümölcstermő növények, a gabonafélékkel szemben, 5–6 ezer évvel később kerültek be a termesztés világába (SZABÓ 2001). A régészeti adatok arra engednek következtetni, hogy Európában a gyűjtött növények („ínség növények”) közé tartoztak az újkőkortól a vaskorig. Csupán az időszámításunk kezdete táján, a kelta és római kortól vannak adataink a fajták közé sorolható, nemesebb alakokról.

A szilva bizonyíthatóan, mintegy ötezer éves kultúrnövényünk, az egész világon elterjedt gyümölcsfaj. A szilva egyike lehetett az első gyümölcstermő növényeknek, melyek felkeltették az ember érdeklődését (BRÓZIK 1960). Archeobotanikai leletek arra engednek következtetni, hogy a magyarság ázsiai hazájában az alma, körte, szilva (ott ma is köken néven használják), dió, meggy fajait és fajtáit bizonyára ismerte, sőt még részt is vehetett a termesztésükben. Ezt erősíti meg azok a szavaink, amelyek ma is a magyar nyelv sajátjaiként vannak számon tartva és az óhazában ma élő népek nyelvében is megtalálhatók, pl.: alma, köken (a magvaváló, besztercei típusú szilva neve Dél- és Közép-Ázsiában), kert, áryk (árok = öntöző csatorna) (TERPÓ 2003).

A Kárpát-medencében a gyümölcsfák- és cserjék művelése a mezolitikumban kezdődött erdőirtással, s a bozótosok gyérítésével (SURÁNYI 2006c). A konkurens és értéktelen fákat, cserjéket kivágták, majd pedig a jó egyedek magjait, sarjait szaporításhoz használták, de az akcidentális lehetőségek szerepet játszottak (elhullott termések, hulladékban vagy fekáliában levő magvak, valamint az állatok szerepe a terjesztésükben) (SURÁNYI 2011).

A szilva szavunk szláv eredetű, a kökény pedig kök, kék gyök alapján a kék színre utal. Hazánkban, oklevelekben a kökény neve szerepel elsőként ‘cucen’ alakban (1211), valamint gyakori flóraelem szerepének köszönhetően Kökényfő (1243), kökénybokor (1378) szavak formájában jelenik meg. A szilva nevet főként földrajzi nevek, településnevek formájában jegyezték fel elsőként (MURÁDIN 1996). Első írásos feljegyzések, amelyek szilvafajta nevét említik Magyarországon a „Sciluasfee” azaz szilvásfő (1231), „Predium Sciluas” (1231), „silwafa” (1337) és Kökényszilvaberek (1344), majd a ‘Besztercei szilva’ una libra bezthercey. Ezek az írások egyértelműen arra utalnak, hogy a 14. századtól határozottan különbséget tesznek a szilva és a kökény között. A középkortól a könnyen szaporítható fajtákat helyezték előtérbe, így főleg a magról és sarjról ültethető szilvákat termesztették annak ellenére, hogy már a magyar kolostorokban élő

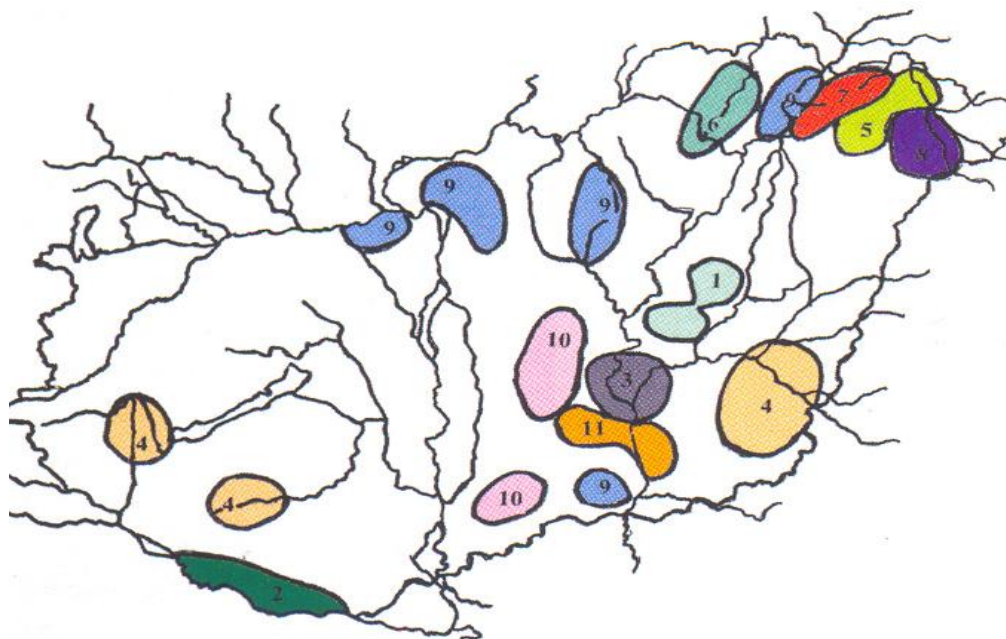
szerves közösségekben is ismert volt az oltás technikája. A 16. századtól kezdődően a következő fajtákat termesztették, SZIKSZAI FABRICZIUS BALÁZS (1590) feljegyzései alapján: vadszilva (kőkényszilva), sárga szilva (sárszilva, dobzó szilva), besztercei, nemes magyar, duránci, vörös szilva, katalán, fehér és fekete lószemű. Hazánkban a legelterjedtebb gyümölcs a szilva volt, igazi néptápláléknak számított. A népi szilvatermesztésben ma is nagyrészt ezeket a fajtákat termesztik. Ennek legjobb példái a Szamoshát, Borsod és Zemplén és a Duna déli árterülete, ahol igen sok tájfajta alakult ki (SURÁNYI 2006a).

Lippay János (1667) Posoni kert című könyvében külön fejezetet szentel a szilvának és név szerint említi a 'Besztercei', a 'Duránci', a 'Sárga hosszúkás', a 'Gömbölyű szilvát', a 'Perdringot' és a 'Myrobolán' fajtákat. A műben megemlíti még a szilva gyógyászati és táplálkozás-élettani jelentőségét és nem hagyja figyelmen kívül a szilvabetegségeket sem.

Első írásos feljegyzés a Besztercei szilváról 1552-ből maradt fenn: „Una libra pruni Besztercei”. Feltételezések szerint, ez a fontos fajtánk a Szentföldről került hozzánk és elsőként a Szerémségben, majd Erdélyben kezdték el termesztetni. A fajta mintegy 400 éves termesztése alatt jelentősen leromlott (FAUST és SURÁNYI 1999).

A 18. században jelentős mennyiségű szilvafajtát hoztak be az országba, majd ezt követően dr. Tóth Elek munkássága révén megkezdődött a Besztercei szilva szelekciós munkája is (SURÁNYI 1985). A ceglédi kutatóműhely megteremtőjének, Nyújtó Ferencnek az irányításával létesítették az első szilvanemesítői fajtagyűjteményt (TÓTH és mts. 2014). A múlt század elejétől erős konzerválódás volt megfigyelhető a hazai szilvatermesztésben, amelynek központja a Szamoshát és a Duna árterülete. Az államhatárok átrendeződésével a fő termőtájak nagy része levált az anyaországról, így csak a Szamoshát és a Duna déli része, a Dráva-völgy egy része és a Közép-Tisza vidéke maradt meg. Ezek közül a legjelentősebb terület a Vásárosnaménytől Tiszabecsig terülő 400 km²-nyire fekvő összsilvás. A megmaradt területeken termesztett fő fajtáink a következők voltak: a 'Kék' és 'Macskatökű' szilva, ('Kék kőkényszilva'), 'Penyigei' vagy 'Nemtudom szilva', 'Boldogasszony' vagy 'Bódi szilva' és a 'Lotyó' vagy 'Potyó szilva' (SURÁNYI 1992). Nincs olyan területe hazánknak, ahol ne találkoznánk szilvafával, hiszen az ország teljes területének éghajlata megfelelő számára. Azonban a fajták éghajlati, földrajzi és talajtani viszonyai nem teljesen ugyanolyanok, így ez területenként eltérő fajtahasználatot eredményez.

Az **4. ábra** jól szemlélteti ezt az eltérő fajtahasználatot, és hogy mely területeken fordultak elő régi szilvafajtáink legnagyobb gyakorisággal.



- | | |
|--|---------------------------------------|
| 1- Móra szilva | 7- Nemtudom szilva |
| 2- Paradicsom szilva | 8- Nemtudom és Cseresznyepiros szilva |
| 3- Korai Besztercei | 9- Bódi és Kökényszilva |
| 4- Besztercei szilva és Duránci szilva | 10- Vörös és Fehér szilva |
| 5- Besztercei és Cseresznyeszilva | 11- Vörös és Tarka (Perdrigon) szilva |
| 6- Lószemű szilva | |

4. ábra: A Kárpát-medence fontosabb endemikus fajtái (SURÁNYI 2006a).

Az 1970-es évekig a ‘Besztercei’ fajta képezte a szilvaültetvényeink mintegy 80%-át, az ‘Olaszkék’ termesztett fajtánk mellett. A ‘Besztercei’ fajta gazdaságos termesztetőségét a sharka vírusra (Plum Pox Poty Virus; PPV), más néven szilvahimlőre való nagyfokú fogékonysága nehezítette meg. Ennek következtében váltak jelentősebbé az új, nagy termőképességű, sharka vírussal szemben ellenálló fajták (SZABÓ 2001). Ezzel egyidejűleg a régi fajtáknak is egyre nagyobb szerepe lehet a gyümölcstermesztésben.

A tájfajták egyik jellemzője a formális nemesítés hiánya, kialakulásukhoz szükség volt a gazdák és a környezeti tényezők szelekciós munkájára, hatására (CSAMBALIK és DIVÉKY-ERTSEY 2016). Egyfelől kulturális és szakmatörténeti, tájlesztetkai és természetvédelmi értéket képviselnek, másfelől fontos szerepük van a génmegőrzésben, valamint a nemesítés nélkülözhetetlen forrásai lehetnek, így az „on farm” génmegőrzés nemcsak kulturális, hanem gazdasági szempontból is fontos törekvés (TÓTH 2013). A ’90-es években a megváltozott igények hatására, egyre inkább előtérbe kerültek a friss piacon jól eladható, nagy gyümölcsű korai és kései

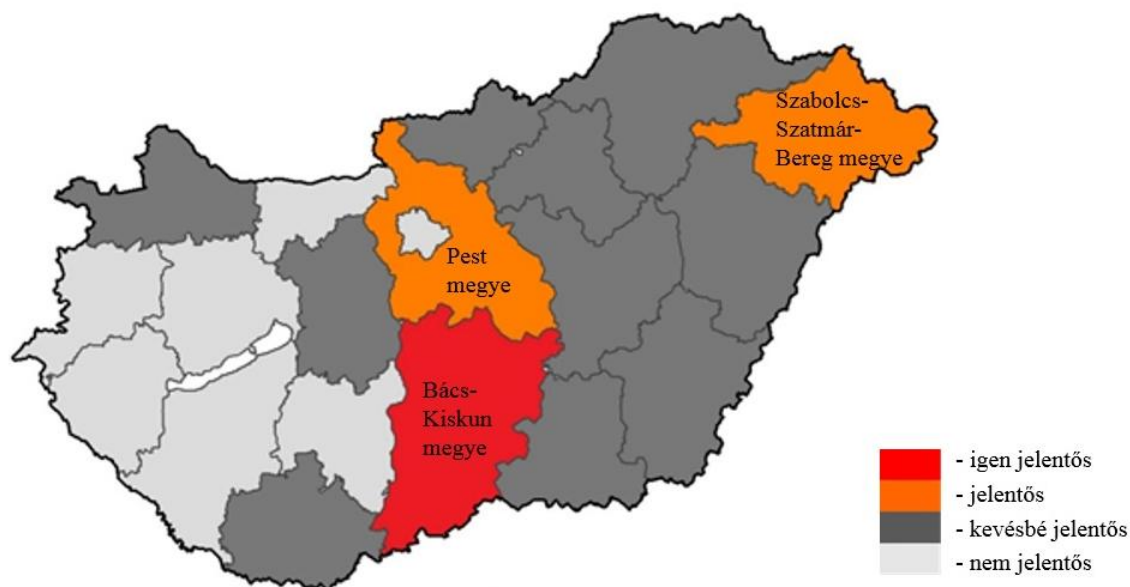
fajták és ezzel együtt megcsappant a konzervipar számára termesztett fajták aránya. Az új elvárásoknak, mint a koraiság és a szép nagyméretű gyümölcs egy szerb nemesítésű fajta, a ‘Cacanska leptica’ látszott megfelelőnek hazánkban. Az elmúlt két évtizedben elsősorban 4 fajta termesztése volt jellemző az országban: ‘Stanley’, ‘Cacanska leptica’, ‘Blufre’ és ‘President’ (SURÁNYI 2006a, GONDA 2008, KÁLLAY 2008). Az országban jelenleg az új, német nemesítésű fajták telepítése a tendencia, mint a ‘Jojo’ vagy a ‘Top’-sorozat tagjai (HARTMANN 2008, GONDA 2008). A manapság telepített ültetvényekben is a nagy gyümölcsű fajtákat részesítik előnyben, a frissen történő értékesíthetőség reményében (PALESITS 2016). Ha viszont nem sikerül a gyümölcs friss értékesítése, rendszerint pálinka, aszalvány vagy lekvár alapanyagához adják el (BRÓZIK és ERDŐS 2001).

3.3. A szilva termőterületének és termésmennyiségének változása hazánkban

Magyarországon a szilva mindig is fontos gyümölcsfaj volt, a rendszerváltozást követően azonban folyamatosan csökkent a termésmennyisége (KÁLLAY 2008). A KSH legfrissebb 2017-es adatai alapján a szilva körülbelül az összgyümölcsstermesztésnek a 9,2%-át (51 000 tonna) adja országosan és az összgyümölcstermő területünk 8,6%-át (6599 ha) foglalja el, míg a hazai faiskolákban 268 ezer szilva oltvány készül. Palesits Zsolt, a Magyar Gyümölcsfaiskolások Országos Egyesületének elnöke a keceli szilva szakmai napon (2017. augusztus 3.) tartott előadásában elmondta, az alma és a meggy után még mindig az egyik legfontosabb és legnagyobb mennyiségben termesztett gyümölcsfajunk, mindazonáltal a legextenzívebben termeszthető fajok közé is sorolható. Bár a magyarországi szilvatermesztés területében folyamatos növekedés figyelhető meg, a termésátlagok a területi változásokat arányaiban mégsem követik. Az évenkénti termésingadozás hátterében többnyire kedvezőtlen időjárási tényezők (pl. fagykár) állnak.

A legjelentősebb termelőkörzet Szabolcs-Szatmár-Bereg (1519 hektár), Bács-Kiskun (1515 hektár) és Pest (1072 hektár) megye. Nagyobb termőterületek találhatók még Heves, Nógrád, Jász-Nagykun-Szolnok megyében – írja a Nemzeti Agrárgazdasági Kamara (NAK) közleményében (5. ábra, KSH 2017).

A tapasztalatok azt mutatják, hogy annak ellenére, hogy viszonylag nagy területen termesztett gyümölcsfajunk, a fogyasztók nem részesítik előnyben a többi gyümölccsel szemben (2 kg/fő/év az átlagos fogyasztás) (GONDA 2008). Ebből következhet igen magas exportrészesedésünk a szilvából: 2018-ban a megtermelt termés több mint 23%-át külföldön értékesítettük (FruitVeB 2019).



5. ábra: Magyarország főbb szilvatermő területei (KSH 2017).

3.4. A szilva genetikai variabilitásának elemzése DNS-markerekkel

A DNS-szintű genetikai markerekre alapozó technikák használata napjainkra rutinszerűvé vált, az ökológiai, evolúciós, taxonómiai, filogenetikai és növényi genomokat érintő gyakorlati felhasználású kérdésekben. A molekuláris markerek a DNS egy olyan szakaszát jelentik, amelyek genomszinten különbségeket mutatnak, és nem feltétlenül nyilvánulnak meg fenotípusosan. Ezek a DNS-molekula adott régióban megtalálható nukleotidvariációk mendeli módon öröklődnek. Alkalmazásuk számos előnnyel jár: rendkívül gyors, precíz és megbízható adatokkal szolgálnak, nagymértékű megkülönböztető-képességgel rendelkeznek, a környezeti, pleiotróp és episztatikus hatások nem befolyásolják az eredményt, valamint kapcsolt vagy funkcionális markerként bizonyos tulajdonságok korai szelekcióját teszik lehetővé. Az új fajták iránti egyre növekvő kereslet által a korai szelekció kardinális szerepet tölt be a nemesítési gyakorlatban. A gyümölcsfák legtöbb, a termesztés szempontjából számottevő tulajdonsága, csakis egy hosszabb ún. juvenilis időszak (3-6 év) után válik kiértékelhetővé. A molekuláris markerek a markerekre alapozott szelekció (MAS) mellett a genetikai variabilitás jellemzésére, a pedigré meghatározására és a fajták azonosítására egyaránt alkalmasak (AGARWAL és mts. 2008, HAYWARD és mts. 2015).

Még nem készült olyan kapcsoltsági térkép, mely e faj gazdasági szempontból értékes tulajdonságait érintené, csupán a *P. cerasifera* faj egy, a *Prunus* referencia térképpel történő összehasonlítást lehetővé tevő SSR-marker alapú kapcsoltsági térképe áll rendelkezésre

(DIRLEWANGER és mts. 2004). Mind termesztői, mind nemesítői oldalról nélkülözhetetlen tulajdonságok többségének követésére sem sikerült molekuláris markert fejleszteni. Ugyanakkor egyre több publikáció jelenik meg, amelyben különböző földrajzi eredetű termesztett és vadon előforduló genotípusok esetében felmérték a genetikai polimorfizmus mértékét; az árufajták eredetét vizsgálták, rezisztenciával kapcsolt lehetséges markereket teszteltek; génbanki tételeket azonosítottak; a faj eredetével foglalkoztak, valamint néhány S-allélt azonosítottak.

3.4.1. RAPD- és AFLP-markerek alkalmazása a szilvánál

A RAPD (random amplified polymorphic DNA – random amplifikált polimorf DNS) egy polimeráz láncreakción (PCR) alapuló technika, mely véletlenszerűen kiválasztott primereket használ (WILLIAMS és mts. 1990, WELSH és McCLELLAND 1990). Az egyszerű, rövid oligonukleotidok a genomi DNS számos régióját amplifikálják, a minták közti különbséget a primer kötődési helyeinek száma és a felszaporított DNS-szakaszok hossza adja. A RAPD-technikát széleskörűen alkalmazták a genetikai alapú azonosításra a mezőgazdaságilag legfontosabb *Prunus* fajok, mint például az őszibarack, mandula, szilva, cseresznye, meggy vagy éppen a kajszi esetében.

Szilván először 1994-ben használták, 10 tetszőlegesen választott fajtán 145 primert teszteltek. Továbbá a minták feldolgozási és tárolási módját is vizsgálták, végül 6 primert jelöltek ki, melyek mindegyik fajtában különbséget mutattak (GREGOR és mts. 1994). ORTIZ és mts. (1997) sikeresen elkülönítették a különböző földrajzi helyekről származó *P. salicina* és *P. domestica* fajtákat. A módszer során alkalmazott primerek által amplifikált fragmentumok tisztán elváltak a diploid és a hexaploid genotípusoknál, valamint jól korreláltak ismert szülőikkel. Hasonlóképpen két évvel később, egy japán kutatócsoport negyvenkét különböző ploidisztű szilvafajta között tudott különbséget tenni 20 RAPD primer alkalmazásával. Eredményeik alapján a vizsgált fajták két főcsoportba (európai és japán) voltak sorolhatók, amely teljes egyezőséget mutatott a korábban leírt felosztással (SHIMADA és mts. 1999). Ugyanakkor a két csoport nem vált el élesen egymástól, átfedések voltak tapasztalhatók vélhetően a kereszteződéseknek köszönhetően. BOONPRAKOB és mts. (2001) az Egyesült Államokban termesztett diploid szilvákat és őseiket elemezték RAPD-markerekkel, ahol az USA délkeleti fajtaköre sokkal változatosabb képet mutatott, a Floridában, Kaliforniában és Dél-Afrikában termesztett fajtáknál. Mindezt a *P. cerasifera* és a *P. angustifolia* Marsh. nagyobb mértékű hozzájárulásaként értékelték a genetikai háttérhez. Japán, lengyel, kínai, görög és tunéziai génbankok felmérésére is RAPD-markereket alkalmaztak, és minden esetben

jelentős intra- és interspecifikus variabilitás mutatkozott (SHIMADA és mts. 1999; LISEK és mts. 2007, LIU és mts. 2007, ATHANASIADIS és mts. 2013, TAMARZIZT és mts. 2015).

VOS és mts. (1995) kidolgozták az AFLP (amplified fragment length polymorphism – amplifikált framentumhossz-polimorfizmus) markerezési eljárást, amely a genomi DNS restrikciós enzimmel emésztett fragmentumainak szelektív PCR amplifikációján alapuló módszer. A RAPD-módszer egyik hátrányaként fellépő, bizonytalan reprodukálhatóság kiküszöbölését hivatott betölteni. Portugál, belga és török tanulmányok számolnak be arról, hogy az AFLP-markerezési eljárás rendkívül jól alkalmazható a diploid és hexaploid európai szilvafajták egyértelmű elkülönítésére és a genetikai variabilitásuk feltérképezésére (GOULAO és mts. 2001, DEPYPERE és mts. 2009, ILGIN és mts. 2014). Fajtaazonosítás céljából BIANCHI és kutatócsapata (2002) tizenkét dél-brazíliai szilvát vizsgált AFLP- és SSR-markerek használatával. Minden felhasznált fajtát egyértelműen sikerült azonosítaniuk. Élesen elkülönülő csoportot alkottak a hexaploidok és a diploidok, és azon belül is a *P. salicina* és *P. cerasifera* fajták is más-más csoportokba rendeződtek, a kapott dendrogramon. Eredményeikből világosan kiderül, hogy ez esetben az AFLP által kimutatott variabilitás nagyobb volt az SSR-markerek által detektálthoz képest. Ugyanakkor AYANOGLU és mts. (2007) AFLP-markerezés eredményeként a török mediterrán régió cseresznyeszilva genotípusai viszonylag kis genetikai diverzitást mutattak ki, szemben az egyes termesztési körzetek között tapasztalt jelentősebb eltéréssel.

3.4.2. Az SSR-polimorfizmus felhasználása a szilvánál

Az SSR (Simple Sequence Repeat - egyszerű szekvenciaismétlődés), vagy más néven mikroszatellit markerezés szintén PCR-alapú technika (JACOB és mts. 1991), mely a növényeknél széles körben alkalmazott eljárás genetikai ujjlenyomat készítésére. Mikroszatellitnek nevezzük a DNS olyan nem kódoló régióit, amelyekben di-, tri-, tetra-, esetleg pentanukleotidok tandem (azonos orientációjú) elrendeződésben egymást követve ismétlődnek. Az ismétlések száma 2 és 100 között változhat. A jelentős mértékű hossz-polimorfizmusuk a mutációs események következtében az ismétlődések számából adódik, molekuláris markerként való alkalmazhatóságuk régóta ismert (GARCÍA-GÓMEZ és mts. 2018). Az egyes allélok az ismétlődések száma alapján különböztethetők meg. A növényi genomokban leggyakrabban előforduló repetitív dinukleotid szekvencia a (TA)_n, míg gyakran ismétlődő trinukleotid a (TAT)_n és a (TCT)_n (MORGANTE és OLIVIERI 1993). A mikroszatellitek nagyfokú polimorfizmust mutatnak, hipervariábilisak és kodominánsan értékelhetők az eredmények. A mikroszatellit markerek kiváló lehetőséget nyújtanak

a fajták azonosítására illetve az egyes nemzetségek különböző fajainak filogenetikai elemzésére, a fajtaeredet és -azonosság igazolására, széleskörű populációgenetikai kérdések értékelésére, kapcsoltsági térképek készítésére, funkcionális markerként egy adott fenotípus követésére (CIPRIANI és mts. 1999, DIRLEWANGER és mts. 2002, FOLTA és GARDINER 2009, WANG és mts. 2011, GHARBI és mts. 2014).

A szilva, mint gyümölcs nem csak taxonómiai szempontból mutat nagyon változatos képet, de genetikai szempontból is. AHMAD és mts. (2004) SSR-markerek felhasználásával jellemezték a diploid szilvák, a *Prunus armeniaca* fajjal alkotott intrespecifikus pluot és a plumcot hibridek, valamint egyes kajszi fajták genomjában előforduló mikroszatellit régiók változékonyságát. A dendrogram alapján a szilvák és a pluot hibridek teljesen elkülönültek a kajszi fajtáktól, így joggal feltételezték, hogy a pluot hibridek genetikai hátterüket tekintve közelebb állnak a szilvákhöz. ROHRER és mts. (2004) az amerikai szilvák összetett taxonómiai rendszerének molekuláris hátterébe próbáltak betekintést nyerni. A sokféle hibridizációra képes amerikai szilvák azonosítására nem minden esetben mutatkozott elegendőnek a felhasznált tizenöt mikroszatellit primerpár által detektált 186 allél, valamint a lókuszonkénti átlagos 12,4 allélt eredményező polimorfizmus.

DECROOCQ és mts. (2004) molekuláris vizsgálatainak célja a čačaki (Szerbia) fajtasor tagjai pedigréjének ellenőrzése és tisztázása képezte. Ugyanis a 'Čačanska najbolja', 'Čačanska rana' és 'Čačanska leptica' ('Cacak's Best', 'Cacak's Early' és 'Cacak's Beauty') európai szilvafajták származása mindig is vita tárgyát képezte, bár a nemesítők a 'Wangenheim' és 'Požegača' ('Besztercei szilva') hibridjeként tartják számon (PAUNOVIC és mts. 1975). Kajszi cDNS szekvenciák alapján tervezett 10 EST-SSR primer használatával megcáfolták azt, hogy a vizsgált egyedek az addig szülőpartnereikként leírt fajtáktól származnának. Ugyanakkor további fajták kísérletbe vonásával fény derült arra, hogy a čačaki fajták a 'Stanley' és a 'Ruth Gerstetter' szilvafajták SSR-alléljait hordozzák. Ezen fajták ugyancsak megtalálhatóak voltak a kérdéses fajták előállításának során a čačaki kísérleti ültetvényben. Korábbi tanulmányok alapján a kloroplasztisz a *Prunus* fajoknál anyai öröklésmentet mutatott (WEISING és GARDNER 1999, BRETTIN és mts. 2000). Ennél fogva az itt alkalmazott cpSSR-markerekkel igazolható volt, hogy a három vizsgált čačaki fajta keresztezésében a 'Stanley' anyanővényként (♀) és a 'Ruth Gerstetter' szilvafajta pollenadóként (♂) szerepelt. A franciaországi Nemzeti Szilva Génbank átfogó molekuláris és morfológiai felmérésére 2011-ben került sor cpDNS- és SSR-markerek segítségével (HORVÁTH és mts. 2011). A fajok egyedei között a mikroszatellit markerek egyértelmű különbséget mutattak. Mind az 5 SSR-lókuszt nagymértékű polimorfizmus jellemezte (20-53 allél). XUAN és mts. (2011b) kilenc cpDNS- és hét SSR-markert alkalmaztak sikeresen harminc *P. domestica*, *P. spinosa*, *P.*

cerasifera, *P. salicina* egyed és néhány interspecifikus hibrid *P. domestica* × *P. cerasifera*, *P. domestica* × *P. spinosa*, *P. domestica* × *P. armeniaca*, valamint *P. cerasifera* × *P. salicina* elkülönülése során. REALES és mts. (2010) ugyancsak hasonló eredményekről számoltak be a különböző ploiditású *Prunus* fajokon alkalmazott cpDNS-markerekkel történő vizsgálatot követően. Német fajtagyűjteményekben megtalálható 45 európai szilvafajta feltérképezését végezte el XUAN és mts. (2011a) 7 SSR marker felhasználásával. Az analízis során nagyfokú variabilitás volt kimutatható, melynek alapján a fajták jól megkülönböztethetőek és a szinonim elnevezéseik azonosíthatóak voltak. Génbanki tételek átfogó vizsgálatára nem csupán a RAPD-markerek bizonyultak megfelelőnek, hanem SSR-markerek alkalmazhatósága is bebizonyosodott, spanyol (URRESTARAZU és mts. 2018), görög (MERKOUROPOULOS és mts. 2017), svéd és norvég (SEHIC és mts. 2015), valamint horvát és szerb (KAZIJA és mts. 2014) szilvagyűjtemények esetében. A DNS-ujjlenyomatok meghatározását követően tisztázásra kerültek azon génbanki tételek, amelyek különböző néven voltak regisztrálva, de valójában azonosak, illetve amelyek azonos névvel szerepeltek a fajtajegyzékben, ugyanakkor igazából eltérőek. SEHIC és mts. (2015) három tanulmány alapján (DECROOCQ és mts. 2003, 2004; KAZIJA és mts. 2014) végeztek összehasonlító vizsgálatot a 'Bistrica', 'Stanley' és 'Čačanska rodna' fajták 5 lókuszára jellemző SSR-allélméreteit illetően. Vizsgálataik alapján arra a következtetésre jutottak, hogy e fajták tekintetében legalább 8%-kal kisebb eltérés volt tapasztalható, amit azzal indokoltak, hogy a diploid növényektől eltérően, a hexaploidokban kimutatható allélsokaság nehezebb azonosítása rontja a kiértékelés megbízhatóságát (SEHIC és mts. 2015).

Az európai régió negyvenöt országának együttműködése révén létrejövő Európai Integrált Rendszer (AEGIS) elsőként hozta létre a virtuális génbankként működő európai gyűjteményt. Célja az élelmiszer- és mezőgazdasági növényi genetikai erőforrások megőrzése és fenntartható felhasználása. E szervezeten belül elindult egy úgynevezett „PRUNDOC” projekt, melynek céljaként a reprezentatív európai szilvatételek morfológiai és molekuláris jellemzését tűzték ki. Nyolc SSR-lókuszt segítségével sikeresen azonosították és megerősítették a 14 különböző európai országokból beérkező 104 eltérő szilvafajta egyedi genotípusát (ORDIDGE és mts. 2019).

„Nagy tévedés lenne azt hinni, hogy a virágbiológiai jelenségek ismerete csak tudományos értékű, mert ellenkezőleg, éppen ezek az ismeretek nyújtják nekünk a legértékesebb útmutatásokat a gyakorlati termesztésben.”
(Mohácsy Máttyás, 1954)

3.5. Az önmeddőség jelentősége a zárvatermő növények esetében

A zárvatermők (Magnoliophyta) törzsébe tartozó növények legfeltűnőbb szerve a módosult levelekből álló, el nem ágazó, törpe szártagú szaporító hajtás, a virág. Fő részei a termőtáj, a porzótáj és a virágtakarótáj, mely a megtermékenyülést megelőző megporzásnak a kiemelt színtere. A megporzás – melynek során a pollenszákából kiszóródó pollen megtapad a bibe felületén – változatos stratégiák alapján történhet, melynek hatására az utódnemzedék genetikai variabilitása általában növekszik, némely esetben csökkenhet. A legtöbb növény virágát más virágból származó pollen termékenyíti meg (kölsönös megporzás, allogámia). Előfordulhat azonban az is, hogy a virág saját virágpora által termékenyül meg (önmegporzás, autogámia), esetenként még fel sem nyílt, bimbós állapotában (zárt megporzás, kleisztogámia). A kölsönös megporzás történhet ugyanazon egyeden (geitonogámia, szomszédmegporzás), vagy különböző, de egy fajba tartozó egyedek között (xenogámia, idegenmegporzás), esetenként külön fajták, fajok, nemzetségek egyedei között (basztardogámia), mely végül kereszteződéshez (hibridizációhoz) vezet. A természetben spontán módon csak az egymással közeli rokonságban levő fajok között történik hibridizáció. A zárvatermő fajoknak körülbelül a 72%-a rendelkezik hímnős (kétivarú, hermafrodita) virágokkal, amelyekben a reproduktív szervek közelsége lehetőséget biztosít az önbeporzás lejátszódására. Az ivaros szaporodásnak köszönhetően – mely a genetikai változékonyság, a szervezetek sokféleségének egyik fő forrása – az evolúció hatalmas előnyhöz juttatott számos élőlényt. Ugyanakkor az önbeporzás a növények számára nem optimális ivaros szaporodási mód, hiszen a leszármazás szempontjából a rokon (közös ősszel rendelkező) egyedek párosodása hosszútávon beltenyésztéshez vezet. Ennek következtében a párosodó egyedek nagyobb mértékben hordoznak közös allélokat, így a hátrányos és letális tulajdonságot kódoló recesszív allélok felhalmozódási esélyei megnövekednek, ami a genetikai variabilitás, a rátermettségi és az ellenállóképesség (vigor) csökkenésével jár, mely az egész populáció fennmaradását is veszélyezteti. A növénynemesítők számára ugyanakkor az öntermékenyülés előnyös, hiszen a „tisza vonalakat” („pure line”) így lehet hagyományos módszerekkel létrehozni. A kertészeti termesztési gyakorlatban is kedveltek az öntermékenyülő fajok és fajták, mert stabil hozamot biztosíthatnak, illetve szükségtelenné teszik a pollenadó genotípusok telepítését (YAMANE és TAO 2009). Kertészeti kultúrákban gyakran idézik elő mesterségesen az öntermékenyülést, amely mind termesztési, mind pedig nemesítési szempontból kiemelt jelentőségű. Napjainkban számos öntermékenyülő fajta áll a termesztők

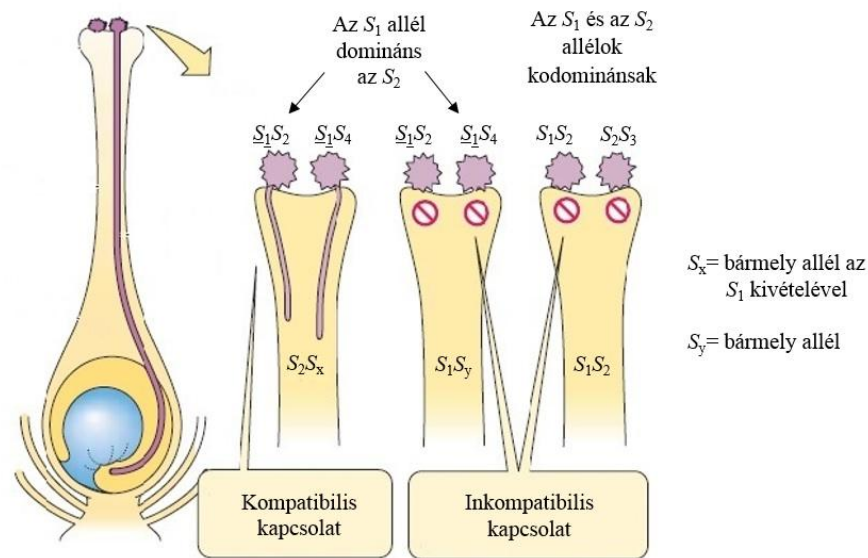
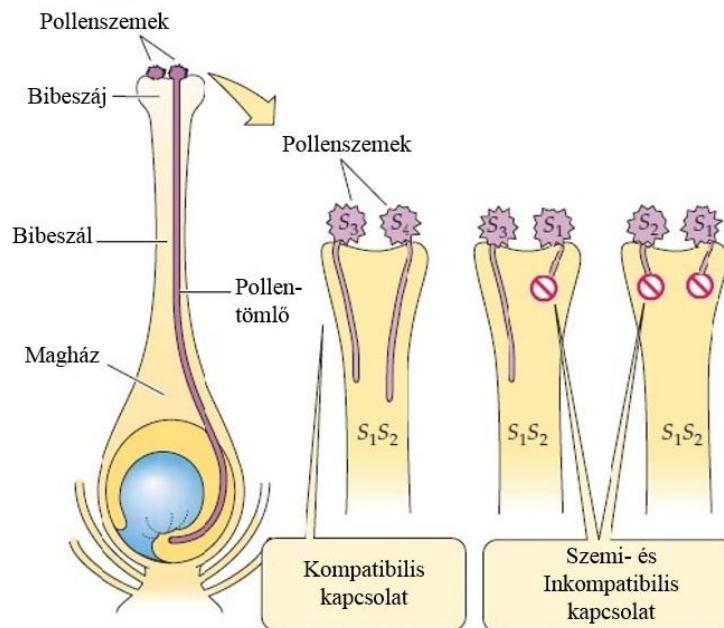
rendelkezésre, ami köszönhető a gyümölcsfák önmeddőségét irányító genetikai, molekuláris biológiai folyamatok föltérképezése terén bekövetkezett óriási előrehaladásának.

A kétivarú virágokkal rendelkező zárvatermő növények többségének felépítéséből látható, hogy az önmegporzást általában különféle mechanizmusok, úgynevezett önmeddőségi-stratégiák („self-incompatibility”, SI) kiküszöbölik. Az SI-rendszereknek számos eltérő típusa ismert, melyek több szempont szerint csoportosíthatóak. A virág polimorfizmusa, morfológiája szerint lehet hetero- illetve homomorfikus inkompatibilitás (LEWIS és CROWE 1954). A heteromorfikus inkompatibilitás során a reproduktív szervek morfológiailag elkülönülnek, tehát az öntermékenyülésnek fizikai vagy időbeli gátja van. Ide tartozik a bibe és a porzók térbeni elkülönülése, mint a virág váltivarúsága, vagy mint a heterosztília (disztília, trisztília) jelensége, amikor ugyanis vagy a porzó szálak (filamentum) hosszabbak a bibénél (stylus), vagy a bibeszál hosszabb a porzóknál. A heteromorfikus inkompatibilitáshoz tartozik továbbá a szaporítószervek érésének időbeli eltolódása (dichogámia), melynek leggyakoribb jelensége, ha a porzók érnek meg hamarabb (proterandria), ritkábban fordul elő, amikor a termők válnak korábban érette (proterogynia). A virágok többségében azonban a porzók és a termők egy időben érnek meg (homogamia).

A homomorfikus típusú fajokra jellemző ugyan a szaporítószervek egymás közelében való elhelyezkedése, vagyis az önmegporzás morfológiai akadályokba nem ütközik, azonban az öntermékenyülés gátolt, mert azt molekuláris szinten, genetikailag meghatározott mechanizmusok akadályozzák. Így tehát az ide tartozó növények egy molekuláris felismerési reakción keresztül képesek a saját vagy közeli rokon egyedről származó pollent elutasítani, továbbá az idegen, vagyis a távolabbi genetikai állományú egyedről származó pollent elfogadni (McCUBBIN és KAO 2000, SIMS 2012). Az idegenmegporzás által kialakult genetikai variabilitás szelekciós előnyt biztosít a növények számára. A jelenséget első ízben, 1877-ben („Nature abhors perpetual self-fertilization”) leíró DARWIN a virágos növények törzsfajlásában központi jelentőséget tulajdonított e mechanizmusnak. Az autoinkompatibilitás tehát azt jelenti, hogy a bibe adott növényegyed saját pollenjével történő megporzása nem vezet megtermékenyítéshez. A tulajdonságot egy multiallélus lokusz kódolja, melyet a sterilitás szóról S-lókusznak neveztek el (EAST és MANGELSDORF 1925). Ez a széles körben elterjedt genetikai inkompatibilitás további két nagy csoportot foglal magába: a sporofitikus („sporophytic self-incompatibility”, SSI) és a gametofitikus önmeddőséget („gametophytic self-incompatibility”, GSI) (LAWRENCE és mts. 1985, ZAVADA és TAYLER 1986).

Sporofitikus inkompatibilitásnál a megporzás kimenetele a pollenadó diploid növény genotípusa által meghatározott. Az inkompatibilitási reakció a „száraz” bibe felszínén játszódik le, ahol a pollenszemek nem tudnak tömlőt hajtani és nem jutnak le a bibeszálba. SSI rendszer alakult ki a Brassicaceae, Asteraceae és Convolvulaceae családokban. A gyümölcsfajok közül a mogoróra (*Corylus avellana* L.) jellemző, ahol a rendszer nagyon összetett működésű, mert az egyes allélok eltérő dominanciaviszonyok alapján nyilvánulnak meg (MEHLENBACHER 1997). Napjainkig a legtöbb adat a gazdasági jelentősége miatt a Brassicaceae családra jellemző SSI rendszerről érhető el, amelyben egy, a bibeszáj epidermális sejtjeiben kifejeződő S-receptor-kináz (SRK) gén játszik központi szerepet a „saját” pollen felismerésében és elutasításában (TAKAYAMA és ISOGAI 2005, ALLEN és mts. 2011). Az SRK receptorfehérje képes allél-specifikus kapcsolatba lépni a „saját” vagy rokon egyedtől származó pollen SCR („S-locus Cysteine-Rich protein”) ligandum fehérjével, melynek hatására az SRK homodimer konformációs változást szenved és aktiválódik, ezáltal további molekuláris szignálfolyamatot indukálva a bibeszáj epidermális sejtjeiben, ami végső soron a „saját” pollentömlő növekedéséért felelős fehérjék inaktiválódásához vezet (REA és NASRALLAH 2008). SSI során a diploid szülőnövény mindkét S-alléltermékét hordozó pollent akkor is sajátjaként azonosítja a befogadó növény, ha annak csupán egyetlen S-allélja is azonos vele. Kivételt képez ez alól, ha domináns-recesszív kapcsolatok alakulnak ki a pollen két S-allélja között, melynek következtében az egyik allél fenotípusa erősebben nyilvánul meg. Ebben az esetben a megtermékenyítés csak akkor lesz sikertelen, ha a domináns allél a megporzandó növény bibeszöveiteiben is jelen van (**6A. ábra**).

A gametofitikus inkompatibilitás során a pollen fenotípusát saját haploid genotípusa határozza meg, ezzel beindítva az önmeddőségi válaszreakciót, melynek következményeképpen a pollentömlő növekedése megtorpan (**6B. ábra**). A GSI szabályozó molekuláris mechanizmus többféle is lehet. Az S-ribonukleáz enzimek, vagyis S-RN-ázok részvételén alapuló GSI-rendszer a leginkább tanulmányozott, s legrégebben leírt folyamat. Mindezidáig öt növénycsaládban azonosították, a Solanaceae, Scrophulariaceae, Campanulaceae, Plantaginaceae és a *Prunus* fajokat is felölelő Rosaceae családokban (DE NETTANCOURT 2001, FRANKLIN-TONG 2008).

A**B**

6. ábra: A hermafrodita virágok sporofita önmeddőségénél (a) a megporzás kimenetele a pollenadó diploid növény genotípusa által meghatározott. Az S-allélok dominanciaviszonyai különbözőképpen alakulhatnak: ha a pollenadó növény S-alléljainak egyike a másik alléllal szemben domináns, a megtermékenyítés csak akkor lesz sikertelen, ha a domináns allél a megporzandó növény bibeszöveiteiben is jelen van. A pollenszemek csírázása a bibe felületén gátlődik. Ha a két allél kodomináns, a megtermékenyítés elmarad, amennyiben a pollenszem két S-allélja közül bármelyik vagy mindkettő megegyezik a bibeszálban kifejeződő S-allélokkal. A gametofita típusú önmeddőség (b) esetében a pollenszem fenotípusát saját haploid genomja határozza meg. Amennyiben a pollenben kifejeződő S-allél azonos a diploid bibében kifejeződő bármely S-alléllal, a pollentömlő növekedése a bibeszál felső harmadában leáll (PURVES és mts. 2004 átdolgozása).

„Alig hinnéd, hogy szilvafa –
hisz nem nő rajt’ szilva soha.
De elárulja levele
szilva-levél erezete.

(Bertolt Brecht: Der Pflaumenbaum részlet)

3.6. A *Prunus* fajokra jellemző gametofitikus inkompatibilitási rendszer molekuláris háttere és modellje

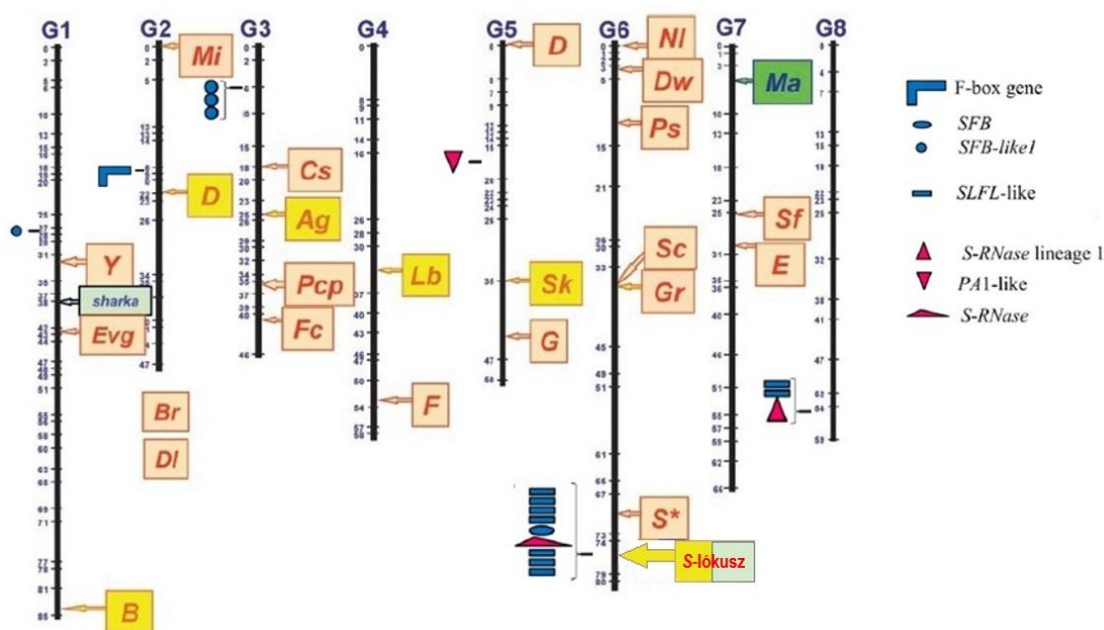
A GSI rendszert az S-lókuszt két génje szabályozza (EBERT és mts. 1989, DE NETTANCOURT 1997). A *Prunus* fajoknál e két gén közül az egyik a bibében expresszáldó ribonukleáz (S-RN-áz) enzimet (McCLURE és mts. 1989), míg a másik a pollentömlőben kifejeződő, ún. S-haplotípus-specifikus F-box (SFB) fehérjét kódolja (LAI és mts. 2002, ENTANI és mts. 2003, USHIJIMA és mts. 2003). A felismerési reakció, amely a mechanizmus alapját képezi, e két molekula részvételével, az S-RN-áz és az F-box fehérjék között zajlik le. A kétkomponensű rendszer működéséhez nélkülözhetetlen, hogy a pollenkomponenst kódoló gén az S-RN-áz génhez közel, szorosan kapcsolt módon helyezkedjen el a lókusztban (380 bp-30 kb), hiszen a rekombináció lehetetlenné tenné az allél-specifikus felismerést (BUSCH és mts. 2014).

DIRLEWANGER és mts. (2004) a *Prunus* referencia kapcsoltsági térképen 28, a termesztési érték szempontjából jelentősnek tartott gén pozícióját határozták meg őszibarack [*Prunus persica* (L.) Batsch], kajszli (*P. armeniaca* L.), mandula [*P. dulcis* (Mill.) D.A. Webb.] és cseresznyeszilva (*P. cerasifera* Ehrh.) utódpopulációk vizsgálatával, ahol az S-lókuszt a 6-os kapcsoltsági csoportba térképezték. Az őszibarack genomsekvenciája igazolta, hogy a lókuszt a 6-os kromoszóma szubtelomérikus régiójában található („Phytozone v9.1: Home” 2014). Alma esetében az S-lókuszt a 17-es kromoszóma szintén szubtelomérikus régiójában található (MINAMIKAWA és mts. 2010). Az S-lókuszt nemzetségenként eltérő pozícióban helyezkedik el a genomban, például az Asteraceae családban a mezei katángnál (*Cichorium intybus* L.) a 2-es kromoszómán (GONTHIER és mts. 2013).

AGUIAR és mts. (2015) *Prunus* és *Malus* nemzetségek GSI génjeinek paralóg típusú evolúciós hipotézisét tesztelték a Rosaceae családból származó öt faj genomja esetén: *M. × domestica* (alma, SI), *P. persica* (őszibarack, SC), *P. mume* (japán kajszli, SI), *Fragaria vesca* (szamóca, SC) és *F. nipponica* (erdei szamóca, SI). Filogenetikai vizsgálataik arra engednek következtetni, hogy a *Malus* és a *Prunus* nemzetségekbe tartozó S-RN-áz és S-pollen gének különböző vonalakhoz tartoznak. Csak a *Prunus* S-RN-áz és S-pollen gének vannak jelen a *Fragaria* fajokban, vagyis a *Malus* nemzetségben az ősi rendszertől függetlenül jött létre a mai ismert GSI mechanizmus. Az „S-lineage” gének, azon gének, amelyek az öntermékenyülő fajok bibéjének

eltérő szöveteiben expresszáldó *S-RN-áz* génekhez hasonló, *F-box* (*Malus* nemzetségben *SFBB*; *Prunus* nemzetségben „*SLFL-like*”) szekvenciával határosak. A *Prunus* nemzetség „*S-RN-áz lineage*” génjeinek 3 különböző csoportját is feltérképezték: a *Prunus S-RN-áz* gént, az „*S-RN-áz lineage 1*”-et (filogenetikai vizsgálataik során ez a csoport, a *Malus* „*S-RN-áz lineage 1*” génekkel azonos klaszterbe került), továbbá egy *Prunus*-specifikus csoportot tartalmaz, amely magába foglalja még a *P. avium PA1*-et (7. ábra).

Diploid növények esetében a pollen fenotípusát saját haploid genotípusa határozza meg. Ha a pollenszem *S*-allélja megegyezik a bibe két *S*-alléljának bármelyikével, gátolt lesz a pollentömlő fejlődése, és a termékenyülés nem jön létre. Az öntermékenyülési képesség akkor alakulhat ki, ha a rendszer bármely komponensének funkciója sérül, melynek következtében a fehérje hibásan szintetizálódik vagy a fehérjeszintézis teljes egészében gátolódik (6B. ábra). Így az *S-RN-áz*, illetve az *F-box* génben, vagy akár ezen gének szabályozó (promóter) régiójában bekövetkezett mutáció is öntermékenyülést eredményez.



7. ábra: A *Prunus* fajok kapcsoltsági térképe 28 gén és az *S-RN-áz* és *SFB* gének pozíciójával. Az *S*-lókus a 6. kapcsoltsági csoportban található. A növényfajok háttérszínei: kék: kajszi; narancssárga: őszibarack; citromsárga: mandula és a mandula × őszibarack hibrid; zöld: cseresznyeszilva. *Y* gyümölcshús színe; *B* szíromlevél színe; *Mi* és *Ma* nematódarezisztencia; *D* őszibarack savtartalom és mandula héjkeménység; *Br* bokros növekedési típus; *DI* teltvirágúság; *Cs* a mag körüli hús; *Ag* porzók színe; *Pcp* több termőlevelűség; *Fc* virágszín; *Lb* virágzási idő; *F* maghozkötöttség; *Sk* keserű mag; *G* a gyümölcshéj szőrözöttsége; *Nl* levélalak; *Dw* törpenövés; *Ps* hímsterilitás; *Sc* gyümölcshéj színe; *Gr* levélszín; *S** gyümölcshalak; *E* levélmirigy alak; *Sf* lisztharmat rezisztencia; *sharka* plum pox vírusrezisztencia. Az *S-RN-áz*zal rokon gének piros színnel, míg az *SFB*, *SFBB* és *SLFL* génekkel rokon gének kék színnel, illetve különböző alakzattal vannak feltüntetve (DIRLEWANGER és mts. 2004 valamint AGUIAR és mts. 2015 nyomán átdolgozva).

Az inkompatibilitási rendszer működésére vonatkozóan többféle molekuláris hipotézist is felállítottak az évek során. A korábbi feltevések közül jelenleg SONNEVELD és mts. (2005) által kidolgozott módosított inhibitor modell az elfogadott, amely szerint az SFB fehérjék az azonos allél által kódolt S-RN-áz molekulák stabilitását képesek megőrizni egy allél-specifikus kapcsolatnak köszönhetően. Ennek értelmében inkompatibilis kapcsolat esetén, nem válik lehetővé az S-RN-áz enzimek lebontása, ellenben a pollentömlő rRNS-e degradálódik, a termékenyülés meghiúsul, s a pollentömlő fejlődése a bibeszál felső egyharmadában megtorpan. Jóllehet a pollentömlőbe belépő valamennyi S-RN-áz lebontásáért egy általános degradációs folyamat az ubiquitin / 26S proteaszóma rendszer (UPS) felelős. A 26S proteaszóma rendszer („molekuláris húsdaráló”) a sejtmagban és a citoplazmában lokalizálódó, 2,5 MD nagyságú és két alegységből álló legösszetettebb fehérjebontó enzimkomplexum. A két alegységből az egyik a 19S szabályozó alegység, a szubsztrát fehérjék felismerését és kitekerését irányítja, míg a másik a 20S katalitikus központi mag felelős a fehérjék degradációjáért (VOGES és mts. 1999).

3.6.1. Az S-ribonukleáz (S-RN-áz) enzim: a bibekomponens

A gametofitikus önmeddőségi rendszer működésében két fundamentális faktor közül a bibeszövet oldaláról az S-RN-áz fehérje játszik szerepet. Az S-RN-áz biológiai besorolása alapján egy ribonukleáz aktivitással bíró enzim, ami ribonukleinsav (RNS) molekulák nukleotidokra történő hidrolízisét katalizálja. Az S-RN-áz glikoprotein is egyben, hiszen polipeptidláncának aszparagin (Asn, N) aminosava képes N-glikozidos kötést létesíteni egy vagy több nagyméretű oligoszacharid láncsal, ahol az N-glikán-lánc lehet: arabinos, xilóz, mannóz, galaktóz, glükóz, fruktóz. A cukormolekulát az oligoszacharil-transzferáz (OST) nevű enzim kapcsolja a fehérjemolekulához, ami jellemző szekvenciamotívumokat („sequon”) (Asn-X-Ser [szerin], Asn-X-Thr [treonin] vagy Asn-X-Cys [cisztein]; X= bármely aminosav, kivéve a prolin) és szerkezeti elemeket (β -fordulat, β -hurok) ismer fel. A szénhidrátok hidrofil tulajdonságának köszönhetően növelik a fehérjék oldhatóságát és védelmet nyújtanak a proteolízissel szemben is, ezáltal meghosszabbítják a fehérjék élettartamát (KARUNANANDAA és mts. 1994).

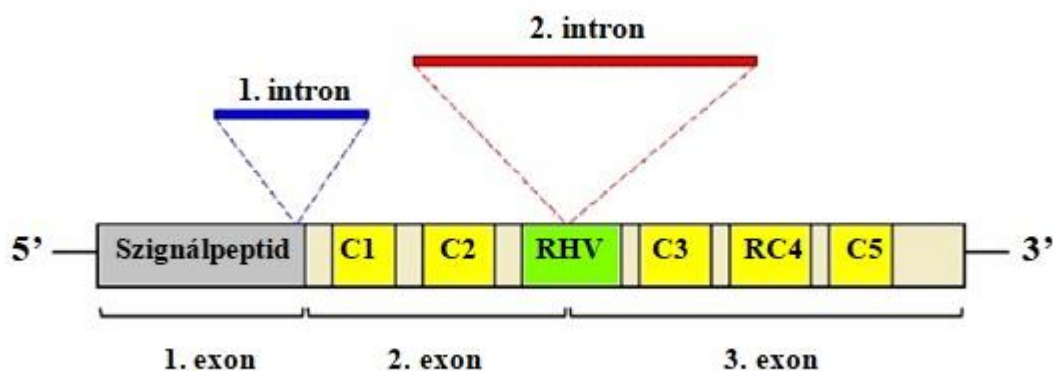
A legelső tanulmány a növényi RN-ázokkal kapcsolatosan, arról számol be, hogy a különböző növényfajok bibeszáljában fellelhető ribonukleázok igen eltérő aktivitással bírnak (SCHRAUWEN és LINKSKENS 1972). 1989-ben a Melbourn-i Egyetemen Adrienne E. Clarke által vezetett kutatócsapat felfedezése alátámasztotta a növényi RN-ázokkal kapcsolatos hipotézist, miszerint többféleképpen működhetnek a növényekben (HEGEDŰS és mts. 2008). Ők tisztázták először,

hogy a Solanaceae családba tartozó *Nicotiana alata* növény gametofitikus termékenyülési rendszerének kulcsfaktora a ribonukleáz aktivitással rendelkező S-glikoprotein. WILLIAMS és mts. (1982) igazolták, hogy ez a glikoprotein *in vitro* körülmények között gátolja a pollentömlő növekedését a bibeszálban, ennél fogva valóban a bibeoldali S-gén terméke lehet. ANDERSON és mts. (1986; 1989) publikálták a bibében expresszáldó *N. alata* S₂- S₃- és S₆-allélok cDNS-szekvenciáit. IGIC és KOHN (2001) széleskörű filogenetikai vizsgálata alapján az S-RN-ázok a gomba T2 típusú RN-ázok géncsaládjával megegyező osztályba (III.) tartoznak, ahol az S-specifikus RN-ázok egy különálló monofiletikus csoportot képeznek. Mindezen információk birtokában a szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy az RN-áz alapú inkompatibilitással rendelkező Solanaceae, Scrophulariaceae és Rosaceae családok közös őstől származnak. Továbbá ez arra is utal, hogy az Asteridae és Rosidae alosztályok közös őseire az RN-áz alapú GSI volt jellemző (STEINBACHS és HOLSINGER 2002).

Az első modell alapján, a bibe S-glikoproteinek a fehérje N-terminálisán található ún. szignálpeptid (szignál-szekvencia) révén a bibe- (stigma), a bibeszál (stylus) transzmissziós szövete-, illetve a termőlevelek belső oldalán található magléc (placenta) epidermiszének sejtjeiből kijutnak az extracelluláris térbe, ahol találkoznak a bibeszál stigmatoid szövetében növekvő pollentömlővel (ANDERSON és mts. 1986, McCLURE és mts. 1990). Ezek az S-RN-áz enzimek a fejlődő pollentömlőbe bejutva, a citoplazmában degradálják a fehérjeszintézis folyamatában alapvető fontosságú riboszomális RNS (rRNS) molekulákat (McCLURE és mts. 1990). Kompatibilis kapcsolat esetén a rRNS intakt formájában marad, ezzel ellentétben inkompatibilis kombinációkban lebomlik. HUANG és mts. (1994) transzgénikus növényekben kapott bizonyítékokkal támasztották alá az RN-áz enzimek szerepét. Érdekesség, hogy a termőlevél fejlődési státusza befolyással van az S-RN-ázok expresszáldására, éretlen bibében sokkal alacsonyabb az S-RN-áz-koncentráció, mint az érett bibeszövetben.

Az S-RN-áznak kulcsfontosságú feladata van a GSI-mechanizmus alapját adó felismerési reakcióban, mely közte és a pollenkomponens között zajlik le (ASHKANI és REES 2016). Bizonyítást nyert, hogy az S-haplotípus specifikus felismerésért az S-RN-áznak nem a glikoprotein glikán oldala, hanem a fehérjerésze felelős, méghozzá annak erősen variábilis régiói (McCUBBIN és KAO 2000). ANDERSON és mts. (1989) a gén változékony szakaszait „hipervariábilis” régióknak nevezték el. A Rosaceae esetében az ún. Rosaceae-specifikus hipervariábilis régió (RHV) (8. ábra), míg a Solanaceae-ban az ún. HVa- és HVb-régiók találhatók (MATTON és mts. 1997, USHIJIMA és mts. 1998).

A Rosaceae családon belül elsőként az almának közölték *S*-RN-áz cDNS szekvenciáit. Kiderült, hogy a gén egy szignálpeptidet, öt ún. konzervatív (C1–C5) és egy hipervariábilis (RHV) régiót hordoz. A *Prunus* fajok esetében két intron, míg a *Maloideae* alcsaládban és a Solanaceae családban egy intron ékelődik az *S*-ribonukleáz kódoló DNS-szekvenciába (IGIC és KOHN 2001, McCLURE és mts. 2011). A két intron mérete allélspecifikusan változik. A *Prunus* fajok esetében az 1. intron a szignálpeptid- és a C1 régió között található, míg a 2. intron a Rosaceae-specifikus RHV régióban. Az előbbi intron jellemzően rövidebb és ún. „phase one” – azaz kereteltolódással járó – intron; a 2. intron nem okoz kereteltolódást a szekvenciában („phase zero”) (HALÁSZ és mts. 2007). A *Prunoideae* alcsalád növényfajainak *S*-RN-ázait kódoló génekről általánosságban elmondható, hogy a 2. intron mérete (kb. 110–3100 bp) majdnem minden esetben meghaladja az 1. intron méretét (kb. 100–450 bp) (SONNEVELD és mts. 2003). A C2 és a C3 régiók elsőrendű fontosságúak, mint a fehérje funkciójáért elsősorban felelős hisztidin (His) aminosav hordozói; a hisztidin ugyanis kulcsfontosságú a RNS-hasító ribonukleáz aktivitás kifejtéséhez. A C1, C4 (ill. RC4) és C5 régiók számos hidrofób aminosavat tartalmaznak, ami arra utal, hogy ezek a régiók felelősek a fehérje funkcióját alapvetően meghatározó központi stabil hidrofób mag kialakításában. A hipervariábilis régió jellemzően hidrofil tulajdonságú aminosavak alkotják, következésképpen ezek a régiók kerülnek a térben a globuláris fehérje molekula felszínére, ami nélkülözhetetlen ahhoz, hogy a molekula részt vegyen a felismerési reakcióban a GSI-mechanizmus során (USHIJIMA és mts. 1998).



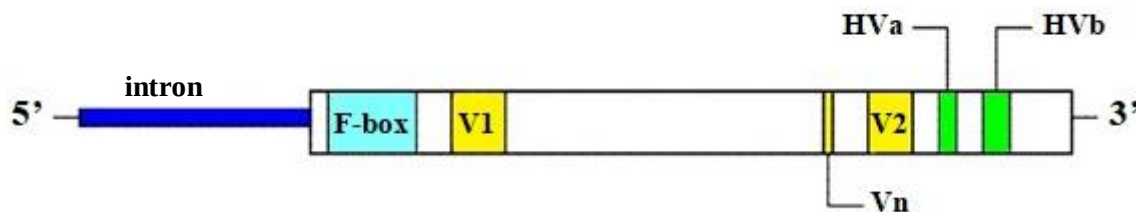
8. ábra: A *Prunus* fajokra jellemző *S*-RN-áz gén felépítése. A gén öt konzervatív régiót (C1, C2, C3, RC4 és C5), valamint egy változékonny, hipervariábilis régiót (RHV) tartalmaz. Az *S*-RN-ázok két intront (az ábrán kézzel, illetve pirossal jelzett szakaszok) hordoznak. Ezek mérete allél-specifikus módon változó (SONNEVELD és mts. 2003 nyomán).

3.6.2. Az S-haplotípus-specifikus F-box fehérje: a pollenkomponens

A bibeszövetben expresszáldó S-RN-áz enzim azonosítását követően bizonyossá vált egy, a pollen oldaláról is részvevő fehérjeterméknek a megléte. Ma már tudjuk, hogy a GSI mechanizmusban a pollen oldaláról az S-haplotípus specifikus F-box fehérje vesz részt. Az F-box fehérje a portokban fejeződik ki, a tapétum szövetében, a mikrospórákban, továbbá a pollenszemekben is megtalálható (LAI és mts. 2002).

Az *F-box* gént elsőként a gyümölcsfajok közül a japán kajszinál (*P. mume* L.) írták le (ENTANI és mts. 2003). Ugyancsak ez év márciusában USHIJIMA és kutatócsapata (2003) egy F-box fehérjeszekvenciát azonosítottak mandulánál, majd ezt követően elnevezték a gén által kódolt fehérjét SFB, vagyis S-haplotípus-specifikus F-box fehérjének. 2007-ben SASSA és kutatócsapata, a vizsgált *Malus* és *Pyrus* fajokban azonosított többféle *F-box* gént, „S-lókuszt *F-box* brothers”-nek (SFBs) nevezte el. Később ZISOVICH és mts. (2009) az európai körtén folytatott analízise során hét különböző *SFB* gént, S-haplotípust talált, amelyeket felhasznált az S-genotipizálás során. A japán körtével végzett kísérletek (KAKUI és mts. 2011) egyértelműen igazolták, hogy az almatermésűek inkompatibilitási reakciója a Solanaceae-val azonos „több faktor által meghatározott idegen felismerésen” alapszik.

Számos publikáció támasztja alá, hogy olykor az *SFB* és az *S-RN-áz* gének fordított orientációban helyezkednek el. Az eddig vizsgálatba vont cseresznye, meggy, mandula és japán kajszii haplotípusok *SFB* génjének orientációja ellentétes volt (YAMANE és mts. 2003a,b; USHIJIMA és mts. 2003, ENTANI és mts. 2003), míg a vizsgált kajszii haplotípusok esetében megegyezett az *S-RN-áz* génnel (ROMERO és mts. 2004). Az S-lókuszt más, szintén a pollenben kifejeződő *F-box* gének is határolják (*Prunus* fajoknál az SLFL1-3), azonban ezek nem vesznek részt az allél-specifikus felismerésben (MATSUMOTO és TAO 2016a,b). Az *SFB* gén az *S-RN-áz*októl eltérően egyetlen intronnal rendelkezik. Először IKEDA és mts. (2004) vizsgálta a cseresznye *F-box* génjének szerkezeti motívumait, amikor is kimutatták, hogy az *SFB* gén egy F-box motívumot, három variábilis régiót (V1, V2 és Vn) és két hipervariábilis régiót (HVa és HVb) tartalmaz (IKEDA és mts. 2004, NUNES és mts. 2006) (9. ábra). A gén változékonyság és a hipervariábilis régióit hidrophil aminosavak építik fel, amelyek a fehérje felületén lokalizálódnak, ahol kulcsfontosságú szerepet töltenek be az allél-specifikus felismerési folyamatban (USHIJIMA és mts. 2003, SASSA és mts. 2010, TAO és IEZZONI 2010, MENG és mts. 2011).

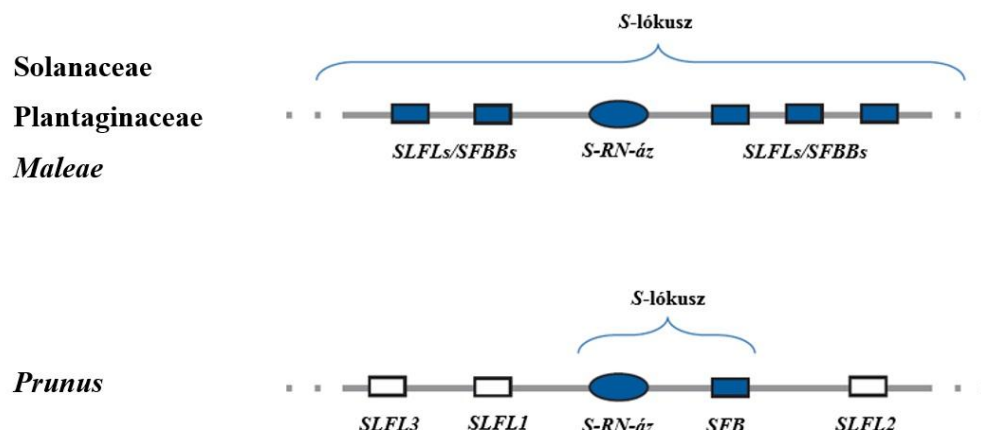


9. ábra: A pollenkomponens *F-box* gén szerkezeti felépítése. A gén két variábilis (V1 és V2), valamint két hipervariábilis (HVa és HVb) szakaszt tartalmaz. Az *F-box* az *S-RN-áz*októl eltérően egy intronnal (az ábrán kékkel jelölt génszakasz) rendelkezik (IKEDA és mts. 2004, valamint NUNES és mts. 2006 nyomán).

Az *F-box* fehérjék számos biológiai funkciójuk közül, gyakran az E3 ubikvitin-ligáz enzimkomplex részei (SCF; Skp1, Cullin1, Rbx1, *F-box* fehérjekomplex), így joggal feltételezték, hogy az *S*-lókusz által kódolt, pollenben kifejeződő fehérje döntő szerepet játszik az *S-RN-áz* enzimek lebontásában. Miszerint az *F-box* fehérje a 26S proteasóma rendszer részvételével a nem saját *S-RN-áz* molekulákat poliubikvitinálhatja, ami kiválthatja azok lebontását a proteasóma rendszerben. Ennek értelmében az eltérő *S*-allélt hordozó pollentömlők fejlődését támogatja úgy, hogy képes felismerni az idegen fehérjét (ENTANI és mts. 2014, USHIJIMA és mts. 2004).

2005-ben SONNEVELD és munkatársai részletesen vizsgálták a magyar 'Alex' cseresznyefajta pollen oldali mutánsait, melynek kapcsán feltárták, hogy a pollen SFB fehérjei nem játszanak szerepet az *S-RN-áz* enzimek lebontásában. Hiszen ezt a feladatot a pollentömlőben működő ún. általános fehérjebontó rendszer látja el, amely semmiféle összeköttetésben nem áll az *S*-lókusszal. Inkompatibilis kapcsolat esetében stabil intermolekuláris kapcsolódás alakul ki a pollen SFB fehérje és az azonos allél által kódolt *S-RN-áz* között, ami megvédi az *S-RN-áz*t az általános fehérjebontó rendszertől, így megtörténik a pollentömlő RNS-einek degradálódása, melynek hatására a megtermékenyítés nem következik be. Ha a lebontás sebességét vizsgáljuk, akkor arra a következtetésre jutunk, hogy a termékenyítést követő 18. órában az *S-RN-áz*ok még megtalálhatóak a pollentömlőben mind a kompatibilis, mind az inkompatibilis megporzást során. Ugyanakkor kompatibilis keresztezésnél a 24. órában már valamennyi *S-RN-áz* degradációja megtörténik (BOIVIN és mts. 2014).

A *Maleae* nemzetségcsoportba, a Solanaceae és a Plantaginaceae családokba tartozó fajok teljes *S*-lókusz mérete igen nagy, az egy megabázis méretet is meghaladja (*Malus* fajoknak legalább 1 Mb, míg a *Petunia* fajoké 4,4 Mb méretű), hiszen többféle *F-box* gént tartalmaznak, mint a *Prunus* nemzetség fajai, ahol mindössze egy *F-box* gén található (70 kb) (MATSUMOTO és TAO 2016a,b) (**10. ábra**).



10. ábra: Az S-lókuszt sematikus ábrája különböző fajoknál. Az *F-box* gén az *S-RN-áz* génhez szorosan kapcsolt módon helyezkedik el. A Solanaceae és a Plantaginaceae családokba tartozó fajok S-lókuszt mérete sokkal nagyobb, mint a *Prunus* nemzetség fajaiban (70 kb) (MATSUMOTO és TAO 2016a nyomán).

3.7. A szilva-termékenyülés kutatásának hagyományos módszerei

A szilva öntermékenyülésre való képessége különleges helyet foglal el gyümölcstermő növényeink körében, hiszen a házi szilvafajtákat igen változatos termékenyülési viszonyok jellemzik: a teljesen önmeddő fajtától a nagymértékben öntermékenyülőig szinte minden fokozat előfordul (TÓTH és SURÁNYI 1980, SURÁNYI 2006a, NYÉKI 2003). Jóllehet az új fajták között egyre több öntermékenyülővel találkozhatunk. A hímsterilitásra is ismert néhány eset, ahol a virágokban egyáltalán nem fejlődik ki a pollen vagy csak nagyon kevés és az sem funkcióképes. Feltételezések szerint a folyamat hátterében a tetrádállapotban lejátszódó tapétumréteg túlzott fejlődése állhat, a sporogén szövet terhére (SURÁNYI 2006a). Hímsteril fajták a román ‘Tuleu gras’ és utódai, mint ‘Albatros’, ‘Centenar’, ‘Minerva’, ‘Pescarus’ és ‘Tuleu timpuriu’, amelyek hazai körülmények között is fellelhetők (SZABÓ és mts. 1999, SZABÓ 2002, NEUMÜLLER 2010).

A termékenyülési viszonyok megállapítására sokáig csupán a szabadföldi termékenyülési vizsgálatok nyújtottak lehetőséget, amelyek során, az irányított keresztezési kísérletek beállításával a gyümölcskötődés mértéke megközelítően nyolc héttel később vált értékelhetővé (NYÉKI és SZABÓ 1995). Az öntermékenyülés meghatározására közismerten kétféle technika létezik a gyakorlatban (NYÚJTÓ és mts. 1985, BURGOS és mts. 1993, NYÉKI és SZABÓ 1995, NYÉKI 1996). Mindkét eljárás során a mesterséges beporzás az adott fajta saját virágporával történik meg. Elsődlegesen, az ún. autogámia esetében, a bimbós stádiumban lévő gallyak izolálására kerül sor, majd pár hét elteltével a kötődési arányokat is megállapítják. Rovarporozta fajok tekintetében az

adott módszer nem mutatkozik hitelesnek a rovarok kizárása végett. Ellenben a geitonogámia során, a virágokat nyílás előtt kasztrálják, majd ezt követően, a már korábban megszedett saját virágporukkal porozzák be. E módszer megbízhatóbb, de az időjárási tényezők jelentősen befolyásolják e vizsgálat sikerességét is. Az eredmények 1-2 hónap elteltével válnak kiértékelhetővé (HALÁSZ 2007).

Pusztán szabadföldi vizsgálatok alkalmazásával a fajták S-genotípusának a meghatározása azonban óriási kihívást jelent, hiszen több, eltérő irányított keresztezés elvégzése válik elengedhetlenné más és más kombinációkban. Ezen módszer nagy hátránya, hogy a gyümölcsfák meglehetősen hosszantartó juvenilis időszaka miatt, legalább tíz évet ölel fel. A legkevésbé időigényes vizsgálati eljárásnak a molekuláris szinten végzett analízis mutatkozik, melynek eredményessége további tesztkeresztezéssel ellenőrizhető (ORTEGA és DICENTA 2003).

A világon elsőként WAITE (1894) végzett a gyümölcsfajok hagyományos termékenyülésével kapcsolatos kísérleteket, körte és alma ültetvényekben. Munkái által szerette volna a figyelmet felhívni az önmeddőség jelenségére és a keresztbeporzás szükségességére a gyümölcstermő ültetvényekben. Eredményei jelentőségét bizonyítja, hogy azonnal felhasználásra is kerültek a gyümölcstermesztési gyakorlatban. A csonthéjas gyümölcsfajok közül először a cseresznye, majd 2-5 évvel később a meggy és a szilva esetében is jelentkeztek önmeddőségi problémák.

3.7.1. A szilva öntermékenyülésének szabadföldi vizsgálata

RAWES (1921) irányított ön- és kölcsönös megporzásos kísérletei alapján -öntermékenyülő, - „részben” öntermékenyülő és -önmeddő szilvafajtákat írt le. Mai napig leggyakrabban e hármas csoportosítást alkalmazzák az öntermékenyülés mértéke alapján (NEUMÜLLER 2010).

Hazai berkeken belül TÓTH (1957, 1968, 1969) munkássága révén kaphatunk mélyebb ismereteket a szilvafajták termékenyülési viszonyairól. Hazánkban szabadföldön, természetes körülmények között 1950-1969. években végeztek öntermékenyülési kísérleteket, melynek során 120 szilvafajta 124 700 db virágát vizsgálták. A kapott eredmények következtében a vizsgálatba vont fajtákat az alábbi négy különböző öntermékenyülési csoportba sorolták (**1. táblázat**).

1. táblázat: Lehetséges öntermékenyülési csoportok a vizsgált szilvafajták körében.

Öntermékenyülési csoportok	Életképes kötődés (%)
önmeddő	0,0
gyakorlatilag önmeddő	0,1-1,9
gyengén öntermékeny	2,9-9,9
jól öntermékenyülő	legalább 10

A fajtákat öntermékenyülésből származó évenkénti gyümölcskötődésük átlagai alapján sorolták csoportokba, melynek következtében arra a megállapításra jutottak, hogy a szilvafajták közül viszonylag kevés, csupán az egynegyede nyújtott kielégítő mértékű terméskötődést a saját pollenjével megporozva. A fajták kétharmada adott termést önbeporzásból, ámbar jó hozam eléréséhez ez is kevésnek bizonyult. A fennmaradó fajták egyharmada teljes mértékű önmeddőséget mutatott. Eredményeik alapján elmondható, hogy a fajtánkénti öntermékenyülés mértéke igen széles skálát ívelt át, a 0,0%-tól egészen a 66,3%-ig (pl. Besztercei szilva változatainál: 2,6-57,0%) (TÓTH és SURÁNYI 1980), valamint egyes években elérheti a 70%-ot is (pl. 'Cacanska rodna') (SOLTÉSZ 1997). SURÁNYI 1997-2003 közötti (nem közölt) felmérései szerint, a Nemtudom szilva átlagosan 56-64%-os öntermékenyülést mutatott. Szemben a Magyarországon szaporításban lévő ringló fajtákkal (pl. 'Althann ringló', 'Zöld ringló'), melyek önmeddőek. A szilvánál sokféle megítélés létezik az öntermékenyülés mértékével kapcsolatosan. Hazánk adottságaihoz mérten a jó terméshozáshoz európai szilvánál 10%, míg japán szilvánál 5% feletti érték az ideális (SURÁNYI 2006a).

A nemesítői munka során az öntermékenyülő szilvafajták előállítása az egyik legfontosabb célkitűzéssé vált. Az önmeddő fajták esetében termesztési kockázatokkal, a szervezés során nehézségekkel kell számolnunk. Hiszen számba kell vennünk a pollenadó fajták telepítését, mely plusz költségvonzattal jár. Mindezen okból megnövekedett az igény a jó minőségű öntermékenyülő fajták iránt, melyet a különböző nemesítési műhelyek (Németország, Olaszország, Szerbia, USA) igyekeznek kielégíteni.

Az öntermékenyülés és a szabadtermékenyülés mértéke közötti összefüggést több szerző vizsgálta. Szilvánál erre a jelenségre először TÓTH (1957) mutatott rá, hogy a nagyobb mértékben öntermékenyülő fajták szabadtermékenyülése is nagyobb, valamint fordítva is megállja a helyét ez a kijelentés. SZABÓ (2002) igazolta meggy, európai szilva, kajszi és őszibarack fajoknál, e két tényező pozitív kapcsolatát. A szilvafajták ön- és szabadtermékenyülésének különbsége a klónfajták szintjén is igazolható (SURÁNYI 2006b).

3.8. Az S-genotípus meghatározásának molekuláris diagnosztikai módszerei

Az S-lókuszt egy multiallélikus, multigén komplex, ezért a „haplotípus” kifejezés a lókuszt valamennyi génváltozatára (pollen és bibe) együttesen értendő, ugyanakkor az „allél” csak az egyik gén változataira használandó (McCUBBIN és KAO 2000).

Az NCBI (National Center for Biotechnology Information), azaz az élettudományok és a bioinformatika egyik elsőként indított, kereszthivatkozásokkal ellátott és állandóan frissülő adatbázis-gyűjteményében jelenleg 2116 db *S-RN-áz* gén annotált (jellemzett) nukleotidszekvenciája áll a rendelkezésünkre. Ezen szekvenciák felhasználhatók különböző fajokból származó szekvenciaillesztések segítségével az egyes allélok diagnosztizálásához, a genotipizáláshoz használt PCR-alapú módszerek fejlesztéséhez, valamint evolúciós kapcsolatok feltárásához.

A GSI rendszerben vizsgált első, a Rosaceae családból származó faj az alma volt, melynek S-alléljainak sikeres azonosítására DNS-alapú markerezési technikát alkalmaztak (BROOHAERTS és mts. 1995). PCR primerek tervezéséhez a bibeszövetből kivont *S-RN-áz* fehérjeláncának NH₂-terminális végén található aminosav-szekvenciát határozták meg. Továbbá sikeresen azonosították a *Maloideae* alcsaládra jellemző egyetlen intron pozícióját, valamint az S₂- és S₃-allélok intronja közti méretkülönbséget, melyhez a bibeszálból izolált mRNS-ből írt cDNS és a genomi DNS-szekvenciákat használták fel. Az almatermésűek S-genotípusának megbízható azonosításához az allélspecifikus primerek használata illetve a PCR-RFLP konszenzus primerekkel történő alkalmazása nélkülözhetetlen fontossággal bír, hiszen esetükben az *S-RN-áz* gén egyetlen intronjának allélok közötti méretbeli polimorfizmusa elenyésző mértékű.

Az S-genotípus meghatározásához sikeresen alkalmaztak allélspecifikus primereket alma (KITAHARA és MATSUMOTO 2002b, BROOHAERTS 2003) és európai körte (ZISOVICH és mts. 2004a,b) esetében. Emellett japán körte (ISHIMIZU és mts. 1999, KIM és mts. 2004, TAKASAKI és mts. 2004, KIM és mts. 2007), európai körte (ZUCCHERELLI és mts. 2002, TAKASAKI és mts. 2006) és alma esetében a PCR-fragmentumok S-allél-specifikus restrikciós enzimekkel történő hasításán alapuló (PCR-RFLP) technikát használták (KITAHARA és MATSUMOTO 2002a). Az allélok azonosításának megbízhatóságát és a 90% feletti azonosságot mutató S-allélok aminosav-szekvenciáinak a megkülönböztethetőségét teszi lehetővé a specifikus primerek amplifikálta PCR-fragmentumok restrikciós enzimekkel történő hasítása (JANSSENS és mts. 1995, MATSUMOTO és KITAHARA 2000, VAN NERUM és mts. 2001, KITAHARA és MATSUMOTO 2002b, MATSUMOTO és mts. 2003, BROOHAERTS 2003, LONG és mts. 2010). Napjainkra már az allélspecifikus primerek egész sorát tették közzé több gyümölcsfajban, az

almától kezdve, a cseresznyén (SONNEVELD és mts. 2001, 2003; WÜNSCH és HORMAZA 2004); a kajszin (JIE és mts. 2005) és a mandulán át (TAMURA és mts. 2000, CHANNUNTAIPAT és mts. 2001, MA és OLIVEIRA 2001, HALÁSZ és mts. 2008, KODAD és mts. 2008) a japán szilvában (SAPIR és mts. 2004, HALÁSZ és mts. 2007) és a japán körtében is (NASHIMA 2015).

A *Prunus* fajok *S-RN-áz*t kódoló génjének, a C2 és C3 konzervatív régiói között, a hipervariábilis régióba ékelődő 2. intronrégiója jelentős mértékű méretbeli polimorfizmust mutat („intron length polymorphism”, ILP) (SONNEVELD és mts. 2003), aminek következtében az amplifikált különböző allélok, számottevő méretbeli különbség esetén, agaróz-gélelektroforézis segítségével vizuálisan is megjeleníthetők. SUTHERLAND és mts. (2004a) különböző gyümölcsfajokból (cseresznye, mandula, japán kajszi, japán szilva és cseresznyeszilva) származó 27 *S-RN-áz* allél szekvenciájának felhasználásával terveztek konszenzus primereket, a 2. introntól upstream és downstream irányban elhelyezkedő konzervatív régiókra. Ezen primerek alkalmazásával a legtöbb ismert cseresznye, mandula és kajszi *S-RN-áz* allél sikeresen kimutatható volt és a mai napig jól használható.

Az *S-RN-áz* gén mindkét intronjának mérete allélspecifikusan változik, de a *Prunoideae* alcsaládban, a szignálpeptid és a C1-es konzervatív régió között megtalálható 1. intron mérete általában kisebb a 2. intron méretéhez képest. Az 1. intron méretének meghatározása a mikroszatellit markerek vizsgálata során rutinszerűen alkalmazott technika szerint történik, miszerint az 500 bp méretnél kisebb fragmentumok mérete fluoreszcens jelöléssel (például FAM, 6-FAM, JOE, TET stb.) ellátott primerekkel végzett amplifikációt követően, a keletkezett fragmentumok automata szekvenátorban történő kromatográfiás futtatásával határozható meg (SONNEVELD és mts. 2006). Ezek alapján az általános gyakorlat szerint minden *Prunus* faj esetében mindkét intronhossz vizsgálata megtörténik és a kapott adatok alapján az ismert és korábban jegyzett allélok azonosíthatók. Néhány vitatott esetben allélspecifikus primer segítségével egyértelművé tehető a meghatározás. Diploid fajoknál az öntermékenyülést okozó domináns allél kimutatására külön primerpár áll rendelkezésre (HALÁSZ és HEGEDŰS 2006).

3.9. A poliploid gyümölcsfajok S-allélrendszere

A legtöbb molekuláris információ a termékenyülési rendszerről a diploid gyümölcsfajokra korlátozódik: a csonthéjasok közül a kajszi (BURGOS és mts. 1998, HALÁSZ és mts. 2007); a mandula (BOŠKOVIĆ és mts. 1999, KODAD és SOCIAS I COMPANY 2008); a cseresznye (SONNEVELD és mts. 2006, MARCHESE és mts. 2007) és az őszibarack (HEGEDŰS és mts. 2006, TAO és mts. 2007). Ugyanakkor a poliploid fajokról nagyon kevés adat áll rendelkezésre annak ellenére, hogy a növényvilágban a poliploidia nagyon elterjedt jelenség. A virágos növényeknek közel a fele poliploid, és közöttük sok fontos termesztett növényfaj is van. A burgonya például tetraploid ($4\times=48$), a kenyérbúza hexaploid ($6\times=42$), a szamóca oktaploid ($8\times=56$). A növényvilágban a többszörös kromoszómakészlet fontos szerepet játszott a fajok kialakulásában, ezáltal evolúciós szerepük kiemelkedő, de a genomszerkezetük komplexitása rendkívül megnehezíti a jellemzésüket (DUFRESNE és mts. 2014). A poliploid sejtek három vagy több alapkromoszómaszerelvénnyel rendelkeznek. A poliploidok származásuk és tulajdonságaik alapján két csoportra oszthatóak: autopoliploidokra és allopoliploidokra. Az autopoliploidok három vagy több homológ genomot (ugyanolyan géneket tartalmazó, jelentős mértékű DNS-szekvencia azonosságot mutató kromoszómák), míg az allopoliploidok kettő vagy több nem homológ genomot (különböző fajból származó kromoszómák DNS-szekvenciája jelentősebb mértékben eltér egymástól), azaz homeológ kromoszómákat tartalmaznak (LEITCH és BENETT 1997). A homológ és a homeológ kromoszómák megkülönböztetésének fontossága abban rejlik, hogy meglétük egyes tulajdonságok öröklődése folyamán döntő hatású lehet. A meiózis során a homológ kromoszómák szekvenciaazonosság alapján megbízhatóan párokba rendeződnek. A homeológok ellenben, csak abban az esetben képesek párokba rendeződni, amennyiben közöttük bizonyos szakaszokon jelentős mértékű szekvenciaegyeztetés mutatkozik, ami legtöbbször kevésbé valószínű. Szegmentális poliploidira a meggy a legjobb példa, hiszen két közeli rokon faj, a cseresznye és a csepleszmeggy kereszteződéséből jött létre, amelyek kromoszómái bizonyos szakaszokon nagyon hasonlóak lehetnek (OLDEN és NYBOM 1968, BEAVER és IEZZONI 1993).

A poliploidia nagymértékben befolyásolhatja a fajok önmeddőségi-mechanizmusának megnyilvánulását. Több tetraploid fajban a poliploidia a genetikailag rögzített önmeddőségi mechanizmus (SI) részleges inaktivitását okozza, ugyanis a képződő diploid pollen – amennyiben S-genotípusára nézve heterozigóta – a bibeszöveggel kompatibilisnek mutatkozik, akkor is, ha a tetraploid bibe a diploid pollen egyik, vagy akár mindkettő S-allélját is tartalmazza. Inkompatibilitási interakció csak akkor következik be, ha a diploid pollen két azonos S-allélt hordoz,

azaz homozigóta, és ez az allél a tetraploid bibe egyik S-alléljával megegyezik. Ezt a részleges inaktivitást az önmeddőségi reakciókban kompetitív interakciónak („competitive interaction”, CI) nevezzük (DE NETTANCOURT 2001, SASSA 2016). A Rosaceae-ban kompetitív interakciót többek között tetraploid körtékben és almákban detektáltak (ADACHI és mts. 2009, CRANE és LEWIS 1942, SASSA 2016); ellenben a *Prunus* fajoknál ez a jelenség nem fordul elő (HAUCK és mts. 2006a,b; TAO és IEZZONI 2010).

3.9.1. Meggy (*Prunus cerasus* L.)

A termesztett meggyet (*Prunus cerasus* L.) a diploid cseresznye (*P. avium* L.) ($2n=2\times=16$) és a tetraploid csepleszmeggy (*P. fruticosa* Pall.) ($2n=4\times=32$) spontán hibridjének tartják (OLDEN és NYBOM 1968, BROWN és mts. 1996).

Poliploid fajok közül eddig a meggy S-allél-rendszerét és működését vizsgálták részletesebben. Több S-allélt és S-haplotípust azonosítottak (HAUCK és mts. 2006a,b; YAMANE és mts. 2003a,b; TSUKAMOTO és mts. 2006). A meggy allotetraploid tulajdonságának köszönhetően eltér a diploid fajok S-allél-rendszerétől: a pollenszem diploid, vagyis két S-allélt tartalmaz, míg a bibe négy S-alléllal rendelkezik. A sikeres öntermékenyüléshez legalább két funkcióképtelen S-haplotípusnak kell jelen lennie a pollenben. Eddig öt funkcióképes és kilenc funkcióképtelen S-haplotípust azonosítottak (HAUCK és mts. 2002, 2006a,b; TSUKAMOTO és mts. 2006, 2008, 2010; YAMANE és mts. 2003a,b). A funkcióképtelen haplotípusok közül három a bibe oldaláról (S_{6m} , S_{6m2} és S_{13m}), kettő a pollen oldaláról (S_1' , S_{13}'), egy pedig mindkét oldalról (S_{null}) mutánsnak bizonyult. Ezeknél az alléloknál több deléciót, inszerciót és nukleotidszubsztitúciót azonosítottak. Az S-allélok funkcióvesztése leggyakrabban valamilyen inszerciós esemény következményeként alakult ki (HAUCK és mts. 2006a, HALÁSZ és mts. 2014a), vagyis a mozgó genetikai elemek jelentős evolúciós hajtóerőt képeznek, ami számos esetben vezetett az önmeddőség megszűnéséhez. Érdekes jelenség, hogy a cseresznye hibridjeként kialakult meggyben található számos cseresznye S-allél, melyek funkcióvesztése cseresznye esetében mindezidáig nem volt kimutatható, de meggy esetében előfordul. Ennek magyarázata a meggy tetraploid genomjában keresendő, a poliploid faj esetében ugyanis a bekövetkezett egyetlen mutáció nem változtatja meg a pollen fenotípusát (nem lesz képes öntermékenyítésre), hiszen a másik allél funkciója sértetlen. Ennél fogva a sérült allélok szelekciós következmény nélkül felhalmozódhattak a meggy populációkban. Az öntermékenyülés csak abban az esetben alakulhatott ki, ha az egyedek két működésképtelen S-alléllal rendelkeztek

(TSUKAMOTO és mts. 2006). A legtöbb termesztett meggyfajta öntermékeny, de önmeddő genotípusok is ismeretesek (LANSARI és IEZZONI 1990).

Elsőként YAMANE és mts. (2001) mutatták ki az S-ribonukleázok jelenlétét mind az öntermékeny és az önmeddő fajták termőiben. A megvizsgált 13 genotípus mindegyikében találtak legalább egy cseresznye S-allélt. Kutatásaik során a kapott eredményeik megerősítették az S_1 , S_4 , S_6 , S_9 és az S_{12} cseresznyeallél jelenlétét a meggyben, továbbá az újonnan talált S-allélokat betűkkel jelölték, az újszerűségük megerősítéséig (S_a -tól S_e -ig). A burgonyafélék fajaival ellentétben, csupán a heteroallélikus pollen jelenléte nem okoz öntermékenyülést a meggyben.

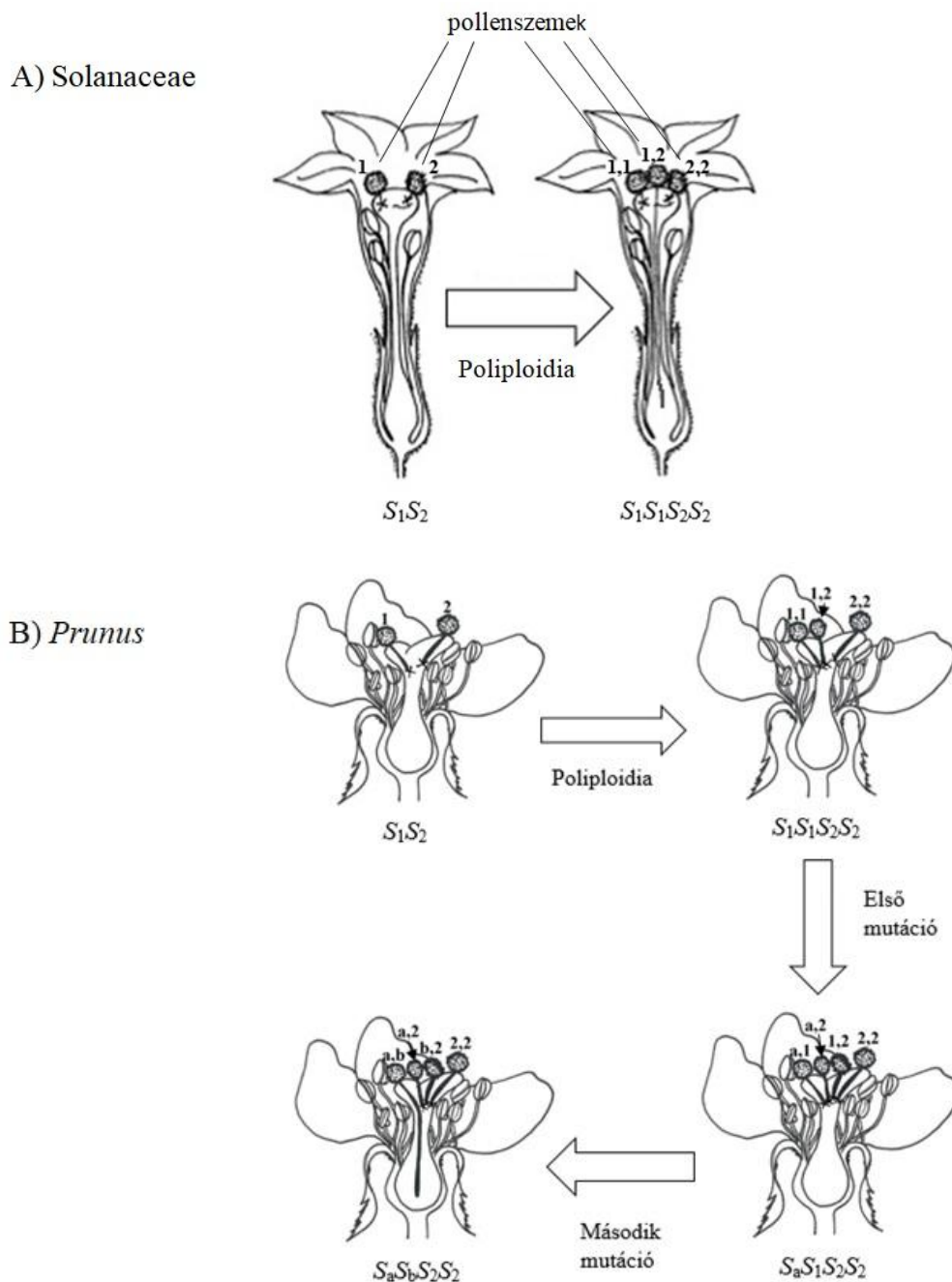
HAUCK és mts. (2002) vizsgálata során a meggyben talált S_4 - és S_6 -RN-áz allélszekvenciák azonosaknak bizonyultak ugyanezen cseresznyeallélokkal. Az SI mechanizmus megértéséhez nagymértékben hozzájárult a 'Rheinische Schattenmorelle' ($S_a S_b S_c S_6$) $\times$ 'Érdi Bőtermő' ($S_a S_4 S_{6m}$) keresztezéséből származó utódok szegregációs analízise (YAMANE és mts. 2001). Bizonyosságot nyert, hogy az S_{6m} -RN-áz funkcióképtelen, a működő pollenkomponenssel szemben. Az elsőként leírt funkcióját veszített meggyallél az S_{6m} -RN-áz volt az 'Érdi bőtermőben' (YAMANE és mts. 2003a,b). Az S_{6m} -haplotípus egy 2715 bp inszerciót tartalmaz az S-RN-áz gén kódoló részétől *upstream* irányban (YAMANE és mts. 2003a). Az S_{6m2} -RN-ázban található 1 bp-os delécióra és egy 2 bp-os szubsztitúció található. A guanin deléciója a +555 nukleotidpozícióban egy kereteltolódást eredményezett, amely egy korai stop kodon kialakulását idézte elő (TSUKAMOTO és mts. 2006). Az *SFB* gén funkcióvesztését az S_1 '-allélnál egy 615 bp Ds elem okozza (HAUCK és mts. 2006a). A mozgó genetikai elemek számos esetben jelentős mutációkhoz vezetnek. Például a *Falling Stones* (*FaSt*) *Prunus*-specifikus nem autonóm Mutator elem (transzpozon) egy vagy két kópiányi inszerciója a kajsi *SFB* génjében az öntermékenyülő fenotípus kialakulásához vezetett (HALÁSZ és mts. 2014a). Néhány meggyfajtában a S_{13} -haplotípust szintén funkcióképtelennek azonosították. Az S_{13m} -RN-áz aminosavsorrendje a 130-as pozícióban tért el a vad típusú allélétől, amely feltehetően egy sérült fehérjét eredményezett. Mindemellett az SFB_{13} és az $SFB_{13'}$ allélok nukleotidszekvenciájának összehasonlítása során 2 bp-os eltérés volt észlelhető. A +523-as pozícióban az SFB_{13} adeninje az $SFB_{13'}$ -allélban guaninre cserélődött, amely egy aminosav-változást eredményezett. A +733 pozícióban viszont az SFB_{13} guaninje timinre cserélődött, ami egy korai stop kondonhoz vezetett (TSUKAMOTO és mts. 2006).

Az S_{36} -haplotípusnak 4 különböző változata van, és ezek mindegyike funkcióképtelen. Az S_{36a} -RN-áz az S_{36b} -RN-áztól egy nukleotidnyi eltérést mutat a 2. intronrégióban. Az SFB_{36a} és az SFB_{36b} 8 nukleotidban tér el egymástól. Az S_{36a} és az S_{36b} -RN-áz összevetése más funkcióképes cseresznye S-RN-áz szekvenciákkal nem mutat olyan molekuláris elváltozást, amely befolyásolná az

S-RN-áz aktivitását. Az S_{36b2} -RN-áz az S_{36b} -RN-áztól egy 1 bp-os szubsztitúcióban tér el a C2-es konzervatív régióban, amely egy korai stop kodont eredményez. De az *in silico* vizsgálatok nem mutatták ki egyértelműen a hibát, amely alapján következtetni lehet az S_{36a} , S_{36b} és az S_{36b3} haplotípusok funkcióvesztésére. Lehetséges, hogy az *SFB* fehérjének a 188-as pozícióban bekövetkezett aminosav-csere (tirozinról fenilalaninre) okozta az önmeddő fenotípus megváltozását, illetve egy másik magyarázat szerint mind a négy S_{36} -os variánsban jelen lehet egy nem autonóm Helitron elem az *SFB* protein stop kodonjától 38 bp-ra *downstream* irányban (TSUKAMOTO és mts. 2010).

A meggy öntermékenyülése genotípusfüggő és a funkcióképtelen S-haplotípusok genomon belüli felhalmozódása következtében alakult ki, ami alapvetően eltér a Solanaceae családba tartozó poliploid növényekre jellemző öntermékenyülés genetikai hátterétől (**11. ábra**). Ezek a haplotípusok osztályozhatók aszerint, hogy pollen oldali mutánsról beszélünk-e, amit a nevében aposztróffal jeleznek (') vagy bibe oldali mutánsról van-e szó, amelyet az S-haplotípus száma után egy 'm' betűvel jelölnek meg. HAUCK és mts. (2006b) önmeddő és öntermékenyülő genotípusokat összevetve megalkották az ún. *one-allele match* modellt, mely szerint az öntermékenyüléshez a pollennek két funkcióját veszített haplotípust kell hordoznia. Amennyiben a pollentömlőben és a bibeszövetben kifejeződő két közös S-haplotípus egyike sem működőképes, nem alakul ki a specifikus felismerés az azonos alléltermékek között, így az öntermékenyülés lehetséges (LUU és mts. 2000).

TSUKAMOTO és mts. (2008, 2010) nagyon hatékony PCR-alapú markerezési módszert dolgoztak ki az öntermékenyülő és az önmeddő genotípusok elkülönítésére. Az allél-specifikus primerek és a CAPS-markerek használatával (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) megkülönböztethetők a mutáns és a vad típusú allélek az alábbi esetekben: S_1/S_1' ; $S_6/S_{6m}/S_{6m2}$; $S_{13}/S_{13m}/S_{13}'$ és $S_{36}/S_{36a}/S_{36b}/S_{36b2}/S_{36b3}$. Használatukkal a magoncok korai szelekciója miatt a meggy nemesítési programokban jelentős költség-többlet és munkaidő takarítható meg. Az utódokat genotípusuk pontos megállapítására mindegyik allélra kidolgozott markerrel tesztelni kell.



11. ábra: A gametofitikus inkompatibilitás működése a poliploid *Solanaceae* (A) és *Prunus* (B) fajoknál. A *Solanaceae* családban a heteroallélikus (két különböző allélt tartalmazó) pollen következtében közvetlenül öntermékenyülővé válik az egyed. A *Prunus* fajoknál nem önmagában a poliploid genom hatására változott meg a termékenyülési fenotípus, hanem tetraploid fajoknál minimum két, funkcióképtelen S-haplotípus jelenlétére van szükség az öntermékenyülés kialakulásához (HAUCK és mts. 2006a). A működésképtelen allélokat betűvel (a, b) jelöltük (HALÁSZ és mts. 2016).

3.9.2. Európai szilva (*Prunus domestica* L.)

Mindezidáig alig néhány európai szilvafajta *S*-genotípusát ismerjük a poliploid genom komplexitása miatt. Az elsők között SUTTON (1918) volt az egyik, aki a kölcsönös inkompatibilitási kombinációkról feljegyzéseket tett, később számos fajtát azonosítottak kölcsönös inkompatibilitással (TEHRANI 1991). A korábbi irányított ön- és kölcsönös megporzásos kísérletek alapján öntermékenyülő, „részben” öntermékenyülő és önmeddő fajtákat írtak le (RAWES 1921). Az önmeddő fajtáknál külön gondot kell fordítani a megfelelő porzópartnernek biztosítására. Néhány hazánkban is termesztett szilvafajta esetében a hímsterilitás (‘Centenar’, ‘Pescarus’, ‘Tuleu gras’ és ‘Tuleu timpuriu’) is előfordulhat, amely tovább bonyolítja az optimális ültetvény tervezését (SZABÓ és mts. 1999).

Először SUTHERLAND és mts. (2004a,b) végeztek molekuláris vizsgálatokat a szilva *S*-lókuszán. A transz-specifikus evolúció jelenségét (két különböző faj bizonyos *S*-alléljainak szekvenciája nagyobb mértékben hasonlíthat egymáshoz, mint amennyire egy faj két különböző funkciójú *S*-allélja) a Solanaceae családban, a *Maloideae* és *Prunoideae* alcsaládokban egyaránt kimutatták. Összesen három *S*-allél (S_5 , S_6 és S_9) szekvenciáját határozták meg (SUTHERLAND és mts. 2008).

Mivel nem állnak rendelkezésre elérhető szilva *S*-allélra specifikusan fejlesztett markerek, más *Prunus* fajokhoz hasonlóan, az *S*-RN-áz és az *F*-box gén konzervatív régióira tervezett primerek használhatók a hexaploid szilva genetikai információjának megismeréséhez. Hat, más *Prunus* fajokra tervezett marker alkalmazhatóságát vizsgálták 33 európai szilvafajta bevonásával (KOTA és LÂCIS 2013). Az átlagosan megfigyelt heterozigótáság mértéke igen nagynak bizonyult, különböző primerkombinációk esetén 14-37 allél amplifikálódott. Mindegyik szilvafajtát egyedülálló *S*-genotípussal jellemeztek. Ugyanakkor a tesztelt markerek nem mutattak különbséget az öntermékenyülő és önmeddő fenotípusok között. Egy előzetes vizsgálat során HALÁSZ és mts. (2014b) 18 különböző allélt detektáltak 16 fajtában, amely a jelentős mértékű genetikai variabilitást bizonyítja. Teljes allélszekvencia hiányában ezen allélok jelölésére átmenetileg alfabetikus kódokat használtak S_A - S_S -ig. A Genetika és Növénytermesztés Tanszéken készült OTDK dolgozat keretében 17, gazdasági szempontból jelentős szilvafajta *S*-genotípusának részleges meghatározására került sor (KURILLA 2015).

Az európai szilva *S*-haplotípusok teljes génszekvenciájának hiánya miatt jelenleg semmilyen adat nem áll rendelkezésünkre az öntermékenyülés megjelenéséről. Ha az öntermékenyülés molekuláris háttere azonos a meggy esetében leírt mechanizmussal, vagyis minimum két

funkcióképtelen S-haplotípusra van szükség az öntermékenyülés kialakulásához, akkor a hexaploid *P. domestica* esetében csak három funkcióját vesztett haplotípus együttes jelenléte okozhat öntermékenyülő fenotípust (**12. ábra**) (ZOHARY 1992, ZOHARY és HOPF 2000). A poliploid fajok haplotípusaiban gyakrabban fordulhatnak elő mutációk, amivel megmagyarázható lehet az európai szilvafajtáinak többségére jellemző öntermékenyülés (NYÉKI és mts. 2012). Feltételezhető, hogy az öntermékenyülés genetikai háttere a meggyhez hasonlóan a funkcióképtelen S-haplotípusok genomon belüli felhalmozódásának köszönhető, jóllehet erre a mai napig nincs közvetlen bizonyíték.



12. ábra: A termékenyülési kapcsolatokat meghatározó gametofitikus inkompatibilitás feltételezett működése a hexaploid *Prunus domestica* esetében: ha a pollenszem egy vagy két mutáns allélt (a,b) hordoz, még nem okoz öntermékenyülést. Az öntermékenyülés csak akkor lehetséges, ha a pollen mindhárom allélja funkcióképtelen (a,b,c).

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A vizsgálat tárgyát képező növényanyag

A kísérletek során 17, gazdasági szempontból jelentős (többek között „Plum pox potyvirus”, PPV toleráns) európai szilvafajtát (*P. domestica* L.) valamint 38 tájfajtát vizsgáltunk, melyek nagy részét tartalmazza a 150/2004. (X. 12.) FVM rendelet 5. számú melléklete, ami a Kultúrtörténeti és genetikai szempontból kiemelkedő jelentőségű veszélyeztetett ritka szőlő- és gyümölcsfajták jegyzéke (**2. táblázat**). A szilva növényanyagok a Szent István Egyetem Gyümölcstermő Növények Tanszék Soroksári Kísérleti Üzem és Tangazdaság ültetvényéből és a NAIK Gyümölcsstermesztési Kutatóintézet Ceglédi Kutató Állomásáról származnak. Továbbá szeretnénk volna vizsgálataink értékét növelni azokkal a tájfajtákkal, amelyek az adott tájkozetre jellemzőek, illetve amelyek azonos névvel szerepelnek a különböző tájkozterekben. A vizsgált fajták részletesebb ismertetője megtalálható hátul a mellékletek jegyzékében (**M2-M3**).

2. táblázat: A vizsgálatba vont növények rendszertani besorolása, eredete, termékenyülési viszonyai, fajták állapota és a STRUCTURE analízis során kapott alcsoportok (ACS) szerinti rangsorolása (PRITCHARD és mts. 2000).

Fajta	Faj	Pedigré	Származási hely	Mintagyűjtés helye	Termékenyülés ^q	Fajta állapota/státusza ^z	ACS ^y (K=3)
Althann ringló	<i>Prunus italica</i>	Ismeretlen	Cseh Köztársaság	Soroksár	Önmeddő	H	1
Beregi datolya	<i>Prunus domestica</i>	Ismeretlen	Magyarország	Cegléd GB ^v	Részben öntermékeny	T	3
Besztercei 105-58	<i>P. domestica</i>	Besztercei klón	Magyarország	Cegléd GB ^v	Öntermékeny	H	2
Besztercei Bb.398	<i>P. domestica</i>	Besztercei klón	Magyarország	Cegléd GB ^v	Öntermékeny	H	2
Besztercei Bt. 2	<i>P. domestica</i>	Besztercei klón	Magyarország	Budatétény	Öntermékeny	H	2
Besztercei Nm.122.	<i>P. domestica</i>	Besztercei klón	Magyarország	Érd	Öntermékeny	H	2
Besztercei Nm.150.	<i>P. domestica</i>	Besztercei klón	Magyarország	Érd	Öntermékeny	H	2
Besztercei szilva	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Aggtelek	Öntermékeny	H	2
Bluefre	<i>P. domestica</i>	Stanley × President	USA	Soroksár	Részben öntermékeny	M	1
Bódi szilva 1.	<i>Prunus insititia</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Aggtelek	Öntermékeny	T	3
Bódi szilva 2.	<i>P. insititia</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Zádorfalva	Öntermékeny	T	3
Bühler Frühzwetschge	<i>P. domestica</i>	Ismeretlen	Németország	Cegléd GB ^v	Öntermékeny	H	2
C. 174 mirolalán	<i>Prunus cerasifera</i>	Eredeti megjelenés; KNP ^x	Magyarország	Cegléd Tgy ^v	Öntermékeny	A	1
C. 679 mirolalán	<i>P. cerasifera</i>	Eredeti megjelenés; KNP ^x	Magyarország	Cegléd Tgy ^v	Öntermékeny	A	1
Cacanska leptica ^w	<i>P. domestica</i>	Wangenheimer × Besztercei	Szerbia	Soroksár	Részben öntermékeny	M	1
Duránci	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Gömörszőlős	Részben öntermékeny	T	2
Durkó	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Gömörszőlős	Részben öntermékeny	T	2
Elein erő	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Gömörszőlős	Öntermékeny	T	3
Elena	<i>P. domestica</i>	Fellenger × Stanley	Németország	Soroksár	Öntermékeny	M	1

2. táblázat: (Folytatás).

Fajta	Faj	Pedigré	Származási hely	Mintagyűjtés helye	Termékenyülés ^q	Fajta állapota/státusza ^z	ACS ^y (K=3)
Empress	<i>P. domestica</i>	Ismeretlen	Olaszország	Soroksár	Önmeddő	M	1
Fehérszilva 1.	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Aggtelek	Öntermékeny	T	3
Fehérszilva 2.	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Aggtelek	Öntermékeny	T	3
Fehérszilva 3.	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Aggtelek	Öntermékeny	T	3
Fehérszilva 4.	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Zádorfalva	Öntermékeny	T	3
Francia narancsszilva	<i>P. domestica</i>	Ismeretlen	Franciaország	Cegléd GB ^v	Öntermékeny	H	3
Gömöri nyakas 1.	<i>P. domestica</i>	Ismeretlen; ANP ^x	Magyarország	Aggtelek	Részben öntermékeny	T	2
Gömöri nyakas 2.	<i>P. domestica</i>	Ismeretlen; ANP ^x	Szlovákia	Balog (Szlovákia)	Részben öntermékeny	T	2
Haganta	<i>P. domestica</i>	Cacanska najbolja × Valor	Németország	Soroksár	Részben öntermékeny	M	1
Hanita ^w	<i>P. domestica</i>	President × Auerbacher	Németország	Soroksár	Öntermékeny	M	1
Haroma	<i>P. domestica</i>	(Ortenauer × Stanley 34) × Hanita	Németország	Soroksár	Öntermékeny	M	1
Hollandi szilva C. 940	<i>P. italica</i>	Ismeretlen	Magyarország	Cegléd GB ^v	Öntermékeny	M	1
Jojo ^w	<i>P. domestica</i>	Ortenauer × Stanley	Németország	Soroksár	Öntermékeny	M	1
Katinka	<i>P. domestica</i>	Ortenauer × Ruth Gerstetter	Németország	Soroksár	Öntermékeny	M	1
Kecskeméti 101	<i>P. domestica</i>	Ismeretlen	Magyarország	Cegléd GB ^v	Öntermékeny	T	2
Kökényszilva CT 93	<i>P. insititia</i>	Eredeti megjelenés; KNP ^x	Magyarország	Cegléd Tgy ^v	Öntermékeny	A	3
Lengyel	<i>P. domestica</i>	Besztercei utód	Magyarország	Cegléd GB ^v	Öntermékeny	M	1
Lószemű szilva	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Gömörszőlős	Öntermékeny	T	1
Mirabelle de Nancy	<i>Prunus syriaca</i>	Ismeretlen	Franciaország	Cegléd GB ^v	Részben öntermékeny	H	1

2. táblázat: (Folytatás).

Fajta	Faj	Pedigré	Származási hely	Mintagyűjtés helye	Termékenyülés ^q	Fajta állapota/státusza ^z	ACS ^y (K=3)
Nemtudom P3	<i>P. insititia</i>	Eredeti megjelenés; SzB ^x	Magyarország	Újfehértó	Öntermékeny	T	3
Oka	<i>Prunus besseyi</i> × <i>Prunus salicina</i>	Ismeretlen	USA	Cegléd GB ^v	Önmeddő	M	1
Páczelt szilvája	<i>P. domestica</i>	Ismeretlen	Magyarország	Pölöske	Öntermékeny	T	2
Presenta	<i>P. domestica</i>	President × Ortenauer	Németország	Soroksár	Öntermékeny	M	1
President ^w	<i>P. domestica</i>	Ismeretlen	Nagy Britannia	Soroksár	Önmeddő	M	1
Sermina	<i>Prunus cocomilia</i>	Ismeretlen	Ismeretlen	Cegléd GB ^v	Önmeddő	M	1
Sivákló	<i>P. domestica</i>	ANP ^x	Magyarország	Gömörzőlős	Öntermékeny	T	3
Stanley ^w	<i>P. domestica</i>	Agen × Grand Duke	USA	Soroksár	Részben öntermékeny	M	1
Topend Plus	<i>P. domestica</i>	Cacanska najbolja × Valor	Németország	Soroksár	Öntermékeny	M	1
Topfive	<i>P. domestica</i>	Cacanska najbolja × Auerbacher	Németország	Sorosár	Részben öntermékeny	M	1
Tophit	<i>P. domestica</i>	Cacanska najbolja × President	Németország	Soroksár	Részben öntermékeny	M	1
Tuleu gras	<i>P. domestica</i>	Ismeretlen	Románia	Cegléd GB ^v	Hímsteril	H	2
Victoria	<i>P. domestica</i>	Ismeretlen	Nagy Britannia	Cegléd GB ^v	Öntermékeny	H	1
Vörös szilva 1.	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Aggtelek	Öntermékeny	T	3
Vörös szilva 2.	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Zádorfalva	Öntermékeny	T	3
Vörös szilva 3.	<i>P. domestica</i>	Eredeti megjelenés; ANP ^x	Magyarország	Zádorfalva	Öntermékeny	T	3
Zöld ringló	<i>P. italica</i>	Ismeretlen	Olaszország	Cegléd GB ^v	Önmeddő	H	3

^zFajta állapot: M = modern/gazdasági fajta; H = hagyományos/történelmi fajta (20. század előtt hoztak kereskedelmi forgalomba); T = Tájfajta; A = Alanyfajta.

^yACS: 1 (kék); 2 (piros); 3 (zöld).

^xANP = Aggteleki Nemzeti Park; KNP = Kiskunsági Nemzeti Park; SzB = Szatmár-Beregi Tájvédelmi Körzet.

^wNemzetközileg elismert fajta.

^vGB = Génbank; Tgy = Törzsgyümölcsös

^qTermékenyülés: HARSÁNYI 1979, SZABÓ 2001, SURÁNYI 2006a, KISSNÉ és MAROSI 2006, SURÁNYI 2014.

4.2. DNS-alapú vizsgálatok

4.2.1. DNS-kivonás

A mintavételezés során fiatal leveleket és rügyeket gyűjtöttünk, amelyeket -20°C-on fagyasztva tároltunk. A növények teljes genomi DNS-tartalmát az így tárolt mintáinkból a DNeasy Plant Mini Kittel vontuk ki (Qiagen, Hilden, Németország), a gyártó által megadott protokoll alapján. A DNS-kivonatok mennyiségi és minőségi paramétereit Nanodrop ND-1000 spektrofotométer (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA) készülékkel ellenőriztük. A DNS-kivonatokat szintén -20°C-on fagyasztva tároltuk.

4.2.2. SSR-vizsgálat

A mikroszatellit régiók felszaporításához 7 primerpárt használtunk, melyeket különböző *Prunus* fajok vizsgálatára terveztek (**4. táblázat**). A PCR-t 2720 (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA) típusú PCR készülékben végeztük a primerekhez közölt, eltérő protokollok alapján (**3. táblázat**). A PCR-reakcióhoz körülbelül 20-80 ng DNS-t használtunk 25 µl végtérfogatban. A 10 × DreamTaq Green puffer (Fermentas, Szeged) KCl-ot és (NH₄)₂SO₄-ot is tartalmazott a DreamTaq DNS-polimeráz enzim (Fermentas, Waltham, Massachusetts, USA) megfelelő működéséhez szükséges arányban. A PCR-reakcióelegy végső koncentrációja 4,5 mM MgCl₂; 0,2 mM dNTP; 0,2 µM az adott primerekből és 0,75 U DreamTaq DNS-polimeráz enzim volt.

A PCR sikerességét agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük. A PCR-termékeket 1%-os TBE agarózgélben választottuk szét (30 perc, 80 V) és etidium-bromidos festéssel, UV-fénnyel átvilágítva tettük láthatóvá, 1 kb+ DNS-markert (Promega, Mannheim, Németország) használtunk. A PCR-fragmentumok méretének meghatározása ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornia, USA) automata DNS-szekvenátorral történt, amihez az 5' végen fluoreszcensen jelölt forward primereket (6-FAM) használtunk. A kapott adatokat az ABI PeakScanner 1.0 programmal (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornia, USA) elemeztük.

3. táblázat: A PCR-reakció eltérő protokoll szerint zajlott (DIRLEWANGER és mts. 2002; MNEJJA és mts. 2004,2005 nyomán).

Lépés	Kezelés	Hőmérséklet	Időtartam	Ciklus
1.	Elődenaturálás	94°C	1 perc	1
2.	Denaturálás	94°C	30-45 másodperc	~30-35
	Primerek kötődése	Ta°C	30-45 másodperc	
	Polimerizálás	72°C	30mp-2 perc	
3.	Polimerizálás	72°C	4-5 perc	1

4. táblázat: A SSR-PCR során felhasznált primerek.

SSR-lókusz	Szekvencia (5' → 3')	Faj	Referencia	Méret-tartomány (bp)	Ismétlődő motívum	Primer-kötődési hőmérséklet (Ta °C)
BPPCT007	F: TCATTGCTCGTCATCAGC R: CAGATTTCTGAAGTTAGCGGTA	őszibarack	DIRLEWANGER és mts. (2002)	143-151	(AG) ₂₂ (CG) ₂ (AG) ₄	57
BPPCT025	F: TCCTGCGTAGAAGAAGGTAGC R: CGACATAAAGTCCAAATGGC	őszibarack	DIRLEWANGER és mts. (2002)	178-202	(GA) ₂₉	57
BPPCT037	F: CATGGAAGAGGATCAAGTGC R: CTTGAAGGTAGTGCCAAAGC	őszibarack	DIRLEWANGER és mts. (2002)	146-156	(GA) ₂₅	57
BPPCT039	F: ATTACGTACCCTAAAGCTTCTGC R: GATGTCATGAAGATTGGAGAGG	őszibarack	DIRLEWANGER és mts. (2002)	122-180	(GA) ₂₀	57
BPPCT040	F: ATGAGGACGTGTCTGAATGG R: AGCCAAACCCCTCTTATACG	őszibarack	DIRLEWANGER és mts. (2002)	132-148	(GA) ₁₄	57
CPSC021	F: GCCACTTCGGCTAAAAGAGA R: TCCATATCTCCTCCTGCTTGA	japán szilva	MNEJJA és mts. (2004)	125-151	(GA) ₁₅	46
CPDCT044	F: ACATGCCGGGTAATTAGCAA R: AAAATGCACGTTTCGTCTCC	mandula	MNEJJA és mts. (2005)	163-185	(GA) ₂₁	58

4.2.3. S-PCR-analízis

4.2.3.1. Az *S-RN-áz* és *F-box* gén PCR-vizsgálata

Az *S-RN-áz* gén második intronrégiójának amplifikációjához a PaConsII-F és a PaConsII-R konszenzus primerpárt használtuk (SONNEVELD és mts. 2003). Allél-specifikus reverse oldalú primereket is terveztünk néhány esetben: PdomAR-R, PdomB-R, PdomE-R, PdomH-R, PdTf-R, PdEm-R és PdHag-R (5. táblázat). A tervezett primerek forward oldali párjának a PaConsI-F primer bizonyult a legalkalmasabbnak. Az allélspecifikus primerek pontosan az adott allél DNS-szekvenciájára illeszkednek, ezért minden egyes *S*-allél esetében külön-külön PCR-reakciót indítottunk megfelelő primer-tapadási hőmérsékletekkel. Az *F-box* gén kódoló szakaszainak a felszaporításához konszenzus primer párt alkalmaztunk: 62F és 1010R (NUNES és mts. 2006).

A PCR-elegy mintánként 12,5 µl végtér-fogatban készült a 40-60 ng DNS, valamint 10 × DreamTaq Green puffer, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 0,4 mM az adott primerek és 0,625 U DreamTaq DNS-polimeráz (Fermentas, Waltham, Massachusetts, USA) felhasználásával. A PCR-reakció 2720 típusú PCR-készülékben (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA) ment végbe a primerekhez közölt protokoll alapján (6. táblázat). A PCR-t követően 1%-os TBE agaróz-gélelektroforézis segítségével választottuk el a fragmentumokat egymástól (50 perc, 130 V). Etidium-bromid és UV-fény segítségével tettük láthatóvá a DNS-t. Az 500 bp-nál nagyobb fragmentumok méretének megállapításához 1 kb+ DNS-markert (Promega, Mannheim, Németország) használtunk.

5. táblázat: S-PCR-analízis során alkalmazott primerpárok.

Primer	Primer szekvencia (5'→3') ^a	Faj	Referencia	T _a (°C)
PaConsII	F: GGCCAAGTAATTATTCAAACC R: CA(T/A)AACAAA(A/G)TACCACTTCATGTAAC	cseresznye	SONNEVELD és mts. (2003)	58
PaConsI-F	MCTTGTTCTTGSTTTYGCTTCTTC	cseresznye	SONNEVELD és mts. (2003)	54
PdomAR-R	CGTATATAAATGTACGTACAAC	európai szilva	Saját tervezésű	55,5
PdomB-R	GAAGTATGCTAAAGAGTAAGTG	európai szilva	Saját tervezésű	57
PdomE-R	ATATTATCTTCACATCACATGAC	európai szilva	Saját tervezésű	57
PdomH-R	TAAATTGAGAAAATGAGAGCTC	európai szilva	Saját tervezésű	58
PdTf-R	ACTCAAGAGCATGAACTAAATG	európai szilva	Saját tervezésű	59
PdEm-R	GTCATATAATTAGATGAGCAGATCC	európai szilva	Saját tervezésű	59
PdHag-R	CAACTTGCACTCCATTTTCA	európai szilva	Saját tervezésű	59
62F	ATTACGARWCCAAGCAAG	kökény	NUNES és mts. (2006)	55
1010R	ATCTCTTRTTCGRTTTCT	kökény	NUNES és mts. (2006)	55

^aM=A+C, S=C+G, Y=C+T**6. táblázat:** A PCR-reakció körülményei az *S-RN-áz* gén vizsgálata során (ORTEGA és mts. 2006 nyomán).

Lépés	Kezelés	Hőmérséklet	Időtartam	Ciklus
1.	Elődenaturálás	94°C	2 perc	1
2.	Denaturálás	94°C	1 perc	~ 30-35
	Primerek kötődése	T _a °C	2 perc	
	Polimerizálás	68°C	4 perc	
3.	Polimerizálás	68°C	10 perc	1

4.2.4. DNS tisztítása agaróz gélből

Néhány fragmentumot nem közvetlenül az *S-RN-áz* második intronrégió alapján kapott PCR-termékekből klónoztunk, hanem a PCR-termékek agaróz gélelektrofóris utáni 1%-os TAE agaróz gélből történő DNS-tisztítását követően. A DNS-fragmentumokat az agaróz gélből egy automata 1000 µl-es pipettára erősített steril fragmentet izoláló fejegység segítségével vágtuk ki. A kivágott gélt az EZ-10 Spin Column DNA Gel Extraction Kit (Bio Labc Canada Inc.) csomagban megadott EZ-10 Spin Column DNA Gel Extraction Kit protokoll alapján tisztítottuk meg. Az így kapott DNS-t vittük tovább a klónozás első lépésébe, a ligálás folyamatába.

4.2.5. PCR-termékek klónozása

4.2.5.1. Ligálás

A ligálás, a kiválasztott 20-50 ng PCR-termékekkel 4°C-on egy éjszakán keresztül a pTZ57R/T Easy Vector System (Fermentas) vektor, 5x ligáló puffer, 3 U T4 DNS-ligáz és MilliQ víz felhasználásával, 14,5 µl végtérfogóban történt.

4.2.5.2. Transzformálás

A ligációs termékekből 7 µl-nyi mennyiséggel JM109 kompetens sejteket transzformáltunk úgy, hogy a ligációs terméket tartalmazó csövek lecentrifugálását követően jégen tartva óvatosan hozzáadtunk 50 µl kompetens sejtet. A csöveket elegyítettük, majd 20 percre jégre helyeztük. Ezt követően a hősokk kialakulása érdekében 45-50 másodpercig tettük 42°C-os vízfürdőbe, majd rögtön jégre 2 percig. Hozzáadtunk 950 µl LB folyékony, ampicillinmentes táptalajt, majd legalább 30 percig inkubáltuk 37°C-on 150 rpm fordulatszámmal rázatva.

4.2.5.3. Szélesztés

A transzformált sejt kultúrákból 50 és 100 µl-nyi szuszpenziót szélesztettünk LB/ampicillin/IPTG/X-gal szilárd táptalajon: 10 g/l Bacto-tripton, 5 g/l Bacto-élesztőkivonat, 10 g/l NaCl, 7 g/l agar, 100 µg/ml ampicillin pH=7. A plate felszínén 100 µl 100mM IPTG-t és 50 µl 50 mg/ml X-galt oszlattunk szét. Az így kapott „plate”-eket 37°C-on inkubáltuk fordított helyzetben egy éjszakán át.

4.2.5.4. Kék-fehér szelekció, kolónia PCR

A klónozás sikerességét a petri csészék szilárd táptalaján megjelenő kék és fehér telepek mutatták, melyek közül a fehér színűek tartalmazták az inszertet, így azokat egy 10 µl-es pipettahegy segítségével egyenként eltávolítottunk, mintánként legalább 10 db nagyobb méretű fehér telepet, majd hozzáadtuk a PCR-elegyhez. Ezt megelőzően azonban még hozzáértettük egy LB/ampicillin szilárd táptalajú ún. „masterplate”-hez. Az így elkészült „masterplate”-ket fordított helyzetben 37 °C-on inkubáltuk egy éjszakán keresztül. Egy 2 ml folyékony LB táptalajt és 50 mg/ml ampicillint tartalmazó üvegcsébe helyeztük a kolónia PCR alapján kiválasztott és a „masterplate”-ről fogpiszkálóval eltávolított telepeket. Az üvegcséket egyenként parafilm szalaggal jól lezárva egy éjszakán át 37 °C-on ráztuk 170 rpm fordulaton.

A kolónia PCR elegye a primert (M13) leszámítva megegyezik a második intronrégió PCR-elegyének összetételével. Az amplifikációt követően 1%-os TBE agaróz gélben választottuk szét a PCR-termékeket, majd a megfelelő méretű fragmentumokat jelöltük ki a DNS izolálására.

4.2.5.5. Plazmid DNS izolálás, szekvenálás, szekvenciaelemzés

A plazmid DNS-eket GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Thermo Fisher scientific, Vilnius, Litvánia) segítségével izoláltuk. A sikeres szekvenáláshoz szükséges 100 ng/µl koncentrációjú DNS-mennyiséget GeneQuant II RNA/DNA spektrofotométerrel ellenőriztük. Az izolált DNS-ek szekvenálása az ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornia, USA) automata DNS-szekvenátorral történt. A DNS szekvenciák homológia vizsgálatához az NCBI BLAST szoftverét (ALTSCHUL és mts. 1990), a szekvenciák illesztéséhez a BioEdit 7.2.0. (HALL 1999) és a filogenetikai analízishez a MEGA6 (TAMURA és mts. 2013) programot használtuk. A szomszéd-összevonó („neighbor joining”) módszerrel készített kladogram statisztikai ellenőrzéséhez „bootstrap”-analízist használtunk 1000 ismétléssel.

4.3. Statisztikai analízis

A fragmentumok méretének (genotipizálás) meghatározásához a Peak Scanner 1.0 szoftvert és a GS500 LIZ standard-ot (Applied Biosystems) alkalmaztuk. A hierarchikus klaszteranalízishez a fragmentumokat tartalmazó adatsort bináris formába alakítottuk át, ahol minden egyes fragmentum jelenlétét 1, míg hiányát 0 jelzi. A bináris adatokból a Jaccard-indexen alapuló genetikai távolság mátrix használatával dendrogramot szerkesztettünk, és 2000 ismétléssel „bootstrap”-analízist végeztünk a PAST 2.17c program (HAMMER és mts. 2001) segítségével. A főkomponens-analízist („Principal Component Analysis”, PCA) szintén a PAST szoftverrel hajtottuk végre. A vizsgálatba vont szilvafajták genetikai összetételének további analízisét a Markov Chain Monte Carlo (MCMC) becslésen alapuló Bayesian-klaszterezési megközelítést alkalmazó STRUCTURE 2.3.4. szoftver (PRITCHARD és mts. 2000) segítségével végeztük el. Meghatároztuk a vizsgált egyedek közötti genetikai csoportok számát. Az elemzett genotípusok különböző származására és a közöttük fennálló természetes hibridizáció jelenségére való tekintettel, az analízis során a „admixture ancestry” és a „correlated allele frequency” paramétereket használtuk. A lokuszonként kevesebb, mint hat allélváltozattal rendelkező egyedek esetében a hiányzó allélt hiányzó adatként (–9) jelöltük. K-értéket 1-től 10-ig állítottuk be, minden futást 15-szöri ismétlésben, 100 000-es „burn-in” periódussal, melyet 500 000-es MCMC ismétlés követett. A legideálisabb K-érték becslését EVANNO és mts. (2005) nyomán a STRUCTURE Harvester program segítségével végeztük el (EARL és VON HOLDT 2012). PolySat szoftver segítségével kimutattuk a kapott alcsoportok közötti genetikai differenciálódás mértékét (F_{st}) (CLARK és JASIENIUK 2011).

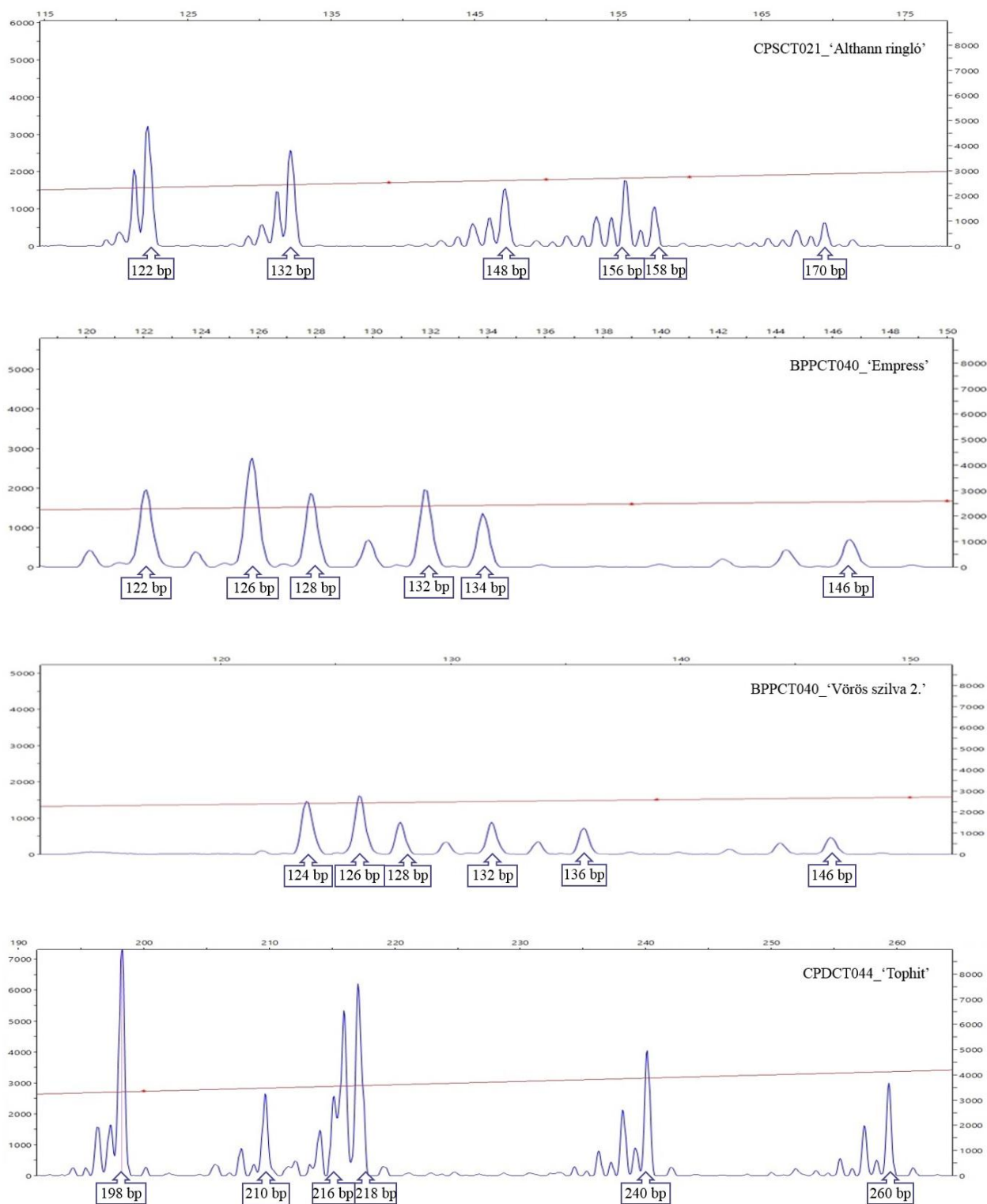
5. EREDMÉNYEK

5.1. Az európai szilva genotípusok genetikai jellemzése SSR-markerekkel

5.1.1. Az SSR-lókuszt polimorfizmusa

A vizsgálat során összesen 7 primerpárt alkalmaztunk (**4. táblázat**), melyeket már korábban különböző *Prunus* fajokra (*P. persica*, *P. dulcis* és *P. salicina*) terveztek és sikeresen alkalmaztak (DIRLEWANGER és mts. 2002, MNEJJA és mts. 2004, 2005). Megelőző kísérletekre alapozva, több *Prunus* fajnál is polimorfnak bizonyuló lókusztokat választottuk ki a vizsgálatainkhoz (GHARBI és mts. 2014), mind az 55 európai szilvafajta esetében.

Minden egyes lókuszt polimorfnak bizonyult. A lókusztokban valamennyi primerpár használatakor 6–27 allélt azonosítottunk. A genotípusoknál 1–6 allélt detektáltunk lókuszonként, így a 7 lókusztból 4-ben találtunk 6 allélt, és csak egy lókusztban volt ennél kevesebb allél kimutatható. Amennyiben genotípusonként kevesebb allél fordult elő, feltételeztük, hogy valamelyik allél vagy allélok több példányban vannak jelen, de hogy pontosan melyik, az az SSR-vizsgálattal nem azonosítható. A **13. ábrán** a fragmentumhossz-analízis során kapott néhány kromatogram látható, amelyek a vizsgált szilvafajták SSR-mintázatát ábrázolják és lehetővé teszik a pontos allélméretek megadását bázispárban (bp) meghatározva.



13. ábra: Az 'Althann ringló', 'Empress', 'Vörös szilva 2' és a 'Tophit' szilvafajták SSR-mintázatát bemutató kromatogramok a CPSCT021, BPPCT040 és CPDCT044 lókuszokban.

Összesen 135 allélt mutattunk ki minden értékelte lókuszból, ez azt jelenti, hogy az átlagos allélszám 19,3 lókuszonként (7. és 8. táblázat). A legtöbb és legkülönbözőbb allélok a CPSCT021-es és a CPDCT044-es lókuszokban azonosítottuk, ez esetben 26-27 allél volt detektálható, míg a legkisebb allélszámot a BPPCT037 lókuszból mutatta, ahol csupán 6 allél volt kimutatható. A BPTCT007 lókusznál 17 és BPPCT025 lókuszból 25 különböző allélt találtunk. A primerpáronkénti polimorf allélok átlagos értéke 14,57 allél, mely szerint a legtöbb polimorf alléllal rendelkező lókuszból a CPDCT044 (22 allél) és szorosan ezt követi a CPSCT021 lókuszból (18 allél), majd a BPPCT025 lókuszból (17 allél). A lókuszból polimorfizmus százalékos eloszlása 68% és 83% között alakult, átlagos értéke 76,74%-ra volt tehető (8. táblázat). A vizsgált 7 lókuszból adatait összegezve 100–268 bp között változott az allélok mérete. A legnagyobb mérettartománnyal a CPDCT044 lókuszból rendelkezett, itt az allélok mérete 162–268 bp között mozgott. A legkisebb mérettartomány a BPPCT037 lókuszból volt tapasztalható (100–130 bp). A 9. táblázat alapján elmondható, hogy az egyedi allélok jelenléte, eltérő mértékben ugyan, de kivétel nélkül, mind a 7 lókuszból tapasztalható volt. Egyedi allélnak neveztük azon allélokot a kísérleteink folyamán, amelyek csupán egy fajtacsoport egyedei, esetenként egy fajtacsoporton belül, egyetlen egyedben voltak fellelhetőek. Ugyanakkor nem minden allélt mondhatunk egyedinek, bizonyos allélok jelenléte vagy hiánya, 23 esetben a kimutatott 135 allélból, kettő vagy három fajtacsoportban is detektálható volt (9. táblázat).

Mivel az allélszám szinte mindegyik lókuszból jelentős volt, ennek következtében a vizsgált lókuszok polimorfizmusa lehetővé tette az összes fajta megkülönböztetését.

7. táblázat: A 7 lókuszban detektált allélok száma és mérete (bp).

LÓKUSZ	BPTCT007	BPPCT025	BPPCT037	BPPCT039	BPPCT040	CPSCT021	CPDCT044
ALLÉL MÉRET	122	142	108	114	118	120	186
	124	150	110	122	120	122	198
	126	152	114	124	122	124	204
	128	154	116	126	124	126	206
	130	156	126	128	126	128	208
	132	158	130	130	128	130	210
	134	160		132	130	132	212
	136	162		134	132	134	214
	138	164		136	134	136	216
	140	166		138	136	138	218
	142	168		140	140	140	220
	144	170		142	142	142	222
	146	172		144	144	144	224
	148	174		146	146	146	228
	150	178		148	148	148	230
	152	180		150	152	150	232
	154	182		152		152	234
		184		156		154	236
		186				156	238
		190				158	240
		194				160	242
		206				164	244
		208				170	250
		210				172	252
		212				174	254
						176	260
							268
ALLÉL SZÁM	17	25	6	18	16	26	27

8. táblázat: A vizsgált fajtacsoportokban kimutatott lókuszonkénti allélszám és a lókuszonkénti egyedi allélok jelenléte.

Lókuszt	Méret-tartomány (bp)	Modern fajták (N=19)		Hagyományos fajták (N=13)		Tájfajták (N=20)		Alany fajták (N=3)		Összes vizsgált fajta (N=55)		
		Allélok száma	Egyedi allélok száma	Allélok száma	Egyedi allélok száma	Allélok száma	Egyedi allélok száma	Allélok száma	Egyedi allélok száma	Allélok száma (a)	Polimorf allélok száma (b)	Polimorfizmus % (b/a) × 100
BPTCT007	122/154	14	2	13	2	11	1	7	-	17	12	70,58
BPPCT025	150/212	18	5	10	2	11	1	7	-	25	17	68,00
BPPCT037	108/130	4	-	4	-	4	1	2	-	6	5	83,33
BPPCT039	114/156	13	2	9	1	11	-	6	-	18	15	83,33
BPPCT040	120/152	10	-	13	2	8	-	6	1	16	13	81,25
CPSTCT021	120/176	16	4	16	1	12	2	5	1	26	18	69,23
CPDCT044	198/268	21	3	18	1	17	1	7	-	27	22	81,48
Átlag	-	13,71	-	11,86	-	10,57	-	5,71	-	19,29	14,57	76,74

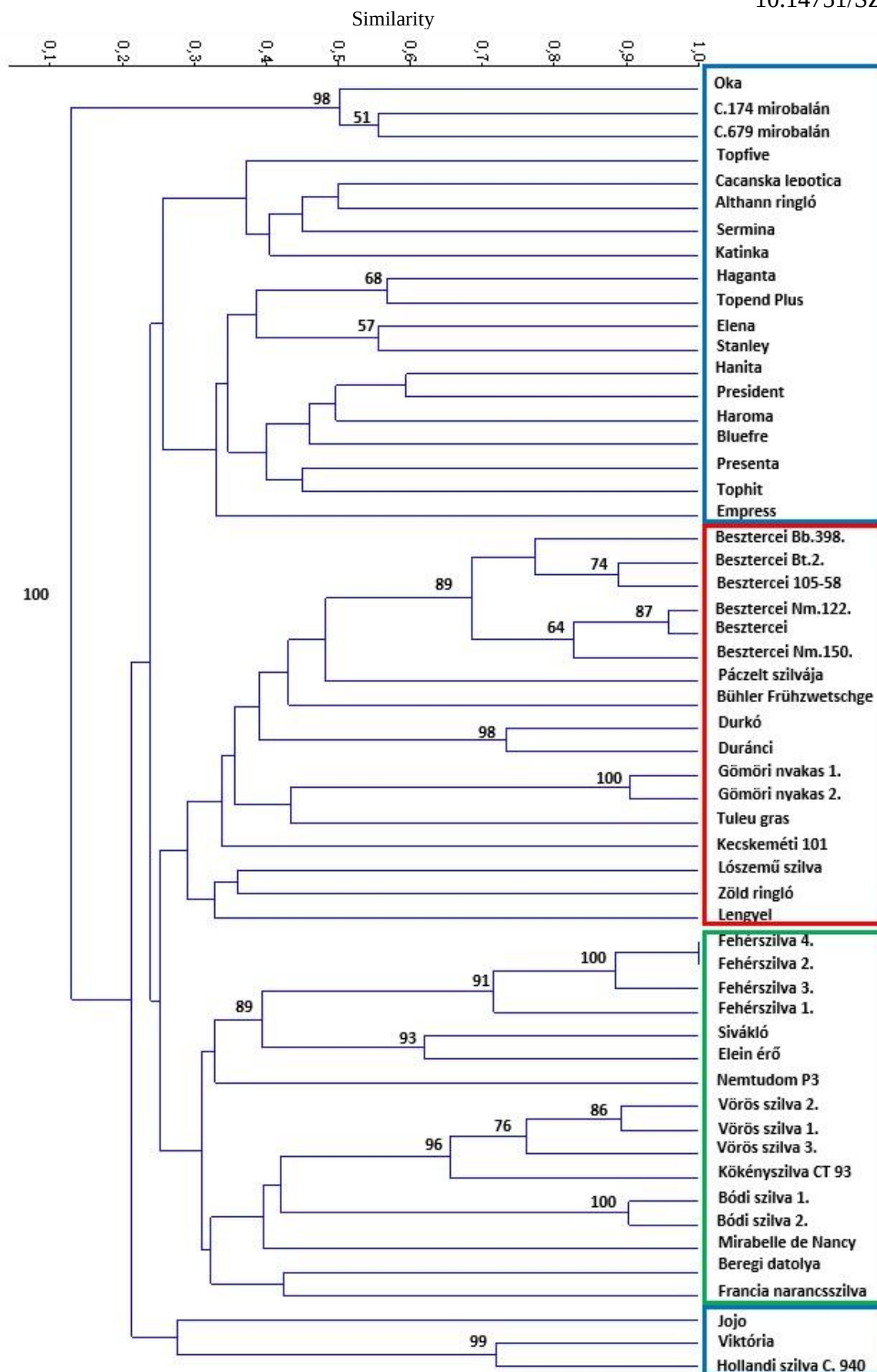
N= az adott csoporton belüli vizsgálatba vont egyedek mennyisége.

9. táblázat: Egyedi allélok előfordulása a fajtacsoportokban..

Lókuszt	Allél méret	Modern fajták	Hagyományos fajták	Tájfajták	Alanyfajták
BPTCT007	124	+	+	-	+
BPPCT025	168	+	+	-	-
	174	+	-	+	+
	178	+	+	-	-
	180	+	+	-	-
	182	+	+	-	-
	184	+	+	-	-
	194	+	-	-	+
BPPCT037	126	+	+	-	-
BPPCT039	114	+	-	-	+
	134	-	-	+	+
	138	+	+	-	+
	150	-	+	+	-
	152	-	+	+	-
BPPCT040	136	-	+	+	-
	152	+	+	-	-
CPSCT021	122	+	+	-	-
	138	-	+	+	+
	146	-	+	+	-
	158	+	+	-	-
CPDCT044	204	-	-	+	+
	206	+	-	-	+
	238	-	+	+	-

5.1.2. A vizsgált egyedek genetikai távolsága

Mivel a vizsgált növényanyag a Kárpát-medence különböző pontjáról származik, genetikai hátterük nagy valószínűséggel eltérő, különösen az idegentermékenyülők esetében. A 7 mikroszatellit markerrel kapott adatokkal klaszteranalízist végeztünk a PAST program Jaccard-indexen alapuló genetikai távolság mátrix használatának segítségével, melynek az eredményét dendrogram szemlélteti (**14. ábra**). A genetikai távolságok a fajták közötti rokonsági kapcsolatokat tükrözik. Az 55 szilvafajta jól láthatóan három különböző méretű csoportba rendeződött. Érdekességgént jelenik meg azonban, hogy a vizsgálatba vont fajták hét különböző szilvafajt képviselnek, különböző ploiditási szintekkel (*P. domestica*, *P. italica*, *P. insititia*, *P. cerasifera*, *P. syriaca*, *P. besseyi*, *P. salicina* és *P. cocomilia*), ugyanakkor az azonos fajhoz tartozó minták nem feltétlenül csoportosultak össze. A vegyes elrendeződés alól az egyetlen kivételt, az ‘Oka’ szilvafajta és a két mirobalán fajta alkotta csoport képviseli. További csoportot képeznek a nemzetközileg elismert és modern/gazdasági szilvafajták, míg a magyar hagyományos- és a tájfajták egyre inkább diverzifikálódnak távolabbi rokon egyedekhez képest (pl. ‘Besztercei’ klónok és ‘Beregi datolya’). A **2. táblázat** információt nyújt a ‘Bluefire’, ‘Stanley’, ‘President’, ‘Hanita’, ‘Haroma’ és ‘Presenta’ szilvafajták esetében a szülő-utód kapcsolatokról is. A pedigréjük alapján és az általunk kapott dendrogramon is (**14. ábra**), e fajták, igen szorosan, egymás közelében találhatók meg. A szilva tájfajták között az azonos névvel szereplő genotípusok közül csupán a ‘Fehérszilva 4’ és a ‘Fehérszilva 2’ mutatott 100%-os azonosságot. A többi esetben az azonos név alatt nem teljesen azonos genotípusokat találtunk. A vizsgált 7 lókuszt alapján is különbségek mutatkoztak a ‘Vörös szilva’, ‘Gömöri nyakas’ és ‘Bódi szilva’ néven különböző területekről begyűjtött genotípusok között.



14. ábra: A vizsgált európai szilva gazdaságilag jelentős, hagyományos- és tájfajták genetikai hasonlóságát ábrázoló, szomszédösszevonó (neighbor joining) algoritmussal készített dendrogram.

5.1.3. A vizsgált fajták STRUCTURE analízise

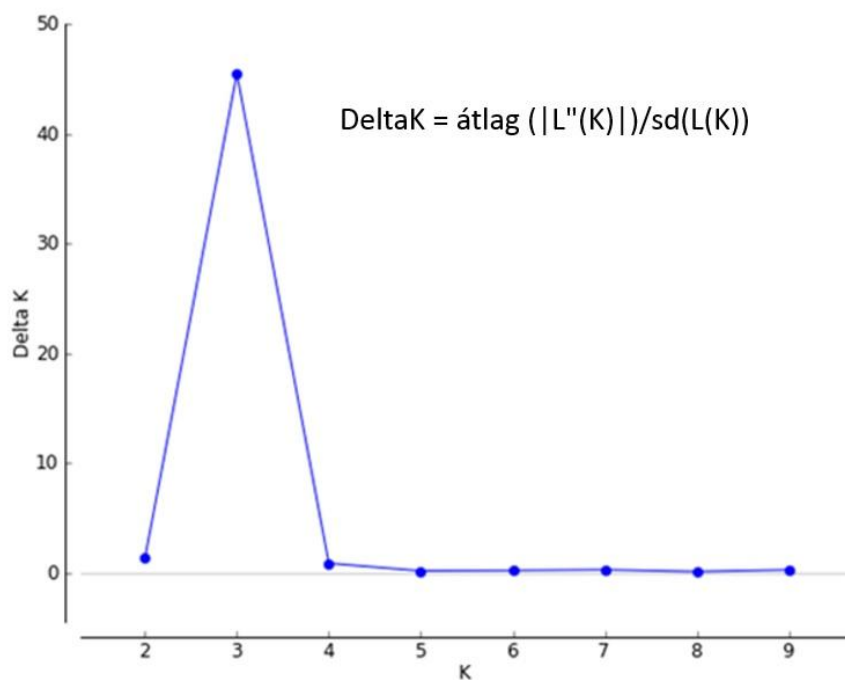
STRUCTURE analízis során meghatároztuk a vizsgált egyedek közötti genetikai csoportok számát. A K értéket 1 és 15 között állítottuk be, majd STRUCTURE Harvester segítségével az Evanno-módszert használva a legnagyobb valószínűség szerint három fő klaszterbe sorolhatók a minták ($K=3$) (**15. ábra**). A legnagyobb klaszternek, az első ($K1$, kék) bizonyult 25 genotípussal, amely magába foglalja mind a külföldi és modern, mind pedig a hagyományos poliploid fajtákat illetve két diploid *P. cerasifera* alanyfajtát is. A magyar tájfajták és a magyar hagyományos fajták két különböző csoportot alkotnak, melynek következtében a második klaszterben ($K2$, piros) 16, míg a harmadik klaszterben ($K3$, zöld) 14 magyar genotípus található. Figyelemre méltó, hogy a modern fajták közül egy sem került be ebbe az utóbbi két csoportba, ugyanakkor csupán két-két külföldi hagyományos fajta lelhető fel mind a $K2$ ('Tuleu gras' és 'Bühler Frühzwetschge') és mind a $K3$ klaszterekben ('Mirabelle de Nancy' és 'Francia narancsszilva') (**16. ábra** és **11. táblázat**). Az F_{st} érték az alcsoportok közötti genetikai differenciálódást mutatja meg. Értéke 0 és 1 között alakul. A mi esetünkben a legkisebb F_{st} értéket a piros csoportba tartozó fajták ($K2$, $F_{st} = 0,0234$) valamint a zöld csoport ($K3$, $F_{st} = 0,0294$) fajtái között volt megfigyelhető. A legnagyobb F_{st} értéket a kék csoport ($K1$, $F_{st} = 0,0431$) egyedei képviselték. A kapott F_{st} értékek világítanak rá leginkább a modern vagy külföldi és a hagyományos magyar szilvafajták közötti genetikai különbségekre (**10. táblázat**).

A molekuláris adatokra alapozva a Bayesian kluster analízis során kapott eredmények megerősítik a neighbour-joining dendrogram által azonosított csoportokat (**14. ábra**). Továbbá az így kapott 3 alcsoport egyedei között elvégeztük Jaccard koefficiensen alapuló hasonlósági mátrix elemzést is. A genetikai hasonlóság tartománya a $K1$ (kék) csoportba tartozó fajták között 0,05-től 0,72-ig terjed (átlagosan 0,40), a $K2$ (piros) csoportban 0,19 és 0,95 (átlagosan 0,60); illetve a $K3$ (zöld) csoportban 0,13 és 0,90 (átlagosan 0,50) közé volt tehető. Ezen értékek a vizsgált egyedek közötti viszonylag magas diverzitást számszerűsítve is bemutatják (**M4., M5. és M6. táblázat**).

10. táblázat: PolySat szoftver segítségével kimutatott alcsoportok közötti genetikai differenciálódás mértéke (F_{st}) (CLARK és JASIENIUK 2011).

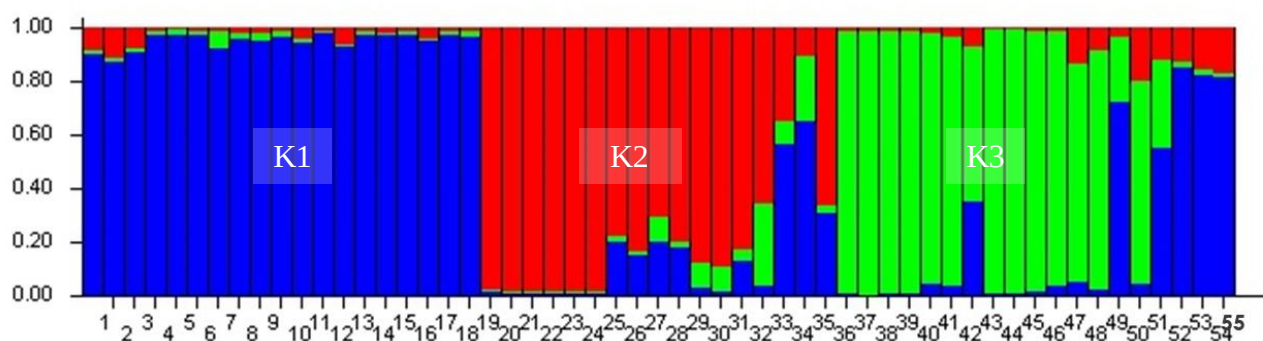
Klaszterek/ Alcsoportok	Kék	Piros	Zöld
Kék	0		
Piros	0,0294	0	
Zöld	0,0234	0,0431	0

F_{st} = 0 és 1 közötti érték.



$L(K)$ = A likelihood (valószínűség-eloszlás) változásának mértéke.

15. ábra: STRUCTURE HARVESTER program Evanno módszerével számított delta K értékeinek ábrázolása a legvalószínűbb csoportosítás meghatározására.



16. ábra: STRUCTURE szoftver segítségével kapott színes *bar plot*, mely a vizsgált egyedek közötti genetikai csoportokat mutatja különböző színekkel jelölve ($\Delta K=3$). Az egyes mintákat 1-55-ig jelölt vékony sávok szemléltetik, az általuk kódolt egyedek a **10. táblázat**ban vannak feltüntetve.

11. táblázat: A vizsgálatba vont fajták genetikai csoportok szerinti megoszlása.

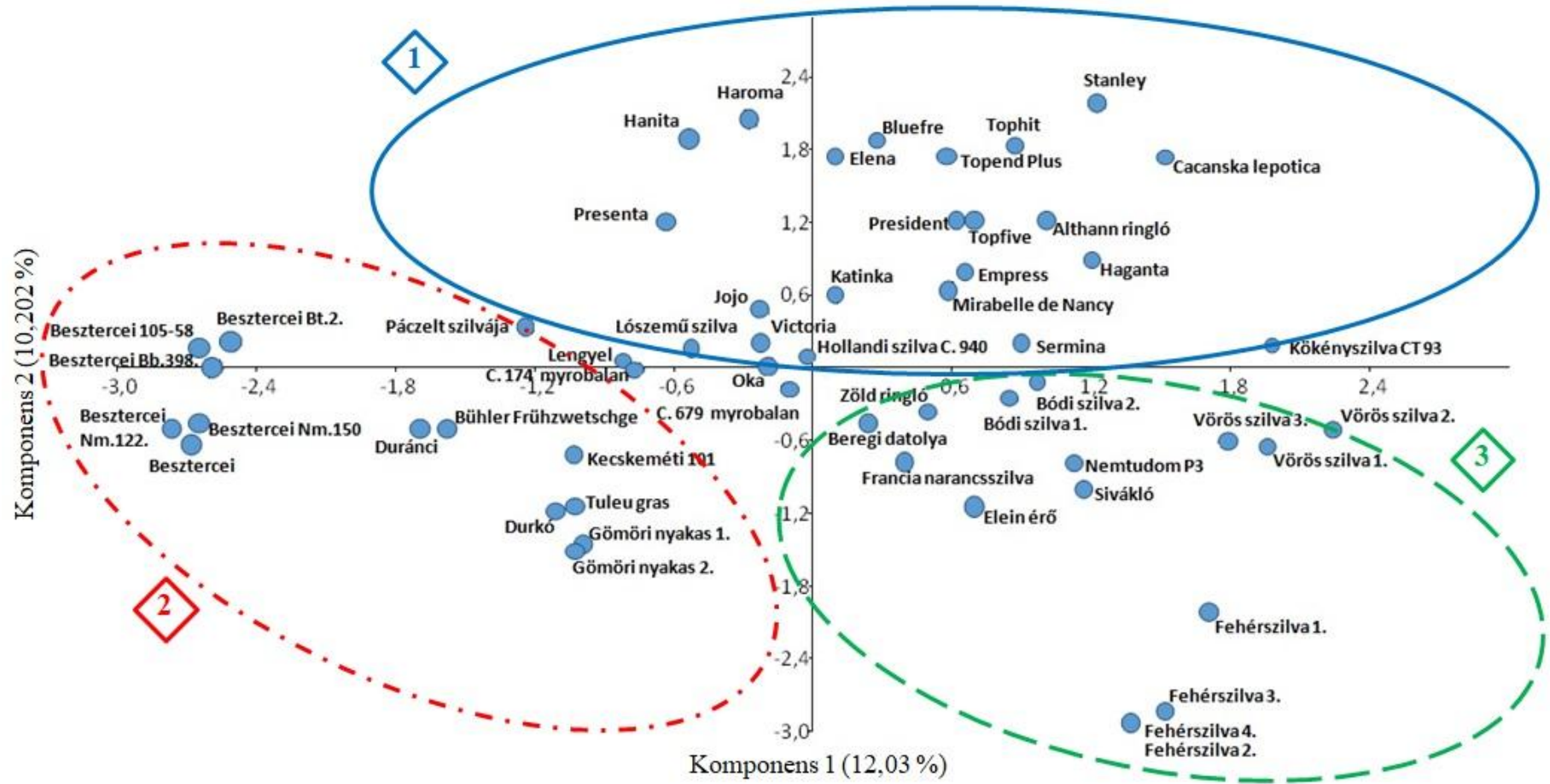
K1 (kék)	K2 (piros)	K3 (zöld)
Althann ringló (6)	Besztercei 105-58 (22)	Beregi datolya (51)
Bluefre (16)	Besztercei Bb.398. (20)	Bódi szilva 1. (48)
C.174 miobalán (2)	Besztercei Bt.2. (21)	Bódi szilva 2. (49)
C.679 miobalán (3)	Besztercei Nm.122. (23)	Elein érő (42)
Cacanska leptica (5)	Besztercei Nm.150. (25)	Fehérszilva 1. (40)
Elena (11)	Besztercei szilva (24)	Fehérszilva 2. (38)
Empress (19)	Bühler Frühzwetschge (27)	Fehérszilva 3. (39)
Haganta (9)	Duránci (29)	Fehérszilva 4. (37)
Hanita (13)	Durkó (28)	Kökényszilva CT93 (47)
Haroma (15)	Gömöri nyakas 1. (30)	Mirabelle de Nancy (50)
Hollandi szilva C.940 (55)	Gömöri nyakas 2. (31)	Nemtudom szilva P3 (43)
Jojo (53)	Kecskeméti 101 (33)	Sivákló (41)
Katinka (8)	Lengyel (36)	Vörös szilva 1. (45)
Lószemű szilva (34)	Páczelt szilvája (26)	Vörös szilva 2. (44)
Oka (1)	Tuleu gras (32)	Vörös szilva 2. (46)
Presenta (17)		Beregi datolya (51)
President (14)		
Sermina (7)		
Stanley (12)		
Topend Plus (10)		
Topfive (4)		
Tophit (18)		
Victoria (54)		
Zöld ringló (35)		

K: Klaszter, STRUCTURE analízis során kapott lehetséges csoportot jelöli.

5.1.4. A vizsgált szilvafajták főkomponens-analízise

A főkomponens-analízis (PCA) megerősítette a klaszteranalízis során nyert eredményeinket (17. ábra). Az első két főkomponens a teljes variabilitás 10,2% illetve 12,3%-át magyarázza meg, mindazonáltal együttesen a 22,23%-át fejezi ki a teljes variabilitásnak. A PCA vizsgálat rámutatott, hogy a ‘Besztercei’ szilvák szépen elkülönülő csoportja jelentős genetikai távolságban áll a többi szilva genotípustól. A második főkomponens koordinátája két csoportot különít el egymástól. Az első csoportba tartozó ‘Fehérszilva’ tájfajták teljesen külön kirajzoló csoportja is megtalálható.

A filogenetikai vizsgálat és a PCA analízis során kapott eredmények alapján megállapítható, hogy az európai szilva tájfajtákat jelentős mértékű genetikai variabilitás jellemzi. A magyar tájfajták egyértelműen kiváló nemesítési alapanyagot képeznek, mert a modern fajtákra jellemző nagymértékben leszűkült genetikai változékonyság felhasználásukkal növelhető. Több folyamatban lévő vizsgálat igazolta értékes vírus-ellenálló tulajdonságukat, így a jövőbeli keresztezéses nemesítési programokba bevonásuk indokolt. Igazoltuk továbbá, hogy a vizsgált egyedek mindegyike megkülönböztethető mindössze 7 SSR-markerrel, ami a megnövekedett ploidszintből következő nagyobb allélszámmal magyarázható. Ez a tény is kiemelt jelentőségű, hiszen a fajtaazonosság kérdése a gazdaságilag jelentős növények körében fontos tényező, a faiskolai fajtakeveredések, a fajtabejelentések során a DNS-alapú vizsgálatok nagyban megkönnyítik a kérdéses esetek tisztázását. A magyar tájfajták DNS-alapú azonosításának kidolgozásához szükséges egyedi SSR-ujjlenyomatokat meghatároztuk.



17. ábra: A *Prunus domestica*, *P. insititia*, *P. cerasifera*, *P. syriaca* és a *P. italica* egyedek genetikai távolságát bemutató PCA vizsgálat eredménye, a STRUCTURE program alapján kapott 3 fő klaszterrel feltüntetve.

5.2. Az S-genotípus meghatározása ILP-marker alapján

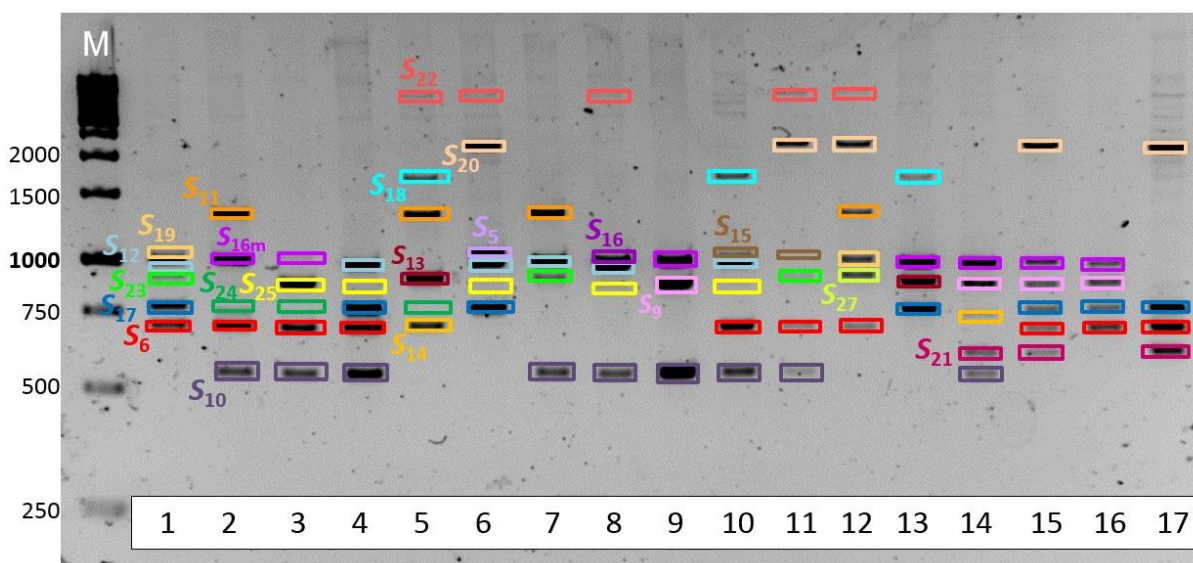
Az európai szilva bibéjében expresszáldó *S-ribonukleáz* kódoló gén alléljainak azonosítására PCR-alapú ILP („Intron Length Polymorphism”) markerezési módszert használtunk. Diploid fajták esetében az S-genotípusok meghatározásának alapját az adja, hogy a PCR-rel felszaporított két különböző méretű fragmentum megfeleltethető egy-egy S-allélnak. A hexaploid kromoszómakészlet miatt, a PCR során egyedenként egy-hat különböző méretű fragmentum várható. A kifejezetten szilvára tervezett allélspecifikus primerek hiányában, vizsgálatainkhoz a már különböző csonthéjasokra tervezett és sikeresen alkalmazott primerek előzetes tesztelésére volt szükség. Ennélfogva a következő primerpárok alkalmasságát vizsgáltuk: SUTHERLAND és mts. (2004a) által közölt EM-PC2consFD és EM-PC3consRD, a PaConsI-F és az EM-PC1consRD (SONNEVELD és mts. 2003, ORTEGA és mts. 2005), valamint a PaConsII-F és a PaconsII-R (SONNEVELD és mts. 2003). A PCR-vizsgálatok során nem minden esetben kaptunk genotípusonként a várakozásainkkal megegyező, különböző mérettel jellemezhető fragmentumokat. Ezen analízisünkre alapozva a legjobban működő, a *Prunus* fajok közül eredetileg a cseresznye (*P. avium* L.) *S-RN-áz* génjére tervezett primereket használtuk fel. SONNEVELD és mts. (2003) által közölt PaConsII-F és PaConsII-R primerpár az *S-RN-áz* gén C2 és C5 régiókhöz kötődik, így az RHV, valamint az ebbe ékelődő 2. intron, és a határoló exon régiók is amplifikálhatók. Az így kapott méretbeli különbségeket mutató allélok vizuális szemléltetésére agaróz-gélelektroforézist használtunk.

Az ILP-jelenségnek köszönhetően az összes gélen látható fragmentum mérete nagy variabilitást mutatva tág határokon belül, 550 és kb. 4000 bp között változott (**18. ábra**). Összesen 24 különböző méretű fragmentumot detektáltunk, növénymintánként legfeljebb 3-6 eltérő méretű fragmentum volt kimutatható. A **18.**, **19.** és **20. ábrák**on a különböző méretű S-allélokat más-más színnel jelöltük, ellenben az adott allél elnevezését egyszer tüntettük fel, ennek értelmében a további azonos színű kerettel jelzett fragmentum azonos S-allélt reprezentál. Hexaploid faj lévén a maximálisan várható hat fragmentumot 6 gazdasági szilvafajta esetében tudtuk kimutatni: ‘Empress’, ‘Haganta’, ‘Katinka’, ‘Presenta’, ‘President’ és ‘Tepend Plus’. Öt allél 17 fajta esetében volt detektálható: ‘Althann ringló’, ‘Bluefre’, ‘Cacanska leptica’, ‘Elena’, ‘Haroma’, ‘Stanley’, ‘Tophit’, ‘Bódi szilva’ (1, 2), ‘Nemtudom P3’, ‘Fehérszilva’ (1, 2, 3, 4), ‘Sivákló’, ‘Elein érő’ és az ‘Oka’. Négy allélt 12 fajta mutatott: ‘Hanita’, ‘Sermina’, ‘Topfive’, ‘Besztercei klónok’, ‘Durkó’, ‘Páczelt szilvája’, ‘Lószemű szilva’, ‘Kecskeméti 101’. Három fragmentum volt tapasztalható 9 fajta esetében: ‘Jojo’, ‘Gömöri nyakas’ (1,2), ‘Vörös szilva’ (1, 2, 3), ‘Lengyel’, ‘Kökényszilva CT 93’, ‘Mirabelle de Nancy’, valamint két allélt a

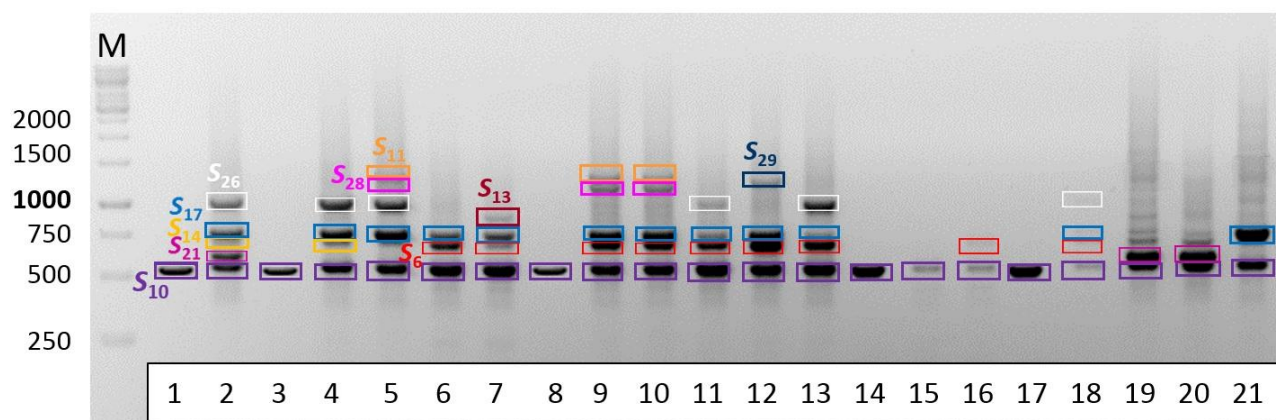
hagyományos fajták körét képviselő hímsteril ‘Tuleu gras’ és a ‘Beregi datolya’ tájfajtában detektáltunk.

Ugyanakkor néhány hagyományos- és tájfajta, úgy mint a ‘Duránci’, a ‘Büchler Fruchzweschege’ és a ‘Zöld ringló’ esetében megfigyelhető volt, hogy mindössze 1 fragmentum jelent meg az agarózgélben való futtatás során (**20. ábra**). A gazdasági szilvafajták tekintetében összesen 21 különböző méretű fragmentumot tudunk az agaróz-gélelektroforézis alapján elkülöníteni egymástól, míg a hagyományos- és a tájfajták esetében 11 eltérő S-allélt azonosítottunk, amelyből 3 S-allél (S_{26} , S_{28} , S_{29}) kizárólag a hagyományos- és tájfajták körében volt kimutatható (**19., 20. ábra**). Az összes azonosított S-allélnak (24 db) viszonylag szűk keresztmetszetét alkották azok az S-allélok, melyek minden vizsgált genotípusban (gazdaság/modern-, hagyományos- és tájfajta) fellelhetőek voltak: S_6 , S_{10} , S_{11} , S_{13} , S_{14} , S_{17} , S_{20} , S_{21} .

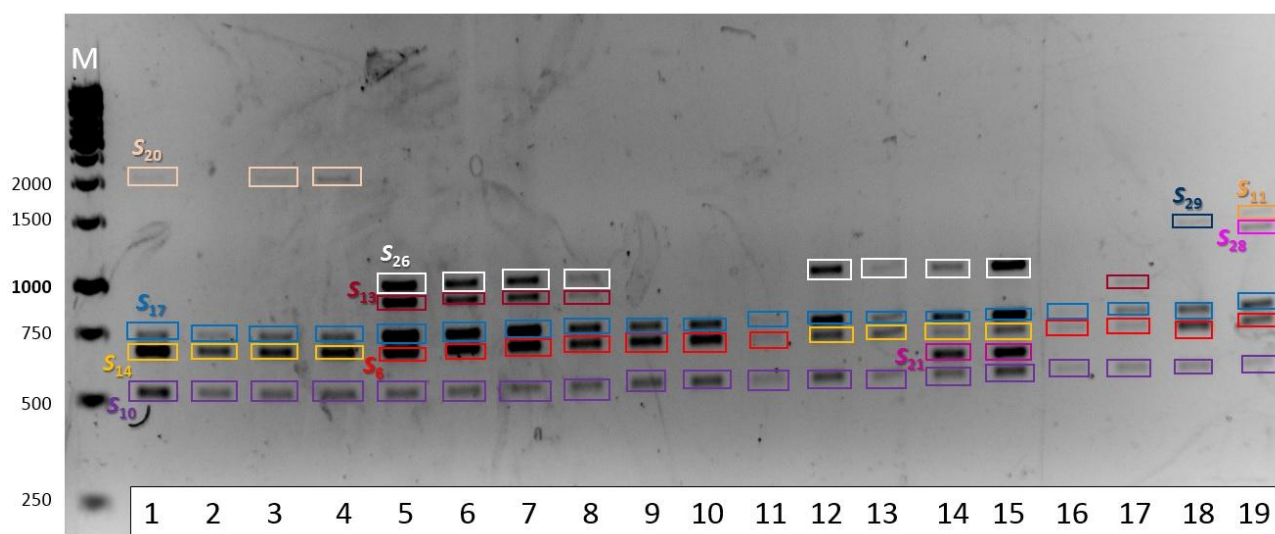
Amennyiben a vizsgált egyedek S-genotípusát csupán vizuális szemrevételezés alapján szeretnénk megállapítani, a gazdasági fajták mindegyike e tekintetben teljesen egyedi S-genotípussal jellemezhető (**18. ábra**), nem úgy mint a hagyományos- és tájfajták, ahol számos esetben tapasztalhatjuk, hogy a fajtanév ugyan más, de S-genotípusát tekintve teljesen azonos, mint a ‘Páczelt szilvája’, a ‘Kecskeméti 101’ és a ‘Victoria’ esetében (**19., 20. ábra**).



18. ábra: Az európai szilvafajták által hordozott S-allélok kimutatása a *Prunus S-RN-áz* gén második intronrégióját amplifikáló, konszenzus PCR primerekkel [PaConsII-F és PaConsII-R; SONNEVELD és mts. (2003)]. Az azonos színű kerettel jelölt fragmentumok azonos S-allélt jeleznek. **1.** ‘Althann ringló’, **2.** ‘Bluefre’, **3.** ‘Cacanska leptica’, **4.** ‘Elena’, **5.** ‘Empress’, **6.** ‘Haganta’, **7.** ‘Hanita’, **8.** ‘Haroma’, **9.** ‘Jojo’, **10.** ‘Katinka’, **11.** ‘Presenta’, **12.** ‘President’, **13.** ‘Sermina’, **14.** ‘Stanley’, **15.** ‘Topen Plus’, **16.** ‘Topfive’, **17.** ‘Tophit’;
Marker: GeneRuler 1kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

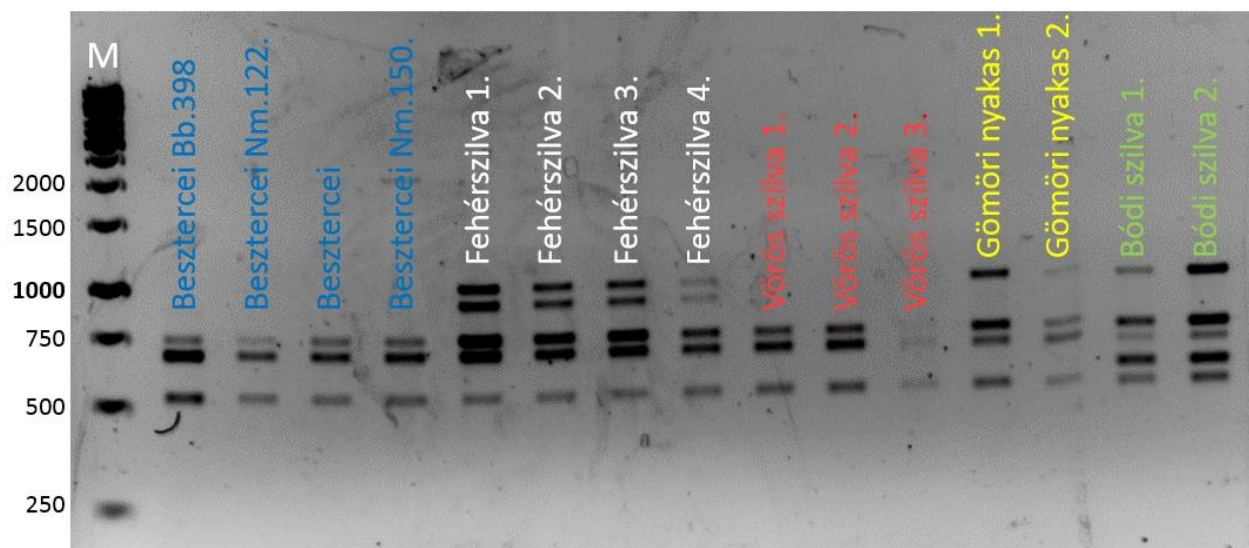


19. ábra: Szilva tájfajták *Prunus S-RN-áz* gén második intronrégióját amplifikáló, konszenzus primerekkel [PaConsII-F és PaConsII-R; SONNEVELD és mts. (2003)] végzett PCR-vizsgálatának eredményei. Az azonos színű kerettel jelölt fragmentumok azonos S-allélt jeleznek. 1. 'Besztercei', 2. 'Bódi szilva 1.', 3. 'Fehérszilva 1.', 4. 'Gömöri nyakas 1.', 5. 'Nemtudom P3', 6. 'Vörös szilva 1.', 7. 'Durkó', 8. 'Duránci', 9. 'Sivákló', 10. 'Elein érő', 11. 'Páczelt szilvája', 12. 'Lószemű szilva', 13. 'Kecskeméti 101', 14. 'Bühler Frühzwetsche', 15. 'Beregi datolya', 16. 'Tuleu gras', 17. 'Zöld ringló', 18. 'Victoria', 19. 'Oka', 20. 'C. 174 mirobalán', 21. 'C.679 mirobalán'; Marker: GeneRuler 1kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).



20. ábra: Szilva tájfajták *Prunus S-RN-áz* gén második intronrégióját amplifikáló, konszenzus primerekkel [PaConsII-F és PaConsII-R; SONNEVELD és mts. (2003)] végzett PCR-vizsgálatának eredményei. Az azonos színű kerettel jelölt fragmentumok azonos S-allélt jeleznek. 1. 'Besztercei Bb. 398', 2. 'Besztercei Nm.122.', 3. 'Besztercei', 4. 'Besztercei Nm.150.', 5. 'Fehérszilva 1.', 6. 'Fehérszilva 2.', 7. 'Fehérszilva 3.', 8. 'Fehérszilva 4.', 9. 'Vörös szilva 1.', 10. 'Vörös szilva 2.', 11. 'Vörös szilva 3.', 12. 'Gömöri nyakas 1.', 13. 'Gömöri nyakas 2.', 14. 'Bódi szilva 1.', 15. 'Bódi szilva 2.', 16. 'Páczelt szilvája', 17. 'Durkó', 18. 'Lószemű szilva', 19. 'Sivákló'; Marker: GeneRuler 1kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

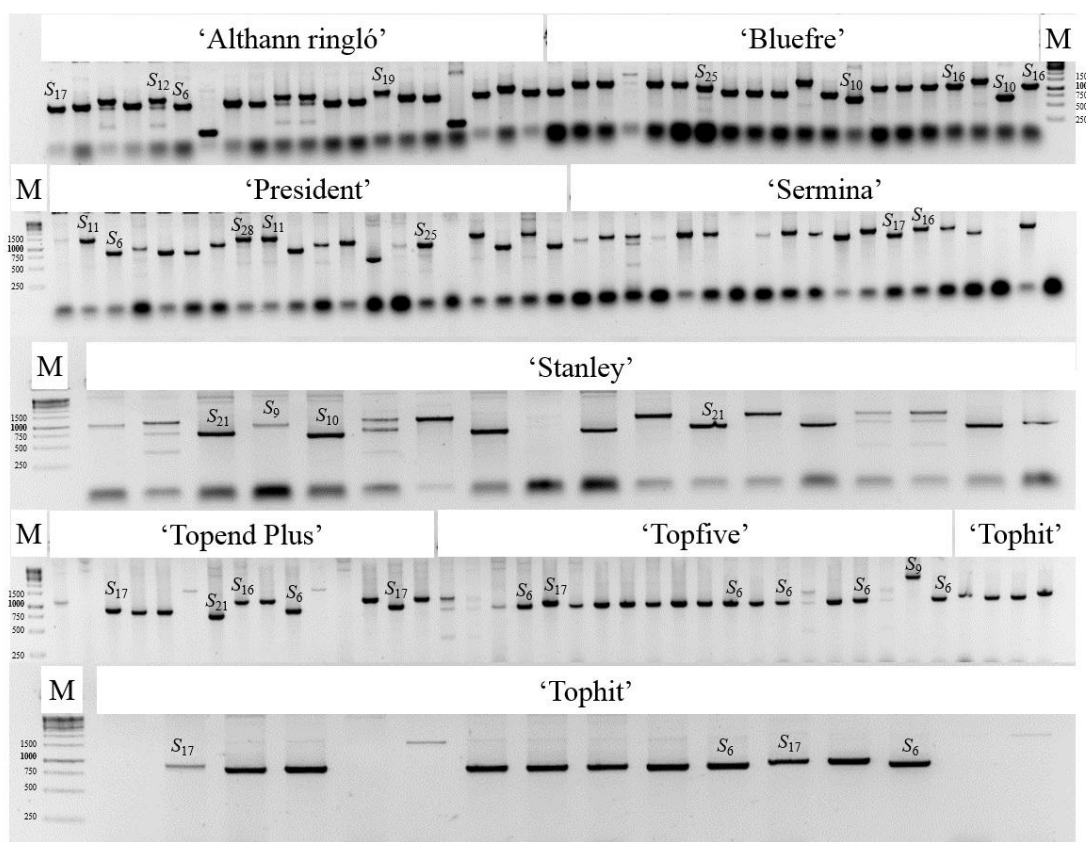
Gazdasági szilvafajtákkal ellentétben a hagyományos fajták, mint a Besztercei klónok, illetve a tájfajták körében az azonos név alá kerülő genotípusok: a különféle Fehérszilva, Vörös szilva, Gömöri nyakas és Bódi szilva fajták *S*-genotípusában, pusztán a gélképet tekintve nem észlelünk variabilitást, hiszen az azonos elnevezés alatt teljesen egységes mintázatot mutatnak (**21. ábra**).



21. ábra: Azonos elnevezés alá tartozó szilva tájfajták *S*-*RN-áz* gén második intronrégióját amplifikáló, konszenzus primerekkel [PaConsII-F és PaConsII-R; SONNEVELD és mts. (2003)] végzett PCR-vizsgálatának eredményei. **Marker:** GeneRuler 1kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

5.2.1. Az *S*-allélok azonosítása DNS-szekvencia alapján

Annak érdekében, hogy a megjelenített fragmentumok nukleotidszekvenciájáról bővebb információt nyerjünk, valamint bizonyíthassuk, hogy valóban *S*-*RN-áz* allélokról van szó, az így kapott 86 db PCR-fragmentumot klónoztuk. Ezt követően a klónozás sikerességét kolónia PCR-vizsgálattal M13 primerpár felhasználásával ellenőriztük, majd a pTZ57R/T klónozó vektorba épült fragmentumokat agaróz-gélelektroforézis segítségével láthatóvá tettük (**22. ábra**).



22. ábra: A PCR-termékek klónozásának ellenőrzése kolónia PCR-vizsgálattal, a pTZ57R/T klónozó vektorra tervezett M13 primerpár felhasználásával. Azokat a fragmentumokat jelöltük meg, amelyek szekvenciáját sikerült meghatározni. Marker: GeneRuler 1kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

Ugyanakkor nem minden méretű fragmentum integrálódik a plazmidba. Elsősorban a kisebb mérettel rendelkező fragmentumok épülnek be. Ennek okán a hiányzó fragmentumokat agaróz gélből izoláltuk. E módszer használatának köszönhetően további 27 DNS-szakasz szekvenciáját határoztuk meg több ismételtesben, ezáltal további 81 szekvencia adatból tudtunk dolgozni. Összességében 113 db, az *S-RN-áz* gén C2-C5 szakaszáról amplifikált PCR-fragmentumot klónoztunk, ezek 2-3-szori ismétlésével összesen 339 db szekvencia állt a rendelkezésünkre az eredményeink kiértékelése során. A fragmentumok 18 db különböző *S-RN-áz* allélt reprezentáltak 45 fajtában. Valamennyi szekvencián elvégeztük az NCBI GenBank adatbázisában a MegaBLAST algoritmus alapú homológiavizsgálatot (MORGULIS és mts. 2008): az analízis az összes esetben 0, vagy ahhoz közeli (<0,01) E-értékekkel („expect value”) kizárólag *Prunus S-RN-áz* allélszekvenciát adott eredményül, ami vitathatatlanul igazolja, hogy az általunk azonosított fragmentumok valóban *S-RN-áz* allélok. Ennélfogva az adatbázisban szereplő három *S-RN-áz* allélon (S_5 , S_6 és S_9) kívül 15 további, eddig nem publikált allélt találtunk, melynek méretét sikeresen meghatároztuk. A többi esetben a méretet a gélkép alapján

becsültük meg. Számokkal jelöltük a meghatározott és a becsült fragmentumokat S_{10} -tól S_{29} -ig, folytatva SUTHERLAND és mts. (2008) által korábban azonosított S -allélok (S_5 , S_6 és S_9) nomenklatúrája szerint (**18. ábra**), valamint a Genetika és Növénynevelés Tanszéken készült korábbi OTDK-dolgozat alapján. (KURILLA 2015). Az S_6 -os allél a gazdasági szilvafajták tekintetében megtalálható volt: ‘Althann ringló’, ‘Cacanska leptica’, ‘Elena’, ‘Katinka’, ‘Presenta’, ‘President’, ‘Topend Plus’, ‘Topfive’, ‘Tophit’, továbbá két tájfajtában volt lehetőségünk azonosítani, mégpedig a ‘Lószemű’ és a ‘Sivákló’ szilvafajtákban. Az S_9 -es allélt a ‘Jojo’, a ‘Stanley’ és a ‘Topfive’ fajtákban; míg az S_5 -ös allél egyedül a ‘Haganta’ szilvafajtában volt detektálható. Ezen allélok (S_9 és S_5) csupán a gazdasági szilvafajtákban voltak kimutathatók, szemben az S_6 -os alléllal, mely a tájfajták széles körében is azonosítható volt. A leggyakrabban előforduló allélnak az újonnan azonosított S_{10} -allél bizonyult, hiszen 55 genotípusból 47-ben, az S_{17} -allél 35 genotípusban volt jelen, ezzel a második leggyakoribb allélnak számít, míg a már ismert S_6 -allél 27, S_{14} és S_{26} 14 illetve 12 gyakorisági értékekkel volt jelen (**12. táblázat**).

12. táblázat: A PaConsII primerek alkalmazásával amplifikált PCR-fragmensek agarózgél-mintájából azonosított és becsült különböző allélok méretei (bp) és azok előfordulása a vizsgált 55 db genotípusban.

<i>S</i> -RN-áz allél	Méret (bp)	Előfordulás a vizsgált fajtákban
S_5	1052	1
S_6	708	27
S_9	892	4
S_{10}	557	47
S_{11}	1326	8
S_{12}	999	7
S_{13}	910	8
S_{14}	713	14
S_{15}	~1010	2
S_{16}	1019	1
S_{16m}	1012	7
S_{17}	782	35
S_{18}	~1658	3
S_{19}	1034	2
S_{20}	~2100	10
S_{21}	624	8
S_{22}	~4000	5
S_{23}	918	3
S_{24}	754	3

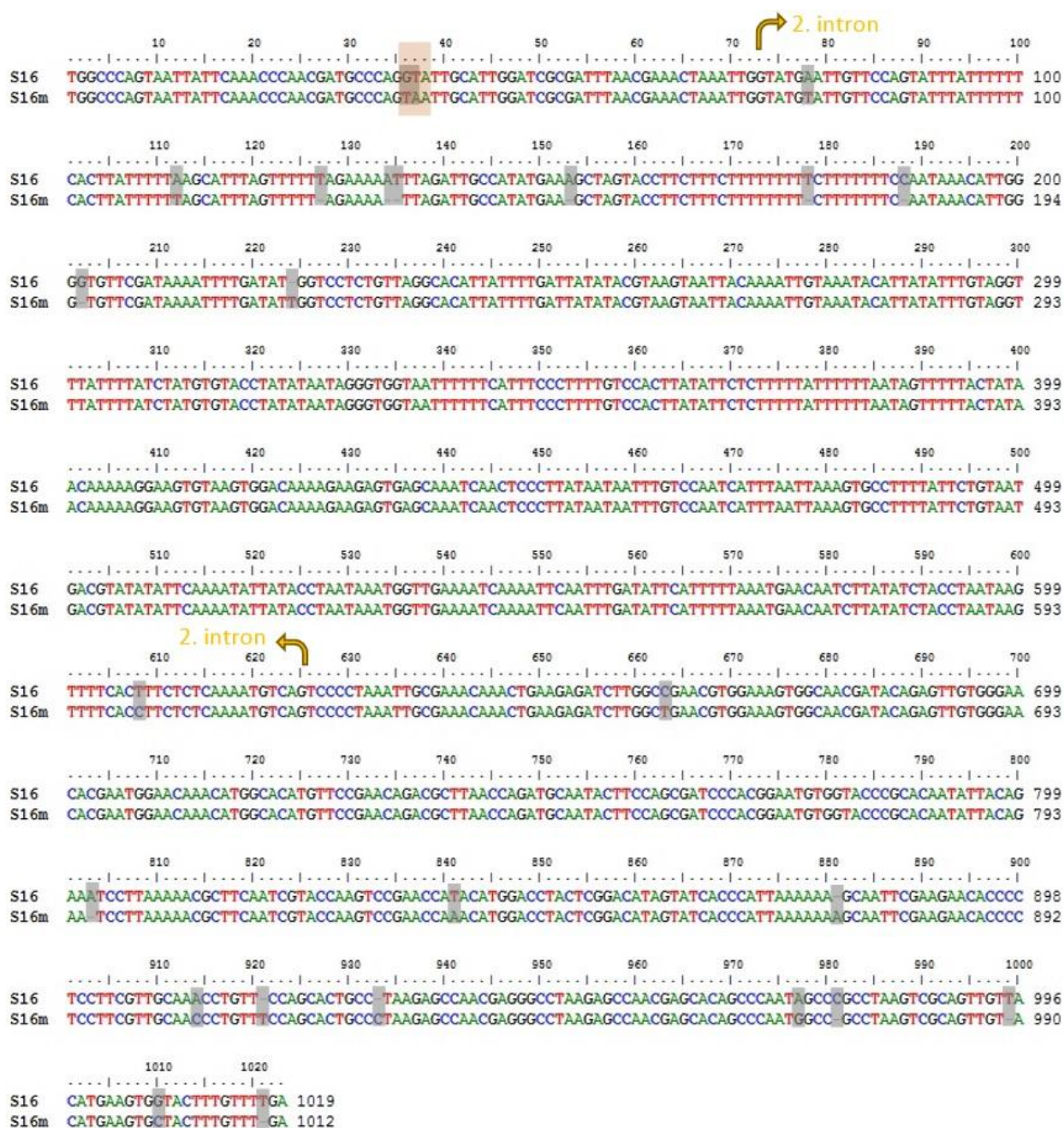
12. táblázat: (Folytatás).

<i>S-RN-áz</i> allél	Méret (bp)	Előfordulás a vizsgált fajtákban
S_{25}	877	5
S_{26}	1050	12
S_{27}	~899*	1
S_{28}	~1180	3
S_{29}	~1250	1

*becsült méret a kapott hasonlóság alapján

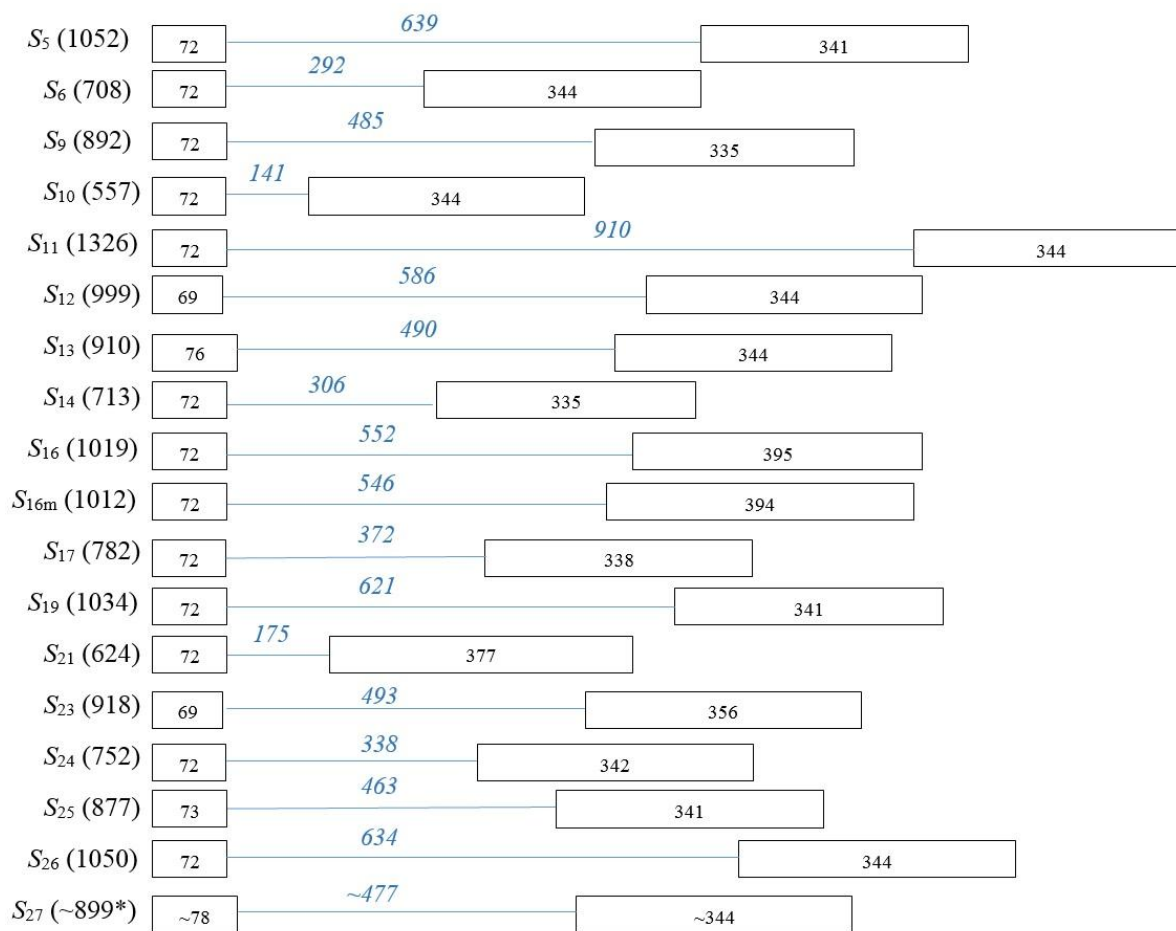
5.2.2. Funkcióvesztéssel járó mutációs események

A 18 db meghatározott szekvencia közül 2 db (1 pár: S_{16} – S_{16m}) nagymértékű hasonlóságot mutatott egymással. A szekvenciák összehasonlítása alapján feltételezhető, hogy a változás egy mutáció hatására történt, így ezen szekvenciapárokat azonos számmal láttuk el, azonban a párok egyikét, amelynél a mutációs esemény történt a számot követően következetesen „m” betűvel jelöltük meg, a cseresznyénél alkalmazott nevezéktan (SZIKRISZT és mts. 2013) szerint. Az S_{16m} -allélban bekövetkezett mutációk fehérjeszinten az allél funkcióképtelenségéhez vezethetnek, ugyanis a gén fehérjekódoló régiójában is történtek nukleotidszubsztitúcióval járó mutációk, melyek nonszensz mutációhoz vezettek. Az S_{16} -allél szekvenciájában bekövetkezett 2 nukleotidos szubsztitúció az intronrégiót megelőzően, ezáltal egy nonszensz mutációt okozva, melyben az S_{16} -ben megjelenő GTA-triplet az S_{16m} -ben TAA-ra, azaz stopkodonra változott (**23. ábra**).



5.2.3. Az újonnan azonosított szilva *S-RN-áz* allélok jellemzése

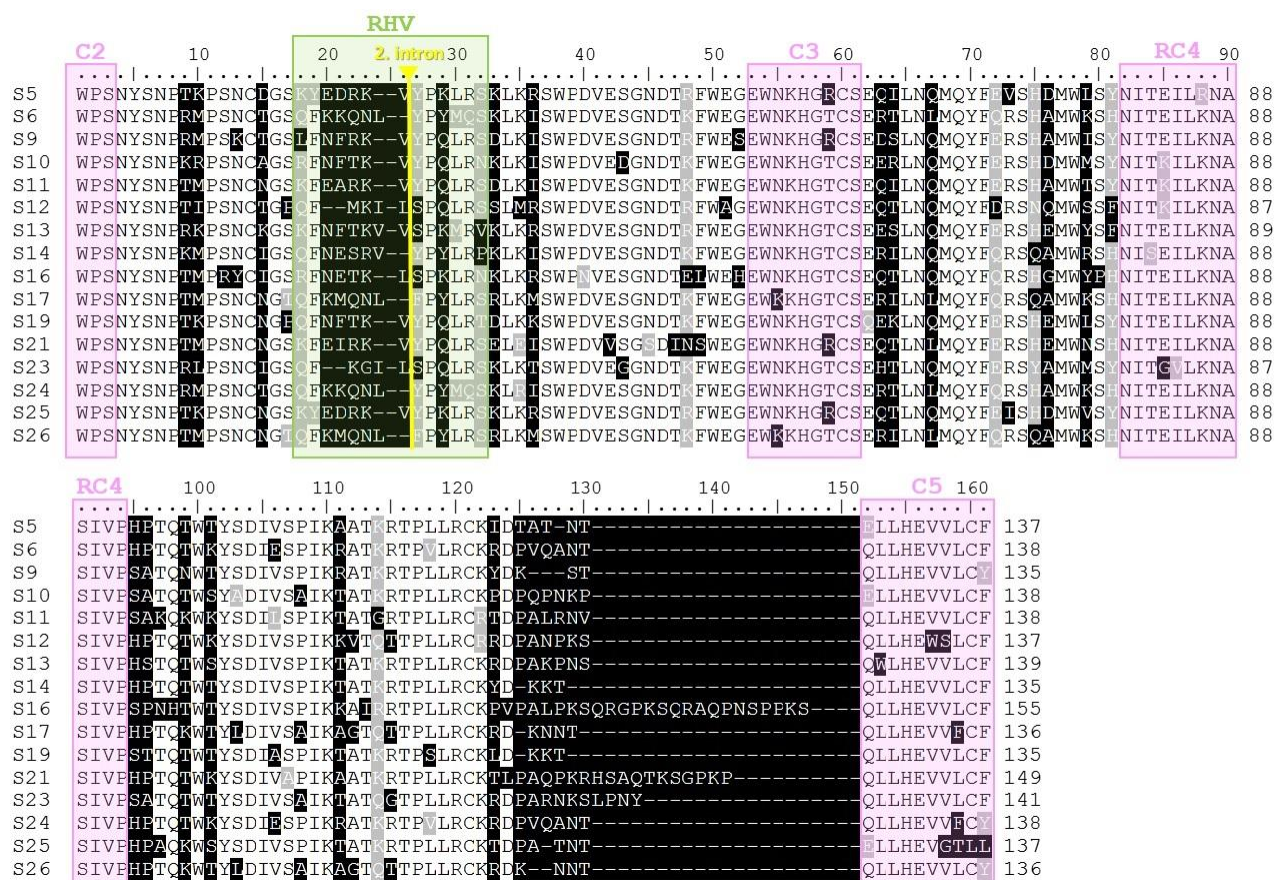
Az általunk azonosított *S-RN-áz* allélok részlegesen az alkalmazott PaConsII primerpár kötődési helyeiből adódóan, azonban a gén nagyobb részét mégis lefedik, méghozzá a C2 és C5 konzervatív régiók közötti, a 2. intronrégiót is magában foglaló szakaszán. Az egyes újonnan meghatározott részleges szilva *S-RN-áz* allélok egyedileg jellemző exon-intron szerkezetét a **24. ábra** szemlélteti. Az *S*-allélok C2 és C5 régiók közötti mérete 557 (S_{10}) és 1326 bp (S_{11}) között változott. A méretpolimorfizmust legnagyobb mértékben a 2. intron méretének eltérései okozzák; ennek megfelelően szintén az S_{10} allélban találtuk a legrövidebb (141 bp) és az S_{11} -ban a leghosszabb (910 bp) 2. intront. Fontos kiemelni, hogy az alkalmazott PCR-vizsgálatok eredményének agarózgélben való megjelenítését követően, több genotípusban is megfigyelhető volt négy, az azonosítottaknál nagyobb méretű fragmentum is; ezek becsült hossza ~1400, ~1700, ~2200 és ~4000 bp (**24. ábra**). Az ilyen méretű PCR-fragmentumok klónozása az általunk használt rendszerrel nem volt eredményes.



*becsült méret a kapott hasonlóság alapján

24. ábra: Az európai szilva korábban publikált (S₅, S₆, S₉) és általunk azonosított (S₁₀-S₂₇) *S*-ribonukleáz alléljainak szerkezete. A téglalapok az exonokat, míg a vonalak a 2. intronrégiót jelölik. A téglalapokban, illetve a vonal felett elhelyezett számok az adott régió-, míg a zárójelben lévő értékek a megszekvenált részleges (C2-C5) *S*-RN-áz szekvencia méretét mutatják (bp).

Az új részleges *S*-allélok nukleotidszekvenciájának megállapítását követően, azok következtetett aminosav-sorrendjét is meghatároztuk és a fehérjeszekvenciákat illesztettük (**25. ábra**). Az illesztéskor megjelöltük a korábban meghatározott (USHIJIMA és mts. 1998) C2-C5 konzervatív régiókat, a *Rosaceae*-specifikus hipervariábilis régiót (RHV), illetve a 2. intron kivágódásának helyét is. A részleges, C2 és C5 közötti régiókat tartalmazó *S*-RN-ázok hossza 135 és 155 aminosav között változott. A méretbeli eltérések nagy részét a C5 régiót megelőző szakaszon megjelenő indel polimorfizmus okozza.



25. ábra: Az újonnan azonosított és az ismert (S_5 , S_6 és S_9) szilva *S-RN-áz* allélok részleges következtetett aminosav-szekvenciájának illesztése. Az *S*-ribonukleáz enzim részleges C2, C3, RC4 és C5 konzervatív régiót rózsaszín, a *Rosaceae*-specifikus hipervariábilis régiót (RHV) pedig zöld háttér jelöli. A variábilis aminosavakat fekete keret, a 2. intron kivágódásának helyét sárga vonal jelzi. Az illesztésben szereplő szekvenciák adatbanki azonosítója: AM746946 (S_5), AM746947 (S_6) és AM746948 (S_9).

Az új szilva *S*-allélok egyediségének igazolására, elvégeztük a nukleotidszekvenciák, illetve a következtetett aminosavszekvenciák azonossági mátrix analízisét (**13. táblázat**). A kapott eredmények alapján az új allélok egymással való egyezése nukleotidszinten átlagosan 82,08%, fehérjeszinten 70,68% volt. A legnagyobb mértékű azonosságot nukleotidszinten az S_6 és S_{24} (97,5%) allélpárok mutatták, ami fehérjeszinten is látszott 97,1%-os értékkel. Fehérjeszinten kiemelkedő egyezéssel az S_6 és S_{14} (81,8%) illetve az S_5 és S_{25} (89%) allélpárok bírtak, ahogyan ez nukleotidszinten is egyaránt megnyilvánult: S_6 és S_{14} (88,7%); S_5 és S_{25} (94,9%). A legnagyobb mértékű eltérést nukleotidszinten az S_9 és S_{16} (71,3%), míg fehérjeszinten az S_{16} és S_{17} (59,6%) allélpárok között tapasztaltuk.

13. táblázat: Az újonnan azonosított *S-RN-áz* allélok exon szekvenciájának (az átlótól felfelé), illetve az *S-RN-áz* allélok következtetett aminosav-szekvenciájának (az átlótól lefelé) százalékos értékekkel kifejezett, hasonlósági mátrixa (BLOSUM62).

S-RN-áz exonrégiók DNS-szekvenciáinak azonossága (%)																
	S ₅	S ₆	S ₉	S ₁₀	S ₁₁	S ₁₂	S ₁₃	S ₁₄	S ₁₆	S ₁₇	S ₁₉	S ₂₁	S ₂₃	S ₂₄	S ₂₅	S ₂₆
S ₅	-	85,3	83,5	85,3	86,5	81,8	86,3	86,4	73,4	83,6	84,4	80,6	81,8	84,1	94,9	84,4
S ₆	74,6	-	84,3	83,1	86,0	83,7	87,1	88,7	75,5	88,4	83,1	80,6	83,4	97,5	86,3	85,6
S ₉	77,3	73,1	-	83,6	84,1	79,7	84,7	86,5	71,3	82,6	86,4	76,1	81,6	82,9	85,5	79,1
S ₁₀	72,7	69,9	72,7	-	84,6	80,6	84,7	83,1	72,8	80,5	85,0	76,6	82,0	81,9	85,8	79,8
S ₁₁	78,9	75,5	77,5	75,0	-	83,2	84,9	85,5	75,1	82,9	84,1	79,9	83,0	84,8	87,2	83,9
S ₁₂	68,7	69,5	63,8	66,1	69,7	-	85,2	81,6	71,7	80,6	80,7	75,8	80,2	82,5	82,6	80,7
S ₁₃	76,0	74,6	71,1	74,1	71,3	74,8	-	84,2	76,3	82,1	84,9	78,5	82,5	85,6	88,0	83,5
S ₁₄	77,5	81,8	75,3	75,1	76,2	69,0	75,0	-	74,5	87,3	86,7	77,7	82,5	87,2	85,7	85,3
S ₁₆	62,8	63,4	60,2	63,8	62,1	62,5	64,7	66,0	-	71,7	72,0	78,5	76,3	74,9	74,1	73,9
S ₁₇	71,7	80,4	66,6	66,1	71,9	69,2	67,3	79,4	59,6	-	83,4	76,8	80,2	87,7	82,9	82,2
S ₁₉	77,3	72,4	80,2	75,5	77,5	64,5	73,2	76,0	61,5	68,8	-	77,3	80,7	81,7	84,7	81,0
S ₂₁	72,4	70,4	67,1	66,6	73,1	64,6	66,2	69,1	63,5	64,4	66,4	-	79,1	79,0	80,8	76,8
S ₂₃	68,9	73,1	68,9	78,1	72,6	71,1	73,4	73,4	65,1	71,5	69,6	66,0	-	82,0	82,5	81,8
S ₂₄	71,7	97,1	72,9	67,1	72,6	67,3	72,5	78,9	60,8	78,9	70,2	68,4	70,3	-	85,3	85,3
S ₂₅	89,0	72,4	74,4	71,3	79,7	67,3	74,6	73,1	60,8	68,8	73,7	71,1	66,8	71,0	-	84,9
S ₂₆	73,7	73,7	67,3	69,0	71,1	74,6	78,4	78,4	64,5	71,4	71,6	67,3	71,1	71,6	70,9	-

S-RN-áz aminosav-szekvenciák azonossága (%)

5.2.4. Az új európai szilva *S-RN-áz* allélok filogenetikai elemzése

Az újonnan azonosított európai szilva bibéjében expresszáldó *S-ribonukleázok* más *Prunus* *S*-allélokkal való egyezésének mértéke igen értékes információval bővítheti az ismereteinket a szilva filogenetikai kapcsolatait és az *S-RN-áz* gén evolúcióját illetően. Ennek okán, az NCBI GenBank adatbázisában MegaBLAST algoritmus alapú homológiavizsgálatot (MORGULIS és mts. 2008) végeztünk, hogy a *P. domestica* *S*-allélok evolúciójáról valós képet kapjunk. A vizsgálat során minden esetben kizárólagosan más *Prunus* fajokban detektált *S-RN-áz* allélszekvenciákat kaptunk, mindezt a közös eredetük valószínűsége magyarázza (IGIC és KOHN 2001), amelyből kifolyólag az *S-RN-áz* enzimek egymásra jellemzően nagyobb mértékben hasonlítanak, mint más növényi vagy gombákban előforduló ribonukleázokra (USHIJIMA és mts. 1998). Ugyanakkor számos esetben tapasztalhatjuk, hogy egy fajon belül is egymás között az *S-RN-áz*okat magas polimorfizmus jellemzi, aminek következtében egyes, azonos nemzetségbe tartozó, de eltérő fajok *S*-allélszekvenciája nagyobb hasonlóságot mutathat, mint ugyanazon faj két különböző *S*-allélja. Az ilyen, különböző fajokban azonosított, csaknem azonos génszekvenciákat transzspecifikus-allélpároknak nevezzük; *S-RN-áz*ok esetében a jelenséget IOERGER és mts. (1990) írták le először.

Annak érdekében, hogy az újonnan meghatározott európai szilva *S-RN-áz*ok között azonosítsuk azokat a szekvenciákat, amelyek feltehetően transzspecifikusak, a MegaBLAST algoritmus alapú homológiaanalízis szekvenciaeredményei ismeretében a szilva *S-RN-áz*ok következtetett fehérjeszekvenciáját illesztettük a velük legnagyobb mértékben hasonló, egyéb *Prunus* fajokból származó *S*-allélok következtetett aminosav-szekvenciájával, ezt követően meghatároztuk a szekvenciaegyezés százalékos értékét (**14. táblázat**). A szilva *S-RN-áz* szekvenciák és az adatbázisból származó, velük homológiát mutató szekvenciák igen magas egyezést mutattak, mind a gazdasági (átlagosan nukleotidszinten: 96,8%; átlagosan fehérjeszinten: 93,2%), mind a tájfajtákat (átlagosan nukleotidszinten: 97,2%; átlagosan fehérjeszinten: 96,7%) illetően.

14. táblázat: A gazdasági szilvafajtákból (*P. domestica*) az újonnan azonosított *S*-*RN*-ázok hasonlósága a hozzájuk legközelebbi homológ szekvenciával/szekvenciákkal. A barckszíni háttér jelöli, ha az NCBI adatbázisból származó allélszekvencia feltehetően nem alkot transzspecifikus párt a hozzá hasonló szilva-alléllal. Három csillaggal (***) jelöltük, amennyiben az adatbázisból származó szekvencia rövidsége miatt, az illesztés jelentősen rövidebb szakaszon történt, mint az általunk azonosított szekvencia hossza: az *S*₁₀ – *P. salicina* *S*_n illesztés során a teljes C2 régió hiányában, *S*₂₃ – *P. spinosa* *S*₈ illesztés esetén a C2, C3 és a C5 régiók nélkül történt homológiavizsgálat.

Szilva <i>S</i> - <i>RN</i> -áz allélok	Szilvafajták	Legközelebbi homológ	Azonosság nukleotid-szinten (%)	Azonosság aminosav-szinten (%)	Eltérések*
<i>S</i> ₁₀	Bluefre Cacanska leptica Elena Hanita Haroma Jojo Katinka Presenta Stanley	<i>P. virginiana</i> <i>S</i> ₄ JQ627792.1	97	97,7	3 AS csere
		<i>P. webbii</i> <i>S</i> ₁ AAZ91359.1	97,5	97	4 AS csere
		<i>P. salicina</i> <i>S</i> _n *** BAC75461.1	98	98	2 AS csere
<i>S</i> ₁₁	Hanita President Lószemű szilva Sivákló	<i>P. salicina</i> <i>S</i> ₂₆ EU113266.1	99	100	1 AS csere az intronban
		<i>P. armeniaca</i> <i>S</i> ₂ AAT69245.1	98,2	97,8	2 AS csere
		<i>P. simonii</i> <i>S</i> ₂ ACG50929.1	97,9	97,8	3 AS csere
<i>S</i> ₁₂	Althann ringló Haroma Haganta	<i>P. salicina</i> <i>S</i> ₂₃ ABW88926.1	99	98,1	3 AS csere
		<i>P. pseudocerasus</i> <i>S</i> ₆ ABS84862.1	96	97	4 AS csere
<i>S</i> ₁₃	Empress Sermina	<i>P. salicina</i> <i>S</i> ₂₄ gb EU113264.1	99	-	5 nt csere; 1 nt inszerció az intronban; 72%-os lefedettség
		<i>P. virginiana</i> <i>S</i> ₁₁ AFJ20691.1	93	90	11 AS csere
<i>S</i> ₁₄	Empress Besztercei Nm.122 Besztercei Nm.105 Besztercei 105-58 Fehér szilva Gömöri nyakas 2. Sivákló Vörös szilva 1.	<i>P. spinosa</i> <i>S</i> ₃₋₁ ABG76209.1	99	98,5	2 AS csere
		<i>P. spinosa</i> <i>S</i> ₃₋₂ DQ677585.1	99	97,7	3 AS csere
		<i>P. mume</i> <i>S</i> ₁₁ ABV71999.1	98,5	98	3 AS csere
		<i>P. armeniaca</i> <i>S</i> ₁₇ ACD31530.1	98	98	3 AS csere
		<i>P. salicina</i> <i>S</i> ₂₅ EU113265.1	99	100	2 nt csere (65%-os lefedettség)
<i>S</i> ₁₆	Haroma	<i>P. pseudocerasus</i> <i>S</i> ₄ ACU25554.1	92	93	9 AS csere
<i>S</i> _{16m}	Bluefre Jojo Sermina Stanley Topend Plus	<i>P. pseudocerasus</i> <i>S</i> ₄ ACU25554.1	93	67	2 AS delécio, 2 AS inszerció, 48 AS csere RC4-ben főleg

14. táblázat: (Folytatás).

Szilva S-RN-áz allélok	Szilvafajták	Legközelebbi homológ	Azonosság nukleotid-szinten (%)	Azonosság aminosav-szinten (%)	Eltérések*
S ₁₇	Althann ringló Haroma Sermina Topen Plus Topfive Tophit	<i>P. avium</i> S ₂₃ AY259114.1	88,4	89,7	13 AS csere, 1 AS inszerció
		<i>P. armeniaca</i> S ₄₀ AEB96584.1	97,5	96,3	5 AS csere
		<i>P. humilis</i> S ₁₄ AWB51947.1	96,2	96,3	2 AS deléció, 3 AS csere
		<i>P. humilis</i> S ₁₀ AWB51943.1	98	96	2 AS deléció, 4 AS csere
S ₁₉	Althann ringló	<i>P. cerasus</i> S ₂₆ ABB40578.1	90	81	23 AS csere
S ₂₁	Stanley Topen Plus Tophit Bódi szilva 1.	<i>P. virginiana</i> S ₅ AFJ20685.1	94	95,9	5 AS csere
S ₂₃	Presenta Gömöri nyakas 2.	<i>P. spinosa</i> S ₈ *** DQ677587.1	98	98	3 AS csere
S ₂₄	Empress	<i>P. persica</i> S ₂ AB252417.1	96	97,1	3 AS csere
		<i>P. salicina</i> S _a BAF42764.1	98	98,5	2 AS csere
		<i>P. pesica</i> MC XP_007207578.1	98	97	4 AS csere
		<i>P. domestica</i> S ₆ CAN90137.1	98	98,5	2 AS csere
		<i>P. persica</i> S _{2m} BAJ24883.1	95,6	96,4	5 AS csere
		<i>P. mira</i> S ₂ BAK19918.1	96	97	4 AS csere
		<i>P. humilis</i> S ₁₃ AWB51946.1	97	97	2 AS deléció, 1 AS csere
		<i>P. avium</i> S ₃₀ ABB92552.1	96,8	98	2 AS csere
S ₂₆	Bódi szilva 1. Fehér szilva 1. Gömöri nyakas 2.	<i>P. speciosa</i> S ₀₆ AB289863.1	94	90	13 AS csere
S ₂₅	Bluefre Elena Katinka President	<i>P. avium</i> S ₁ BAA83479.1	99	99	1 AS csere
		<i>P. dulcis</i> S ₁₁ AAM22179.1	98	98	2 AS csere
		<i>P. tenella</i> S ₈ ABL86027.1	98	99	1 AS csere
		<i>P. humilis</i> S ₁₂ AWB51945.1	97,7	97	4 AS csere
S ₂₇	President**	<i>P. armeniaca</i> S ₂ gb AY587562.1	99	97,1	2 AS csere

*AS: aminosav, nt: nukleotid;

** S-RN-áz C3-C5 régió közötti rész.

Az újonnan meghatározott szilva S-RN-ázok közül kettő (S_{11} , S_{14}) esetében tapasztaltunk más *Prunus* fajokban, mindkét alkalommal a Kínában őshonos japán szilvában (*P. salicina*) azonosított S-allélokkal fehérjeszinten 100%-os azonosságot, nukleotidszinten is csaknem teljes egyezés volt kimutatható, így a szilva S_{11} -RN-áz a japán szilva S_{26} -alléllal; valamint az S_{14} a japán szilva S_{25} alléljával bizonyult azonosnak. Az S_{10} -, az S_{12} -, és az S_{24} -RN-áz is japán szilva S-allélokkal mutattak nagymértékű egyezést (98–98,5%), az eltérés 2-3 aminosav-különbségben nyilvánult meg. A szilva S_{14} -RN-áz még további két kökény (*P. spinosa*) alléllal, a Távol-Keleten elterjedt egy japán kajsi (*P. mume*) alléllal és egy kajsi (*P. armeniaca*) alléllal is hasonlóságot mutatott, az egyezés mind a négy esetben igen meggyőzőnek, transzspecifikusnak volt tekinthető (S_{14} – *P. spinosa* S_{3-1} , S_{3-2} : 97,7–98,5%; S_{14} – *P. mume* S_{11} : 96%; S_{14} – *P. armeniaca* S_{17} : 98%). Három szilva S-RN-áz allél (S_{11} , S_{17} , S_{28}) mutatott nagymértékű azonosságot kajsziban azonosított allélokkal (96–98%). Kökényben azonosított alléllal mutatott nagyfokú egyezőséget az S_{23} -as allél (97%) is, ámbar az S_{23} – *P. spinosa* S_8 illesztés esetében a C2, C3 és a C5 régiók nélkül történt homológiavizsgálat. Négy különböző szilva allél, változó mértékű hasonlóságot mutatott, a Kínában őshonos *P. humilis* (mandzsúriai törpe meggy) egy alléljával: a négy allél esetében (S_{17} , S_{24} , S_{25}), melyek közül az S_{17} két mandzsúriai törpe meggy alléllal is azonosságot mutatott (96%). Ugyanakkor az S_{25} -RN-áz allél rendkívül nagyfokú azonossággal volt jellemezhető, mind egy cseresznye (*P. avium*), egy mandula (*P. dulcis*), valamint egy törpe mandula (*P. tenella*) alléllal való hasonlóság tekintetében (98–99%). Cseresznye allélok további két szilva (S_{17} , S_{24}) allélban voltak még fellelhetőek, az S_{17} -es allél esetében azonban a jelentős mértékű egyezés (89,6%) ellenére, viszonylag nagyobb eltérések mutatkoztak az aminosav-szekvenciában. Az Észak-Amerikában honos virginiai zelnice (*P. virginiana*) alléllal nagyfokú egyezést (97–98%) tapasztaltunk a szilvában általunk azonosított két S-allél (S_{10} , S_{21}) esetében, melyek közül az S_{10} -allél a *P. webbii* S_1 alléljával is ugyancsak jelentős hasonlósággal volt jellemezhető (97%). Három szilva allél (S_{12} , S_{16} , S_{16m}) változó mértékű azonosságot mutatott a *P. pseudocerasus*-ban azonosított allélokkal (67–98,2%), melyek közül az S_{16m} -allélban óriási eltérések voltak detektálhatóak. Az S_{24} -allél nem csupán a cseresznye és a mandzsúriai törpe meggy S-RN-ázzal mutatott magas hasonlóságot, hanem még további két őszibarackban (*P. persica*), egy szilva és egy a *P. mira*-ban azonosított alléllal is (97–98,5%). Az S_{19} -allél kizárólag egy meggy (*P. cerasus*) alléllal mutatott azonosságot (81%), az S_{26} -allél is a Japánban honos *P. speciosa* (osiami cseresznye) S_{06} alléljával mutatott nagyobb mértékű egyezést (85%), jelentősebb eltérések mellett (**14. táblázat**).

Mindennek a következtében, azonban felvetődik egy kérdés, hogy ez a nagyfokú egyezés, mely fehérjeszinten egyértelműen megnyilvánult, vajon nukleotidszinten is képes hasonló mértékben mutatkozni meg, különös tekintettel a rendkívül polimorf második intronrégióra. SUTHERLAND és

mts. (2008) által alkalmazott vizsgálataik mintájára végeztük el a feltehetően transzspecifikus allélpárok intronrégiójának az analízisét is, melynek során az S-RN-ázból következtetett aminosav-szekvenciákhoz hasonlóan a 2. intronok nukleotidszekvenciáját illesztettük a velük legnagyobb mértékű azonosságot mutató, egyéb *Prunus* fajokból származó S-RN-áz allélok 2. intronjának szekvenciájával. Ezt követően a szekvenciák százalékos egyezőségét is meghatároztuk (**15. táblázat**).

A kapott eredményeink alapján 15 transzspecifikus allélpár esetében azok intronrégiói között viszonylag kismértékű (39,8–63%) egyezést azonosítottunk, ugyanakkor a további transzspecifikus allélpárok intronrégiói, a következtetett aminosavjukhoz hasonlóan nagymértékű (69,4–99,6%) egyezőséget mutattak.

15. táblázat: Az általunk azonosított transzspecifikus szilva S-allélok és az NCBI adatbázisból származó *Prunus* S-RN-áz párjuk 2. intronrégiójának százalékban (%) kifejezett azonossága. A zöld háttér jelzi a kiugróan magas értékeket, melyek feltehetően az allélpárok viszonylag recens szétválásának lenyomatai.

S₁₀ - Pvir S₄ 61,1	S₁₀ - Pweb S₁ 48,2	S₁₀ - Psal S_n 52	S₁₁ - Psal S₂₆ 99,6	S₁₁ - Parm S₂ 66,8	S₁₁ - Psim S₂ 61,5	S₁₂ - Psal S₂₃ 99,6	S₁₂ - Ppse S₆ 76,3
S₁₄ - Pspin S₃₋₁ 99,6	S₁₄ - Pspin S₃₋₂ 99,6	S₁₄ - Pmum S₁₁ 40,5	S₁₄ - Parm S₁₇ 69,4	S₁₄ - Psal S₂₅ 99,6			
S₁₇ - Parm S₄₀ 41,6	S₁₇ - Phum S₁₄ 62,3	S₁₇ - Phum S₁₀ 63,7	S₂₁ - Pvir S₅ 85,8	S₂₃ - Pspin S₈ 98,1			
S₂₄ - Pper S₂ 87,6	S₂₄ - Psal S_a 82,5	S₂₄ - Pper MC 40,8	S₂₄ - Pdom S₆ 81,7	S₂₄ - Pper S_{2m} 93,5	S₂₄ - Pmir S₂ 93,2	S₂₄ - Phum S₁₃ 63	S₂₄ - Pavi S₃₀ 95,5
S₂₅ - Pavi S₁ 39,8	S₂₅ - Pten S₈ 46,1	S₂₅ - Phum S₁₂ 45,3	S₂₅ - Pdul S₁₁ 42,7				

Pvir = *P. virginiana*, *Pweb* = *P. webbii*, *Psal* = *P. salicina*, *Parm* = *P. armeniaca*, *Psim* = *P. simonii*, *Ppse* = *P. pseudocerasus*, *Pspin* = *P. spinosa*, *Pmum* = *P. mume*, *Phum* = *P. humilis*, *Pper* = *P. persica*, *Pdom* = *P. domestica*, *Pmir* = *P. mira*, *Pavi* = *P. avium*, *Pten* = *P. tenalla*, *Pdul* = *P. dulcis*

5.2.5. A vizsgált szilvafajták S-genotípusának meghatározása

Az ILP-markerezés során kapott mintázat alapján összesen 55 egyed S-genotípusát határoztuk meg, melyeket az egyedek eredetének és a termékenyülési képességének a feltüntetésével egy összefoglaló táblázatba gyűjtöttünk (**16. táblázat**). A vizsgált egyedek mindegyikét egyedi S-genotípus jellemez. Ámbár a tájfajták sok esetben a hasonló morfológiai bélyegek alapján azonos elnevezés alá kerültek, és mivel hosszú időn át magról is történt a szaporításuk, genetikailag nem egyöntetűek, de nagymértékben hasonlóak, ezt az S-genotípusuk vizsgálata során kapott eredményeink is megerősítik. A szilva tájfajták esetében eltekintve az azonos név alá tartozó fajtáktól mindössze két-két fajta S-genotípusa egyezett meg: a ‘Kecskeméti 101’ és a ‘Páczelt szilvája’ $S_6S_{10}S_{17}S_{26}$ allélösszetétellel, illetve a ‘Bódi szilvák’ (1, 2) és a ‘Lengyel’ szilva $S_{10}S_{14}S_{17}S_{21}S_{26}$ allélösszetétellel.

16. táblázat: A vizsgálatba vont európai szilvafajták eredete, termékenyülési típusa, valamint a meghatározott S-genotípusa.

	Szilvafajták	Faj	Termékenyülési képesség ¹	S-genotípus
Modern/Gazdasági szilvafajták	Althann ringló	<i>Prunus italica</i>	ÖM	$S_6S_{12}S_{17}S_{19}S_{23}$
	Bluefre	<i>P. domestica</i>	RÖT	$S_6S_{10}S_{11}S_{16m}S_{24}$
	Cacanska leptica	<i>P. domestica</i>	RÖT	$S_6S_{10}S_{16m}S_{24}S_{25}$
	Elena	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6S_{10}S_{12}S_{17}S_{25}$
	Empress	<i>P. domestica</i>	ÖM	$S_{11}S_{13}S_{14}S_{18}S_{22}S_{24}$
	Haganta	<i>P. domestica</i>	RÖT	$S_5S_{12}S_{17}S_{20}S_{22}S_{25}$
	Hanita	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_{10}S_{11}S_{12}S_{23}$
	Haroma	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_{10}S_{12}S_{16}S_{22}S_{25}$
	Hollandi szilva C. 940	<i>P. italica</i>	ÖT	$S_6S_{10}S_{17}S_{26}$
	Jojo	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_9S_{10}S_{16m}$
	Lengyel	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_{10}S_{14}S_{17}S_{21}S_{26}$
	Katinka	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6S_{10}S_{12}S_{15}S_{18}$
	Oka	<i>P. besseyi</i> × <i>P. salicina</i>	ÖM	$S_{10}S_{21}$
	Presenta	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6S_{10}S_{15}S_{20}S_{22}S_{23}$
	President	<i>P. domestica</i>	ÖM	$S_6S_{11}S_{19}S_{20}S_{22}S_{27}$
	Sermina	<i>P. cocomilia</i>	ÖM	$S_{13}S_{16m}S_{17}S_{18}$
	Stanley	<i>P. domestica</i>	RÖT	$S_9S_{10}S_{14}S_{16m}S_{21}$

16. táblázat: (Folytatás).

	Szilvafajták	Faj	Termékenyülési képesség ¹	S-genotípus
Gazdasági szilva-fajták	Topend Plus	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_9 S_{16m} S_{17} S_{20} S_{21}$
	Topfive	<i>P. domestica</i>	RÖT	$S_6 S_9 S_{16m} S_{17}$
	Tophit	<i>P. domestica</i>	RÖT	$S_6 S_{17} S_{20} S_{21}$
Szilva tájfajták	Beregi datolya	<i>P. domestica</i>	RÖT	S_{10}
	Bódi szilva 1.	<i>P. insititia</i>	ÖT	$S_{10} S_{14} S_{17} S_{21} S_{26}$
	Bódi szilva 2.	<i>P. insititia</i>	ÖT	$S_{10} S_{14} S_{17} S_{21} S_{26}$
	Duránci	<i>P. domestica</i>	RÖT	S_{10}
	Durkó	<i>P. domestica</i>	RÖT	$S_6 S_{10} S_{13} S_{17}$
	Elein érő	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{11} S_{17} S_{28}$
	Fehérszilva 1.	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{13} S_{17} S_{26}$
	Fehérszilva 2.	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{13} S_{17} S_{26}$
	Fehérszilva 3.	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{13} S_{17} S_{26}$
	Fehérszilva 4.	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{13} S_{17} S_{26}$
	Gömöri nyakas 1.	<i>P. domestica</i>	RÖT	$S_{10} S_{14} S_{17} S_{26}$
	Gömöri nyakas 2.	<i>P. domestica</i>	RÖT	$S_{10} S_{14} S_{17} S_{26}$
	Kecskeméti 101	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{17} S_{26}$
	Lószemű szilva	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{17} S_{29}$
	Nemtudom P3	<i>P. insititia</i>	ÖT	$S_{10} S_{11} S_{17} S_{26} S_{28}$
	Páczelt szilvája	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{17} S_{26}$
	Sivákló	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{11} S_{17} S_{28}$
	Vörös szilva 1.	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{17}$
	Vörös szilva 2.	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{17}$
	Vörös szilva 3.	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{17}$
Hagyományos szilvafajták	Besztercei 105-58	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_{10} S_{14} S_{17} S_{20}$
	Besztercei Bb.398	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_{10} S_{14} S_{17} S_{20}$
	Besztercei Bt. 2	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_{10} S_{14} S_{17} S_{20}$
	Besztercei Nm.122.	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_{10} S_{14} S_{17} S_{20}$
	Besztercei Nm.150.	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_{10} S_{14} S_{17} S_{20}$
	Besztercei szilva	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_{10} S_{14} S_{17} S_{20}$
	Bühler Frühzwetschge	<i>P. domestica</i>	ÖT	S_{10}
	Francia narancsszilva	<i>P. domestica</i>	ÖT	S_{10}
	Mirabelle de Nancy	<i>P. syriaca</i>	RÖT	$S_{10} S_{14}$
	Tuleu gras	<i>P. domestica</i>	HS	$S_6 S_{10}$
	Victoria	<i>P. domestica</i>	ÖT	$S_6 S_{10} S_{17} S_{26}$
	Zöld ringló	<i>P. italica</i>	ÖM	S_{10}

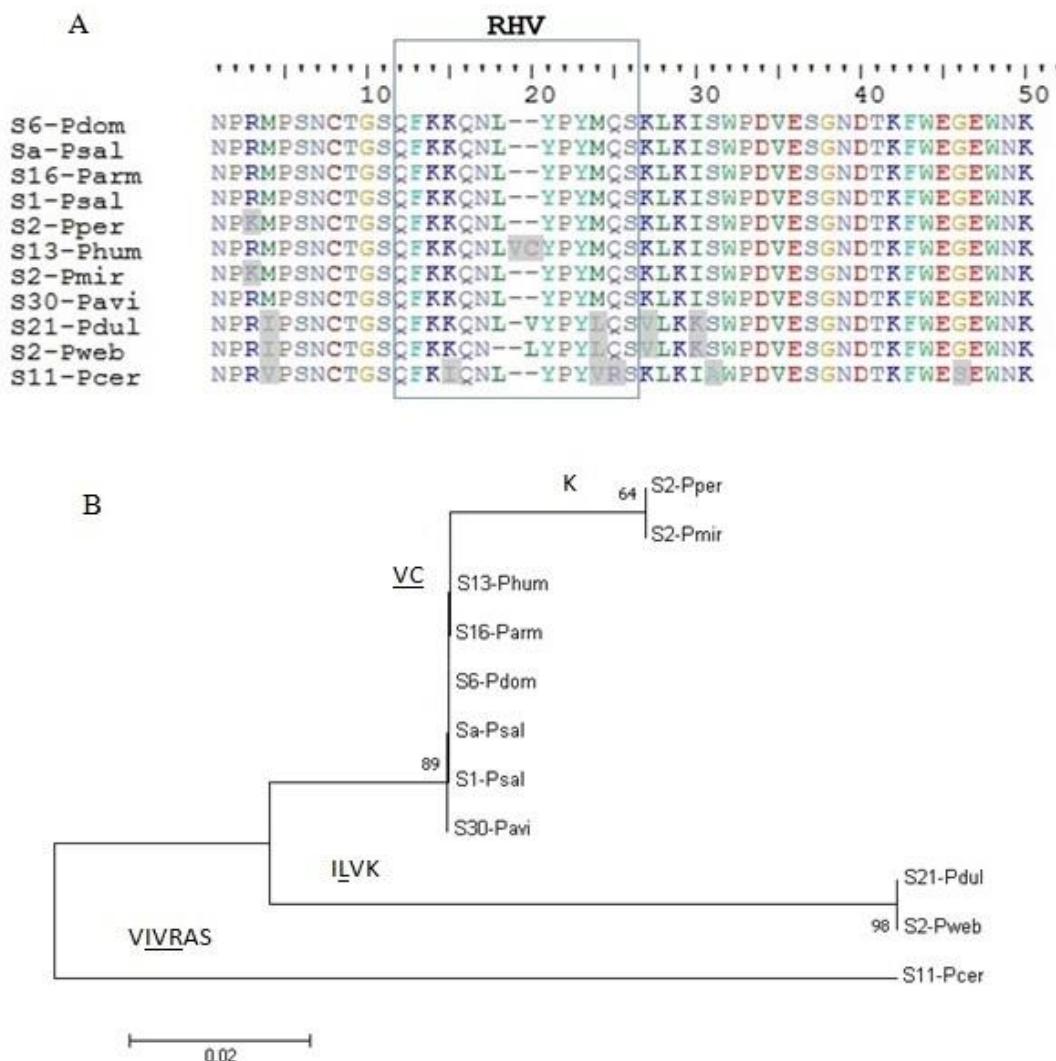
16. táblázat: (Folytatás).

	Szilvafajták	Faj	Termékenyülési képesség ¹	S-genotípus
Alany fajták	C. 174 miobalán	<i>P. cerasifera</i>	ÖT	$S_{10}S_{21}$
	C. 679 miobalán	<i>P. cerasifera</i>	ÖT	$S_{10}S_{17}$
	Kökényszilva CT 93	<i>P. insititia</i>	ÖT	S_6S_{10}

¹ÖM: Önmeddő; RÖT: Részben öntermékeny; ÖT: Öntermékeny; HS: Hímsteril (HARSÁNYI 1979, SZABÓ 2001, SURÁNYI 2006a, KISSNÉ és MAROSI 2006, SURÁNYI 2014)

A már ismert szilva S_6 -os allél több fajtában is jelen volt ('Althann ringló', 'Cacanska leptica', 'Elena', 'Hollandi szilva C.940', 'Katinka', 'Presenta', 'President', 'Topend Plus', 'Topfive' és 'Tophit'; illetve 'Lószemű szilva' és a 'Sivákló' tájfajtákban), ennek az allélnak a következtetett aminosav-szekvenciája teljes mértékű egyezést mutatott a *P. salicina* S_a -RN-ázzal (SUTHERLAND és mts. 2008). BLASTN-analízissel további jelentős, bár kisebb mértékű hasonlóságot mutattunk ki a *P. salicina* S_1 , *P. armeniaca* S_{16} , *P. avium* S_{30} , *P. persica* S_2 , *P. mira* S_2 , *P. dulcis* S_{21} , *P. webbii* S_2 és *P. humilis* S_{13} RN-áz allélszekvenciákkal. Az kisebb-nagyobb méretű eltérések (inszerciók, deléciók, nukleotidcserék) jelentős része az *S-ribonukleáz* gén második intronrégiójában halmozódott fel.

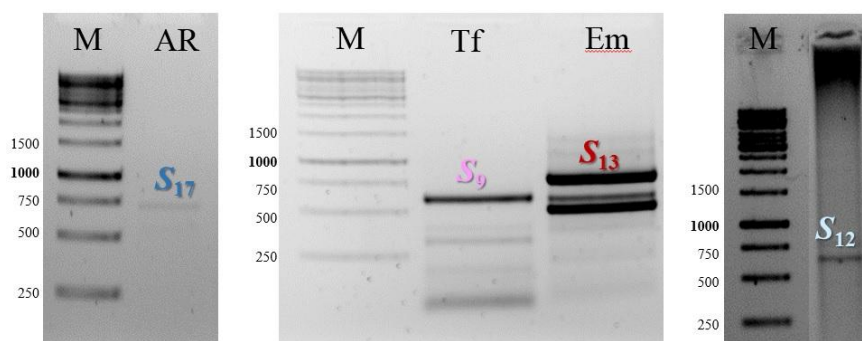
Részleges DNS-szekvencia illesztést végeztünk el, mely magába foglalta az allélspecifikus felismerésben meghatározó szerepet játszó RHV régiót (MATTON és mts. 1997) (26A. ábra). Elterést csak a mandulafajok, a szilvák alnemezségébe tartozó *P. humilis* és a cseresznyeszilva szekvenciák esetében tapasztaltunk. Ugyanakkor, szembeűnően nagy eltérés tapasztalható az *S*-RN-áz allélszekvenciák elemzésével kapott kladogramunk topológiája és a BORTIRI és mts. (2001) tanulmányozta *Prunoideae* alcsalád filogenetikai viszonyaitól (26B. ábra). A kapott filogenetikai fán közös kládot alkotnak a *Prunus* alnemezség tagjai (*P. humilis*, *P. armeniaca*, *P. salicina*, *P. domestica*, *P. avium*), ellenben az *Amygdalus* alnemezségbe tartozó őszibarack- és mandulafajok alléljaival, melyek két eltérő és jelentős bootstrap-támogatottsággal bíró kládban helyezkednek el. A legváratlanabb eredményt az európai szilva feltételezett őseként is számon tartott *P. cerasifera* S_{11} -allélja okozta, hiszen a kladogram többi szekvenciájától a legtávolabb eső ponton kapott helyet. A topológiában mutatkozó eltérések rávilágítottak arra, hogy az élek mentén az evolválódás üteme nem egyenlő mértékű, mely ezenfelül funkcióbeli módosulásra is adhat okot. Mindezt leginkább az RHV régióban rögzült nemszinonim mutációk megléte jelzi.



26. ábra: Az európai szilva *S₆-RN-áz* allél filogenetikai vizsgálata. (A) Az *S*-allélok részleges DNS-szekvenciájának illesztése az NCBI adatbázisában megtalálható, legnagyobb mértékű egyezőséget mutató *Prunus* *S*-allélokkal. A szürke háttérrel a variábilis aminosavak vannak feltüntetve, a keret a hipervariábilis (RHV) régiót mutatja. (B) A vizsgált allélok szomszéd-összevonó (*neighbour-joining*) módszerrel készített filogenetikai vizsgálata az 50%-nál nagyobb bootstrap-értékekkel, és az élek mentén megjelenő, divergens karakterállapotokkal (nemszinonim mutációk, aláhúzással az RHV régió belüli változások).

5.2.6. Az újonnan és a már azonosított teljes *S-RN-áz* allélok meghatározása az európai szilvában

Néhány allél esetében a teljes szekvencia megismerése érdekében az *S-RN-áz* gén C2 konzervatív régiójától downstream irányban megtalálható 2. intron régiójára allél-specifikus reverse oldalú primereket terveztünk (PdomAR-R, PdomB-R, PdomE-R, PdomH-R, PdTf-R, PdEm-R és PdHag-R). Forward primerként a cseresznye *S-RN-áz* génjére tervezett (PaConsI) primert használtuk (SONNEVELD és mts. 2003). Így ezáltal teljesen lefedtük az 1. intont közrefogó szignálpeptid nagyobb részét, valamint a C1 és a C2 konzervatív régiókat is. Az általunk tervezett 7 primerből 4 esetben volt sikeres amplifikáció: PdomAR-R, PdomH-R, PdTf-R, PdEm-R (**27. ábra**). Három esetben (PdomE-R, PdomB-R, PdHag-R) a PCR-termékek agarózgélben történő szemrevételezése során többszöri ismétlést követően sem kaptunk kiértékelhető eredményt. A primerek nevében rövidítve szerepel az a szilvafajta, melynek *S-RN-áz*-szekvenciája alapként szolgált az adott primer tervezése során (**17. táblázat**).



27. ábra: Az európai szilvafajták által hordozott *S*-allélok (S_9 , S_{12} , S_{13} , S_{17}) kimutatása a *Prunus S-RN-áz* gén SP-2.int. régiójára tervezett allél-specifikus reverse (PdomAR-R, PdomH-R, PdTf-R, PdEm-R), valamint forward [PaConsI; SONNEVELD és mts. (2003)] primerrel. AR = Althann ringló, Tf = Topfive, Em = Empress, H = Haroma. Marker: GeneRuler 1kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

17. táblázat: A különböző európai szilvafajták *S-RN-áz*-alléljaira tervezett allél-specifikus primerek.

<i>S-RN-áz</i> allél	Szilvafajta	Tervezett primer neve
S_9	Topfive (Tf)	PdTf-R
S_{12}	Haroma (H)	PdomH-R
S_{13}	Empress (Em)	PdEm-R
S_{17}	Althann ringló (AR)	PdomAR-R

Az új teljes S-allélok nukleotidszekvenciájának megállapítása után, azok következtetett aminosav-sorrendjét is meghatároztuk és a fehérjeszekvenciákat illesztettük (**28. ábra**). Az illesztéskor megjelöltük a korábban meghatározott (USHIJIMA és mts. 1998) szignálpeptid (SP) és a C1-C5 konzervatív régiókat, a *Rosaceae*-specifikus hipervariábilis régiót (RHV). A szignálpeptid és a C1-es konzervatív régió által közrefogott 1. intron régió mérete, 113 és 119 bázispár közötti értékek. A teljes, SP és C5 közötti régiókat tartalmazó S-RN-ázok hossza 184 és 191 aminosav között változott. A méretpolimorfizmus nagy részét a C5 régiót megelőző szakaszon megjelenő indel polimorfizmus okozza. Ezen S-RN-ázok mindegyikét egyedi aminosav-szekvencia jellemzi, különös tekintettel a GSI-mechanizmus alapját jelentő S-haplotípus-specifikus felismerési interakcióért felelős (USHIJIMA és mts. 1998) hipervariábilis régióra (RHV).

Annak érdekében, hogy az új szilva S-allélok egyediségét igazoljuk, elvégeztük a nukleotidszekvenciák, illetve a következtetett aminosav-szekvenciák azonossági mátrix analízisét (**18. táblázat**). A kapott eredmények alapján az új allélok egymással való azonossága nukleotidszinten átlagosan 83,7%, fehérjeszinten 75,2%. A legnagyobb mértékű egyezést nukleotid- és fehérje szinten is az S₁₇ és S₆-Pdom (nukleotid: 89,7%; fehérje: 84,8%), az S₉ és S₆-Pdom (nukleotid: 87,0%; fehérje: 79,4%) allélpárok mutatták. Az S₁₃ és S₁₇-allélok térnek el egymástól a legnagyobb mértékben nukleotid- (70,3%) és fehérjeszinten (80,7%) is.

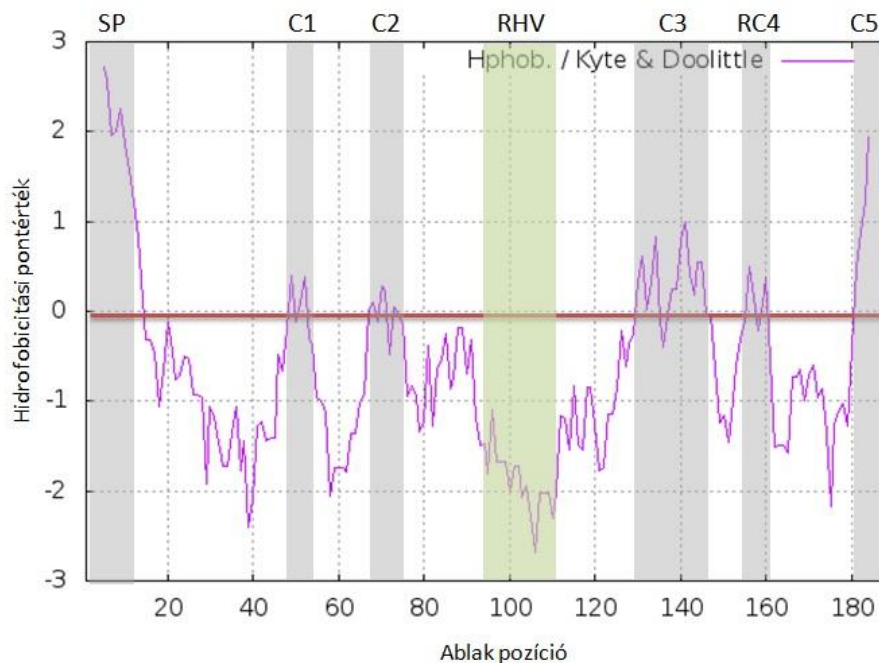
	SP	C1	C2	
S9	LVLGFAFFFCYVMS	SGSYDYFQFVQQWPPTNCRVRNK-PC	KPRPLQNFTHIGLWPSNYSNPRMPSKCTG	69
S12	LVLGFAFFLCFIMS	IGSYDYFQFVQQWPPTNCRARIKQPCSNPRPLQYFTIHIGLWPSNYSNPTMPSNCTG	70	
S13	LVLGFAFFLCFIMST	GSYDYFQFVQQWPPTTCRISSK-PSNQHRPLQRFTHIGLWPSNYSKPRKPSNCTG	69	
S17	LVLGFAFFFCYVMS	SGSYDYFQFVQQWPPTNCRVRNKRPCSNPRPLQYFTIHIGLWPSNYSNPTMPSNCTG	70	
S6-Pdom	LVLGFAFFFCYVMS	SGSYDYFQFVQQWPPTNCRVRNRPCSNPRPLQYFTIHIGLWPSNYSNPRMPSNCTG	70	
	RHV	C3	RC4	
S9	SLFNFRKVYPQLRS	DLKISWPDVESGNDTRFWESEWNKHGRCSEDS	SLNQMQYFERSHAMWISYNITEILK	139
S12	PCFK-KILSPQLRSS	LMRSWPDVESGNDTRFWAGEWKNHGTCS	EQTLNQMQYFDRSNQMWSSFNITKILK	139
S13	SKFNFTKVSFKMRVKLR	SWPDVESGNDTRFWEGEWKNHGTCS	EESLNQMZYFERSHEMWYSFNITEILK	139
S17	TQFKMNLFPYLR	SRLKMSWPDVESGNDTKFWEGEWKHGTCS	ERILNLMQYFORSQAMWKSHNITEILK	140
S6-Pdom	SQFKKNLYPYMQSKL	KLISWPDVESGNDTKFWEGEWNKHGTCS	ERTLNLMQYFERSHAMWKSHNITEILK	140
	RC4	C5		
S9	NASIVPSATQNW	TSDIVSPIKRTKRTPLLRCKYD---K	ETQLLHEV----	184
S12	NASIVPHPTQTW	KYSDIVSPIKKVTQTTPLLRCKRDPANPK	QQLH-----	185
S13	NASIVPHSTQTS	YSDIVSPIKTATKRTPLLRCKRDPKPN	SQWLHEVLCF	191
S17	NASIVPHPTQKW	TYLDIVSAIKAGTQTTPLLRCKRD--K	NTQLLHEVVF	190
S6-Pdom	NASIVPHPTQTW	KYSDIVSPIKRTKRTPLVLRCKRDPVQ	ANTQLLHEVVF--	190

28. ábra: Az NCBI adatbázisból letöltött ismert (S₆-Pdom) illetve az általunk azonosított európai szilva S-RN-áz allélok (S₉, S₁₂, S₁₃, S₁₇) teljes, következtetett aminosav-szekvenciájának illesztése. A gén SP régióját kék, az öt konzervatív régiót rózsaszín (C1, C2, C3, RC4, C5) és a hipervariábilis (RHV) régiót zöld téglalap jelzi USHIJIMA és mts. (1998) alapján. A fekete keret a variábilis aminosavakat jelöli. Az illesztésben szereplő szekvencia NCBI adatbanki azonosítója: AM746947 (S₆).

18. táblázat: Az általunk azonosított és az ismert (S_6 -Pdom) teljes *S-RN-áz* allélok exon szekvenciájának (az átlótól felfelé), illetve az *S-RN-áz* allélok következtetett aminosav-szekvenciájának (az átlótól lefelé) százalékos értékekkel kifejezett, hasonlósági mátrixa (BLOSUM62).

S-RN-áz exonrégiók DNS-szekvenciáinak azonossága (%)					
	S_9	S_{12}	S_{13}	S_{17}	S_6 -Pdom
S_9	-	81,2	82,7	84,9	87,0
S_{12}	71,8	-	81,4	82,4	83,8
S_{13}	73,8	72,3	-	80,7	83,1
S_{17}	75,2	75,0	70,3	-	89,7
S_6 -Pdom	79,4	75,7	73,4	84,8	-
S-RN-áz aminosav-szekvenciák azonossága (%)					

A globurális *S-RN-áz* fehérje molekula felszíne hidrofil, míg a belső központi magja hidrofób jellegű. Annak érdekében, hogy megállapítsuk az újonnan azonosított *S-RN-áz* fehérjék molekula szerkezetében történtek-e változások, elvégeztük az újonnan azonosított *S*-allélok KYTE-DOOLITTLE-féle (1982) hidrofobicitás-analízisét az online is elérhető ExpASy weboldalon. Az önmeddő ‘Topfive’ szilvafajtában azonosított S_9 -es allél hidrofobicitási garfikonja látható a **29. ábrán**. Az analízis során a csúszóablak méretét 9 aminosavnyi lefedettségűre állítottuk be, mely a legalkalmasabb a felszíni régiók feltérképezésére. A felismerési reakcióban, mely fontos része a termékenyülési mechanizmusnak, a fehérje felszínén a hipervariábilis régió (RHV) hidrofil aminosavai játszanak szerepet. A kapott grafikonon a hidrofil jellegét alátámasztó negatív értékeket mutató RHV régiót zöld háttérrel jelöltük. A fehérje hidrofób részeit (SP, C1-C5) a szürke színnel jelzett pozitív értékek képviselik, mely régiók nélkülözhetetlenek az *S-RN-áz* fehérje szerkezeti stabilitásának fenntartásában. Ezen vizsgálattal megerősítettük, hogy az S_9 -es allél fehérjetermékének szerkezetében nem történtek olyan mértékű változások, amelyek a fehérje funkcióját érintették volna.

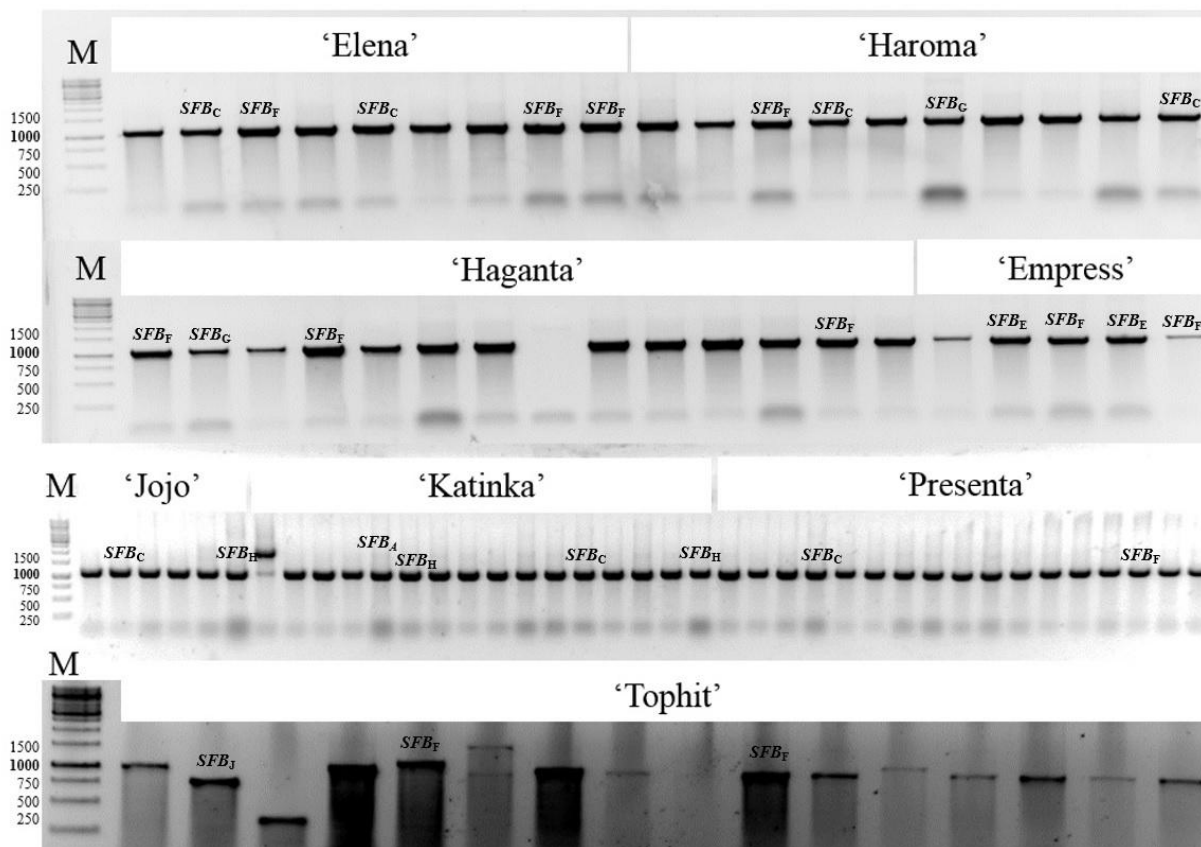


29. ábra: Az általunk azonosított teljes S_9 -es allél KYTE-DOOLITTLE-féle (1982) hidrofobicitás-analízisének grafikus ábrája (ExPASy), ahol a csúszó ablak mérete egyszerre 9 aminosavat fedett le. A pozitív értékek a fehérje hidrofób részeit (SP, C1-C5) képviselik, melyeket szürke háttérrel jelöltünk, míg a zöld háttér a fehérje a negatív értékek kapó hidrofíl részeit (RHV) mutatják.

5.2.7. Az európai szilva *F-box* gén polimorfizmusa

A termékenyülést irányító molekuláris rendszer pollenkomponense az *S*-haplotípus-specifikus *F-box* fehérje. A *Prunus* fajokban leggyakrabban az *SFB* mutációja okozza az öntermékenyülést (HEGEDŰS és mts. 2012), ezért fontos ezen allélek elemzése is. A *Prunus* fajok közül eredetileg a kökény (*P. spinosa* L.) *SFB* génjére tervezett primereket használtuk fel. A NUNES és mts. (2006) által tervezett és közölt 62F és 1010R konszenzus primerpár, az *SFB* gén *F-box* motívumába és a HVb régiótól downstream irányban kötődik, ezáltal a két variábilis régió (V1, V2), valamint a hipervariábilis régiók (HV_a, HV_b) amplifikálhatók. Az így kapott 900 és 1000 bázispár közötti fragmentumok vizuális szemléltetésére az agaróz-gélelektroforézist használtuk, ahol rendkívül monomorf képet kaptunk. A nagyobb léptékű inszerciós és deléciós események hiányában az agaróz gélen sem tudtunk olyan mértékű polimorfizmust kimutatni, amely detektálható lett volna, ezért a további vizsgálatokhoz szükséges a szekvencia ismerete.

A nukleotidsorrend ismerete nélkül, illetve a nyilvános adatbázisban szereplő allélszekvenciákon elvégzett homológiavizsgálat hiányában minden kétséget kizáró módon nem erősíthető meg az allélazonosság. Annak igazolására, hogy a megjelölt fragmentumok valóban *SFB* allélok, 17 genotípus esetében a keletkezett PCR-termékek klónoztuk. Ezt követően a klónozás sikerességét kolónia PCR vizsgálattal M13 primerpár felhasználásával ellenőriztük, majd a pTZ57R/T klónozó vektorba épült fragmentumokat agaróz-gélelektroforézis segítségével láthatóvá tettük (**30. ábra**). Összesen 25 db amplifikált PCR-fragmentumot klónoztunk, majd 3-4 ismétlésben meghatároztuk ezek DNS-szekvenciáját (85 db). A fragmentumok 10 részleges *SFB*-allélt reprezentáltak 14 fajtában. A szekvenciákat BLASTN homológiavizsgálattal ellenőriztük, ami igazolta, hogy 10 eddig még nem ismert allélt találtunk (**19. táblázat**). Mivel ezen szekvenciákat nem tudjuk hozzárendelni az azonosított RN-áz allélokhöz, ezért alfabetikus jelölést használtunk (*SFB_A*-*SFB_J*).



30. ábra: A PCR-termékek klónozásának ellenőrzése kolónia PCR-rel, a plazmidra tervezett M13 primerpár felhasználásával. Marker (M): GeneRuler 1kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

Az újonnan azonosított *SFB* allélok mérete 958 bp (*SFB_F*) és 967 bp (*SFB_C*) között változott, nem volt olyan mértékű méretbeli polimorfizmus detektálható, mint ahogyan azt a *S-RN-áz* allélok kapcsán tapasztalható volt. A vizsgált 17 genotípusból 2 esetben azonosítottunk 3 *SFB*-allélt egy fajtán belül ('Haroma', 'Katinka'), 2 *SFB* allél 9 fajtában ('Althann ringló', 'Cacanska leptica', 'Elena', 'Empress', 'Haganta', 'Jojo', 'Presenta', 'Sermina', 'Tophit') volt kimutatható, míg 1 *SFB* allélt a 'Bluefire', a 'Hanita' és a 'Topfive' mutatott.

A hasonlóan az *S-RN-áz* alléloknál alkalmazott bioinformatikai technikákhoz, ez esetben is a szilva *SFB*-allélok következtetett fehérjeszekvenciáját illesztettük a velük legnagyobb mértékben hasonló, egyéb *Prunus* fajokból származó *SFB*-allélok következtetett aminosav-szekvenciájával, ezt követően meghatároztuk a szekvenciaegyezés százalékos értékét (19. táblázat). A szilva *SFB*-szekvenciák és az adatbázisból származó, velük homológiát mutató szekvenciák igen magas egyezést mutattak, mind nukleotidszinten (átlagosan: 95,2%), mind fehérjeszinten (átlagosan: 91,6%).

19. táblázat: A gazdasági szilvafajtákból (*P. domestica*) azonosított SFB-allélok hasonlósága a hozzájuk legközelebbi homológ szekvenciával/szekvenciákkal.

Szilva SFB-allélok	Méret (bp)	Szilvafajták	Legközelebbi homológ	Azonosság mértéke nukleotid-szinten (%)	Azonosság mértéke aminosav-szinten (%)	Eltérések*
SFB_A	964	Althann ringló Katinka	<i>Prunus avium</i> SFB-10, AAX19998.1	90	82	59 AS csere; 4 nt deléció
			<i>P. dulcis</i> SFB-f, BAF80705.1	90	82	59 AS csere; 1 AS deléció
SFB_B	964	Althann ringló	<i>P. armeniaca</i> SFB₉, ACL13172.1	98	94	20 AS csere
			<i>P. spinosa</i> SFB₈, ABG72779.1	98	97	10 AS csere
SFB_C	967	Bluefre Cacanska lepotica Elena Haroma Jojo Katinka Presenta	<i>P. armeniaca</i> (‘Ceglédi óriás’) SFB₉, ABO34163.1	89	83	2 nt inszerció; 57 AS csere
			<i>P. armeniaca</i> (‘Ceglédi arany’) SFB₉, ABO34162.1	89	83	2 nt inszerció; 57 AS csere
SFB_D	862**	Cacanska lepotica	<i>P. armeniaca</i> SFB₉, ACL13172.1	98	93	3 nt deléció; 8 AS csere
			<i>Prunus spinosa</i> (6 SFB protein) SFB₈, ABG72779.1	98	94	3 nt deléció; 5 AS csere
SFB_E	965	Empress	<i>P. spinosa</i> SFB₃₋₁, ABG72793.1	99	99	1 AS csere
			<i>P. spinosa</i> SFB₃₋₂, ABG72790.1	99	99	2 AS csere
SFB_F	958	Elena Empress Haganta Hanita Haroma Presenta Tophit	<i>P. spinosa</i> (B4 pop- variant S₄) SFB, ACI24197.1	99	99	3 AS csere
			<i>P. spinosa</i> SFB₄, ABG72782.1	99	99	
SFB_G	966	Haganta Haroma Sermina	<i>P. pseudocerasus</i> SFB- 6, ADZ74125.1	97	96	12 AS csere

19. táblázat: (Folytatás).

Szilva SFB-allélok	Méret (bp)	Szilvafajták	Legközelebbi homológ	Azonosság mértéke nukleotid-szinten (%)	Azonosság mértéke aminosav-szinten (%)	Eltérések*
SFB_H	961	Jojo Katinka	<i>P. webbii</i> SFB ₂ , ABJ97530.1	98	98	1 AS inszerció; 3 AS csere
			<i>P. mume</i> S1-SLF, BAC66622.1	90	84	2 AS deléció; 50 AS csere
SFB_I	964	Sermina	<i>P. speciosa</i> SFB ₁ , ADZ76513.1	92	85	44 AS csere; 1 AS deléció
			<i>P. tenella</i> SFB ₁₆ , AMY98979.1	92	85	47 AS csere; 1 AS deléció
			<i>P. domestica</i> S ₆ (SFB), CAN90146.1	91	82	57 AS csere; 1 AS deléció

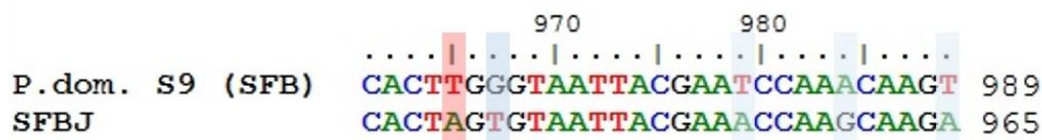
* AS: aminosav, nt: nukleotid;

**Az SFB gén HVa régiójáig történt a meghatározás.

Az újonnan meghatározott szilva SFB-allélok közül négy esetben tapasztaltunk más *Prunus* fajokban (elsősorban *P. spinosa* ill. *P. webbii*) azonosított SFB-allélokkal fehérjeszinten 98–99%-os azonosságot, amely nukleotidszinten is detektálható volt, így a szilva SFB_E a kökény (*P. spinosa*) SFB₃₋₁ és SFB₃₋₂ allélokkal; az SFB_F ugyancsak kökény SFB₄ és SFB (B4) allélokkal; az SFB_H a *P. webbii* SFB₂ alléljával bizonyult majdnem azonosnak. Egyedül az SFB_J-allél mutatott 99%-os azonosságot egy szintén *P. domestica* S₉-alléllal, valamint ennél alacsonyabb mértékű azonosság volt tapasztalható az SFB_I és a *P. domestica* S₆ között. Két szilva SFB-allél (SFB_B és SFB_C) változó mértékű azonosságot mutatott egy-egy kajszi (*P. armeniaca*) SFB-alléllal, melyek közül az SFB_B igen nagyfokú hasonlósággal (97%) volt még jellemezhető a *P. spinosa* SFB₈ allél tekintetében. Az SFB_G allél mutatott még rendkívüli azonosságot (96%) a *P. pseudocerasus*-ban azonosított SFB-6 alléllal. Az újonnan meghatározott SFB-alléljaink közül három (SFB_A, SFB_H, SFB_I), ugyan kisebb mértékben (82–85%), de további *Prunus* fajokkal mutattak hasonlóságot: egy cseresznye (*P. avium*), egy mandula (*P. dulcis*), egy törpe mandula (*P. tenella*), egy japán kajszi (*P. mume*) és egy osiami cseresznye (*P. speciosa*) SFB-alléllal.

Azonosítottunk egy mutációs eseményt az SFB_J-allél esetében, mely fehérjeszinten az allél funkcióvesztését okozhatja. A 31. ábra szemlélteti az általunk azonosított SFB_J-allél és a hozzá legközelebbi homológia a *P. domestica* S₉ SFB-allél nukleotidszekvencia illesztésének részletét, ahol piros háttérrel jelöltük azt az egy nukleotidos szubsztitúciót, mely nonszensz mutációt eredményezett az

azonosított allélban, hiszen a *P.dom.* *S₉* *SFB*-ben (CAN90147.1) a TTG-triplet az *SFB_J*-ben TAG-ra, azaz stopkodonra változott.



31. ábra: A *P. domestica* *S₉* *SFB*- és az *SFB_J*-allélok nukleotidszekvenciáinak illesztése. Az *SFB_J*-allélszekvenciában több egynukleotidos szubsztitúció következett be, melyekből az első (piros háttérrel jelölt) egy nonszensz mutációhoz vezetett, ugyanis a *P.dom.* *S₉* *SFB*-ben (CAN90147.1) a TTG-triplet az *SFB_J*-ben TAG-ra, azaz stopkodonra változott.

Az új *SFB*-allélok nukleotidszekvenciájának megállapítása után, azok következtetett aminosav-sorrendjét is meghatároztuk és a fehérje-szekvenciákat illesztettük (**32. ábra**). Az illesztéskor megjelöltük a korábban meghatározott (IKEDA és mts. 2004, NUNES és mts. 2006) F-box motívumát, a variábilis- (V1 és V2) és hipervariábilis (HVa és HVb) régiók helyét is. Az F-box motívum és a HVb közötti régiókat tartalmazó *S*-haplotípus-specifikus F-box fehérjék hossza 286 és 321 aminosav között változott.

	F-box		V1	
SFBA	SLVRFLCTCKWSDIGSSSFVSTHLRNVTKRAHVYLLCLHHPNERTD	DRD	PYVECEFFHWSLFS	GTFFCSKLSHPLVSTHYGIY 90
SFBB	SLVRFLCTCKWSDLIGSSSFVSTHLRNVTKRAHVYLLCLHHPN	ECVVDPD	PYLEFELQWSLFS	ETFFCSKLSHPLGSTNRYGIY 90
SFBC	SLVRFLCTCKWSDLIGSSSFVSTHLRNVTKRAHVYLLCLHHPN	ERNDDPD	PYVKCEFFHWSLFS	GETFFCSKLSHPLVSTHYGIY 89
SFBD	SLVRFLCTCKWSDLIGSSSFVSTHLRNVTKRAHVYLLCLHHPN	ECVVDPD	PYLEFELQWSLFS	ETFFCSKLSHPLGSTNRYGIY 90
SFBE	SLVRFLCTCKWSDLIGSSSFVSTHLRNVTKRAHVYLLCLHHPN	ECQNDND	PYDI	ELQWSLFS
SFBF	SLVRFLCTCKWSDLIGSSSFVSTHLRNVTKRAHVYLLCLHHPN	WE-LPD	PYA-ELQWSLFS	IEREECSKLSHPLVSTHYGIY 88
SFBG	SLVRFLCTCKWSDLIGSSSFVSTHLRNVTKRAHVYLLCLHHPN	KRQVDPN	PYVQCEFFHWSLFS	ETVFECSKLSHPLGSTHYGIY 90
SFBH	SLVRFLCTCKWSDLIGSSSFVSTHLRNVTKRAHVYLLCLHHPN	ECQNDND	PYSEFELQWSLFS	ETFECSKLSHPLGSTHYGIY 90
SFBI	SLVRFLCTCKWSDLIGSSSFVSTHLRNVTKRAHVYLLCLHHPN	VRQADPD	PYVKCEFFQWSLFS	GTFFCSKLSHPLGSTHYGIY 89
SFBJ	SLVRFLCTCKWSDLIGSSSFVSTHLRNVTKRAHVYLLCLHHPN	ERLVDPD	PYVKCEFFHWSLFS	ETFFCSKLSHPLGSTHYGIY 90
SFBA	GSSNGLVCISDEILNFDSP	SIHIWNPSVRKLTTP	STNIN	KFSHVALQFGFHPGVNDYKAVRMMRTNKNALAVEVY 180
SFBB	GSSNGLVCISDEILNFDSP	SIHIWNPSVRKLTTP	STNIN	KFTYAALQFGFHPGVNDYKAVRMMRTNKNALAVEVY 180
SFBC	GSSNGLVCISDEILNFDSP	SIHIWNPSVRKLTTP	STNIN	KFTYAALQFGFHPGVNDYKAVRMMRTNKNALAVEVY 179
SFBD	GSSNGLVCISDEILNFDSP	SIHIWNPSVRKLTTP	STNIN	KFTYAALQFGFHPGVNDYKAVRMMRTNKNALAVEVY 180
SFBE	GSSNGLVCISDEILNFDSP	SIHIWNPSVRKLTTP	STNIN	KFSHVALQFGFHPGVNDYKAVRMMRTNKNALAVEVY 180
SFBF	GSSNGLVCISDEILNFDSP	SIHIWNPSVRKLTTP	STNIN	KFSHVALQFGFHPGVNDYKAVRMMRTNKNALAVEVY 176
SFBG	GSSNGLVCISDEILNFDSP	SIHIWNPSVRKLTTP	STNIN	KFTYAALQFGFHPGVNDYKAVRMMRTNKNALAVEVY 180
SFBH	GSSNGLVCISDEILNFDSP	SIHIWNPSVRKLTTP	STNIN	KFSHVALQFGFHPGVNDYKAVRMMRTNKNALAVEVY 178
SFBI	GSSNGLVCISDEILNFDSP	SIHIWNPSVRKLTTP	STNIN	KFSHVALQFGFHPGVNDYKAVRMMRTNKNALAVEVY 179
SFBJ	GSSNGLVCISDEILNFDSP	SIHIWNPSVRKLTTP	STNIN	KFTYAALQFGFHPGVNDYKAVRMMRTNKNALAVEVY 180
SFBA	PPWLKCTWQHMGTF	GVAYHII	KGPIFSIMSDSGSEEFEEFIAPD	ICSSGLCIDVYKEQICLLSYSCCEEGMRKIDLWVLQE 270
SFBB	PPWLKCTWQHMGTF	GVAYHII	KGPIFSIMSDSGSEEFEEFIAPD	ICSSGLCIDVYKEQICLLSYSCCEEGMRKIDLWVLQE 269
SFBC	PPWLKCTWQHMGTF	GVAYHII	KGPIFSIMSDSGSEEFEEFIAPD	ICSSGLCIDVYKEQICLLSYSCCEEGMRKIDLWVLQE 269
SFBD	PPWLKCTWQHMGTF	GVAYHII	KGPIFSIMSDSGSEEFEEFIAPD	ICSSGLCIDVYKEQICLLSYSCCEEGMRKIDLWVLQE 269
SFBE	PPWLKCTWQHMGTF	GVAYHII	KGPIFSIMSDSGSEEFEEFIAPD	ICSSGLCIDVYKEQICLLSYSCCEEGMRKIDLWVLQE 270
SFBF	PPWLKCTWQHMGTF	GVAYHII	KGPIFSIMSDSGSEEFEEFIAPD	ICSSGLCIDVYKEQICLLSYSCCEEGMRKIDLWVLQE 266
SFBG	PPWLKCTWQHMGTF	GVAYHII	KGPIFSIMSDSGSEEFEEFIAPD	ICSSGLCIDVYKEQICLLSYSCCEEGMRKIDLWVLQE 270
SFBH	PPWLKCTWQHMGTF	GVAYHII	KGPIFSIMSDSGSEEFEEFIAPD	ICSSGLCIDVYKEQICLLSYSCCEEGMRKIDLWVLQE 268
SFBI	PPWLKCTWQHMGTF	GVAYHII	KGPIFSIMSDSGSEEFEEFIAPD	ICSSGLCIDVYKEQICLLSYSCCEEGMRKIDLWVLQE 269
SFBJ	PPWLKCTWQHMGTF	GVAYHII	KGPIFSIMSDSGSEEFEEFIAPD	ICSSGLCIDVYKEQICLLSYSCCEEGMRKIDLWVLQE 270
SFBA	KWKQLPFFI	PLNYC	RPSGISIDNELI	ERRDFINGADMYLCNYESKO 317
SFBB	KWKQLPFFI	PLNYC	RPSGISIDNELI	ERRDFINGADMYLCNYESKO 319
SFBC	KWKQLPFFI	PLNYC	RPSGISIDNELI	ERRDFINGADMYLCNYESKO 320
SFBD	KWKQLPFFI	PLNYC	RPSGISIDNELI	ERRDFINGADMYLCNYESKO 286
SFBE	KWKQLPFFI	PLNYC	RPSGISIDNELI	ERRDFINGADMYLCNYESKO 320
SFBF	KWKQLPFFI	PLNYC	RPSGISIDNELI	ERRDFINGADMYLCNYESKO 317
SFBG	KWKQLPFFI	PLNYC	RPSGISIDNELI	ERRDFINGADMYLCNYESKO 321
SFBH	KWKQLPFFI	PLNYC	RPSGISIDNELI	ERRDFINGADMYLCNYESKO 319
SFBI	KWKQLPFFI	PLNYC	RPSGISIDNELI	ERRDFINGADMYLCNYESKO 320
SFBJ	KWKQLPFFI	PLNYC	RPSGISIDNELI	ERRDFINGADMYLCNYESKO 319

32. ábra: Az újonnan azonosított *S-haplotípus-F-box* allélok következtetett aminosav-szekvenciájának illesztése. Az SFB fehérje F-box motívumát kék színű, a két variábilis régiót (V1, V2) sárga színű, valamint a két hipervariábilis szakaszt (HVa, HVb) lila színű téglalappal jelöltük IKEDA és mts. (2004) nyomán.

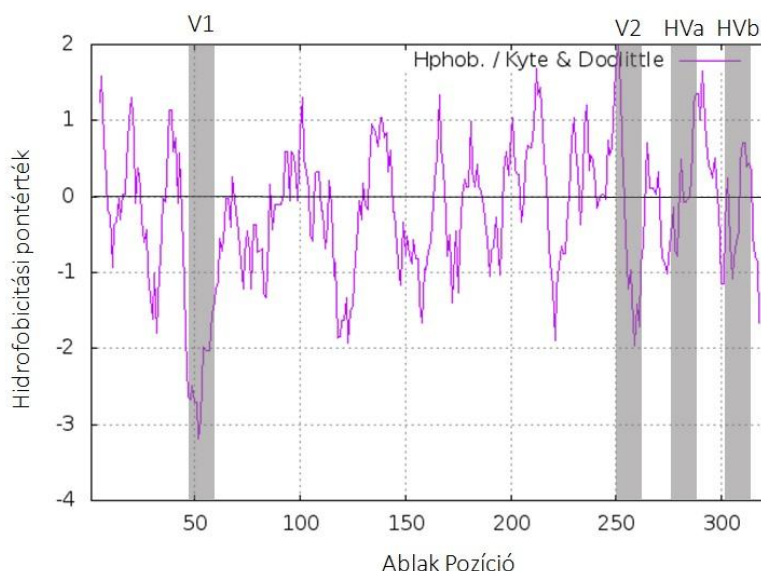
A szilva *SFB* allélok közötti azonosság mértéke nukleotid szinten 75,8% és 89,1% valamint aminosav szinten 64,4% és 84% között változott a hasonlósági mátrix alapján (**20. táblázat**), ami tovább igazolja az általunk azonosított európai szilvaallélok egyediségét, illetve újdonságát. A legnagyobb egyezést nukleotidszinten az *SFB_E* és az *SFB_I* (89,1%) illetve az *SFB_F* és az *SFB_H* (88,4%) allélok között tapasztaltuk, ugyanakkor fehérjeszinten az *SFB_B* és az *SFB_D* (84%) allélpárok között volt elmondható.

20. táblázat: Az újonnan azonosított *SFB* allélok exon szekvenciájának (az átlótól felfelé), illetve az *SFB* allélok következtetett aminosav-szekvenciájának (az átlótól lefelé) százalékos értékekkel kifejezett, hasonlósági mátrixa (BLOSUM62).

<i>SFB</i> exonrégiók DNS-szekvenciáinak azonossága (%)										
	<i>SFB_A</i>	<i>SFB_B</i>	<i>SFB_C</i>	<i>SFB_D</i>	<i>SFB_E</i>	<i>SFB_F</i>	<i>SFB_G</i>	<i>SFB_H</i>	<i>SFB_I</i>	<i>SFB_J</i>
<i>SFB_A</i>	-	86,3	86,3	77,7	86,2	86,4	87,6	85,4	86,5	86,3
<i>SFB_B</i>	75,3	-	84,7	88,3	86,1	86,1	84,6	87,2	85,9	87,6
<i>SFB_C</i>	79,4	73,8	-	75,8	86,4	86,2	84,6	85,6	86,2	85,3
<i>SFB_D</i>	66,8	84,0	65,1	-	77,5	76,7	77,0	78,3	76,9	79,3
<i>SFB_E</i>	75,0	73,8	74,7	67,1	-	87,5	85,2	86,8	89,1	86,2
<i>SFB_F</i>	76,3	73,5	77,5	64,4	76,9	-	85,4	88,4	86,6	86,4
<i>SFB_G</i>	78,5	72,5	75,7	66,3	75,3	74,7	-	85,2	85,7	86,5
<i>SFB_H</i>	74,7	78,1	73,8	69,1	76,9	78,1	73,8	-	87,0	85,9
<i>SFB_I</i>	77,2	73,2	74,4	65,4	78,8	75,7	74,1	75,7	-	86,0
<i>SFB_J</i>	77,8	77,8	76,6	69,9	75,7	76,3	77,8	75,7	75,7	-

S-RN-űz aminosav-szekvenciák azonossága (%)

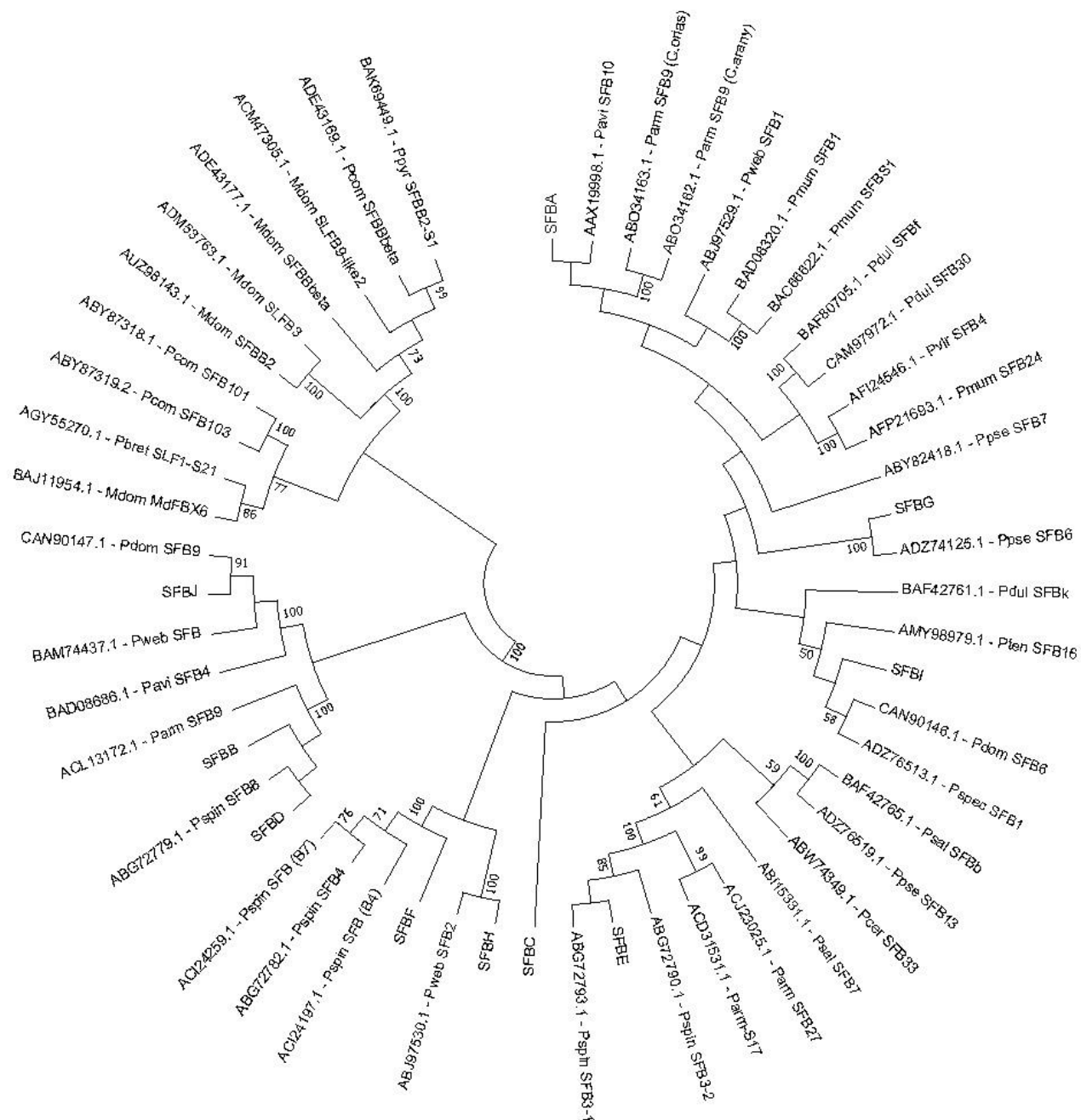
KYTE-DOOLITTLE-féle (1982) hidrofobicitási-analízist az általunk azonosított *SFB* fehérjék tekintetében is elvégeztük, ahol a globuláris fehérje felületén lokalizálódó variábilis (V1, V2) és hipervariábilis (HVa, HVb) régiók hidrofil jellegének meglétére voltunk kíváncsiak. Hiszen a fehérje ezen régiói feltehetően kulcsfontosságú szerepet töltenek be az allélspecifikus felismerési folyamatban (USHIJIMA és mts. 2003, TAO és IEZZONI 2010). A kapott grafikon jól reprezentálja az újonnan azonosított *SFB_C*-allél esetében mind a 4 variábilis régió (V1, V2, HVa, HVb) meglétét, a kapott hidrofobicitási pontértékekkel (**33. ábra**).



33. ábra: Az újonnan azonosított *SFB_C*-allél KYTE-DOOLITTLE-féle (1982) hidrofobicitás-analízisének grafikus ábrája (ExPASy), ahol a csúszó ablak mérete egyszerre 9 aminosavat fedett le. A negatív értékek a fehérje hidrofil részeit (V1, V2, HVa, HVb) képviselik, melyeket szürke háttérrel jelöltünk.

Végezetül a tizenegy újonnan azonosított *SFB* allélból származó aminosav-szekvenciáit összevetve a nemzetközi adatbázisokban hozzáférhető más *Prunus*, *Malus* és *Pyrus* fajokból izolált F-box aminosav-szekvenciákkal filogenetikai analízist végeztünk (**34. ábra**). A csoportátlag eljárás (UPGMA) alapján készült dendrogramon a *Maloideae* alcsalád (*Malus* és *Pyrus* fajok) *SFB* alléljai jól elkülönülnek a *Prunoideae* fajok S-haplotípus F-box fehérjéitől.

A *Prunus* fajokból izolált allélok nem alkotnak monofiletikus csoportot: az egy fajhoz tartozó allélok nem kerültek egymás mellé a kladogramon. Az általunk azonosított *P. domestica* allélok egyes kökény, *P. speciosa*, kajszai vagy *P. webbii* S-haplotípus F-box fehérjékkel mutatják a legnagyobb mértékű hasonlóságot, így a szilvaszekvenciák sem alkotnak elhatárolt, fajspecifikus csoportot. A bootstrap-analízis eredménye szerint a legszorosabb kapcsolat a szilva *SFB_G* és *P. pseudocerasus SFB6* (100%); az *SFB_H* és *P. webbii SFB2* (100%); a szilva *SFB_F* és kökény *SFB* (B4, B7), *SFB4* (100%); a szilva *SFB_B*, *SFB_D* és kökény *SFB8* valamint kajszai *SFB9* (100%), illetve a szilva *SFB_J* és szilva *SFB9* (91%) között volt kimutatható.



34. ábra: A *Rosaceae* családból származó SFB allélok aminosav-szekvencián alapuló filogenetikai analízise csoportátlag eljárás (UPGMA) alapján. A nóduszoknál feltüntetett bootstrap-értékek az 50%-nál nagyobb támogatottságú csoportokat jelöli. Az allélok neve előtt a szekvenciák nemzetközi adatbázisbeli (NCBI) azonosítószáma látható. Pavi: *Prunus avium*; Parm: *Prunus armeniaca* (C. orias: ‘Ceglédi óriás’, C. arany: ‘Ceglédi arany’); Pweb: *Prunus webbii*; Pmum: *Prunus mume*; Pdul: *Prunus dulcis*; Pvir: *Prunus virginiana*; Ppse: *Prunus pseudocerasus*; Pten: *Prunus tenella*; Pdom: *Prunus domestica*; Pspe: *Prunus speciosa*; Psal: *Prunus salicina*, Pcer: *Prunus cerasus*; Pspin: *Prunus spinosa*; Mdom: *Malus × domestica*; Pbret: *Pyrus × bretschneideri*; Pcom: *Pyrus communis*; Ppyr: *Pyrus pyrifolia*.

6. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

6.1. *Prunus domestica* fajták genetikai jellemzése mikroszatellit markerek (SSR) segítségével

A magyar szilva tájfajták genetikai hátteréről semmilyen információ nem állt rendelkezésre, ezért megelőző, alapoató vizsgálatként először felmértük a variabilitás mértékét a begyűjtött növényanyagon mikroszatellit lókuszok alapján. Azon fajok esetében, ahol a teljes genomszekvencia még nem ismert, továbbra is az egyik fő genotipizálási módszer az SSR-markerezés (ARANZANA és mts. 2019). Az SSR-régiók biztosította variabilitást számos *Prunus* fajnál felhasználták a fajták azonosítására illetve az egyes fajok filogenetikai elemzésére, a fajtaeredet és -azonosság igazolására (GUPTA és mts. 1996, AGARWAL és mts. 2008). Az SSR-szakaszokat határoló régiók evolúciósan konzerváltak, mely azt a lehetőséget biztosítja, hogy egy faj genomi szekvenciája alapján tervezett primerek nem csupán az adott faj mikroszatellit régióinak a feltérképezésére alkalmasak, hanem a rokon taxonok polimorfizmusának a kimutatására is eredményesen felhasználhatók (TAUTZ 1989, BELL és ECKER 1994, GUILFORD és mts. 1997, SOSINSKI és mts. 2000).

Mindezen ismeretek alapján, a korábban már több *Prunus* faj esetében polimorfnak bizonyuló lókuszok kiválasztását követően, sikeresen feltérképeztük a jellemezni kívánt *P. domestica* genotípusokat. A lókuszonként azonosított allélok száma hat és huszonhét közé volt tehető. Az európai szilva hexaploid jellegét mutatja az egyes fajtáknál a vizsgált lókuszok többségében azonosított hat allél. Az alkalmazott hét lókusból csupán egy esetben nem kaptunk hat allélt. Az allélok számában megmutatkozó jelentős mértékű genetikai variabilitás nem meglepő az ivaros szaporodó, idegentermékenyülő *Prunus* fajok körében (KODAD és mts. 2013, MAKOVICS-ZSOHÁR és HALÁSZ 2016). SEHIC és mts. (2015) megállapította, hogy az SSR-allélok kiértékelési folyamata poliploid fajok esetében sokkal bonyolultabb, mint a diploidok esetében az tapasztalható, ami ezáltal jelentősen befolyásolhatja az elemzések reprodukálhatóságát. Az SSR-markerek kodominánsak; azonban nehéz meghatározni a lókuszokon megtalálható allélok számát egy poliploid genomon utódvizsgálat nélkül (BARAC és mts. 2014). Az egyes genotípusok ploid szintjét mikroszatellit markerekkel nem lehet egyértelműen meghatározni, de az adatok segítséget nyújthatnak a kérdéses esetekben. GALLI és mts. (2005) alma esetében is összevetették a kapott SSR-mintázatot az ismert ploid szintekkel, de minden kétséget kizáró eredményt csak a citológiai mikroszkópos vizsgálatok vagy a flow-citometria adhat (HALÁSZ és mts. 2011).

Az általunk azonosított összes allélszám (135) és a kimutatott lókuszonkénti allélgyakoriság értéke (19,3), nagyon hasonlít az európai szilva más ehhez hasonló tanulmányaiban leírtakhoz. SEHIC

és mts. (2015) 76 szilva genotípus vizsgálatakor lókuszonként 22,7 allélt talált, KAZIJA és mts. (2014) 62 szilvafajta vizsgálatba vonása lókuszonként 18,7 allélt jelentett, míg XUAN és mts. (2011a) 45 fajtában lókuszonként 20 allélt regisztrált. A fragmentumok hossza hasonló tartományba esett, mint az őszibarackban, japán szilvában vagy a mandulában található azonos mikroszatellitek.

A vizsgált hét lókuszból a BPTCT007 lókuszt egyedisége abban rejlik, hogy egy korábbi vizsgálatunk során mind a kökény és kökényszilva genotípusokban, mind a szilva genotípusokban ugyanazokat az allélokat találtuk. A többi lókuszból is csupán kisebb eltérések voltak kimutathatók (HALÁSZ és mts. 2017, MAKOVICS-ZSOHÁR és mts. 2017a,b). Az egyedi allélok jelenléte különböző mértékben minden vizsgált lókuszból detektálható volt. Ezen ritka vagy egyedi allélok előfordulása fontos tényező a genetikai variabilitás fenntartásában és megőrzésében. A lókuszonkénti magas allélszámból fakadó polimorfizmus lehetővé tette a vizsgált genotípusok megkülönböztethetőségét, jelezve ezáltal, hogy a mikroszatellit analízis megfelelő eszköznél bizonyul, mind a szilvafajta azonosítása, mind pedig a szilvafajta genetikai ujjlenyomatának elkészítése során. MERKOUROPOULOS és kutatócsapata (2017) hasonlóan hét mikroszatellit marker alkalmazásával különített el 54 szilvafajtát sikeresen.

Az utóbbi években számos tanulmány foglalkozott *Prunus* fajok SSR-analízisével, a BPTCT007, BPPCT025 és BPPCT037 lókuszt tesztelték cseresznye, európai szilva és *P. cerasifera* genotípusokon is. Őszibarack esetében BPTCT007 lókuszon 4 és a BPPCT037 lókuszon 5 allélt, míg a cseresznye esetében 2 és 5 allélt kaptak. Továbbá az őszibaracknál a BPPCT025 lókuszon 9 allélt detektáltak (DIRLEWANGER és mts. 2002). WÜNSCH (2009) mikroszatellit markerezési vizsgálatokat folytatott tíz különböző *Prunus* fajon (*P. persica*, *P. dulcis*, *P. armeniaca*, *P. domestica*, *P. insititia*, *P. salicina*, *P. cerasifera*, *P. avium*, *P. cersus* és *P. mahaleb*). A vizsgálatba vont 13 lókuszból, a BPTCT007 lókuszt esetében 111–235 bp átlagos allél mérettartományon 31 allélt mutatott ki, a szilva esetében a mérettartomány teljesen azonos volt az általunk is azonosítottal (122–154 bp). Két évvel később HORVÁTH és munkatársai (2011) ugyancsak mikroszatellit markerezési vizsgálatokat végeztek *P. domestica*, *P. cerasifera* és *P. spinosa* fajok esetében. Az általunk vizsgált BPTCT007 lókuszon szilvára 15 allélt detektáltak 128–156 bp mérettartományban, ami szinte azonos az általunk kapott allélszámmal (17) és -méretekkel (122–154 bp). A kísérlet során a BPPCT025 primert is alkalmazták, ahol szilva esetében 40 allélt írtak le 152–220 bp tartományon. Ez az allélszám ellenben jóval meghaladja az általunk kapott eredményt, azaz a 25 allélt, majdnem azonos mérettartományban (142–212 bp). A CPSCT021 primert japán szilván, őszibarackon és mandulán alkalmazták mindeközéig. Ezekben a tanulmányokban ezen a lókuszon csupán négy allél volt

kimutatható, még mi ugyanezen lókuszt esetében 27 allélt detektáltunk. Az allélok mérettartománya között csupán kis mértékben lehet eltérést kimutatni, melynek következtében a négy allél esetében 125 és 151 bp között mozgott, ám az általunk detektált magasabb allélszám, érthetően nagyobb mérettartományt fed le (124–208 bp) (MNEJJA és mts. 2004, 2005). A CPSCT021 és CPDCT044 lókusztok japán szilva, őszibarack és mandula esetében jóval kevesebb allélt mutattak, mint a vizsgálatainkban szereplő szilvaféléknél, mindez valószínűleg a magasabb ploid szintnek köszönhető (MNEJJA és mts. 2005, GOUTA és mts. 2012).

6.2. A vizsgált európai szilvafajták genetikai távolsága

Az ötvenöt vizsgált genotípus klaszteranalízise három különböző csoportba sorolta a szilvafajtákat, amelyek hét különböző szilvafajt képviselnek, különböző ploiditási szintekkel. Az azonos fajhoz tartozó egyedek nem minden esetben csoportosultak egy klaszterbe. Mivel a fent említett fajok könnyen képesek egymással való hibridizációjuk során intermedier hibrideket létrehozni (NEUMÜLLER 2010), melynek eredményeképpen nem lehet markáns vonalat húzni a különböző fajokat reprezentáló genotípusok között. Ugyanakkor a dendrogram alapján kialakult csoportok teljes egészében megegyeznek a fajták státuszaik szerinti csoportosításával, melynek értelmében beszélünk modern vagy gazdasági fajtákról, hagyományos vagy történelmi fajtákról illetve tájfajtákról. Továbbá a szilvafajták közül az ‘Oka’ és a két alanyfajtaként számon tartott mirobáln (‘C. 174 mirobáln’, ‘C. 679 mirobáln’), világosan elkülönül a többi genotípustól külön klasztert alkotva (**14. ábra**).

A külföldi modern fajták elhelyezkedése a dendrogramon a magyar fajtákhoz képest erős hasonlóságot mutat, mint ami tapasztalható volt egy korábbi tanulmány kapcsán a ‘Stanley’ és a kelet-anatóliai hagyományos szilvafajták egymáshoz viszonyított kapcsolata esetén (ÖZ és mts. 2013). A szülő-utód kapcsolatok is nagyon szépen kirajzolódnak a kapott törzsfán, ahol a modern fajták csoportján belül egy alkaszterben egymáshoz egészen közel helyezkednek el. Gazdaságilag jelentősebb szilvafajták közül a ‘Stanley’-t – sharka vírussal szembeni toleranciájának köszönhetően – több alkalommal is felhasználták a keresztezéses nemesítés során szülőpartnerként, úgy mint a ‘Bluefre’ (‘Stanley’ × ‘President’); ‘Elena’ (‘Fellenger’ × ‘Stanley’); ‘Haroma’ [(‘Ortenauer’ × ‘Stanley 34’) × ‘Hanita’]; ‘Jojo’ (‘Ortenauer’ × ‘Stanley’) esetében (HARTMANN 1998, 2007, 2019).

A köztudatban számos azonos néven szereplő táj- és hagyományos fajtánkról derült ki a vizsgálataink során, hogy azok nem teljesen azonos genotípust takarnak. Egyetlen kivétel a ‘Fehérszilva 2’ és ‘Fehérszilva 4’ tájfajták, amelyek teljes egyezőséget mutattak. A tájfajták sok esetben a hasonló morfológiai bélyegek alapján azonos elnevezés alá kerültek, és mivel hosszú időn át

magról is történt a szaporításuk (HARSÁNYI 1979, SURÁNYI 2006a, 2014, TÓTH és mts. 2007), genetikailag nem egyöntetűek, de nagymértékben hasonlóak. Vizsgálati eredményeink adták az első bizonyítékot a korábbi feltételezésekre. Genetikai különbségük néhány esetben morfológiailag is alátámasztható (TÓTH M. szóbeli közlés). Mindenképpen érdemes volna nagyobb mintaszám bevonásával feltérképezni a hazai tájfajták helyzetét e tekintetben. Magyarországon az első és egyben az egyik legfontosabb szilva tájfajta a 'Besztercei' szilva volt (RAPAICS 1940a,b). A 'Besztercei' szilvák esetében régóta köztudott a fajtakörön belüli variabilitás, és a leromlás miatt indokolt volt a szelekció. A klónszelekcióval kiválasztott klónokról szóló első leírások (HARSÁNYI 1979) szerint érési időben, gyümölcsnagyságban és termőképességben jobbak az alapfajtánál, majd a későbbi leírások (SURÁNYI 2006a) már csak a termőképességben mutatkozó különbséget említik. A ceglédi génbankból származó 50 'Besztercei' klónfajta vizsgálata eltéréseket mutatott, több mint 10 különböző morfológiai paraméterben, valamint a PPV ellenállóság mértékében is (SURÁNYI 2006b). Az általunk vizsgált hat 'Besztercei' szilva mindegyike különböző SSR-genotípust mutatott, két csoportba sorolódtak 3–3 mintával, és külön alcsoportot képeztek a többi szilvafajta között. Akárcsak a Tisza-Szamos menti táj jellegzetes fajtájaként számon tartott 'Nemtudom P3' szilva esetében is, ahol a dendrogramon a szilva tájfajták csoportján belül egy különálló alklaszterben található meg. A Beregi- és Szatmári Síkság folyók menti ősgyümölcsöseiben a szilva és a dió az a két gyümölcsfaj, amelyeknek alakgazdasága még ma is alkalmas céltudatos szelekcióra, a legjobb egyedek kiemelésére (PETHŐ és mts. 2010). Ezek az egyedek keletkezhetnek magról, természetes generatív úton és a gyökérsarjakról történő szaporítás során létrejövő mutációk révén. Az ártéri területekről szedett csemetéket ültették a házikertekbe is. Gazdasági szempontból a fajták heterogenitása nem előnyös tulajdonság, ellenben nagyszerű alapanyagnak számítanak a klónszelekcióban. Pozitív szelekció segítségével nyílt mód a legjobb gazdasági értékkel bíró egyedek kiemelésére. Pethő Ferenc javaslatára és közreműködésével 2000-ben megkezdődött a „Nemtudom” populáció szelekciója, melynek eredménye a 'Nemtudom P3' szilvafajta a nemzeti fajtajegyzékben is bejegyzésre került.

A STRUCTURE analízis során a vizsgált európai szilvafajták ugyancsak három genetikai csoportba rendeződtek, ezáltal megerősítve a törzsfajta alapján kapott eredményeket. A genetikai differenciálódás mértékét mutató F_{st} értéke igazán szemléletesen a modern és hagyományos fajták közötti genetikai különbözőségeket.

6.3. A vizsgálatba vont egyedek főkomponens-analízise

A főkomponens analízis világított rá a 'Besztercei szilvák' szépen elkülönülő csoportjára, hogy milyen genetikai távolságban helyezkedik el a többi szilvafajtától. Ugyancsak független csoportba rendeződtek a 'Fehérszilva' fajták is a csoporton belül. A 'Fehérszilva' fajtákkal kapcsolatosan két hipotézis is megfogalmazódott. Egyes feltételezések szerint a 'Fehérszilva' a 'Vörös szilva' tájfajtának egyik mutánsa lehet (SURÁNYI 2014), míg mások szerint a 'Besztercei' szilvából kialakult tájfajtánk, melyet 'Fehér Besztercei' néven is emlegetnek sokan (NAGY 1980). Az SSR-analízis során kapott eredményeink, miszerint a 'Fehérszilva' genotípusok közelebb helyezkednek el a 'Vörös szilva' genotípusokhoz, csak tovább erősítik az első hipotézis tényét. A magyar hagyományos és tájfajták jelentős diszperzióját, a vizsgált fajtákon belül a magas szintű genetikai sokféleséget mutatja. Voltaképpen, a tájfajtáknál a vizsgálat során alkalmazott hét lókuszból öt esetében azonosítottunk teljesen egyedi allélokat. Ennek okán, a genetikai biodiverzitás növelése ezen növényanyagok bevonásával a különböző termesztési programokba, kiemelt fontosságúvá kellene, hogy legyen, hiszen a felhasznált fajták köre az utóbbi időben rendkívül beszűkült, csupán néhány külföldi fajtára korlátozódik. Mindazonáltal szabadföldi kísérletekkel is alátámasztották, hogy a 'Gömöri nyakas', 'Nemtudom P3', 'Fehérszilva', 'Beregi datolya' és a 'Vörös szilva' fajták PPV toleráns szilvafajtáknak bizonyultak, ezáltal az értékük tovább növekszik a jövőbeli termesztési és fajta-előállítási programok kapcsán. Továbbá, a 'Bódi szilva' és a 'Nemtudom P3' szilva tájfajták kiemelkedő abiotikus stressz rezisztenciával is bírnak (PETHŐ 2011, SURÁNYI 2014). A helyi szilva- illetve a tájfajták a faggyal és a szárazsággal szembeni rezisztencia nemesítésben perspektivikus donor fajtáknak bizonyulhatnak (PAUNOVIC 1988).

Néhány magyar szilvafajtáról bebizonyosodott, hogy igen hasznos genetikai forrást képviselnek, amelyek növelhetik a jövő szilvafajtáinak gyümölcsminőségét és beltartalmi értékeit, ezáltal az egészségmegőrzésben is hangsúlyos szerepet töltenének be. Korábbi tanulmányokból látható, hogy a szénhidrátprofil tekintetében is nagy különbségek mutatkoztak a magyar tájfajták és a modern külföldi fajták között. A 'Vörös szilva' és a 'Lószemű szilva' fajták gyümölcssei szorbitolban igen gazdagok, míg a 'Bódi szilva', a 'Vörös szilva' és a 'Besztercei szilva' fajták terméseiben a monoszacharidok jelenléte a domináns (TÓTH 2013). TÓTH (1957) a 'Duránci' szilvafajta gyümölcslevében 22%-os összcukortartalmat mutatott ki. A szilva gyümölcsének és levének laxáns hatása a fenolok (főként klorogén- és neoklorogén savak) és a szorbitol jelenlétének, valamint a gyümölcsök magas rosttartalmának tulajdonítható (STACEWICZ-SAPUNTZAKIS és mts. 2001). A múltban nem véletlenül számítottak a szilva gyümölcssei és egyes termékei szinte gyógyszernek. A szilva ezen

beltartalmi összetételének köszönhetően, az egyszerű cukrok tekintetében jó energiaforrásnak számít, valamint elfogyasztását követően nem okozza a vércukorszint hirtelen növekedését sem. Emellett a szilva termésében felhalmozódó fenolos vegyületek és mikroelemek preventív hatóanyagként szolgálhatnak a különböző súlyos illetve krónikus betegségekkel, köztük a szív-érrendszeri betegségekkel, a rákkal és a csontritkulással szemben (IGWE és CHARLTON 2016). SAHAMISHIRAZI és mts. (2017) vizsgálataiban a 'Požegača' (syn. Besztercei szilva) szilvafajta a 178 szilvafajta között a tizenharmadik legmagasabb összfenoltartalmú helyet foglalta el, jelezve, hogy a genetikailag változatos tájfajták között fellelhetőek kiemelkedő beltartalmi összetétellel bíró genotípusok is, ahogyan az a magyar meggyfajta termesztési programban is tapasztalható volt (PAPP és mts. 2010). Adataink értékes információként szolgálhatnak a Magyarországon megtalálható európai szilvafajták jelentős genetikai sokféleségének felismerése által a jövőbeni termesztési programokba való beillesztésbe. A molekuláris markerezési stratégiák kétségtelenül hozzájárulnak a szilvatermesztés megerősítéséhez, azáltal, hogy a tájfajták kiemelkedő tulajdonságait kombinálják más külföldi fajták által nyújtott kedvező tulajdonságokkal (pl. betegség-ellenállóság), elősegítve a tájfajták megőrzését, értékállóságát és a leghatékonyabb felhasználását is egyben. Ennek értelmében a gyümölcsfajtákkal foglalkozó szakemberek számára a molekuláris markerek használata a fajták, nemesítési anyagok genetikai hátterének megállapítására és nemesítési célú hasznosítására, a fajtagyűjtemények kezelése és rendszerezése szempontjából egy ígéretes eszköznek bizonyul.

6.4. Az európai szilva *S-RN-áz* gén polimorfizmusa

Az *S*-allélrendszeren alapuló termékenyülési típus az egyik legismertebb növényi példa a polialléliára, így a nagyfokú polimorfizmus miatt az *S*-lókusz feltérképezése az egyes fajokban sokrétű információt adhat. Három évtizede McCLURE és mts. (1989) úttörő felfedezést tettek az *S*-genotípusok megismerése terén, amikor is bebizonyították a bibelszámban kifejeződő ribonukleáz enzimek szerepét a bibe és a pollen között lejátszódó saját-idegen felismerési reakcióban. A csonthéjas gyümölcsfákra jellemző ribonukleáz enzimet kódoló gén két intront tartalmaz. Elsők között TAO és mts. (1999) határoztak meg öt különböző cseresznyeallélt, előzetesen három cseresznyeallél cDNS szekvenciájának a szignálpeptid, C2 és az RC4 konzervatív régiókra tervezett primerekkel. Az allélok hatékony elkülönítésében jelentős szerepet játszott az intronrégiókat jellemző nagy mértékű méretbeli polimorfizmus, valamint az azokat körülvevő konzervatív exonrégiók jelenléte. Az elmúlt húsz esztendőben többféle primert is terveztek, melyeket sikerrel alkalmaztak genotipizálásra elsősorban diploid gyümölcsfajok esetében: cseresznye (WIERSMA és mts. 2001, SONNEVELD és mts. 2003), mandula (TAMURA és mts. 2000, CHANNUNTAIPAT és mts. 2001, ORTEGA és mts. 2005), meggy (YAMANE és mts. 2001; BOŠKOVIĆ és mts. 2006), japán szilva (BEPPU és mts. 2002, 2003), japán kajszi (TAO és mts. 2002) és kajszi (SUTHERLAND és mts. 2004a, VILANOVA és mts. 2005). Ennélfogva a legtöbb molekuláris információ a diploid gyümölcsfajokra korlátozódik leginkább, míg a poliploid, különösen a hexaploid fajokról csekély információ áll a rendelkezésünkre.

A diploid fajok esetében az *S*-genotípus meghatározásának alapja, hogy a PCR-analízis során felszaporított két különböző méretű fragmentum megfeleltethető-e egy-egy *S*-allélnak. Ebből kiindulva a hexaploid *P. domestica* PCR-analízisek során kapott legfeljebb hat különböző méretű fragmentumnak igazoltuk *S*-allél jellegét. Vizsgálataink kezdetekor *Prunus* fajok PCR-analíziséhez tervezett többféle primer is a rendelkezésünkre állt, melyek közül előzetes felmérések sorozata után választottuk ki a legtöbb PCR-terméket eredményezőt: a SONNEVELD és mts. (2003) által cseresznye *S*-allélokra tervezett, az *S-RN-áz* gén második intronrégióját amplifikáló primerpárt. PCR-vizsgálatunk sikerességét támasztja alá a 24 detektált *S*-allél, illetve a mintánként kimutatott allélszámok (3-6 allél). A vizsgált 55 egyedből 5 genotípus esetében 6 allélt, valamint 17 genotípusnál 5 allélt tudtunk detektálni. Az *S*-lókuszban kimutatott 24 allél száma összhangban áll az SSR-eredményeinkkel, a lókuszokban detektált SSR-allélok számával.

KOTA és LÂCIS (2013) hat, más *Prunus* fajokra tervezett marker alkalmazhatóságát vizsgálták meg 33 európai szilvafajta bevonásával. Az átlagos megfigyelt heterozigótaság mértéke igen nagyra bizonyult, különböző primerkombinációk esetén 14-37 allélt mutattak ki. Mindegyik szilvafajtat

egyedülálló *S*-genotípussal jellemeztek. Ugyanakkor a tesztelt markerek nem mutattak különbséget az öntermékenyülő és önmeddő fenotípusok között. Az általunk alkalmazott módszer is hasonló eredményt ad, mert továbbra sem áll rendelkezésre olyan technika, amellyel a két eltérő termékenyülési fenotípus kimutatható lenne. A tetraploid meggy esetében a funkcióképtelen haplotípusok azonosítása biztosítja az önmeddő és öntermékenyülő genotípusok elkülönítését (HAUCK és mts. 2006a,b).

Ilyen nagyszámú eltérő allél jelenléte az önmeddő *Prunus* fajok között nem egyedülálló: összehasonlításképp cseresznyében SONNEVELD és mts. (2001; 2003), BÉKEFI és mts. (2003) illetve De CUYPER és mts. (2005) korábban 19 különböző *S*-*RN-áz* allélt határoztak meg, hasonlóan mandulában ORTEGA és mts. (2005) illetve KODAD és mts. (2010), 29 *S*-allélt, kajsziban HALÁSZ és mts. (2005) 15 *S*-allélt azonosítottak (SUTHERLAND és mts. 2008), valamint az almában vagy a körtében számuk meghaladja az 50-et is (HALÁSZ és mts. 2011). Ráadásul a poliploid genom szerkezete még inkább kedvez a különböző allélok kialakulásának (AINOUCHE és WENDEL 2014).

A hagyományos- és tájfajták közül háromban ('Duránci', 'Büchler Fruchzweischege', 'Zöld ringló') csupán egyetlen fragmentum amplifikálódott. Több oka is lehet annak, hogy valamennyi minta esetében a maximálisan lehetséges hat allélváltozat helyett, miért jelentkezett jóval kevesebb allél jelenlétére mutató fragmentum. Egyes allélok megjelenésének elmaradását magyarázhatja az ún. preferenciális amplifikáció jelensége (WALSH és mts. 1992), amennyiben az adott hiányzó szekvencia felszaporításához az általunk alkalmazott konszenzus primerpár nem volt alkalmas. Mindez akkor fordulhat elő, amennyiben a célzott allélok szekvenciája közötti eltérés olyan mértékű, hogy azáltal az alkalmazott primerek illeszkedése és kötődése elmarad (BRACE és mts. 1993). Ugyanakkor az is elképzelhető, hogy egy vagy több allél több példányban is jelen van (homozigóta formában) ugyanazon mintában (KOTA-DOMBROVSKA és LACIS 2013). Magasabb ploidia szinten, több allél együttes jelenléte miatt előfordulhat az is, hogy megegyező vagy közel azonos méretű, ám nukleotidsorrendjük alapján különböző allélok is találhatóak a lókuszbán, melyek elkülönítésére, vizuális megjelenítésére az ILP-technika nem bizonyult alkalmasnak. Ellenben fluoreszcens jelű specifikus hibridizációs próbával ki lehetne mutatni, hogy hány példányban van jelen egy adott allél („Fluoreszcens in situ hibridizáció”, FISH). Ilyen jellegű vizsgálat elvégzésére a fás szárú poliploid növények esetében még csak nemrégiben kezdődtek meg a vizsgálatok a módszer nehéz kivitelezhetősége végett.

6.4.1. Az újonnan azonosított szilva S-RN-áz allélok jellemzése

Először SUTHERLAND és mts. (2004a,b) végzetek molekuláris vizsgálatokat a szilva S-lókuszán, az általuk azonosított három szilva S-allélt (S_5 , S_6 , S_9) (SUTHERLAND és mts. 2008) is sikeresen kimutattuk a vizsgálatba vont genotípusok között, így az S_6 -allélt 9 db gazdasági- és 2 db tájfajta hordozta, míg a 'Haganta' fajta az S_5 , a 'Jojo', a 'Stanley' és a 'Topfive' fajta az S_9 -allélt. Az S_5 - és az S_9 -allél csupán a gazdasági szilvafajtákban voltak kimutathatók, szemben az S_6 -os alléllal, mely a gélképek alapján a tájfajták széles körében is detektálható volt. Az S_5 -allélt korábban a 'Bluerock' fajtában, az S_9 -allélt a 'Verity' fajtában azonosították (SUTHERLAND és mts. 2008). Az újonnan azonosított allélok közül három S-allél (S_{26} , S_{28} , S_{29}) kizárólag a hagyományos- és tájfajták körében volt kimutatható. Ugyanakkor ezen egyedek körében számos esetben megtapasztaltuk, hogy különböző fajtanév ellenére is S-genotípusosan teljesen azonosak, mint a 'Páczelt szilvája', a Kecskeméti 101' és a 'Victoria' esetében, illetve az azonos elnevezés alá kerülő fajták körében, mint Besztercei klónok, Fehérszilvák, Vörös szilvák, Gömöri nyakas és Bódi szilvák S-genotípusában sem észleltünk változást. Az összes azonosított S-allélnak (24 db) viszonylag szűk keresztmetszetét alkották azok az S-allélok, melyek minden vizsgált genotípuscsoportban (gazdaság/modern-, hagyományos- és tájfajta) fellelhetőek voltak: S_6 , S_{10} , S_{11} , S_{13} , S_{14} , S_{17} , S_{20} , S_{21} .

A *Prunus* S-RN-áz allélok zömére helytálló az a kijelentés, hogy 2. intronjuk mérete meghaladja az 1. intron méretét. A termesztett cseresznyefajtákból és vad cseresznyepopulációkból izolált S-RN-áz allélok közül 21 allélnak ismerjük pontosan az 1. és 2. intron méretét, ugyanakkor mindössze egy allél esetén bizonyult az első intron nagyobbnak, mint a második (SONNEVELD és mts. 2003, WÜNSCH és HORMAZA 2004, De CUYPER és mts. 2005). Mandulánál 28 allélból 10 (ORTEGA és mts. 2005, 2006), japán szilvánál 8 allélból 2 (BEPPU és mts. 2002, HALÁSZ és mts. 2007) esetben haladja meg az 1. intron mérete a 2. intronét. A már ismert 3 szilva S-allél 1. intronrégió méreteit HALÁSZ és mts. (2014b) közölték, eredményeik alapján az S_5 esetében 382 bp, az S_6 esetében 384 bp, míg az S_9 -allélnál 388 bp hosszú. Ezen adatokat összevetve az általunk kapott S_5 -, S_6 -, S_9 -allélok 2. intronrégióinak hosszeredményeivel, azt tapasztaltuk az S_6 -allél esetében, hogy az 1. intronrégió mérete (384 bp) valóban megelőzi a 2. intronrégió méretét (292 bp), míg a másik két allélnál (S_5 , S_9) a 2. intron bizonyult a nagyobbak (S_5 : 639 bp; S_9 : 485 bp).

Egy előzetes vizsgálat során HALÁSZ és mts. (2014b) 18 különböző S-RN-áz allélt detektáltak 16 fajtában, amely a jelentős mértékű genetikai variabilitást bizonyítja. Teljes allélszekvencia hiányában ezen allélok jelölésére átmenetileg alfabetikus kódokat használtak S_A - S_S -ig. Később az allélszekvenciák ismeretében a többi *Prunus* fajhoz hasonlóan numerikus jelöléssel különböztették meg

az allélokat (S_5 – S_{22}). A szekvenciaadatok alapján az eddig ismeretlen allélok elnevezését HALÁSZ és mts. (2014b) által indítványozott korábbi számsort követve S_{22} -tól S_{29} -ig adtuk meg (KURILLA 2015).

Az S -allélok C2 és C5 régiók közötti mérete 557 (S_{10}) és 1326 bp (S_{11}), míg ezen allélok 2. intronrégióira kapott méretek 141 bp (S_{10}) és 910 bp (S_{11}) között változtak. A *Prunus S-RN-ázok* 2. intronrégiójának ilyen nagyfokú méretbeli polimorfizmusa (ILP) az agaróz-gélelektroforézisből származó eredményeket illetően nem volt meglepő, valamint a *Prunus* fajok között jellemzően megszokott jelenségnek számít (SONNEVELD és mts. 2003). Összehasonlításképpen, az *S-RN-ázok* 2. intronrégiójának hossza mandulában 80 és 2872 bp (ORTEGA és mts. 2006), a Közép- és Dél-Afrika hegységi területein elterjedt afrikai szilvában (*P. africana*) kb. 245 és 3000 bp (NANTONGO és mts. 2016) között változik.

A *Prunoideae* alcsaládban az S -lókuszra érintő mutációk több, mint a fele a pollenkomponensre jellemző (HEGEDŰS és mts. 2012), de előfordulnak bibe oldali mutációs események is. Az általunk megszekvenált szakaszok vizsgálata során egy esetben detektáltunk egy fehérje szinten is megmutatkozó mutációs eseményt az azonosított *S-RN-áz* allélok között. Az S_{16} -allél esetében izoláltunk egy vele nukleotidszinten nagymértékben hasonló, de nem teljesen egyező szekvenciát, melyek megjelölésére az S_{16m} megnevezést alkalmaztuk. A nevekben az „m” betű az allélpár másik szekvenciájához viszonyított, feltételezhető mutációs eseményekből eredő változásra utal, ahogyan azt már korábban a cseresznye nevezéktana kapcsán SZIKRISZT és mts. (2013) alkalmazták. Az S_{16m} -allélban bekövetkezett mutáció az allél funkcióképtelenségéhez vezethetett, ugyanis a gén fehérjekódoló régiójában történt nukleotid-szubsztitúcióval járó változás, melynek következtében egy idő előtti stop kodon alakult ki. Hasonló változás történt a meggy S_{6m2} -*RN-áz*-ban, ahol szintén egy 2 bp-os szubsztitúció kereteltolódást eredményezett, amely egy korai stop kodon kialakulását idézte elő (TSUKAMOTO és mts. 2006). Később még egy ilyen eseményt azonosítottak: az S_{36b2} -*RN-áz* az S_{36b} -*RN-áz*-tól egy 1 bp-os szubsztitúcióban tér el a C2-es konzervatív régióban, amely ugyancsak egy korai stop kodont eredményez (TSUKAMOTO és mts. 2010).

6.4.2. A vizsgálatba vont egyedek S -genotípusa

Az önmeddő fajok termesztése során elengedhetetlen az S -genotípusuk ismerete az ideális ültetvénytervezés érdekében, hiszen a megfelelő pollenadók hiányában elmarad a termékenyülés (TAO és IEZZONI 2010). Mivel a vizsgált növényanyagban rendkívül nagymértékű polimorfizmust tapasztaltunk, az összes szilvafajta egymással kompatibilisnek tekinthető, szinte mindegyik vizsgált fajta elérő S -genotípust mutat. Mindössze két tájfajta pár esetében beszélhetünk S -genotípusbeli

azonosságról, méghozzá a ‘Kecskeméti 101’ és a ‘Páczelt szilvája’ $S_6S_{10}S_{17}S_{26}$ alléllösszetétellel, illetve a ‘Bódi szilvák’ (1, 2) és a ‘Lengyel’ szilva $S_{10}S_{14}S_{17}S_{21}S_{26}$ alléllösszetétellel. Ugyanakkor ezen fajták mindegyike öntermékenyülő, így egymást kölcsönösen termékenyíteni képesek. Természetesen a genetikai háttérén kívül a sikeres termékenyülés elengedhetetlen feltétele, hogy az adott növények egy időben virágozzanak (NYÉKI és mts. 2006). Néhány szilvafajta esetében a hímsterilitás jelensége is előfordulhat, de ez S-lókusztól független, dominánsan öröklődő jelleg, melynek pontos genetikai háttere még nem ismert. Ilyen fajták telepítése tovább bonyolítja az ültetvény tervezését (SZABÓ és mts. 1999). Romániában 12 értékes szilvafajta bizonyult hímsterilnek, melyek mindegyike a ‘Tuleu gras’ magoncaként keletkezett (BOTU és mts. 2002).

6.4.3. Az új európai szilva *S-RN-áz* allélok filogenetikai elemzése

A szilvában található S-allélok vizsgálata jó kiindulási pont lehet e gyümölcstermő növény eddig ismeretlen származásának felderítéséhez is. Jóllehet önmagában nem igazoló erejű, a közel rokon fajok bármelyikével egyező S-allélok valószínűsíthetők, hogy az adott faj hozzájárulhatott a hexaploid faj genomjának kialakulásához. Egyéb *Prunus* S-allélokkal való egyezés és az egyezés mértékének elemzése az *S-RN-áz* allélok evolúciójára vonatkozóan adhat értékes információt. A vizsgálataink során minden esetben kizárólagosan más *Prunus* fajokban detektált *S-RN-áz* allélszekvenciákat kaptunk, mindezt a közös eredetük valószínűsége magyarázza (IGIC és KOHN 2001).

A transzspecifikus allélok létezésére az egyik ésszerű magyarázat, ha feltételezzük, hogy elődjük egy olyan fajban alakult ki, mely a közös őse mindazon fajoknak, melyekben a transzspecifikus allélok előfordulnak. Az egyes fajok kialakulásának, vagyis a közös őstől való elválásának pillanatától kezdve a transzspecifikus allélok szekvenciájában különböző, az egyes fajokban eltérő változások mehetnek végbe, melyek mértéke arányos a fajok szétválása óta eltelt idő mértékével. A transzspecifikus evolúció jelenségét a Solanaceae családban és a *Maloideae*, valamint a *Prunoideae* alcsaládokban egyaránt kimutatták (IOERGER és mts. 1990, SASSA és mts. 1996, SUTHERLAND és mts. 2008). A transzspecifikus allélok tanulmányozásának tehát alapvető jelentősége lehet abban, hogy a rokon-, jelen esetben a *Prunus* fajok, köztük is az európai szilva genomevolúciójáról információt nyerjünk (SUTHERLAND és mts. 2008). Kisebb hasonlóságot mutató szekvenciák esetében ez a vizsgálat értelmetlen az intronszekvenciák nagyfokú ploimorfizmusa végett (SONNEVELD és mts. 2003), a transzspecifikus allélpárok esetében azonban az teszi lehetővé az illesztést, hogy azok intronrégiói szekvenciájának is tükröznie kell a hasonlóságot. Mivel azonban az intron nem-kódoló régió, eltérése, mutációs események még transzspecifikus allélok esetében is gyakran bekövetkezhetnek.

SUTHERLAND és kutatócsapata (2008) szerint a második intronrégió összehasonlítása során a kapott azonossági értékek elkülönülő csoportokba voltak oszthatóak, mely szerint egyes transzspecifikus allélpárok intronjai kismértékű (<57,9%), míg mások, az elvártakhoz mérten nagyfokú hasonlósággal (74,1–99,9%) voltak jellemezhetőek. Analízisünk eredményei hasonlóan alakultak a SUTHERLAND és mts. (2008) által bemutatottakhoz képest: az intronrégiók közötti kisebb mértékű egyezés 39,8–63%, ugyanakkor a nagyobb mértékű azonosság 69,4–99,6%-os értékek között változtak. SUTHERLAND és mts. (2008) szerint az intronrégiók nagyfokú azonossága a transzspecifikus allélok viszonylag recens szétválásának, míg a mutációs események nagy száma az allélok jelentősen korábban bekövetkezett elválásának valószínű bizonyítékai. Vizsgálataink során hat olyan transzspecifikus allélt azonosítottunk, melyek intronrégiójukban is kimagasló azonosságot mutattak (95,9–99,6%): S_{11} - *Psal* S_{26} , S_{12} - *Psal* S_{23} , S_{14} - *Pspin* S_{3-1} , S_{14} - *Pspin* S_{3-2} , S_{14} - *Psal* S_{25} , S_{23} - *Pspin* S_8 , S_{24} - *Pavi* S_{30} . Ennek alapján következtetünk arra, hogy az előbb említett allélpárok, illetve az őket hordozó fajok evolúciós mértékkel mérve a közeli múltban váltak el. Ugyanakkor az is elképzelhető, hogy ezen allélok már a fajok elválását követően, de még azok azonos földrajzi elterjedése idején, ún. introgressziós úton, azaz természetes körülmények között végbement hibridizáció révén kerültek át egyik fajból a másikba (SUTHERLAND és mts. 2008).

Az európai szilva eredetéről szóló számos, mind a mai napig nem bizonyított hipotézisek egyike a *Prunus* fajok szélesebb körének részvételét feltételezte a faj kialakulásához vezető interspecifikus kereszteződések során, például a *P. cerasifera*, *P. spinosa*, *P. salicina*, *P. armeniaca*, *P. persica* és *P. microcerasus* fajokét (ERYOMINE 1991). Tekintve, hogy az *S-RN-áz* allélok intronrégiójában igen nagy a mutációs események (nukleotidszubsztitúciók, inszerció-delécio) gyakorisága – hiszen azok szelekciós szempontból semleges hatásúak (PATTHY 2009) –, az európai szilvának a *P. salicina*, *P. spinosa* és *P. avium* allélokkal >95%-ban egyező intronszekvenciái viszonylag recens introgressziós események lenyomatának tekinthetők, ami alátámasztaná az európai szilva komplex eredetét. A további transzspecifikus európai szilva allélok szekvenciapárját hordozó faj jellemzően a REHDER (1940) rendszertana szerinti *Prunus* alnemzetségből (*P. armeniaca*, *P. mume*, *P. simonii*, *P. tenella*, *P. humilis*), négy esetben (*P. dulcis*, *P. webbii*, *P. persica*, *P. mira*) az *Amygdalus* alnemzetségből, míg egy-egy esetben a fűrtvirágzatúak kládjába tartozó *Padus* alnemzetségből (*P. virginiana*), valamint a sátorosvirágzatúak kládjába tartozó *Cerasus* alnemzetségből (*P. pseudocerasus*) (CHIN és mts. 2014) került ki.

6.4.4. Az újonnan azonosított teljes *S-RN-áz* allélok meghatározása az európai szilvában

Elsőként terveztünk új allél-specifikus reverse oldali PCR primereket az európai szilvára annak érdekében, hogy teljes képet kapjunk bizonyos *S*-allélok esetében az *S-RN-áz* gén SP-C5-ig terjedő régió szekvenciájáról. A tervezett primerek az *S-RN-áz* gén C2 konzervatív régiójától downstream irányban megtalálható 2. intron régiójába kötődnek, melyekhez forward oldali párként a cseresznye *S-RN-áz* génjére tervezett (PaConsI) primert rendeltük hozzá (SONNEVELD és mts. 2003).

A vizsgált *S*-ribonukleázok hossza (SP; C1-C5) 184 és 191 aminosav között változott, ahol a méretbeli eltérések nagy része a C5 régiót megelőző szakaszon megjelenő indel polimorfizmusnak köszönhető. A polipeptidlánc C-terminális oldalán található hurok szerkezeti elemekben az inszerciós/deléciós mutációk gyakran bekövetkeznek, mert nincs káros szelekciós következményük (PATTHY 2009). Az új teljes szilva *S*-allélok egymással nukleotidszinten átlagosan 83,7%, fehérjeszinten 75,2%-os azonosságot mutattak. ORTEGA és mts. (2006) is hasonló szekvenciaegyeztési határértékeket figyeltek meg a mandula *S*-allélok fehérjeszintű vizsgálata során, ahol az értékek 46,6% és 93,9% között mozogtak, ami átlagosan 70,4%-os egyezést jelentett.

Továbbá annak érdekében, hogy megerősítsük azt a tényt, miszerint valóban funkcióképes *S*-ribonukleázokat azonosítottunk, elvégeztük a KYTE-DOOLITTLE-féle (1982) hidrofobicitási-analízist. Az így kapott grafikonon a fehérje hidrofób és hidrofil régiói megadásával azonosítottuk az *S-RN-áz* gén tisztító szelekció hatása alatt álló ribonukleáz enzimaktivitásához nélkülözhetetlen, illetve az allélspecifikus felismerésben döntő szerepű szekvenciaregióit, mely utóbbiak felett a pozitív szelekció hatása érvényesül. A *Pyrus pyrifolia* *S₃-RN-áz* enzim négy régiójában (PS1-PS4) mutatták ki a pozitív szelekció hatását (ISHIMIZU és mts. 1998), melyek egyike sem felel meg a C1 és C2 régiók közti szakasznak. A pozitív szelekció a fehérjekódoló gének azon szakaszán jelentkezik, ahol a nem szinonim mutációk száma meghaladja a szinonim mutációk számát, vagyis ahol a fehérje aminosav-sorrendjének változása feltehetően evolúciós, adaptív előnyt jelent az élőlény számára. A *Prunus* *S-RN-áz* génben azonban ez a régió sokkal variábilisabb, mint a *Maloideae* gének esetében (VILANOVA és mts. 2005, ORTEGA és mts. 2006).

6.5. Az európai szilva *F-box* gén polimorfizmusa

Több mint egy évtizede ENTANI és mts. (2003) írták le elsőként az önmeddő japán kajsz (P. mume) analízise kapcsán a rendszer pollen oldali komponensét, az *F-box* gént. Az öntermékenyülést a

Prunus fajokban sok esetben az *SFB* gén mutációs megváltozása okozza (HEGEDŰS és mts. 2012), ezért nem elegendő csak a bibekomponens elemzése a rendszer hátterének feltárásához.

A NUNES és mts. (2006) által eredetileg az allotetraploid kökényre tervezett konszenzus primerpárt (62F és 1010R) használtuk, lefedve ezáltal az *SFB* gén kódoló régióit (F-box motívum–HVb). Eredményeink nagy hasonlóságot mutattak NUNES és mts. (2006) vizsgálati eredményeivel, ahol a kapott fragmentumok mérete, hasonlóan a mi értékeinkhez [958 bp (*SFB_F*)–979 bp (*SFB_B*)], 935 bp volt. A *Prunus* fajokra jellemző, hogy *SFB* génjük 5' vége felőli UTR szakaszán egy 100 bp körüli intron helyezkedik el (USHIJIMA és mts. 2003, YAMANE és mts. 2003a,b). VAUGHAN és mts. (2006) fluoreszcens jelölésű primereket tervezett a cseresznyéből származó *SFB*-allélok intronrégióját körülvevő szekvenciára. Az így felszaporított *SFB*-fragmentumok közül több allélnál megegyező méretet detektáltak, ezért ebben az esetben az RN-áznál alkalmazott ILP-markerezés nem célravezető genotipizálási módszer.

Összesen 10 db eddig még nem ismert *SFB* allélt azonosítottunk 17 európai szilvafajta analízise során. A kapott szekvenciákat alfabetikus jelöléssel (*SFB_A*–*SFB_J*) különítettük el, mert ennyi információ alapján még nem lehet hozzárendelni RN-áz párjukhoz a szekvenciákat. A leggyakoribb alléloknak az *SFB_C* és az *SFB_G* bizonyultak, hét esetben voltak detektálhatóak.

Japán szilva (*P. salicina*) S-lókuszában ZHANG és mts. (2007) azonosítottak először *SFB* fehérjét. Nyolc teljesen új, korábban még nem detektált, más *Prunus* fajokkal homológ *SFB* szekvenciákat írtak le, melyeket Ps*SFB* gyűjtőnévvel láttak el. Az azonosított nyolc japán szilva Ps*SFB* szekvencia S-haplotípus-specifikus polimorfizmust mutatott, 74–83% -os aminosav-azonossággal, az általunk detektált értékekhez hasonlóan (64,4–97,1%). SUTHERLAND és mts. (2008) vizsgálataik során a *P. domestica* ‘Verity’ fajtában három *SFB*-allélt azonosítottak, és ezen allélok aminosav-szekvenciái rendkívül szoros hasonlóságot mutattak más *Prunus* fajokban megtalálható *SFB*-allélokkal: *P. domestica* S₅ 97,0% -os azonosságot mutatott a *P. dulcis* ‘Gabaix’ fajta S₁₀-alléllal; *P. domestica* S₆ 97,6% -os azonosságot mutatott a *P. salicina* ‘Burmosa’ fajta S_a-alléljával, valamint *P. domestica* S₉ egy kicsit alacsonyabb 93,3% -os azonosságot mutatott a *P. avium* S₄ *SFB*-alléllal. Mi is hasonló mértéket tapasztaltunk a szekvenciák elemzése során.

A szilvafajták nagy többsége öntermékenyülő, így feltételezhető hogy az S-RN-áz gén által gyűjtött mutációk hatására új funkcionális kapcsolat alakulhat ki a megváltozott, működésképtelen *SFB*-allélokkal, ami új allélspecifitás kialakulásához vezethet. Korábban HALÁSZ és mts. (2007) is írtak le erre utaló szekvenciaváltozásokat öntermékenyülő kajszinál. A 10 új szekvencia közül egy

esetben azonosítottunk olyan mutációt, amely funkcióvesztést okozhat, így ezen allél jelölésére az *SFB_J*’ nevezéktant javasoljuk.

6.5.1. Az *SFB*-allélok filogenetikai vizsgálata

Az általunk izolált *F-box* allélokból (*SFB_A*-*SFB_J*) származó aminosav-szekvenciáit meghatároztuk, majd az NCBI adatbázisban található 32 *Prunus* valamint 10 *Malus* és *Pyrus* *SFB* szekvencia bevonásával filogenetikai vizsgálatot végeztünk csoportátlag eljárás (UPGMA) alapján. A Rosaceae családon belül a *Maloideae* és *Prunoideae* alcsaládok egymástól jól elkülönülnek, amit e két alcsaládba tartozó fajokból izolált *SFB*-allélok szekvenciáinak csoportosulása is tükröz. A két alcsalád S-haplotípus F-box fehérjéi valamennyi filogenetikai analízis során a *Prunus* S-alléloktól elkülönülő, monofiletikus csoportot alkottak (CHENG és mts. 2006, MATSUMOTO és mts. 2008, MATSUMOTO és TAO 2016a,b). CHENG és mts. (2006) S-RN-áz és *SFB* szekvenciák filogenetikai vizsgálata során úgy tapasztalták, hogy az almafélék S-alléljai közelebbi evolúciós kapcsolatban állnak a Plantaginaceae (*Antirrhinum* fajok) és Solanaceae (*Petunia* fajok) családok S-alléljaival (*SLF/SFB* és *S-RN-áz*), mint a *Prunus* fajok S-alléljaival. A *Maleae* nemzetségcsoportba, a Solanaceae és a Plantaginaceae családokba tartozó fajok S-lókusza hasonló felépítésű és többféle *F-box* gént tartalmaz, ami megnehezíti a valódi pollen oldali S-gén izolálását, nem úgy mint a *Prunus* nemzetség fajainál, ahol egy *F-box* gén található (ENTANI és mts. 1999, WANG és KAO 2012, MATSUMOTO és TAO 2016a,b). KAKUI és mts. (2011) bizonyították, hogy a japán körte (*Pyrus pyrifolia*) egy többtényezős faktor által irányított „nem-saját felismerési” SI rendszerrel rendelkezik („non-self recognition by multiple factors”), ami azért meglepő, mert ez a típusú inkompatibilitási modell a Solanaceae családra jellemző (KUBO és mts. 2010). Ebben az esetben a pollenkomponens funkcióvesztése nem vezet öntermékenyüléshez. A két eltérő működési elv előfordulásának oka a különböző taxonokban még nem tisztázott.

A jelenlegi ismereteink szerint feltételezzük, hogy a *Prunus* F-box fehérje segíti felszabadítani az S-RN-ázok citotoxikus hatásait és ezáltal indukálni az inkompatibilis reakciókat. Ezzel szemben más fajok S-haplotípus F-box fehérjéi (azaz SLF-ek és SFB-k) felismerik a saját S-RN-ázokat és semlegesítik azokat az inkompatibilis reakciók elkerülése végett. Kompatibilis kapcsolat esetén a *Prunus* S-RN-ázok degradálásának magyarázatára a kutatók feltételezik, hogy létezik egy általános inhibitor molekula („general inhibitor”, GI), amely képes semlegesíteni a pollentömlőkbe belépő S-RN-ázokat (LUU és mts. 2001, TAO és IEZZONI 2010). Az SFB fehérje N-terminális végén konzerválódott és a tisztító szelekció hatása alatt álló F-box motívumnak köszönhetően az SFB fehérjét az SCF-komplex (Skp1 – Cullin – F-box) részének tekintjük (IKEDA és mts. 2004, NUNES és mts.

2006). Mindezt megerősíti az SFB-vel kölcsönhatásba lépő Skp1-like funkcionális fehérje (azaz SSK1) azonosítása is. Ezen túlmenően feltételezzük, hogy az UPS („ubiquitin proteasome system”- ubiquitin proteasóma rendszer) segít szabályozni az SI-fenotípus kialakulását a *Prunus* fajokban (MATSUMOTO és mts. 2012). Érdekes, hogy a *Prunus* SSK1 a Solanaceae, a Plantaginaceae és a *Maleae* fajok SSK1 fehérjének az ortológja, ellenben a pollen F-box fehérjékük filogenetikailag távolabb helyezkedik el egymástól (MATSUMOTO és mts. 2012, XU és mts. 2013, De FRANCESCHI és mts. 2019). Ezen ismereteket az eredményeink során kapott törzsfá is alátámasztja. Mindezek a tények azt sugallják, hogy az evolúció során a *Prunus* fajok F-box fehérjéje, a többi növényfajban megtalálható F-box fehérjékhez képest az S-lókuszt támogatta SI rendszerben, a közös SI molekuláris alapkomponeensek ellenére is eltérő funkció ellátására specializálódott.

6.6. Új tudományos eredmények

1. Mikroszatellit markerek (SSR) segítségével igazoltuk, hogy a magyar szilva tájfajtákat jelentős mértékű genetikai polimorfizmus jellemzi. Adataink közvetlenül felhasználható információt adnak a hazai tájfajták nemesítési és termesztési programokban történő felhasználásához.
2. Több esetben bizonyítottuk, hogy a különböző területekről származó, azonos néven fenntartott tájfajták genetikailag nem egyöntetűek (Vörös szilva, Gömöri nyakas és Bódi szilva).
3. Az SSR-analízis során kapott eredményeink alapján a ‘Fehérszilva’ a ‘Vörös szilva’ tájfajtának egyik változata lehet, nem pedig a ‘Besztercei’ szilvából kialakult tájfajtánk, melyet ‘Fehér Besztercei’ néven írtak le.
4. Összesen 24 S-ribonukleáz allélt azonosítottunk hexaploid szilvafajok 55 fajtájában. Ezek közül 11 allél részleges (C2-C5), valamint 3 allél (S_{12} , S_{13} , S_{17}) teljes (SP-C5) szekvenciáját elsőként határoztuk meg. Az S-RN-áz allélok jellemző intronméreteit megállapítottuk, ezért ILP-markerezéssel az allélok detektálhatók.
5. Összesen 10 új SFB allélszekvenciát határoztunk meg 17 *Prunus domestica* fajtában. A jellemzett allélokat alfabetikus jelöléssel (SFB_A - SFB_J) különítettük el.
6. Azonosítottunk egy feltehetően funkcióképtelen S-RN-áz és F-box allélt (S_{16m} és SFB_J).
7. Meghatároztuk 55 különböző eredetű szilvafajta (20 modern, 12 hagyományos, 20 tájfajta és 3 alanyfajta) teljes vagy részleges S-genotípusát.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Dolgozatomban a hexaploid európai szilva (*Prunus domestica* L.) hazánkban fellelhető hagyományos- és tájfajtáinak genetikai variabilitását térképeztem fel és összevettem a gazdaságilag fontosabb fajtákkal, valamint elvégeztem a *P. domestica* termékenyülési viszonyait irányító S-lókuszt átfogó molekuláris szintű analízisét. Eredményeim a következőképpen foglalhatóak össze:

Mikroszatellit markerek segítségével jellemeztük 17 gazdaságilag jelentős európai szilvafajta, 13 hagyományos- és 25 tájfajta genetikai variabilitását és megkülönböztethetőségét, illetve filogenetikai kapcsolatát. Vizsgálataink során diploid *Prunus* fajok analízisére tervezett, hét SSR primert alkalmaztunk. Mind a 7 lókuszt polimorfnek bizonyult, összesen 135 allélt detektáltunk. Ez átlagosan 19,3 allélt jelent lókuszonként. A legnagyobb allélszámot (26–27) a CPSCT021 és CPDCT044 lókuszon állapítottuk meg, míg a legkisebbet (6) a BPPCT037 lókuszt eredményezte.

STRUCTURE analízis segítségével meghatároztuk a vizsgált egyedek közötti genetikai csoportok számát, amely alapján a legnagyobb valószínűség szerint három fő klaszterbe sorolhatók a minták ($K=3$). Továbbá meghatároztuk az alcsoportok közötti genetikai differenciálódás mértékét is (F_{st}). Ezen és a filogenetikai vizsgálat, valamint a PCA analízis során kapott eredmények alapján megállapítható, hogy az európai szilvafajtákat jelentős mértékű genetikai variabilitás jellemzi. Továbbá vizsgálati eredményeink adták az első bizonyítékot arra vonatkozóan, hogy a különböző területekről származó, azonos névvel ellátott tájfajták genetikailag nem mondhatók egyöntetűnek (Vörös szilva, Gömöri nyakas és Bódi szilva), valamint a 'Fehérszilva' a 'Vörös szilva' tájfajtájának egyik változata lehet, nem pedig a 'Besztercei' szilvából kialakult tájfajtánk. Meghatároztuk a magyar tájfajták DNS-alapú azonosításának kidolgozásához szükséges egyedi SSR-ujjlenyomatokat.

A szilvák termékenyülésére, akár csak a Rosaceae növény család más fajaihoz hasonlóan a gametofitikus inkompatibilitási rendszer a jellemző. 55 európai szilvafajta S-lókuszáinak analízisét végeztük el. Az *S-RN-áz* gén 2. intron régiójának analízise során a fragmentumok mérete igen nagy variabilitást mutatott 550 és 4000 bp közötti értékekkel. Az *S-ribonukleáz* gén C2-C5 szakaszáról 113 db PCR-fragmentumot klónoztunk, majd az ismétléseket követően 339 db DNS-szekvencia állt a rendelkezésünkre az eredmények kiértékeléséhez. Összesen 24 különböző méretű fragmentumot detektáltunk, amelyből 11 allél részleges (C2-C5), valamint 3 allél (S_{12} , S_{13} , S_{17}) teljes (SP-C5) szekvenciáját elsőként írtunk le. A kimutatott S-allélok azonosságának megerősítése végett, a részleges és a teljes *S-RN-áz* allélokat BLASTN homológiavizsgálattal ellenőriztük a GenBank adatbázisában. Megállapítottuk az *S-RN-áz* allélok jellemző intron méreteit. Vizsgálataink során hat olyan

transzspecifikus allélt azonosítottunk, melyek intronrégiójukban is kimagasló azonosságot mutattak (95,9–99,6%): S_{11} - *Psal* S_{26} , S_{12} - *Psal* S_{23} , S_{14} - *Pspin* S_{3-1} , S_{14} - *Pspin* S_{3-2} , S_{14} - *Psal* S_{25} , S_{23} - *Pspin* S_8 , S_{24} - *Pavi* S_{30} . Ezek viszonylag recens introgressziós események lenyomatának tekinthetők és alátámaszthatják az európai szilva komplex eredetét.

A rendszer pollenkomponensét kódoló *SFB* gén analízise során a kapott fragmentumok mérete 935 bp volt, mely a szakirodalomban fellelhető más fajok esetében kimutatott értékek közel azonosnak bizonyult (NUNES és mts. 2006). 17 *Prunus domestica* fajtában összesen 10 új *SFB* allélszekvenciát izoláltunk, a kapott allélokat alfabetikus jelöléssel (SFB_A - SFB_J) különítettük el. Más *Prunus SFB*, *Malus* és *Pyrus SFB* szekvenciák használatával filogenetikai vizsgálatot végeztünk, mely tovább igazolta a *Prunoideae* és a *Maloideae* alcsaládok *S*-haplotípus *F*-box fehérjéinek különbözőségét az *S*-lókusz támogatta SI rendszerben.

Sikeresen azonosítottunk egy feltehetően funkcióképtelen *S-RN-áz* és *F-box* allélt (S_{16m} és SFB_J). Mindkét esetben a gén fehérjekódoló régiójában bekövetkezett nukleotidszubsztitúcióval járó mutációt detektáltunk, mely nonszensz mutációhoz, vagyis az allél funkcióvesztéséhez vezetett.

Összesen 55 különböző eredetű szilvafajta (20 modern, 12 hagyományos, 20 tájfajta és 3 alanyfajta) teljes vagy részleges *S*-gentoípusát azonosítottuk, így a vizsgálatba vont egyedek elkülönítése az egyedi *S*-genotípusuk alapján sikeresnek bizonyult.

Az európai szilva *S*-haplotípusok teljes génszekvenciájának hiánya miatt, jelenleg semmilyen adat nem áll rendelkezésünkre az öntermékenyülés megjelenéséről. Amennyiben az öntermékenyülés molekuláris háttere azonos a meggy esetében leírt mechanizmussal, vagyis minimum két funkcióképtelen *S*-haplotípusra van szükség az öntermékenyülés kialakulásához (HAUCK és mts. 2006), akkor a hexaploid *P. domestica* esetében viszont három funkcióját veszített halotípus együttes jelenléte okozhat öntermékenyülő fenotípust (MAKOVICS-ZSOHÁR és HALÁSZ 2016).

Az európai szilvafajták *S*-genotípusainak azonosítása az *S-RN-áz* allélok variabilitása alapján, valamint a *P. domestica* tájfajták és a gazdaságilag jelentősebb fajták genetikai variabilitásának és megkülönböztethetőségének jellemzése mikroszatellit markerek segítségével, mind gyakorlati, mind kultúrevolúciós szempontból értékes eredményeknek tekinthetők és fontos alapját képezik további vizsgálatoknak.

8. SUMMARY

Genetic variability of Hungarian traditional and landscape European hexaploid plum (*Prunus domestica* L.) cultivars was compared to economically important international cultivars. Moreover, we carried out a comprehensive molecular analysis of self- and mutual compatibility relationships.

The results can be summarized as follows:

Genetic variability, diversity and phylogenetic relationship analysis of 17 economically significant, 13 traditional and 25 landscape cultivars were carried out with 7 microsatellite markers. The primer pairs amplified a total of 135 alleles ranging from six to 27 alleles per locus, displaying high polymorphism. The highest number of alleles was observed with markers CPDCT021 and CPDCT044 (26 and 27, respectively) and only 6 alleles occurred in BPPCT037 loci.

STRUCTURE analysis indicated three genetically distinct groups of the studied genotypes ($K=3$). F_{st} values, the neighbor-joining cluster analysis and principal component analysis (PCA) concluded that foreign modern cultivars clustered together, and Hungarian landraces positioned distantly from those.

Each accession was characterized by unique microsatellite fingerprint. This could serve as a basis of molecular identification of Hungarian landscape accessions. Most genotypes kept under identical name ('Vörös szilva', 'Gömöri nyakas' and 'Bódi szilva' accessions from different regions) showed different DNA fingerprints. Our data clarified the origin of 'Fehérszilva' which supposed to be a variant of 'Vörös szilva' and not 'Besztercei' plum as previously reported.

Plums, like other species of the Rosaceae family, show a gametophytic incompatibility system. We analyzed the *S*-locus of 55 European plum accessions. Allelic variants of the locus can be represented by different sizes of 2nd intron region of *S-RNase* gene. We observed high variability with values ranging from 550 to 4000 bp. Altogether 113 PCR amplicons of C2-C5 region were cloned resulting 339 DNA sequences. Twenty-four different fragments were detected, 11 alleles with partial (C2-C5) and 3 alleles (S_{12} , S_{13} , S_{17}) with complete (SP-C5) sequences. We identified six trans-specific alleles using GeneBank database that showed remarkable identity in their intron region (95.9–99.6%): S_{11} - *Psal* S_{26} , S_{12} - *Psal* S_{23} , S_{14} - *Pspin* S_{3-1} , S_{14} - *Pspin* S_{3-2} , S_{14} - *Psal* S_{25} , S_{23} - *Pspin* S_8 , S_{24} - *Pavi* S_{30} . These data can be imprints of relatively recent introgression events, and could support theory of complex origin of European plum.

The pollen component of *S*-allele system, the *S*-haplotype F-box (*SFB*) locus was also characterized. Size of the fragments was very similar with the locus of other species published earlier. A total of 10 novel sequences were isolated in 17 *Prunus domestica* cultivars and the new alleles were labeled alphabetically (*SFB_A*-*SFB_J*). Phylogenetic analysis was performed using other *Prunus*, *Malus*, and *Pyrus* *SFB* sequences. This further confirmed the differences between the *S*-haplotype F-box proteins of the *Prunoideae* and *Maloideae* subfamilies. Moreover, we identified a putative non-functional *S-RNase* and *F-box* allele (*S_{16m}* and *SFB_J'*). In both cases, a mutation caused by a nucleotide substitution in the protein coding region of the gene was detected, leading to a nonsense mutation that resulted in loss of allele function.

In summary, we report a full or partial *S*-genotype of 55 plum cultivars of different origins: 20 modern, 12 traditional, 20 landscape and 3 rootstock cultivars.

Currently there is no evidence of the self-compatibility of the European plum due to the lack of the complete gene sequences. In case of tetraploid sour cherry, (HAUCK et al. 2006) “one-allele-match” model of self-incompatibility is reported. If the hexaploid European plum cultivars harbour a similar system, then self-compatibility system requires the loss-of-function for a minimum of three *S*-haplotype-specificity components (MAKOVICS-ZSOHÁR and HALÁSZ 2016).

Identification of *S*-genotypes of European plum cultivars and characterization of the traditional-, landscape and the economically significant cultivars of *P. domestica* by microsatellite markers are considered and proved a valuable information both practical and cultural aspects of evolution and these data could form an important basis for further investigation.

9. MELLÉKLETEK

M1. Irodalomjegyzék

- ADACHI, Y., KOMORI, S., HOSHIKAWA, Y., TANAKA, N., ABE, K., BESSHO, H., WATANABE, M., SUZUKI, A. (2009): Characteristics of Fruiting and Pollen Tube Growth of Apple Autotetraploid Cultivars Showing Self-compatibility. In: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 78 (4) 402–409. p.
- AGARWAL, M., SHRIVASTAVA, N., PADH, H. (2008): Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. In: *Plant cell reports*, 27 (4) 617–631. p.
- AGUIAR, B., VIEIRA, J., CUNHA E. A., VIEIRA, P.C. (2015): No evidence for Fabaceae Gametophytic self-incompatibility being determined by Rosaceae, Solanaceae, and Plantaginaceae S-RNase lineage genes. In: *BMC Plant Biology*, 15 (129) 1–22. p.
- AHMAD, R., POTTER, D., SOUTHWICK, S.M. (2004): Identification and characterization of plum and pluot cultivars by microsatellite markers. In: *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 1: 164–169. p.
- AINOUCHE M.L., WENDEL J.F. (2014): Polyploid Speciation and Genome Evolution: Lessons from Recent Allopolyploids. In: PONTAROTTI P. (Szerk.): *Evolutionary Biology: Genome Evolution, Speciation, Coevolution and Origin of Life*. Cham: Springer, 87–113. p.
- ALLEN, A.M., THOROGOOD, C.J., HEGARTY, M.J., LEXER, C., HISCOCK, S.J. (2011): Pollen–pistil interactions and self-incompatibility in the Asteraceae: new insights from studies of *Senecio squalidus* (Oxford ragwort). In: *Ann. Bot.*, 108 (4) 687–698. p.
- ALTSCHUL, S.F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E.W., LIPMAN, D.J. (1990): Basic local alignment search tool. In: *Journal of Molecular Biology*, 215 (3) 403–410. p.
- ANDERSON, M.A., CORNISH, E.C., MAU, S.-L., WILLIAMS, E.G., HOGGART, R., ATKINSON, A., BONIG, I., GREGO, B., SIMPSON, R., ROCHE, P.J., HALEY, J.D., PENSCHOW, J.D., NIAL, H.D., TREGGAR, G.W., COGHLAN, J.P., CRAWFORD, R.J., CLARKE, A.E. (1986): Cloning of cDNA for a stylar glycoprotein associated with expression of self-incompatibility in *Nicotiana glauca*. In: *Nature*, 321: 38–44. p.
- ANDERSON, M.A., MCFADDEN, G.I., BERNATZKY, R., ATKINSON, A., ORPIN, T., DEDMAN, H., TREGGAR, G., FERNLEY, R., CLARKE, A.E. (1989): Sequence variability of three alleles of the self-incompatibility gene of *Nicotiana glauca*. In: *Plant Cell*, 1: 483–491. p.
- ARANZANA, M.J., DECROOCQ, V., DIRLEWANGER, E., EDUARDO, I., GAO, Z.S., GASIC, K., IEZZONI A., JUNG S., PEACE C., PRIETO H., TAO, R., VERDE I., ABBOTT A.G., ARÚS P. (2019): *Prunus* genetics and applications after de novo genome sequencing: achievements and prospects. In: *Horticulture Research*, 6 (58) 1–25 p. Published online: <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0140-8>. Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: *Prunus* genetics. Lekérdezés időpontja: 2019.06.24.
- ASHKANI, J., REES, D.J.G. (2016): A comprehensive study of molecular evolution at the self-incompatibility locus of Rosaceae. In: *Journal of Molecular Evolution*, 82 (2) 128–145. p.
- ATHANASIADIS, I., NIKOLOUDAKIS, N., HAGIDIMITRIOU, M. (2013): Genetic Relatedness among Cultivars of the Greek Plum Germplasm. In: *Not Bot Horti Agrob.*, 41 (2) 491–498. p.
- AYANOGLU, H., BAYAZIT, S., INAN, G., BAKIR, M., AKPINAR, A.E., KAZAN, K., ERGÜL, A. (2007): AFLP analysis of genetic diversity in Turkish green plum accessions (*Prunus cerasifera* L.) adapted to the Mediterranean region. In: *Scientia Horticulturae*, 114 (4) 263–267. p.
- BARAC, G., OGNJANOV, V., OBREHT, D., LJUBOJEVIC, M., BOSNJAKOVIC, D., PEJIC, I., GASIC, K. (2014): Genotypic and phenotypic diversity of cherry species collected in Serbia. In: *Plant Mol. Biol. Rpt.*, 32: 92–108. p.
- BEAVER, J.A., IEZZONI, A.F. (1993): Allozyme inheritance in tetraploid sour cherry (*Prunus cerasus* L.). In: *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 111: 873–877. p.
- BÉKEFI, ZS., TOBUTT, K.R., SONNEVELD, T. (2003): Determination of (in)compatibility genotypes of Hungarian sweet cherry (*Prunus avium* L.) accessions by PCR based methods. In: *International Journal of Horticultural Science*, 9: 37–42. p.

17. BELL, C.J., ECKER, J.R. (1994): Assignment of 30 Microsatellite Loci to the Linkage Map of Arabidopsis. In: *Genomics*, 19: 137–144. p.
18. BEPPU, K., TAKEMOTO, Y., YAMANE, H., YAEAGAKI, H., YAMAGUCHI, M., KATAOKA, I., TAO, R. (2003): Determination of S-haplotypes of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) cultivars by PCR and cross-pollination tests. In: *J. Hortic.Sci. Biotech.*, 78: 315–318. p.
19. BEPPU, K., YAMANE, H., YAEAGAKI, H., YAMAGUCHI, M., KATAOKA, I., TAO, R. (2002): Diversity of S-RNase genes and S-haplotypes in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). In: *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 77: 658–664. p.
20. BIANCHI VALMOR, J., FACHINELLO, J.C., VENTURI, S., TARTARINI, S., SANSAVINI, S. (2002): Molecular AFLP and SSR markers resolutive for genetic identification of plum cultivars (Amplified Fragment Length Polymorphism - Single Sequence Repeats - *Prunus domestica* L - *Prunus salicina* Lindl. - *Prunus cerasifera* Ehrb). In: *Rivista di Frutticoltura*, 64: 83–87. p.
21. BOIVIN, N., MORSE, D., CAPPADOCIA, M. (2014): Degradation of S-RNase in compatible pollen tubes of *Solanum chacoense* inferred by immunogold labeling. In: *J. Cell Sci.*, 127: 4123–4127. p.
22. BOONPRAKOB, U., BYRNE, D.H., GRAHAM, C.J., OKIE, W.R., BECKMAN, T., SMITH, B.R. (2001): Genetic relationships among cultivated diploid plums and their progenitors as determined by RAPD markers. In: *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 4: 451–461. p.
23. BORHIDI, A. (2015): A rózsafélék családja a molekuláris taxonómiai kutatások tükrében. In: KERÉNYI-NAGY N., et al. (Szerk.): *I. Rózsa és- galagonya konferencia a Kárpát-medencében. Konferencia kötet.* Gödöllő: Szent István Egyetemi Kiadó, 21–22. p.
24. BORTIRI, E., OH, S., JIANG, J., BAGGETT, S., GRANGER, A., WEEKS, C., BUCKINGHAM, M., POTTER, D., PARFITT, D.E. (2001): Phylogeny and systematics of *Prunus* (*Rosaceae*) as determined by sequence analysis of ITS and the chloroplast trnL-trnF spacer DNA. In: *Syst. Bot.*, 26: 797–807. p.
25. BOŠKOVIĆ, R., TOBUTT, K.R., DUVAL, H., BATLLE, I., DICENTA, F., VARGAS, F.J. (1999): A stylar ribonuclease assay to detect self-compatible seedlings in almond progenies. In: *Theor. Appl. Genet.*, 99: 800–810. p.
26. BOŠKOVIĆ, R., WOLFRAM, B., TOBUTT, K.R., CEROVIC, R., SONNEVELD, T. (2006): Inheritance and interactions of incompatibility alleles in the tetraploid sour cherry. In: *Theor. Appl. Genet.*, 112: 315–326. p.
27. BOTU, M., SARPE, C., COSMULESCU, S., BOTU, I. (2002): The genetic control of pollen fertility, pollenizing and fruit set for the *Prunus domestica* L. plum cultivars. In: *Acta Hort.*, 577: 139–145. p.
28. BRACE, J., KING, G.J., OCKENDON, D.J. (1993): Development of a method for the identification of S-alleles in *Brassica oleracea* based on digestion of PCR amplified DNA with restriction endonucleases. In: *Sex. Plant Reprod.*, 6: 133–138. p.
29. BRETTIN, T.S., KARLE, R., CROWE, E.L., IEZZONI, A.F. (2000): Chloroplast inheritance and DNA variation in Sweet, Sour and Ground Cherry. In: *J. of Hered.*, 91: 75–79. p.
30. BROOThAERTS, W. (2003): New findings in apple S-genotype analysis resolve previous confusion and request the re-numbering of some S-alleles. In: *Theor. Appl. Genet.*, 106: 703–714. p.
31. BROOThARERTS, W., JANSSENS, G.A., PROOST P., BROEKAERT W.F. (1995): cDNA cloning and molecular analysis of two selfincompatibility alleles from apples. In: *Plant Mol. Biol.*, 21: 499–511. p.
32. BROWN, S.K., IEZZONI, A.F., FOGIE, H.W. (1996): Cherries. In: JANICK, J., MOORE, J.N. (Eds.): *Fruit breeding. Vol. 1. Tree and tropical fruits.* New York: Wiley. 213–255. p.
33. BRÓZIK, S. (Szerk.) (1960): Csonthéjas gyümölcsűek: Szilva, kajszi. In: *Termesztett gyümölcsfajtáink 2.* Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 1–49. p.
34. BRÓZIK, S., ERDŐS, Z. (2001): Szilva. In: BRÓZIK, S. - KÁLLAY, TNÉ. (Szerk.): *Gyümölcsfajták 2. Csonthéjas és héjas gyümölcsfajták*, Budapest: Mezőgazda Kiadó, 92–104. p.
35. BURGOS, L., BERENGUER, T., EGEA, J. (1993): Self- and cross-compatibility among apricot cultivars. In: *HortScience*, 28: 148–150. p.
36. BURGOS, L., PÉREZ-TORNERO, O., BALLESTER, J., OLMOS, E. (1998): Detection and inheritance of stylar ribonucleases associated with incompatibility alleles in apricot. In: *Sexual Plant Reproduction*, 11: 153–158. p.

37. BUSCH, J.W., WITTHUHN, T., JOSEPH, M. (2014): Fewer S-alleles are maintained in plant populations with sporophytic as opposed to gametophytic self-incompatibility. In: *Plant Species Biology*, 29 (1) 34–46. p.
38. CHANNUNTAIPAT, C., SEDGLEY, M., COLLINS, G. (2001): Sequences of the cDNAs and genomic DNAs encoding the S₁, S₇, S₈, and S_f alleles from almond, *Prunus dulcis*. In: *Theor. Appl. Genet.*, 103: 1115–1122. p.
39. CHENG, J.H., HAN, Z.H., XU, X.F., LI, T.Z. (2006): Isolation and identification of the pollen-expressed polymorphic F-box genes linked to the S-locus in apple (*Malus × domestica*). In: *Sexual Plant Reproduction*, 19: 175–183. p.
40. CHIN, S., SHAW, J., HABERLE, R., WEN, J., POTTER, D. (2014): Diversification of almonds, peaches, plums and cherries – Molecular systematics and biogeographic history of *Prunus* (Rosaceae). In: *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 76: 34–48. p.
41. CIPRIANI, G., LOT, G., HUANG, W.G., MARRAZZO, M.T., PETERLUNGER, E., TESTOLIN R. (1999): AG/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 65–72. p.
42. CLARK, L.V., JASIENIUKE, M. (2011): POLYSAT: an R package for polyploid microsatellite analysis. In: *Molecular Ecology Resources*, 11: 562–566. p.
43. CRANE, M.B., LAWRENCE, W.J.C. (1934): The genetics of garden plants. In: *The genetics of garden plants*. London: Macmillan, (16): 236. p.
44. CRANE, M.B., LEWIS, D. (1942): Genetical studies in pears. III. Incompatibility and sterility. In: *J. Genet.*, 43: 31–42. p.
45. CSAMBALIK, L., DIVÉKY-ERTSEY, A. (2016): A tájfajta kifejezés definíciója és szinonimái. *Kertgazdaság*, 24 (4) 3–13. p.
46. DARWIN, C. (1877): The different forms of flowers on plants of the same species. London: John Murray.
47. DE CUYPER, B., SONNEVELD, T., TOBUTT, K.R. (2005): Determining selfincompatibilitygenotypes in Belgian wild cherries. In: *Mol. Ecol.*, 14: 945–955. p.
48. DE FRANCESCHI, P.D., DONDONI, L., SANSAVINI, S. (2019): New genetic achievements on gametophytic self-incompatibility of fruit trees. In: *Acta Hort.*, 1231 (20) 115–122. p.
49. DE NETTANCOURT, D. (1997): Incompatibility in angiosperms. In: *Sexual Plant Reproduction*, 10: 185–199. p.
50. DE NETTANCOURT, D. (2001): Incompatibility in angiosperms. New York: Springer-Verlag.
51. DECROOCQ, V., FAVE, M.G., HAGEN, L., BORDENAVE, L., DECROOCQ, S. (2003): Development and transferability of apricot and grape EST microsatellite markers across taxa. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 912–22. p.
52. DECROOCQ, V., HAGEN, L.S., FAVE, M.G., EYQUARD, J.P., PIERRONNET, A. (2004): Microsatellite markers in the hexaploid *Prunus domestica* species and parentage lineage of three European plum cultivars using nuclear and chloroplast simplesequence repeats. In: *Molecular Breeding*, 13: 135–142. p.
53. DEPYPERE, L., CHAERLE, P., BREYNE, P., MIJNSBRUGGE, K.V., GOETGHEBEUR, P. (2009): A combined morphometric and AFLP based diversity study challenges the taxonomy of the European members of the complex *Prunus* L. section *Prunus*. In: *Plant Syst. Evol.*, 279: 219–231. p.
54. DIRLEWANGER, E., COSSON, P., TAVAUD, M., ARANZANA, M.J., POIZAT, C., ZANETTO, A., ARÚS, P., LAIGRET, F. (2002): Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). In: *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 127–138. p.
55. DIRLEWANGER, E., GRAZIANO, E., JOOBEUR, T., GARRIGA-CALDERÉ, F., COSSON, P., HOWAD, W., ARÚS, P. (2004): Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops. In: *P. Natl. Acad. Sci.*, 101: 9891–9896. p.
56. DOMIN, K. (1944): Třídění hrušní planých i pěstovaných (*Pirus communis* L. subsp. *piraster* (L.) a *domestica* (Lam. et DC.)) z hlediska soustavné botaniky. In: *Věstník Král. Čes. společ. Nauk.*, 32: 1–15. p.

57. DUFRESNE, F., STIFT, M., VERGILINO, R., MABLE, B.K. (2014): Recent progress and challenges in population genetics of polyploid organisms: an overview of current state of the art molecular and statistical tools. In: *Mol. Ecol.*, 23 (1) 40–69. p.
58. EARL, D.A., VON HOLDT, B.M. (2012): STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. In: *Conserv. Genet. Resour.*, 4: 359–361. p.
59. EAST, E.M., MANGELSDORF, A.J. (1925): A new interpretation of the hereditary behaviour of self-sterile plants. In: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 11: 166–171. p.
60. EBERT, P.R., ANDERSON, M.A., BERNATZKY, R., ALTSHULER, M., CLARKE, A.E. (1989): Genetic Polymorphism of Self-Incompatibility in Flowering Plants. In: *Cell*, 56: 255–262. p.
61. ENDLICH, J. VON, MURAWSKI, H. (1962): Contribution to breeding research on plum. III. Investigation on interspecific hybrids of *P. spinosa* L. In: *Züchter*, 32: 121–133. p.
62. ENTANI, T., IWANO M., SHIBA, H., TAKAYAMA, S., FUKUI, K., ISOGAI, A. (1999): Centromeric localization of an *S-RNase* gene in *Petunia hybrida* Vilm. In: *Theor. Appl. Genet.* 99: 391–397. p.
63. ENTANI, T., IWANO, M., SHIBA, H., CHE, S.F., ISOGAI, A., TAKAYAMA, S. (2003): Comparative analysis of the self-incompatibility (*S*-) locus region of *Prunus mume*: identification of a pollen-expressed F-box gene with allelic-diversity. In: *Genes to Cells*, 8: 203–213. p.
64. ENTANI, T., KUBO, K., ISOGAI, S., FUKAO, Y., SHIRAKAWA, M., ISOGAI A., TAKAYAMA S. (2014): Ubiquitin-proteasome-mediated degradation of *S-RNase* in a solanaceous cross-compatibility reaction. In: *Plant J.*, 78: 1014–1021. p.
65. ERYOMINE, G.V. (1991): New data on origin of *Prunus domestica* L. In: *Acta Horticulturea*, 283: 27–29. p.
66. EVANNO, G., REGNAULT, S., GOUDET, J. (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: A simulation study. In: *Mol. Ecol.*, 14: 2611–2620. p.
67. FAUST, M., SURÁNYI, D. (1999): Origin and dissemination of plums. In: JANICK, J. (Szerk.): *Horticultural Reviews*. Canada: John Wiley & Sons, Inc. (23) 179–231. p.
68. FOLTA, K., GARDINER, S. (2009): Genetics and Genomics of Rosaceae. New York: Springer.
69. FRANKLIN-TONG, V.E. (Eds.) (2008): Self-incompatibility in flowering plants. Berlin-Heidelberg: Springer.
70. FRUITVEB (2019): Szilvapiaci helyzetkép. Published online: <https://fruitveb.hu/szilvapiaci-helyzetkep/>. Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: Fruitveb szilva. Lekérdezés időpontja: 2019.08.09.
71. GÁL, B. (2016): Biológia 10. Az élőlények változatossága. XIII. kiadás. Szeged: Mozaik Kiadó, 11–12. p.
72. GALLI, ZS., HALÁSZ, G., KISS, E., HESZKY, L., DOBRÁNSZKI, J. (2005): Molecular identification of commercial apple cultivars with mikrosatellite markers. In: *HortScience*, 40: 1974–1977. p.
73. GARCÍA-GÓMEZ, B., RAZI, M., SALAZAR, J.A., PRUDENCIO, A.S., RUIZ, D., DONDINI, L., MARTÍNEZ-GÓMEZ, P. (2018): Comparative Analysis of SSR Markers Developed in Exon, Intron, and Intergenic Regions and Distributed in Regions Controlling Fruit Quality Traits in *Prunus* Species: Genetic Diversity and Association Studies. In: *Plant molecular biology reporter*, 36 (1) 23–35. p.
74. GHARBI, O., WÜNSCH, A., RODRIGO, J. (2014): Characterization of accessions of ‘Reine Claude Verte’ plum using *Prunus* SRR and phenotypic traits. In: *Scientia Horticulturae*, 169: 57–65. p.
75. GONDA I. (2008): Bevezető. In: GONDA I. (Szerk.): *Magyar szilvatermesztés-stagnálás vagy előrelépés*. Debrecen: Agrár- és Műszaki Tudományok Centruma, Kertészettudományi és Növényi Biotechnológia Tanszék Kutatási és Fejlesztési Intézet, 7–11. p.
76. GONTHIER, L., BLASSIAN, C., MÖNCHEN, M., CADALEN, T., POIRET, M., HENDRIKS, T. (2013): High-density genetic maps for loci involved in nuclear male sterility (NMS1) and sporophytic self-incompatibility (*S*-locus) in chicory (*Cichorium intybus* L., Asteraceae). In: *Theor. Appl. Genet.*, 126: 2103–2121. p.
77. GOULAO, L., MONTE-CORVO, L., OLIVEIRA, C.M. (2001): Phenetic characterization of plum cultivars by high multiplex ratio markers: Amplified fragment length polymorphisms and inter-simple sequence repeats. In: *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126: 72–77. p.

78. GOUTA, H., KSIA, E., BUHNER-ZAHARIEVA, T., MLIKI, A., GOGORCENA, Y. (2012): Development of an SSR-based identification key for Tunisian local almonds. In: *Scientia Agricola*, 69 (2) 108–113. p.
79. GREGOR, D., HARTMANN, W., STÖSSER, R. (1994): Cultivar identification in *Prunus domestica* using random amplified polymorphic DNA markers. In: *Acta Hort.*, 359: 33–40. p.
80. GUILFORD, P., PRAKASH, S., ZHU, J.M., RIKKERINK, E., GARDINER, S., BASSETT, H., FORSTER, R. (1997): Microsatellites in *Malus×domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 249–254. p.
81. GUPTA, P.K., BALYAN, H.S., SHARMA, P.C., RAMESH, B. (1996): Microsatellites in plants: A new class of molecular markers. In: *Current Science*, 70: 45–54. p.
82. HALÁSZ J., KODAD, O., HEGEDŰS A. (2014a): Identification of a recently active *Prunus*-specific non-autonomous Mutator element with considerable genome shaping force. In: *The Plant Journal*, 79 (2) 220–231. p.
83. HALÁSZ J., KURILLA A., HEGEDŰS A. (2014b): Preliminary characterization of the self-incompatibility genotypes of European plum (*Prunus domestica* L.) cultivars. In: *International Journal of Horticultural Science*, 20 (3-4) 23–26. p.
84. HALÁSZ, J. (2007): A kajszi önmeddőségét meghatározó S-allél-rendszer molekuláris háttere. Doktori Értekezés, BCE KTK, Budapest (Kézirat).
85. HALÁSZ, J., FODOR, Á., HEGEDŰS, A., PEDRYC, A. (2008): Identification of a new selfincompatibility allele (S_{31}) in a Hungarian almond cultivar and its reliable detection. In: *Sci. Hortic.-Amsterdam*, 116: 448–451. p.
86. HALÁSZ, J., HEGEDŰS, A. (2006): A critical evaluation of methods used for S-genotyping: from trees to the DNA level. Review. In: *Int. J. Hort. Sci.*, 12: 19–29. p.
87. HALÁSZ, J., HEGEDŰS, A., GYÖRGY, ZS., PÁLLINGER, É., TÓTH, M. (2011): S-genotyping of old apple cultivars from the Carpathian basin: methodological, breeding and evolutionary aspects. In: *Tree Genet. Genomes*, 7 (6) 1135–1145. p.
88. HALÁSZ, J., HEGEDŰS, A., HERMÁN, R., STEFANOVITS-BÁNYAI, É., PEDRYC, A. (2005): New self-incompatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) revealed. In: *Euphytica*, 145: 57–66. p.
89. HALÁSZ, J., MAKOVICS-ZSOHÁR, N., HEGEDŰS, A. (2016): A meggy termékenyülésének genetikai háttere. In: NYÉKI, J., SZABÓ, T., SOLTÉSZ, M. (Szerk.): *Intenzív meggytermesztés*. Debreceni Egyetem, AGTC Kutatási és Fejlesztési Intézet; Kecskeméti Főiskola, Kertészeti Főiskolai Kar, 147–150. p.
90. HALÁSZ, J., MAKOVICS-ZSOHÁR, N., SZÓKE, F., ERCISLI, S., HEGEDŰS, A. (2017): Simple sequence repeat and S-locus genotyping to explore genetic variability in polyploid *Prunus spinosa* and *P. insititia*. In: *Biochem. Genet.*, 55: 22–33. p.
91. HALÁSZ, J., PEDRYC, A., HEGEDŰS, A. (2007): Origin and dissemination of the pollen-part mutated SC haplotype which confers self-compatibility in apricot (*Prunus armeniaca*). In: *New Phytologist*, 176 (4) 792–803. p.
92. HALL, T.A. (1999): BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In: *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95–98. p.
93. HAMMER, Ř., HARPER, D.A.T., RYAN, P.D. (2001): PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. In: *Palaeontol. Electron.*, Published online: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm. Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: paleontological statistics. Lekérdezés időpontja: 2015.08.24.
94. HANELT, P. (1997): European wild relatives of *Prunus* fruit crops. In: *Boccone*, 7: 401–408. p.
95. HARSÁNYI, J. (1979): Szilva. In: TOMCSÁNYI, P. (Szerk.): *Gyümölcsfajtáink*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 184–224. p.
96. HARTMANN, W. (1998): New plum cultivars from Hoheenheim. In: *Acta Horticulturae*, 478: 171–174. p.
97. HARTMANN, W. (2007): New Results from Plum Breeding in Hohenheim. In: *Acta Horticulturae*, 734: 187–192. p.

98. HARTMANN, W. (2008): A modern szilvanemesítés perspektivikus fajtái. In: GONDA I. (Szerk.): *Magyar szilvatermesztés-stagnálás vagy előrelépés*. Debrecen: Agrár- és Műszaki Tudományok Centruma, Kertészettudományi és Növényi Biotechnológia Tanszék Kutatási és Fejlesztési Intézet, 34–48. p.
99. HARTMANN, W. (2019): Sharka-resistant plum hybrids and cultivars from the plum breeding programme at hohenheim. In: *Proc. Latvian Acad. Sci.*, 73 (3) 226–231. p.
100. HAUCK, N.R., IKEDA, K., TAO, R., IEZZONI, A.F. (2006a): The mutated S₁-Haplotype in sour cherry has an altered S-Haplotype-specific F-box protein gene. In: *J. Hered.*, 97 (5) 514–520. p.
101. HAUCK, N.R., YAMANE, H., TAO, R., IEZZONI, A.F. (2002): Self-compatibility and incompatibility in tetraploid sour cherry (*Prunus cerasus* L.). In: *Sex. Plant Reprod.*, 15: 39–46. p.
102. HAUCK, N.R., YAMANE, H., TAO, R., IEZZONI, A.F. (2006b): Accumulation of nonfunctional S-Haplotypes results in the breakdown of gametophytic selfincompatibility in tetraploid *Prunus*. In: *Genetics*, 172 (2) 1191–1198. p.
103. HAYWARD, A.C., TOLLENAERE, R., DALTON-MORGAN, J., BATLEY, J. (2015). Molecular marker applications in plants. In: *Plant Genotyping*, 13–27. p.
104. HEGEDŰS, A. (2006): Self-(in)compatibility in sour cherry (*Prunus cerasus* L.). A minireview. In: *International Journal of Horticultural Science*, 12 (2) 117–120. p.
105. HEGEDŰS, A., HALÁSZ, J., PEDRYC, A. (2008): The pistil component: a ribonuclease enzyme. In: NYÉKI, J., SOLTÉSZ, M., SZABÓ, Z. (Eds.): *Morphology of flowers, floral biology, regularities of fertilisation and fertility in fruit species*. Akadémiai Kiadó, Budapest.
106. HEGEDŰS, A., LÉNART, J., HALÁSZ, J. (2012): Review of sexual incompatibility in tree fruit species: molecular interactions and evolutionary dynamics. In: *Biol. Plantarum*, 56: 201–209. p.
107. HEGEDŰS, A., SZABÓ, Z., NYÉKI, J., HALÁSZ, J., PEDRYC, A. (2006): Molecular analysis of S-haplotypes in peach, a self-compatible *Prunus* species. In: *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 131: 738–743. p.
108. HEGI, G. (1923): *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*. München.
109. HORVATH, A., BALSEMIN, E., BARBOT, J. C., CHRISTMANN, H., MANZANO, G., REYNET, P., LAIGRET, F., MARIETTE, S. (2011): Phenotypic variability and genetic structure in plum (*Prunus domestica* L.), cherry plum (*P. cerasifera* Ehrh.) and sloe (*P. spinosa* L.). In: *Scientia Horticulturae*, 129 (2) 283–293. p.
110. HUANG, S., LEE, H.S., KARUNANANDAA, B., KAO, T-H. (1994): Ribonuclease activity of *Petunia inflata* S-proteins is essential for rejection of self-pollen. In: *Plant Cell*, 6: 1021–1028. p.
111. IGIC, B., KOHN, J.R. (2001): Evolutionary relationships among self-incompatibility RNases. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98: 13167–13171. p.
112. IGWE, E.O., CHARLTON, K.E. (2016): A systematic review on the health effects of plums (*Prunus domestica* and *Prunus salicina*). In: *Phytother. Res.*, 30: 701–731. p.
113. IKEDA, K., IGIC, B., USHIJIMA, K., YAMANE, H., HAUCK, N.R., NAKANO, R., SASSA, H., IEZZONI, A.F., KOHN, J.R., TAO, R. (2004): Primary structural features of the S-haplotype-specific F-box protein, SFB, in *Prunus*. In: *Sexual Plant Reproduction*, 16: 235–243. p.
114. ILGIN, M., KAFKAS, S., ERCISLI, S. (2014): Molecular Characterization of Plum Cultivars by AFLP Markers. In: *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23 (2) 1189–1193. p.
115. IOERGER, T.R., CLARK, A.G., KAO, T.-H. (1990): Polymorphism at the selfincompatibility locus in *Solanaceae* predates speciation. In: *P. Natl. Acad. Sci.*, 87: 9732–9735. p.
116. ISHIMIZU, T., INOUE, K., SHIMONAKA, M., SAITO, T., TERAII, O., NORIOKA, S. (1999): PCRbased method for identifying the S-genotypes of Japanese pear cultivars. In: *Theor. Appl. Genet.*, 98: 961–967. p.
117. ISHIMIZU, T., SHINKAWA, T., SAKIYAMA, F., NAKANISHI, T. (1998): Primary structural features of rosaceous S-RNases associated with gametophytic selfincompatibility. In: *Plant Mol. Biol.*, 37: 931–941. p.
118. JACOB, H.J., LINDERPAINTNER, K., LINCOLN, S.E., KUSUMI, K., BUNKER, R.K., YI-PEI, M., GANTEN, D., DZAU, V.J., LANDER, E.S. (1991): Genetic mapping of a gene causing hypertensive rat. In: *Cell*, 67: 213–224. p.

119. JANSSENS, G.A., GODERIS, I.J., BROEKAERT, W.F., BROOThAERTS, W. (1995): A molecular method for S-allele identification in apple based on allele-specific PCR. In: *Theor. Appl. Genet.*, 91: 691–698. p.
120. JIE, Q., SHUPENG, G., JIXIANG, Z., MANRU, G., HUAI RUI, S. (2005): Identification of self-incompatibility genotypes of apricot (*Prunus armeniaca* L.) by S-allele-specific PCR analysis. In: *Biotechnology Letters*, 27: 1205–1209. p.
121. KAKUI, H., KATO, M., USHIJIMA, K., KITAGUCHI, M., KATO S., SASSA H. (2011): Sequence divergence and loss-of-function phenotypes of *S* locus *F-box* brothers (SFBB) genes are consistent with non-self recognition by multiple pollen determinants in self-incompatibility of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). In: *Plant J.*, 68: 1028–1038. p.
122. KÁLLAY, TNÉ. (2008): Szilvatermesztésünk számokban. In: GONDA I. (Szerk.): *Magyar szilvatermesztés-stagnálás vagy előrelépés*. Debrecen: Agrár- és Műszaki Tudományok Centruma, Kertészettudományi és Növényi Biotechnológia Tanszék Kutatási és Fejlesztési Intézet, 30–33. p.
123. KÁRPÁTI, Z., TERPÓ, A., GÖRGÉNYI, LNÉ. (Szerk.) (1968): Növényrendszertan. In: *Kertészeti növénytan* II. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 5–411. p.
124. KARUNANANDAA, B., HUANG, S., KAO, T-H. (1994): Carbohydrate moiety of the *Petunia inflata* S3 protein is not required for self-incompatibility interactions between pollen and pistil. In: *Plant Cell*, 6: 1933–1940. p.
125. KAZIJA, D. H., JELAČIĆ, T., VUJEVIĆ, P., MILINOVIĆ, B., ČIČEK, D., BIŠKO, A., PEJĆ, I., ŠIMON, S., ŽULJ MIHALJEVIĆ, M., PECINA, M., NIKOLIĆ, D., GRAHIĆ, J., DRKENDA, P., NIKOLIĆ, D. (2014): Plum germplasm in Croatia and neighboring countries assessed by microsatellites and DUS descriptors. In: *Tree Genet. Genomes*, 10: 761–778. p.
126. KIM, H.T., KAKUI, H., KOBAYASHI, T., HIRATA, Y., SASSA, D.H. (2007): Cloning of a new S-RNase and development of a PCR-RFLP system for the determination of the S-genotypes of Japanese pear. In: *Breed. Sci.*, 57: 159–164. p.
127. KIM, H.T., HIRATA, Y., SHIN, Y.U., HWANG, H.S., HWANG, J.H., SHIN, I.S., KIM, D.I., KANG, S.J., KIM, H.-J., SHIN, D.Y., NOU, I.S. (2004): A molecular technique for selection of self-compatible varieties of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). In: *Euphytica*, 138: 73–80. p.
128. KISSNÉ, SZ.F., MAROSI, R. (2006): Gyümölcs- és szőlőfajták. Budapest: Magyar Kertészeti Árudák Egyesülete, 26–31. p.
129. KITAHARA, K., MATSUMOTO, S. (2002a): Sequence of the *S*₁₀ cDNA from ‘McIntosh’ apple and a PCR-digestion identification method. In: *HortScience*, 37: 187–190. p.
130. KITAHARA, K., MATSUMOTO, S. (2002b): Cloning of the *S*₂₅ cDNA from ‘McIntosh’ apple and an *S*₂₅-allele identification method. In: *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 77: 724–728. p.
131. KODAD, O., ALONSO, J.M., I MARTÍ, A.F., OLIVEIRA, M.M., I COMPANY, R.S. (2010): Molecular and physiological identification of new S-alleles associated with self-(in) compatibility in local Spanish almond cultivars. In: *Scientia Horticulturae*, 123 (3) 308–311. p.
132. KODAD, O., ALONSO, J.M., SANCHEZ, A., OLIVEIRA, M.M., I COMPANY, R.S. (2008): Evaluation of genetic diversity of S-alleles in an almond germplasm collection. In: *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 83 (5) 603–608. p.
133. KODAD, O., COMPANY, R.S. (2008): Fruit set evaluation for self-compatibility selection in almond. In: *Scientia Horticulturae*. 118 (3) 260–265. p.
134. KODAD, O., HEGEDŰS, A., SOCIAS I COMPANY, R., HALÁSZ, J. (2013): Self-(in)compatibility genotypes of Moroccan apricots indicate differences and similarities in the crop history of European and North African apricot germplasm. In: *BMC Plant Biology*, 13: 196. p.
135. KORPONAY, GY. (1939): Csonka-Szatmár és Bereg vármegye gyümölcsstermelési jelentősége.
136. KOTA, I.D., LÁCIS, G. (2013): Evaluation of self-incompatibility locus diversity of domestic plum (*Prunus domestica* L.) using DNA-based S-genotyping. In: *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences*, 67 (2) 109–115. p.
137. KSH (2017): A fontosabb gyümölcsfélék termesztése és felhasználása. https://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_eves/i_omn006a.html. Keresőprogram: Google.

Kulcsszavak: KSH, A fontosabb gyümölcsfélék termesztése és felhasználása. Lekérdezés időpontja: 2019. 06. 12.

138. KUBO, K., ENTANI, T., TANAKA, A., WANG, N., FIELDS, A. M., HUA, Z., TOYODA, M., KAWASHIMA, S.-I., ANDO, T., ISOGAI, A., KAO, T.-H., TAKAYAMA, S. (2010): Collaborative non-self recognition system in S-RNase-based self-incompatibility. In: *Science*, 330: 796–799. p.
139. KURILLA, A. (2015): A hexaploid szilva termékenyülési viszonyait meghatározó lókuszt variabilitása. OTDK-dolgozat. XXXII. OTDK, Agrártudományi Szekció, Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Kar.
140. KYTE, J., DOOLITTLE, R.F. (1982): A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. In: *J. Mol. Biol.*, 157: 105–132. p.
141. LAI, Z., MA, W., HAN, B., LIANG, L., ZHANG, Y., HONG, G., XUE, Y. (2002): An F-box gene linked to the self-incompatibility (S) locus of *Antirrhinum* is expressed specifically in pollen and tapetum. In: *Plant Molecular Biology*, 50: 29–42. p.
142. LANSARI, A., IEZZONI, A. (1990): A preliminary analysis of self-incompatibility in sour cherry. In: *HortScience*, 25 (12): 1636–1638. p.
143. LAWRENCE, M.J., MARSHALL, D.F., CURTIS, V.E., FEARON, C.H. (1985): Gametophytic self-incompatibility re-examined: a reply. In: *Heredity*, 54: 131–138. p.
144. LEITCH, I.J., BENNETT, M.D. (1997): Polyploidy in angiosperms. In: *Trends in Plant Science*, 2 (12) 470–476. p.
145. LEWIS, D., CROWE, L.K. (1954) Structure of the incompatibility gene. IV. Types of mutations in *Prunus avium* L. In: *Heredity*, 8: 357–363. p.
146. LIPPAI, J. (1667): Posoni kert. Harmadik Könyv, Gyümölcsös Kert. Cosmerovius Máté, Bécs.
147. LISEK, A., KORBIN, M., ROZPARA, E., ZURAWICZ, E. (2007): Plum cultivar DNA polymorphism generated with RAPD and ISSR markers. In: *Acta Horti*, 734: 281–285. p.
148. LIU, W., LI, S., ZHANG, A., LIU, D. (2007): Genetic diversity revealed by RAPD markers in plum collection of China. In: *Acta Horti*, 734: 287–294. p.
149. LONG, S., LI, M., HAN, Z., WANG, K., LI, T. (2010): Characterization of three new S-alleles and development of an S-allele-specific PCR system for rapidly identifying the S-genotype in apple cultivars. In: *Tree Genetics & Genomes*, 6: 161–168. p.
150. LUU, D.-T., QIN, X., LAUBLIN, G., YANG, Q., MORSE, D., CAPPADOCIA, M. (2001): Rejection of S-heteroallelic pollen by a dual-specific S-RNase in *Solanum chacoense* predicts a multimeric SI pollen component. In: *Genetics*, 159: 329–335. p.
151. LUU, D.-T., QIN, X., MORSE, D., CAPPADOCIA, M. (2000): S-RNase uptake by compatible pollen tubes in gametophytic self-incompatibility. In: *Nature*, 407: 649–651. p.
152. MA, R.-C., OLIVEIRA, M.M. (2001): Molecular cloning of the self-incompatibility genes S_1 and S_3 from almond (*Prunus dulcis* cv. Ferragnès). In: *Sex. Plant Reprod.*, 14: 163–167. p.
153. MAKOVICS-ZSOHÁR, N., HALÁSZ, J. (2016): Self-incompatibility system in polyploid fruit tree species- A review. In: *The International Journal of Plant Reproductive Biology*, 8 (1) 24–33. p.
154. MAKOVICS-ZSOHÁR, N., HEGEDŰS, A., HALÁSZ, J. (2017a): Genetic variability of polyploid plum cultivars. 4th Transylvanian Horticulture and Landscape Studies Conference. Abstracts [BENEDEK, K. (Szerk.)], Romania, Tîrgu Mures, 30. p.
155. MAKOVICS-ZSOHÁR, N., SURÁNYI, D., TÓTH, M., KOVÁCS, SZ., SZŐKE, F., HEGEDŰS, A., HALÁSZ, J. (2017b): Hazai szilva- és kökénygenotípusok genetikai jellemzése mikroszatellit markerekkel. In: *Kertgazdaság*, 49 (1) 26–34. p.
156. MARCHESI, A., BOŠKOVIĆ, R.I., CARUSO, T., RAIMONDO, A., CUTULI, M., TOBUTT, K.R. (2007): A new self-compatibility haplotype in the sweet cherry ‘Kronio’, S_5' , attributable to a pollen-part mutation in the SFB gene. In: *Journal of Experimental Botany*. 58 (15-16) 4347–4356. p.
157. MATSUMOTO, D., TAO, R. (2016a): Distinct self-recognition in the *Prunus* S-RNase-based gametophytic self-incompatibility system. In: *Hort. J.*, 85: 289–305. p.
158. MATSUMOTO, D., TAO, R. (2016b): Recognition of a wide-range of S-RNases by S locus F-box like 2, a general-inhibitor candidate in the *Prunus*-specific S-RNase-based self-incompatibility system. In: *Plant Mol. Biol.*, 91:459–469. p.

159. MATSUMOTO, D., YAMANE, H., ABE, K., TAO, R. (2012): Identification of a Skp1-like protein interacting with SFB, the pollen S determinant of the gametophytic self-incompatibility in *Prunus*. In: *Plant Physiol.*, 159: 1252–1262. p.
160. MATSUMOTO, D., YAMANE, H., TAO, R. (2008): Characterisation of SLFL1, a pollen-expressed F-box gene located in the *Prunus* S locus. In: *Sex. Plant Rep.*, 21 (2) 113–121. p.
161. MATSUMOTO, S., KITAHARA, K. (2000): Discovery of a new self-incompatibility allele in apple. In: *HortScience*, 35: 1329–1332. p.
162. MATSUMOTO, S., KITAHARA, K., FURUSAWA, Y., SOEJIMA, J., KOMATSU, H., FUKUI, H. (2003): S-allele genotype of apple cultivars and selections. In: *Acta Hort.*, 622: 389–396. p.
163. MATTON, D.P., MAES, O., LAUBLIN, G., XIKE, Q., BERTRAND, C., MORSE, D., CAPPADOCIA, M. (1997): Hypervariable domains of self-incompatibility RNases mediate allele-specific pollen recognition. In: *Plant Cell*, 9: 1757–1766. p.
164. MCCLURE, B., CRUZ-GARCIA, F., ROMERO, C. (2011): Compatibility and incompatibility in S-RNase-based systems. In: *Annals of Botany*, 108 (4) 647–658. p.
165. MCCLURE, B.A., GRAY, J.E., ANDERSON, M.A., CLARKE, A.E. (1990): Self-incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen RNA. In: *Nature*, 347: 757–760. p.
166. MCCLURE, B.A., HARING, V., EBERT, P.R., ANDERSON, M.A., SIMPSON, R.J., SAKIYAMA, F., CLARKE, A.E. (1989): Style self-incompatibility gene products of *Nicotiana glauca* are ribonucleases. In: *Nature*, 342: 955–957. p.
167. MCCUBBIN, A.G., KAO, T.-H. (2000): Molecular recognition and response in pollen and pistil interactions. In: *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16: 333–364. p.
168. MEHLENBACHER, S.A. (1997): Revised dominance hierarchy for S-alleles in *Corylus avellana* L.. In: *Theor Appl Genet.*, 94: 360–366. p.
169. MENG, X., SUN, P., KAO, T.-H. (2011): S-RNase-based self-incompatibility in *Petunia inflata*. In: *Annals of Botany*, 108: 637–646. p.
170. MERKOUROPOULOS, G., GANOPOULOS, I., TSAFTARIS, A., PAPADOPOULOS, I., DROGOUDI, P. (2017): Combination of high resolution melting (HRM) analysis and SSR molecular markers speeds up plum genotyping: case study genotyping the Greek plum GeneBank collection. In: *Plant Genetic Resources*, 1: 10. p.
171. MINAMIKAWA, M., KAKUI, H., WANG, S., KOTODA, N., KIKICHI, S., KOBAYASHI, T., SASSA, H. (2010): Apple S locus region represents a large cluster of related, polymorphic and pollen-specific F-box genes. In: *Plant Mol. Biol.*, 74: 143–154. p.
172. MNEJJA, M., GARCIA, J., HOWARD, W., BADENES, M. L., ARÚS, P. (2004): Simple-sequence repeat (SSR) markers of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) are highly polymorphic and transferable to peach and almond. In: *Molecular Ecology Notes*, 4: 163–166. p.
173. MNEJJA, M., GARCIA, J., HOWARD, W., ARÚS, P. (2005): Development and transportability across *Prunus* species of 42 polymorphic almond microsatellites. In: *Molecular Ecology Notes*, 5 (3) 531–535. p.
174. MORGANTE, M., OLIVIERI, A. (1993): PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. In: *Plant Journal*, 3 (1) 175–182. p.
175. MORGULIS, A., COULOURIS, G., RAYTSELIS, Y., MADDEN, T.L., AGARWALA, R., SCHÄFFER, A.A. (2008): Database indexing for production MegaBLAST searches. In: *Bioinformatics*, 24 (16) 1757–1764. p.
176. MORLEY, R.J. (2000): *Origin and Evolution of Tropical Rainforests*. United Kingdom: John Wiley & Sons, Chichester.
177. MURÁDIN, L. (1996): *Anyanyelvünk ösvényein*. Székelyudvarhely: Erdélyi Gondolat Könyvkiadó.
178. NAGY, P. (1980): Szilva klónalanyok kajszi számára. In: *Szőlő- és Gyümölcstermesztés*, 4: 37–45. p.
179. NANTONGO, J. S., EILU, G., GEBUREK, T., SCHUELER, S., KONRAD, H. (2016): Detection of self incompatibility genotypes in *Prunus africana*: characterization, evolution and spatial analysis. In: *PloS one*, 11 (6).
180. NASHIMA, K., TERAOKA, S., NISHIO, S., KUNIHISA, M., NISHITANI, C., SAITO, T., YAMAMOTO, T. (2015): S-genotype identification based on allele-specific PCR in Japanese pear. In: *Breeding Science*, 65: 208–215. p.

181. NEUMÜLLER, M. (2010): Fundamental and Applied Aspect of Plum (*Prunus domestica*) Breeding. In: *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 5 (1) 139–156. p.
182. NUNES, M.D.S., SANTOS, R. A.M., FERREIRA, S.M., VIEIRA, J., VIEIRA, C.P. (2006): Variability patterns and positively selected sites at the gametophytic selfincompatibility pollen SFB gene in a wild self-incompatible *Prunus spinosa* (Rosaceae) population. In: *New Phytologist*, 172 (3) 577–587. p.
183. NYÉKI, J. (1996): Pollination and fertilisation. In: NYÉKI, J., SOLTÉSZ, M. (Szerk.): *Floral Biology of Temperate Zone Fruit Trees and Small Fruits*. Budapest: Akadémiai Kiadó, 102–119. p.
184. NYÉKI, J. (2003): Virágzás és termékenyülés. In: PAPP J. (Szer.): *Gyümölcsstermesztési alapismeretek*. Budapest: Mezőgazda kiadó, 158–200. p.
185. NYÉKI, J., SOLTÉSZ, M., SZABÓ, Z. (2012): Minőségi szilvatermesztés. Debrecen: Debreceni Egyetem AGTC Kertészettudományi Intézet.
186. NYÉKI, J., SZABÓ, T., SOLTÉSZ, M., LAKATOS, L., SZABÓ, Z., THURZÓ, S., RACSKÓ, J. (2006): Environmental conditions influencing blooming and fruit set in sour cherry varieties. In: *Advances in Horticultural Science*, 308–316. p.
187. NYÉKI, J., SZABÓ, Z. (1995): Cross-incompatibility in stone fruits. In: *Hortic. Sci.*, 28: 23–31. p.
188. NYÚJTÓ, F., BRÓZIK JR., S., BRÓZIK, S., NYÉKI, J. (1985): Fruit set in apricot varieties. *Acta Agron.* In: *Acad. Sci. Hung.*, 34: 65–72. p.
189. OLDEN, E.J., NYBOM, N. (1968): On the origin of *Prunus cerasus* L. In: *Hereditas*, 59: 327–345. p.
190. ORDIDGE, M., LACIS, G., DEMALS, M., HÖFER, M., DROGOUDI, P., HJELTNES, H.S., KALDMAE, H., TOLDAM-ANDERSEN, T., BÉKEFI, ZS., FERNANDEZ, F.F., SONNANTE, G., NYBOM, H., KAZIJA, D., GIOVANNINI, D. (2019): *Prunus* Alignment – integrating data for European plum and cherry germplasm. Poster: XV EUCARPIA Fruit Breeding and Genetics Symposium, Prague – Suchbát, Czech Republic.
191. ORTEGA, E., DICENTA, F. (2003): Inheritance of self-compatibility in almond: breeding strategies to assure self-compatibility in the progeny. In: *Theor. Appl. Genet.*, 106: 904–911. p.
192. ORTEGA, E., RADOVAN, I.B., SARGENT, D.J., TOBUTT, K.R. (2006): Analysis of *S-RNase* alleles of almond (*Prunus dulcis*): characterization of new sequences, resolution of synonyms and evidence of intragenic recombination. In: *Molecular Genetics and Genomics*, 276 (5) 413–426. p.
193. ORTEGA, E., SUTHERLAND, B.G., DICENTA, F., BOŠKOVIĆ, R., TOBUTT, K.R. (2005): Determination of incompatibility genotypes in almond using first and second intron consensus primers: detection of new S-alleles and correlation of reported S genotypes. In: *Plant Breeding*, 124: 188–196. p.
194. ORTIZ, A., RENAUD, R., CALZADA, I., RITTER, E. (1997): Analysis of plum cultivars with RAPD markers. In: *Journal of Horticultural Science*, 72: 1–9. p.
195. ÖZ, M.H., VURGUN, H., BAKIR, M., BÜYÜ, İ., YÜKSEL, C., ÜNLÜ, H.M., ÇUKADAR, K., KARADOĞAN, B., KÖSE, Ö., ERGÜL, A. (2013): Molecular analysis of East Anatolian traditional plum and cherry accessions using SSR markers. In: *Genetics and Molecular Research*, 12: 5310–5320. p.
196. PALESITS, ZS. (2016): Alany- és fajtahasználat piaci irányai a szilvatermesztésben. *Zöldség- és Gyümölcs Piac és Technológia*, 20 (1) 30–31. p.
197. PAPP, N., SZILVÁSSY, B., ABRANKÓ, L., SZABÓ, T., PFEIFFER, P., SZABÓ, Z., NYÉKI, J., ERCISLI, S., STEFANOVITS-BÁNYAI, É., HEGEDŰS, A. (2010): Main quality attributes and antioxidants in Hungarian sour cherries: Identification of genotypes with enhanced functional properties. In: *Intl. J. Food Sci. Technol.*, 45: 395–402. p.
198. PATTHY, L. (2009): Protein Evolution. II. kiadás. Blackwell Publishing Ltd.
199. PAUNOVIC, S.A. (1988): Plum genotypes and their improvement in Yugoslavia. In: *Fruit Var. J.*, 42: 143–151. p.
200. PAUNOVIC, S.A., GAVRILOVIC, M., MISIC, P.D. (1975): The breeding and introduction of new plum selections. In: *Acta Horticulturae*, 48: 91–103. p.
201. PETHŐ, F. (2011): Tanulmány a Nemtudom szilváról. Újfehértó: Újfehértói GyKSz Nonprofit Közhasznú Kft.
202. PETHŐ, F., INÁNTSY, F., SZABÓ, T. (2010): A Szatmár-Beregi Síkság szilvapopulációjának vizsgálata, különös figyelemmel a ‘Nemtudom’ tájfajta népi szelekciójára. In: *Kertgazdaság*, 42 (3-4) 45–55. p.

203. POTTER, D., ERIKSSON, T., EVANS, R. C., OH S., SMEDMARK, J.E.E., MORGAN, D.R., KERR, M., ROBERTSON, K.R., ARSENAULT, M., DICKINSON, T.A., CAMPBELL, C.S. (2007): Phylogeny and classification of Rosaceae. In: *Plant Systematics and Evolution*, 266: 5–43. p.
204. PRITCHARD, J.K., STEPHENS, M., DONELLY, P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. In: *Genetics*, 155: 945–959. p.
205. PURVES, W.K., SADAVA, D., ORIAN, G.O., HELLER, H.C., FREEMAN, W.H. (Eds.) (2004): Reproduction in flowering plants. In: *Life: the science of biology* (7th edn). USA: Wiley. 729–764. p.
206. RAPAICS, R. (1935): A magyar szilvák rendszertani helye. In: *Botanikai közlemények*, 34: 144–151. p.
207. RAPAICS, R. (1940a): A magyar gyümölcs. Budapest: Királyi Magyar Természettudományi Társulat.
208. RAPAICS, R. (1940b): A magyar kertek. Budapest: Királyi Magyar Egyetemi Nyomda. 61. p.
209. RAWES, A.N. (1921): Pollination in orchards (IV.). Self-fertility and self-sterility in plums. In: *J. Roy. Hort. Soc.*, 39: 353–356. p.
210. REA, A.C., NASRALLAH, J.B. (2008): Self-incompatibility systems: barriers to self-fertilization in flowering plants. In: *Int. J. Dev. Biol.*, 52: 627–636. p.
211. REALES, A., SARGENT, D.J., TOBUTT, K.R., RIVERA, D. (2010): Phylogenetics of Eurasian plums, *Prunus* L. section *Prunus* (Rosaceae), according to coding and non-coding chloroplast DNA sequences. *Tree Genet.* In: *Genomes*, 6: 37–45. p.
212. REHDER, A. (1940): Manual of cultivated trees and shrubs hardy in North-America. New York: The Macmillan Company.
213. REYNDERS-ALOISI, S., GRELLET, F. (1994): Characterization of the ribosomal DNA units in two related *Prunus* species (*P. cerasifera* and *P. spinosa*). In: *Plant Cell Reports*, 13 (11) 641–646. p.
214. ROHRER, J.R., AHMAD, R., SOUTHWICK, S.M., POTTER, D. (2004): Microsatellite analysis of relationships among North American plums (*Prunus* sect. *Prunocerasus*, Rosaceae). In: *Plant Systematics and Evolution*, 244: 69–75. p.
215. ROMERO, C., VILANOVA, S., BURGOS, L., MARTÍNEZ-CALVO, J., VICENTE, M., LLÁCER, G., BADENES, M.L. (2004): Analysis of the S-locus structure in *Prunus armeniaca* L. Identification of S-haplotype specific *S-RNase* and *F-box* genes. In: *Plant Molecular Biology*, 56: 145–157. p.
216. RYBIN, V.A. (1936): Spontane und experiment aller zeugte Bastarde zwischen Schwarzdorn und Krischpflaume und das Abstammungs problem der Kulturplaume. In: *Planta*, 25: 22–58. p.
217. SAHAMISHIRAZI, S., MOEHRING, J., CLAUPEIN, W., GRAEFF-HOENNINGER, S. (2017): Quality assessment of 178 cultivars of plum regarding phenolic, anthocyanin and sugar content. In: *Food Chem.*, 214: 694–701. p.
218. SALETTES, G. (1973): Etudes cytologiques chez les *Prunus*. II. Hybrides interspécifiques impliquant *P. cerasifera*, *P. spinosa*, *P. domestica* et *P. instititia*. In: *Annales de l'amélioration des plantes*, 145–161. p.
219. SALETTES, G. (1975): Quelques données concernant la cytogenetique des pruniers et l'origine du prunier domestique. In: *Acta Horticulturea*, 48: 59–65. p.
220. SAPIR, G., STERN, R.A., EISIKOWITCH, D., GOLDWAY, M. (2004): Cloning of four new Japanese plum S-alleles and determination of the compatibility between cultivars by PCR analysis. In: *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 79: 223–227. p.
221. SASSA, H., KAKUI, H., MINAMIKAWA, M. (2010): Pollen-expressed *F-box* gene family and mechanism of *S-RNase*-based gametophytic self-incompatibility (GSI) in *Rosaceae*. In: *Sex Plant Reprod.*, 23: 39–43. p.
222. SASSA, H. (2016): Molecular mechanism of the *S-RNase*-based gametophytic self-incompatibility in fruit trees of *Rosaceae*. In: *Breeding Science*, 66 (1) 116–121. p.
223. SASSA, H., KAKUI, H., MIYAMOTO, M., SUZUKI, Y., HANADA, T., USHIJIMA, K., KUSABA, M., HIRANO, H., KOBAYASHI, T. (2007): *S locus F-Box brothers*: Multiple and pollen-specific *F-box* genes with S haplotype-specific polymorphisms in apple and Japanese pear. In: *Genetics*, 175: 1869–1881. p.
224. SASSA, H., NISHIO, T., KOWYAMA, Y., HIRANO, H., KOBAYASHI, T., IKEHASHI, H. (1996): Self-incompatibility (S) alleles of the *Rosaceae* encode members of a distinct class of the T2/S ribonuclease superfamily. In: *Mol. Gen. Genet.*, 250: 547–557. p.
225. SCHRAUWEN, J., LINSKENS, H.F. (1972): Ribonuclease in styles. In: *Planta*, 102: 277–285. p.

226. SEHIC, J., NYBOM, H., HJELTNES, S.H., GAŠI, F. (2015): Genetic diversity and structure of Nordic plum germplasm preserved ex situ and onfarm. In: *Scientia Horticulturae*, 190: 195–202. p.
227. SHIMADA, T., HAYAMA, H., HAJI, T., YAMAGUCHI, M., YOSHIDA, M. (1999): Genetic diversity of plums characterized by random amplified polymorphic DNA analysis. In: *Euphytica*, 109: 143–147. p.
228. SIMS, T.L. (2012): Protein interactions in S-RNase-based gametophytic self-incompatibility. In: CAI, J., WANG, R. E. (Szerk.). *Protein Interactions*. Rijeka. InTech.
229. SOLTÉSZ, M. (1997): Integrált gyümölcstermesztés. Budapest: Mezőgazda Kiadó.
230. SONNEVELD, T., ROBBINS, T. P., BOŠKOVIĆ, R., TOBUTT, K. R. (2001): Cloning of six cherry self-incompatibility alleles and development of allele-specific PCR detection. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 102 (6) 1046–1055. p.
231. SONNEVELD, T., ROBBINS, T.P., TOBUTT, K.R. (2006): Improved discrimination of self incompatibility S-RNase alleles in cherry and high throughput genotyping by automated sizing of first intron polymerase chain reaction products. In: *Plant Breeding*, 125: 305–307. p.
232. SONNEVELD, T., TOBUTT, K.R., ROBBINS, T.P. (2003): Allele-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (S) alleles S₁ to S₁₆ using consensus and allele-specific primers. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 107 (6) 1059–1070. p.
233. SONNEVELD, T., TOBUTT, K.R., VAUGHAN, S.P., ROBBINS, T.R. (2005): Loss of pollen-S function in two self-compatible selections of *Prunus avium* is associated with deletion/mutation of an S haplotype-specific F-box gene. In: *The Plant Cell*, 17 (1) 37–51. p.
234. SOSINSKI, B., GANNAVAPURU, M., HAGER, L.D., BECK, L.E., KING, G.J., RYDER, C.D., RAJAPAKSE, S., BAIRD, W.V., BALLARD, R.E., ABBOTT, A.G. (2000): Characterization of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. In: *Theoretical and Applied Genetics*, 101: 421–428. p.
235. STACEWICZ-SAPUNTZAKIS, M., BOWEN, P.E., HUSSAIN, EA., DAMAYANTI-WOOD, B.I., FARNSWORTH, N.R. (2001): Chemical composition and potential health effects of prunes: A functional food? Crit. Rev. In: *Food Sci. Nutr.*, 41: 251–286. p.
236. STEINBACHS, J.E., HOLSINGER, K.E. (2002): S-RNase-mediated gametophytic selfincompatibility is ancestral in eudicots. In: *Molecular Biology and Evolution*, 19: 825–829. p.
237. STEVENS, P.F. (2001 onwards): Angiosperm Phylogeny Website. Version 14. July 2017. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: Angiosperm Phylogeny. Lekérdezés időpontja: 2018.09.10.
238. SURÁNYI, D. (1985): Kerti növények regénye. Budapest: Mezőgazda Kiadó.
239. SURÁNYI, D. (1988): Új szilvafajták termesztikéje. In: *Kertgazdaság*, 20 (1) 39–54. p.
240. SURÁNYI, D. (1992): Magyar gyümölcs múltban és jelenben. Budapest: Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem Kertészeti kar.
241. SURÁNYI, D. (2006a): Szilva. Budapest: Mezőgazda Kiadó.
242. SURÁNYI, D. (2006b): Nemzeti- és szívügyünk: a Besztercei szilva (történeti-pomológiai tanulmány). In: *Tájökológiai lapok*, 4. (1) 65–77. p.
243. SURÁNYI, D. (2006c): Magyarország gyümölcs-flórájának biológiai és ökológiai jellemzése. In: KOVÁCS, J.A. (Szerk.): *Kanitzia*. Szombathely: TIKETT XXI. Kft. Nyomdája. 14: 137–206. p.
244. SURÁNYI, D. (2008): 140 éves génbank. (A kunágotai Bereczki Máté fajtagyűjteményei). In: *Agrártörténeti Szemle*, 49 (1-4) 229–276. p.
245. SURÁNYI, D. (2011): Ökológiai szemléletű gyümölcstermesztés változó termesztő körzetekben. In: *Tájökológiai Lapok*, 9 (2) 321–343. p.
246. SURÁNYI, D. (2014): Szilvafajtáink. In: SOLTÉSZ, M. (Szerk.): *Magyar gyümölcsfajták*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 402–413. p.
247. SURÁNYI, D. ERDŐS, Z. (1998): Szilva. In: SOLTÉSZ, M. (Szerk.): *Gyümölcsfajta ismeret és használat*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 267–287. p.
248. SUTHERLAND, B.G., ROBBINS, T.P., TOBUTT, K.R. (2004a): Primers amplifying a range of *Prunus* S-alleles. In: *Plant Breeding*, 123: 582–584. p.
249. SUTHERLAND, B.G., TOBUTT, K.R., ROBBINS, T.P. (2004b): Molecular genetics of selfincompatibility in plums. In: *Acta Hort.*, 663: 557–562. p.

250. SUTHERLAND, B.G., TOBUTT, K.R., ROBBINS, T.P. (2008): Trans-specific S-RNase and SFB alleles in *Prunus* self-incompatibility haplotypes. In: *Mol. Gene. Genomics*, 279: 95–106. p.
251. SUTTON, I. (1918): Report on tests of self-sterility in Plums, Cherries and Apples at the John Innes Horticultural Institution. In: *Journal of Genetics*, 7 (4) 1–19. p.
252. SZABÓ, Z. (2001): Szilva. In: TÓHT, M. (Szerk.): *Gyümölcsészet*. Nyíregyháza: PRIMOM Sz-Sz-B. Megyei Vállalkozást élénkítő Alapítvány Vállalkozói Központ, 216–242. p.
253. SZABÓ, Z. (2002): Csonthéjas gyümölcsűek termésbiztonságának egyes tényezői. Thesis. Budapest: MTA.
254. SZABÓ, Z., NYÉKI, J., ANDRÁSFALVY, A., SOLTÉSZ, M. (1999): Association of European plum varieties in the orchards. In: *Int. J. Hort. Sci.*, 5: 21–24. p.
255. SZIKRISZT, B., DOĐAN, A., ERCISLI, S., AKCAY, M.E., HEGEDŰS, A., HALÁSZ, J. (2013): Molecular typing of the self-incompatibility locus of Turkish sweet cherry genotypes reflects phylogenetic relationships among cherries and other *Prunus* species. In: *Tree Genet. Genomes*, 9 (1) 155–165. p.
256. SZIKSZAI, F.B. (1590): Nomenclatura. Debrecen: Czaktornyaj.
257. TAKASAKI, T., MORIYA, Y., OKADA, K., YAMAMOTO, K., IWANAMI, H., BESSHO, H., NAKANISHI, T. (2006): cDNA cloning of nine S alleles and establishment of a PCR-RFLP system for genotyping European pear cultivars. In: *Theor. Appl. Genet.*, 112: 1543–1552. p.
258. TAKASAKI, T., OKADA, K., CASTILLO, C., MORIYA, Y., SAITO, T., SAWAMURA, Y., NORIOKA, N., NORIOKA, S., NAKANISHI, T. (2004): Sequence of the S₉-RNase cDNA and PCR-RFLP system for discriminating S₁-to S₉ allele in Japanese pear. In: *Euphytica*, 135: 157–167. p.
259. TAKAYAMA, S., ISOGAI, A. (2005): Self-Incompatibility in Plants. In: *Annu. Rev. Plant Biol.*, 56: 467–489. p.
260. TAMARZIZT, H.B., WALKER, D., MUSTAPHA, S.B., ABDALLAH, D., BARAKET, G., SALHI HANNACHI, A., ZEHDİ AZZOUZI, S. (2015): DNA variation and polymorphism in Tunisian plum species (*Prunus* spp): contribution of flow cytometry and molecular markers. In: *Genetics and Molecular Research*, 14 (4) 18034–18046. p.
261. TAMURA, K., STECHER, S., PETERSON, D., FILIPSKI, A., KUMAR, S. (2013): MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. In: *Mol. Biol. Evol.*, 30 (12) 2725–2729. p.
262. TAMURA, M., USHIJIMA, K., SASSA, H., HIRANO, H., TAO, R., GRADZIEL, T.M., DANDEKAR, A.M. (2000): Identification of self-incompatibility genotypes of almond by allele-specific PCR analysis. In: *Theor. Appl. Genet.*, 101: 344–349. p.
263. TAO, R., HABU, T., NAMBA, A., YAMANE, H., FUYUHIRO, F., IWAMOTO, K., SUGIURA, A. (2002): Inheritance of Sf-RNase in Japanese apricot (*Prunus mume*) and its relation to self-compatibility. In: *Theor. Appl. Genet.*, 105: 222–228. p.
264. TAO, R., IEZZONI, A.F. (2010): The S-RNase-based gametophytic self-incompatibility system in *Prunus* exhibits distinct genetic and molecular feature. In: *Sci. Hortic.*, 123: 423–433. p.
265. TAO, R., WATARI, A., HANADA, T., HABU, T., YAEAGAKI, H., YAMAGUCHI, M., YAMANE, H. (2007): Self-compatible peach (*Prunus persica*) has mutant versions of the S haplotypes found in self-incompatible *Prunus* species. In: *Plant Mol. Biol.*, 63: 109–123. p.
266. TAO, R., YAMANE, H., SUGIURA, A., MURAYAMA, H., SASSA, H., MORI, H. (1999): Molecular typing of S-alleles through identification, chracterization and cDNA cloning for SRNases in sweet cherry. In: *Journal of the American Society for Horticultural Science*: 124: 224–233. p.
267. TAUTZ, D. (1989): Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA. In: *Nucleic Acids Research*, 17: 6463–6471. p.
268. TEHRANI, G. (1991): Seventy-five years of plum breeding and pollen compatibility studies in Ontario. In: *Acta Hort.*, 283: 95–103. p.
269. TERPÓ, A. (1974): Gyümölcstermő növényeink rendszertana és földrajza. In: GYURÓ, F. (Szerk.): *A gyümölcstermesztés alapjai*. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 139–219. p.
270. TERPÓ, A. (2003): A mérsékelt égövi gyümölcsfajok rendszertani és növényföldrajzi áttekintése. In: PAPP, J. (Szerk.): *Gyümölcstermesztési alapismeretek I.* Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 35–59. p.
271. TÓTH, E. (1957): Élet- és alaktani összehasonlító vizsgálatok szilvafajtákon. In: *Kertészeti Kutató Intézet Évkönyve*, 2: 11–129. p.

272. TÓTH, E. (1967): Adatok a szilvafajták termesztési értékének megállapításához. In: *Szőlő- és gyümölcstermesztés*, 3: 129–150. p.
273. TÓTH, E. (1968): The frequency of self-fertile variabilities of plums and data concerning their utility. In: *Acta Horticulturae*, 10: 233–240. p.
274. TÓTH, E. (1969): Szilvafajták öntermékenyülésének vizsgálata. Egyetemi doktori értekezés, Kertészeti Egyetem. Budapest (Kézirat).
275. TÓTH, E., SURÁNYI, D. (1980): Szilva. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó.
276. TÓTH, M., NYÉKI, J., SOLTÉSZ, M. (2014): Magyar pomológusok és gyümölcsfajta-nemesítők. In: SOLTÉSZ, M. (Szerk.): *Magyar gyümölcsfajták*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 65–79. p.
277. TÓTH, M. (2013): Régi gyümölcsfajták szerepe a modern gyümölcészetben. Bevezető tanulmány. In: TOLNAY, G. (Szerk.): *Bereczki-Dörgő levelezés*. II. kötet. Budapest. (http://portal.vfmk.hu/07_00000185).
278. TÓTH, M., HUDÁK, K., GEISZLER, J. (2007): Gyümölcsfajta-kutatás az Aggteleki Nemzeti Park területén. XIII. Növény-nemesítési Tudományos Napok. In: KISS, J., HESZKY, L. (Szerk.): *Összefoglalók*. Budapest: MTA, 181. p.
279. TSUKAMOTO, T., HAUCK, N.R., TAO, R., JIANG, N., AND IEZZONI, A.F. (2010): Molecular and genetic analyses of four nonfunctional S haplotype variants derived from a common ancestral S haplotype identified in sour cherry (*Prunus cerasus* L.). In: *Genetics*, 184 (2) 411–427. p.
280. TSUKAMOTO, T., HAUCK, N.R., TAO, R., JIANG, N., IEZZONI, A.F. (2006): Molecular characterization of three nonfunctional S-haplotypes in sour cherry (*Prunus cerasus*). In: *Plant Molecular Biology*, 62 (3) 371–383. p.
281. TSUKAMOTO, T., POTTER, D., TAO, R., VIEIRA, C.P., VIEIRA, J., IEZZONI, A.F. (2008): Genetic and molecular characterization of three novel S-haplotypes in sour cherry (*Prunus cerasus* L.). In: *Journal of Experimental Botany*, 59 (11) 3169–3185. p.
282. URRESTARAZU, J., ERREA, P., MIRANDA, C., SANTESTEBAN, L.G., PINA, A. (2018): Genetic diversity of Spanish *Prunus domestica* L. germplasm reveals a complex genetic structure underlying. In: *PLoS ONE*, 13 (4) e0195591. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195591>.)
283. USHIJIMA, K., SASSA, H., DANDEKAR, A.M., GRADZIEL, T.M., TAO, R., HIRANO, H. (2003): Structural and transcriptional analysis of the self-incompatibility locus of almond. In: *Plant Cell*, 15: 771–781. p.
284. USHIJIMA, K., SASSA, H., TAO, R., YAMANE, H., DANDEKAR, A.M., GRADZIEL, T.M., HIRANO, H. (1998): Cloning and characterization of cDNAs encoding S-RNases from almond (*Prunus dulcis*): primary structural features and sequence diversity of the SRNases in Rosaceae. In: *Molecular Genetics and Genomics*, 260: 261–268. p.
285. USHIJIMA, K., YAMANE, H., WATARI, A., KAKEHI, E., IKEDA, K., HAUCK, N.R., IEZZONI, A.F., TAO, R. (2004): The S haplotype-specific F-box protein gene, SFB, is defective in self-compatible haplotypes of *Prunus avium* and *P. mume*. In: *Plant J.*, 39: 573–586. p.
286. VAN NERUM, I., GEERTS, M., VAN HAUTE, A., KEULEMANS, J., BROOHAERTS, W. (2001): Re-examination of the self-incompatibility genotype of apple cultivars containing putative “new” S-alleles. In: *Theor. Appl. Genet.*, 103: 584–591. p.
287. VAUGHAN, S.P., RUSSEL, K., SARGENT, D.J., TOBUTT, K.R. (2006): Isolation of S-locus F-box alleles in *Prunus avium* and their application in a novel method to determine self-incompatibility genotype. In: *Theor. Appl. Genet.*, 112: 856–866. p.
288. VILANOVA, S., ROMERO, C., LLÁCER, G., BADENES, M.L., BURGOS, L. (2005): Identification of self-(in)-compatibility alleles in apricot by PCR and sequence analysis. In: *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 130: 893–898. p.
289. VOGES, D., ZWICKL, P., BAUMEISTER, W. (1999): The 26S proteasome: A molecular machine designed for controlled proteolysis. In: *Annual Review of Biochemistry*, 68: 1015–1068. p.
290. VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M., VAN DE LEE, T., HORNES, M., FRITERS, A., POT, J., PELEMAN, J., KUIPER, M., ZABEAU, M. (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. In: *Nucleic Acids Research*, 23: 4407–4414. p.

291. WAITE, M.B. (1894): The pollination of pear flowers. In: *U.S.D. Agr. Div. Veget. Pathol. Bull.*, 5: 3–86. p.
292. WALSH, P.S., ERLICH, H. A., HIGUCHI, R. (1992): Preferential PCR amplification of alleles: mechanisms and solutions. In: *Genome Research*, 1 (4) 241–250. p.
293. WANG, N., KAO, T. (2012): Self-incompatibility in *Petunia*: a self/nonself-recognition mechanism employing *S*-locus *F*box proteins and *S*-RNase to prevent inbreeding. In: *Dev. Biol.* 1: 267–275. p.
294. WANG, Y.J., LI, X.Y., HAN, J., FANG, W.M., LI, X.D., WANG, S.S., FANG, J.G. (2011): Analysis of genetic relationships and identification of flowering-mei cultivars using EST-SSR markers developed from apricot and fruiting-mei. In: *Scientia Horticulturae*, 132: 12–17. p.
295. WATKINS, R. (1981): Plums, apricots, almonds, peaches, cherries (genus *Prunus*). In: *The Oxford encyclopaedia of trees of the world*, Oxford: OUP, 169–201. p.
296. WEISING, K., GARDNER, R.C. (1999): A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. In: *Genome*, 42: 9–19. p.
297. WELSH, J., MCCLELLAND (1990): Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. In: *Nucleic Acids Research*, 18: 7213–7218. p.
298. WIERSMA, P.A., WU, Z., ZHOU, L., HAMPSON, C., KAPPEL, F. (2001): Identification of new self-incompatibility alleles in sweet cherry (*Prunus avium* L.) and clarification of incompatibility groups by PCR and sequencing analysis. In: *Theor. Appl. Genet.*, 102: 700–708. p.
299. WILLIAMS, E.G., RAMM-ANDERSON, S., DUMAS, C., MAU, S.L., CLARKE, A.E. (1982): The effect of isolated components of *Prunus avium* L. styles on in vitro growth of pollen tubes. In: *Planta*, 156: 517–519. p.
300. WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A., TINGEY, S.V. (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. In: *Nucleic Acids Research*, 18: 6531–6535. p.
301. WÜNSCH, A., HORMAZA, J.I. (2004): Cloning and characterization of genomic DNA sequences of four self-incompatibility alleles in sweet cherry (*Prunus avium* L.). In: *Theor. Appl. Genet.*, 108: 299–305. p.
302. WÜNSCH, A. (2009): Cross-transferable polymorphic SSR loci in *Prunus* species. In: *Sci. Hort.*, 120: 348–352. p.
303. XU, C., LI, M., WU, J., GUO, H., LI, Q., ZHANG, Y., CHAI, J., LI, T., XUE, Y. (2013): Identification of a canonical SCF^{SLF} complex involved in *S*-RNase-based self-incompatibility of *Pyrus* (*Rosaceae*). In: *Plant Mol. Biol.*, 81: 245–257. p.
304. XUAN, H., DING, Y., SPANN, D., MÖLLER, O., BÜCHELE, M., NEUMÜLLER, M. (2011a): Microsatellite markers (SRR) as a tool to assist in identification of European plum (*Prunus domestica*). In: *Acta Horticulturae*, 918: 689–692. p.
305. XUAN, H., SPANN, D., SCHLOTTMANN, P., NEUMÜLLER, M. (2011b): Approaches to Determine the Origin of European Plum (*Prunus domestica*) Based on DNA Nucleotide Sequences. In: *Acta Horticulture*, 918: 261–268. p.
306. YAMANE, H., IKEDA, K., HAUCK, N.R., IEZZONI, A.F., TAO, R. (2003a): Self-incompatibility (*S*) locus region of the mutated *S*₆-haplotype of sour cherry (*Prunus cerasus*) contains a functional pollen *S* allele and a non-functional pistil *S* allele. In: *J. Exp. Bot.*, 54: 2431–2437. p.
307. YAMANE, H., IKEDA, K., USHIJIMA, K., SASSA, H., TAO, R. (2003b): A pollen expressed gene for a novel protein with an F-box motif that is very tightly linked to a gene for *S*-RNase in two species of cherry, *Prunus cerasus* and *P. avium*. In: *Plant Cell Physiol.*, 44: 764–769. p.
308. YAMANE, H., TAO, R. (2009): Molecular basis of self-(in)compatibility and current status of *S*-genotyping in rosaceous fruit trees. In: *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 78 (2) 137–157. p.
309. YAMANE, H., TAO, R., SUGIURA, A., HAUCK, N.R., IEZZONI, A.F. (2001): Identification and characterization of *S*-RNases in tetraploid sour cherry (*Prunus cerasus*). In: *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 126: 661–667. p.
310. ZAVADA, M.S., TAYLER, T.N. (1986): The role of self-incompatibility and sexual selection in the gymnosperm-angiosperm transition: a hypothesis. In: *The American Naturalist*, 128: 4. p.

311. ZHANG, S.L., HUANG, S.X., KITASHIBA, H., NISHO, T. (2007): Identification of S-haplotype-specific F-box gene Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). In: *Sex. Plant reprod.*, 20: 1–8. p.
312. ZHEBENTYAYEVA, T., SHANKAR, V., SCORZA, R., CALLAHAN, A., RAVELONANDRO, M., CASTRO, S., DEJONG, T., SASKI, A.C., DARDICK, C. (2019): Genetic characterization of worldwide *Prunus domestica* (plum) germplasm using sequence-based genotyping. In: *Horticulture Research*, 6: 1–12. p.
313. ZISOVICH, A., STERN, R.A., GOLDWAY, M. (2009): Identification of seven haplotype-specific SFBs in European pear (*Pyrus communis*) and their use as molecular markers. In: *Scientia Horticulturae*, 121 (1) 49–53. p.
314. ZISOVICH, A.H., STERN, R.A., SHAFIR, S., GOLDWAY, M. (2004a): Identification of seven S-alleles from the European pear (*Pyrus communis*) and the determination of compatibility among cultivars. In: *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 79: 101–106. p.
315. ZISOVICH, A.H., STERN, R.A., SHAFIR, S., GOLDWAY, M. (2004b): The RHV region of SRNase in European pear (*Pyrus communis*) is not required for the determination of specific pollen rejection. In: *Sex. Plant Reprod.*, 17: 151–156. p.
316. ZOHARY, D. (1992): Is the European plum, *Prunus domestica* L., a *P. cerasifera* EHRH. x *P. spinosa* L. allo-polyploid? In: *Euphytica*, 60 (1) 75–77. p.
317. ZOHARY, D., HOPF, M. (2000): Domestication of plants in west Asia, Europe and the Nile Valley. Oxford: Oxford University Press. 316. p.
318. ZUCCHERELLI, S., TASSINARI, P., BROOThAERTS, W., TARTARINI, S., DONDINI, L., SANSAVINI, S. (2002): S-allele characterization in self-incompatible pear (*Pyrus communis* L.). In: *Sex. Plant Reprod.*, 15: 153–158. p.

„Kevés, de értékes fajtát ültetni.”

(Entz Ferenc jelmondata)

M2. Szilva hagyományos- és tájfajták részletes bemutatása

M2.1. Beregi datolya (*Prunus italica*)

A Felső-Tiszavidéken kialakult tájfajta. Későn virágzik, a virágai részben öntermékenyülők, jól porozza a 'Besztercei szilva' és a 'Nemtudom szilva'. Későn-igen későn fordul termőre, de utána rendszeresen és közepesen terem. Későn érik, aszalásra alkalmas fajta. Kevésbé palackszerű a gyümölcsalakja, mint a 'Gömöri nyakas' szilvafajtáé, de gyümölcse nagyobb a 'Besztercei szilvánál'. A gyümölcs héja feketéskék, a húsa narancssárga, kissé levekes, fűszeres-édes és savas ízvilágú (SURÁNYI 2014). Kőmagja igen hosszú és hegyes csúcsú. Nógrádban „Orsó szilvának” is nevezik. Gyümölcsén sharka-tünetek nem mutatkoznak. Öntözött, vagy időszakosan elöntött, hullámtéri területen nagyobb a gyümölcse.

M2.2. Besztercei szilva (*Prunus domestica* L.) (35/a. ábra)

Egyes feltételezések szerint az Altáj hegység déli részéről, a mások szerint Közép-Keletről (Szíria) a Balkánon keresztül jutott el a Kárpát-medencébe (HARSÁNYI 1979). Nagyfokú diverzitása inkább arra utal, hogy a fajta itt született, s sok változattal fajtakörre szélesedett. Első hazai okleveles említése 1522-ből való. Beszterceinek csak itthon nevezték, magyar származására az is utal, hogy a külföldi források először leggyakrabban Magyar szilva néven említették (SURÁNYI 2014). Sok évszázados termesztése során a Besztercei szilvának sok változata alakult ki, mivel magról is szaporították. A jobb formák előállításával szinte minden Besztercei szilvát termesztő országban foglalkoztak. Nálunk Tóth Elek, Havasi Mihály és Nyújtó Ferenc foglalkozott a plussz-variánsok kiválasztásával (SURÁNYI 2006a).

Elterjedését tekintve régebben szinte egész Európában és néhány ázsiai országban termesztették, mára fontossága csak Közép-Európában maradt meg a termesztésben, de apró gyümölcse és vírusérzékenysége miatt nálunk is elveszítette vezető szerepét (TÓTH és SURÁNYI 1980).

Csapadékos, hűvös termőhelyeket szereti, ilyen területeken a gyümölcs mérete és íze is kedvezőbb, illetve a sharka vírus is kevésbé fertőzi, s annak vektora, a levéltetű is ritkábban támadja meg. Gyökérnyakban szemzett mikrobanál alanyon egyenes törzset nevel. Középerős, vagy erős növekedésű, felfelé törő, kúp alakú és sűrű ágrendszerű koronát nevel.

Elég későn (a hajtásrügyek fakadásakor) és gyors menetben virágzik. Öntermékeny. A kötődés után 5-6 héttel a tisztulási hullás természetes, majd újabb 6-7 héttel később „kék hullás” is bekövetkezhet. Gyümölcsei szeptember elején-közepén érnek.

Gyümölcse kicsi (15-20 g), mindkét végén lekerekített. Héja sötétkék, egyes változatainál vöröses, de mindig hamvas. Húsa sárgászöld-aranysárga, elég kemény, kissé rostos, de lédús. Íze harmonikus, igazán finom zamatú. A beltartalmi értékei a következőképpen alakulnak (100 g-ra számítva): víztartalom 84,7 g, szénhidrát 13,1 g, nyersrost 0,5 g, továbbá 6 mg C-, 50 mg B₁-, 0,2 mg A- és 0,8 mg E-vitamin. Magvaváló.

Szaporításra engedélyezett klónjai:

Mindegyik államilag minősített áru fajta. Tóth Elek irányításával mintegy 500 tételből választották ki a legjobb változatokat, ezek nagy része a ceglédi gyűjteménybe kerültek át, ahol először a termőképességüket hasonlították össze. Surányi Dezső volt az, aki folytatta a szelekciós munkát a morfológiai bélyegek rögzítésével.

- **Besztercei Bt. 2**

Szelekciós nemesítője Tóth Elek, 1958-ban Vácbotyánban találta. Gyümölcse csak valamivel nagyobb az alapfajtáénál. Termékenysége is jobb a többinél (SURÁNYI 2006a).

- **Besztercei Nm. 122**

OSZF munkatársai 1960-62-ben szelektálták a DÁG nagymágocsi gyümölcsösében. A Besztercei szilva alapfajtához képest 15%-kal többet terem, de jobb a korona alapterületre vetített fajlagos termés is. A gyümölcsmérete elmarad az alapfajtától (KISSNÉ és MAROSI 2006).

- **Besztercei Nm. 150**

OSZF munkatársai 1960-62-ben szelektálták a DÁG nagymágocsi gyümölcsösében.

- **Besztercei Bb. 398**

Ezen klónok botanikai és pomológiai részletes leírása folyamatban van.

M2.3. Bódi szilva (*Prunus insititia* Jusl.) (35/d. ábra)

Heves megyében és a Jászságban Boldogasszony vagy inkább Bó(l)dogasszony szilvaként ismerik, a Tiszántúlon pedig Lotyó vagy Potyó szilva név mind a cseresznyeszilvára, mind a Bódi szilvára vonatkozik, viszont a Bógyi, Kuszinka kizárólag Bódi szilvát jelent.

Fája kicsi, gyenge növekedésű. Bár korán virágzik, mégsem fagyérzékeny fajta. Augusztusban érő termése gömbölyded, kicsi-közepes méretű, kissé hamvas, sötétkék színű. Húsa zöldessárga, közepesen lédús, magvaváló. Nem pereg, sokszor a fán aszalódik a le nem szedett gyümölcs. Főleg pálinkának használják.

M2.4. Bühler Frühzwetsche (*Prunus domestica* L.) (35/b. ábra)

Dél-Németországban, Svájcban különösen elterjedt, a Besztercei után a legnagyobb mértékben termesztett fajta. Koronája elég kicsi. Virágai öntermékenyek. Korai érésű, a 'Besztercei szilva' előtt 3-4 héttel korábban érő, igazi kékszilva. Szabályos, nagyon szép, kék gyümölcsei magvaválók, valamivel nagyobbak, mint a Besztercei (TÓTH 1967). Termése jó ízű és jól szállítható.

M2.5. C. 940 Hollandi szilva (*Prunus italica*)

A ceglédi fajtagyűjtemény egyik ringló jellegű tájfajtája, amely az úgynevezett rózsaszilvák körébe tartozik. Középkorán virágzó virágai öntermékenyülők. Bőtermő fája igen korán képes termőre fordulni. Fája gyenge-középerős növekedésű, a korona habitusa gömbölyded, sűrű ágrendszerű. Gyümölcse augusztus elején érkezik, középnagy-nagy (40 g), lilás fedőszíne nem egybefüggő, tarka. A termés húsa zöldessárga, leves, kellemesen édes-savas; magvaváló, kőmagja kicsi. Levéllikasztó betegségre alig, sharkára közepesen fogékony.

M2.6. Duránci (Durkó) (*Prunus italica*) (35/c. ábra)

Országsgaztér ismert, az északi régióban illetve az Alföld középső és déli részén gyakoribb. Fája közép nagy, dúsan elágazó habitusú. Középkésőn nyíló virágai részben öntermékenyek, ezért idegenmegporzást igényelnek. Az egyik legkésőbb érő szilva tájfajtánk. Gyümölcse tojásdad, hamvas-lilás színű. Héja vékony, húsa aranyárga, nem magvaváló, viszont rendkívül édes, lédús, kellemes ízű, magas pektintartalmú. Pálinkának és lekvárnak hasznosították leginkább (SURÁNYI 2014).

M2.7. Elein érő (Sivákló, Nyári aszalószilva) (*Prunus italica*)

A Besztercei fajtakörbe tartozó változat, melyet az Alföldön meghonosodott állományból szelektáltak, koraisága alapján. Július végén, augusztus elején érik. Böven és rendszeresen terem. Középnagyságú, magtól való gyümölcsének alakja hosszas tojásdad, színe sötétkék, minősége gazdasági és piaci szempontból elsőrendű. Aszalásra különösen alkalmas. Húsa kemény (HORN 1936) (míg SURÁNYI (1988) szerint húsa puha), rostos, színe sárgászöld, édes, és eléggé bő levű. Fája erőteljesebb növekedésű. A szárazságot jól állja, ezáltal különösen az Alföldre való fajta.

M2.8. Fehér szilva (*Prunus insititia* Jusl.) (35/g. ábra)

A Duna-Tisza közén, Bácskán és Szerbiában ismert tájfajta. Feltehetőleg a Vörös szilva recesszív mutánsa (SURÁNYI 2014).

Az ország egész területén elterjedt fajta. Fája középérső növekedésű, vízhajtásképzésre alig, de tősarjképzésre nagyon hajlamos. Középkésőn virágzó virágai öntermékenyülők. Szeptember első felében érik. Termése a Beszterceihez hasonló nagyságú (23 g) és alakú, de héja hamvas-sárga, helyenként lilásan pöttyözött, húsa pedig bő levű, aranyárga, enyhén édes (Brix: 13,5%). Leginkább pálinkának használják, de lekvárnak is kiváló.

M2.9. Gömöri nyakas (*Prunus italica*)

A Kárpátok északi és keleti völgyében alakult ki (Csángó földön Kutnári nyakas néven termesztik) és terjedt el széles körben.

Hazai eredetű, Gömörből származik. Fája erőteljes növekedésű, igen edzett, korán és böven termő fajta. A korona habitusát tekintve szellős, eléggé nagy koronát nevel. Mindenütt jól díszlik, de a kötött, termékeny, kellően nyirkos földben termi legszebb gyümölcsét, mely megértével is nehezen hullik le a fájáról. Kései virágzású, részben öntermékenyülő, közepes termőképességű (SURÁNYI 2014). Augusztus végén, szeptember elején érik. Nagyságra a Besztercei szilvához hasonló, de alakja szabálytalan tojás-alakú, száras végén nyakasan összehúzódott. a gyümölcs héja elég vastag, szívós, értével lehúzható, csaknem kékesfekete színű, míg hamvasan világoskék színt mutat. Húsa zöldessárga, finom, tömött, leve bő, igen cukros, ezért leginkább a jó Besztercei szilvához hasonló. Magva kicsiny és magvaváló (HARSÁNYI 1979).

M2.10. Kőkényszilva (*Prunus insititia* Jusl.) (35/h. ábra)

Az országban mindenhol megtalálható, azonban főként ott, ahol a kőkény is, így nehezen lehet megkülönböztetni a két fajt. A szilvánál apróbb, kerek gyümölcsű, penta- vagy hexaploid faj. Fája kisméretű koronát nevel. Rendszertelenül, de bőven terem. A Kőkényszilvának több típusa is ismert és egyes kutatók más-más módon csoportosítják őket. Egyes botanikusok például a kőkényszilvákat nem különítik el a mirabelláktól. Termésüknek színe általában kék, de előfordulhat piros vagy sárga héjú változat is (SURÁNYI és ERDŐS 1998, SURÁNYI 2006a).

M2.11. Lengyel (*Prunus domestica* L.)

Származása tisztázatlan, 'Besztercei szilva' szabad elvirágzású magoncának tűnik; felvidéki (szepességi cipszer, vagy gurál?) eredetű. Jól termékenyülő (20–25%-os) virágai későn virágoznak. Fája erős növekedésű, de kevesebb elágazással bír, mint ami jellemző az alapfajtára. Középidőben fordul termőre és viszonylag jól terem. Gyümölcse valamivel nagyobb a Besztercei szilvánál, s küllemben megegyezik vele. Húsa finom, olykor mézgacsepp alakul ki a kocsányüreg felől, ami a monília iránti fogékonyságra és sharka-érzékenységre is utalhat.

M2.12. Lószemű szilva (*Prunus italica*)

A Tisza és a Hernád által határolt háromszögben a leggyakoribb, de az ország északi hegyvidéki területén is termesztett, a *P. italica* fajhoz tartozó, genetikailag nem egyöntetű fajta. Az Északi-középhegység vidékén, április közepén-végén virágzik. Középnagy virágaiban a szirmok nagyok és hosszúkásak. Virágai általában jól termékenyülnek, ellenben kisebb mértékben fagyérzékenynek mutatkoznak. Fája erőteljes növekedésű, felfelé törő koronát nevel (SURÁNYI 2014). Középnagy-nagy, megnyúlt tojásdad alakú (35 g), augusztus második felében beérő gyümölcsei sárgás és liláskék színű változatban is ismertek. A hasi varratuk igen feltűnő. Húsa zöldessárga, magas beltartalmi értékű (Brix: 18,5%). Friss fogyasztásra, aszaltványnak, befőttnek és pálinkának használják fel.

M2.13. Páczelt szilvája (*Prunus domestica* L.)

Pohl Ferenc, Debrecen város volt főkertészének közlése szerint Paczelt János Nagykárolyban állította elő ismeretlen fajta magvetéséből (TÓTH és SURÁNYI 1980). A fajtát Pohl Ferenc nevezte el és mutatta be 1935-ben a Magyar Pomológiai Bizottságnak.

Csak hazánkban termesztik, azonban itt is kevésbé elterjedt fajta. Hiányos zamata miatt, gyümölcsének a friss fogyasztása nem igazán kedvelt. Feldolgozásra azonban megfelel, sőt kiváló aszaltvány készíthető belőle. Késői virágzású, jól öntermékenyülő, virágpora más szilvafajták megtermékenyítésére is kiváló. Nagyon jó termőképességű (SURÁNYI 2014).

Gyümölcse szeptember elején érik be, ekkor kékesfekete, korábban liláskék színű. Nagyméretű (30-35 g), kissé lapos gyümölcsének héja kissé vastag, ezért éretten könnyen hámozható. Húsa aranysárga, közepesen cukros, kissé savas, fűszeres ízű. Magvaváló (HARSÁNYI 1979).

Fája erőteljes növekedésű, koronája szétterül, ellaposodik. Termőhely tekintetében különös igényeket nem támaszt. Jól érzi magát a homokos és a kötött talajokon egyaránt, így a zártkertek hidrofíl réti és szikes talaja is megfelelő lehet a 'Páczelt szilva' számára.

M2.14. Mirabelle de Nancy (Mirabelle von Nancy) (*Prunus. syriaca*) (35/l. ábra)

A Nancy-i mirabella a legismertebb szír szilva, amely a kökényszilvákra jellemző kis méretével és viszonylag alacsony savtartalmával tűnik ki. Termesztésének két fő oka, hogy a sharka-vírus nem fertőzi, és szükség van apró szilvákra is (NYÉKI és mts. 2012). Túltermésre hajlamos, ekkor gyümölcse nagyon kicsi marad (14-22 g). Mind Franciaországban, mind Németországban rezisztenciaforrásként használják a nemesítőket. A magvak jó csírázóképesége révén érdemes lenne, mint vírusmentes vetőmagforrást is kipróbálni a faiskolai termelésben. Ma elsősorban Lotharingiában elterjedt, és talán ez az egyedüli vidék az egész világon, ahol ennyiféle különböző mirabella fajta megél. Feltételezhetően a galló- román időszakban vezették be. Hazánkban augusztus közepe és szeptember eleje között érő gyümölcse szórványosan kapható a boltokban. Ez időpont előtt szintén csak kisebb mennyiségben szállítják Olaszországból, azután Németországból vagy Franciaországból. Fája korán termőre fordul és jól terem. Kis termésű termésének héja citromsárga, napsütötte oldalán pedig mosottan piros színezetű. Gyümölcshúsa sárgás színezetű, kicsit lédús, jó magvaváló valamint édes és fűszeres ízvilágú (TÓTH és SURÁNYI 1980). Még nála is valamivel kisebb a szintén augusztus közepe és vége között érő 'Mirabelle aus Metz', amelyből elsősorban pálinkát készítenek.

M2.15. Nemtudom szilva (Penyigei szilva, Palonyai szilva Névtelen szilva, Nemtudomka) (*Prunus insititia* Jusl.) (35/j. ábra)

A Felső-Tisza vidék ártéri gyümölcsöseiben, a Szilágyságban, a Körösök partján őshonos fajta. Az ártereken, kivadulva nagyobb állományait még ma is láthatjuk. Sokváltozatú fajtakörből alakult ki, hiszen a helyiek kézből kézbe adva magról és sarjra is egyaránt szaporították. Korán termőre fordul. Érési ideje augusztus közepe és szeptember első felére tehető. Kis, gömbölyded-ovális gyümölcsének húsa világossárga, héja liláskék. Gömbölyded magva nem magvaváló. Szárazanyagtartalma kimagasló (Brix: 35%). A belőle készült lekvár és pálinka hungarikum. Fája igen erőteljes növekedésű, és rendkívül bőven termő. Vírusfertőzésre alig érzékeny. Öntermékeny.

- **Nemtudom P3**

2012-ben állami elismerésben részesített fajta. Nemesítői: Pethő Ferenc, Nagy Gabriella és Szabó Tibor (SURÁNYI 2014).

M2.16. Tuleu gras (*Prunus domestica* L.) (35/f. ábra)

Ismeretlen eredetű román, az Olt és Zsil völgyében, valamint Moldovában gyakori régi fajta. Természetes hibridnek tartják, ami genetikailag nagyon különböző fajták spontán kereszteződéséből született (SURÁNYI 2006a).

Az elmúlt két évtizedben szerepe megnőtt az európai szilvák körében, s a főbb európai országokban. Fája középérésű növekedésű (NYÉKI és mts. 2012). Későn virágzó virágai hímsterilek. Gyümölcse közepnagy, megnyúlt tojásdad alakú, amelynek héja sötétkék, hamvas. Sárgászöld színű húsa ropogós. Friss fogyasztásra és feldolgozásra is egyaránt alkalmas fajta (HARSÁNYI 1979, TÓTH és SURÁNYI 1980, KISSNÉ és MAROSI 2006).

M2.17. Victoria (*Prunus italica*) (35/i. ábra)

Spontán magoncként figyeltek fel rá Angliában. Ott és Skandináviában nagyon fontos szilvafajta. Későn virágzik és virágai jól öntermékenyülők. Korán és igen bőven terem. Fája kicsi, közepes elágazási hajlamú, természetes koronája ernyő alakú; intenzív koronanevelésre és sűrű telepítésre is alkalmas. Öntermékeny. Ökológiai adottságtól függően augusztus-

szeptembereben érik. Nagyon bőven termő fajtaként ismert (HARSÁNYI 1979). Gyümölcse nagy-igen nagy (60–70, de nálunk csak 50 g), héja vöröses bíbor, húsa sárga és finom rostos, tömött, magvaváló. Tetszetős, piacos árut ad, sharka vírusra mérsékelten fogékony.

M2.18. Vörös szilva (*Prunus domestica* L.) (35/k. ábra)

Ismeretlen eredetű, genetikailag nem egységes fajta, főleg az alföldi szőlőkben igen elterjedt volt (HARSÁNYI 1979). Az Alföldnek a Tiszától távolabbi területein kialakult helyi fajtája, amelyet kétféleképp hasznosítottak a népi termesztésben. Brózik Sándor a Borsod-Abaúj-Zemplén, a főleg Gönc vidékén az egyik tájfajtaját nevezi Vörös szilvának, amit a Dél-Alföldön más jellegűnek találunk. Fajtavizsgálatokat az utóbbi években vele s klónjaival kapcsolatban nem végeztek. Fája középerős növekedésű, fiatal korban koronája felfelé törő, később szétterül. Levele-elég kicsi, visszás-tojásdad alakú, az érzuga molyhos; a virága kicsi, igen jól öntermékenyülő. Középidőben virágzik. Rendszeresen és igen bőven terem. Augusztus elején-közepén érik. Középnagy gyümölcse szélesen megnyúlt, sötét liláspiros, hamvas. Aranysárga húsa leves, édesen savas, íze nem fűszeres és gyengébb a Beszterceinél. Termése magvaváló. Számos fajtája között egyesek teljesen alkalmatlanok alanynak, de a Vörös szilva IV. számú megfelelő. Sarjrol nevelve azonban gyenge a faiskolai eredés a magoncokéhoz képest. A sárgabarackkal kompatibilis, rajta a gyümölcs keményebb és színesebb lesz. Atkafertőzésre nagyon érzékeny (SURÁNYI 2014).

M2.19. Zöld ringló (*Prunus italica*) (35/e. ábra)

Származása ismeretlen eredetű, igen régi fajta, feltehetően Itáliából került Franciaországba, majd Ausztrián keresztül Magyarországra. Bécsi német nevéből, a Ringlotte-ből született a ringló szavunk. Különböző mértékben, de az egész világon elterjedt fajta. Hazánkban főleg a házi kertekben fordul elő (HARSÁNYI 1979).

Fája nagy, szétterülő és közepesen sűrű koronát nevel. Zöldezlila színű vesszői, középerős növekedésűek (NYÉKI és mts. 2012). A téli fagyokat jól, a tavaszi fagyokat kevésbé bírja, szárazságtűrő fajta. Önmeddő virágai korán kinyílnak. Viszonylag korán termőrefordul, majd ezt követően bőtermő, de rendszertelenül terem. Középerésű fajtaként, augusztus második felétől hozza középnagy gyümölcsöt (20-25 g), melynek alakja gömbölyded, felülről nyomott, mindkét végén lapos. Héja zöldessárga színű, amely a napos oldalán pirosan pontozott is lehet. Zöldessárga húsa, fénylő és leveses. Termése magvaváló. Íze nagyon édes, de azért még élvezhetően kellemes zamatos (TÓTH és SURÁNYI 1980, KISSNÉ és MAROSI 2006). Beltartalmi értékei: a refrakció 20-22%, invert cukor- 12-14% és savtartalom 0,5-0,7%. Termése repedésre hajlamos. Teljesen beérett gyümölcsöket hazánkban főként frissfogyasztásra használják. Kiváló világos befőtt, és nagyon jó dzsem, lekvár és párlat készíthető belőle. Az átmeneti tárolást nem bírja (SURÁNYI 2006a).



35. ábra: ‘Besztercei szilva’ (a), ‘Bühler Frühzwetsche’ (b), ‘Duránci’ (c), ‘Bódi szilva’ (d), ‘Zöld ringló’ (e), ‘Tuleu gras’ (f), ‘Fehér szilva’ (g), ‘Kökényszilva’ (h), ‘Victoria’ (i), ‘Nemtudom szilva’ (j), ‘Vörös szilva’ (k), ‘Mirabelle de Nancy’ (l) fajták képei (Fotók: Natural garden, Lövete – Székelyszeltersz, Románia; Florapicture, Németország; J Parker Dutch Bulbs Ltd, Manchester, Egyesült Királyság; Barna és Fiai Faiskola Kft., Kecskemét, Magyarország; Marshalls, Huntingdon, Egyesült Királyság; dreamstime.com; kertlap.hu).

M3. táblázat: A vizsgálataink során felhasznált gazdasági szilvafajták jellemzése (HARSÁNYI 1979, SZABÓ 2001, SURÁNYI 2006a, SURÁNYI 2014).

Gazdasági szilva fajták	Virágzási idő-csoportok	Legalkalmasabb pollenadó fajták sorszáma	Érési idő	Gyümölcs	Sharka-érzékenység ¹	Gazdasági érték
Althann ringló	Közép-korai	13.	augusztus közepe	Nagy, gömbölyded, magvaváló, erősen hamvas, savanykás-édesfűszeres ízű.	++	Első sorban friss fogyasztásra, de befőzésre is.
Bluefre	Közép-későn	12., 14.	szeptember eleje	Igen nagy, ellipszis alakú, magvaváló, hamvas, jóízű.	- - -	Friss fogyasztásra, aszalásra.
Cacanska leptica	korán	12.	július vége, augusztus eleje	Középnagy, megnyúlt, hengeres alakú, magvaváló, erősen hamvas, kellemes édes-savas ízű.	-	Igen bőtermő. Friss fogyasztásra, befőzésre, aszaltvagy készítésre.
Elena	Közép-idejű	-	szeptember vége	Középnagy, megnyúlt alakú, hamvas kiváló ízű.	-	Jól tárolható, cukrászipari felhasználásra, pálinkafőzésre és aszalásra is alkalmas.
Empress	Közép-idejű	12., 14.	szeptember eleje	Nagy, magvaváló, jóízű.	+	Friss fogyasztásra.
Haganta	Közép-korai	3., 10., 7.	szeptember eleje	Igen nagy, magvaváló, jóízű.	- - -	Friss fogyasztásra.
Hanita	Közép-idejű	-	augusztus közepe-szeptember közepe	Nagy, hosszúkas alak, egyes években mérsékelten magvaváló, illatos, kiváló ízű.	- -	Friss fogyasztásra.
Haroma	korai	-	szeptember	Középnagy jellegzetesen ovális gyümölcsalakú, hamvas, édes, jóízű és nagyon illatos.	+	Friss fogyasztásra, feldolgozásra (pálinkafőzés).
Jojo	korai	-	Szeptember	Középnagy vagy nagy, ovális alakú, magvaváló, kellemes édes-savas ízvilágú.	R	Friss fogyasztásra.
Katinka	Közép-korai	-	július közepe	Középnagy, magvaváló, jóízű.	- -	A gyümölcsök jól szállíthatók. Jól tárolható, friss fogyasztásra és sütőipari felhasználásra egyaránt kiválóan alkalmas.
Presenta	korai	-	szeptember végétől	Középnagy, hengeres alakú, magvaváló, magas cukortartalmú, zamatos.	- -	Kiváló pálinka alapanyag.

M3. táblázat: (Folytatás).

Gazdasági szilva fajták	Virágzási idő-csoportok	Legalkalmasabb pollenadó fajták sorszáma	Érési idő	Gyümölcs	Sharka-érzékenység ¹	Gazdasági érték
President	korai	1., 2., 13., 14.	szeptember közepétől	Nagy, megnyúlt gömbölyded, magvaváló, hamvas, enyhén savas, kissé zamatos.	-	Friss fogyasztásra.
Sermina	Közép-korai	1.	július közepe-vége	Nagy, gömbölyded, magvaváló, hamvas.	- - -	Friss fogyasztásra
Stanley	Közép-idejű	-	augusztus vége, szeptember eleje	Középnagy, megnyúlt, hengeres, részben magvaváló, erősen hamvas, kevésbé zamatos.	-	Termése sokoldalú felhasználásra alkalmas: friss fogyasztásra, befőzésre, mélyfagyasztásra.
Topend Plus	Közép-korai	-	szeptember vége	„Túl” nagy, hosszúkás alakú, magvaváló, sokáig fán marad, kiváló ízű.	- - -	Kiválóan tárolható
Topfive	középkései	3.	augusztus	Hosszúkás-kerekded, hamvas, közepes ízvilágú, illatos.	- - -	Friss fogyasztásra és ipari célra.
Tophit	középkorai	-	szeptember eleje	Nagy, hosszúkás, magvaváló hamvas, kiváló ízvilágú.	- - -	Friss fogyasztásra, sütőipari felhasználásra.

¹(+): Sharka vírussal szembeni érzékenység mértéke; (-): Sharka vírussal szembeni tolerancia mértéke; R: Sharka-vírussal szemben rezisztens

M4. táblázat: A K1 (kék) alcsoportba tartozó egyedek Jaccard szerinti hasonlósági mátrixa.

Szilvafajták	Althann ringló	Bluefre	C.174 mirobalán	C.679 mirobalán	Cacanska lepotica	Elena	Empress	Haganta	Hanita	Haroma	Hollandi szilva	C.940	Jojo	Katinka	Lószemű szilva	Oka	Presenta	President	Sermina	Stanley	Topend Plus	Topfive	Tophit	Victoria	Zöld ringló
Althann ringló	1																								
Bluefre	0,19	1																							
C.174 mirobalán	0,17	0,15	1																						
C.679 mirobalán	0,11	0,12	0,56	1																					
Cacanska lep.	0,50	0,32	0,05	0,06	1																				
Elena	0,25	0,29	0,16	0,11	0,35	1																			
Empress	0,16	0,31	0,18	0,16	0,19	0,30	1																		
Haganta	0,38	0,37	0,19	0,14	0,33	0,30	0,26	1																	
Hanita	0,24	0,50	0,15	0,13	0,28	0,23	0,36	0,32	1																
Haroma	0,24	0,41	0,15	0,13	0,27	0,22	0,32	0,34	0,56	1															
Hollandi szilva C.940	0,14	0,24	0,12	0,09	0,15	0,19	0,20	0,19	0,24	0,20	1														
Jojo	0,20	0,28	0,14	0,08	0,27	0,19	0,23	0,25	0,27	0,23	0,29	1													
Katinka	0,50	0,11	0,18	0,15	0,32	0,23	0,22	0,33	0,20	0,27	0,15	0,30	1												
Lószemű szilva	0,18	0,22	0,21	0,11	0,24	0,45	0,27	0,29	0,24	0,30	0,17	0,23	0,24	1											
Oka	0,11	0,19	0,47	0,53	0,12	0,17	0,13	0,11	0,13	0,16	0,13	0,14	0,12	0,18	1										
Presenta	0,22	0,26	0,13	0,08	0,25	0,26	0,27	0,26	0,40	0,42	0,21	0,27	0,28	0,30	0,10	1									
President	0,17	0,47	0,13	0,11	0,23	0,26	0,50	0,30	0,59	0,43	0,28	0,24	0,17	0,31	0,14	0,51	1								
Sermina	0,50	0,20	0,15	0,13	0,40	0,25	0,17	0,34	0,17	0,17	0,20	0,21	0,40	0,19	0,16	0,22	0,20	1							
Stanley	0,29	0,46	0,11	0,11	0,44	0,56	0,35	0,45	0,33	0,29	0,23	0,29	0,21	0,20	0,11	0,27	0,30	0,29	1						
Topend Plus	0,37	0,42	0,22	0,13	0,28	0,34	0,33	0,57	0,50	0,42	0,24	0,30	0,34	0,24	0,13	0,33	0,48	0,27	0,46	1					
Topfive	0,43	0,21	0,14	0,11	0,37	0,27	0,18	0,28	0,19	0,23	0,20	0,20	0,37	0,29	0,11	0,24	0,17	0,32	0,26	0,33	1				
Tophit	0,35	0,30	0,13	0,08	0,39	0,36	0,31	0,40	0,45	0,40	0,25	0,28	0,33	0,32	0,08	0,45	0,46	0,26	0,49	0,45	0,34	1			
Victoria	0,15	0,22	0,13	0,10	0,12	0,22	0,24	0,23	0,21	0,21	0,72	0,26	0,18	0,15	0,10	0,16	0,22	0,21	0,23	0,24	0,20	0,20	1		
Zöld ringló	0,09	0,27	0,06	0,06	0,20	0,18	0,26	0,28	0,26	0,20	0,15	0,16	0,07	0,36	0,06	0,23	0,33	0,17	0,22	0,23	0,16	0,28	0,16	1	

M5. táblázat: A K2 (piros) alcsoportba tartozó egyedek Jaccard szerinti hasonlósági mátrixa.

Szilvafajták	Besztercei 105-58	Besztercei Bb. 398	Besztercei Bt. 2.	Besztercei Nm.122.	Besztercei Nm.150.	Besztercei szilva	Bühler Frühlzwetschge	Duránci	Durkó	Gömöri nyakas 1.	Gömöri nyakas 2.	Kecskeméti 101	Lengyel	Páczelt szilvája	Tuleu gras
Besztercei 105-58	1														
Besztercei Bb. 398	0,82	1													
Besztercei Bt. 2.	0,88	0,72	1												
Besztercei Nm.122.	0,72	0,81	0,63	1											
Besztercei Nm.150.	0,68	0,77	0,60	0,95	1										
Besztercei szilva	0,66	0,68	0,58	0,84	0,80	1									
Bühler Frühlzwetschge	0,42	0,48	0,40	0,45	0,46	0,41	1								
Duránci	0,41	0,47	0,38	0,48	0,45	0,44	0,28	1							
Durkó	0,35	0,40	0,33	0,41	0,42	0,37	0,30	0,73	1						
Gömöri nyakas 1.	0,35	0,40	0,32	0,46	0,48	0,37	0,29	0,25	0,23	1					
Gömöri nyakas 2.	0,35	0,40	0,32	0,46	0,48	0,41	0,29	0,25	0,23	0,90	1				
Kecskeméti 101	0,37	0,38	0,38	0,39	0,40	0,31	0,35	0,23	0,25	0,31	0,31	1			
Lengyel	0,38	0,40	0,40	0,37	0,34	0,29	0,33	0,19	0,18	0,33	0,33	0,27	1		
Páczelt szilvája	0,42	0,47	0,39	0,57	0,54	0,48	0,36	0,32	0,34	0,41	0,41	0,35	0,40	1	
Tuleu gras	0,40	0,41	0,37	0,38	0,39	0,30	0,38	0,26	0,28	0,43	0,43	0,32	0,30	0,27	1

M6. táblázat: A K3 (zöld) alcsoportba tartozó egyedek Jaccard szerinti hasonlósági mátrixa.

Szilvafajták	Beregi datolya	Bódi szilva 1.	Bódi szilva 2.	Elein érő	Fehér-szilva 1.	Fehér-szilva 2.	Fehér-szilva 3.	Fehér-szilva 4.	Francia narancs-szilva	Kökény-szilva CT 93	Mirabelle de Nancy	Nemtudom szilva P3	Sivákló	Vörös szilva 1.	Vörös szilva 2.	Vörös szilva 3.
Beregi datolya	1															
Bódi szilva 1.	0,33	1														
Bódi szilva 2.	0,34	0,90	1													
Elein érő	0,31	0,22	0,26	1												
Fehérszilva 1.	0,33	0,30	0,34	0,39	1											
Fehérszilva 2.	0,35	0,31	0,29	0,33	0,70	1										
Fehérszilva 3.	0,34	0,27	0,25	0,36	0,74	0,88	1									
Fehérszilva 4.	0,35	0,31	0,29	0,33	0,70	1,00	0,88	1								
Francia narancsszilva	0,42	0,27	0,28	0,25	0,27	0,28	0,25	0,28	1							
Kökényszilva CT 93	0,34	0,34	0,38	0,36	0,38	0,28	0,28	0,28	0,25	1						
Mirabelle de Nancy	0,25	0,35	0,40	0,27	0,25	0,17	0,17	0,17	0,26	0,45	1					
Nemtudom szilva P3	0,27	0,34	0,35	0,25	0,38	0,32	0,35	0,32	0,13	0,28	0,26	1				
Sivákló	0,28	0,29	0,33	0,62	0,55	0,38	0,41	0,38	0,26	0,33	0,27	0,33	1			
Vörös szilva 1.	0,37	0,43	0,44	0,47	0,41	0,35	0,37	0,35	0,34	0,64	0,40	0,37	0,40	1		
Vörös szilva 2.	0,40	0,42	0,43	0,41	0,36	0,30	0,33	0,30	0,33	0,73	0,38	0,33	0,35	0,89	1	
Vörös szilva 3.	0,37	0,43	0,45	0,35	0,30	0,39	0,35	0,39	0,35	0,58	0,36	0,28	0,30	0,77	0,75	1

Hepehupás, vén Szilágyban

Hepehupás, vén Szilágyban,
Hét szilvafa árnyékában
Szunnyadt lelkem ezer évet
Paraszt zsályaként aludt el
S bús krizantém-fürttel ébredt
Hepehupás, vén Szilágyban.

Hepehupás, vén Szilágyban
Hét szilvafa árnyékában
Várt volna még ezer évet,
Míg idő jön a csodákra.
Óh, jaj nekem, hogy fölébredt
Hepehupás, vén Szilágyban.

Ady Endre

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt hálás köszönettel tartozom, **Dr. Halász Júlia** témavezetőmnek, aki mind elméleti, mind gyakorlati tanácsaival irányította munkámat. Tisztelettel megköszönöm, hogy megosztotta velem nélkülözhetetlen szakmai tapasztalatait, ezzel is segítette tudásom gyarapítását. Ezúton is hálásan köszönöm végtelen türelmét és segítőkész támogatását, bátorítását munkám során.

Köszönetet mondok **Dr. Hegedűs Attila** Tanszékvezető Úrnak, hogy biztosította a lehetőséget számomra, hogy a kísérleti munkát a Szent István Egyetem Budai Campusa Kertészettudományi Karának Genetika és Növénynevelés Tanszékén végezhettem el, továbbá köszönöm nélkülözhetetlen szakmai tudását és az eredmények kiértékelésében nyújtott segítségét.

Köszönetemet fejezem ki **Dr. Tóth Magdolna** tanárnőnek és **Dr. Kovács Szilviának**, hogy a Szent István Egyetem Gyümölcstermő Növények Tanszék Soroksári Kísérleti Üzem és Tangazdaság ültetvényéből a mintákat a rendelkezésemre bocsátotta és további táj- és hagyományos fajtákat biztosítottak a számomra, továbbá köszönöm nélkülözhetetlen szakmai hozzájárulásukat a munkám során.

További köszönettel tartozom **Dr. Surányi Dezsőnek**, hogy biztosította számomra a NAIK Gyümölcstermesztési Kutatóintézet Ceglédi Kutató Állomásáról a vizsgálataim során felhasznált szilva táj- és hagyományos fajtákat, illetve önzetlen segítőkészségét és szakmai támogatását.

Itt szeretném köszönetemet kifejezni barátnőmnek **Kerekes Adriennek** és **Antal Gabriellának**, az önzetlen segítőkészségéért, szeretetteljes bátorításáért, valamint értékes szakmai tanácsaikért.

Köszönöm **Chicki Melisának**, hogy segített eligazodni egy kutató laboratóriumban és köszönöm segítőkészségét, hiszen bármilyen kérdéssel fordulhattam felé.

Végezetül, de nem utolsó sorban köszönöm a **Genetika és Növénynevelés Tanszék összes munkatársának és hallgatójának** mind a labormunkám és tanszéken folytatott tevékenységem során nyújtott készséges segítségüket és azt a barátságos és vidám légkört, amely a tanszéken töltött időmet végig jellemezte.

A kutatást az Emberi Erőforrások Minisztériuma **ÚNKP-16-3-I.5** kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának valamint az **OTKA K 112554** pályázat támogatásával készült.

Végül szeretném megköszönni a **családomnak**, hogy megteremtették számomra azt a biztos és bátorító hátteret, amely nélkül nehezen sikerült volna. A legnagyobb hálával a **Jó Istennek** tartozom, hogy elég erővel, kitartással és bölcsességgel áldott meg, hogy mindezt véghez tudjam vinni.