

AKADÉMIAI DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Csonthéjas gyümölcsfajok termékenyülési viszonyainak genetikai háttere

HALÁSZ JÚLIA

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem



BUDAPEST

2023

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	3
1. BEVEZETÉS	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
2.1. A hazai csonthéjas gyümölcsstermesztés jelentősége	7
2.2. A virágzásbiológiai vizsgálatok kezdete	9
2.3. Az önmeddőség hazai kutatásának rövid története	11
2.4. Az önmeddőségi (inkompatibilitási) rendszerek jelentősége	13
2.5. Az inkompatibilitás típusai	14
2.6. Milyen gének irányítják a csonthéjas fajok inkompatibilitási rendszerét?	16
2.6.1. A bibekomponens szerkezeti jellemzése és funkciója	17
2.6.2. A pollenkomponens szerkezeti jellemzése és funkciója	21
2.6.3. A saját/idegen felismerési reakció molekuláris alapja	24
2.6.4. Az önmeddőség kialakításában szerepet játszó egyéb komponensek azonosítása	26
2.6.5. A rendszer működése poliploid fajok esetében	27
2.7. A gyümölcsfák öntermékenyülésének genetikai háttere: funkcióvesztéses mutációk az <i>S</i> -lókuszban	29
2.7.1. Cseresznye (<i>P. avium</i> L.)	30
2.7.2. Mandula [<i>P. dulcis</i> (Mill.) D.A.Webb]	31
2.7.3. Japánkajszi (<i>P. mume</i> Sieb. et Zucc.)	31
2.7.4. Japánszilva (<i>P. salicina</i> Lindl.)	31
2.7.5. Őszibarack (<i>P. persica</i> L. Batsch.)	32
2.7.6. Meggy (<i>P. cerasus</i> L.)	32
2.7.7. Kajszi (<i>P. armeniaca</i> L.)	33
2.8. Az <i>S</i> -lókusz evolúciós története	33
2.9. Az <i>S</i> -genotípus meghatározásának módszerei	35
2.9.1. Szabadföldi irányított megporzás és a gyümölcskötődési arány vizsgálata	35
2.9.2. Mikroszkópos pollentömlő-növekedési vizsgálatok	36
2.9.3. Fehérje-alapú módszer	36
2.9.4. A DNS-alapú módszerek	37
2.10. Az Európában termesztett gyümölcsfajok <i>S</i> -allél-rendszere	40
2.10.1. Cseresznye (<i>P. avium</i> L.)	40
2.10.2. Mandula [<i>P. dulcis</i> (Mill.) D.A.Webb]	40
2.10.3. Japánszilva (<i>P. salicina</i> Lindl.)	41
2.10.4. Őszibarack (<i>P. persica</i> L. Batsch.)	41
2.10.5. Meggy (<i>P. cerasus</i> L.)	41
2.10.6. Kajszi (<i>P. armeniaca</i> L.)	42
2.10.7. Házi szilva (<i>P. domestica</i> L.)	42
2.11. A termékenyülési rendszerek szerepe a termesztésben és a nemesítésben	43
2.11.1. A termésmennyiség és -méret befolyásolása	43
2.11.2. <i>S</i> -genotipizálás és markerekre alapozott szelekció	44
3. CÉLKITŰZÉS	46
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	48
4.1. Növényanyag	48
4.1.1. Mandula [<i>P. dulcis</i> (Mill.) D.A.Webb]	48
4.1.2. Kajszi (<i>P. armeniaca</i> L.)	48
4.1.3. Meggy (<i>P. cerasus</i> L.)	48
4.1.4. Házi szilva (<i>P. domestica</i> L.)	48
4.1.5. Babérmeggy (<i>P. laurocerasus</i> L.)	49
4.2. DNS-kivonás	49
4.3. Az <i>S</i> -lókusz PCR-vizsgálata	49
4.4. A PCR-termékek klónozása	50
4.5. Az adatok kiértékelése	51
4.6. SSR-vizsgálatok	51
4.7. Filogenetikai és statisztikai analízis	52
4.8. Az adatok kiértékelése	53

4.9. Szabadföldi tesztkeresztezesek	54
5. EREDMÉNYEK	55
5.1. A mandula [<i>Prunus dulcis</i> (Mill.) D.A.Webb; syn. <i>P. amygdalus</i> Batsch] genetikai vizsgálatának eredményei	55
5.1.1. Magyar és kelet-európai mandulafajták, valamint kaliforniai fajtajelöltek <i>S</i> -genotípusának meghatározása, inter-inkompatibilitási csoportokba sorolása	55
5.1.2. A magyar és a világ jelentősebb termőterületeiről származó mandulafajták genetikai variabilitásának jellemzése	62
5.2. A kajszi (<i>Prunus armeniaca</i> L.) genetikai vizsgálatának eredményei	65
5.2.1. A kajszi <i>S</i> -lókuszának variabilitása Törökország területén	65
5.2.2. A kajszi <i>S</i> -lókuszának variabilitása Észak-Afrikában	67
5.2.3. A kajszi önmeddőségét áttörő <i>Prunus</i> -specifikus transzpozon azonosítása	70
5.3. A meggy (<i>Prunus cerasus</i> L.) genetikai vizsgálatának eredményei	76
5.3.1. A funkcióképtelen <i>S</i> -allélok jelenléte a magyar meggyfajtákban	76
5.3.2. Az <i>S</i> -genotipizálás hatékonyságának növelése	79
5.3.3. Magyar meggyfajták genetikai jellemzése SSR-markerekkel	83
5.3.4. Az <i>S-RN-áz</i> gén molekuláris markerként történő felhasználása különböző ploid szintű, spontán <i>Prunus fruticosa</i> Pall. hibridek jellemzésére	84
5.4. A házi szilva (<i>Prunus domestica</i> L.) genetikai vizsgálatának eredményei	86
5.5. A babérmeggy (<i>Prunus laurocerasus</i> L.) genetikai vizsgálatának eredményei	89
5.5.1. Az <i>S-RN-áz</i> allélok azonosítása egy extrém poliploid faj esetében	89
5.5.2. Az <i>S-RN-áz</i> allélok jellemzése egy extrém poliploid faj esetében	93
6. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA	99
6.1. A mandula genetikai vizsgálatának összegzése	99
6.1.1. Magyar és kelet-európai mandulafajták, valamint amerikai fajtajelöltek termékenyülésének genetikai háttere	99
6.1.2. A hazai és a világ jelentősebb termőterületeiről származó mandulafajták genetikai variabilitásának összehasonlító elemzése	101
6.2. A kajszi genetikai vizsgálatának összegzése	105
6.2.1. A magyar és török kajszi fajták közti kapcsolat feltárása az <i>S</i> -lókusz alapján	105
6.2.2. Az európai és észak-afrikai kajszi kultúrevolúciós története az <i>S</i> -lókusz tükrében	107
6.2.3. A kajszi önmeddőségét áttörő <i>Prunus</i> -specifikus transzpozon azonosítása és hatása	109
6.2.4. A kajszi <i>S</i> -allél-rendszerének jelenlegi helyzete, az inter-inkompatibilitási csoportok száma	113
6.3. A meggy genetikai vizsgálatának összegzése	114
6.3.1. A funkcióképtelen allélok jelenléte és hatása a magyar meggyfajtákban	114
6.3.2. Az <i>S-RN-áz</i> gén molekuláris markerként történő felhasználása	118
6.4. Az eredetvédett szatmári szilvapálinka alapját adó Nemtudom és Besztercei fajtakör jellemzése <i>S</i> -genotípus alapján	119
6.5. A babérmeggy genetikai vizsgálatának összegzése	120
6.5.1. Funkcióképes és funkcióképtelen <i>S-RN-áz</i> allélok azonosítása egy extrém poliploid faj esetében	120
6.5.2. Az <i>S-RN-áz</i> allélok jellemzése egy extrém poliploid faj esetében	121
7. KÖVETKEZTETÉSEK	123
7.1. Gyakorlati hasznosulás	123
7.2. Hozzájárulás a csonthéjas gyümölcsfajok genetikai alapjainak megismeréséhez	123
ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	125
MELLÉKLETEK	127
Irodalomjegyzék	131
Köszönetnyilvánítás	149

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

- A:** adenin
AS: aminosav
BLAST: basic local alignment search tool, egyszerű lokális szekvenciaillesztő módszer
bp: bázispár
C: citozin
C: conservative region, konzervatív régió
C1-C3, C5: az *S-RN-áz* gén 1-3. és 5. konzervatív régiója
CAPS: cleaved amplified polymorphic sequences, amplifikált fragmentumok (PCR-termékek) hasításon alapuló polimorfizmusának kimutatása
CIG: cross-incompatibility group, inter-inkompatibilitási csoport
ECM: extracellular matrix, extracelluláris mátrix, sejten kívüli tér
EPP: effective pollination period, hatékony megporzási időszak
EST-SSR: expressed sequence tag-derived simple sequence repeat, kódoló DNS-régióból származó egyszerű szekvenciaismétlődés, mikroszatellit
 F_{IS} : inbreeding coefficient, beltenyésztési együttható
 F_{ST} : fixation index, Wright-féle fixációs index
G: guanin
GI: general inhibitor, általános inhibitor fehérje
GSI: gametophytic self-incompatibility, gametofitikus inkompatibilitás
He: expected heterozygosity, várható heterozigótaság
Ho: observed heterozygosity, megfigyelt heterozigótaság
HRMA: high resolution melting analysis, nagyfelbontású olvadásgörbe analízis
HV: hypervariable region, hipervariábilis régió
IC: internal control, belső kontroll
IEF: isoelectric focusing, izoelektromos fókuszálás
ILP: intron length polymorphism, intronhossz-polimorfizmus
IR: inverted repeat, fordított ismétlődés
kb: kilobázispár
LINE: long interspersed nuclear element, a sejtmagi genomba beékelődő hosszú nukleinsavszakaszok
LSI: late-acting self-incompatibility, kései fejlődési fázisban lejátszódó inkompatibilitás
LTR: long terminal repeat, hosszú láncvégi ismétlődés
MGST: *M*-lókusz glutation-S-transzferáz
MITE: miniature inverted-repeat transposable element, rövid, fordított ismétlődéseket tartalmazó transzpozábilis DNS-szakasz
NCBI: National Center for Biotechnology Information, online nemzetközi bioinformatikai adatbázis (USA)
NEpHGE: non-equilibrium isoelectric focusing, nem egyensúlyi izoelektromos fókuszálás
ORF: open reading frame, nyílt leolvasási keret
ÖM: önmeddő
ÖT: öntermékenyülő
PCR: polymerase chain reaction, polimeráz láncreakció
PIC: polymorphic information content, polimorfizmus mértékének információtartalma
PPM: pollen-part mutant, pollenkomponensben bekövetkezett mutáció
PPV: plum pox potyvirus, szilvahimlő vírus
RC4: a *Rosaceae S-RN-ázok* 4. konzervatív régiója
RHV: rosaceous hypervariable region, a *Rosaceae S-RN-áz* gén hipervariábilis régiója
rRNS: riboszómális RNS

SCF: Skp, Cullin, F-box containing complex, Skp, Cullin, F-box tartalmú molekulakomplex

SFB: *S* haplotype-specific F-box protein, *S*-haplotípusra specifikus F-box fehérje

SI: self-incompatibility, inkompatibilitási rendszer

SINE: short interspersed nuclear element, a sejtmagi genomba beékelődő rövid nukleinsavszakaszok

SLFL: *S* locus F-box protein-like, *S*-lókusz F-box-szerű fehérje

SPM: stylar-part mutant, bibekomponensben bekövetkezett mutáció

S-RN-áz: *S*-ribonukleáz

SSI: sporophytic self-incompatibility, sporofitikus inkompatibilitás

SSR: simple sequence repeat, mikroszatellit régió (egyszerű szekvenciaismétlődés)

ssRNS: single-stranded RNA, egyszálú ribonukleinsav (RNS)

T: timin

TIR: terminal inverted repeat, láncvégi fordított ismétlődés

TSD: target site duplication, a transzpozont határoló direkt (azonos orientációjú) szekvenciaismétlődés

UPGMA: unweighted pair group method with arithmetic mean, csoportátlag módszer

UPS: ubiquitin proteasome system, ubikvitin-proteaszóma rendszer

1. BEVEZETÉS

A jövedelmező gyümölcsstermesztés alapja a gyümölcsfák termésbiztonsága, ami a megfelelő mennyiségű és minőségű termés elérését jelenti. A végeredmény összetett, számos genetikai és környezeti tényezőtől egyaránt függ. A korszerű növénynevelés olyan fajták előállítását célozza meg, amikkel a felmerülő nehézségek kiküszöbölhetők vagy hatásuk mérsékelhető. A klímaváltozás következtében hazánkban is egyre gyakrabban mutatkoznak kedvezőtlen időjárási körülmények (virágzáskor vagy a termésfejlődés korai szakaszában bekövetkező fagy, aszály vagy szüret idején jelentkező bőséges csapadék stb.), amik jelentős mértékű károkat okozhatnak. A termés kialakulásához vezető út első és legfontosabb lépése a megfelelő termékenyülés, ami kizárólag öntermékenyülő vagy egymást kölcsönösen jól termékenyítő fajták társításával biztosítható. Ugyan a virágzási időszakban bekövetkező fagy vagy a megporzó rovarok számára túl alacsony hőmérséklet végső soron a termékenyülés elmaradásával is járhat, viszont, ha genetikailag összeférhetetlen (inkompatibilis) fajták alkotnak egy ültetvényt, akkor még optimális körülmények között sem következhet be a termékenyülés. Az ültetvényszerkezet tervezésénél döntő fontosságú az egyes fajták termékenyülési viszonyainak pontos ismerete. Ez önmagában nem elégséges, de elengedhetetlen feltétele a terméskötődésnek.

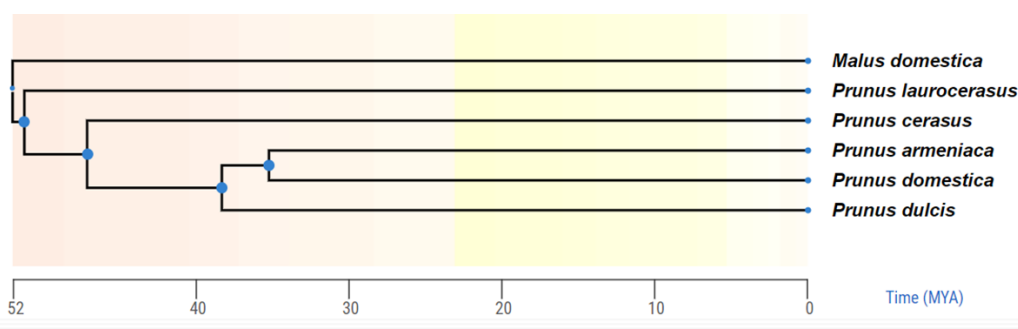
A magasabb rendű növényekre és állatokra jellemző termékenyülési folyamat egyik legjelentősebb különbsége, hogy a zárvatermő növények többségénél a hím- és nőivarú szaporítószervek ugyanazon az egyeden, legtöbbször ugyanabban a virágban található meg. Ebből következik, hogy a saját pollennel történő megtermékenyülésnek nincs fizikai akadálya. Az öntermékenyülési képesség elő is fordul a természetes populációk körében, de leginkább a beporzó rovarok nélküli területeken, szélsőségesen mostoha körülmények között, általában rövid életciklusú növényekre jellemző, ahol ez a túlélés egyetlen esélye. Mivel azonban az öntermékenyülés a legmagasabb fokú rokonpárosodást jelenti, a genetikai sokféleség beszűküléséhez vezet, és a homozigóta állapotba kerülő lókusok súlyos genetikai leromlást is előidézhetnek. Mindezek a káros következmények alapvetően veszélyeztetik a faj evolúciós sikerességét, túlélését. Ennek megakadályozására alakultak ki azok a mechanizmusok, amelyek a hímnős virágok esetében képesek meggátolni a saját vagy vele azonos genetikai háttérű pollennel történő termékenyülést. A genetikai variabilitás fenntartása érdekében ezek a különféle működési alapokon nyugvó mechanizmusok egymástól függetlenül, többször is kialakultak az evolúció során. A rendszerek háttérben álló gének és molekulák feltérképezése rendkívül fontos és hasznos a gyümölcsstermesztést támogató kutatásokban, hiszen tudnunk kell a termesztett fajtáról a termékenyülési fenotípusát, továbbá az ismeretek közvetlenül felhasználhatók a fajta-előállító nemesítési folyamat során is. A nemesítés hatékonysága célzott genetikai markerek használatával fokozható, de fejlesztésükhöz a fenotípust kialakító genetikai háttér részletes ismerete szükséges. Az idegtermékenyülés a természetes populációkban előnyös tulajdonság, de az árutermő ültetvényekben egy öntermékenyülő fajtánál nem kell pollenadóról gondoskodni, ami nemcsak a termőterület kihasználását segíti, de az ültetvény munkaszervezését is sokkal hatékonyabbá teszi. Az elmúlt évtizedekben éppen ezért a gyümölcsnemesítési programok egyik fő célkitűzésévé vált az öntermékenyülő fajták létrehozása. Mivel a gyümölcsfák szaporítása vegetatív úton történik, a szaporítóanyag nem az öntermékenyülés következtében jön létre.

A termékenyülési rendszer genetikai alapjainak feltárása több, mint 30 évvel ezelőtt kezdődött el és azóta is kiemelt jelentőségű szakterület a gyümölcsfákkal foglalkozó kutatási programok között, amit jól tükröz az évente megjelenő tudományos közlemények nagy száma. Ezek a vizsgálatok gyakorlati jelentőségükön túlmenően a fajok kialakulásáról, kultúrevolúciós történetükről és rokoni kapcsolataikról is nagyon sok információval szolgálnak. PhD disszertációmban (2007) a kajszifajták termékenyülését meghatározó *S*-allél-rendszer genetikai jellemzésével foglalkoztam. Ezt követően a vizsgálandó fajok körét kibővítve, a Magyarországon termesztett minden csonthéjas gyümölcsfaj számos fajtájával dolgoztam. Eleinte diploid, később a nagyobb komplexitású genommal rendelkező poliploid fajok *S*-lókuszát vizsgáltam. Az MTA doktori disszertációmban a PhD fokozatom elnyerését követő 15 év eredményeit szeretném bemutatni a növekvő ploídiászintnek megfelelő sorrendben, valamint föltárni, hogy miként befolyásolta az öntermékenyülő jelleg felbukkanása az egyes fajok genetikai variabilitását és kultúrevolúcióját.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A hazai csonthéjas gyümölcsstermesztés jelentősége

A *Rosaceae* családba tartozó *Prunus* L. nemzetség közel kétszáz lombhullató vagy örökzöld fát és cserjét foglal magába, melyek között számos gazdaságilag jelentős gyümölcsstermő, illetve dísznövényként ültetett faj található. Az északi félteke mérsékeltövi területein, illetve Ázsia, Afrika, Dél-Amerika és Ausztrália szubtrópusi és trópusi erdeiben fordulnak elő. A nemzetség alap-kromoszómaszáma $\times=8$, a legtöbb faj diploid, de számos tetra-, hexaploid, esetenként magasabb ploidszintű faj is ismert. A molekuláris filogenetikai vizsgálatok alapján a nemzetség kialakulása Kelet-Ázsiában kezdődött el közel 50 Ma (millió évvel ezelőtt), ami végül a magányos virágú, illetve sátor- és fűrtvirágzatú *Prunus* fajok (1. ábra) valamint a *Pygeum* és a napjainkra kihalt *Maddenia* nemzetségek 11.2 Ma elkülönülésével vált teljessé (Kumar és mts., 2022).



1. ábra: A vizsgált *Prunus* fajok filogenetikai fája és kialakulásuk becslött időpontja a Timetree adatbázis alapján (Kumar és mts., 2022).

A világon termesztett gyümölcsfajok mennyiségét tekintve első a banán, amelyet az alma és a szőlő követ. A csonthéjasok közül az őszibarack és a szilva tartozik a 15 legnagyobb mennyiségben termesztett gyümölcsfaj közé. Korábban Európának a csonthéjas fajok termesztésében meghatározó szerepe volt, de a megnövekedett ázsiai termesztés következtében ma már csak a meggy és a cseresznye részaránya kiemelkedő. Világviszonylatban a csonthéjas fajok termésmennyisége 2020-ban 48 743 426 tonna volt, melyből Magyarország részesedése 120 530 tonna (FAOSTAT, 2022). Magyarországon 2019-ben a gyümölcsstermő ültetvények terület nagysága 94 000 hektár volt. Gyümölcsstermesztés szempontjából Szabolcs-Szatmár-Bereg megye szerepe kimagasló, főként az itt megtermelt alma mennyisége miatt, mert 2019-ben az összes almatermés 59%-át, a betakarított meggy mennyiségének 21%-át itt termelték. Összesen 727 970 tonna gyümölcsöt takarítottak be ebben az évben. Ennek 68%-a alma, 8%-a meggy, 6% szilva, 3,8%-a őszibarack, 3,5%-a kajszi és 3%-a körte volt (Központi Statisztikai Hivatal, 2022). Hazánkban az utóbbi hat évtizedben mindvégig az alma termesztése volt a legjelentősebb. Szilvából az 1960-as évek környékén még közel annyi termelt, mint almából, ám termesztése folyamatosan visszaszorult, és napjainkban az akkori termésmennyiségnek már csak közel 20%-át termelik meg a gazdálkodók. A szilva mellett a kajszi és a cseresznye termesztése is háttérbe szorult, míg a meggy jelentősége nőtt. A gyümölcsök többségénél a felvásárlási árak szinte folyamatosan emelkednek. A meggy, az alma és a kajszi esetében azonban évről évre jelentősen ingadozik a felvásárlási ár. Egyik évről a másikra előfordulhat akár 50%-osnál is nagyobb kilengés (FAOSTAT, 2022; Központi Statisztikai Hivatal, 2022).

Hazánk termőhelyi klimatikus adottságai és a területek fekvése eredendően kiválóan alkalmasnak voltak tekinthetők a csonthéjas fajok termesztésére, de az elmúlt időszakban tapasztalható klímaváltozás következményei komoly nehézségeket okoznak. Elsősorban a csapadékeloszlás, az aszály, illetve az újonnan megjelenő kórokozók és kártevők jelentenek komoly kihívást a termesztők számára. A fajtaválasztás döntő fontosságú, mert a

termékenyülési típus ismeretén túl a minél több rezisztenciával (biotikus és abiotikus) rendelkező fajták telepítése adhat megoldást a környezetkímélő termesztésben. Ennek tükrében már tapasztalható a fajtaváltás Magyarországon is. A Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal legfrissebb Nemzeti Fajtajegyzékén 2021-ben összesen 669 gyümölcsfajta található, köztük kb. 60% külföldi és 40% hazai nemesítésű. Az almafajták száma a legnagyobb (az összes fajta 26%-a). A csonthéjas fajok tekintetében legnagyobb számban őszibarackfajták szerepelnek a listán (9,9%), utána kajszi (9,1%), szilva (7,3%), cseresznye (7,0%), meggy (5,4%) és végül a mandula (2,5%). A cseresznye, meggy, kajszi és mandula esetében több a hazai nemesítésű fajta, mint a külföldi (NÉBIH, 2021).

A **meggy** a cseresznye (*P. avium* L.) és a cseplezsmeggy (*P. fruticosa* Pall.) spontán hibridjeként jött létre. Keletkezésének helye Kis-Ázsia és a Kaukázus vidékének olyan régiói, ahol a cseresznye és a cseplezsmeggy termőterülete fedi egymást (Olden és Nybom, 1968). Hazánkban szinte mindenütt termesztendő, az ökológiai viszonyokhoz jól alkalmazkodó faj, a fajták többsége június folyamán szüretelhető. Magyarországon számos település neve őrzi a jelenlétét, ami arra utal, hogy régóta kedvelt gyümölcscről van szó: többek között Meggyeskovácsi, Meggyespuszta, Somogymeggyes, Nyírmeggyes, Meggyeshalom és Meggyespele. Jelentőségét tovább mutatja, hogy a Hungarikumok Gyűjteménye, Magyar Értéktár jegyzékben szerepel az 'Újfehértói fürtös' meggyfajta és az Újfehértói meggyepalinka; a Megyei Értéktárban található a Szanki kézműves konyakmeggy; valamint a Települési Értéktárban a 'Debreceni bőtermő', a Dunavecsei meggy és a Bácsalmási meggyeszörp (Hungarikumok Gyűjteménye, 2022). Termését inkább a feldolgozóipar hasznosítja: befőtt, szörp, dzsem, aszalvány, mélyhűtött gyümölcs stb. készül belőle. A gyümölcshús és a -lé alapján elkülönítjük az amarella típusú, szintelen levű, világos húsú, valamint a morello típusú, sötétbőbor húsú, festőlevű fajtákat. A hazai génforrásokat jól hasznosítva olyan tájfajták szelekciója történt meg, illetve keresztezéses nemesítéssel olyan fajtákat hoztak létre, amelyeket világfajtákká válva számos földrajzi régióban természetnek (Kállay, 1998; 2003). Ezek közé tartozik a 'Pándy', az 'Újfehértói fürtös', az 'Érdi bőtermő' és a 'Kántorjánosi'. Európa fő fajtája a 'Schattenmorelle' és szelektált klónjai, hibridjei. A meggy egészségvédő szerepére is egyre nagyobb figyelem irányul, melyhez hazai kutatások is nagymértékben hozzájárultak (Gonda és Vaszily, 2018; Nyéki és mts., 2016; Papp és mts., 2015; Abrankó és mts., 2015).

A **kajszi** Közép-Ázsiából vagy Kínából származik (Vavilov 1926; 1951; Mehlenbacher és mts., 1991). Friss fogyasztása mellett a feldolgozóipar számára is értékes alapanyagot ad: leginkább befőtt, dzsem, gyümölcslé, aszalvány és párlat készül belőle. A magyar nemesítésű fajták ízben és aromában többségében felülmúlják a külföldi fajtákat, ugyanakkor az érési időben csak kismértékben térnek el egymástól, mert a gyümölcsök többsége júliusban érik. Hátrányuk továbbá, hogy legtöbbször puha húsúak, sérülékenyek, rosszul szállíthatók, fogékonyak a szilvahimlő (PPV) vírusra. Közülük legnagyobb arányban a 'Gönci magyarkajszit', a 'Ceglédi óriást' és a 'Magyarkajszit' klónjait termesztik. Az elmúlt évtizedben számos külföldi fajtát telepítettek itthon, melyek érési ideje már egy június közepétől szeptember elejéig húzódó időszakot fed le, néhány közülük toleráns/rezisztens a szilvahimlő vírussal szemben. Ezek a fajták kemény húsú és élénk fedőszín-borítottsággal rendelkező gyümölcst teremnek (pl. 'Big Red', 'Pinkcot', 'Goldstrike', 'Bergarouge', 'Toyuda', 'Ninfa') (Szalay, 2011; Gonda és Vaszily, 2018). Több más gyümölcsfajhoz hasonlóan a kajszinál is felgyorsult a fajtaváltás. Az elmúlt 20 évben több mint 500 új fajta jelent meg a világ különböző nemesítőműhelyeiből. Hazánkhoz hasonlóan más régiókban is korábban mindössze néhány vezető fajtára korlátozódott a tömegtermesztés, de ebben ma már változás történt, az új ültetvényekben új fajták találhatók. A fajta-előállításban vezető országok Franciaország, az USA, Olaszország, Oroszország, és Spanyolország. A termesztés szempontjából Törökország a világ vezető kajszitermesztő országa, bár a Kínára vonatkozó adatok nem pontosak. A hazai ültetvényekben a magyar fajtákon túl a francia fajták dominálnak. A fajtatulajdonoságok

közül Magyarországon a fagykárak elkerülése érdekében kiemelt jelentőségű a hosszú mélynyugalmi időszak, a lassú virágrügyfejlődés és a késői virágzás (Szabó, 2017; Balogh és mts., 2019). A Hungarikumok Gyűjteménye, Magyar Értéktár jegyzékben több kajszival kapcsolatos tétel is szerepel: a 'Gönci magyarkajszai' fajta, a Gönci barackpálinka és a Kecskeméti barackpálinka; a Megyei Értéktárban található a kecskeméti magyar kajszibarack és a ceglédi kajszibarack; valamint a Települési Értéktárban az Izsákon szelektált kajszik (Hungarikumok Gyűjteménye, 2022).

A **szilva** termesztésének Magyarországon évszázados hagyományai vannak, szinte az ország bármely részén termeszthető. A kertészeti szempontból jelentős szilvafajokat keletkezési helyük alapján európai, kelet-ázsiai és észak-amerikai csoportokba soroljuk. Hazánkban a hexaploid házi szilva (*P. domestica*) faj fajtái dominálnak. A Hungarikumok Gyűjteménye, Magyar Értéktár jegyzékben az alábbi, szilvával kapcsolatos tételek szerepelnek: a Szatmári szilvapálinka, a Békési szilvapálinka és a Szatmári szilvalekvár; illetve a Települési Értéktárban a Debreceni muskotályszilva, Hegyi szilvapálinka (Szilvórium), Békési szilvalekváros papucs (Hungarikumok Gyűjteménye, 2022). A legeredményesebb nemesítői műhelyek manapság Romániában (Pitesti), Németországban (Geisenheim, Hohenheim, Weihestein) és Olaszországban (Bologna, Firenze, Marche, Forlì) találhatóak. A nemesítői munkában a friss étkezésre szánt fajták mellett különböző felhasználási célokra (pl. lé, jam, aszalvány) alkalmas fajták előállításával foglalkoznak, de kiemelt cél a PPV rezisztens fajták létrehozása is (Surányi, 2019). A hazai fajtaszerkezet folyamatosan változik. A 'Besztercei szilva' termesztésének van a legnagyobb hagyománya, de a szilvahimlőre való fogékonysága miatt termőterülete az utóbbi évtizedekben rohamosan csökkent. Ma már csak államilag elismert klónjai szaporíthatók, és a klónszelekció kezdetét vette a másik, autochton szilvafajtánk, a 'Nemtudom szilva' esetében is. Az elmúlt két évtizedben elsősorban négy fajta termesztése volt jellemző az országban: 'Stanley', 'Čačanska leptotica', 'Blufre' és 'President'. Az országban jelenleg az új, német nemesítésű fajták telepítése a tendencia, mint a 'Jojo' vagy a 'Top'-sorozat tagjai (Tóth és Bujdosó, 2011; Kovács, 2011).

A **mandula** valószínűleg a közép-ázsiai hegyvidékekről származik. Kertészeti szempontból az olajos magvúak közé tartozik, mert a mandulabél nagy lipidtartalma miatt kiváló energiaforrás. Termését nyersen vagy feldolgozott állapotban fogyasztjuk. Kiváló cukrászipari alapanyag (marcipán) (Kester és Gradziel, 1996). Az utóbbi időben a mandulatej az egyik legnépszerűbb tejpótlóvá vált. Az elmúlt négy évtizedben Magyarország mandulatermesztése jelentős mértékben csökkent, kaliforniai és spanyol import mandulával találkozunk leginkább. Ennek legfőbb oka, hogy Magyarország a melegigényes mandula termesztése terén nem tudta felvenni a versenyt a mediterrán vagy melegebb éghajlatú területekkel. A világ fő mandulatermesztő vidéke Közép-Kalifornia, mely a világtermelés közel felét adja, további fontos régió még a Földközi-tenger partjain fekvő országok, elsősorban Spanyolország. Hazánkban a mandulanemesítés is megszűnt a visszaszoruló termesztéssel összefüggésben. Korábban népszerű magyar fajták voltak a 'Tétényi rekord', 'Tétényi keményhéjú', 'Szigetcsépi 58' és a 'Szigetcsépi 92' (Brózik és Apostol, 2003; Tóth és Bujdosó, 2011).

2.2. A virágzásbiológiai vizsgálatok kezdete

Az emberiséget a megporzás és a termésképződés közötti összefüggés már az Újkőkorszak (Neolitikum) óta foglalkoztatta. A kétlaki közönséges datolyapálma (*Phoenix dactylifera* L.) kézzel történő mesterséges beporzásáról maradtak fenn történelmi bizonyítékok Mezopotámiából Hammurapi idejéből (i.e. 1792–1750). A II. Assur-nászir-apli asszír király (i.e. 883–859) Északnyugati Palotájának egyik festményén látható jelenet egyértelműen mutatja be ezt a munkafolyamatot (Porter, 1993). A Földközi-tenger partvidékén mind a mai napig az ősi hagyományok szerint végzik a termős példányok

beporzását a datolyatermesztők. Plinius (i.sz. 24–79) természetrajzi írásaiban tett utalást „hím és női növényekről”, de ez a különbség csak a színre vagy termetre vonatkozott. A növények ivaros szaporodását elsőként Rudolf Jakob Camerarius (1665–1721) tisztázta: két termős szélfüvet cserépbe ültetett és beporzás nélkül hagyva bizonyította, hogy egyik sem érlelt magot. Később ezt kenderrel, ricinussal és spenóttal is kipróbálta. Elsőként azonosította a porzókat a hím, a termőt a női ivarszervként. Az ivaros szaporodás felismerését nagyban nehezítette az a tény, hogy a növényfajok többsége hímnős virágokkal rendelkezik, de Camerarius az ilyen növényeket a hermafrodita állatokhoz hasonlította. Eredményeit 1694. augusztus 25-én levél formájában küldte el egy giesseni tanárnak, Michael Bernhard Valentinnak. A „Levél a növények szerelméről”, *De sexu plantarum* az első tudományos mű a növények ivaros szaporodásáról. Eredményeit Josef Gottlieb Kölreuter (1733–1806) később megerősítette: számos keresztezést végzett dohányfajokkal, szegfűekkel, violával, beléndekkel, ökörfarkkóróval és maszlagokkal. Bebizonyította, hogy eredményesen csak a rokon fajok keresztezhetőek, vagyis a keresztezéseknek éppen olyan határai vannak a növényeknél is, mint az állatvilágban (Rapaics, 1932).

A virágzásbiológia alapítójának Konrad–Cristian Sprengel (1750–1816) német papot és botanikust tartják, aki 1793-ban megjelent könyvében elsőként írta le a virágos növények rovarok segítségével történő beporzásának mechanizmusát. Közvetlenül nem a termékenyülés folyamatát elemezte, hanem a virágszerkezet azon részeivel foglalkozott, ami a beporzást szolgálja és a rovarokat csalogatja (Patkó, 2017). Később Charles Darwin (1809–1882), az evolúcióelmélet kidolgozója rengeteg vizsgálatot végzett a növények ivaros szaporodásával kapcsolatban, mert e téma különösen érdekelte. Összefoglaló munkáival megalapozta az inkompatibilitás tudományterületét, először a „*The effects of cross and self-fertilization in the vegetable kingdom*” (1876), majd a „*The different forms of flowers on plants of the same species*” (1877) című könyve jelent meg. „Alig képzelhető el csodálatosabb dolog a természetben, mint a külső hatásokra reagáló ivaros jelenségek érzékenysége és finomsága. Látjuk, mennyire kifinomultnak kell lennie azoknak a rendszereknek, amelyek biztosítják, hogy a növény saját pollenjével nem tud megtermékenyülni, ellenben egy másik fajbéli egyedével igen” (Darwin, 1878). Rendkívül részletesen foglalkozott a morfológiai különbségeken alapuló inkompatibilitási típussal, melyet a *Primula* fajokon tanulmányozott. Különböző kombinációkban végzett keresztezéseket több mint 50 olyan faj esetében is, amelyeknél a virágszerkezetben morfológiai eltérést nem talált. Ekkor állapította meg, hogy „az idegentermékenyülés általában hasznos, míg az öntermékenyülés gyakran káros következményekkel jár”. Vizsgálatai között számos önmeddő faj szerepelt, melyek mind a mai napig modellnövényei a szakterületnek, mint például a *Petunia* nemzetség képviselői (McClure, 2009). Compton (1913) az öntermékenyített *Reseda odorata* utógenerációjában 3 (öntermékenyülő): 1 (önmeddő) arányú hasadást mutatott ki, ami mendeli öröklésmentre utalt a tulajdonság tekintetében.

East és Park (1917) jelentős megállapításra jutottak az öt nemzedéken át vizsgált *Nicotiana forgetiana* × *N. alata* hibridekkel kapcsolatban. Olyan csoportokat azonosítottak, melyek tagjai egymást kölcsönösen nem termékenyítették („intrasteril”), de a csoportok egymás között kompatibilitást mutattak („interfertil”). Az egyes csoportokat nagybetűkkel jelölték (X, Y és Z). Ma már tudjuk, hogy ez első kölcsönös meddőséget mutató, ún. interinkompatibilitási csoportokat (CIG: cross-incompatibility group) írták le. Ennek megfelelően javasolták, hogy a „self-sterility” kifejezés helyett a szakmailag helyesebb „self-incompatibility” szerepeljen a hasonló fajok jellemzésénél. East és Mangelsdorf (1925) ezekben a csoportokban három különböző faktort azonosítottak, melyeket ők „allelomorph”-ként írtak le, és a „sterility” szóból kiindulva S_1 , S_2 és S_3 néven különböztették meg. Ugyanezt a jelölési rendszert használjuk azóta mind a mai napig az egyes S -allélok jelölésénél. Meghatározták, hogy a Class X = S_1S_3 , a Class Y = S_1S_2 és a Class Z = S_2S_3 genotípusokat jelent. További négyéves munkával összesen 16 különböző S -

allélt találtak *Nicotiana* fajokban (East és Yarnell, 1929). East a „*Nicotiana*-típusú inkompatibilitás” hátterét genetikailag szabályozott rendszerként jelölte meg, amelyet az *S*-lókusz egyes változatai koordinálnak: az azonos *S*-allélokot hordozó egyedek egymást kölcsönösen nem tudják termékenyíteni (McClure, 2009). Ugyanakkor a rendszer pontos molekuláris mechanizmusa nem volt még ismert, ennek felderítéséhez az *S*-allélok által kódolt fehérjék azonosítására volt szükség, amely a dohány esetében közel 60 évvel később következett csak be.

A populációgenetikusok figyelmét az *S*-lókusz vizsgálatok akkor keltették fel, amikor Emerson (1939) jelentős mértékű polimorfizmusról számolt be az *Oenothera organensis* faj esetében. Egy, a populációban ritka allél számára több olyan növényegyed található, amelyen sikeres termékenyülést tud előidézni, így a következő nemzedékben nagyobb lesz a gyakorisága. Ez a kiegyensúlyozó szelekció, ami folyamatosan növeli a ritka és csökkenti a gyakori allélok populáción belüli gyakoriságát, és a hosszútávon fennmaradó polimorfizmus egyik alapja (Kohn, 2008). Mindezek figyelembevételével egyértelművé vált, hogy a rendszer poliallélikus, vagyis a populációban számos géntípus fordul elő minden olyan faj esetében, ahol ez a mechanizmus biztosítja az idegtermékenyülést.

2.3. Az önmeddőség hazai kutatásának rövid története

Miközben az önmeddőség elkerülésére szolgáló mechanizmusok a növényvilág evolúciója során a fejlődés korai szakaszában megjelentek, annak tényét, következményeit és különösen molekuláris hátterét viszonylag későn ismerte fel a tudomány. Az első magyar nyelvű kertészeti szakirodalom, Lippay János *Posoni kert* című, 1664–1667 közt megjelent munkáiban még nem esik szó a megporzásról, termékenyülésről, gyümölcskötődésről. Ez nem meglepő, hiszen a virágszervek ivaros szaporodásban betöltött szerepét csak jó száz év elteltével ismerte fel Christian Konrad Sprengler és Joseph Gottlieb Kölreuter. Ők voltak az elsők, akik a hímszterilitás és önmeddőség jelenségéről is beszámoltak, de felismeréseiket nem fogadták el kortársaik. A tényt, hogy a virágok az emberi szexualitáshoz hasonló folyamatokért felelősek, „iskolásgyermek szórakoztatására alkalmas tündérmesének” tekintette a tudósok többsége. Közel 70 év elteltével ismerte fel Charles Darwin, hogy a Sprengler könyvében rögzített megfigyelések megállják a helyüket. Az orchideafajok termékenyülésével kapcsolatos kísérleteihez mindez komoly támpontot adott, és a *Fajok eredete* című könyve után megjelenő kötetében (1862) már komoly alátámasztással rögzítette, hogy a természetben a növényfajok „irtóznak” az öntermékenyüléstől.

Jóllehet Kölreuter felismerte, hogy az anyai és az apai tulajdonságok egyaránt megjelennek az utódban, erre koherens magyarázatot csak Mendel adott, és ennek általános elfogadásáért is a XX. század elejéig kellett várni. Ehhez képest meglepő, hogy a hazai kertészeti szakirodalomban már ezt megelőzően megjelent a valódi keresztezéses nemesítés módszere (Töltényi, 1820; Pongrácz, 1822/2022). Töltényi tanulmányában külön kitért az idegen fajta pollenjének nagyobb termékenyítő hatására. Döbbenetes, hogy ez a jelenség a magyar szakirodalomban ugyanabban az időben jelenik meg, mint Angliában, illetve két évvel még előbb is. Swayne (1822) a körtével végzett kísérletek során tapasztalta, hogy az idegen pollennel végzett megporzásból több gyümölcs kötődött. Következtetése az volt, hogy a mesterséges megporzásnak a jövőben nagyobb szerepe kell legyen a gyümölcsstermesztésben, ugyanúgy, ahogyan azt az uborka és a sárgadinnye termesztésénél is alkalmazzák.

Ezek a korai felismerések azonban igen lassan kerültek be az általánosan elfogadott tudományos ismeretek közé. Schilberszky Károly 1908-ban még úgy gondolta, hogy az az aggodalom, hogy „azonos fajtájú tömegesebb ültetvényeken kisebb termés hozam várható”, nincs indokolva. Angyal Dezső egy olvasói kérdésre adott válaszában a terméketlenség szóba jöhető okai között csak az elhibázott metszést, a túlzott mértékű trágyázást és a fák életkorát említette meg (Angyal, 1925).

Mohácsy Mátyás, még Mahács Mátyás néven közreadott *Gyakorlati gyümölcsstermesztés* (1922) című kötetében külön fejezetben foglalkozott a gyümölcsfák terméketlenségének okaival. Az okok között a kedvezőtlen termőhely, a sűrű ültetés, a metszési hibák, a nem megfelelő talajművelés és a talajuntság jelensége mellett megjelent a virágporszemcsék „tökéletlensége” is. A jelenség leírásából jól látható, hogy a napjaink szóhasználatával önmeddőségnek nevezett tulajdonság egyik első említése ez a hazai szakirodalomban. Közli, hogy a fák más fajtától távol ültetve többé-kevésbé terméketlenek maradnak. A jellemvonás állandóságát, külső tényezők befolyásoló hatását még nyitott kérdésként mutatta be, de világossá tette, hogy a természetnek a gyümölcsfajták ilyen tulajdonságára a legnagyobb gonddal kell lennie, ahogyan azt az amerikai természetők is teszik, akik ültetvényeikben vegyesen telepítik a fajtákat. Mohácsy a könyv előszavában megemlítette, hogy a könyv megírásakor a közel 10 éves külföldi utazásai alatt szerzett tapasztalatokra hagyatkozott. Ennek segítségével könnyen feltárható a szellemi kapcsolat, hiszen utazásai során például Kaliforniába és „Angolországba” is eljutott. A gyümölcsfák önmeddőségéről a XX. század elejétől kezdve egyre több szakirodalmi forrásban esik szó elsősorban a kaliforniai mandulanemesítési (Tufts és Philp, 1923) és az angol cseresznyenemesítési (Crane, 1923; Crane és Brown, 1938) programoknak köszönhetően. Az irányított megporzással végzett kísérletek eredményeként ekkor már sor került először néhány mandula-, majd cseresznyefajta S-genotípusának meghatározására is.

A fentiek fényében különösen érdekes, hogy Sajó Károly már a századforduló követő években átfogó beszámolót írt arról, hogy a gyümölcsfák többsége más fajta pollenjét igényli ahhoz, hogy teremni tudjon (Sajó, 1902). Vagyis, hogy az idegen pollen nemcsak fokozza a termékenyülést, de a saját pollen nem is képes termékenyíteni. Egyben arra is magyarázatot adott, hogy mindezt miért nem ismerték fel korábban Európában: az európai kertekben hagyományosan vegyesen ültették a különböző fajtákat, míg Amerikában hatalmas, monokultúrás ültetvényeket létesítettek. Ezt a közlést az angol nyelvű szakirodalomban is csak Waugh (1896) szilvára és kajszira, valamint Corsa (1896) mandulára vonatkozó, hasonló értelmű közleményei előzték meg pár évvel. Ennek ellenére több évtized telik el, mire ez az általános, botanikai ismeret helyet követel magának a kertészeti szakirodalomban is.

A Kertészet folyóiratban 1927. január 15-én megjelent egy szerkesztői közlemény, miszerint sokan panaszkodnak, hogy meggyfaik bár bőségesen virágoznak, gyümölcsöt mégsem kötnek. A problémára kínált egyik magyarázat a *Monilia* okozta károsodás, a másik, hogy a „nemes meggyfa bújja virágja saját hímporától nem tud megtermékenyülni”, ezért azt javasolták, hogy vad meggyfát kell nevelni a nemesek között. Horn János ugyanezen lap hasábjain, a március 15-i számban a sok terméketlenséget okozó tényező között említi, hogy „gyümölcsfáink túlnyomó része ugyanis az újabb megállapítások szerint többnyire nem önbeporzás révén termékenyül meg, hanem ez legtöbb esetben más fajta pollenje segítségével. Ez részben a saját hímpornak a saját bibével szemben előálló természetes meddőségében... leli magyarázatát.” Érdekes, hogy a magyarázat ellenére, Horn János a ‘Pándi’ meggy termékenyülési problémáinak legvalószínűbb okaként mégis annak moniliaérzékenységét említi (Horn, 1939), miközben a mandulával kapcsolatban tényként közli, hogy virágai önmeddők, azaz idegen beporzást kívánnak. Mindez jól mutatja, hogy az önmeddőség jelenségének általános előfordulását, evolúciós szerepét még nem ismerték fel, amit feltehetőleg az is nehezített, hogy a mandula legközelebbi rokona, az őszibarack virágai általánosan öntermékenyülőnek bizonyultak (Horn, 1937).

A ‘Germesdorfi’ cseresznyefajta termőképességével kapcsolatban is egyre több probléma jelentkezett a XX. század közepén, holott a kertészeti szakirodalomban általánosan elterjedt nézet volt ebben az időben, hogy a ‘Germesdorfi’ fajta „magamegtermékenyülő”. A kérdés tisztázása érdekében Varga Ferenc szabályosan elvégzett, irányított megporzást követő gyümölcskötődési vizsgálattal igazolta, hogy 242 saját pollennel megporzott virágból mindössze 7 termés kötődött, vagyis a fajta nem lehet

öntermékenyülő (Varga, 1942). Sajnos a jelenség genetikai hátterére vonatkozóan téves elméletet alkotott. Ehhez mindössze a kötődési arányt vette alapul és négy recesszív letális, valamint domináns elnyomó allélok jelenlétét feltételezte, holott a gyümölcsfák önmeddőségének genetikai háttere (egy lókuszos számos allélváltozattal) ebben az időben már ismert volt a külföldi szakirodalomban (Crane, 1923; Crane és Brown, 1938). A fenti történeti adatok jól mutatják, hogy a tudományos információk áramlása külföldről Magyarországra, valamint az elméleti tudomány fórumairól a gyakorlati alkalmazás felé nem volt akadálytalan.

Hazánkban a gyümölcsfák termékenységevel kapcsolatos vizsgálatok a XX. sz. közepén, a monokultúras nagyüzemek létesítésekor váltak igazán intenzívvé. Ekkor elsősorban Magyar Gyula és Maliga Pál indították el ezeket a kísérleteket, később többek között Nyéki József, Brózik Sándor, Tóth Elek és Szabó Zoltán munkássága vált meghatározóvá. A vizsgálatoknak óriási lendületet adott, amikor a 90-es évek elején sikerült azonosítani a gyümölcsfák önmeddőségének kialakításában kulcsszerepet játszó egyik molekulát (a bibefunkciót meghatározó ribonukleáz enzimet). Így lehetővé vált a jelenség biokémiai és molekuláris genetikai eszközökkel történő vizsgálata, ami közvetlen módon, gyorsan azonosíthatóvá tette a fenotípus hátterében álló allélokat. Kutatócsoportunk ehhez a tudományos programhoz csatlakozott a 2000-es évek elején.

2.4. Az önmeddőségi (inkompatibilitási) rendszerek jelentősége

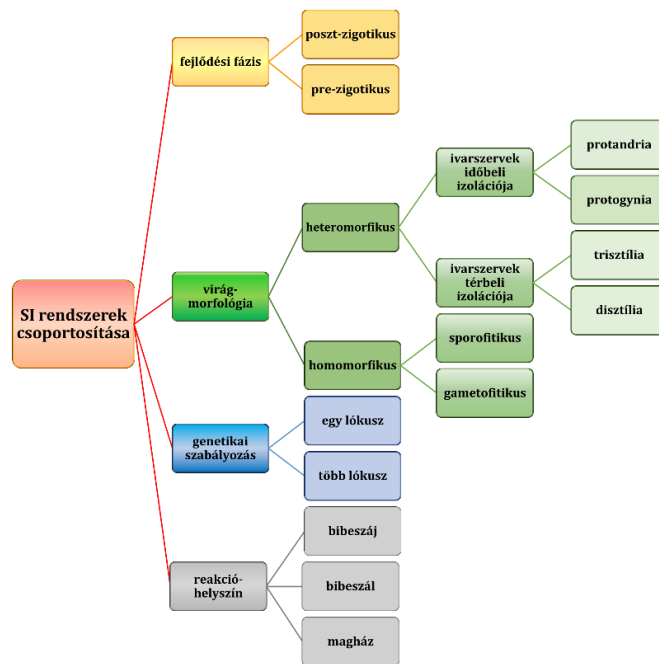
Az inkompatibilitás (ivari összeférhetetlenség) jelensége a fajok evolúciójában kiemelten fontos szerepet játszik. Két típusát különböztetjük meg: inter- és intraspecifikus forma. Az interspecifikus inkompatibilitás két különböző faj fertilis genotípusainak keresztezése során a fajhibrid zigóta létrejöttének megakadályozását jelenti (pl. a pollenszírás elmaradása vagy az abnormális pollentömlő miatt). A jelenség korlátozza a fajok közti génáramlást (De Nettancourt, 1977; Pershina és Trubacheeva, 2017). Az intraspecifikus inkompatibilitás során egy fajon belül két fertilis egyed között nem következik be a termékenyülés. Nemcsak az azonos genetikai hátterű, idegen eredetű, hanem a saját pollenszem sem képes a termékenyítésre. Az ilyen típusú mechanizmusokat a „self-incompatibility” kifejezés alapján SI rendszernek jelöljük. A „self” kifejezés a saját és a sajáttal azonos típusú pollenszemekre utal. Megjelenésük az evolúció korai szakaszában jelentős mértékben hozzájárult a zárvatermők robbanásszerű elterjedéséhez a genetikai variabilitás növelésének köszönhetően (Ferrer és Good, 2012). A beltenyésztés okozta káros hatások elkerülése a fajok sikerességének alapja lett (Allen és Hiscock, 2008). A növények evolúciójával foglalkozó szakirodalmi munkák között dominálnak a különböző ivaros szaporodási stratégiákat áttekintő tanulmányok. A zárvatermő növénycsaládok több mint 60%-ában, legalább 100 növénycsaládban, megközelítőleg 250 nemzetségben előfordul valamilyen SI rendszer, amelyek egymástól függetlenül, konvergens módon alakultak ki (Raduski és mts., 2012; Sawada és mts., 2014). Ezen nemzetségek között nagyszámú gazdaságilag kiemelt faj és azok nemesítési szempontból jelentős vad rokonai találhatóak, így a tulajdonság alapos megismerése és a természetben való megjelenése, felhasználása rávilágít, hogy miért foglalkoznak a szakemberek és a kutatók közel 200 éve e rendszerek részletes vizsgálatával. Néhány kiemelt példa a sorból: repce (*Brassica napus* L.), napraforgó (*Helianthus annuus* L.), olajfa (*Olea europaea* L.), kakaó (*Theobroma cacao* L.), tea (*Camellia sinensis* L.), csonthéjasok, almatermésűek, kávé (*Coffea arabica* L.), burgonyafélék, valamint a káposztafélék népes családjának tagjai (Muñoz-Sanz és mts., 2020).

A XX. század elején a magánvállalatok és közintézmények nemesítői is nagy hangsúlyt fektettek a termékenyülési státusz vizsgálatára. Az angliai John Innes Kertészeti Kutatóintézet szilva, cseresznye és alma estében 1911-ben kezdte meg az inkompatibilitási viszonyok feltárását, majd 1930-tól körtével is folytattak vizsgálatokat (Crane és Lewis, 1942). Az első komolyabb eredményt zöldségfélék esetében a Sakata Seed Company

jelentette be 1940-ben, amikor bemutatták az első olyan F₁ hibrid káposztafajtát ('Suteni Kanran'), melynek nemesítése során az SI jelenséget használták fel. Ezt követően a Takii & Co. Ltd. vállalat is közzé tett két hasonló módon előállított fajtát ('Choko-1c' és 'Choko-1cc') 1950-ben (Watanabe és mts., 2008). Ezután a nemesítő műhelyekben az alábbi fajok esetében indult el intenzív termékenyülési vizsgálat a hatékonyabb és tervszerű nemesítés érdekében: burgonya (*Solanum tuberosum* L.), napraforgó, rozs (*Secale cereale* [L.] M. Bieb.), kakaó és pomelo (*Citrus grandis* Osbeck) (De Nettancourt, 2001).

2.5. Az inkompatibilitás típusai

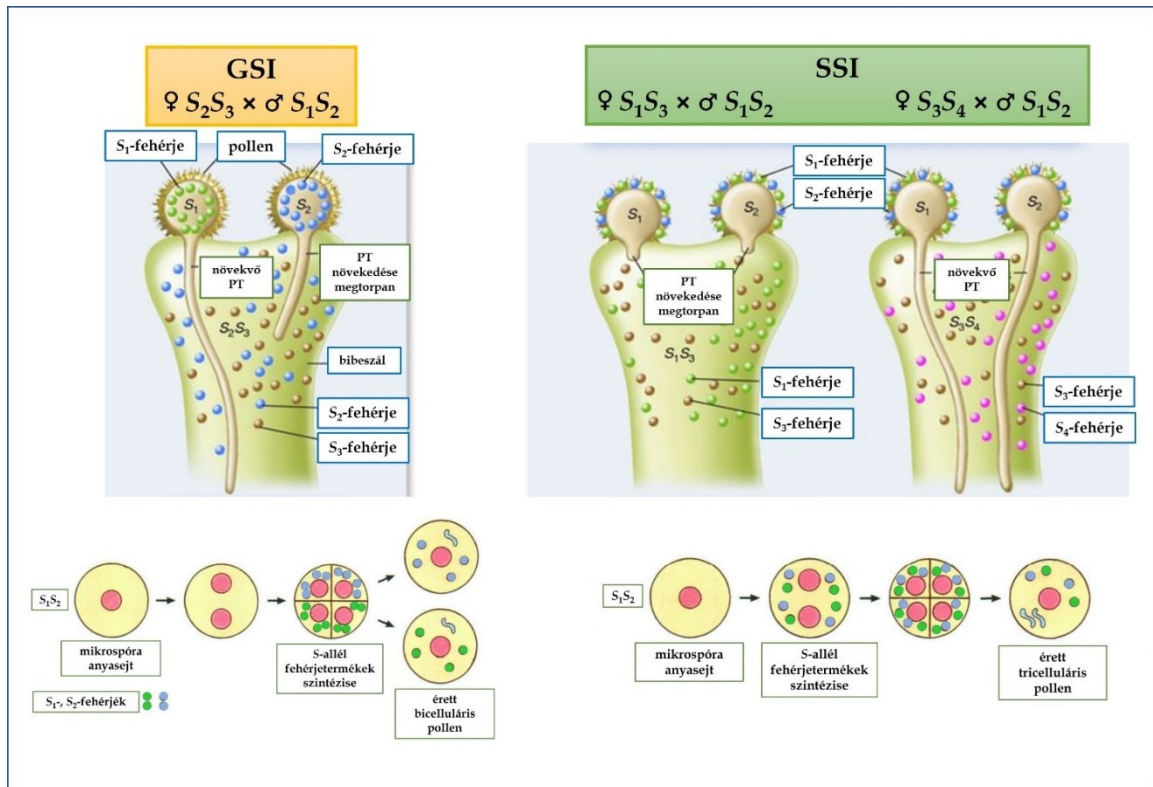
Számos különböző típusú, egymástól függetlenül létrejött SI rendszer ismert, melyek többféleképpen is csoportosíthatók (2. ábra). A fejlődési fázis alapján besorolt típusok szerint néhány faj esetében a termékenyülést követően létrejön a zigóta, de fejlődése gátolt, ezért abortálódik, így poszt-zigotikus inkompatibilitási reakció következik be. Ezt a típust ún. „late-acting self-incompatibility” (LSI) elnevezéssel is jelölik. Több faj esetében írtak le ilyen jelenséget, pl. *Citrus grandis* Osbeck, *Asclepias exaltata* L., *Handroanthus impetiginosus* L. (Lipow és Wyatt, 2000; Chai és mts., 2011; Bittencourt, 2017). A másik formába a zigóta létrejöttét megakadályozó rendszerek tartoznak, melyeket közös néven pre-zigotikus csoportnak hívunk. Ennél a megtermékenyítés sem következik be, így zigóta sem alakulhat ki. Az ismert mechanizmusok túlnyomó többsége ilyen jellegű, melyek még tovább tagolhatók a virág morfológiája szerint. Ha maga a virágszerkezet akadályozza a saját pollen általi megtermékenyítést, akkor időbeli vagy térbeli elkülönülés is lehetséges, melynek összefoglaló neve a heteromorfikus típusú inkompatibilitás. Az első esetben a dichogámia a hím- vagy női ivarszervek funkcióképességének egymáshoz viszonyított időbeli eltolódása miatt kétféle lehet (Bertin és Newman, 1993). Amennyiben a bibe a portok érése előtt válik fogékonyvá (receptívvé), akkor protogyniáról beszélünk („hímelőzés”), pl. a *Magnolia grandiflora* L. esetében. Ha a portokok korábban felrepednek és a pollenszem kiszóródik, de a bibe még nem funkcióképes, megporzásra alkalmatlan, akkor protandria („nőelőzés”) történik, ilyen pl. a *Geranium maculatum* L. (Routley és mts., 2004; Allen és Hiscock, 2008). Az ivarszervek térbeli izolációja a heterosztília, amely eltérő hosszúságú bibe- és porzósálakat jelent. A két- vagy háromféle bibemorfológia szerint disztília (pl. *Linum* és *Primula* fajok) vagy trisztília (pl. *Narcissus* és *Oxalis* fajok) is előfordulhat (Barrett, 2019). A sokoldalúan hasznosítható hajdina (*Fagopyrum esculentum* Moench) kedvező táplálkozás-élettani és gyógyhatású jellemzői miatt egyre népszerűbb és nagyobb területen termesztett szántóföldi kultúra. Inkompatibilitására a heterosztília jellemző, ezért ebben a kategóriában ez a legtöbbet vizsgált faj (Matsui és Yasui, 2020).



2. ábra: Az inkompatibilitási rendszerek négyféle csoportosítása (külön színekkel jelölve) a fejlődési fázis (sárga), a virág morfológiai alkata (zöld), a genetikai szabályozás alapjai (kék), illetve a reakció helyszíne szerint (szürke).

A homomorfikus inkompatibilitás azt jelenti, hogy önmagában a virág morfológiája nem korlátozza a saját vagy vele azonos genetikai háttérű pollen bibeszájra kerülését, de a fizikai akadály nélkül sem következhet be sikeres termékenyülés. Ennek oka, hogy a saját vagy azzal genetikailag egyező pollen molekuláris szintű felismerését követően annak csírázása vagy a pollentömlő növekedése lesz gátolt. Két nagy csoportra osztható ez a kategória (3. ábra): sporofitikus (SSI) és gametofitikus inkompatibilitás (GSI). A működési mechanizmus lényege, hogy a GSI során a pollen fenotípusát saját haploid genotípusa határozza meg. Az SSI rendszerben a pollen fenotípusát a pollenadó növény genotípusa határozza meg (Ebert és mts., 1989; Kao és Huang, 1994). E lényeges különbség abból adódik, hogy a szabályozásban résztvevő gének expressziója mikor következik be. Az SSI során a mikrosporogenezis folyamatában még a meiózis előtt megjelennek az *S*-allél fehérjetermékek, így a diploid fajok esetében két allél fehérjeterméke lesz jelen és kerül majd át a haploid mikrospórába. Emiatt, bár genetikailag haploid a sejt, a pollenadó növény mindkét fehérjeválatzatát tartalmazza, ami lényeges pont a saját-idegen felismerési reakcióban. A GSI esetében csak a meiózist követően szintetizálódnak a specifikus fehérjék, így a haploid genotípusnak megfelelően, csak egyféle fehérje vesz részt az inkompatibilitási reakcióban (Clark és Newbiggin, 1993). További eltérés még, hogy a GSI esetében általában nedves a bibefelület, bicelluláris a pollen és az inkompatibilis pollentömlő növekedése elindul, ám a bibeszálban leáll. Az SSI során száraz a bibeszáj, tricelluláris a pollen és a pollenszemek nem tudnak pollentömlőt fejleszteni, mert a gátlás a bibeszáj felületén történik meg (Silva és Goring, 2001; Allen és Hiscock, 2008). SSI többek között az alábbi növénycsaládokban fordul elő: *Brassicaceae*, *Asteraceae*, *Convolvulaceae*, *Betulaceae*, *Caryophyllaceae*, *Sterculiaceae* és *Polemoniaceae* (Hiscock és Tabah, 2003). GSI jellemzi többek között a következő növénycsaládokat: *Solanaceae*, *Papaveraceae*, *Rosaceae*, *Ranunculaceae*, *Fabaceae*, *Onagraceae* és *Scrophulariaceae* (McClure és Franklin-Tong, 2006). A két típusban előforduló általános vonások nem jelentik azt, hogy pontosan ugyanazon gének és szabályozási folyamatok játszanak szerepet a fenotípus kialakításában. Még a GSI csoporton belül is eltérő géneket azonosítottak különböző növénycsaládokban.

Az *S*-lókusz speciális módon együtt kódolja az ún. bibe- és pollenkomponenst (*S*-determinánsok), ezért multigén lókusznak nevezzük, melyek fehérjetermékei között lejátszódó reakciók eredményezik a genetikailag eltérő vagy megegyező pollen azonosítást (Iwano és Takayama, 2012).



3. ábra: A GSI (gametofitikus önmeddőség) és SSI (sporofitikus önmeddőség) rendszerek működése (Newbiggin és mts., 1993 és Biology Forums Gallery ábrája alapján módosítva). GSI során a haploid pollenszem genotípusa határozza meg a fenotípust. Az azonos *S*-alléltartalmú pollentömlő növekedése a bibeszálban megtorpan, míg az eltérő genotípusú pollentömlő akadálytalanul halad. SSI során a haploid pollen fenotípusát a pollenadó diploid növény határozza meg. E különös jelenség az eltérően ütemezett génkifejeződésből adódik: GSI esetében az *S*-allél fehérjetermékei a meiózis befejeztével szintetizálódnak, míg az SSI esetében a tetradállapot kialakulása előtt, így mindkét allél fehérjeterméke megjelenik az érett pollenszemben, s részt vesz a saját/idegen felismerési reakciókban.

PT: pollentömlő, *S*₁-fehérje: zöld, *S*₂-fehérje: kék, *S*₃-fehérje: barna, *S*₄-fehérje: lila színnel jelölve

2.6. Milyen gének irányítják a csonthéjas fajok inkompatibilitási rendszerét?

A XX. század utolsó negyedének nagy kihívása volt az SI rendszereket működtető gének és fehérjék azonosítása, jellemzése. Olyan molekulákat kellett keresni, amelyek a megporzás élettani folyamatához illeszkedve, a sejt-sejt közötti kommunikáció alapján képesek irányítani a saját/idegen felismerési folyamatot. Az egy lókuszon alapuló genetikai háttér a maga egyszerűségével jó kiindulási alapot adott a biokémiai és molekuláris vizsgálatokhoz. A fehérjék azonosításához a korábban megismert törvényszerűségekből indultak ki.

Gyakorlatilag a rendszer lényege, hogy a saját típusú pollen elutasítása, míg az eltérő genetikai háttérű növényről származó idegen pollen elfogadása precízen kell működjön. A pollen-bibe közti reakció a sejtek közötti térben, az ún. extracelluláris mátrixban (ECM) játszódik le, és a jelátviteli folyamatok mindkét irányban zajlanak. Az ECM főként lipideket, szénhidrátokat és glikoproteinek tartalmaz, így a komponensek azonosításához

ezen molekulák közül kellett megtalálni az *S*-lókuszra specifikusakat. A vizsgálatokat nagyban nehezítette a jelentős mértékű polimorfizmus, a jelenségért felelős molekulákra jellemző variabilitás (McClure, 2009).

Pandey (1967) volt az első, aki megpróbált olyan izoenzimeket detektálni, amelyek megfelelnek az ismert kritériumoknak. Kilenc önmeddő (ÖM) *Nicotiana alata* és nyolc öntermékenyülő (ÖT) *N. alata* × *N. langsdorffii* genotípus vizsgálata során arra jutott, hogy peroxidáz izoenzimek befolyásolják, szabályozzák az *S*-allélok által kódolt fehérjetermékek működését, bár nem zárta ki más enzimek jelenlétét sem. Eredményei megvitatásánál kitért arra, hogy az egysejtű *Tetrahymena pyriformis* ivaros szaporodásánál ehhez hasonló módon észteráz izoenzimeket társítottak a variabilitás növelése érdekében működő mechanizmussal. Később Bredemeijer és Blass (1981) különböző *N. alata* genotípusokban *S*-allél-specifikus fehérjéket írtak le. Három *S*-allél termékét azonosították, melyek jelenlétét igazolták a bibeszáj- és bibeszálszövetekben, de a levelekből hiányoztak. A fehérjék mennyiségének növekedése a virág fejlődésével egyre nagyobb mértékű volt. Az ÖT és ÖM genotípusokban koncentrációbeli eltérést nem tapasztaltak. A fehérje típusát nem tudták meghatározni, de kizárták azt, hogy peroxidáz vagy észteráz izoenzimek lennének. Egy évvel később Mau és mts. (1982) a cseresznye (*Prunus avium* L.) S_3S_4 genotípusú 'Lambert' fajtájából készített bibekivonatokban egy glikoproteint azonosítottak. A fehérje szerepe az önmeddőség kialakításában megkérdőjelezhetetlen volt (gátolta a táptalajon fejlődő saját pollentömlők növekedését), ezért „Antigen S” néven jelölték meg. Szénhidrátartalma 16,3%-os volt, töltése 8,8 pH-n pozitív, molekulatömegét pedig 37-39 kDa-nak határozták meg. A kutatócsoport *in vitro* pollentömlő-növekedési vizsgálatot végzett a bibekivonatból izolált fehérjéssel, és csak az „Antigen S” fehérje gátolta az S_3S_4 genotípusú 'Napoleon' fajta pollentömlőinek növekedését 20 µg/ml koncentrációban. Semmilyen más bibekivonatból izolált komponensnek nem volt ilyen hatása. Kontrollként még állati eredetű fehérjéket is teszteltek, de egyik sem mutatott inhibitorra utaló eredményeket a hiszton, a szérum albumin, a citokróm C, valamint a két glikoprotein, az ovalbumin és a tireoglobulin közül (Raff és mts., 1981; Williams és mts., 1982). Hasonlóképpen vizsgáltak három *N. alata* genotípusból gyűjtött pollenszemeket *in vitro* körülmények között. Ugyanezen genotípusok bibekivonatából izolált *S*-glikoproteinek jelenléte a pollencsírázást nem befolyásolta, de a pollentömlő növekedését minden esetben gátolta (Jahnen és mts., 1989).

Négy különböző *N. alata* genotípus keresztezéseiből származó 53 növényen végzett kétdimenziós gélelektroforézis segítségével sikerült az S_2 -allél 32 kDa fehérjetermékét elkülöníteni. Kémiai deglikozilációval eltávolították a szénhidrátláncot, amely fukóz, arabinóz, xilóz, mannóz, galaktóz és feltehetően glükóz komponenseket tartalmazott, de a monoszacharidok arányát és elhelyezkedését a láncban nem tudták még pontosan azonosítani. Az érett bibékből nyert mRNS-molekulák *in vitro* transzlációját követően megjelent egy 27 kDa méretű fehérje. Ez egy kicsit nagyobb volt, mint a deglikozilációval kapott 26 kDa fehérje, de egybevágtott azzal az elmélettel, hogy az eredeti fehérjéről leválik a szignálpeptid, amikor az az extracelluláris térbe szekretálódik. Ennek alapján az S_2S_3 genotípusból készített cDNS-könyvtár lehetőséget adott az első *S*-allél (S_2) cDNS-szekvencia megismerésére (Anderson és mts., 1986). Három évvel később még további két *S*-allél (S_3 és S_6) cDNS-szekvenciát sikerült meghatározni (Anderson és mts., 1989). Ezek az eredmények segítettek tisztázni azt az alapvető kérdést, ami már régóta számos kutatócsoportot foglalkoztatott: milyen fehérjét kódol az önmeddőséget kialakító rendszer bibekomponens génje?

2.6.1. A bibekomponens szerkezeti jellemzése és funkciója

A három ismert, származtatott aminosav-szekvencia bizonyos régiókban jelentős konzerváltságot mutatott, más részeken ugyanakkor nagyobb eltéréseket tapasztaltak. További *S*-proteinek N-terminális oldal felőli szekvenálása (S_1 , S_2 , S_3 , S_6 és S_7) igazolta a

homológiát a paradicsom (*Solanum lycopersicum* L.) bibeszövetéből izolált glikoproteinnel (Jahnen és mts., 1989). A fehérje pontos azonosításához McClure és mts. (1989) munkái vezettek el. A szekvenciák elemzésekor azt találták, hogy azok homológok az *Aspergillus oryzae* T₂ és a *Rhizopus niveus* Rh extracelluláris ribonukleázokkal (RN-ázok). A két jelentősebb mértékű egyezést mutató régió (a 67-72. és 138-142. aminosavak közti szakaszok) a gomba RN-ázok enzimkatalízisért felelős aktív centrumait képezik és a három ismert dohánysekvencia esetében is konzerváltak mutatkoztak. A 122 aminosavból 30 megegyezett, további 22 pedig kémiaiilag hasonló aminosav volt. A 10 cisztein közül 5 azonos pozícióban volt a gomba RN-ázok ciszteinjeivel, melyből kettő (86. és 143.) diszulfidhíd kötést képez a T₂ RN-ázban. Ennek alapján feltételezték, hogy az S-allél glikoproteinek szerkezetileg is nagyon hasonlóak a gombák RN-áz enzimeihöz, így a hipotézis bizonyítása érdekében RN-áz aktivitási vizsgálatokat kezdtek.

Ammónium-szulfátos kisózással és ioncserés kromatográfiával izolálták a glikoproteint a bibeszövet-kivonatokból. A fehérje N-terminális oldali aminosav-sekvenciája megfelelt a cDNS-ből származtatott aminosav-sorrendnek. A tisztított fehérje RN-áz aktivitással rendelkezett, így elsőként a dohány esetében vált nyilvánvalóvá, hogy az önmeddőséget a bibeszövetekben kifejeződő, specifikus ribonukleáz enzimek alakítják ki. Ennek alapján a rendszer működéséről azt feltételezték, hogy a bibesejtekben termelődő RN-ázok kijutnak a sejtközötti járatokba, ahol a pollentömlő halad. A pollentömlő membránján átjutva RNS-degradációt eredményeznek, ami a fehérjeszintézis blokkolásával végső soron a pollentömlő növekedésének leállítását eredményezi. A következő kérdés az volt, hogy milyen módon zajlik a saját-idegen felismerés (McClure és mts., 1989; 1990). A mechanizmus felderítéséhez az S-RN-áz gének expresszióját RNS- és fehérjeszinten szövetspecifikusan, a bibeszáj és bibeszál mintákon vizsgálták *N. alata* növényeken. Bizonyossá vált, hogy a bibeszájban és a bibeszálban talált S-RN-áz transzkriptumok azonos mennyiségben íródnak át. Ez azt jelenti, hogy a pollentömlő növekedésének megtorpanása a bibeszálban nem az eltérő koncentráció miatt történik. Ugyanakkor a két szövet között az mRNS-ek poli(A)-farok hosszában eltérést találtak, mégpedig a bibeszálban jóval hosszabb poli(A) szintetizálódnak. Ez a méretbeli eltérés a PRP 4 (proline-rich protein) kontroll fehérjék kódoló génről képződött mRNS-molekuláknál nem volt megfigyelhető, így valószínűleg ez a jelenség nem szövetspecifikus bármely fehérjekódoló gén mRNS-e esetében, hanem kifejezetten az S-allél-termékeknél detektálható. A poli(A) mérete az RNS-ek stabilitását, vagyis az élettartamát befolyásolja. Így feltehetően, mivel a bibeszálban van szerepe az RN-ázoknak, a nagy mennyiségű felhalmozódásukat (kb. 10 mg/ml) segíti elő ez a szabályozási forma (McClure és mts., 1993).

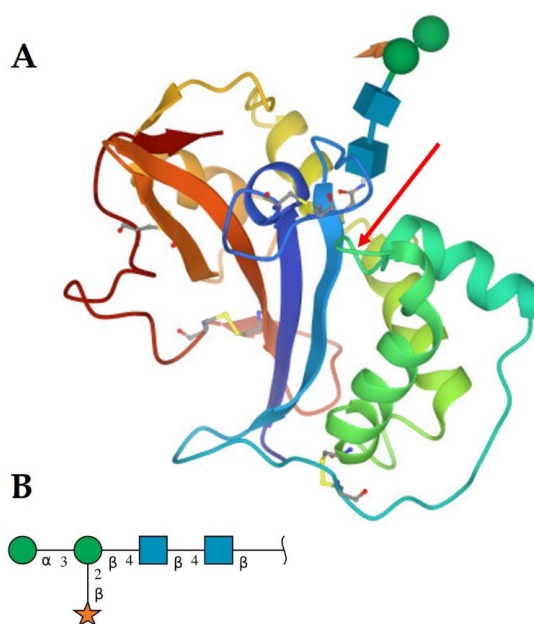
Felmerült a kérdés, hogy a fehérje specificitását kialakíthatja-e a cukorrész, hasonlóan az állati/humán immunfolyamatokhoz. Az N-glikoziláció a fehérjék egyik jelentős poszttranszlációs módosulása, amely az endoplazmatikus retikulumban következik be. A fehérje meghatározott aszparagin aminosavjához kötődik az oligoszacharid lánc. A glikoproteinek nagy számban fordulnak elő az állati és növényi sejtekben, funkcióik sokrétűek. A legtöbb membránfehérje és a szekrécióra kerülő fehérjék általában glikoproteinek (Ádám és mts., 2002). Öt lehetséges N-glikozilációs hely fordulhat elő a *N. alata* S-RN-ázokban, melyek közül egyedül az S₃ tartalmazza mind az ötöt, a többi allél egy és négy közötti kötőhellyel rendelkezik (Oxley és mts., 1996). A különböző S-glikoproteinek szénhidrátláncainak számában és összetételében nagy eltéréseket találtak (Woodward és mts., 1989; Oxley és mts., 1998), de bebizonyosodott, hogy a specificitásért nem a cukorkomponens a felelős. Karunanandaa és mts. (1994) transzgénikus *Petunia inflata* növényeket hoztak létre, melyekben az S₃-allél szekvenciáját megváltoztatták: az egyetlen glikozilációs helyként szolgáló aszparagint (Asn-29) kicserélték aszparaginsavat kódoló tripletre. Hat transzgénikus növényen tesztelve egyértelműen bizonyították, hogy a szénhidrátlánc nélküli S₃-RN-ázok gátolták az S₃ genotípusú pollentömlő növekedését, és csak azokét. A cukorrész ilyen módon feltételezhetően a fehérjék vízzoldékonyságát fokozza,

de a saját-idegen felismerésben nem játszik szerepet. Ezt követően számos olyan kutatás indult, ahol transzgenikus *Nicotiana*, *Petunia* és *Solanum* növényekben vizsgáltak különböző *S-RN-áz* allélokat, és minden esetben igazolták, hogy az azonos genotípusú pollentömlő megtorpan a bibeszálban (Huang és mts., 1994; Murfett és mts., 1995; Beecher és McClure, 1999). Ezen eredmények azért fontosak, mert egyértelműen bizonyították, hogy az *S-RN-áz* fehérje minden olyan információt tartalmaz, amely a bibekomponens specificitását meghatározza. A klasszikus kísérletet ebben a témában Huang és mts. (1994) végezték el: katalitikusan inaktív *S₃-RN-áz* fehérjét termeltettek *P. inflata* növényekben, és az *S₃*-allélt hordozó pollentömlők növekedése nem is gátlódott. Nyilvánvalóvá vált, hogy az *RN-áz* aktivitás szerepe kulcsfontosságú az inkompatibilitási folyamatban.

Ettől kezdve a kutatás fókuszja az *S-RN-áz* gén szerkezetére irányult: a szekvencia milyen módon kódolja a specificitást? Három növényből (*Nicotiana alata*, *Petunia inflata* és *Solanum chacoense*) származó 12 allélszekvencia összehasonlítása során 41 konzervált aminosavat találtak, melyekből 18 a gomba *RN-áz* szekvenciákban is jelen volt. Ezekből kettő az enzimmkatalízisért felelős hisztidin, továbbá négy, a diszulfid-hidak kialakítását biztosító cisztein. Összesen öt konzervatív régió jelent meg (C1-C5), melyek 6-11 aminosav méretűek. A variábilis aminosavak száma 19 volt, amelyek feltehetően az egyes allélok specificitását adják. Ezek közül 12 aminosav két régióra oszlik el, amelyeket jelentős mértékű változékonyságuk (hipervariabilitásuk) miatt HVa és HVb régióknak neveztek el, és a fehérje hidrofíl felületi régióját képezik. Ez a két szakasz lehet a pollenkomponens felismerőhelye (Iorger és mts., 1991). Az egyes allélok származtatott aminosav-sorrendje között jelentős eltéréseket találtak, még a 60%-ot is elérte a különbség mértéke. Ez a fajta diverzitás az evolúció korai szakaszában alakulhatott ki, még a *Solanaceae* fajok szétválása előtt (Iorger és mts., 1990; Tsai és mts., 1992). A molekuláris vizsgálatok sorában az első olyan növény, amely nemcsak modellként szolgált, hanem gazdasági, termesztési értékkel is rendelkezik, a 'Golden Delicious' almafajta volt. Broothaerts és mts. (1995) az *S₂*- és *S₃-RN-áz* allélok cDNS szekvenciáját határozták meg, melyek így az első információt adták a *Rosaceae* családból. Ugyanazokat a konzervatív és variábilis régiókat azonosították, mint a *Solanaceae* családban. A kapott szekvenciák alapján tervezett primerekkel a genomi DNS-ből PCR segítségével amplifikáltak mindkét allélból egy-egy intront. A két allél intronjának pozíciója azonos volt, a 84. és 85. kodon között helyezkedett el, de meglepően nagy méretbeli különbséget mutattak: az *S₂* 138 bp, míg az *S₃* 1100 bp volt. A *Solanaceae S-RN-ázok* intronjai is változatos méretűek voltak, és mindegyik a HVa régióban fordult elő (Iorger és mts., 1991). További öt *Pyrus pyrifolia S-RN-áz* fehérje- és DNS-szekvenálása megerősítette, hogy a HV régiók lehetnek felelős a felismerés specificitásáért (Ishimizu és mts., 1998a;b). Két hasonló allél esetében ezen régiókban elegendő mindössze négy aminosav cseréje ahhoz, hogy az *RN-áz* allélspecificitása megváltozzon (Matton és mts., 1997). A *N. alata S_{F11}-RN-áz* kristályszerkezetét röntgendiffrakciós vizsgálattal meghatározva a *T₂* *RN-ázokra* jellemző harmadlagos szerkezeti elemeket találtak. A C1, C2 és C5 régiók három β -lemezt formálnak a fehérje középső részén, a HVa és HVb régiók hosszú, pozitív töltésű hurok formát (loop) képeznek, amelyeket egy rövid α -hélix követ (Ida és mts., 2001).

A fásszárú növényekkel végzett vizsgálatok jóval később kezdődtek el és sokkal több nehézségbe ütköztek, mint a lágyszárú modellfajokon végzett kísérletek. A hosszú juvenilis fázis, az évi egyszeri virágzás, a transzgenikus technika kivitelezési nehézsége gyümölcsfajok esetében mind hátráltató tényezők voltak a többi fajjal szemben. Szabadföldi keresztezések eredményeként számos fajta *S*-genotípusa és fenotípusa (ÖT/ÖM) ismert volt, így ezeken indultak el a molekuláris vizsgálatok. Sassa és mts. (1992) az ÖM 'Nijisseiki' és a mutáns ÖT 'Osa-Nijisseiki' japán körtefajták (*Pyrus serotina* Rehd.) esetében izoelektromos fókuszálással megállapították, hogy az egyetlen kimutatott *RN-áz* (*S₄*) fehérje sokkal kisebb mennyiségben volt jelen az ÖT genotípusban, ami igazolja, hogy az önmeddőséget itt is az *S-RN-áz* határozza meg. Tao és mts. (1997) átfogó vizsgálatot

(izoelektromos fókuszálás, immunoblot és fehérjeszekvenálás) végeztek 13 ismert genotípusú mandulafajtán, így a *Prunus* nemzetségben elsőként bizonyították, hogy hasonlóan az almához és körtéhez, a csonthéjas fajokban is az *S*-RN-áz fehérje felelős az inkompatibilitás kialakításáért. Meglepő eredmény volt, hogy a *Solanaceae* (Asteridae) és *Rosaceae* (Rosidae) családokban is ugyanaz a molekula a bibekomponens, hiszen e két család filogenetikai szempontból egymáshoz képest távolinak tekinthető (Igic és Kohn, 2001). Később a *Plantaginaceae* családból az *Antirrhinum* nemzetségben is igazolták az *S*-RN-ázok szerepét (Xue és mts., 1996). A *Solanaceae* és *Rosaceae* *S*-RN-ázok génszerkezetében különbséget találtak: a 4. konzervatív régió pozíciója és aminosav-összetétele eltérő, így jelölése RC4 (*Rosaceae*-ra specifikus 4. konzervált régió), illetve egy hipervariábilis régió van kettő helyett, melynek jele a fentiekhez hasonló módon RHV lett. Az RHV pozitív szelekció alatt áll, ezért az *S*-RN-áz gén ezen szakaszán inszerciók, deléciók és nukleotidszubsztitúciók gyakrabban fordulnak elő (Sassa és mts., 1996; Ishimizu és mts., 1998a;b). Európai körtefajták és mandulafajták vizsgálata során kiderült, hogy nemcsak az RHV régió felelős az allélspecificitásért, hanem az RC4 és C5 domének közötti szakasz is (Zisovich és mts., 2004; Ortega és mts., 2006; Vieira és mts., 2007). Az egyetlen fás növény, amely esetében meghatározták az *S*-RN-áz fehérje térszerkezetét, a *Pyrus pyrifolia* volt 2001-ben: 8 α -hélixet és 7 β -redőt tartalmaz, felépítése pedig a T₂-típusú RN-ázra hasonlít (4. ábra). Az RHV régió egy hurok (loop) formában van jelen (Matsuura és mts., 2001).



4. ábra: A *Pyrus pyrifolia* *S*₃-RN-áz kristályszerkezete 1,5 Å felbontásban, mérete 24,28 kDa, az aminosavak száma 200. Összesen 8 α -hélixet és 7 β -redőt tartalmaz, a katalízisért felelős aminosav két hisztidin (33. és 88.). Az *S*-allél-specificitásért felelős hipervariábilis régiót (piros nyíllal jelölve) egy hurok és egy rövid α -hélix alkotja (A). Egy szénhidrátláncot tartalmaz, melynek felépítése: β -D-xylopiranóz-(1-2)-[α -D-mannopiranóz-(1-3)] β -D-mannopiranóz-(1-4)-2-acetamido-2-dezoxi- β -D-glükopiranóz-(1-4)-2-acetamido-2-dezoxi- β -D-glükopiranóz (B) (Forrás PDB: Protein Data Bank, adatbázisbeli azonosító: 1IQQ, Matsuura és mts., 2001).

A T₂ gomba RN-ázban található egy intron a hipervariábilis régióba ékelődve, amely ugyanolyan pozícióban van jelen a *Solanaceae* és a *Pyrus/Malus* fajokban is. A *Prunus* nemzetségben egy másik intron is előfordul (5. ábra), amely a szignál peptid és a C1 régió közé ékelődik (Tao és mts., 1999; Igic és Kohn, 2001). A biológiai és evolúciós jelentősége az intronok számbeli különbségének egyelőre tisztázatlan (Tao és Iezzoni, 2010). A mesterséges intelligencia alapú AlphaFold2 algoritmus minden korábbi fehérjejelölő

szoftvert túlszárnyalva rendkívül pontos fehérjeszerkezeti predikciót készít. Hivatalos és nyilvános hozzáférése óta, egy év alatt 200 millió fehérje térszerkezetét tették közzé, melyből 60 *Prunus S*-ribonukleáz volt (Jumper és mts., 2021; Varadi és mts., 2022).



5. ábra: Az *S*-ribonukleáz gén vázlatos szerkezete a konzervatív (C1-C5) és hipervariábilis régiók (RHV), valamint az intronok (1. és 2.) helyzetének bemutatásával 5'-3' irányban (Tao és Lezzoni, 2010 alapján).

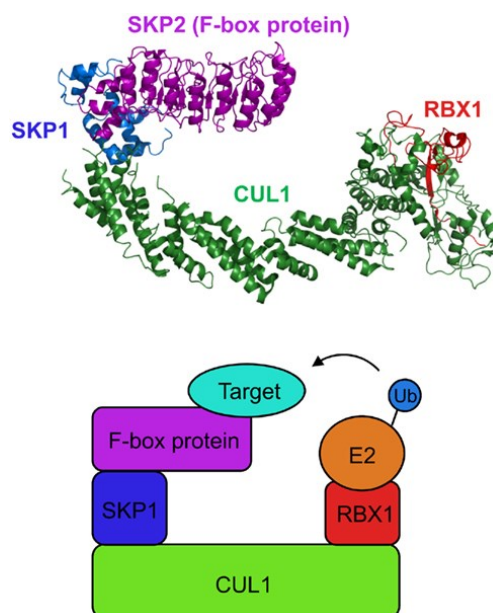
Az *S*-ribonukleáz inkompatibilitásban betöltött funkciójának pontos megismeréséhez szükség volt a pollenkomponens azonosítására is, hiszen a kétkomponensű rendszer egyik részét képezi csak a bibében kifejeződő gén.

2.6.2. A pollenkomponens szerkezeti jellemzése és funkciója

A pollenkomponens azonosításához egészen más út vezetett, mint ami a bibekomponens esetében sikeres volt. Itt nem a fehérje-alapú megközelítést alkalmazták, hanem a következő tényekből indultak ki: ahhoz, hogy jól működhessen a saját/idegen felimerés, 1. a pollen- és bibefunkciót irányító génnek fizikailag közel kell lennie egymáshoz, hogy a rekombináció esélye nagyon kicsi legyen; 2. egy kizárólag a pollenben kifejeződő gént kell keresni; 3. a pollenkomponens génnek is olyan allélok közti variabilitást kell mutatnia, mint ami a bibekomponensre jellemző (McClure, 2009). Lai és mts. (2002) az alábbi feltételekkel kezdték el vizsgálni az *Antirrhinum hispanicum S*-lókuszát BAC könyvtár segítségével. Előzetesen a pollenkomponens gént S_p -vel jelölték. Az S_2 -*RN*-áz géntől downstream irányban 9 kb távolságra találtak egy 376 aminosavból álló polipeptidet kódoló gént. A gén polimorfnak bizonyult és a tapétumban, a mikrospórákban, illetve a pollenben fejeződik ki. A polipeptid egy F-box domént tartalmaz, így elnevezték *SLF* (*S*-lókusz *F*-box) génnek, amely a tulajdonságait tekintve megfelelt a pollenkomponenssel szemben támasztott követelményeknek. A gén megtalálásának nehézségét mutatja, hogy csak 13 évvel a bibekomponens azonosítását követően történt meg.

Az első F-box fehérje az ubikvitin-proteaszóma rendszer (UPS: ubiquitin proteasome system) részeként vált ismertté. Az UPS a lizoszómális rendszer mellett egy szabályozott, energiaigényes fehérjelebontó mechanizmus, amely számos folyamatban kiemelt szerepet játszik, mint pl. a sejtciklus, jelátvitel, egyedfejlődés, DNS-hibajavító mechanizmusok és az apoptózis. A folyamat feltérképezéséért a magyar származású biokémikus, Avram Hershko munkatársaival, Aaron Ciechanoverrel és Irwin Rose-zal megosztva kapott kémiai Nobel-díjat 2004-ben (www.nobelprize.org). A lebontásra szánt fehérjéket az ubikvitin molekulákkal jelöli meg a rendszer. A poliubikvitináció során egy három lépcsős enzimkaszád kapcsol ubikvitinegységeket a célfehérjére, ami az ubikvitin-aktiváló (E1), ubikvitin-konjugáló (E2) és ubikvitin-ligáz (E3) enzimek segítségével valósul meg (Hershko és Ciechanover, 1998). Az ubikvitin-ligáz, pontos nevén SCF (Skp, Cullin, F-box komplex) E3 enzimek képezik a legnagyobb családot, és jelentős mértékű konzerváltságot mutatnak az eukarióta sejtekben, az élesztőtől az emberig bezárólag. Négy strukturális és funkcionális komponensből állnak (6. ábra): egy adaptor SKP1 fehérje, Cullin-1 állványfehérje (scaffold protein), szubsztrát-felismerő F-box fehérje és egy RING fehérje (Xie és mts., 2013). Az ubikvitin egy kis fehérje, 76 aminosavból áll, 8565 Da molekulatömegű, és minden sejtípusban jelentős mennyiségben fordul elő. Nevét erről kapta, mert latinul az *ubique* szó azt jelenti, „mindenütt”. Egy célfehérje UPS általi degradációjához szükséges, hogy az adott fehérje tartalmazzon olyan N-terminális

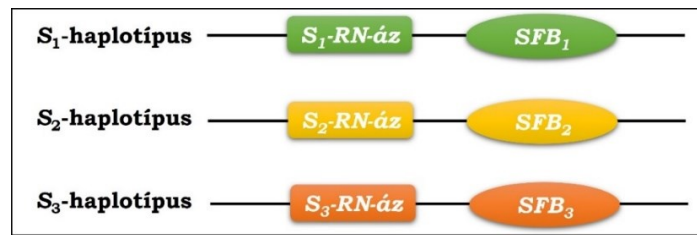
aminosavat, amelyet az E3 ubikvitin-ligáz enzimek felismernek. A célfehérjéhez való kapcsolódásban az ubikvitin globuláris magjából kilógó C-terminális glicin izopeptid kötést létesít a lebontandó fehérje egy lizin oldalláncának ϵ -helyzetű aminocsoportjával (Hershko és mts., 2000; Glickman és Ciechanover, 2002). Az, hogy a pollenkomponensként azonosított F-box fehérje ebben a rendszerben milyen módon vesz részt, továbbra is nyitott kérdés volt, de más fajokon végzett vizsgálatok is egyértelműen igazolták az F-box fehérjét kódoló gén vagy gének jelenlétét az *S*-lókuszban.



6. ábra: Az Skp, Cullin, F-box (SCF) komplex kristály- illetve sematikus szerkezete. A Cullin-1 scaffold fehérje N-terminális vége kapcsolódik az SKP1 adaptor fehérjéhez, míg a C-terminális vége az RBX1 RING fehérjéhez, amely az E2 enzim kötőhelye. Az F-box fehérje kölcsönhatásba lép az SKP1-gyel az F-box alegységén (domén) keresztül, és a célfehérjét (target) az ubikvitin-ligáz komplexhez köti (Forrás: Protein Data Bank, adatbázisbeli azonosító 1LDK és 2ASS, Magori és Citovsky, 2011).

Az *S*-lókusz a *Prunus* fajokban a 6-os kapcsoltsági csoport szubtelomerikus régiójába térképeződött (Dirlewanger és mts., 2004), és sokkal kisebbnek bizonyult, mint a *Solanaceae* és *Plantaginaceae* fajokban. Két különböző japán kutatócsoport is sikeresen szekvenálta meg ezt a szakaszt az *S-RN-áz* géntől elindulva (Ushijima és mts., 2001, 2003; Entani és mts., 2003). Ushijima és mts. (2003) mandula esetében egy ~70 kb hosszú szakasz szekvenálása során 12 nyílt leolvasási keretet (ORF) azonosítottak szoros kapcsoltságban az *S-RN-áz* génnel, de csak az egyik fejeződik ki kizárólag a pollenben. Ezt elnevezték *SFB* génnek (*S* haplotype-specific F-box protein). Találtak egy nem polimorf *F-box* gént is, amely mind a pollenben, mind a bibében expresszál, így ezt *SLFL* néven (*S* locus F-box protein-like) jelölték. Entani és mts. (2003) ugyanezen régiót a japánkajsziában (*P. mume*) határozták meg. Az *S*₁- és *S*₇-genotípusok mindegyikében 13 ORF régiót találtak, de csak az egyik felelt meg a pollenkomponens követelményeinek, ami ennél a fajnál is egy *F-box* gén volt. A *Solanaceae* családban *P. inflata* transzgenikus genotípusokon egyértelműen bizonyították az *F-box* pollengén szerepét (Sijacic és mts., 2004). Mivel a gyümölcsfák esetében ilyen módszerrel gyakorlatilag lehetetlen volt a bizonyítás, indirekt módon, de meggyőző eredménnyel Ushijima és mts. (2004) igazolták ugyanezt cseresznye és japánkajszi esetében. Két ÖT fajtánál bizonyították, hogy az *F-box* génben bekövetkezett mutáció hatására változott meg a termékenyülési fenotípus.

Az *SFB* és *S-RN-áz* gének közötti fizikai távolság 380 bp és 40 kb között van cseresznyénél (Ikeda és mts., 2005), 299 bp–2,9 kb kajszinál (Romero és mts., 2004; Wu és mts., 2009), 410–2800 bp japánszilvánál (Zhang és mts., 2007) és 339–1710 bp japánkajszinál (Heng és mts., 2012). Ezek az adatok valóban alátámasztják, hogy az *S*-lókuszt két génje szorosan kapcsolt. Több tanulmány is leírta, hogy a két gén általában ellentétes orientációban fordul elő (Entani és mts., 2003; Ikeda és mts., 2005; Wu és mts., 2009; Zhang és mts., 2007), kivéve a kajsi *S*₄-haplotípusnál (Romero és mts., 2004). Az *SFB* és *S-RN-áz* gének egy egységként együtt öröklődnek, rekombinációs eseményről még sehol nem számoltak be. Ikeda és mts. (2005) összesen 1022 meiózist vizsgáltak meg ilyen szempontból, és egyetlen rekombináció sem történt. Szerintük, ha be is következne, az letális hatású. A két gén speciális helyzete és a közös fenotípusos hatása miatt az egyes gének változatait *S*-allélnak (*S-RN-áz*-allél, *SFB*-allél), míg a közös, két génre vonatkozó, együttes előfordulást *S*-haplotípusnak (7. ábra) nevezzük (Wu és mts., 2013).



7. ábra: Az *S*-lókusztban elhelyezkedő, szorosan kapcsolt bibe- és pollenkomponens gének. Az *S*-ribonukleáz (*RN-áz*) és *S*-haplotípusra specifikus *F*-box (*SFB*) géneváltozatok együttes előfordulása az *S*-haplotípus. Az *S*-lókuszt egy multigén komplex, vagyis a „haplotípus” kifejezés a lókuszt mindkét génjének változataira együttesen értendő, míg az „allél” csak az egyik gén változataira használatos.

Az *SFB* fehérje szerkezetileg egy *F*-box motívumot, két hipervariábilis régiót (HVa és HVb) és három variábilis régiót (V1, V2 és Vn) tartalmaz (8. ábra). Ez az öt variábilis rész hidrophil vagy legalábbis nem túl hidrophób jellegű, vagyis a fehérje felszínén helyezkednek el, a specifikus felismerési folyamatban vesznek részt (Ikeda és mts., 2004; Romero és mts., 2004; Vaughan és mts., 2006; Nunes és mts., 2006; Wu és mts., 2009; Zhang és mts., 2007a). Az *F*-box motívum felépítését tekintve azonos az E3 ubikvitinligázokban található *F*-box-szal. Az *SFB*-gén egy intront tartalmaz a start kodontól upstream irányban. Mérete 81–122 bp cseresznyében (Vaughan és mts., 2006), 90–137 bp kajsziban (Romero és mts., 2004; Vilanova és mts., 2006; Wu és mts., 2009), és 89–114 bp japánkajsziban (Heng és mts., 2012). Az egyes genotípusok közötti méretbeli eltérés sokkal kisebb mértékű, mint az *S-RN-áz* gén intronjai esetében. Konzervatív szekvenciái az N-terminális végen ‘TGAGT’, míg a C-terminálison ‘TDCAG’ (Vaughan és mts., 2006).



8. ábra: Az *SFB* gén vázlatos szerkezete 5’-3’ irányban a start és stop kodonok feltüntetésével: egy intront, egy *F*-box motívumot, három variábilis (V1, V2 és Vn), valamint két hipervariábilis régiót (HVa és HVb) tartalmaz (Nunes és mts., 2006, valamint Wu és mts., 2013 alapján).

Az almatermésűek esetében a pollenkomponens gén tekintetében eltéréseket találtak a csonthéjas fajokhoz képest. Sassa és mts. (2007) alma és japánkörte genotípusok *S*-lókuszt-szekvenálása során két hasonló *F*-box gént találtak. Több haplotípus vizsgálatánál is leírtak

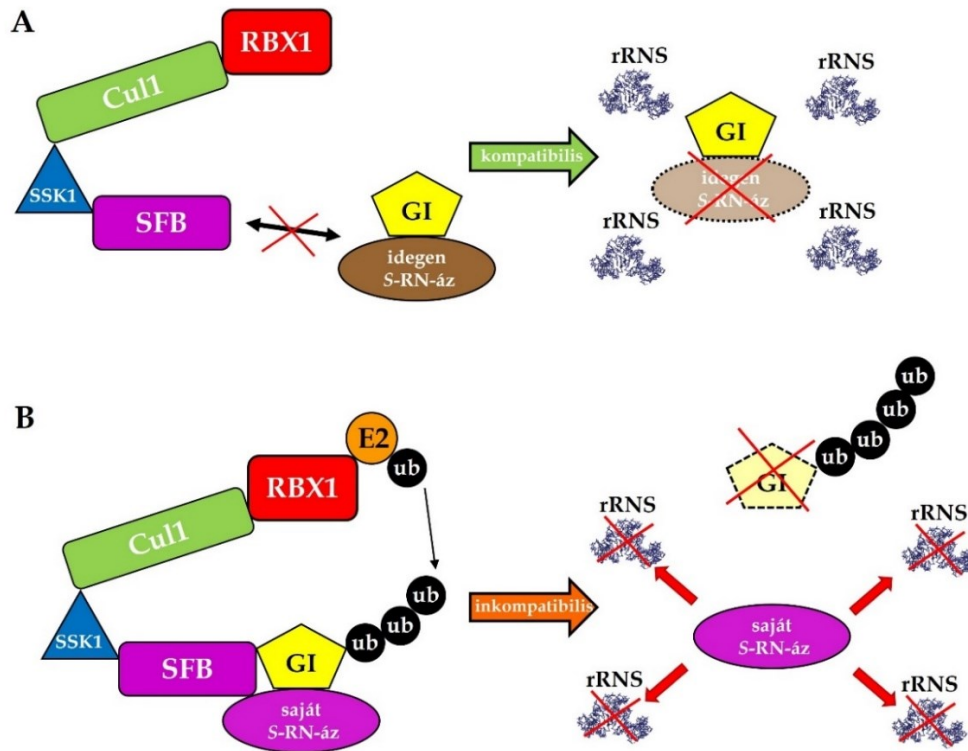
homológ szekvenciákat, két-három hasonló gén mindegyikben előfordult, ezért ezeket a géneket *SFBB*, vagyis „*S-lókusz F-box brothers*” néven írták le. Az *SFBB* gének is kizárólag a pollenben fejeződnek ki és pozitív szelekció alatt állnak. Nem teljesen egyértelmű még, hogy pontosan hány *SFBB* vesz részt a fenotípus kialakításában, de almában 17-19 *SFBB* is előfordul (Pratas és mts., 2018). Az *S-RN-áz*okat elsőként a *Solanaceae* családban azonosították, ezzel szemben az *F-box* azonosítása szinte egyidőben történt a *Scrophulariaceae* (Lai és mts., 2002) és *Rosaceae* (Entani és mts., 2003; Ushijima és mts., 2003) családokban. Ugyanakkor a többszörösen előforduló, ún. multiple *F-box* jelenséget ugyanabban az évben írták le a *Solanaceae* (Hua és mts., 2007) és *Rosaceae* (Sassa és mts., 2007) családokban.

A több *SFBB* jelenléte arra utal, hogy eltérő molekuláris mechanizmus áll a *Pyrus/Malus* és *Prunus* fajok inkompatibilitásának hátterében. Miután ismertté vált a pollen- és bibekomponens gén, illetve fehérje, a fő kérdés az volt, hogy milyen módon játszódik le e molekulák között az önmeddőség kialakulásához nélkülözhetetlen saját/idegen felismerési reakció.

2.6.3. A saját/idegen felismerési reakció molekuláris alapja

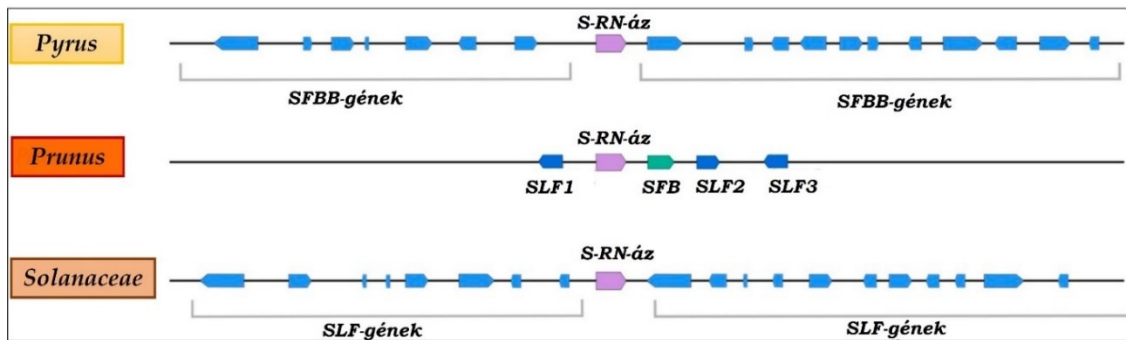
A mechanizmus felderítésében mérföldkönek számított az *S*-ribonukleázok szerepének tisztázása. Egy olyan enzim, ami gyakorlatilag citotoxinként működik, mert valamilyen RNS-molekulának a biológiai funkcióját akadályozza, nem volt ismeretlen védekezési mechanizmus akár baktériumokról, akár növényről legyen szó. Logikus volt az a feltételezés, hogy az *S-RN-áz*ok az inkompatibilis pollentömlőben fejtik ki citotoxikus hatásukat (Kao és Tsukamoto, 2004; McClure, 2009). McClure és mts. (1990) kísérlettel bizonyították, hogy az izotóppal jelölt pollenszemekkel (^{32}P) végzett megporzást követően a riboszómális RNS (rRNS) az inkompatibilis pollentömlőkben degradálódik, míg a kompatibilisben érintetlen marad. Ez azt jelenti, hogy az rRNS degradációjával megszűnik a pollentömlő fehérjeszintézise, így ez okozza a növekedés leállítását. Az *S-RN-áz*ok a bibesejtek közötti térből be tudnak jutni a pollentömlőbe és transzlációs inhibitorokként működnek (Gray és mts., 1991). Ezzel az inkompatibilitási reakció biokémiai háttere tisztázódott, de az nem, hogy a kompatibilis kapcsolat során miként maradnak érintetlenek az rRNS-molekulák.

Mivel pollenkomponensként a vizsgált családok mindegyikében az *F-box* fehérjét azonosították, annak részvétele pedig igazolt volt az UPS fehérjelebontó rendszerben, így feltételezhető, hogy a teljes mechanizmus működésének hátterében valamelyik kulcsfontosságú szabályozó fehérje lebontása történik. A *Prunus* nemzetségben működő rendszer a molekuláris bizonyítékok szerint a genetikailag egyező allél felismerésén alapszik (9. ábra). Minden *S-RN-áz* egy ún. GI (general inhibitor), általános inhibitor fehérjével kapcsolódik össze a pollentömlőben. Ez feltehetően maga is egy UPS rendszer, mely képes a hozzá kötődő *S-RN-áz* fehérjét lebontani. Az inkompatibilis kapcsolat során azonban erre nincs lehetőség, mert az ugyanazon haplotípushoz tartozó *F-box* fehérje, vagyis az *F-box*ot tartalmazó másik ubikvitin-ligáz SCF komplex (SCF^{SFB}) felismeri a vele azonos típusú *S-RN-áz* és GI komplexet: pl. $\text{SFB}_1 + \text{S}_1\text{-RN-áz} + \text{GI}$ vagy $\text{SFB}_2 + \text{S}_2\text{-RN-áz} + \text{GI}$. Ezt követően poliubikvitinálja a GI fehérjét, amely lebomlik a 26S proteaszómákban. Ennek hatására a sértetlen ribonukleáz felszabadul, és a pollentömlőben az rRNS-molekulák hasításával megakadályozza a fehérjeszintézist. A kompatibilis kapcsolatban az SCF^{SFB} a tőle különböző típusú, nem saját *S-RN-áz* + GI komplexet nem ismeri fel, pl. SFB_1 és $\text{S}_3\text{-RN-áz}$. Az *S-RN-áz* így kötve marad a GI-hez, mely poliubikvitinálja és lebontja, így a pollentömlőben az rRNS-degradálása nem következik be, a pollentömlő növekedése zavartalan marad (Matsumoto és Tao, 2016a).



9. ábra: A GSI rendszer molekuláris működési modellje a *Prunus* nemzetségben. Kompatibilis kapcsolat során (A) egy általános inhibitor fehérje (GI) összekapcsolódik az *S*-RN-ázzal, amelyet az eltérő *S*-haplotípus miatt az SFB nem ismer fel, az *S*-RN-ázt a GI lebontja, az rRNS sértetlen marad, így a pollentömlő növekedése nem akadályozott. Inkompatibilis kapcsolat esetén (B) az azonos allél által kódolt SFB felismeri az *S*-RN-áz+GI komplexet és poliubikvitinálja (ub+ub+ub) az inhibitor fehérjét (GI). Az inhibitor fehérje lebontása (26S proteaszóma) miatt a sértetlen *S*-RN-áz felszabadul, így a növekvő pollentömlő rRNS-molekuláinak hasításával gátolja a fehérjeszintézist. Ennek következtében a pollentömlő növekedése megáll, a termékenyülés elmarad (Matsumoto és Tao, 2016a alapján módosítva).

A GI fehérjét több feltételezés is az *SLFL* génekkel hozta összefüggésbe (10. ábra), mert azok funkciója nem volt világos, de korábban már többen is azonosítottak *Prunus* fajokban három ilyen gént (*SLFL1-3*) az *S*-lókuszhoz közeli régióban (Entani és mts., 2003; Ushijima és mts. 2003, 2004). Matsumoto és Tao (2016b; 2019) cseresznye esetében *in vitro* bizonyították a *PavSLFL1-3* fehérjék kapcsolódási képességét az *S*-RN-áz fehérjékhez. Más fajokban, így őszibarack és japánszilva genotípusoknál ugyanerre az eredményre jutottak, ami megerősíti, hogy valóban ezen fehérjék működhetnek általános inhibitor (GI) molekulaként (Chen és mts., 2018). Az SFB fehérje elsősorban a növekvő pollentömlő csúcsi részébe koncentrálnak, míg az SLFL a teljes tömlőhosszban egyenletesen oszlik el, vagyis a ko-lokalizáció csak a csúcsi részben lehetséges, ahol bekövetkezik a fent részletezett molekuláris interakció (Li és mts., 2020). Itt tulajdonképpen úgy tűnik, az ubikvitin-proteaszóma rendszer által elvégzett két degradációs lépés kapcsolódik össze hierarchikus módon, vagyis ugyanaz a lebontó folyamat működik két különböző célfehérjével (*S*-RN-áz vagy GI) szemben, melynek a kimenetelét a résztvevő SFB illetve SLFL/SFBL molekulák szabják meg. Mindazonáltal a gyümölcsfák önmeddőségének hátterében álló pontos molekuláris események feltérképezése még messze nem tekinthető lezárt folyamatnak.



10. ábra: A *Pyrus*, *Prunus* és *Solanaceae* fajok *S*-lókusz szerkezete. Mindhárom esetben a bibekomponens az *S-RN-áz* gén (lilával jelölve). A *Pyrus* és *Solanaceae* fajoknál több példányban is körülveszik ún. *SFBB* vagy *SLF* gének (kézzel jelölve), melyek a pollenkomponens szerepét töltik be. A *Pyrus* (Malinae) fajoknál az *SFB* brothers (*SFBB*) gének száma kb. 18-20, amely nagyjából megegyezik a *Petunia* (*Solanaceae*) *SLF* géneinek számával. Ezen gének mérete, pozíciója és orientációja haplotípusonként eltérő. A *Prunus* fajokban a pollenkomponens gén az *SFB* (zölddel jelölve), amely szoros kapcsoltságban áll az *S-RN-áz* génnel. A három környező *SLF* gén (sötétkézzel jelölve) feltehetően az általános inhibitor (GI) fehérjét kódolja (Claessen és mts., 2019 alapján módosítva).

Az *S*-lókusz szerkezeti eltérése arra utal, hogy a Malinae altribusba tartozó almatermésűek fajaiban egészen másként működik ez a mechanizmus: nem a saját (genetikailag egyező) típus felismerése történik, hanem pont az ellenkezője: az idegen típus felismerésén (non-self) alapszik a rendszer (Sassa és mts., 2007; De Franceschi és mts., 2012). Az *SFBB* fehérjék mindegyike felismer egy vagy több, más allél által kódolt *S-RN-áz*t és előidéznek azok degradációját, miközben a saját haplotípushoz tartozó *S-RN-áz*t nem ismerik fel, azt érintetlenül hagyják. Tekintve, hogy a haplotípus több *SFBB* fehérjét kódol, ezek együttesen szinte valamennyi *S-RN-áz*t felismerik, így képesek bármely, a saját haplotípusuktól eltérő haplotípusokat hordozó növény megtermékenyítésére. Ez az ún. kollaboratív (együtműködő) nem-saját felismerési rendszer (collaborative non-self-recognition) (Kubo és mts., 2010).

2.6.4. Az önmeddőség kialakításában szerepet játszó egyéb komponensek azonosítása

A két fő génen/fehérjén kívül számos más gén működése is hatással van az inkompatibilitási mechanizmusra vagy annak következtében aktiválódik. Az almatermésűek közül a *Pyrus pyrifolia* 'Jinzhuli' fajta foszfolipáz C génjében bekövetkezett inszerció öntermékenyülést idézett elő (Qu és mts., 2017), az alma esetében pedig egy pollenben kifejeződő hexóz-transzporter (MdHT1) kisebb mértékű expressziója akadályozta az *S-RN-áz* bejutását a citoplazmába (Li és mts., 2016). Ezek az eredmények azt igazolják, hogy a pollen és bibe-funkciót meghatározó *S*-fehérjék közti kapcsolat kialakulását számos egyéb, az *S*-lókuszon kívül kódolt fehérje döntő mértékben befolyásolhatja.

Gómez és mts. (2019a) transzkriptomikai analízist végeztek megporzás előtt, illetve kompatibilis és inkompatibilis pollennel végzett keresztezés utáni bibeszövetekben mandulafajtákon. Tizennégy gént találtak, melyek kifejeződésében jelentős eltérés mutatkozott, több közülük a citoskeleton szerkezetében, illetve a lipid metabolizmusban játszik szerepet. Proteomikai vizsgálatokat is végeztek ugyanilyen mintavételezéssel (Gómez és mts., 2022), melynek során 895 eltérő mennyiségben megjelenő fehérjét azonosítottak. Csoportosításuk után a legnagyobb funkcionális csoport az anyagcserében résztvevő fehérjék („metabolic proteins”), és a stresszrezisztenciával, valamint a védekezési

reakciókkal kapcsolatba hozható fehérjék voltak. Több fehérje azonosítása után (taumatin, LRR receptorok, PR4, kinázok) arra következtettek, hogy a pollen-bibe kölcsönhatások alapjai közösek lehetnek a gazda-patógén interakció alapjaival, de ennek részletesebb kifejtése és bizonyítása további vizsgálatokat igényel. Egy másik kutatócsoport, szintén mandulafajták saját és idegen pollennel történő megporzását követően 36 óra múlva 7684 különböző fehérjét azonosított (Xu és mts., 2022). *In silico* módszerrel csoportosították a fehérjéket, amely alapján RNS-polimerázok, autofágiával kapcsolatos fehérjék, az oxidatív foszforiláció fehérjei és a homológ rekombinációval kapcsolatba hozható fehérjék mutattak eltérést az inkompatibilis reakcióban. A fehérjeinterakciós vizsgálatok szerin/treonin-kinázok részvételét is igazolták a saját/idegen felismerési folyamatban. Korábban többen is arra a következtetésre jutottak, hogy az SI rendszerek a patogének elleni védekezési rendszerből fejlődhetnek ki az evolúció során (De Nettancourt 1977; Hodgkin és mts., 1988; Elleman és Dickinson, 1999). Morfológiailag is hasonlóknak tűnik a jelenség, ahogy a betolakodó gombahifa növekedése megáll, olyan a saját típusú pollentömlő-növekedésének megállítása is. De emellett molekuláris és biokémiai hasonlóságokat is találtak, leginkább a *Brassica* nemzetségben, ahol a bibekomponens egy szerin-treonin receptor-kináz, amely enzimes család ismert résztvevője a gazda-patógén interakciónak is. Ugyanakkor a *Solanaceae* és *Rosaceae* családok önmeddőségében szerepet játszó ribonukleázok is jelentős elemei a patogének elleni védelemnek (McCubbin és Kao, 1996; 2000). Még annak a lehetősége is felmerült, hogy az alany-nemes közti kompatibilitás is hasonló felismerési rendszeren keresztül működik, mert a szőlő (*Vitis*) különböző oltási kísérletei során egy receptor-kináz gén kifejeződésében nagy eltéréseket találtak (Cookson és mts., 2014). Ugyanakkor Irisarri és mts. (2019) egyértelműen bizonyították egy kajszai F₁ hasadó nemzedék vizsgálataival, hogy a GSI rendszer és az alannal szembeni inkompatibilitás nem mutat összefüggést.

Metabolomikai elemzéssel kompatibilis és inkompatibilis kajszikombinációk alapján a bibeszövetekben több eltérő komponenst is azonosítottunk. Az öntermékenyített, de önmeddő fenotípusú 'Ceglédi óriás' bibeszövetében egy, a peloruside-A-hoz hasonló vegyület felhalmozódása volt kimutatható, ami a megporzatlan bibékben nem fordult elő (Lénárt és mts., 2021). Ez a másodlagos anyagcseretermék mikrotubulus-stabilizáló hatású, amit a tubulin dimerekhez történő kötődése okoz. Elképzelhető, hogy ez a jelenség egy stresszre adott válasz, ami az intakt sejtváz megóvása érdekében történik. Ennek a jelentőségét az is alátámasztja, hogy a szétesett mikrotubulusok reorganizációja nem lehetséges (Poulter és mts., 2008). Egy ilyen jelenség a pollentömlő apikális irányú áramlását tönkretéve sokkal inkább megmagyarázná a pollentömlő-növekedés gyors megtorpanását, mint a fehérjeszintézis gátlása. De más magyarázat sem kizárt: egy ilyen típusú vegyület felhalmozódása a sejtciklus blokkolását, apoptózist vagy az öregedés felgyorsítását idézheti elő (Lénárt és mts., 2021).

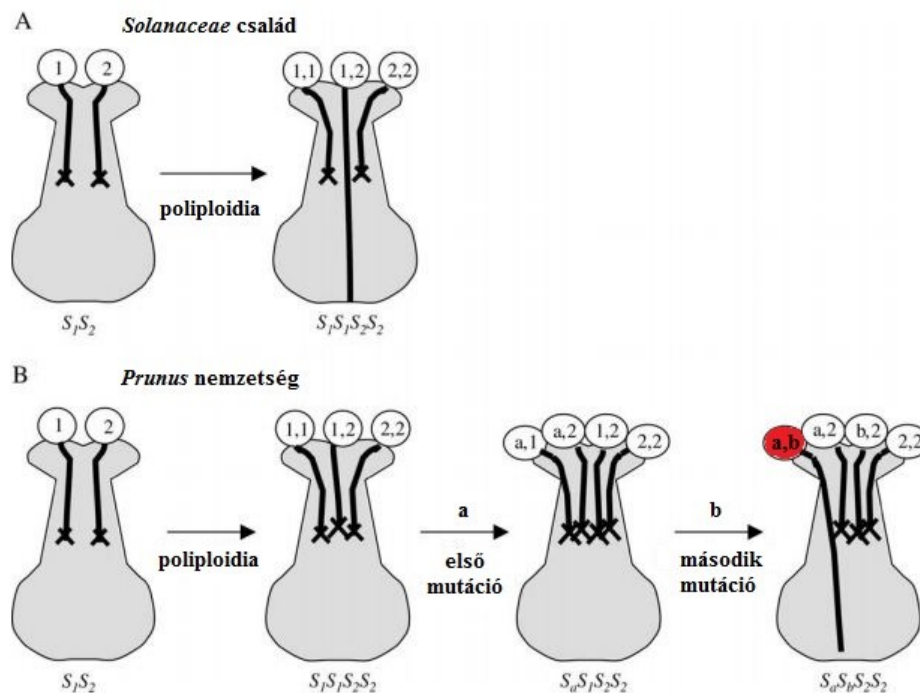
A 'Cristobalina' cseresznyefajtában találtak egy olyan gént, amelyik bár nem az S-lókuszbán helyezkedik el, befolyásolja a termékenyülési folyamatot. A 3-as kromoszómán lokalizálták (Cachi és Wunsch, 2011) az ún. M-lókuszból *GST* (*MGST*) gént. A *GST* egy glutation S-transzferáz enzimet kódol, amely a tioredoxin (oxidoreduktáz) enzimes családba tartozik. A *Prunus* *MGST* fehérjék valószínűleg az S-RN-ázok hajtogatási (folding) folyamatait segítik elő a pollentömlőbe lépéskor (Montrichard, és mts., 2009; Ono és mts., 2018). A tioredoxin-h *Nicotiana* növények bibeszövetének extracelluláris részében redukálta az S-RN-ázokat, így az is elképzelhető, hogy ez a biológiai szerepe a cseresznye *GST* enzimnek (Montrichard és mts., 2009).

2.6.5. A rendszer működése poliploid fajok esetében

A legtöbb vizsgálatot diploid fajokon végezték mindhárom növény családban, ahol az ismert modellnövényekkel dolgoztak. Ugyanakkor a növényvilágban számos poliploid faj fordul elő, melyek szomatikus sejtjei több, mint kétszeres kromoszómaszerelvényt

tartalmaznak. A poliploidia kifejezetten jelentős evolúciós hajtóerőnek számít, mert növeli a genetikai variabilitást, jobb alkalmazkodóképességet eredményezhet és számos esetben a poliploid fajok több szempontból is felülmúlják a diploid rokonfajokat (Dickinson, 2018). Fentiek miatt a növénynevelésben is gyakran kiemelt cél, olykor a fajta-előállítás vagy -javítás során mesterséges poliploidizációt is alkalmaznak (Sattler és mts., 2016; Van de Peer és mts., 2021). Sok termesztett fajunk poliploid (pl. burgonya, meggy, szilva, szamóca), így genetikai hátterük ismerete fontos kérdés a nevelés szempontjából.

Tetraploid fajok esetében a pollenszem diploid, két *S*-allélt tartalmaz, míg a bibeszál sejtjei négy *S*-alléllal rendelkeznek. A *Solanaceae* családban az ún. heteroallélikus pollen, vagyis két különböző *S*-allélt tartalmazó pollen jelenléte öntermékenyülést/kompatibilis kapcsolatot idéz elő (Luu és mts. 2000; 2001), még akkor is, ha mindkét allél jelen van a bibeszövetekben is (11.A. ábra). Ezt a jelenséget kompetitív interakciónak nevezik (De Nettancourt, 2001). Ugyanilyen megfigyeléseket tettek tetraploid alma és körte esetében több évtizeddel ezelőtt (Crane és Lewis, 1942; Adachi és mts., 2009). Vagyis a bekövetkezett poliploidizációs esemény a termékenyülési fenotípus megváltozását is előidézi. A szintén tetraploid meggy esetében önmagában a heteroallélikus pollen jelenléte nem okoz öntermékenyülést. Legalább két funkcióképtelen *S*-haplotípusnak kell jelen lennie ahhoz, hogy a termékenyülés sikeres legyen (Makovics-Zsohár és Halász, 2016). Hauck és mts. (2006b) önmeddő és öntermékenyülő genotípusok összehasonlítása alapján ezt a modellt az ún. *one-allele match* modellként írták le: amennyiben a pollentömlőben és a bibeszövetben kifejeződő két közös *S*-haplotípus egyike sem funkcióképes, akkor nem alakul ki a specifikus felismerés az azonos alléltermékek között, ezért lehetővé válik az öntermékenyülés (11.B. ábra). Funkcióját veszített haplotípusok legtöbbször valamilyen inszerciós, deléciós vagy nukleotidszubsztitúciós mutáció hatására alakulnak ki (Hauck és mts. 2006a; b, Halász és mts. 2014a).



11. ábra: A GSI rendszer működése tetraploid fajok esetében, a *Solanaceae* családban és a *Malinae* altribus-ban (A), illetve a *Prunus* nemzetségben (B) (Hauck és mts. 2006b nyomán). A funkcióképtelen, mutáns, öntermékenyülést/kompatibilis kapcsolatot eredményező allélokat „a” és „b” betű jelöli, míg a vad típusú, funkcióképes változatokat számok (1,2).

Ezen modellek validálásához a funkcióvesztéses mutációk szolgálnak bizonyítékul sok esetben. Mivel a fás növényeknél a transzgenikus technika kivitelezése sok nehézségbe ütközik, jóval kisebb eszköztárral tudnak dolgozni a kutatók. Ugyanakkor majdnem minden faj esetében találtak természetes módon előforduló vagy esetleg mesterségesen előidézett olyan mutációt, amely az önmeddő fenotípust öntermékenyülővé változtatta. Az ezeken a genotípusokon végzett vizsgálatok nagyban hozzájárultak az inkompatibilitás genetikai hátterének pontos feltárásához.

2.7. A gyümölcsfák öntermékenyülésének genetikai háttere: funkcióvesztéses mutációk az *S*-lókuszban

A növényvilágban a szaporodási folyamatokat érintő egyik leggyakoribb változás, amikor az önmeddő fenotípusból öntermékenyülő lesz. Ugyanakkor továbbra is jóval nagyobb számban fordulnak elő az ÖM fajok, amely tulajdonság makroevolúciós léptékben kétségtelenül előnyös (Good-Avila és mts., 2008). Az ÖM jelleg elvesztésének hatására az *S*-haplotípusok száma is kevesebb lesz (Ilgic és mts., 2008; Wright és mts., 2013). Emiatt kisebb mértékű lesz a génáramlás az egyes populációk között, ami végső soron reproduktív izolációhoz is vezethet (Ellstrand és Elam, 1993). A genetikai variabilitás csökkenése palacknyak-effektust (genetic bottleneck) idéz elő (Guo és mts., 2009; Hadziabdic és mts., 2012). A Rosaceae családban eredendően az ÖM fenotípus volt jellemző, az öntermékenyülés mindig, valamilyen jól azonosítható mutációs esemény következtében jelent meg. Ezek nagyrészt az *S*-lókuszban vagy azon kívül elhelyezkedő, az önmeddőség kialakulásához nélkülözhetetlen egyéb génekben fordultak elő. Mindeztől 31 funkcióvesztéses *S*-haplotípust írtak le a gyümölcsfák körében (1. táblázat), melyek közül 28 természetes eredetű mutáció következménye. A *Prunus* nemzetségben 26 fordul elő, ebből 62% (16/26) a pollenkomponenst érinti, 31% (8/26) bibekomponens és 7% (2/26) az *S*-lókusztól független génben bekövetkezett mutáció. A *Malinae* fajok esetében 5 öntermékenyülést okozó haplotípust azonosítottak eddig, három a bibekomponens gént, kettő pedig az *S*-lókusztól független géneket érinti. Öntermékenyülést okozó, pollenkomponensben bekövetkezett mutációt mindeztől nem azonosítottak, ami komoly megerősítése a kollaboratív nem-saját felismerési rendszer működésének: az SFB funkcióképtelensége itt ugyanis inkompatibilitást eredményez az érintett allélokot hordozó növényeknél. A tetraploid meggy (*P. cerasus* L.) és kínai zelnice meggy (*P. pseudocerasus* Lindl.) genotípusainál gyakoribb a funkcióvesztéses haplotípusok előfordulása (7 és 3), míg a diploidoknál ritkább (1-4) (Hegedűs és Halász, 2022). A *Prunus* nemzetségben jóval több a pollenkomponenst érintő mutációs esemény, mert egyrészt a pollenszemek sokkal nagyobb mennyiségben keletkeznek, másrészt a pollen genotípusa közvetlenül meghatározza a fenotípust. Ha egyetlen pollenszemben következik be a mutáció, akkor az rögtön ÖT jelleget ad a mutáns allélt hordozó pollenszem számára, amely tulajdonság így azonnal átkerül a következő nemzedékbe, akár ön-, akár idegentermékenyülésben vesz részt. Ugyanakkor az *S-RN-áz* génben bekövetkezett mutáció továbbadása a következő nemzedékbe csak idegentermékenyítéssel lehetséges (Tao és mts., 2007; Hegedűs és mts., 2012).

1. táblázat: A gyümölcsfák esetében előforduló, funkcióvesztést eredményező haplotípusok, amelyek az ÖT fenotípus kialakításában vesznek részt. A csoportosítás alapja a mutáció bekövetkezésének a helye (Hegedűs és Halász, 2022)

Mutáció helye	<i>Prunus</i> nemzetség	<i>Malinae</i> altribus
Bibekomponens (SPM)	<i>P. persica</i> S_2	<i>Pyrus pyrifolia</i> S_{4sm}
	<i>P. dulcis</i> S_f	<i>Pyrus communis</i> S_{21}
	<i>P. pseudocerasus</i> S_{3m} ; S_{4m}	<i>Eryobotrya japonica</i> $S_{6ins-RN-áz}$
	<i>P. cerasus</i> S_{6m} ; S_{6m2} ; S_{13m} ; S_{null}	<i>Malus × domestica</i> S_3
Pollenkomponens (PPM)	<i>P. persica</i> S_1 ; S_2 ; S_3 ; S_4	
	<i>P. mume</i> S_f ; S_3'	
	<i>P. armeniaca</i> S_c ; S_{c2}	
	<i>P. pseudocerasus</i> S_d	
	<i>P. avium</i> S_3 ; S_4 ; S_5	
	<i>P. cerasus</i> S_1' ; S_{13}' ; S_{null}	
	<i>P. salicina</i> S_e	
S-lókusztól független	<i>P. armeniaca</i> <i>ParMDO</i>	<i>Pyrus bretschneideri</i> 'Jin Zhui'
	<i>P. avium</i> <i>MGST</i>	<i>Malus × domestica</i> <i>MdHTI</i>

2.7.1. Cseresznye (*P. avium* L.)

A cseresznye egyike volt az első olyan gyümölcsfajoknak, ahol a nem megfelelő termékenyülés okozta termés kiesés az inkompatibilitási vizsgálatok megkezdését sürgette, így már az 1900-as évek elején intenzíven végeztek szabadföldi keresztezéseket (Crane és Brown, 1938). Mivel minden ismert fajta önmédőnek bizonyult, nagyon korán felmerült az igény egy öntermékenyülő fajta előállítására. Az Egyesült Királyság John Innes Intézetében a mutációs nemesítés módszereit alkalmazva a 'Napoleon' (S_3S_4) fajta virágrügyeit röntgensugárzással kezelték. A kezelt fáról származó pollenszemeket az 'Emperor Francis' (S_3S_4) fajta nagy számú virágának bibefelületére juttatták. Így jött létre két mutáns egyed, a JI2420 és JI2434 jelűek, melyek a vizsgálatok során öntermékenyülőnek bizonyultak. Ezt a két egyedet használták ezután az ÖT cseresznye-fajtaelőállítást célzó nemesítési programokban (pl. 'Stella', 'Lapins', 'Alex') világszerte és hazánkban is (Lewis, 1949; 1954; Lewis és Crowe, 1954; Apostol, 2001). Sok év telt el az előállítást követően, mire fény derült a pontos molekuláris eseményekre, amelyek a fenotípus megváltozását idézték elő. Az S_3' -haplotípusnál egy delécio hatására a teljes *SFB*₃ gén deletálódott (Sonneveld és mts., 2005). Az ismertett GI-modell szerint így a hiányzó *SFB* nem degradálja a GI-komplexet, ezért az S_3 -RN-áz a GI lebontja, vagyis a pollentömlő növekedése akadálytalan. Az S_4' -haplotípusnál a besugárzás hatására keletkezett négy bp-nyi delécio kereteltolódást okozott, ami egy korai stop kodont eredményezve funkcióképtelen fehérjét kódol (Ushijima és mts., 2004; Sonneveld és mts., 2005). Az ionizáló sugár okozta DNS-lánctörést a sejt javító mechanizmusai valószínűleg az ún. nem homológ végek összekapcsolásával (non-homologous end joining, NHEJ) korrigálták, ami az összekapcsolandó végeken előforduló, azonos bázisszekvenciájú négy nukleotidos szakasz egyik kópiájának kivágásához vezetett (Gorbunova és Levy, 1997). A TTAT delécio a HVa régió előtt történt, így a kereteltolódás hatására a felismerésért felelős HVa hipervariábilis régió szekvenciája is megváltozott, a HVb pedig hiányzik egy korai stop kodon miatt.

Később egy természetes eredetű mutációt is találtak: egy szicíliai tájfajta, a 'Kronio' vizsgálata során derült ki, hogy az *SFB*₅-allél korai stop kodont tartalmaz egy egybázisos szubsztitúció miatt, aminek következtében az SFB fehérje HVa régiójának részlete és a HVb egésze hiányzik a fehérjéből (Marchese és mts., 2007). A 'Cristobalina' szintén egy ÖT fajta, viszont a fenotípus megváltozását egy *S*-lókuszon kívüli, a 3-as kromoszómán elhelyezkedő gén okozza (Cachi és Wunsch, 2011). Ono és mts. (2018; 2020) 18 fajta és két szegregáló populáció 43 egyedének genomszekvenciáját határozták meg, amely alapján

az *MGST* gén promóterrégiójában találtak egy transzpozon-szerű inszerciót, ami jelentősen csökkenti a gén kifejeződésének mértékét. Más eltérést nem találtak, ezért arra következtettek, hogy ez okozza az öntermékenyülést. Ez a természetes eredetű mutáció adta a lehetőséget az első olyan térképező populáció létrehozására, ami cseresznye esetében öntermékenyülésből származik. Korábban csak interspecifikus vagy két ÖM fajta keresztezéséből létrejött utódpopulációt használtak kapcsoltsági térképek készítésére (Calle és mts., 2018).

2.7.2. Mandula [*P. dulcis* (Mill.) D.A.Webb]

A mandulában megfigyelt ÖT képességet okozó allélt S_f -ként jelölik a „fertility” kifejezésre utalva. Az elsőként azonosított ÖT genotípusok Olaszország apúliai régiójából származnak. Az első hipotézis szerint az apúliai régióból szelekcióval kiemelt fajták öntermékenyülési képessége az ÖT *P. webbii* fajból introgresszió útján került át. Később azonban valószínűbbnek ítélték, hogy az S_f -allél a *P. dulcis* fajon belül alakult ki, és innen jutott át introgresszióval a *P. webbii* fajba, mert az S_f működőképes, vad típusú allélját csak a *P. dulcis*-ban találták meg (Bošković és mts., 2007). Mindkét feltevés alapja, hogy a termesztett mandula és az apúliai régióban vadon élő *P. webbii* egyedek egymással kereszteződhetnek (Kodad és mts., 2009). Bošković és mts. (1999) nem-egyensúlyi izoelektromos fókuszálás (NEpHGE) során az S_f -ribonukleáz allél esetében nem detektáltak enzimaktivitást. Később Fernández i Martí és mts. (2014) az *S_f-RN-áz*tól 5' upstream irányba 4700 bp távolságban több citozin metilezettségi mintázatában találtak eltérést, ami okozhatja az S_f inaktivitását. Transzkriptomikai vizsgálat során kiderült, hogy az *S-RN-áz* kifejeződése nagyon kismértékű. Más kutatók szerint néhány transzkripciófaktor aktivátorként hat az *S-RN-áz* expressziójára, és elképzelhető, hogy ezek egyikének inaktivációja vagy teljes hiánya okozhatja a csökkent mértékű expressziót (Gómez és mts., 2019a; 2022).

2.7.3. Japánkajszi (*P. mume* Sieb. et Zucc.)

Az ÖT fenotípust előidéző allél jelölése itt is S_f . Kiderült, hogy az *SFB_f* kódoló régiójába ékelődött egy nem-autonóm retrotranszpozon, ami a funkcióképtelenséget eredményezi (Ushijima és mts., 2004). A 6,8 kbp méretű inszercióban található korai stop kodon miatt a transzkriptum már nem tartalmazza a HVa és HVb régiókat. Szinte ugyanez az inszerció egy másik haplotípusban, az *SFB₃'*-allélban is megtalálható (Yamane és mts., 2009). Az LTR-régió szekvenciája teljesen azonos mindkét allél esetében, ami arra utal, hogy ez a mutációs esemény evolúciós időben mérve nem olyan régen történt és egy ma is aktív retrotranszpozon okozta. Az *SFB_f* előfordulása sokkal gyakoribb, szinte az összes ÖT fajtában ez a haplotípus van jelen, míg az *SFB₃'*-t eddig mindössze négy fajtában mutatták ki. Ennek az az oka, hogy az eredeti S_3 -allél is csak egy fajtában található meg; valószínűleg olyan tulajdonságokkal kapcsolt, melyek nemesítési szempontból kevésbé kívánatosak, így ezzel a génforrással nem dolgoztak a nemesítői műhelyek (Yamane és Tao, 2019).

2.7.4. Japánszilva (*P. salicina* Lindl.)

Az ÖT fenotípus kialakítását az S_e -allél idézi elő, melynek a számmal jelölt allélsorban S_5 a szinonim elnevezése (Halász és mts., 2007a). Az *S-RN-áz* expressziójában nem találtak eltérést, így valószínűleg az *SFB_e*-allélban alakult ki funkcióvesztéses mutáció (Beppu és mts., 2005). Ugyanakkor Guerra és mts. (2020) több olyan fajtát találtak, melyek hordozzák az S_e -allélt, de önmeddőnek bizonyultak a mikroszkópos pollentömlő monitorozási vizsgálatok során. Az *S*-genotipizálást csak az *S-RN-áz* génre tervezett primerekkel végezték el, így elképzelhető, hogy az eredeti S_e -haplotípus is megtalálható mind a mai napig, illetve a funkcióvesztéses is, ami ezek szerint továbbra is arra utal, hogy

a változás az *SFB*-génben következett be. Ennek megfelelően a molekuláris esemény meghatározása után egy új marker kidolgozására lesz szükség, amely az eredeti és a funkcióképtelen allél kimutatására is alkalmas.

2.7.5. Őszibarack (*P. persica* L. Batsch.)

A *Prunus* nemzetségben egyedülálló módon az őszibarack az egyetlen faj, amelynek minden fajtája öntermékenyülő. Ennek az az oka, hogy a termékenyülési fenotípus megváltozása valószínűleg még a termesztésbe vonás előtt történt meg. A kínai géncentrum nedvesebb területein, ha a megporzó rovarok aktivitása csökkent vagy teljesen hiányzott, akkor az öntermékenyülési képesség előnyt jelentett. Ezt az előnyt ellensúlyozza a beltenyésztéses leromlás. Az öntermékenyülésre ható gyenge szelekciós nyomás mellett ÖT és ÖM genotípusok is élhettek egymás mellett, ami elég időt adhatott a káros hatású allélok kiszorulására. Emiatt, bár a faj genomjára jelentős mértékű homozigotáság jellemző, a beltenyésztéses leromlás nem jelentkezik (Tao és mts., 2007).

Az *SFB*₁ az *S*_k mandula allél funkcióképtelen változata, egy 155 bp hosszú inszerció miatt veszítette el működőképességét (Tao és mts., 2007). Az *SFB*₂ a japánszilva *S*_a-alléljának változata, mely egy 5 bp-os inszerció miatt funkcióképtelen. Az *SFB*₃ egy korai stop kodont tartalmaz 975 bp-ra downstream irányban a start kodontól, míg az *SFB*₄ egy 4946 bp méretű inszerció miatt működésképtelen. Az *S*_{2m}-RN-áz C5 régiójában cisztein helyett tirozin AS található, ami a ribonukleáz stabilitását befolyásolja (Hanada és mts., 2014; Abdallah és mts., 2020).

2.7.6. Meggy (*P. cerasus* L.)

A tetraploid meggy esetében több funkcióvesztéses mutáció is ismert. A 12 haplotípusból 9 esetében találtak valamilyen mutációt, ahol az allélnév szerint a pollen oldali mutánsokat a szám utáni aposztróf karakterrel ('), a bibe oldaliakat pedig (m) szimbólummal jelöljük. A nagyobb számú funkcióképtelen allélok előfordulásának oka a poliploid genom, mert ebben az esetben egyetlen haplotípus mutációja még nem változtatja meg a fenotípust, vagyis a funkcióképtelen allélok így szelekciós nyomás nélkül felhalmozódhatnak (Hegedűs és mts. 2012; Dondini és mts., 2018).

A PPM (pollen part mutant) *S*₁'-allélt az 'Újfehértói fürtös' fajtában azonosították, egy 615 bp méretű inszerciót és egy korai stop kodont tartalmaz a kódoló régióban (Hauck és mts. 2006a). Az SPM (stylar-part mutant) *S*_{6m}-allélt az 'Érdi bőtermő' meggyfajtában fedezték fel: egy 2715 bp méretű inszerciót tartalmaz upstream irányban az *S*-RN-áz gén kódoló részétől, a 797 bp pozíciónál (Yamane és mts., 2003a). A funkcióképes *S*₆-RN-áz másik mutáns változata a szintén SPM *S*_{6m2}-haplotípus, amely 1 bp deléciókat tartalmaz a C2 konzervatív régióban (Tsukamoto és mts. 2008a). Egy másik SPM az *S*_{13m}-haplotípus ('Montmorency'), ami a vad típusú *S*₁₃-hoz képest 23 bp deléciókat tartalmaz a C3 és RC4 régiók között (Tsukamoto és mts., 2006). Az *S*₁₃-RN-áz másik funkcióvesztéses formája a PPM *S*₁₃'-haplotípus ('Rheinische Schattenmorelle'), a kódoló régió belül 1 bp szubsztitúciókat és egy korai stop kodont hordoz (Tsukamoto és mts., 2006). Az *S*₃₆-haplotípus két különböző változata az *S*_{36a} ('Rheinische Schattenmorelle') és az *S*_{36b} ('Újfehértói fürtös') (Tsukamoto és mts., 2010), köztük a különbség az *S*-RN-áz gén második intronrégiójában található egynukleotidos eltérés. Az *SFB*_{36a} és *SFB*_{36b} gén között mindössze 8 nukleotidos eltérés van. Összevetve az ÖT-t okozó *S*_{36a}- és *S*_{36b}-RN-áz-okat más ismert cseresznye *S*-RN-áz-okkal, nem található olyan molekuláris változás, amely akadályozná az *S*-RN-áz aktivitást. Ugyanakkor az *SFB*_{36a} és *SFB*_{36b} aminosav-szekvenciák összehasonlítása alapján az összes *Prunus* fajban eddig igazolt tirozin helyett fenilalanin található az *SFB* fehérje 188. pozíciójában. Ez az aminosav kulcsfontosságú lehet a saját/idegen felismerés szempontjából (Tsukamoto és mts., 2010). Később még további két funkcióvesztéses allélt azonosítottak szintén ezen haplotípusból: a C2 konzervatív régióban

egy 1 bp-os szubsztitúciót és egy korai stop kodont tartalmazó S_{36b2} variánst, valamint az S_{36b3} -haplotípust, ami az S_{36b} -nél előforduló *HindIII* hasítóhely rövidebb szakaszát tartalmazza. Fontos kiemelni, hogy mind a négy funkcióképtelen S_{36} variánsban található egy nem autonóm *Helitron* elem az *SFB* stop kodonjától 38 bp távolságra downstream irányban. Mindezidáig nem tisztázott, hogy a pontos funkcióvesztésért az *SFB* 188. pozíciójában bekövetkező aminosavcsere vagy esetleg valamilyen formában a *Helitron* elem-e a felelős (Tsukamoto és mts., 2010).

2.7.7. Kajszi (*P. armeniaca* L.)

A fajták négy ökoföldrajzi csoportba sorolhatók, melyek közül három csoport tagjai főként ÖM fenotípusúak, ilyenek az ázsiai, a kaukázusi és a dzsungár-altáji genotípusok (Kosztina, 1970). A termesztési szempontból legfiatalabbnak számító európai csoportba sorolt fajták többsége ÖT (Nyujtó és mts., 1985; Burgos és mts., 1993; Nyéki és Szabó, 1995). Burgos és mts. (1998) bibeszövetből izolált *S*-RN-áz izoenzimek vizsgálata alapján azonosították az ÖT jelleggel összefüggésbe hozható allélt, melyet a „compatibility” kifejezés alapján S_C -ként jelöltek. Az allél domináns, a heterozigóta fajták is ÖT fenotípusúak, ami megfelel a GSI diploid molekuláris működési modelljének (Burgos és Pérez-Tornero, 1999; Albuquerque és mts., 2002). Vilanova és mts. (2006) a ‘Currot’ homozigóta ($S_C S_C$) fajtából izolálva meghatározták az S_C -RN-áz és az *SFB_C*-szekvenciákat. A bibekomponensben nem találtak eltérést, de az *SFB_C*-allél egy 358 bp hosszúságú inszerciót tartalmazott. Az inszercióban azonosított stop kodon hatására a képződő fehérjéből legalább 75 AS hiányzik, így feltételezték, hogy ez a pollenkomponensben bekövetkezett mutáció okozza az öntermékenyülést.

PhD munkám során 2003-tól foglalkoztam kajszifajták termékenyülési viszonyainak jellemzésével. Tizenhárom új allél azonosítása során találtuk meg az S_8 -allélt, ami alapos vizsgálatot igényelt, mert az S_C - (‘Pannónia’) és S_8 -RN-áz (‘Ceglédi óriás’) izoenzimeket egyetlen NEpHGE-protokoll alkalmazásával sem lehetett szétválasztani, mindkettő izoelektromos pontja 9,22 volt. Továbbá a két allél intronrégió-méretei, valamint az első intron szekvenciája és a cDNS-szekvencia a szignálpeptidtól a C5 régióig megegyezett. Minden eredményünk arra utalt, hogy az S_8 -haplotípus F-box génjében (*SFB₈*) bekövetkezett mutáció miatt jött létre az *SFB_C*-nek nevezett allél. Ennek további elemzésére és a feltételezett mutáció funkcionális bizonyítására irányított szabadföldi keresztezést végeztünk. Két olyan genotípust választottunk, amely erre tökéletes alapot adott, mert az ÖT ‘Ceglédi arany’ ($S_C S_9$) egy közös inkompatibilitási allélt (S_9) hordoz az ÖM ‘Ceglédi óriás’ ($S_8 S_9$) fajtával. A ‘Ceglédi arany’ anyapartnerként a ‘Ceglédi óriás’ pollenjével történő megporzását követően nem volt gyümölcskötődés, és mikroszkópos vizsgálattal is az inkompatibilitási kapcsolat tipikus jegyeit tapasztaltuk. Ellenben a reciprok keresztezés 40%-os gyümölcskötődést eredményezett. A közös S_9 -allél miatt csak az S_C -allélt hordozó pollenszemek okozhattak termékenyülést. Ez azt jelenti, hogy a pollenadó S_8 -allélja az S_C eredeti változatának felel meg, funkcióképes F-box fehérjét expresszál, ami az ÖT anyapartner S_C -RN-áz enzimjét sajátként ismeri fel. Mindezen adatok alapján egyértelműen igazoltuk, hogy az ÖT fenotípust okozó S_C -haplotípus az S_8 -haplotípus *SFB* génjében bekövetkezett mutáció hatására alakult ki, vagyis $S_C=S_8$, amit az *SFB₈*-allélszekvencia meghatározásával is igazoltunk (Halász és mts., 2007b; Halász, 2007a).

2.8. Az *S*-lókusz evolúciós története

A ribonukleázok számos élettani folyamatban vesznek részt az RNS-metabolizmustól kezdve a DNS-replikáción, génszabályozáson át a mikroorganizmusok elleni védelemig széleskörű működési spektrummal (MacIntosh és mts., 2010), emiatt ún. szupercsaládot alkotnak. Funkciójuk alapján az egyszálú RNS-t (ssRNS) hasító transzferáz típusú, oligo- vagy mononukleotidokat eredményező ribonukleázok három alcsaládba

sorolhatók (Luhtala és Parker, 2010): RN-áz A, RN-áz T₁ és RN-áz T₂. Az RN-áz A pirimidin-specifikus enzim, működési optimuma a lúgos tartományba esik (pH 7-8), a gerincesek körében nagyon nagy számban fordul elő. A csoport nevét a legismertebb és legtöbbet tanulmányozott szarvasmarha hasnyálmirigy ribonukleázról kapta. Az RN-áz T₁ alcsalád szintén lúgos, optimális pH tartománya 7-8, guanilsav-specifikus (guanozin-monofoszfát), gombákban és baktériumokban fordul elő. A T₂ csoportba tartozó enzimek savas közegben működnek, 4-5 pH tartományban, adenilsav-specifikusak (adenozin-monofoszfát), szinte minden élőlényben előfordulnak: állatokban, növényekben, gombákban, vírusokban és baktériumokban is. Endonukleázok, az általuk katalizált reakció végeredményeként nukleozid-3'-foszfátok keletkeznek 2',3'-ciklikus foszfát és 3'-foszfoligonukleotid közttermékekkel (Irie, 1999; Hillwig és mts., 2011). A T₂ alcsalád három osztályra bontható: az I. osztályba szövetspecifikus és funkcionálisan széleskörű hatással bíró enzimek, a II. osztályba a biotikus és abiotikus stresszválaszban résztvevő enzimek tartoznak, a zárwatermőkben fordulnak elő, míg a III. osztályban a termékenyülési folyamatokban főszerepet játszó S-ribonukleázok találhatóak, melyeket eddig csak kétszikűekben azonosítottak (Ramanauskas és Igić, 2017).

S-RN-áz alapú GSI rendszer működik öt növény családban: *Solanaceae*, *Plantaginaceae*, *Rosaceae*, *Rutaceae*, *Rubiaceae* és *Cactaceae* (Franklin-Tong és Franklin, 2003; McClure és Franklin-Tong, 2006; Ramanauskas és Igić, 2021; Vieira és mts., 2021; Zhao és mts., 2022). Filogenetikai vizsgálatok arra utalnak, hogy ez a molekuláris alapú GSI rendszer közös evolúciós eredetű, amely kb. 120 millió évvel ezelőtt alakult ki (Igić és Kohn, 2001; Steinbachs és Holsinger, 2002; Vieira és mts., 2007; Nowak és mts., 2011). A bibe- és pollenkomponens gének koevolúciós mintázatot mutatnak, hiszen ennek hiányában az inkompatibilitási jelleg elveszne (Kubo és mts., 2010). Az elmúlt években számos faj teljes genom szekvenciája vált ismertté, ami lehetőséget adott az S-lókuszt evolúciós történetének vizsgálatára. Lv és mts. (2022) nemrég 81 növényi genom elemzését végezték el filogenetikai szempontból a T₂-RN-ázokra fókuszálva. Összesen 785 T₂-RN-áz gént találtak, a fejletlenebb növényekben kisebb számban (algák, mohák és páfrányok), míg a kétszikűekben génduplikációs események miatt jóval nagyobb számban. Az előfordulásuk alapján a III. osztályba tartozó S-ribonukleázok a legújabb eredetűek, „legfiatalabbak” a T₂ alcsaládban, és nagy valószínűséggel az I/II. osztályba tartozó génekből származnak. A teljes genom vagy adott kromoszómaregiók duplikációjának hatására megtörtént az S-lókuszt duplikációja is, ami az ÖM mechanizmus elvesztését jelenthette egy rövid időre, ami aztán az egyik lókuszt inaktivációjával vagy deléciójával visszaállt pl. a *Plantaginaceae* családban (Zhao és mts., 2022). Makro- és mikroszintén vizsgálatok alapján az S-RN-ázok korábban jelentek meg, mint hogy a ma ismert *Rosaceae* fajok kialakultak volna. Ennek következménye, hogy az egyes fajok közötti interspecifikus szekvenciahasonlóság nagyobb mértékű, mint a fajokon belüli (a különböző allélok közötti) intraspecifikus hasonlóság, ami az ún. transzspecifikus evolúció jelenségét mutatja (Richman és Kohn, 1996).

A *Rosoideae* és *Amygdaleae* fajok S-lókusztait jelentős mértékű szinténia jellemzi, míg a *Malinae* fajokban több változás történt. A körte- és almafajok ősi *F-box* génje („ancestral *F-box*”) nagyon hasonló az ősi *Rosoideae* és *Amygdaleae* *F-box* génhez, amely az S-RN-áz génnel szoros kapcsoltságban áll. A *Malinae* fajokban jóval nagyobb számban fordulnak elő az *SLF* gének, mint a *Rosoideae* és *Amygdaleae* fajokban, vagyis több duplikációs esemény érintette ezen géneket, ami a felismerési rendszerben alapvető különbséget eredményezett (Lv és mts., 2022). A növényi *F-box* gének evolúciójával foglalkozó tanulmányok arra utalnak, hogy a nagyon gyakori génduplikációs eseményeket viszonylag gyors diverzifikáció követte (Gagne és mts., 2002; Yang és mts., 2008, Morimoto és mts., 2015; Akagi és mts., 2016). Ez az evolúciós mintázat fontos szerepet játszott az *F-box* gének szuperfamilájában az eltérő funkciók kialakulásakor (Xu és mts., 2009). A duplikált gének sorsa a következő evolúciós modellek alapján alakulhat tovább: pszeudogenizáció (funkcióvesztés) (Moore és Purugganan, 2005), szub-funkcionalizáció

(az eredeti funkció felosztása a duplikált gének között) (Cusack és Wolfe, 2007) és neofunkcionalizáció (új funkció kialakulása) (Blanc és Wolfe, 2004).

Tekintve, hogy a *Rosaceae* növény családon belül előfordul mind nem-saját (*Malinae*), mind saját felismerési rendszer (*Amygdaleae*), számos hipotézis keletkezett arra vonatkozóan, melyik alakult ki korábban. A közelmúltban arról számoltak be, hogy a *Rosa* *S*-lókuszában több *F-box* gén található, ami arra utalt, hogy ezek a fajok az almatermésűekhez hasonlóan szintén nem-saját felismerési SI rendszerrel rendelkeznek (Vieira és mts., 2021). Fél év elteltével Du és mts. (2021) tisztázták, hogy szintén a *Rosoideae* alcsaládba tartozó *Fragaria* esetén *S*-RN-ázoknak gondolt gének valójában olyan T₂-RN-ázokat kódolnak, amelyek az önmeddőség kialakításában nem játszanak szerepet, így a közelükben található *F-box* génklaszter sem az *S*-lókusz része. Mindezek alapján jelenleg mégis az látszik a legvalószínűbbnek, hogy az ősi *Rosaceae* SI rendszer saját felismerési típusú volt és a *Malus/Pyrus/Sorbus* fajokra jellemző nem-saját felismerési rendszer később jött létre, „*de novo*” jelent meg. Ezt az a tény is alátámasztja, hogy a *Fragaria* és *Rosa* *S*-RN-ázok nagyon hasonlóak a *Prunus* *S*-RN-áz génekhez (Aguiar és mts., 2015; Vieira és mts., 2021).

2.9. Az *S*-genotípus meghatározásának módszerei

Alapvetően négyféle módszer áll rendelkezésre az *S*-genotípus meghatározásához, melyek közül kettő a klasszikus, fenotípusos vizsgálatok, kettő pedig a molekuláris, közvetlenül a genotípus azonosítására alkalmas eljárások közé tartozik. Az *S*-lókusból származó, sok szekvenciának köszönhetően ma már túlnyomórészt a PCR-alapú ILP módszert és a DNS-szekvenciák elemzését használják világszerte, de a fenotípus megerősítéséhez a pollentömlő-növekedés mikroszkópos vizsgálatát, illetve a szabadföldi keresztezéseket is gyakran alkalmazzák még napjainkban is (Ortega és Dicenta, 2004; Halász és Hegedűs, 2006).

2.9.1. Szabadföldi irányított megporzás és a gyümölcskötődési arány vizsgálata

A molekuláris alapok ismerete nélkül hosszú időn keresztül a szabadföldi vizsgálat volt az egyetlen lehetőség a termékenyülési rendszerek jellemzésére. Bár a módszer egyszerűen kivitelezhető, számos hátránya van. Az öntermékenyülési képesség igazolására, illetve a különböző fajtakombinációk kompatibilitási vizsgálatára is alkalmas. A pollenszemek begyűjtését követően a hímnős virágok kasztrálása után irányított módon, kézzel történik a megporzás. Kb. 8–10 hét elteltével a gyümölcskötődési arány már kiszámolható (Nyujtó és mts., 1985; Guerriero és Bartolini, 1995). A módszer olcsó, nem túl időigényes, bár a közvetlen eredményre két hónapot kell várni. Ha nemcsak a termékenyülési fenotípust szeretnénk megállapítani, hanem az *S*-genotípust is meg akarjuk határozni, akkor az a gyümölcsfák esetében hosszú éveket vesz igénybe. Számos kombinációban kell a tesztkeresztezéseket elvégezni, ráadásul a pontos genotípus meghatározásához az utódok egyik szülővel történő visszakeresztezésére, illetve az utódok egymás közötti keresztezésére is szükség van (2. táblázat), ami a termőre fordulás idejét figyelembe véve akár 8 év is lehet. A csonthéjas fajokra nem jellemző a partenokarpia, de az almatermésűeknél gyakori jelenség, így a termések magvainak megszámlálásával mindig ellenőrizni kell, hogy ténylegesen történt-e termékenyülés (Burgos és mts., 1993; Nyéki, 1996; Halász és Hegedűs, 2006). Nagy nehézséget jelent a környezeti tényezők befolyásoló hatása, mert mind a hőmérséklet (főleg az alacsony), mind a csapadék torzíthatja, vagy akár tönkre is teheti (pl. tavaszi fagykár) a vizsgálatok eredményét. A hatékony megporzási időszak (EPP: effective pollination period) pontos meghatározása is kritikus része a munkafolyamatnak (Sanzol és Herrero, 2001; Ortega és mts., 2004; 2007; Fotiric Aksic és mts., 2022).

2. táblázat: Az $S_1S_2 \times S_3S_4$ keresztezés eredménye négyféle utód 1:1:1:1 arányban. Az utódok egymás közötti keresztezéséből származó genotípusok aránya

σ \ φ	S_1S_3	S_1S_4	S_2S_3	S_2S_4
S_1S_3	inkompatibilis 0%	szemi-kompatibilis 50 %	szemi-kompatibilis 50 %	kompatibilis 100 %
S_1S_4	szemi-kompatibilis 50 %	inkompatibilis 0%	kompatibilis 100 %	szemi-kompatibilis 50 %
S_2S_3	szemi-kompatibilis 50 %	kompatibilis 100 %	inkompatibilis 0%	szemi-kompatibilis 50 %
S_2S_4	kompatibilis 100 %	szemi-kompatibilis 50 %	szemi-kompatibilis 50 %	inkompatibilis 0%

Crane és Lawrence 1929-ben publikálták, hogy 19 cseresznyefajtát irányított keresztezésekkel soroltak be 5 inkompatibilitási csoportba (CIG). Később Matthews és Dow (1969) kiegészítették az elérhető összes információval, így már 140 fajta *S*-genotípusa volt ismert 10 inkompatibilitási csoportból. Mandulánál 1922-ben indultak el a szabadföldi vizsgálatok és először kettő, majd még további két csoport vált ismertté (Tufts és Philip, 1922; Kester és mts., 1994). Az első kajszi inkompatibilitási csoportot 1996-ban határozták meg (Egea és Burgos, 1996). Magyarországon Nyéki és Szabó 1968 és 1991 között hat *Prunus* faj 93 fajtájával, összesen 340 kombinációban végeztek szabadföldi termékenyülési vizsgálatot (Nyéki és Szabó, 1996).

2.9.2. Mikroszkópos pollentömlő-növekedési vizsgálatok

A szabadföldi vizsgálatok környezeti tényezők általi befolyásoltságát kiküszöböli a pollentömlő (PT) növekedésének mikroszkópos monitorozása. A vizsgálandó kombinációk keresztezése laboratóriumban hajtatott virágokon elvégezhető. A kézi megporzást követően 48 óra múlva a bibék begyűjthetők és festés után a PT láthatóvá tehető UV-fluoreszcens mikroszkóppal. A teljes vizsgálat laboratóriumban végezhető, így semmiféle környezeti hatás nem gátolja a munkát, továbbá nem kell 8 hetet várni az eredményre. Hátránya, hogy ugyancsak termőkorú fák esetében végezhető el, illetve technikai felszereltség és tapasztalat szükséges a pontos kivitelezéshez (Halász és Hegedűs, 2006).

A PT egyetlen speciális sejt, amelynek a gyors növekedés során kimerülő részeit kallózlefüződés választja el, ennek következtében a sejtorganellumok a növekvő csúcsi részbe koncentrálnak (Franklin-Tong és Franklin, 2003). Martin (1959) dolgozta ki azt a festési eljárást, aminek az alapjait ma is használják. A kallóz anilinkékkel megfesthető, így a teljes PT létrafok-szerű megjelenése UV-fluoreszcens mikroszkóppal követhető. A begyűjtött bibék fixáló oldata formalin: 80% alkohol: ecetsav 1:8:1 arányú elegye. A módszert a csonthéjas fajok közül elsőként mandulánál használták (Socias i Company, 1976; Ben-Nijima és Socias i Company, 1995; Ortega és mts., 2002; López és mts., 2004). Később több faj esetében is hatékonynak bizonyult: cseresznyénél (Cachi és mts., 2014; Radičević és mts., 2016), meggyénél (Lansari és Iezzoni, 1990; Cerović és Ružić, 1992; Yamane és mts., 2003a), kajszinál (Austin és mts., 1998; Halász és mts., 2007b; Herrera és mts., 2018), valamint diploid és hexaploid szilváknál (Sutherland és mts., 2008; Abdallah és mts., 2019; Cerović és mts., 2021).

2.9.3. Fehérje-alapú módszer

Amint azonosították a GSI rendszer bibekomponens fehérjemolekuláját, lehetővé vált izoelektromos fókuszálással és specifikus festéssel az egyes *S*-RN-áz izoenzimek kimutatása, így a közvetlen *S*-genotipizálás is. A módszer nagy előnye az alléltermékek azonosítása, amelyhez nem kell többféle keresztezési kombináció. Hátránya, hogy ugyancsak termőkorú fák esetében végezhető el, mert csak a bibeszövetből izolálhatók az

S-RN-ázok. Így mintagyűjtésre évente egy alkalommal, virágzáskor van lehetőség. A megbízható eredmény érdekében kontrollfajták használata is szükséges lehet (Halász és Hegedűs, 2006; Yamane és Tao, 2009). Az *S*-RN-áz fehérjék között jelentősebb méretbeli eltérés nincs, viszont az allélspecificitás miatt az aminosav-összetételben különbségek mutatkoznak, amelyek izoelektromos-fókuszálással történő elválasztást követően detektálhatók. Az *S*-RN-ázok izoelektromos pontja a lúgos tartományba esik (Sassa és mts., 1992). Később a legtöbb esetben ún. nem egyensúlyi izoelektromos fókuszálást végeztek (NEpHGE: *non*-equilibrium pH gradient electrophoresis), ami szintén a katód irányába történő futtatást jelent, de a fehérjék nem érik el az izoelektromos pontjukat (Lopez, 1999). Az alábbi csonthéjas fajoknál sikeresen végezték el az *S*-genotípusok meghatározását ezzel a módszerrel: kajszi (Burgos és mts., 1998; Halász és mts., 2005), mandula (Certal és mts., 2002; Bošković és mts., 2003; Kamali és mts., 2010), őszibarack (Hegedűs és mts., 2006), meggy (Yamane és mts., 2001; Tobutt és mts., 2004) és cseresznye (Yamane és mts., 2001).

2.9.4. A DNS-alapú módszerek

A legelterjedtebb és legtöbb előnnyel rendelkező módszer az *S*-genotípus meghatározására a PCR-markerek használata. Fő előnye, hogy DNS-alapú, így bármilyen növényi szövetből elvégezhető, még a juvenilis korú fák vagy akár a csíranövények esetében is. A módszert a környezeti tényezők sem befolyásolják, az eredmények nagyon gyorsan kiértékelhetők és a nemzetközi adatbázisok használatával nincs szükség kontrollfajtákra. Új *S*-allélok azonosítását is lehetővé teszi (Muñoz-Sanz és mts., 2020). Általában az *S*-RN-áz gén vizsgálatán alapul, de sok esetben az *SFB* gén markerezésére is szükség van. Fajonként eltérő, hogy hány PCR-vizsgálat alapján állapítható meg a pontos genotípus, mert attól függ az eredmény, hogy a funkcióvesztéses mutációk milyen módszerrel detektálhatók. Alapvetően kétféle úton zajlik a markerezés: a gének konzervált régióira, illetve a specificitásért felelős régiókra tervezett primerek használatával. Előbbi esetben ún. konszenzus (degenerált), utóbbi esetben allélspecifikus primerekkel dolgozunk. A konszenzus primerek egyszerre több allél kimutatására alkalmasak kodomináns módon, míg az allélspecifikusokkal csak egyetlen allél jelenléte bizonyítható (Halász és mts., 2006; Herrera és mts., 2020).

A *Prunus S*-RN-áz gén két intront tartalmaz, melyek mérete allélspecifikus módon változik (Tamura és mts., 2000; Sonneveld és mts., 2001; Wunsch és Hormaza, 2004). Ez a méretbeli variabilitás lehetővé teszi az ún. ILP (Intron Length Polymorphism: intronhossz-polimorfizmus) markerezési technikát. A jelenség nem egyedi, más géneknél is előfordul, ahol szintén az intronokat határoló konzervatív exonszekvenciákra tervezett primerekkel a méretbeli különbségek alapján eltérő PCR-mintázat nyerhető, pl. a *β -tubulin* gén (Braglia és mts., 2010), különböző transzportfehérjéket kódoló gének (Gupta és mts., 2012), a *mac-1* aktin gén (Daguin és mts., 2001), a lignin bioszintézis *CH4* (fahéjsav-4-hidroxiláz) génje (Triest és mts., 2009), a *diketid-CoA-szintáz* gén (Liu és mts., 2022) vagy a *CHD1* (Chromosom-Helikáz DNS-kötő fehérjét kódoló) gén (Krocak és mts., 2022). A PIP adatbázisban (potential intron polymorphism) 59 növényfaj genomjáról érhető el adat olyan gének tekintetében, melyek lehetséges intronhossz-polimorfizmust mutatnak (Yang és mts., 2007).

A *Prunus S*-RN-áz gén második intronja szinte minden esetben nagyobb méretű, mint az első, és a méretbeli különbségek agaróz gélelektroforézissel kimutathatók (Sonneveld és mts., 2006). Tao és mts. (1999) terveztek elsőként *Prunus*-specifikus konszenzus primereket cseresznye cDNS-szekvenciák alapján. A Pru-T2, Pru-C2 és Pru-C4R primereket azóta is gyakran használják, esetenként más primerekkel kombinálva: japánszilvánál (Jun és mts., 2007), kajszinál (Donoso és mts., 2009; Herrera és mts., 2018a;b), japánkajszinál (Tao és mts., 2000), európai szilvánál (Kota-Dombrowska és Laci, 2013), cseresznyénél (Yamane és mts., 2000; Erdem és mts., 2021) és mandulánál (Sharafi és mts., 2009). Később Sonneveld és mts. (2003) cseresznyefajtákra terveztek az 1.

(PaConsI) és a 2. intronrégió (PaConsII) C2-C5 közötti szakaszának amplifikálására alkalmas primerpárokat. Hatékonyságukat mutatja, hogy más fajoknál is jól alkalmazhatók voltak, pl. mandulánál (Rahemi és mts., 2010), európai szilvánál (Halász és mts., 2014b) és kajszinál (Yilmaz és mts., 2016). Egy évvel később Sutherland és mts. (2004) az elérhető összes *Prunus* szekvencia alapján megtervezték az EM jelű primerkészletet (EM: az „East Malling” Kutatóintézet után) az *S-RN-áz* C2, C3 és C5 régióira. Mind a mai napig a leggyakrabban használt primerekké váltak, mert a legtöbb allél egyidejű kimutatására alkalmasak a csonthéjas fajok között (Ruiz és mts., 2018; Boubakri és mts., 2021; Kivistik és mts., 2022).

Az első intron méretét kisebb eltérések jellemzik allélonként (néhány bp is lehet), amely agaróz gélelektroforézissel nem mutatható ki. Az SSR-markerezésnél használt módon azonban a forward primer fluoreszcens jelölésével a pontos fragmentumméret automata szekvenátorral meghatározható. Az egyes méretek hozzárendelhetők egy-egy allélhoz, amely tovább pontosítja az *S*-genotipizálást. Ennek megfelelően mindkét intronrégió vizsgálata szükséges az *S*-allél meghatározásához (Ortega és mts., 2005; Sonneveld és mts., 2006; Herrera és mts., 2018b; Abdallah és mts., 2019). Amennyiben az ismert alléloktól eltérő méret mutatkozik, akkor valószínűleg egy addig nem azonosított allél van jelen, melynek megerősítéséhez szekvenálásra van szükség. A cseresznye *SFB* intronméretek összehasonlításával kiderült, hogy ezekre szintén jellemző a méretpolimorfizmus, így a Vaughan és mts. (2006) által tervezett primereket újabb genotipizálási lehetőségként közölték. Javaslatuk szerint az *S-RN-áz* 1. intronnal együtt, multiplex PCR alkalmazásával nagy egyedszámú populáció gyors szelektálására is hatékonyan használható.

A konszenzus primerek nagy előnye, hogy egyszerre több allél kimutatására alkalmasak, ráadásul a *Prunus* nemzetségben minden faj esetében jól használhatók megfelelő PCR-optimalizációt követően. Ugyanakkor előfordulhat egyes heterozigóta genotípusoknál az ún. preferenciális vagy szelektív amplifikáció, ami miatt diploidoknál kettő helyett egy, poliploidoknál pedig a ploidszintnél kevesebb számú allél jelenik meg. Ennek oka lehet a primerek illeszkedésének eltérő mértéke, ami ha nagyon más a különböző allélok között, csak az egyik amplifikálódik (Walsh és mts., 1992; Brace és mts., 1993). Problémát okozhat az is, ha az intronméret kifejezetten nagy (több ezer bp), mert akkor a hagyományos PCR körülmények nem megfelelők. Ez esetben ún. „long PCR” protokollra van szükség, illetve olyan polimerázra, amely nagyobb fragmentumok amplifikálására is alkalmas (Sonneveld és mts., 2003; Vilanova és mts., 2005). Előfordulhat az is, hogy PCR-melléktermékek keletkeznek egyes allélok esetében. Ennek oka lehet a DNS másodlagos szerkezete, ami elősegítheti a polimeráz „ugrálását” (jumping) a PCR során, illetve több intronban találtak mikroszatellit régiókat, repetitív szekvenciákat, ami szintén okozhat extra amplikonokat (Romero és mts., 2004). Ezen problémák kiküszöbölhetők allélspecifikus primerek alkalmazásával.

A gyümölcsfák körében az alma volt az első faj, amelynél DNS-alapú *S*-genotipizálást végeztek: a bibeszövetből izolált mRNS-ből a cDNS-szekvenciákra allélspecifikus primereket terveztek (Broothaerts és mts., 1995; Janssens és mts., 1995). Ezt az eljárást követve készítettek elsőként mandulaallélokra (Tamura és mts., 2000; Ma és Oliviera, 2001), majd cseresznyeallélokra specifikus primereket a *Prunus* nemzetségben (Sonneveld és mts., 2001). A specifikus primerek általában az RHV és az intronrégiókba kötődnek és kb. 500 bp alatti DNS-szakaszt amplifikálnak (Schuster és mts., 2007; Szikriszt és mts., 2013; Gómez és mts., 2019). Az allélspecifikus primerek hátránya, hogy az allél hiánya esetén nincs PCR-termék, amely bizonytalanságot is jelenthet maga a reakció sikerességét tekintve. Ezt a problémát oldja fel egy ún. belső kontroll használata, egy olyan primeré, amely valamelyik háztartási génhez kötődve azonos, de az *S*-allélra specifikus primerek amplikonjától eltérő méretű fragmentumot eredményez mindegyik mintában. Multiplex PCR-rel egy lépésben összemérhető, de figyelembe kell venni, hogy a specifikus

S-RN-áz fragmentum méretétől jól megkülönböztethető legyen a kontroll termék és a különböző primerek alkalmasak legyenek (hőmérsékleti profil és szekvencia alapján) egy reakcióban történő felhasználásra. Sonneveld és mts. (2003) a fenilalanin-ammónia-liáz (PAL1) enzim génjére terveztek jól működő IC jelű (internal control) primereket, melyek 1036 bp méretű fragmentumot amplifikálnak, vagyis minden allélspecifikus termékénél nagyobbak.

A funkcióvesztéses allélok kimutatása minden esetben attól függ, hogy milyen mutációs esemény történt. Az összes faj tekintetében ezekre az allélokra külön marker kidolgozására volt szükség, mert gyakran még az eredeti, vad típusú allél is megtalálható a populációban, így attól (is) meg kell különböztetni. Meggy esetében a PPM S_1 '-allél 615 bp méretű inszerciót tartalmaz, amely az eredeti, vad típusú alléllal tervezett specifikus primerekkel kimutatható, mert 768 bp méretű termék jelenik meg az S_1 , valamint 1383 bp hosszúságú az S_1 ' esetében, így elérhető egy megbízható kodomináns marker az S_1 ' kimutatásához (Tsukamoto és mts., 2008b). Az S_{6m} -allél detektálására tervezett allélspecifikus PcS6 primerpár közrefogja a funkcióvesztést okozó inszerciót, így S_6 esetében 192 bp, S_{6m} esetében pedig 2907 bp hosszúságú PCR-fragmentum amplifikálódik. Az S_6 -*RN-áz* másik funkcióképtelen formája az S_{6m2} , amely 1 bp deléciót tartalmaz a gén konzervatív C2 régiójában. Kimutatása CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) marker segítségével lehetséges: a specifikus StyS6-F és S6-RNase-spR primerekkel felszaporított szakaszok a *StyI* restrikciós enzim hasítási mintázatában különbséget mutatnak, mert az enzim az S_6 - és az S_{6m} -allélokban a fragmentumot 275 bp és 20 bp darabokra hasítja, az S_{6m2} esetében pedig a felismerőhely hiányában nem tud hasítani, így az ampikon mérete változatlan (294 bp; az 1 bp deléció miatt 275+20-1 bp). Szintén CAPS-marker különíti el az S_{13-} , S_{13m-} és S_{13}' -haplotípusokat, ahol a *MaeII* restrikciós enzim hasítóhelye éppen a 23 bp delécióval érintett részbe esik (S_{13m}). Viszont az S_{13}' -haplotípus a kódoló régió belül 1 bp szubsztitúciót és egy korai stop kodont tartalmaz, ami az eredeti két *DdeI* hasítási helyhez képest így csak egyet tartalmaz (Tsukamoto és mts., 2008b). Az S_{36} -haplotípusnak négy variánsa van, melyek allélspecifikus primerekkel detektálhatók (Tsukamoto és mts., 2010).

Cseresznyénél a PaSFB3 primerpár csak az SFB_3 -allélt szaporítja fel, az S_3 '-allélt nem, mivel ezen allél esetében a mutáció az SFB_3 gén delécióját idézte elő (Sonneveld és mts., 2005). Az SFB_4 '-haplotípus 4 bp-nyi eltéréseinek kimutatására fragmentumhossz-analízis alkalmazható (Kivistik és mts., 2022) illetve szerkesztettek egy olyan primert is, amely csak az SFB_4 '-allélhoz kapcsolódik, de megbízhatósága vitatott (Mo és mts., 2005). Emellett még CAPS-marker is elérhető, mert két restrikciós enzim (*EcoRV* és *MboI*) hasítóhelye köthető a 4 bp-hoz (Ikeda és mts., 2004). Egy chilei kutatócsoport az ÖT genotípusok gyors és hatékony szelekciója érdekében HRM analízis alapú (High Resolution Melting: nagyfelbontású olvadásgörbe analízis) módszert dolgoztak ki, amely real-time PCR-készülékkel végezhető el (Muñoz-Espinoza és mts., 2017).

A *P. mume* S_F -allél kimutatása leggyakrabban az inszercióhoz kötődő specifikus primerrel történik (Tao és mts., 2003). Ugyanakkor kifejlesztettek egy alternatív eljárást is, amely LAMP-technikával (Loop-Mediated Isothermal Amplification, hurok-közvetített izotermikus amplifikáció) végzi az ÖT magoncok szelekcióját (Habu és mts., 2006).

Kajszifajták vizsgálatára a PhD munkám során kidolgoztunk egy kodomináns markert, amellyel a homo- és heterozigóta ÖT genotípusok egyaránt kimutathatók. Az SFB gén elejétől a végéig, szinte a teljes kódoló részt amplifikáló AprSFB-F1/R degenerált primerpárt 3 kajsi és 3 japánkajsi allél szekvenciája alapján terveztük meg. Miután a mutációt hordozó SFB_C -allél egy 358 bp-os inszerciót tartalmaz, a primerek által felszaporított fragmentum mérete 1419 bp, míg az inszerciót nem tartalmazó, eredeti allél mérete 1061 bp (Halász és mts., 2007b). A minták egy egyszerű agarózgélen történő szétválasztással értékelhetők.

2.10. Az Európában termesztett gyümölcsfajok *S*-allél-rendszere

2.10.1. Cseresznye (*P. avium* L.)

A cseresznye genomja diploid, kromoszómaszáma $2n=16$. Az első interinkompatibilitási csoportot szabadföldi keresztezések alapján határozták meg (Crane és Lawrence, 1929). Az 1970-es évekre 160 fajta *S*-genotípusa vált ismertté, valamint hat allélt írtak le számokkal jelölve (S_1 – S_6) (Crane és Brown, 1937; Matthews és Dow, 1969). Később eleinte a bibefehérjék izoelektromos fókuszálásával, majd DNS-markerekkel további új allélokat és genotípusokat azonosítottak (Bošković és mts., 2000; Bošković és Tobutt, 1996; Schuster, 2020). Jelenleg 67 inkompatibilitási csoport ismert (I–LXVII), valamint az ún. univerzális donorok csoportja (0.), melyek a többi fajttal kompatibilisek. Schuster (2020) három éve tett közzé egy átfogó és nagyon informatív, szintetizáló munkát az összes elérhető cseresznyefajta adatai alapján. E szerint jelenleg 1483 fajta *S*-genotípusa ismert, melyeket besorolt a megfelelő csoportokba. Összesen 91 ÖT cseresznyefajtát rögzített az SC jelű csoportban, 26 egyedi *S*-genotípusút pedig az univerzális csoportban. Mindeztáig 22 különböző allélt azonosítottak (Sonneveld és mts., 2001; 2003; Wunsch és Hormaza 2004; De Cuyper és mts., 2005; Vaughan és mts., 2008; Szikriszt és mts., 2013; Kivistik és mts., 2022), de a számozásuk nem folyamatos, mert a leírás után több esetben a különböző néven jelölt allélok azonosnak bizonyultak ($S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_6, S_7, S_9, S_{10}, S_{12}, S_{13}, S_{14}, S_{16}, S_{17}, S_{18}, S_{19}, S_{21}, S_{22}, S_{24}, S_{27}, S_{30}, S_{37}$). Az *S*-allélok túlnyomó többsége vadon növény egyedekben is előfordul, kivéve az S_5 , mert azt csak termesztett fajtákban találták meg eddig, illetve öt allél csak a vadcsesznye populációkban volt kimutatható (Vaughan és mts., 2008; Schuster, 2020). Az egyes földrajzi régiók allélgyakoriságában eltérések mutatkoznak, mert Európában az S_1, S_3 és S_6 a leggyakoribb, a Baltikumban S_3, S_6 és S_9 , Oroszországban S_3, S_5, S_6, S_{17} és S_{30} , Svédországban pedig csak az S_1 – S_6 -allélokat azonosították (Lacis és mts., 2008; Schuster 2012; Cachi és Wunsch 2014; Ivanovych, 2016; Kivistik és mts., 2022).

2.10.2. Mandula [*P. dulcis* (Mill.) D.A.Webb]

A mandula genomja diploid, kromoszómaszáma $2n=16$. Mandula esetében is már a század elején elkezdődtek a termékenyülési vizsgálatok szabadföldi keresztezésekkel és pollentömlő-analízissel (Tufts és Philp, 1922; Pimienta és mts., 1983; Ben-Njima és Socias i Company, 1995). Az első két inkompatibilitási csoportba a 'Nonpareil' ($S_c S_d$), illetve a 'Mission' és a 'Languedoc' ($S_a S_b$) fajták kerültek (Tufts és Philp, 1922). Később hat inkompatibilitási csoportot állapítottak meg (Kester és mts., 1994), de az amerikai és európai alléljelölési rendszer között különbség volt, mert az előbbi csoportban az allélokat számokkal, míg az utóbbiban betűkkel jelölték (Cossa-Raynaud és Grasselly, 1985; Kester és mts., 1994). Az első mandula *S*-RN-áz cDNS-szekvenciákat Ushijima és mts. (1998) határozták meg, az allélokat alfabetikusan jelölték (S_b, S_c és S_d). A szinonim elnevezéseket Bošković és mts. (1997) tisztázták, miszerint: $S_a = S_5, S_b = S_1, S_c = S_7$ és $S_d = S_8$. A további új allélokat már számokkal írták le (S_6, S_9 – S_{23}) IEF és NEpHGE, valamint PCR-analízis és DNS-szekvencia alapján (S_{24} – S_{29}) (Bošković és mts., 1998; 1999; 2003; Ortega és mts., 2005; 2006). Ortega és mts. (2005) az 1. intronrégió amplifikációjából nyert fragmentumok pontos méretét elsőként közölték az *S*-genotipizálás hatékonyságának érdekében.

Amikor 2007-ben elkezdtem a mandula termékenyülési vizsgálatát, összesen 20 inkompatibilitási csoport (I–XX) volt ismert és az egyedi genotípusokat bemutató, általános pollenadóként használható fajtákat tartalmazó 0. csoport. Összesen közel 120 fajtát soroltak be ezen kategóriákba (Ortega és mts., 2006).

2.10.3. Japánszilva (*P. salicina* Lindl.)

A japánszilva genomja diploid, kromoszómaszáma $2n=16$. Elsőként a ‘Sordum’ (S_aS_b) fajta genotípusát határozták meg (Yamane és mts., 1999). Az első 19 allélt alfabetikusan jelölték S_a -tól S_s -ig (Beppu és mts., 2002; 2003; Guerra és mts., 2009; Halász és mts., 2007a; Yamane és mts., 1999), de számokkal leírt allélsort is használtak (Sapir és mts., 2004; Zhang és mts., 2008b). A két jelölési rendszer közötti szinonimákat 2007-ben tisztáztuk, mely szerint: $S_3 = S_k$, $S_4 = S_c$, $S_5 = S_e$, $S_6 = S_f$, emellett 49 fajtát soroltunk be 7 inkompatibilitási csoportba (I-VII) (Halász és mts., 2007a). Jelenleg 42 *S-RN-áz* allél és 15 *SFB*-allél ismert, az inkompatibilitási csoportok száma 26, melyekbe összesen 234 fajtát soroltak be (Abdallah és mts., 2019; Guerra és mts., 2020).

2.10.4. Őszibarack (*P. persica* L. Batsch.)

Az őszibarack genomja diploid, kromoszómaszáma $2n=16$. Mivel az őszibarack az egyetlen ÖT faj a nemzetségben, így az *S*-allél-készlete nagyon eltér a többi *Prunus* fajétól. Az őszibarack *S*-lókuszának vizsgálatát nemzetközi szinten kutatócsoportunk nyitotta meg: különböző eredetű, pomológiai szempontból eltérő fajták vizsgálata során mindössze két *S*-allél volt azonosítható NEpHGE és *S-RN-áz*-PCR alapján, szemben a többi csonthéjas esetben leírt 20–50 alléllal (Hegedűs és mts., 2006). Egy évvel később Tao és mts. (2007) két mutáns *S*-haplotípust izoláltak őszibarackból, és kimutatták, hogy ezek eredeti változatai más *Prunus* fajokban (mandula és japánszilva) fellelhetők. Később főként díszfaként ültetett fajtákban azonosították az S_3 - és S_4 -allélokat, és kiderült, hogy mind a 4 haplotípusnál a pollenkomponensben bekövetkezett mutáció idézi elő az ÖT fenotípust. Tao és mts. (2007) azonosítottak egy olyan mutációt is, amely az S_{2m} -RN-áz enzimfehérje felhalmozódását és aktivitását akadályozza meg. A fajták túlnyomó többsége homozigótának bizonyult az *S*-lókuszban (Hegedűs és mts., 2006; Hanada és mts., 2014; Abdallah és mts., 2020).

2.10.5. Meggy (*P. cerasus* L.)

A meggy genomja tetraploid, kromoszómaszáma $2n=32$. A legtöbb meggyfajta öntermékenyülő, de előfordulnak közöttük önmeddők is (Lansari és Iezzoni, 1990). Mivel a meggy a cseresznye (*P. avium* L.) ($2n=2x=16$) és a csepleszmeggy (*P. fruticosa* Pall.) ($2n=4x=32$) spontán allotetraploid hibridje (Olden és Nybom, 1968; Brown és mts., 1996), *S*-allél-készlete átfedést mutat a cseresznyével. Számos cseresznye *S*-haplotípust mutattak ki a meggyfajtákban (S_1 , S_4 , S_6 , S_9 , S_{12} , S_{13} , S_{14} , S_{16} , S_{34}) (Yamane és mts., 2003b; Hauck és mts., 2006a; Tsukamoto és mts., 2006; Szikriszt és mts., 2013). Érdekes, hogy a meggyfajták által hordozott több cseresznye eredetű *S*-allél funkcióvesztése kimutatható volt, míg a cseresznyefajtákban ugyanez allélokknak csak a funkcióképes változata van jelen. Ennek legvalószínűbb magyarázata, hogy a tetraploid meggy esetében egy funkcióvesztéses mutáció nem okoz öntermékenyülést, így szelekciós szempontból gyakorlatilag semleges hatású (Tsukamoto és mts. 2010; Hegedűs és mts., 2012). Funkcióképtelen allélváltozatai vannak az S_1 -, S_6 -, S_{13} - és S_{36} -haplotípusoknak. Emellett az alábbi allélokat eddig csak funkcióképes formájukban mutatták ki: S_4 , S_9 , S_{12} , S_{14} , S_{26} és S_{35} . Munkánk megkezdésekor 2010-ben összesen 17 meggyfajta *S*-genotípusa volt ismert, köztük az amerikai nemesítési programokban felhasznált nyolc magyar fajtáé (Yamane és mts., 2001; 2003a; Hauck és mts., 2006a;b; Tsukamoto és mts., 2008a;b; 2010). A *P. fruticosa* eredetű allélok az S_{26} , S_{33} , S_{35} , S_{36a} , S_{36b} , S_{36b2} és S_{36b3} (Hauck és mts., 2006a; Tsukamoto és mts., 2006; 2010; 2008a).

2.10.6. Kajszi (*P. armeniaca* L.)

A kajszi genomja diploid, kromoszómaszáma $2n=16$. Magyarországon Nyujtó és mts. (1985) szabadföldi tesztkeresztezéseket végezve észlelték, hogy az ún. Óriás fajtakörbe tartozó fajták önmeddő fenotípusúak ('Ceglédi óriás', 'Szegedi mammut', 'Nagykőrösi óriás' és 'Ligeti óriás'), és egymást kölcsönösen sem termékenyítik. Ennek megfelelően ez az első ismert inter-inkompatibilitási csoport (Szabó és Nyéki, 1991). Tekintettel arra, hogy a nemzetközi szakirodalom figyelmen kívül hagyta ezt a munkát, az Egea és Burgos (1996) által azonosított három észak-amerikai fajtából álló CIG-et ('Lambertin-1', 'Goldrich' és 'Hargrand') publikálták első csoportként. Ezek a fajták pollentömlő-analízissel és szabadföldi keresztezésekkel vizsgálva semmilyen kombinációban nem adtak sikeres termékenyülést. Mindez közös *S*-genotípusra utal, amit a sort megkezdve S_1S_2 -ként jelöltek. Később Burgos és mts. (1998) fehérje alapú vizsgálattal, nem egyensúlyi izoelektromos fókuszálással (NEpHGE) észak-amerikai és spanyol fajták bibemintáiban hat *S*-RN-áz izoenzimet választottak szét (S_1 – S_6), melyek összefüggésbe voltak hozhatók az inkompatibilitással. Négy évvel később azonosították az S_7 -allélt (Albuquerque és mts., 2002). Az *S*-RN-áz gén intronjainak méretbeli variabilitását pontos adatokkal jellemezték mind a 7 ismert inkompatibilitási, valamint az öntermékenyülésért felelős S_C -allél esetében (Romero és mts., 2004; Vilanova és mts., 2005).

PhD munkám során tovább bővítettük az ismert kajszi *S*-allélok számát, mert NEpHGE és PCR-vizsgálatokkal 13 inkompatibilitási allélt (S_8 – S_{20}) azonosítottunk összesen 14 országból, 4 ökoöldrzejzi csoportból származó 74 kajszi genotípus elemzésével (Halász és mts., 2005; Halász, 2007a). A pontos intronméretek meghatározásával leírtuk az egyes *S*-RN-áz allélok szerkezeti jellemzőit. Elsőként alkalmaztuk az *S*-RN-áz gén 1. intronrégióját amplifikáló, fluoreszcens festékkel jelölt primerek által nyert fragmentumok pontos méretmeghatározását automata szekvenátor segítségével, ami nagy előrelépést jelentett a kajszi *S*-genotípusok meghatározásában. Munkánk eredményeként elkészült a kajszi fajták kölcsönös termékenyülési viszonyait összefoglaló táblázat, mely 67 fajtát sorolt 3 inter-inkompatibilitási csoportba (CIG) illetve az egyedi genotípusú önmeddő és öntermékenyülő fajtákat tartalmazó univerzális pollenadók csoportjába. Az Óriás fajtakör tagjait magába foglaló, korábban a nemzetközi szakirodalom által mellőzött inkompatibilitási csoport létezését megerősítettük, *S*-genotípusát (S_8S_9) meghatároztuk. Az első inkompatibilitási csoportot két fajtaival bővítettük, továbbá a meghatároztunk egy új, két fajtát tartalmazó (III.) inkompatibilitási csoportot.

2.10.7. Házi szilva (*P. domestica* L.)

A házi szilva hexaploid: $2n=6\times=48$. Fajtái között egyaránt ismertek önmeddő és öntermékenyülő típusok (Nyéki és Szabó, 1996; Nikolić és Milatović, 2010). A szilva *S*-lókuszát elsőként Sutherland és mts. (2008) vizsgálták három *S*-RN-áz allél (S_5 , S_6 és S_9) szekvenciájának meghatározásával. Más *Prunus* fajokon jól működő konszenzus primerek tesztelésével Kota és Lâcis (2013) 33 európai szilvafajtát eltérő *S*-genotípussal írtak le, de nem találtak különbséget az öntermékenyülő és önmeddő genotípusok között. Egy előzetes felmérés során az Európában termesztett 16 népszerű fajta vizsgálatokor 18 különböző *S*-RN-áz allélt azonosítottunk, de a teljes szekvencia hiányában átmenetileg alfabetikus jelöléssel különítettük el azokat S_A – S_S -ig (Halász és mts., 2014b). Abdallah és mts. (2019) 24 hexaploid fajta között 16 különböző *S*-genotípust találtak és az *S*-RN-áz allélokat S_1 – S_{12} -ig nevezték el. A fajták túlnyomó többségében négy különböző allélt detektáltak. Fernandez i Marti és mts. (2021) S_{17} -ig folytatták az allélsort, de mind a 17 allélt újként írták le, így az azt megelőző kutatócsoportok eredményeit figyelmen kívül hagyták. Bár összefüggést találtak néhány fajta esetében az S_{17} -allél jelenléte és az öntermékenyülő fenotípus között, semmilyen magyarázatot nem adtak arra vonatkozóan, hogy milyen molekuláris mechanizmus biztosíthatja a hexaploid genomú növényekben az önmeddőség áttörését.

Nincs adat arról, hogy poliploid fajoknál egy allélt érintő mutáció előfordulása a termékenyülési fenotípust megváltoztatná. Mindeztáig semmilyen pontos ismeretünk nincs a házi szilva öntermékenyülésének genetikai hátteréről.

2.11. A termékenyülési rendszerek szerepe a termesztésben és a nemesítésben

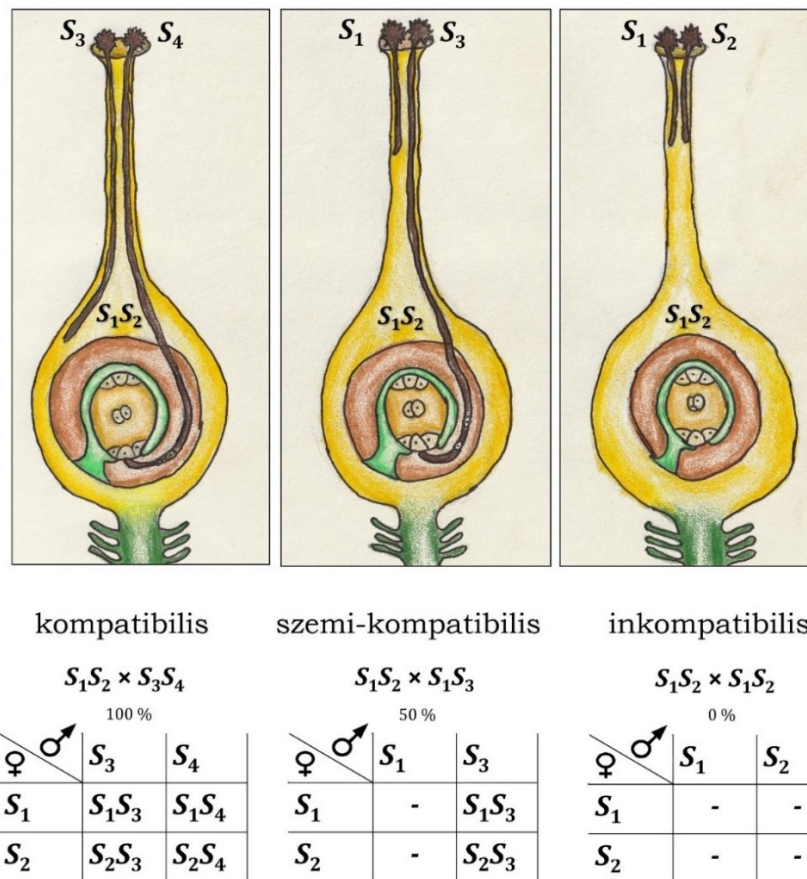
A molekuláris háttér egyre alaposabb megismerése lehetőséget biztosít arra, hogy a termékenyülési folyamatok irányításával fokozzuk a termesztés és a fajta-előállító nemesítés hatékonyságát. A jelenlegi ismeretek alapján széleskörű alkalmazási módok állnak rendelkezésre a kutatási eredmények gyakorlati adaptálásához, amiket három csoportba sorolhatunk: 1. termesztés (a termésmennyiség és a termésméret szabályozása); 2. markerekre alapozott szelekció; 3. intra- és interspecifikus hibridizáció (Muñoz-Sanz és mts., 2020).

2.11.1. A termésmennyiség és -méret befolyásolása

A szemi-kompatibilis kapcsolatban diploid gyümölcsfáknál az egy közös *S*-allél miatt a bibeszájra érkező pollenszemek fele lesz csak kompatibilis (12. ábra). Ennek néhány faj esetében komoly hatása lehet, mint például az almánál, körténél vagy akár a japánszilvánál is, bizonyos időjárási extrémítások (pl. hideg, felhős, esős időjárás vagy kifejezetten száraz, forró) esetében (Schneider és mts., 2005; Zisovich és mts., 2005; Sapir és mts., 2008). Több adat támasztja alá, hogy a megporzó rovarok aktivitásának növekedésével a szemi-kompatibilis fajtatársításban növekszik a termésmennyiség is, vagyis a nagyobb számú kompatibilis pollen nagyobb terméshozamot eredményez (Stern és mts., 2001; 2004; Sapir és mts., 2007). Sapir és mts. (2008) japánszilvafajták esetében egy izraeli ültetvényben bizonyították, hogy akár a szabad megporzás, akár a mesterségesen végzett kézi megporzás adatait vették figyelembe, a teljesen kompatibilis kombinációban mindig nagyobb volt a gyümölcskötődés, mint szemi-kompatibilis kapcsolat esetében. Ráadásul a *Malus* és *Pyrus* fajoknál, amelyek több magot tartalmaznak, még a gyümölcs méretére is komoly hatással van a megporzás mértéke. Gyengébb megporzást követően a gyümölcsminőség is elmarad az optimálistól, mert kisebb és aszimmetrikus formájú termékek képződnek (Goldway és mts., 2007).

Az ÖT fajták termesztése „kényelmes” és gazdaságos megoldás, mert nem kell pollenadó fajtákat telepíteni, így egy területről egyöntetűen, egy fajta szüretelhető. A megporzó rovarok számának csökkenése egyre súlyosabb problémát okoz a növénytermesztésben. A világhírű kaliforniai mandulatermesztésben a mézelő méhek ún. „kaptár-elnéptelenedése” (colony collapse disorder, CCD) óriási veszteséget jelent évről évre (Rucker és mts., 2019). Ilyen helyzetekben az ÖT fajták választása előnyös lehet. Ugyanakkor ennek ellenpéldája is előfordulhat, mert ha túlzott mértékű a rovarok aktivitása, akkor túlkötődés is történhet, amely szintén csökkent gyümölcsméretet eredményezhet. Ez esetben a gyümölcsritkítés kifejezetten ajánlott (Woodcock és mts., 2012). Nem a csonthéjas gyümölcsfajok esetében, de más gyümölcsfajoknál arra is van példa, amikor kifejezetten az ÖM jelleg előnyös. A citrusfélék szinte mindegyikénél előnyt jelent a magvatlanság, amelyet legtöbbször a partenokarp gyümölcsfejlődés okoz. Amennyiben nem triploid a fajta, akkor az adott ÖM fajtával kompatibilis pollen hatására a termés fertilis magokkal fejlődik, ami nem kívánatos jelenség. Így tehát a diploid citrom-, mandarin- vagy narancsültetvények egyöntetűen ÖM fajtákból állnak, megfelelő izolációban az *S*-genotípus alapján kompatibilis fajtáktól (Vardi és mts., 2008).

A gametofitikus termékenyülési rendszer modellje



12. ábra: A gametofitikus inkompatibilitási rendszerben (GSI) a diploid keresztezési partnerek között háromféle eset lehetséges. A *kompatibilis* kapcsolat során mindkét szülő eltérő *S*-allélt hordoz, így a bibeszájra érkező pollenszemek 100%-a alkalmas a sikeres termékenyítésre. *Szemi-kompatibilis* kapcsolat esetén a két szülő egy közös *S*-alléllal rendelkezik, így csak az összes pollenszem fele alkalmas a termékenyítésre. *Inkompatibilitás* akkor áll fenn, ha mindkét szülő azonos *S*-genotípusú, így az ivarsejtek találkozása kizárt, a sikertelen termékenyülés miatt elmarad a termésképződés (Rajz: Hegedűs J., 2022).

2.11.2. *S*-genotipizálás és markerekre alapozott szelekció

A DNS-alapú információ mennyiségének növekedésével egyre több marker vált elérhetővé, ami az *S*-genotipizálást hatékony eszközzé tette. A PCR-t alkalmazó technikák felváltották az évekig tartó, számos nehézséggel járó, szabadföldi megporzásos vizsgálatokat. A diagnosztika egyszerűbbé és hatékonyabbá vált, mert nem kell megvárni a termőre fordulás időszakát, illetve nem befolyásolja semmiféle környezeti tényező. Az inkompatibilitási csoportok meghatározását és a fajták besorolását követően az *S*-genotípus bekerült a faiskolai katalógusokba is, ami jelentősen megkönnyíti az optimális fajtaválasztást a termesztők számára. A virágzási idők figyelembevételével az inkompatibilitási csoportok nagy segítséget nyújtanak az ültetvényszerkezet tervezésekor (Halász és Hegedűs, 2006; Yamane és Tao, 2009).

A nemesítési munka folyamán a szelekciós lépések száma optimalizálható, különösen akkor, ha ÖT és ÖM szülők keresztezését követően az ÖT utódok kiválasztása is cél. Diploid szülők esetében, ha az ÖT partner homozigóta, akkor az utódok biztosan ÖT fenotípusúak lesznek, hiszen a domináns jelleg miatt a heterozigóta egyedek is öntermékenyülők (Ortega és Dicenta, 2006). Heterozigóta ÖT szülők utódai 50%-ban lesznek ÖT fenotípusúak, ha a keresztezési partnerek inkompatibilitási alléljai különböznek:

pl. ♀ $S_C S_1$ × ♂ $S_2 S_3$ (utódok: $S_C S_2$; $S_C S_3$; $S_1 S_2$; $S_1 S_3$). Ha van közös inkompatibilitási alléljuk, akkor is az utódok 50%-a ÖT, de csak egyféle ÖT genotípus jön létre, pl. ♀ $S_C S_1$ × ♂ $S_1 S_2$ (utódok: $S_C S_2$; $S_1 S_2$). Két heterozigóta ÖT szülő keresztezésekor, ha nincs más közös allél, akkor $\frac{3}{4}$ ÖT, $\frac{1}{4}$ ÖM az utódok aránya, pl. ♀ $S_C S_1$ × ♂ $S_C S_3$ (utódok: $S_C S_C$; $S_C S_3$; $S_C S_1$; $S_1 S_3$). Két heterozigóta ÖT szülő keresztezésekor, ha az inkompatibilitási allél is azonos, akkor az utódok 100%-a ÖT lesz, pl. ♀ $S_C S_1$ × ♂ $S_C S_1$ (utódok: $S_C S_C$; $S_C S_1$) (Tao és mts., 2002; Martínez-Gómez és mts., 2003; Halász, 2007b; Socias i Company és mts., 2015).

Két ÖM diploid szülő keresztezéséből nem lehet ÖT utód, csak abban az evolúciós léptékben is ritka esetben, ha az ivarsejtek kialakulása során bekövetkezik egy funkcióvesztést okozó, új mutáció. Ez nem igaz azoknál a tetraploid fajoknál, ahol az ÖT fenotípust két funkcióképtelen allél együttes előfordulása idézi elő (pl. meggy). Ha olyan ÖM szülőket kereszteznek, melyek egy-egy funkcióvesztett allélt hordoznak, akkor az utódokban ezen allélok együttes előfordulása esetén ÖT fenotípus jön létre. Ugyanilyen módon két ÖT szülő keresztezése sem biztos, hogy ÖT utódot eredményez (Tsukamoto és mts., 2008a;b).

Az *S*-genotipizálás nemcsak a termékenyülési fenotípus megállapítása miatt lehet hasznos, hiszen közvetlen információt adhat a pedigerről (szülő-utód kapcsolatról), a fajtaazonosságról vagy a génbanki tételek közt előforduló szinonímia és homonímia eseteiről. Az SNP és SSR markerek mellett informatív markerként használható, mert jelentős mértékű polimorfizmus és kodomináns expresszió jellemzi. A genetikai diverzitás felméréseként alkalmazható és nemcsak a termesztett, de a vad fajok egyedeinél is (Halász és mts., 2010a; Kim és mts., 2016; Marchese és mts., 2017; Abdallah és mts., 2019; Gasi és mts., 2020). A lókuszos alapos elemzése az egyes fajok kultúrevolúciójáról is fontos adatokat adhat (Kodad és mts., 2013; Vieira és mts., 2021).

3. CÉLKITŰZÉS

Dolgozatom a csonthéjas gyümölcsfajok *S*-lókusz és SSR-alapú genetikai vizsgálatát a diploidoktól a magasabb ploidszintű fajokig ívelően fogja át. Munkámat a PhD értekezésem után a diploid gyümölcsfajok genetikai analízisével kezdtem (ezek közé tartozik a mandula és a kajszi), majd a nemzetközi szinten is újdonságnak tekinthető, magasabb ploidszintű gyümölcsfajok vizsgálatával folytattam. Ezek között kiemelt figyelmet fordítottam a hazánk gyümölcstermesztési ágazatában jelentős szerepet játszó tetraploid meggyre és hexaploid házi szilvára, valamint egy extrém ploidfokú, Törökországban termesztett fajra, a dokozaploid babérmeggyre. A vizsgált fajok esetében az alábbi célkitűzések nyomán dolgoztunk:

Mandula

- a kelet-európai és magyar fajták, illetve nemesítési alapanyagként felhasználható hibridek *S*-allél-összetételének meghatározása
- a fajták inter-inkompatibilitási csoportokba sorolása
- új *S*-allélok jellemzése, megbízható kimutatási módszerek kidolgozása
- a magyar mandulafajták genetikai hátterének felmérése SSR-alapú markerekkel, valamint összehasonlító elemzése más földrajzi régiókból (Közép-Ázsiától Kaliforniáig) származó mandulákkal
- a termékenyülést meghatározó lókusz és az SSR markerekkel jellemzett genetikai variabilitás közötti összefüggések feltárása

Kajszi

- a török és magyar kajszi közti kapcsolat feltárása a termesztett és vadon élő egyedek *S*-lókuszának variabilitása alapján
- az észak-afrikai kajszifajták és -egyedek által hordozott *S*-allélok gyakorisága
- az *S*-allélok előfordulásának földrajzi régiók szerinti feltérképezése
- az öntermékenyülésért felelős *S*-allél kialakulási helyének meghatározása a földrajzi gyakorisági adatok alapján
- az öntermékenyülés molekuláris hátterének tisztázása
- az öntermékenyülés kialakulásának hatása a faj genetikai variabilitására és kultúrevolúciójára

Meggy

- a funkcióképtelen allélok azonosítása magyar meggyfajtákban és szelektált hibridekben
- az *S*-genotipizálás módszereinek optimalizálása, a hatékonyság növelése
- az ismeretlen eredetű magyar meggyfajták lehetséges származásának tisztázása az *S*-genotípus és SSR-markerek alapján; az azonos gyümölcstípusú fajták genetikai rokonságának tisztázása

Szilva

- a Kelet-Magyarországon vadon termő „Nemtudom” néven ismert szilvafák variabilitásának jellemzése az *S*-lókusz alapján
- az eredetvédett szatmári szilvapálinka alapját adó ‘Nemtudom P3’ és ‘Besztercei Bt.2’ fajták *S*-genotípusának összehasonlítása

Babérmeggy

- az extrém ploidszintű babérmeggy faj *S*-allél-polimorfizmusának felmérése 50 morfológiailag eltérő egyed vizsgálatával
- a detektált allélok jellemzése, leírása
- a szekvenciák elemzése alapján a kevésbé tanulmányozott *P. laurocerasus* és más *Prunus S-RN*-ázok evolúciós történetének, filogenetikai kapcsolatainak részletesebb megismerése

Mivel az *S*-lókuszról nyert adatok nem csak a termékenyülési jellegzetességekről adnak közvetlenül információt, hanem az egyes fajok genetikai variabilitásával és evolúciós hátterükkel is összefüggésbe hozhatók, célkitűzéseink utolsó tétele az volt, hogy az öt faj vizsgálata során elért eredmények átfogó értékelésével feltárjuk, hogyan hatott az öntermékenyülési képesség megjelenése a csonthéjas gyümölcsfajok ma ismert genetikai alapjainak kialakulására.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Növényanyag

A növényanyag egyes tételeinek pontos felsorolása és alapvető jellegzetességeik az Eredmények fejezet vonatkozó részeinél található meg.

4.1.1. Mandula [*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb]

A vizsgált magyar és ukrán fajták, valamint hibridek az egykori Budapesti Corvinus Egyetem Genetika és Növénynevelés Tanszék hajdani szigetcsépi ültetvényéből, egy köveskáli faiskolából és a Római Gyümölcskutató Intézetből (CRA-Istituto Sperimentale per la Frutticoltura di Roma) származnak. A felhagyott ültetvényekben található idős fákról a Tétényi-fennsíkon gyűjtöttünk mintát, valamint a Gellérthegyen egy XIX. századi őszibarackültetvényben használt keserű magvú alanyokból fennmaradt fákról, továbbá alanymag-termő fákról Ceglédről (egykori NAIK Gyümölcskutató Intézet), illetve három idős fáról Monoron. A kaliforniai fajtákat és vad fajok egyedeit (*P. tenella*, *P. webbii* és *P. arabica*) Dr. Craig Ledbetter (ARS, United States Department of Agriculture, Parlier, CA), a törökországi genotípusokat (az Erzurum régió északi részén fekvő Bademli községből és a Van-tó Akdamar nevű szigetéről) Dr. Sezai Ercisli, a marokkói genotípusokat (a Földközi-tenger marokkói partvidéke) Dr. Ossama Kodad bocsátotta rendelkezésünkre, a kirgizisztáni Osh város környékén vadon előforduló egyedeket Dr. Gutermuth Ádám gyűjtötte be.

4.1.2. Kajszi (*Prunus armeniaca* L.)

A vizsgált 55 török kajszifajtát és -hibridet, valamint a 63 Erzincan régióban vadon élő kajsziegyedet az Atatürk Egyetem Kertészeti Tanszékének vezetője, Dr. Sezai Ercisli bocsátotta rendelkezésünkre (Atatürk University, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Erzurum, Törökország). Az ismert *S*-genotípusú kontrollfajták (Halász és mts., 2005; 2007b) az egykori Budapesti Corvinus Egyetem Genetika és Növénynevelés Tanszék szigetcsépi ültetvényéből származnak. A marokkói mintavételezés négy helyszínen történt Dr. Ossama Kodad irányításával: Agdz (Draa-völgy), Skoura és Kelaat M'Gouna (Dades-völgy), Goulmima (Ziz-völgy) oázisaiban és az Er-Rich-völgyi Ziz régióban. A tunéziai fajták az INRAT nemesítési programból származnak (Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie), Dr. Amal Lachkartól.

4.1.3. Meggy (*Prunus cerasus* L.)

A 20 meggyfajta és 12 szelektált klón az Újfehértói Gyümölcsstermesztési Kutató és Szaktanácsadó Kht. ültetvényéből származik Dr. Szabó Tibortól és Szőke Ferenc magánnevelőtől. Az alanyként és alanynevelési programokban felhasznált különböző ploidiszintű *Prunus* fajokat Dr. Hrotkó Károly gyűjtötte be az alábbi helyekről: Hármashatár-hegy (*P. avium*, *P. fruticosa* f. *fruticosa*, *P. × mohácsyana*, *P. × eminens*, *P. × javorkae*), Pázmánd, Kálvária domb (*P. fruticosa* f. *aucta*, *P. × mohácsyana*), MATE Soroksári Génbanki gyűjtemény (*P. fruticosa* 'Prob', *P. cerasus* 'Victor', *P. cerasus* CAB 11E, *P. avium* F12/1, *P. mahaleb × P. avium*, *P. mahaleb* 'Bogdány', 'Magyar' és 'Dalmata'), Budai Arborétum (*P. × mohácsyana*, *P. fruticosa* 'Globosa'), Visegrád, Kis Villám (*P. × mohácsyana*, *P. × eminens*).

4.1.4. Házi szilva (*Prunus domestica* L.)

A 'Besztercei Bt. 2' a MATE Kertészettudományi Intézet ceglédi gyűjteményéből, a 'Nemtudom P3' fajta az Újfehértói Gyümölcsstermesztési Kutató és Szaktanácsadó Kht. ültetvényéből származik. Az észak-kelet magyarországi 68 egyed begyűjtését Mórucz István (Panyolium Kft.) szervezte meg. A részletes előfordulási helyszínek az Eredmények

fejezetben bemutatott térképen láthatók (39. ábra). A mintákat a települések nevével jelöltük.

4.1.5. Babérmeggy (*Prunus laurocerasus* L.)

Kísérleteinkben a Törökország Fekete-tengeri régiójában szelektált, ötven különböző növényed szerepelt. A vadon élő növényeket nemesítési alapanyagként a Black Sea Agricultural Research Institute (GFAR) kísérleti ültetvényébe telepítették el, a lomblevél mintákat Dr. Sezai Ercisli bocsátotta rendelkezésünkre.

4.2. DNS-kivonás

A genomi DNS-t fiatal, fagyasztott levelekből vagy rügyekből DNeasy Plant Mini Kittel (Qiagen, Hilden, Németország) vontuk ki a gyártó utasítása szerint. A DNS-koncentrációt NanoDrop™ ND-1000 spektrofotométerrel határoztuk meg (Bio-Science, Budapest, Magyarország).

4.3. Az *S*-lókuszc PCR-vizsgálata

Az *S-RN-áz* és *SFB*-allélok amplifikációjához alkalmazott konszenzus és allélspecifikus primerek szekvenciáit az 3. táblázat mutatja. A fragmentumhossz-analízishez az 5' végén FAM vagy JOE fluoreszcens festékkel jelölt forward primert használtunk. A PCR-hez kb. 20–80 ng DNS-t mértünk be 25 µl végtérfogatú reakcióelegybe. Az 1 × PCR puffer (Fermentas, Thermo Fisher Scientific, USA) végső koncentrációja 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl és 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 0,4 µM az adott primerekből és 0,625 U Dream Taq DNS-polimeráz (Fermentas). A PCR-t 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA) típusú és Swift MaxPro thermocycler (ESCO Healthcare, Szingapúr) készülékekben végeztük a primerekhez közölt, eltérő protokollok alapján. A saját tervezésű primereket minden esetben alaposan teszteltük (basic parameters, hairpin, self-dimer és hetero-dimer) az OligoAnalyzer at Integrated DNA Technologies, IDT (<https://eu.idtdna.com/calc/analyzer>) program segítségével. Az *S*₁₃-allélra specifikus restriktív enzim kiválasztásához a TACG programot használtuk (Biology WorkBench, <http://seqtool.sdsc.edu>). A saját tervezésű primerek PCR hőmérsékleti profiljai az alábbi publikációkban érhetők el: Halász és mts., 2008; Halász és mts., 2010a;b; Kodad és mts., 2013a;b; Halász és mts., 2014a.

A PCR-termékeket 1%-os TAE vagy TBE agarózgélben választottuk szét (2 h, 120 V) és etidium-bromidos festéssel, UV-fénnyel átvilágítva tettük láthatóvá, a gélfotót Gel Documentation System (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) eszközzel készítettük. GeneRuler™ 1 kb és 100 bp DNA Ladder (Fermentas) DNS-markert használtunk. Az *S-RN-áz* első intronrégiót tartalmazó PCR-fragmentumok méretének meghatározása ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) automata DNS-szekvenátorral történt GS500 LIZ (Applied Biosystems) méretmarker mellett. A CAPS-markerrendszer használatához Tsukamoto és mts. (2008b; 2010) protokolljait alkalmaztuk.

3. táblázat: Az *S*-lókusz PCR-analíziséhez felhasznált primerek nukleotidsorrendje

Primer neve	Szekvencia 5'–3'	Amplifikált szakasz	Forrás
AprFBC8F	CATGGAAAAAGCTGACTTATGG	kajszi <i>SFB</i> _{C8} -allél	saját tervezésű
AprFBC8R	GCCTCTAATGTCATCTACTCTTAG		
AprSFB-F1	AAGAAWGARAYYTRRRTCGACAT	kajszi <i>SFB</i> gén (forward)	saját tervezésű
AprSFB-R	ATYGAGWAAAACCAWRCTYTC	kajszi <i>SFB</i> gén (reverz)	
SRc-F	CTCGCTTTCCTTGTCTTGC	kajszi <i>S-RN-áz</i> gén 1. intronrégió (forward)	Romero és mts., 2004
SRc-R	GGCCATTGTTGCACAAATTG	kajszi <i>S-RN-áz</i> gén 1. intronrégió (reverz)	Vilanova és mts., 2005
EM-PC1consRD	GCCAYTGTTGMACAAAYTGAA	<i>Prunus S-RN-áz</i> gén 1. intronrégió (reverz)	Ortega és mts., 2005
EM-PC2consFD	TCACMATYCATGGCCTATGG	<i>Prunus S-RN-áz</i> gén 2. intronrégió (forward)	Sutherland és mts., 2004
EM-PC3consRD	AWSTRCCRTGYTTGTTCCATT C	<i>Prunus S-RN-áz</i> gén 2. intronrégió (reverz)	
EM-PC5consRD	CAAAATACCACTTCATGTAACAR		
PaConsI-F	MCTTGTTCTTGSTTTYGCTTTCTTC	kajszi <i>S</i> _{C8} - <i>RN-áz</i> allél (forward)	Sonneveld és mts., 2003
AprSC8R	CTAATAACTAAATGCTAAAGAGCA	kajszi <i>S</i> _{C8} - <i>RN-áz</i> allél (reverz)	saját tervezésű
PaS20-F	CCTTTGGGTATGCTAGATGAAA	kajszi <i>S</i> ₂₀ - <i>RN-áz</i> allél	saját tervezésű
PdS31-F	GGCGCGGAAGCGTATGTGGAGAG	mandula <i>S</i> ₃₁ - <i>RN-áz</i> allél	saját tervezésű
PaConsII-F	GG CCA AGT AAT TAT TCA AAC C	<i>Prunus S-RN-áz</i> gén 2. intronrégió	Sonneveld és mts., 2003
PaConsII-R	CAWAACAAARTACCACTTCATGTAAC		
<i>FaSt</i> -F	GAGATATTTAGTGATATACCCATT	<i>Prunus FaSt</i> transzpozon	saját tervezésű
<i>FaSt</i> -R	GAGATTYAYTAWTATAACC		
PaSFB1-F	TGTCACGTCGACCCTGT	meggy <i>SFB</i> ₁ -allél	
PaSFB1-R	TATTCTTGCCGTTAAGAGTTC		
PcSFB1'-F	GGTTAAATAGTACCGATTTCCGG	meggy <i>SFB</i> ₁ '-allél	
PaSFB1-R	TATTCTTGCCGTTAAGAGTTC		
PcS6-spF	TAACCGCAATACCATCATTCC	meggy <i>S</i> ₆ / <i>S</i> _{6m2} - <i>RN-áz</i> allél	
PcS6-spR	ATTGCATGGTGAGCAAAAAG		
StyS6-F	ATATTTACCACTTCATGGCCCTTG	meggy <i>S</i> ₆ / <i>S</i> _{6m} - <i>RN-áz</i> allél	Tsukamoto és mts., 2008a;b
S6-RNase-spR	GTCTGCAGTTTGGATCGCAGTTG		
MaeS13m-F	GAACAGACACTTAACCAATTACG	meggy <i>S</i> ₁₃ / <i>S</i> _{13m} - <i>RN-áz</i> -allél	
S13-RNase-spR	CTCCAGTTGCCCTTTAATG		
DdeS13-F	TTCAGGCAGTGAAGAATTCTAA	meggy <i>SFB</i> ₁₃ -allél	
SFB13-spR	TGCCCCTATTGTAATCTGTTCTTAG		
SpeS13'-F	GATTCAGGCAGTGAAGAATACTAG	meggy <i>SFB</i> ₁₃ '-allél	
SFB13-spR	TGCCCCTATTGTAATCTGTTCTTAG		
PcS36ab-F	GCTAGCCAACCACTTTTACG	meggy <i>SFB</i> _{36a} -allél	
PcS36a-spR	GAAACCCACATGATACAAACTG		
PcS36ab-F	GCTAGCCAACCACTTTTACG	meggy <i>S</i> _{36a,b3} - <i>S-RN-áz</i> allél	Tsukamoto és mts., 2010
PcS36b/b2/b3-R	ATACATTGTAGGCCAGTCTGTG		
PcS36ab-F2	CTCTCATCTCTCCCTTTGTTG	meggy <i>S</i> _{36a,b2} - <i>S-RN-áz</i> allél	
PcS36ab-R	GGGTGTAATATCGCAATATCTC		

4.4. A PCR-termékek klónozása

A PCR-termékek tisztítását 1%-os TAE agarózgélből QIAquick Gel Extraction Kittel (Qiagen) végeztük. A ligálás egy éjszakán át 4 °C-on 10 µl végtérfigatban történt: 20–50 ng izolált PCR-termék, 3 U T4 DNS-ligáz, 50 ng pTZ57R/T vektor (Thermo Fisher

Scientific). A klónozott fragmentumokkal JM109 *Escherichia coli* (Zymo Research Corp., Irvine, CA, United States) kompetens sejteket transzformáltunk. A teljes ligációs elegyet 80 µl –70 °C-on tárolt kompetens baktériumszuszpenzióval finoman összeráztuk, majd 20 percen át jégen tartva, 45 másodpercig 42 °C-os vízfürdőbe helyeztük, végül jégre tettük 2 percig. Utána 950 µl 37 °C-os folyékony, antibiotikummentes LB táptalajban másfél óráig ráztuk 37 °C-on, 150 rpm fordulatszámmal, majd 100–400 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 mM IPTG-t és 50 mg/ml X-galt oszlattunk szét. A kész plate-eket 37 °C-on inkubáltuk egy éjszakán keresztül.

Mintánként 3–5 db különálló fehér telepet oltottunk le steril fogpiszkálóval, először egy masterplate-re, majd 2 ml folyékony LB/ampicillin táptalajba. Az üvegeket egy éjszakán át 37 °C-on ráztuk 250 rpm fordulaton. Az inszertek ellenőrzését kolónia PCR-rel végeztük M13 primerekkel a klónozó kitben megadott protokoll alapján.

A plazmidokat EZ-10 Spin Column Plasmid DNA kittel (Bio Basic Inc., Markham, Kanada) izoláltuk. A sikeres szekvenáláshoz szükséges 100 ng/µl koncentrációjú DNS-t NanoDrop ND-1000 spektrofotométerrel ellenőriztük. Szekvenciájuk meghatározása szintén ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) automata DNS-szekvenátorral történt. Minden fajta és haplotípus esetében három–négy klón szekvenálását végeztük el mindkét irányban.

4.5. Az adatok kiértékelése

A DNS- és aminosav-szekvenciák homológvizsgálatához az NCBI BLAST szoftverét (Altschul és mts., 1990) és a MegaBLAST algoritmust (Morgulis és mts., 2008) használtuk. Az *S*-allélok többszörös illesztését a CLUSTAL W (Thompson és mts., 1994) programmal hoztuk létre. Az illesztések grafikai bemutatásához és a százalékos szekvenciaegyezés értékének meghatározásához a BioEdit 7.2.5. programot (Hall, 1999) használtuk.

A *FaSt* transzpozon vizsgálatát az Inverted Repeats Database 3.04 (Gelfand és mts., 2007) alkalmazásával végeztük. Az azonosított *FaSt* szekvenciát keresőszekvenciaként használtuk BLASTN analízishez (Altschul és mts., 1990) illetve a BLAT (BLAST-like Alignment Tool) keresésekhez (Kent, 2002) az őszibarack- illetve a Phytozome v13 (Goodstein és mts., 2014) adatbázisban megtalálható további 41 növényi genomszekvenciában.

4.6. SSR-vizsgálatok

A mikroszatellit elemzésekhez a *Prunus* nemzetség különböző fajaira fejlesztett primereket használtuk, összesen 18 genomi SSR és 5 EST-SSR lókuszt választottunk a korábban megjelent publikációk alapján. A kapcsoltsági csoportok lefedésével (G1–G8) 14 őszibarack, 6 mandula és 3 szilva fajra fejlesztett primerpárt alkalmaztunk mandula, kajszi és meggy esetében (4. táblázat). A forward primerek 5' végét FAM fluoreszcens festékkel jelöltük meg. A PCR-elegy összeállítása az *S*-genotipizálásnál ismertetett módon történt, míg a hőmérsékleti profilokat az eredeti leírások alapján állítottuk be.

4. táblázat: Az SSR-analízishez használt primerek jellemzői, a lókusztípusa, a kapcsoltsági csoport és a faj feltüntetésével, amelyben elsőként azonosították

Primer neve	Lókusztípusa	Kapcsoltsági csoport	Faj	Vizsgált faj	Forrás
ASSR 17	EST-SSR	–	mandula	mandula meggy	Xu és mts., 2004
ASSR 27	EST-SSR	–	mandula	mandula	Xu és mts., 2004
ASSR 63	EST-SSR	–	mandula	mandula meggy	Xu és mts., 2004
BPPCT 001	SSR	G2	őszibarack	kajszi, mandula	Dirlewanger és mts., 2002
BPPCT 002	SSR	G2	őszibarack	meggy	Dirlewanger és mts., 2002
BPPCT 004	SSR	G2	őszibarack	meggy	Dirlewanger és mts., 2002
BPTCT 007	SSR	G3	őszibarack	kajszi, mandula	Dirlewanger és mts., 2002
BPPCT 018	SSR	G6	őszibarack	mandula	Dirlewanger és mts., 2002
BPPCT 025	SSR	G6	őszibarack	kajszi, mandula	Dirlewanger és mts., 2002
BPPCT 037	SSR	G5	őszibarack	meggy	Dirlewanger és mts., 2002
BPPCT 038	SSR	G5	őszibarack	kajszi, mandula meggy	Dirlewanger és mts., 2002
BPPCT 039	SSR	G3	őszibarack	meggy	Dirlewanger és mts., 2002
BPPCT 040	SSR	G4	őszibarack	meggy	Dirlewanger és mts., 2002
CPDCT 025	SSR	G3	mandula	kajszi, mandula	Mnejja és mts., 2005
CPPCT 006	SSR	G8	őszibarack	mandula	Aranzana és mts., 2002
CPPCT 022	SSR	G7	őszibarack	mandula	Aranzana és mts., 2002
CPPCT 044	SSR	G2	őszibarack	kajszi, mandula	Aranzana és mts., 2002
CPSCT 012	SSR	G6	szilva	meggy	Mnejja és mts., 2004
CPSCT 018	SSR	G8	szilva	mandula	Mnejja és mts., 2004
CPSCT 021	SSR	G2	szilva	kajszi, mandula meggy	Mnejja és mts., 2004
EPDCU 3083	EST-SSR	G3	mandula	kajszi, mandula	Howad és mts., 2005
EPDCU 5100	EST-SSR	G1	mandula	kajszi, mandula	Howad és mts., 2005
UDP 96005	SSR	G1	őszibarack	kajszi, mandula	Cipriani és mts., 1999

4.7. Filogenetikai és statisztikai analízis

A 90 őszibarack és két kajszi *FaSt* szekvencia elemzéséhez a CLUSTAL W programot (Thompson és mts., 1994) használtuk manuálisan korrigálva. A maximum likelihood analízist MEGA 5.1 szoftverrel készítettük (Tamura és mts., 2011) 1200 bootstrap ismétléssel.

A marokkói kajszi és a vizsgált mandulaegyedek közti genetikai kapcsolatok feltárása érdekében mikroszatellit (SSR) analízist végeztünk. A filogenetikai fát (dendrogram) a Popgene 1.32 programmal (<http://www.ualberta.ca/~fyeh/>) elvégzett UPGMA analízist követően a TREEVIEW program segítségével készítettük el (Page, 1996).

A mandulapopulációk jellemzésére Bayesian alapú STRUCTURE 2.3.4. szoftverrel végzett kiértékelést alkalmaztunk (Pritchard és mts., 2000). Mivel a vizsgált csoportok

különböző nemesítő műhelyekből származnak, illetve vadon élő populációkat is magukba foglaltak, így az “admixture ancestry” és a “correlated allele frequency” paramétereket állítottuk be. A K értéket 1–15 között használtuk, minden futás 10-szeres ismétléssel, a burn-in period 100'000 volt, amit 100'000 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) ismétlés követett. A K érték becsléséhez STRUCTURE Harvester (Earl és von Holdt, 2012) programot használtunk Evanno és mts. (2005) módszere alapján.

A *P. laurocerasus* és más *Prunus* fajok S-RN-áz származtatott aminosavszekvenciáinak illesztését a ClustalW programmal végeztük el (Thompson és mts., 1994). A nem-konzervatív aminosavcsereket a PAM (Percent Accepted Point Mutation) hasonlósági mátrix negatív pontértéke alapján azonosítottuk (Patthy, 2008). A ‘Minimum Evolution’ módszerrel végzett filogenetikai elemzést (Rzhetsky és Nei, 1992) a MEGA v.7.0.26 (Kumar és mts., 2016) szoftverrel hajtottuk végre 1000 bootstrap ismétléssel (Felsenstein, 1985). Az evolúciós távolságok számításához a pozícionkénti aminosavcserek átlagos értékét határoztuk meg a JTT (Jones-Taylor-Thornton) matrix-alapú módszerrel (Jones és mts., 1992). A mutációs gyakoriságok eloszlását a gamma eloszlás módszerével jellemeztük (becsült alakparaméter = 0,8). Az ME törzsfához a Close-Neighbor-Interchange (CNI) algoritmust használtuk (Nei és Kumar, 2000). A felhasznált *Prunus* fajok szekvenciáit az NCBI GenBank adatbázisból töltöttük le (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

4.8. Az adatok kiértékelése

A fragmentumméret-analízis értékelése ABI Peak Scanner 1.0 és Peak Scanner 3.0 szoftverrel történt (Applied Biosystems Sizing Analysis Module). A csoportátlag (UPGMA) klaszteranalízist a Popgene 1.32 (<http://www.ualberta.ca/~fyeh/>) programmal végeztük. A dendrogramot a TREEVIEW programmal készítettük (Page, 1996). A bootstrap értékeket 1000 ismétlésre állítottuk a Paleontological Statistics (PAST) szoftver v.2.17c (Hammer és mts., 2001) segítségével. A PopGene 1.32 szoftver (Yeh és mts., 1997) alkalmazásával számítottuk ki a megfigyelt heterozigótaság (observed heterozygosity H_o), várható heterozigótaság (expected heterozygosity H_e), allélok száma (number of alleles N_a), Shannon index (J), fixációs index (fixation index F_{ST}), beltenyésztési együttható (inbreeding coefficient F_{IS}), és génáramlás (gene flow $N_m = 0.25(1-F_{ST})/F_{ST}$ értékeket. A választott markerek információtartalmához a PIC értékeket az Anderson és mts. (1993) által meghatározott képlettel számoltuk ki.

A molekuláris varianciaanalízist (AMOVA) a GenAlEx 6.503 program segítségével végeztük el (Peakall és Smouse, 2012), az F_{ST} és R_{ST} értékek összehasonlításához. Manteltesztet használtunk az összefüggések jellemzésére: földrajzi és genetikai távolság, a földrajzi távolság és R_{ST} , valamint az F_{ST} és R_{ST} értékek között. Az elemzett populációk közötti páronkénti földrajzi távolságokat az egyes helyszínek szélességi és hosszúsági foka szerint számítottuk ki a Vincenty képlettel (<http://www.movable-type.co.uk/scripts/latlong-vincenty.html>). Meggy esetében a csoportátlag (UPGMA) klaszteranalízist az R 'poppr' programmal végeztük (R Core Team, 2013) 10 000 bootstrap ismétléssel (Nei, 1972; 1978). A Minimum Spanning Network (MSN) analízishez a Bruvo genetikai távolságszámítást alkalmaztuk (Bruvo és mts., 2004; Linde és Smith, 2019).

4.9. Szabadszíri tesztkeresztezesek

A mesterséges megporzási vizsgálatokat mandulánál az egykori tanszékünk (BCE) szigetcsépi ültetvényében, kajszinál marokkói oázisokban, illetve szilvánál egy kemenessömjéni ültetvényben végeztük. Az öntermékenyülési képesség vizsgálatához geitonogámiát alkalmaztunk. A pollenbegyűjtés zárt virágból, fehérbimbós állapotban történt. Az anyanövények virágait csipesz segítségével fehérbimbós állapotban kasztráltuk, fajtánként 50–170 db-ot. A megporzott bibék számát és helyzetét minden esetben feljegyeztük. A kötődött gyümölcsök arányát többször ellenőriztük, majd a 8. héten, illetve a fajta érési idején rögzítettük. Az öntermékenyülési képességet mandulánál a ‘Nyikitszkij 2240’ ($S_{36}S_{37}$) fajta, kajszinál 19 helyi marokkói genotípusnál, illetve szilvánál a ‘Nemtudom P3’ fajta esetében vizsgáltuk. Kompatibilitási vizsgálatot az alábbi kombinációkban végeztünk: ‘Szigetcsépi 55’ (3/9) ($S_{11}S_{31H}$) × ‘Eriane’ (4/9) ($S_{11}S_{31H}$); ‘Eriane’ (4/9) ($S_{11}S_{31H}$) × ‘Szigetcsépi 55’ (3/9) ($S_{11}S_{31H}$); ‘Nyikitszkij 3576’ ($S_{36}S_{37}$) × ‘Óriás kagyló’ (4/4) ($S_{36}S_{37}$); ‘Nyikitszkij 3576’ ($S_{36}S_{37}$) × ‘Nyikitszkij 2240’ ($S_{36}S_{37}$); ‘Nyikitszkij 2240’ ($S_{36}S_{37}$) × ‘Moldavszkij 810’ (S_6S_{28}).

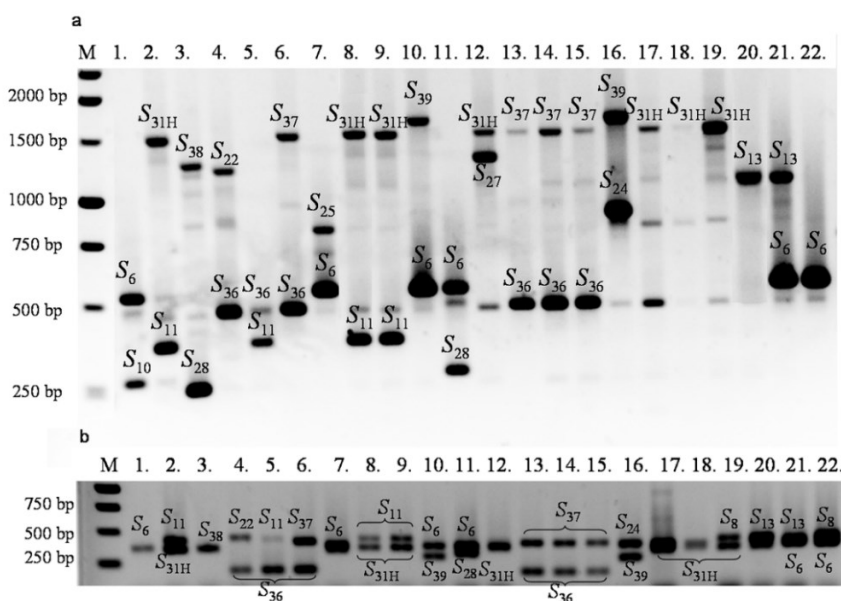
5. EREDMÉNYEK

5.1. A mandula [*Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb; syn. *P. amygdalus* Batsch] genetikai vizsgálatának eredményei

5.1.1. Magyar és kelet-európai mandulafajták, valamint kaliforniai fajtajelöltek *S*-genotípusának meghatározása, inter-inkompatibilitási csoportokba sorolása

Korábbi munkákban kaliforniai, francia, spanyol és olasz mandulafajták *S*-genotípusait határozták meg (Tamura és mts., 2000; López és mts., 2004; Sánchez-Pérez és mts., 2004; Ortega és mts., 2006), de a kelet-európai és magyar fajtákról nem volt elérhető információ. A tanszékünk soroksári génbankjában fenntartott ismert és jelentős fajták, illetve nemesítési alapanyagként felhasználható genotípusok *S*-allél-összetételének meghatározásával kezdtük el felmérni a magyar és más mandulafajták termékenyülését meghatározó genetikai hátteret.

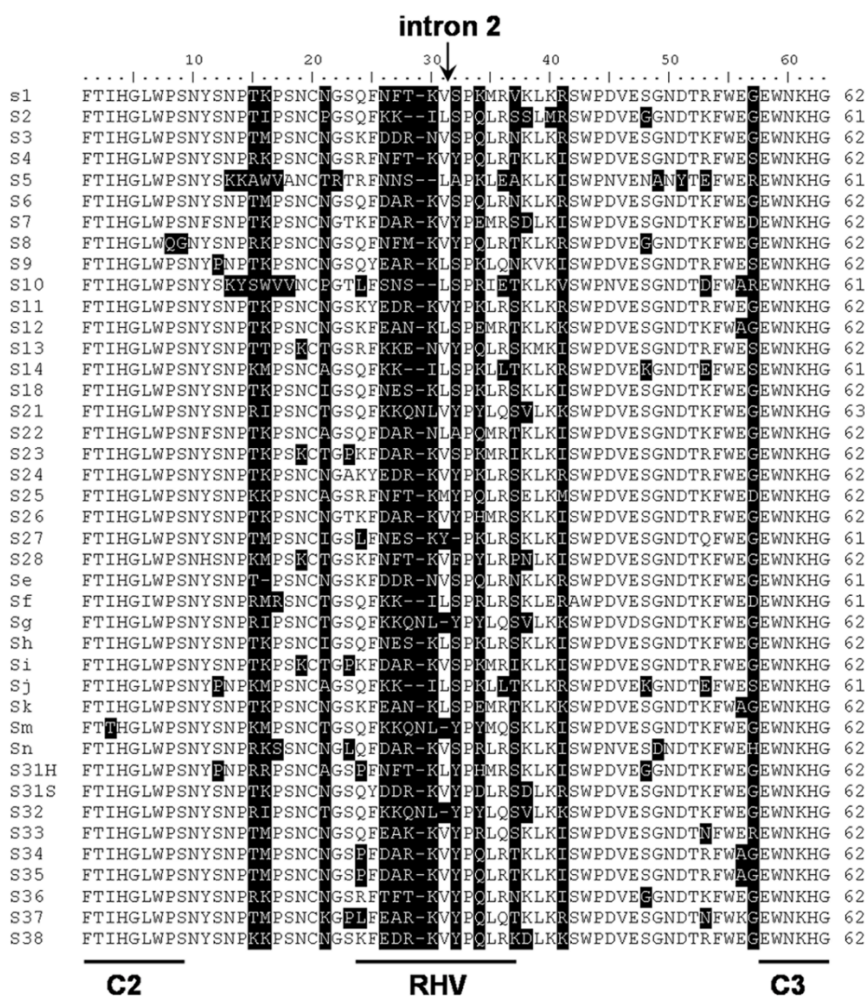
Összesen 22 fajta és hibrid *S*-*RN-áz* gén alapú markerizését végeztük el mindkét intronrégió hosszpolimorfizmusának meghatározásával, eredményeinket Ortega és mts. (2005), illetve Kodad és mts. (2008) adataival vetettük össze. A 2. intronrégióra tervezett primerek a legtöbb esetben két PCR-fragmentumot eredményeztek, kivéve a 13/1 és 23/1 hibrideknél, valamint a ‘Tétényi bőtermő’, ‘Tétényi rekord’ és ‘Tétényi kedvenc’ fajtáknál, ahol egy fragmentumot detektáltunk (13. ábra). A képződött fragmentumok 14-féle méretet reprezentáltak, 296 bp és 1620 bp méretek között. A három ‘Nyikitszkij’ klón és az ‘Óriás kagyló’ (4/4) azonos mintázatot mutatott, csakúgy, mint a két ‘Eriane’ (4/9 és 4/11) és a ‘Szigetcsépi 55’. Ugyanakkor az azonos néven nyilvántartott két ‘Óriás kagyló’ minta eltérő mintázatot adott.



13. ábra: Mandulafajták és génbanki tételek EM jelű, a *Prunus S-RN-áz* gén második (a) és első (b) intronrégióját amplifikáló, konszenzus primerekkel végzett PCR-vizsgálatának eredménye. M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific); 1. ‘Szigetcsépi 58’ 3/15, 2. ‘Szigetcsépi 55’ 3/9, 3. ‘Szigetcsépi 55’ 52/18, 4. ‘Szigetcsépi 92’ 6/26.; 5. ‘Vinoszlivij’ 7/22, 6. ‘Óriás kagyló’ 4/4, 7. ‘Óriás kagyló’ 4/3, 8. ‘Eriane’ 4/11, 9. ‘Eriane’ 4/9, 10. ‘Marie Dupuy’ 4/15, 11. ‘Moldavszkij 810’ 5/8, 12. ‘Moldavszkij 812’ 5/13, 13. ‘Nyikitszkij 707’ 4/5, 14. ‘Nyikitszkij 3576’ 6/6, 15. ‘Nyikitszkij 2240’ 7/10, 16. ‘Pozdnij’ 5/2, 17. 13/1 klón 50/5, 18. 23/1 klón 51/8, 19. ‘Tétényi bőtermő’, 20. ‘Tétényi rekord’, 21. ‘Tétényi keményhéjú’, 22. ‘Tétényi kedvenc’ (Halász és mts., 2010a).

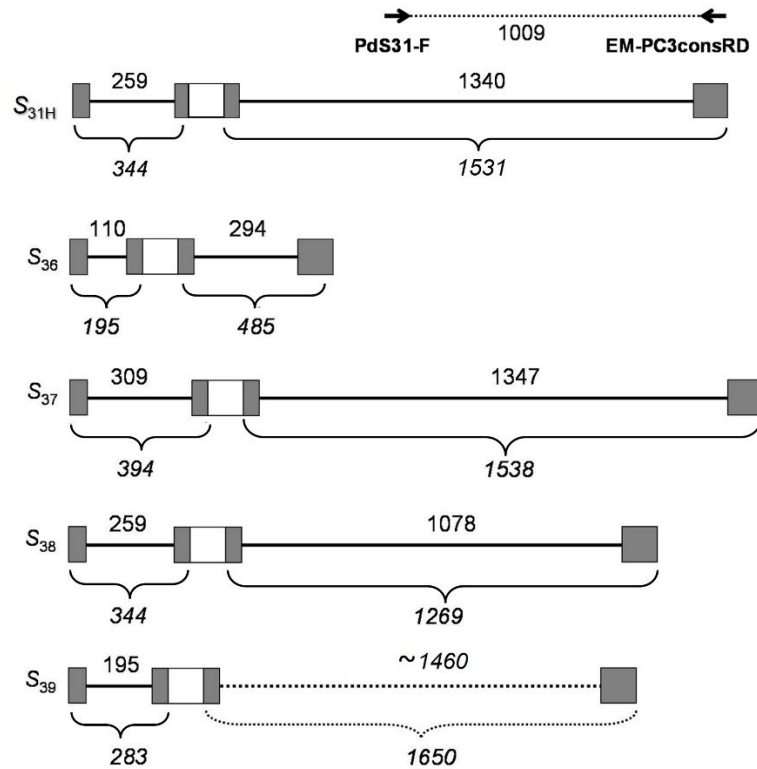
Az 1. intronrégió fragmentumméreteit automata szekvenátorral határoztattuk meg. A kromatogramokon két csúcs jelent meg 19 mintánál, míg a 'Tétényi rekord' és a 13/1, valamint a 23/1 hibridek csak egy csúcsot mutattak. Az előző markerrel azonos mintázatot adó fajták ebben az esetben is azonos méretű fragmentummal voltak jellemezhetőek. A 'Tétényi bőtermő' fajtánál az Ortega és mts. (2005) által az S_9 -allél esetében megadott méretekhez nagyon hasonló értékeket határoztunk meg, 1. intron: 345 bp (az S_9 esetében: 348 bp), 2. intron: kb. 1550 bp (az S_9 esetében: 1560 bp). Mivel S_9 -allélt hordozó fajta nem állt rendelkezésre, klónozást követően mindkét fragmentumot megszekvenáltattuk és az NCBI BLASTN analízis alapján egyik korábban azonosított mandula S -alléllal sem volt azonos az izolált DNS-régió, ezért S_{31} néven új allélként írtuk le. A fragmentumhossz-analízis (345 bp) és szekvenálás alapján (344 bp) kapott 1 nukleotidnyi eltérés a fluorszcens JOE festék használatából adódik. Az S_9 - és S_{31} -allélok származtatott aminosav-sorrendje az RHV régióban mutatta a legtöbb eltérést, továbbá a 2. intron három nukleotiddal hosszabb volt. Ugyanakkor az intronszekvenciák azonossága mindössze 47,6%. Az 1. intron esetében is csak négy nukleotidnyi eltérés tapasztalható a szekvenciák alapján, ami azt jelenti, hogy a két allél közti különbség az ILP-alapú markerek segítségével megbízható módon nem mutatható ki. Emiatt S_{31} -allél-specifikus forward primert terveztünk (PdS31-F) a 2. intronszekvencia alapján, ami az EM-PC3consRD reverz primerrel együtt alkalmazva csak az S_{31} -allél jelenléte esetén eredményez egy 1000 bp méretű PCR-terméket. Eredményeink közzétételével egyidőben Kodad és mts. (2008) 5 új S -allélt azonosítottak spanyol fajtákban, melyeket S_{31} – S_{35} néven jelölték. Ez azt jelenti, hogy homonimaként ugyanazon néven két eltérő allél jelent meg az adatbázisokban, így javaslatunk alapján a magyarországi allél jele a továbbiakban S_{31H} , míg a Mallorca-szigetéről származó 'Pou de Felanitx' fajtából ismert allél neve S_{31S} . Az allélspecifikus primer az alábbi fajtáknál adott további pozitív eredményt: 'Szigetcsépi 55' (3/9), 'Eriane' (4/9 és 4/11), 'Moldavszkij 812', 13/1 és 23/1 hibridek.

Az ismert méretektől további eltérő adatokat mutató DNS-fragmentumokat klónozást követően megszekvenáltattuk és igazoltuk az új allélok jelenlétét. Az S_{35} -tel végződő allélsort (Kodad és mts., 2008) követve az S_{36} a 'Szigetcsépi 92', 'Vinoszlivij', 'Óriás kagyló' (4/4) és 'Nyikitszkij' klónokban; az S_{37} az 'Óriás kagyló' (4/4) és 'Nyikitszkij' klónokban; az S_{38} a 'Szigetcsépi 55' (58/12) és az S_{39} a 'Marie Dupuy' és 'Pozdnij' fajtákban található. Az új allélok szekvenciáját az FJ529211–FJ529214 azonosítószámok alatt nyújtottuk be az NCBI adatbázisba. A származtatott aminosavsorrend mindegyik allél esetében eltérő RHV-régiót mutatott, ami alátámasztja a géntermékek allélspecifikus működését (14. ábra).



14. ábra: Az NCBI adatbázisban fellelhető összes, korábban közölt mandula *S*-RN-áz, illetve az újonnan azonosított allélok részleges, származtatott aminosav-szekvenciájának illesztése. A gén C2 és C3 konzervatív régióit, valamint a hipervariábilis régiót aláhúzással (RHV) jelöltük (Ushijima és mts., 1998 alapján). A fekete háttér az egyes allélokban előforduló nem konzervatív aminosav-cseréket jelöli. A 2. intron pozícióját nyíl mutatja (Halász és mts., 2010a).

Meghatároztuk az új allélok szerkezeti jellegzetességeit. Az első intron egyes fázisú, a második intron nulla fázisú mindegyik allél esetében. Mindkét intron méretbeli variabilitást mutat, melynek pontos adatait a 15. ábra foglalja össze. Ezen információ alapján az *S*-genotipizálás az ILP markerezés alapelvei szerint kivitelezhető. Munkánk során összesen 19 fajta teljes és 3 fajta részleges *S*-genotípusát határoztuk meg.



15. ábra: Az újonnan azonosított mandula *S-RN-áz* allélok szerkezete. A téglalapok az exonokat, a vonalak az intronokat jelölik. Az 1. intronrégió méreteit fragmentumhossz-analízissel, a 2. intronrégió méreteit szekvenálással (az exonok megszekvenált részleteit szürke szín jelzi), illetve az S_{39} esetében agaróz gélelektroforézis alapján becsléssel határoztuk meg. A pontos intronméretek (bp) a vonalak felett láthatók. A vonalak alatti számok a PaConsI-F/EM-PC1consRD (1. intronrégió) és EM-PC2consFD and EM-PC3consRD (2. intronrégió) primerpárokkal amplifikált PCR-termékek méretét mutatják. A szekvenálással jellemzett intronokat folytonos, míg a becsült méretű intront szaggatott vonal mutatja. Az S_{31} -allél kimutatására alkalmas specifikus (PdS31-F) és konszenzus primerek kötődési helyeit nyilak jelzik (Halász és mts., 2008; 2010a).

Az ‘Óriás kagyló’ (4/4) és ‘Nyikitszkij’ fajtákban azonosított, S_{36} és S_{37} névvel jelölt *S-RN-áz* allélok funkcióképességének igazolására szabadföldi tesztkeresztezéseket végeztünk. A PCR-mintázat alapján azonos *S*-genotípusúnak vélt fajták tesztkeresztezései minden esetben bizonyították a kölcsönös inkompatibilitás fennállását, így a három ‘Nyikitszkij’ klón kölcsönös inkompatibilitása is igazolódott (5. táblázat). A ‘Szigetcsépi 55’ (3/9) és ‘Eriane’ (4/9) fajták keresztezése mindkét irányban inter-inkompatibilitást mutatott, csakúgy, mint a ‘Nyikitszkij 3576’ × ‘Óriás kagyló’ (4/4) kombináció, míg a kontrollként használt ‘Nyikitszkij 2240’ × ‘Moldavszkij 810’ keresztezés kompatibilisnek bizonyult. Ennek megfelelően két új inter-inkompatibilitási csoport (CIG) létezését tudtuk kimutatni és funkcionális vizsgálatokkal is megerősíteni.

5. táblázat: Mandula fajtapárok irányított keresztezését követő gyümölcskötődési arány megállapítása (Szigetcsép, 2008)

♀ (Anyanövény)	♂ (Pollenadó)	Megporzott virágok száma	Gyümölcskötődés (%)	Kompatibilitás
‘Szigetcsépi 55’ (3/9) ($S_{11}S_{31H}$)	‘Eriane’ (4/9) ($S_{11}S_{31H}$)	64	3,1	inkompatibilis
‘Eriane’ (4/9) ($S_{11}S_{31H}$)	‘Szigetcsépi 55’ (3/9) ($S_{11}S_{31H}$)	68	2,7	inkompatibilis
‘Nyikitszkij 2240’ ($S_{36}S_{37}$)	‘Nyikitszkij 2240’ ($S_{36}S_{37}$)	70	2,5	inkompatibilis
‘Nyikitszkij 3576’ ($S_{36}S_{37}$)	‘Óriás kagyló’ (4/4) ($S_{36}S_{37}$)	71	1,6	inkompatibilis
‘Nyikitszkij 3576’ ($S_{36}S_{37}$)	‘Nyikitszkij 2240’ ($S_{36}S_{37}$)	50	0	inkompatibilis
‘Nyikitszkij 2240’ ($S_{36}S_{37}$)	‘Moldavszkij 810’ (S_6S_{28})	61	24,5	kompatibilis

Az egyik legnevesebb kaliforniai mandulanemesítő műhely, a United States Department of Agriculture (USDA) Agricultural Research Service (Parlier) 10 új fajtajelöltjének S -genotípus meghatározására kaptunk felkérést, melyek közül öt ÖM, öt pedig ÖT fenotípusú. Az ÖT ‘Tuono’ utódnemzedékéből származó hibridek mindegyikében megerősítettük az S_F -allél jelenlétét az ILP-markerezés során. A 23.5-16 hibridben azonosítottuk az S_5 -allélt, de a másik allélt az ismert adatokból nem tudtuk meghatározni. Az 1. intronrégió 304 bp méretet mutatott, míg a 2. intronrégió a használt primerek egyikével sem amplifikálódott. Ezért az 1. intronrégió PCR-termékét klónozást követően megszekvenáltattuk. A szignálpeptidtől a 2. konzervatív régióig terjedő szekvenciaszakasz a vizsgálat idején egyik ismert *P. dulcis* alléllal sem volt azonos, és a *P. tenella* S_7 -RN-áz-alléllal mutatta a legnagyobb mértékű hasonlóságot. A két szekvencia fehérjekódoló régiója mindössze egy szubsztitúciót (SNP) tartalmaz, mely nem okoz aminosavcserét. Emiatt a fajtajelölt genotípusának leírását S_5S_{17} jelöléssel adtuk meg, az S_{17} -allél részleges szekvenciáját KC800707 azonosító alatt benyújtottuk az NCBI adatbázisba. Az S_8 volt a leggyakoribb, öt fajtajelöltben is megtalálható allél. Az S_{14} -, S_{18} - és S_{27} -allélokot egy-egy hibridben találtuk meg, melyek a korábban vizsgált közép-európai növényanyagban nem voltak jelen. A teljes S -genotípusok megállapítása alapján (6. táblázat) a fajtajelöltek inkompatibilitási csoportokba történő besorolását megtettük, és egy új kölcsönösen meddő csoportot is azonosítottunk, melyet a 5627-6 kaliforniai hibrid és a kései virágzású ‘Titan’ fajta alkotnak, genotípusuk S_8S_{14} .

6. táblázat: A vizsgált 32 mandula eredete, pedigréje, valamint az PCR-rel amplifikált egyes intronrégiók méretei, illetve az azonosított *S*-genotípusok

Fajták, hibridek ¹	Származás	Pedigré	1. intronrégió (bp) ²	2. intronrégió (bp) ³	<i>S</i> -genotípus	CIG
‘Szigetcsépi 58’	magyar	‘Diósdí félpapírhéjú’ szabad megporzásból nyert magonca	361; 312	<u>550</u> ; 300	<i>S</i> ₆ <i>S</i> ₁₀	XLVII
‘Szigetcsépi 55’ (3/9)	magyar	‘Burbank magonca’ fajta szabad megporzásból nyert magonca	417; 347	<u>380</u> ; 1540	<i>S</i> ₁₁ <i>S</i> _{31H}	XXVII
‘Szigetcsépi 55’ (52/18)	magyar	‘Burbank magonca’ fajta szabad megporzásból nyert magonca	314, <u>344</u>	300; <u>1269</u>	<i>S</i> ₂₈ <i>S</i> ₃₈	0
‘Szigetcsépi 92’	magyar	‘Diósdí félpapírhéjú’ szabad megporzásból nyert magonca	408; 195	1200; <u>485</u>	<i>S</i> ₂₂ <i>S</i> ₃₆	0
‘Vinoszlivij’	ukrán	ismeretlen	417; 195	380; 485	<i>S</i> ₁₁ <i>S</i> ₃₆	0
‘Óriás kagyló’ (4/4)	magyar	gyűjteményes fajta, ismeretlen eredetű	<u>195</u> ; <u>394</u>	<u>485</u> ; <u>1538</u>	<i>S</i> ₃₆ <i>S</i> ₃₇	XXVIII
‘Óriás kagyló’ (4/3)	magyar	gyűjteményes fajta, ismeretlen eredetű	<u>361</u> ; 327	<u>550</u> ; <u>824</u>	<i>S</i> ₆ <i>S</i> ₂₅	0
‘Eriane’ (4/9)	francia	ismeretlen	417; 347	<u>380</u> ; 1540	<i>S</i> ₁₁ <i>S</i> _{31H}	XXVII
‘Eriane’ (4/11)	francia	ismeretlen	417; 347	<u>380</u> ; 1540	<i>S</i> ₁₁ <i>S</i> _{31H}	XXVII
‘Marie Dupuy’	francia	ismeretlen	<u>361</u> ; <u>283</u>	550; 1650	<i>S</i> ₆ <i>S</i> ₃₉	0
‘Moldavszkij 810’	moldáv	helyi szelekció	361; 314	<u>550</u> ; <u>296</u>	<i>S</i> ₆ <i>S</i> ₂₈	0
‘Moldavszkij 812’	moldáv	helyi szelekció	375; 347	1630; 1540	<i>S</i> ₂₇ <i>S</i> _{31H}	0
‘Nyikitszkij 707’	ukrán	helyi szelekció	<u>195</u> ; <u>394</u>	<u>485</u> ; <u>1538</u>	<i>S</i> ₃₆ <i>S</i> ₃₇	XXVIII
‘Nyikitszkij 3576’	ukrán	helyi szelekció	<u>195</u> ; <u>394</u>	<u>485</u> ; 1538	<i>S</i> ₃₆ <i>S</i> ₃₇	XXVIII
‘Nyikitszkij 2240’	ukrán	helyi szelekció	195; 394	485; 1538	<i>S</i> ₃₆ <i>S</i> ₃₇	XXVIII
‘Pozdnij’	ukrán	helyi szelekció	384; <u>283</u>	880; 1650	<i>S</i> ₂₄ <i>S</i> ₃₉	0
13/1 hibrid	magyar	‘Szigetcsépi 58’ × ‘Alföldi mandula’	347	1540	<i>S</i> _{31H}	–
23/1 hibrid	magyar	‘Szigetcsépi 58’ × ‘Alföldi mandula’	347	1540	<i>S</i> _{31H}	–
‘Tétényi bőtermő’	magyar	‘Burbank magonca’ fajta szabad beporzásából nyert magonca	<u>412</u> ; 347	–; 1540	<i>S</i> ₈ <i>S</i> _{31H}	0
‘Tétényi rekord’	magyar	‘Budatétényi 6’ jelű fajtajelölt szabad megporzású magonca	389	<u>1092</u>	<i>S</i> ₁₃	–
‘Tétényi keményhéjú’	magyar	‘Budatétényi 6’ × ‘Budatétényi 7’	361; 389	<u>550</u> ; <u>1092</u>	<i>S</i> ₆ <i>S</i> ₁₃	0

Fajták, hibridek ¹	Származás	Pedigré	1. intronrégió (bp) ²	2. intronrégió (bp) ³	S-genotípus	CIG
‘Tétényi kedvenc’	magyar	‘Budatétényi 6’ × ‘Budatétényi 7’	361; <u>412</u>	550; –	S ₆ S ₈	X
23-122	kaliforniai	Agricultural Research Service ÖM szelekciója	293; 360	330	S ₅ S ₇	III
23.5-16	kaliforniai	Agricultural Research Service ÖM szelekciója	293; <u>304</u>	330; –	S ₅ S ₁₇	0
5627-6	kaliforniai	Agricultural Research Service ÖM szelekciója	412; 1100	–;1050	S ₈ S ₁₄	új ⁴
82-73	kaliforniai	Agricultural Research Service ÖM szelekciója	360; 412	1720; –	S ₇ S ₈	I
K10-26	kaliforniai	Agricultural Research Service ÖM szelekciója	293; 412	330; –	S ₅ S ₈	V
Y113-125	kaliforniai	Agricultural Research Service ÖT szelekciója a ‘Tuono’ utódnemzedékéből	417; 412	850; –	S _f S ₈	
Y114-165	kaliforniai	Agricultural Research Service ÖT szelekciója a ‘Tuono’ utódnemzedékéből	417; 299	850; 350	S _f S ₁₈	
Y121-1	kaliforniai	Agricultural Research Service ÖT szelekciója a ‘Tuono’ utódnemzedékéből	417; 412	850; –	S _f S ₈	
Y121-61	kaliforniai	Agricultural Research Service ÖT szelekciója a ‘Tuono’ utódnemzedékéből	417; 378	850; 1360	S _f S ₂₇	
Y116-161-99	kaliforniai	Agricultural Research Service ÖT szelekciója a ‘Tuono’ utódnemzedékéből	417; 293	850; 330	S _f S ₅	

¹ A fajtanévhez vagy klónhoz tartozó számok az aposztróf jelek között találhatóak, a zárójelben írt számok a szigetcsépi ültetvény génbanki azonosítói.

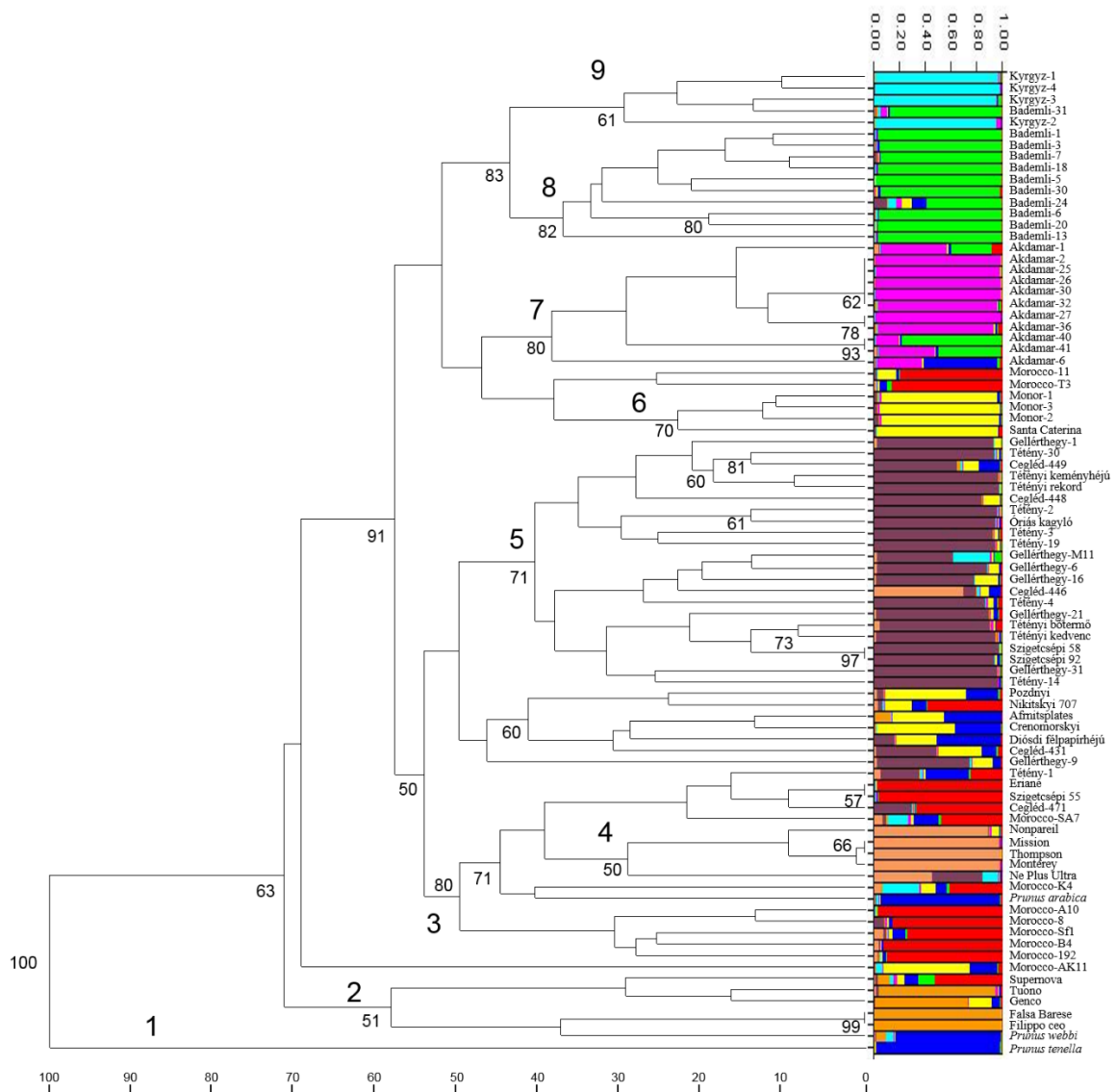
² A PaConsI-F / EM-PC1consRD primerpárral (Sonneveld és mts., 2003; Ortega és mts., 2005) amplifikált fragmentumok méretét automata szekvenátorral határoztattuk meg. Az aláhúzott adatok szekvenálásból származnak.

³ A EM-PC2consFD / EM-PC3consRD primerpárral (Sutherland és mts., 2004) amplifikált fragmentumok méretét agaróz gélelektroforézis alapján becsültük, míg az aláhúzott adatok szekvenálásból származnak.

⁴ Új inkompatibilitási csoportot képez a ‘Titan’ fajtával.

5.1.2. A magyar és a világ jelentősebb termőterületeiről származó mandulafajták genetikai variabilitásának jellemzése

Az önmeddőség genetikai hátterének vizsgálatával párhuzamosan sor került a világ fő mandulatermesztő körzeteiből származó fajták és génbanki anyagok genetikai variabilitásának molekuláris markerekkel történő jellemzésére is. Számos közép- illetve kelet-európai és ázsiai tétel jellemzését követően a gazdaságos termesztés északi határát képviselő Magyarország egyre bántóbb vakfoltként jelent meg a térképen. A megoldás érdekében hazánk legfontosabb fajtáit és génbanki teteleit a legjelentősebb termőterületekről származó információk összevetésével kívántuk orvosolni egy nemzetközi együttműködés keretében (marokkói, török és USA-beli kollégák részvételével).



16. ábra: Összesen 86 mandulafajta és -genotípus genetikai távolságát bemutató törzsfajta 15 SSR marker alapján. A dendrogram hasonlósági mátrixon alapuló UPGMA analízissel készült (Nei és Li, 1979). Az elágazási pontokon az 50%-nál nagyobb bootstrap értékeket tüntettük fel (% , $n=1000$). Az egyes egyedek színes diagramjai STRUCTURE 2.3.4. szoftverrel készültek. A 9 elkülönült populációt eltérő színek jelzik, a kládokat a dendrogramon számmal jelöltük (1-9). Az egyedek színek jelzik utalnak genetikai összetételükre. A többszínű sávok kevert genetikai hátteret mutatnak (Halász és mts., 2019).

A vizsgált növényanyagban szerepeltek magyar és ukrán fajták, hibridek, felhagyott ültetvényekből származó fák a Tétényi-fennsíkról és a Gellért-hegyről, alanymag-termő fák Ceglédre, illetve idős fák Monorról, kaliforniai fajták, Törökországból, az Erzurum régió északi részén fekvő Bademli községből és a Van-tó Akdamar nevű szigetéről, a Földközi-tenger marokkói partvidékéről származó egyedek, a kirgizisztáni Osh város környékén vadon előforduló fák, valamint három vad mandulafaj (*P. tenella*, *P. webbii*, *P. arabica*) egy-egy egyede. Összesen 86 genotípust jellemeztünk 11 olyan genomi és 4 EST-SSR lókuszból, melyek más minták vizsgálatakor nagy mértékű variabilitást tártak fel. A 15 primerpár 238 allél kimutatását tette lehetővé, lókuszonként 4 és 21 között változott az allélszám. Az amplifikált fragmentumok mérete 86 és 230 bp között változott. A genomi SSR-markerek (193 allél) polimorfizmusa nagyobb mértékű volt, mint az EST-markereké (45 allél). A legnagyobb PIC érték (polymorphism information content, a polimorfizmus kimutathatóságának hatékonyságát jellemző paraméter) a BPTCT007 lókuszból volt (0,90), míg a legkisebb az EPDCU 5100 lókuszból (0,17). A növények genetikai rokonságának jellemzésére a hasonlósági mátrixon alapuló UPGMA csoportátlag módszert használtuk (Nei és Li, 1979). A hasonlóság mértéke 0,03 (*P. tenella* és 'Ne Plus Ultra') és 1,00 (három genotípus a törökországi Akdamar-szigetről) között volt, míg az átlagérték 0,29. A dendrogramon a földrajzi eredet és a pedigre alapján rendeződtek klaszterekbe a vizsgált minták (16. ábra), a *P. tenella* vad faj külcsoportot képez. Nagymértékű bootstrap támogatottsággal az alábbi csoportok különültek el: kirgizi, akdamari, bademli, magyar, monori, olasz, marokkói, kaliforniai és a vad fajok képviselői. A STRUCTURE analízis során az Evanno módszerrel nyert K érték 9 volt, ami megfelelt a klaszteranalízis eredményeinek, de ezen túl néhány kevert (admixed) genetikai hátterű egyed azonosítása is lehetővé vált (minden ukrán és néhány kaliforniai, magyar és marokkói genotípus esetében).

Az AMOVA analízis jelentős genetikai variabilitást mutatott az egyes populációkon belül (71,30%), valamint a populációk között is (28,70%). A magyar (8,45) és marokkói (7,09) csoportokban mutatkozott a legnagyobb allélszám, míg a legkisebb a kaliforniai fajtánál (3,09), ráadásul a legtöbb egyedi allél is a magyar genotípusokban volt jelen, míg a kaliforniai fajtákban nem mutattunk ki egyedi allélokat. A legnagyobb megfigyelt heterozigótaság (H_o) a török akdamari állományra volt jellemző (0,77), míg a legkisebb az öntermékenyülő olasz fajtákra (0,58). A populációk differenciáltságának mérésére szolgáló fixációs index (F_{ST}) 0,38 (Akdamar) és 0,55 (magyar) között változott, míg a génáramlás ezzel ellentétes módon. A Mantel-teszt a földrajzi és genetikai távolságok között nem mutatott szignifikáns összefüggést ($R_{xy} = 0,173$; $P = 0,226$). A beltenyésztési együttható (F_{IS}) csak a kaliforniai és Akdamar-szigeti csoportban adott negatív értékeket. Az öt egyednél nagyobb csoportok 15 SSR-lókuszelemzése alapján vizsgált paramétereit a 7. táblázatban foglaltuk össze.

7. táblázat: Az öt egyednél nagyobb populációk genetikai variabilitását jellemző paraméterek 15 SSR-lókusz elemzése alapján (STRUCTURE 2.3.4., PopGene 1.32)

Populációk	Magyarországi	Kaliforniai	Akdamar-szigeti, Törökország	Bademli-régióbeli, Törökország	Marokkói	Öntermékenyülő fajták
Átlagos allélszám (N_a)	8,45	3,09	4,45	5,09	7,09	3,63
Egyedi allélok átlaga	1,36	0,00	0,36	0,73	0,46	0,27
Shannon-index (I)	1,65	0,88	1,17	1,28	1,60	1,06
Elméletileg várt heterozigótaság (H_e)	0,74	0,55	0,64	0,66	0,75	0,64
Megfigyelt heterozigótaság (H_o)	0,66	0,60	0,77	0,61	0,66	0,58
Wright-féle fixációs index (F_{ST})	0,55	0,39	0,38	0,52	0,54	0,50
Beltenyésztési együttható (F_{IS})	0,11	-0,09	-0,20	0,08	0,12	0,09
Génáramlás (N_m)	0,21	0,39	0,42	0,23	0,21	0,25
Mintaszám	27	5	11	11	11	5

5.2. A kajsz (Prunus armeniaca L.) genetikai vizsgálatának eredményei

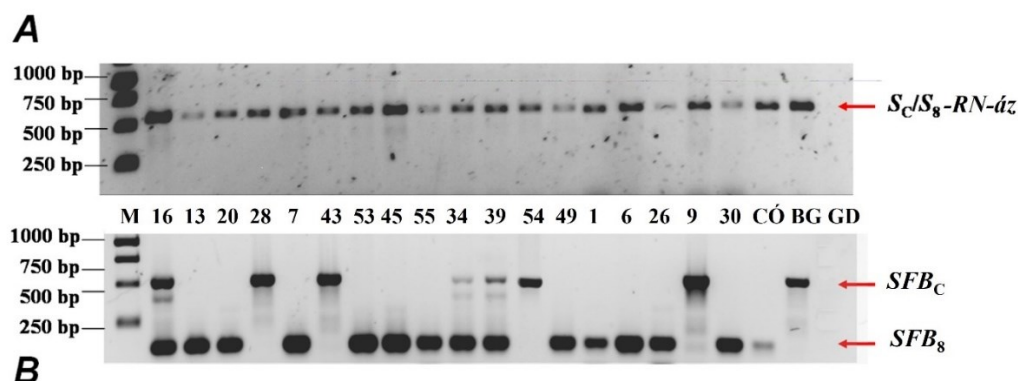
5.2.1. A kajsz S-lókuszának variabilitása Törökország területén

Csoportunk és más kutatók korábbi SSR-alapú molekuláris vizsgálatai arra utaltak, hogy az európai és magyar kajszifajták az iráni-kaukázusi fajták közti hibridizációval jöhettek létre (Maghuly és mts., 2005). Ezt a feltételezést történelmi és nyelvi bizonyítékok is alátámasztják. A magyarországi oszmán megszállás másfél évszázada alatt több feljegyzés is készült a török szaporítóanyagok Magyarországra történő behozataláról (Faust és mts., 1998). Ennek alapján úgy gondoltuk, a török kajszifajták S-genotípusának vizsgálata bizonyítékokkal szolgálhat a török és magyar kajsz közötti kapcsolatok feltárására, mely segíthet felmérni hazánkban a kajsz nemesítésének lehetőségeit és korlátait, valamint pontosabban megismerni a faj kultúrevolúciós történetét.

Az összesen 55, Törökország különböző tartományaiból származó, aszalásra vagy frissfogyasztásra alkalmas gyümölcsöt termő fajta S-genotípusának meghatározásához az S-RN-áz gén 1. (SRc-F/R) és 2. intronrégióját (EM-PC2consFD és EM-PC3consRD) amplifikáló primereket alkalmaztuk (Sutherland és mts., 2004; Vilanova és mts., 2005;). Az adatok kiértékeléséhez a Vilanova és mts. (2005), valamint Halász és mts. (2007b) által meghatározott amplikonméreteket, illetve néhány esetben kontrollfajtákat ('Moniquí': S₂S₆, 'Sunglo': S₂S₃, 'Mari de Csanád': S_CS₁₉; 'Bergeron': S_CS₂, 'Ceglédi óriás': S₈S₉) használtunk (Burgos és mts., 1998; Halász és mts., 2005). A 2. intronrégió méretei 310 bp és 1980 bp között változtak, és 17 fajta esetében kettő helyett egy, illetve négy fajtánál egy PCR-terméket sem kaptunk. A legtöbb esetben már ezzel a PCR-rel azonosíthatók voltak az allélok. Ugyanakkor a tizennyolc fajtánál detektált 500 bp méretű fragmentum az S₉- és az S₂₀-allélra is utalhat. Az allélok azonosításához az 1. intronrégió méretének fragmentumhossz-analízissel történő meghatározása is szükséges volt, mert ez jelentős eltérést mutat a két allél esetében (S₉: 203 bp és S₂₀: 222 bp). Kiderült, hogy az S₉-allél mind a 18 fajtában jelen van, de kettő fajta az S₉ mellett még az S₂₀-allélt is hordozza. Az S₃- és S₆-allélok 1. intronrégiójának méretét elsőként határoztuk meg. Annál a hat fajtánál, ahol a 2. intronrégióban kb. 310 bp hosszúságú szakaszt azonosítottunk, az 1. intronrégió esetén 269 bp-os méretet detektáltunk. A 'Sunglo' (S₂S₃) fajtát (Burgos és mts., 1998) kontrollként használva igazoltuk, hogy a 269 bp-os szakasz az S₃-allélnak felel meg. Ugyanígy a 'Moniquí' (S₂S₆) kontroll alapján megállapítottuk, hogy az S₆-allél 423 bp méretű. A 'Kayisi Erigi' fajta *P. armeniaca* × *P. salicina* hibrid, melyben az S₁₁-et azonosítottuk, a másik allélja pedig a diploid szilva szülőfajától származik, vagyis valamennyi kajsz S-alléltól eltérő. Összesen 51 genotípusban jelent meg két PCR-termék az 1. intronrégió esetében, míg 4 fajtánál csak egy 355 bp fragmentum volt kimutatható. Ezt a fragmentumhosszt még 14 másik fajtában is azonosítottuk. Korábbi munkánkban a 355 bp hosszúságú PCR-amplikon az S_C- és S₈-RN-áz allélok esetében jelentkezett (Halász és mts., 2007b).

Mivel egy szélesebb, eddig nem vizsgált területről származó növényanyag vizsgálata során korábban nem azonosított allélok felbukkanására is számítani kell, annak ellenőrzésére, hogy a 355 bp méretű DNS-szakasz biztosan az S_C- és S₈-RN-áz allélok esetében fordul elő, egy specifikus AprSC8 primerpárt terveztünk a két azonos DNS-szekvenciájú allél 2. intronrégiójára. Mind az S₈-, mind pedig az S_C-allél jelenlétében egy 547 bp fragmentum amplifikálódik, más esetben nem keletkezik PCR-termék (17.A. ábra), ahogy ezt három kontrollfajta használatával bizonyítottuk: az S₈-allélt tartalmazó 'Ceglédi óriás', az S_C-allélt hordozó 'Bergeron', és negatív kontrollként az S₁S₂ genotípusú 'Goldrich' esetében. A vizsgálat alapján 18 fajtában volt kimutatható az S_C- és/vagy S₈-RN-áz allél. Az S_C- és az S₈-allél S-RN-áz kódoló régiója teljesen megegyezik, ezért az öntermékenyülő és önmeddő fajták önmagában ezzel a vizsgálattal nem különíthetők el. Az S_C- és S₈-haplotípusok közötti jellemző különbség, hogy az S₈FB_C fehérjét kódoló régióban egy 358 bp méretű inszerció található. A kódolt fehérje funkcióvesztését egy korai stop kodon okozza, aminek következményeként jött létre az ÖT fenotípus (Vilanova és mts.,

2006). A két haplotípus egyszerű megkülönböztetésére egy új primerpárt (AprFBC8) terveztünk, ami az inszerción kívül egy viszonylag rövid szakaszt (142 bp) amplifikál. Emiatt az S_C -allélt hordozó fajtáknál egy 500 bp, az S_8 -allél-tartalmú fajtáknál egy 142 bp hosszú fragmentum jelenik meg (17.B. ábra). A S_8/S_C allélok kodomináns kimutatását lehetővé tevő primerpárral a homo- és heterozigóta genotípusok egyértelműen azonosíthatók.

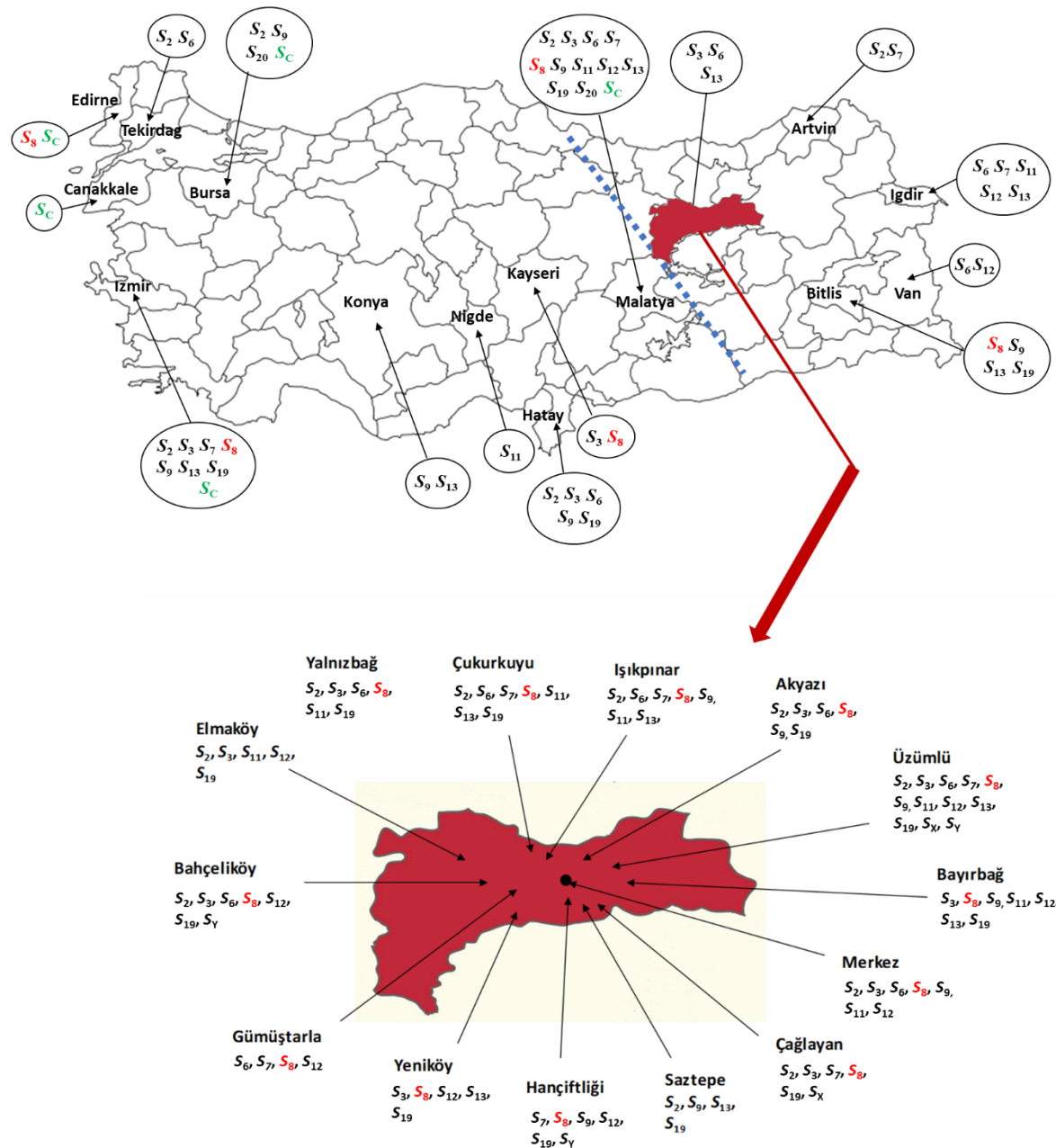


17. ábra: Az S_8 - és S_C -haplotípusok kimutatása és egyértelmű elkülönítése.

A: Allélspecifikus PCR az S_C/S_8 -RN-áz jelenlétének bizonyítására az AprSC8 primerpárral (547 bp).
B: Az SFB_C (500 bp) és SFB_8 -allélok (142 bp) megbízható elkülönítése az AprFBC8 primerpárral. A számok az 1. mellékletben felsorolt fajták sorszámával egyeznek meg, kontrollfajták CÓ: 'Ceglédi óriás' (S_8S_9), BG: 'Bergeron' ($S_C S_2$), GD: 'Goldrich' ($S_1 S_2$), M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific) (Halász és mts., 2010b).

A 18 fajtából hét esetben, valamint az ÖT kontrollként használt 'Bergeron' fajtában mutattuk ki az S_C -allél jelenlétét az újonnan tervezett primerpárral. A 7 fajtából 6 heterozigóta genotípusú, egy homozigótát azonosítottunk ('Canakkale': $S_C S_C$), míg 3 fajta $S_C S_8$ volt (1. melléklet). Az 55 korábban ismeretlen genotípusú fajta közül 51 fajta teljes S -genotípusát, és négy fajta részleges S -genotípusát határoztuk meg. Összesen 12, korábbi vizsgálatokban leírt allél jelenlétét igazoltuk. Az S_9 -allél 18, az S_8 -allél 14, az S_6 -allél 12, az S_{19} -allél 10, az S_2 -allél 9, az S_7 - és az S_{13} -allélok egyaránt 8, az S_C -allél 7, az S_3 -allél 6, az S_{11} - és az S_{12} -allélok egyaránt 5, és az S_{20} -allél két fajtában fordult elő.

Az S -allélok földrajzi előfordulása és gyakorisága nem mutatkozott egyöntetűnek: az S_C -allél jelenlétét csak Nyugat-Törökországban és az ország közepén található Malatya régióban mutattuk ki, míg az S_8 -allél szinte valamennyi régióban jelen volt. Mivel Malatya az ország legkeletibb tartománya, ahol az S_C -allél jelen volt, kíváncsiak voltunk, hogy a szomszédos, Malatyától keletre eső Erzincan régióban vadon élő kajszi egység hordozhatják-e az öntermékenyülést előidéző allélt. Összesen 63 kajszi S -allél-összetételét határoztuk meg a korábban ismertetett primerpárok és metodika felhasználásával. Tíz ismert allélt detektáltunk, melyek közül az S_2 volt a leggyakoribb (19 genotípusban), az S_8 17, az S_{19} 16, az S_3 13, az S_{12} 11, az S_6 és S_7 10, míg az S_9 , S_{11} és S_{13} -allélok 8 genotípusban fordultak elő. Két allél esetében a PCR-termékek méretei nem ismert allélokra utaltak, így ezeket S_X és S_Y néven jelöltük. A vizsgált növényanyagban 36 különböző S -genotípust találtunk, a leggyakoribbak az $S_2 S_9$, $S_2 S_{11}$, és $S_3 S_{12}$ voltak, mindhárom genotípus 4 egyedre volt jellemző. Az ÖT fenotípussal összefüggő S_C -allél egyikben sem fordult elő, míg az S_8 -allélt 17 genotípusban találtuk meg, a régió 14 vizsgált területéből 12-ben. A török növényanyagban azonosított S -allélok földrajzi régiók szerinti előfordulását térkép segítségével szemléltetem (18. ábra).



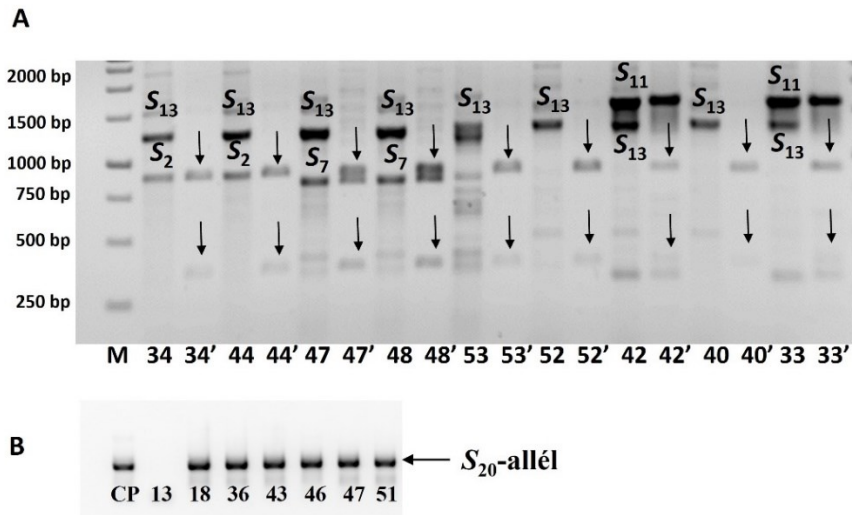
18. ábra: Az *S*-allélok földrajzi elterjedése Törökországban ismert fajták (A; 55 db) és az Erzincan régióban vadon élő genotípusok (B; 63 db) felmérése alapján (Halász és mts., 2010b; 2013). Az *S_C*-allélt zöld, az *S₈*-allélt piros színnel jelöltük, a kék színű, szaggatott vonaltól észak-keletre nem található öntermékenyülő fajták ill. egyedek.

5.2.2. A kajszi *S*-lókuszának variabilitása Észak-Afrikában

A kajszi kultúrevolúciós történetének részletesebb feltárásához a nyugat-ázsiai területen kívül tovább bővítettük a vizsgálatba vont növények körét. A szintén az iráni-kaukázusi csoportba tartozó, dél-mediterráni régióban fellelhető kajszi (*Zhebentyayeva* és mts., 2012) *S*-allél-diverzitásáról korábban semmilyen adat nem volt elérhető, ezért a Marokkó, majd Tunézia területein élő, helyi kajszi genotípusok bevonásával folytattuk a munkánkat.

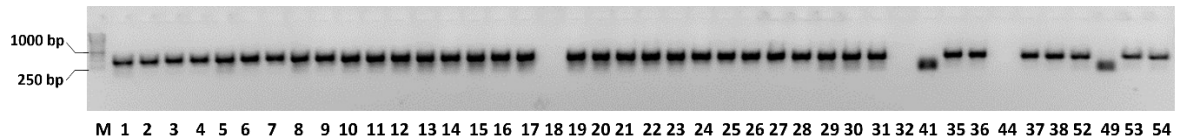
Marokkó legjelentősebb kajszi termő vidékei az Atlasz-hegységtől délre eső sivatagos területek oázisaiban találhatóak. Az összesen 55 marokkói kajszi egység *S*-genotípusának meghatározását az *S-RN-áz* gén 1. és 2. intron régiójának ILP-alapú vizsgálatával kezdtük. A 2. intron régiót amplifikáló PCR során 12 genotípusnál két, 40 genotípusnál egy fragmentum keletkezett, három esetben nem kaptunk terméket. Az

amplikonok mérettartománya 750–2800 bp között volt. A Tighnit-4, Tighnit-5, Rich, Ait-Lahcen-1, Ait-Talat-3 és Gulmima-4 mintákban a 950 bp méretű fragmentum az S_2 -allél jelenlétére utalt. A Rich-2, Ait-Lahcen-2, Ait-Lahcen-3, Ait-Lahcen-7, Ait-Talat-1, Ait-Talat-5, Gulmima-4 és Gulmima-8 genotípusokban a 750 bp méret az S_7 -allélra jellemző. Az S_{11} (1500 bp) 8 genotípusban mutatkozott (Rich-1, Rich-2, Ait-Lahcen-2, Ait-Lahcen-4, Ait-Lahcen-5, Ait-Lahcen-7, Ait-Talat-3 és Gulmima-5). Az S_{13} -allél (1350 bp) 10 genotípusban fordult elő (Rich, Rich-1, Ait-Lahcen-1, Ait-Lahcen-4, Ait-Lahcen-6, Ait-Lahcen-7, Ait-Talat-1, Ait-Talat-5, Gulmima-3 és Gulmima-7). Az S_{13} -allél jelenlétét a PCR-termék *Pst*I restrikciós enzimmel történő emésztésével is megerősítettük (19.A. ábra). Az allél szekvenciájának ismeretében a specifikus hasítást követően keletkező két fragmentum mérete 356 és 994 bp.



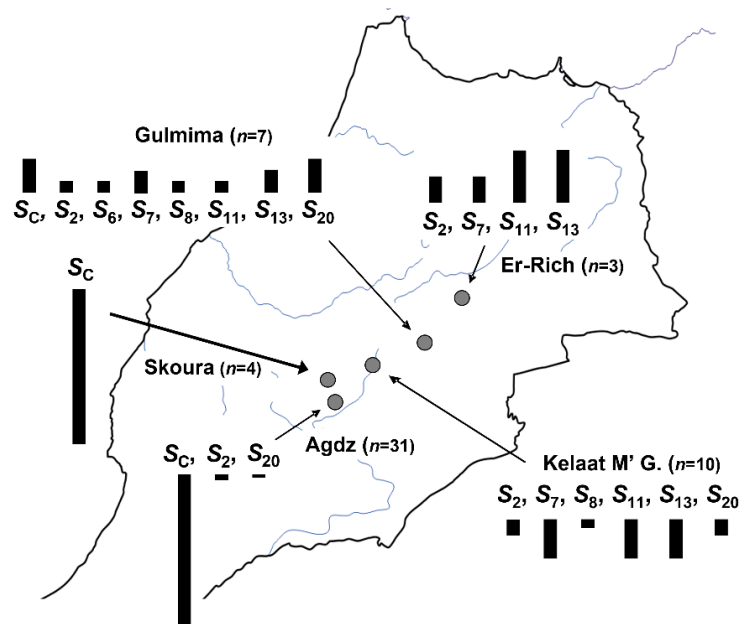
19. ábra: A ritka és nem várt allélok előfordulásának megerősítése CAPS és allélspecifikus PCR-rel. **A:** az S_{13} allélspecifikus kimutatása az EM-PC2-PC3 PCR-termék (1300 bp) *Pst*I enzimmel történő hasításával. A hasítatlan és hasított minták száma megegyezik, az emésztést a mintanévből aposztróf jelöli, a keletkezett 356 és 994 bp fragmentumokat nyíl mutatja. **B:** az S_{20} allélspecifikus PCR-rel történő kimutatása PaS20-F és EM-PC5consRD primerekkel. Kontrollfajta a ‘Ceglédi Piroska’ (CP: S_8S_{20}), a genotípusok a 2. mellékletben megadott számokkal szerepelnek, M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific) (Kodad és mts., 2013a).

Az 1. intronrégió amplifikálását követően meghatározott pontos fragmentumméretetek megegyeztek a korábban azonosított allélok esetében mért értékekkel. A 355 bp hosszúságú szakaszt 39 genotípusban azonosítottuk (2. melléklet), ami az S_8 - vagy S_C -allél jelenlétére utal. Az AprFBC8 primerpár használatával 37 genotípusban mutattuk ki az S_{FB_C} -allélt (S_C -haplotípust), melyek közül 33 homozigóta ($S_C S_C$), négy heterozigóta, míg két esetben az S_{FB_8} -allél jelenléte igazolódott (20. ábra). Az S_{20} -allél jellemző mérete 222 bp, ami hat genotípusban fordult elő (Gulmim-1, Gulmim-2, Gulmim-5; Ait-Lahcen-5; Ait-Lahcen-6; Tighnit-5). Ennél a hat mintánál a 2. intronrégió PCR-analízise nem eredményezett amplifikációt, így az S_{20} -allél megerősítése érdekében az ismert szekvencia alapján allélspecifikus forward primert (PaS20-F) terveztünk, ami az EM-PC5consRD primerrel párba állítva kb. 600 bp méretű PCR-terméket eredményez, kizárólag az S_{20} -allél jelenlétében. Kontrollként a ‘Ceglédi Piroska’ (S_8S_{20}) magyar fajtát használtuk (19.B. ábra).



20. ábra: Az *SFB_C* (500 bp) és *SFB₈*-allélok (142 bp) elkülönítése a marokkói kajszik esetében AprFBC8 primerpárral. Negatív kontroll: 18. (*S₂S₂₀*), 32. (*S₇S₁₁*) és 44. (*S₂S₁₃*) minta, a genotípusok a 2. mellékletben megadott számokkal szerepelnek, M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific) (Kodad és mts., 2013).

A marokkói kajszimintáknál összesen 7 korábban leírt allélt azonosítottunk. Az *S_C*-allél bizonyult a leggyakoribbnak (37), utána az *S₁₃* (9), *S₇* és *S₁₁* (8), *S₂* és *S₂₀* (6), *S₈* (2) és az *S₆* (1). Az *S*-allélok elterjedése és gyakorisága eltérést mutatott az egyes oázisok között (21. ábra). A Tighnit- és Arned-oázisokban (Agdz), majdnem az összes genotípus homozigóta ÖT (94%) (2. melléklet). Mindössze 3 különböző allél jelenlétét találtuk meg (*S₂*, *S₂₀* és *S_C*), és az *S_C* gyakorisága 95%. A Skoura-oázisban minden genotípus homozigóta ÖT volt. Kelaat M'Gouna oázisában 6 allél (*S₂*, *S₇*, *S₈*, *S₁₁*, *S₁₃* és *S₂₀*) is előfordult, és a genotípusok mindegyike ÖM volt, az *S₇*-, *S₁₁*- és *S₁₃*-allélok mindegyike 25% gyakorisággal volt jelen. A Gulmima-oázisban 8 allélt azonosítottunk (*S₂*, *S₆*, *S₇*, *S₈*, *S₁₁*, *S₁₃*, *S₂₀* és *S_C*), ahol az *S₂₀* és *S_C* 21%-os gyakoriságot mutatott. Csak három egyed volt ÖT, mindegyik heterozigóta formában. Az oázisoktól jelentősen eltérő hegyvidéki ökoszisztémájú Rich-térségben 4 *S*-allél (*S₂*, *S₇*, *S₁₁* és *S₁₃*) jelenlétét mutattuk ki mindössze három egyedben.



21. ábra: Az *S*-allélok földrajzi elterjedése és gyakorisága Marokkóban. A fekete oszlopok hossza arányos az egyes *S*-allélok százalékos gyakoriságával egy adott régióban (szürke körrel jelölve); *n* a mintavételezett fák száma az egyes agro-ökoszisztémákban (Kodad és mts., 2013a).

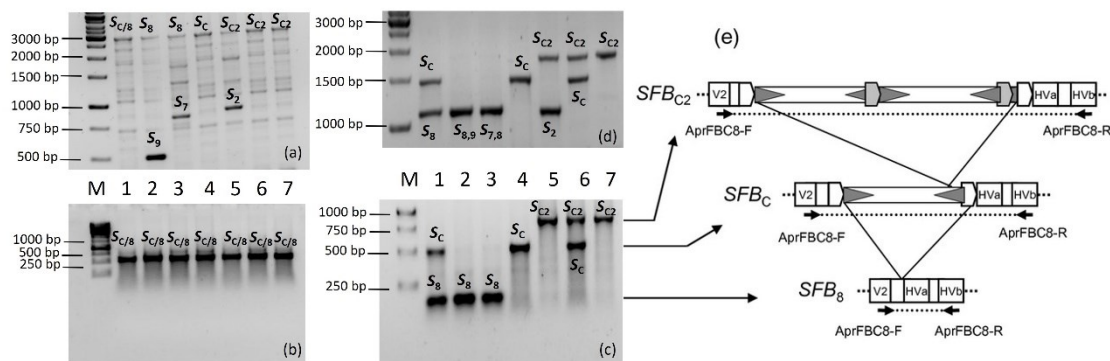
Az észak-afrikai régióból nemcsak marokkói, hanem tunéziai kajszifajtákkal is dolgoztunk. Összesen 12 helyi fajta *S*-genotípusát határoztuk meg (8. táblázat), amiből 9 ÖM és 3 ÖT volt, köztük két homozigóta ('Asli' és 'Raki'). A leggyakoribb *S₇*-allél hét fajtában, az *S₁₂*-allél öt fajtában, míg az *S₂*-, az *S₈*- és *S₁₁*-allélok mindegyike két fajtában, az *S₁₃*-allél pedig egy fajtában fordult elő. Az önmeddő fajták között két-két azonos genotípusút találtunk (*S₇S₁₂* és *S₇S₁₁*).

8. táblázat: Tunéziai kajszifajták *S*-genotípusa ILP-markerezés alapján

Fajta	<i>S</i> -genotípus	Termékenyülési fenotípus
‘Oud Rhayem’	<i>S</i> ₇ <i>S</i> ₁₂	ÖM
‘Oud Hmida’	<i>S</i> ₂ <i>S</i> ₁₂	ÖM
‘Bouthani Ben Friha’	<i>S</i> ₁₂ <i>S</i> ₁₃	ÖM
‘Bedri Ahmar’	<i>S</i> ₇ <i>S</i> ₁₂	ÖM
‘Oueld El Oud’	<i>S</i> ₇ <i>S</i> ₈	ÖM
‘Ouardi’	<i>S</i> ₂ <i>S</i> ₇	ÖM
‘Sayeb’	<i>S</i> ₇ <i>S</i> _C	ÖT
‘Asli’	<i>S</i> _C <i>S</i> _C	ÖT
‘Raki’	<i>S</i> _C <i>S</i> _C	ÖT
‘Hamidi’	<i>S</i> ₇ <i>S</i> ₁₁	ÖM
‘Bouk Ahmed’	<i>S</i> ₇ <i>S</i> ₁₁	ÖM
‘Adedi Ahmar’	<i>S</i> ₈ <i>S</i> ₁₂	ÖM

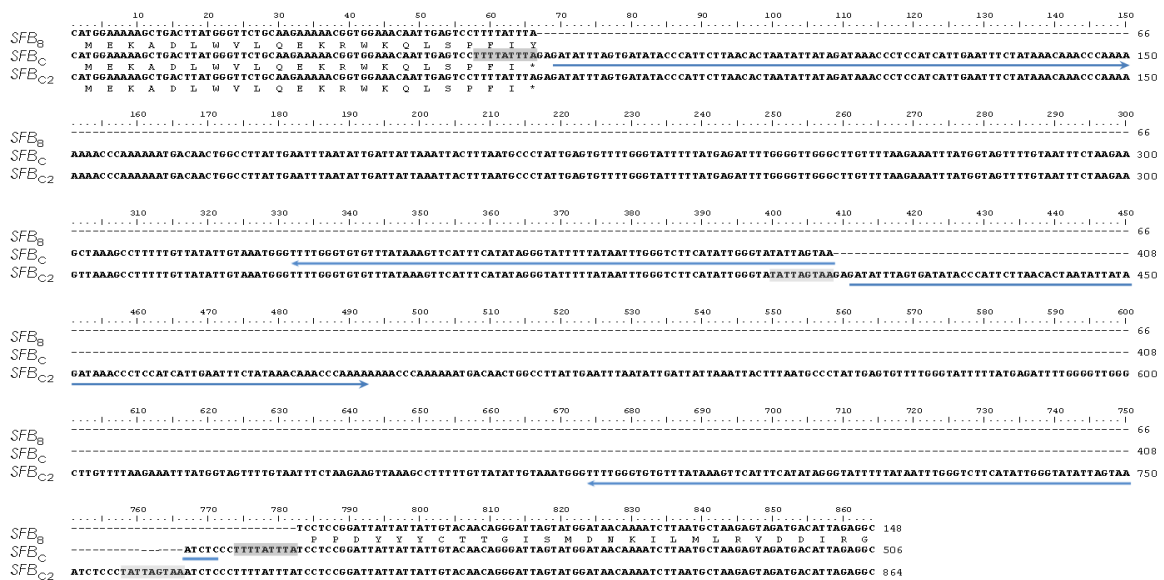
5.2.3. A kajszi önmeddőségét áttörő *Prunus*-specifikus transzpozon azonosítása

A dél-marokkói Tighnit és Armed oázisokban (Draa Valley) található kajsziegyedek túlnyomó többsége ÖT fenotípusú, amit az előző fejezetben bemutatott eredményeink alapján az *S*_C-allél jelenléte idéz elő (Kodad és mts., 2013a). A régió további egyedeinek vizsgálata során három fa *S*-genotípusában (Tighnit-10, Armed-3 és Armed-7) szintén azonosítottuk az *S*_C/*S*₈-*RN-áz* allélt (22.A.B. ábra), amit az 1. intronrégió eredményei is alátámasztottak: 332 bp/355 bp a Tighnit-10 és 355 bp az Armed-3 és Armed-7 vizsgálata során. A 355 bp első intronrégió az *S*_C/*S*₈-*RN-áz* allél jellemző mérete. Az *S*_C és *S*₈ közti megkülönböztetés érdekében az AprFBC8 primert használtuk (22.C. ábra). A kontroll fajtáknál a várt fragmentumméreték jelentkeztek, 150 bp volt az *SFB*₈-allél amplikonmérete, míg 500 bp az *SFB*_C PCR-termékének mérete. Ugyanakkor a Tighnit-10, Armed-3 és Armed-7 egyedek esetében megjelent egy nem várt méretű, kb. 850 bp hosszú fragmentum. Ezt a jelenséget a korábbi, nagyobb *Prunus SFB*-régiót amplifikáló primerpárunkkal végzett PCR-t követően is megfigyeltük (22.D. ábra). Az így megjelenő allélt *SFB*_{C2} névvel jelöltük, a három egyed *S*-genotípusa pedig: Tighnit-10 *S*₂*S*_{C2}, Armed-7 *S*_C*S*_{C2} és Armed-3 *S*_{C2}*S*_{C2}. A három egyed öntermékenyülési képessége pollentömlő növekedéssel és az önmegporzást követő gyümölcskötődési arány meghatározásával is megerősítést nyert, mert saját pollennel történő megporzást követően a pollentömlők beléptek a magházba és a gyümölcskötődés is 20% felett volt, míg a negatív kontrollként használt Rich-1 esetében nem történt gyümölcskötődés.



22. ábra: Az *S-RN-áz* és *S-haplotípus-specifikus F-box* gének PCR-analízise hét kajszii esetében. M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific), 1. ‘Gönci magyarkajszii’ ($S_C S_8$), 2. ‘Ceglédi óriás’ ($S_8 S_9$), 3. Ait-Lahcen-3 ($S_7 S_8$), 4. Armed-22 ($S_C S_C$), 5. Tighnit-10 ($S_2 S_{C2}$), 6. Armed-7 ($S_C S_{C2}$) és 7. Armed-3 ($S_{C2} S_{C2}$). **A:** Az *S-RN-áz* gén 2. intronrégiója EM-PC2consFD és EM-PC3consRD primerpár használatával. **B:** Az S_C/S_8 -*RN-áz* allélok jelenlétének igazolása a PaConsI F és AprSC8R primerpárral **C:** Az *SFB*-allélok detektálása a kodomináns AprSFB-F1 és AprSFB-R primerpárral. **D:** Az $SFB_{C/8}$ -allélok specifikus kimutatása az AprFBC8-F és AprFBC8-R primerpárral. **E:** A kajszii *S-haplotípus-specifikus F-box* génjében azonosított inszerció helyzetének vázlatos bemutatása. A vékonyabb fehér téglalapok, melyek szürke háromszögei egymás felé mutatnak egy nem-autonóm, a II. osztályba tartozó mozgó genetikai elemet ábrázolnak (*Falling Stones*, *FaSt*). Az azonos irányba forduló fehér (*SFB*) és szürke (*FaSt*) ötszögek az inszerció két végén elhelyezkedő direkt szekvencia-ismétlődések (TSD). Az AprFBC8-F/R primerpár kötődési helyét nyílak mutatják (Halász és mts., 2014a).

Az agaróz gélből becsült kb. 850 bp hosszúságú fragmentumot klónozást követően megszekvenáltattuk, pontos mérete 864 bp-nak adódott. Egy 716 bp méretű inszerció ékelődött be az SFB_{C2} -allél nyílt leolvasási keretébe (ORF), pontosan abban a pozícióban, mint az SFB_C -allélban megjelenő 358 bp hosszú inszerció (22.E. ábra). Ráadásul az első 342 bp-nyi szakasz teljesen azonosnak bizonyult az SFB_C -allél inszerciójának megfelelő régiójával. Ugyanakkor a legérdekesebb jelenség az volt, hogy az ORF régiót megszakító inszerció két példányban tartalmazta azt az eredetileg leírt 358 bp hosszú elemet, amit Vilanova és mts. (2006) az SFB_C -allélban korábban azonosítottak. A két példány ún. “nested”, fészkes elrendeződésben volt jelen: a második 358 bp méretű szakasz az első elem 342. és 343. nukleotidjai közé ékelődött (23. ábra). Mindösszesen három nukleotidnyi eltérés volt található a 3’ végén.



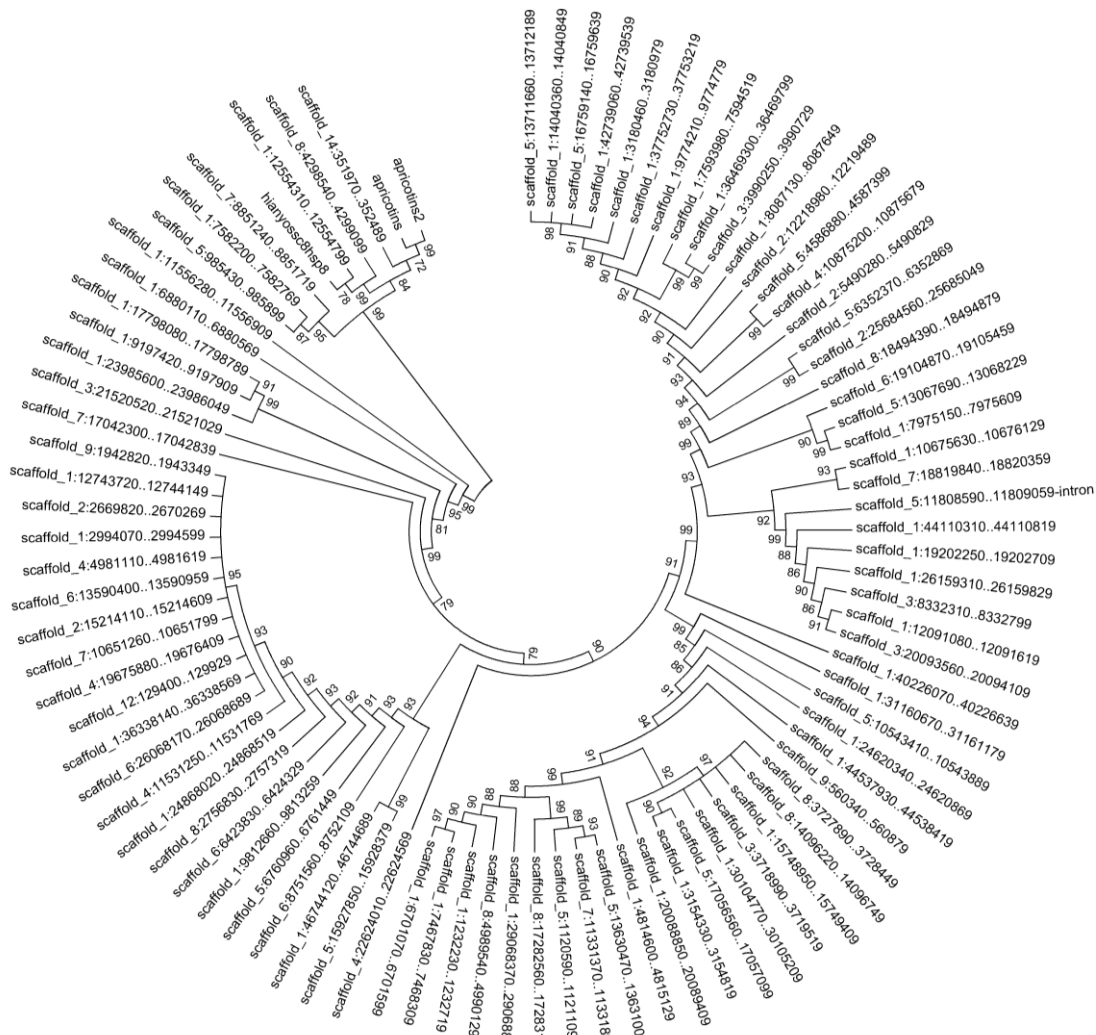
23. ábra: A kajszi *SFB₈*-, *SFB_c*- és *SFB_{c2}*-allélok részleges szekvenciaillesztése. A transzpozon beékelődésének helyét határoló direkt szekvenciáisméltódéseket (TSD régiókat) szürke háttér, a láncvégi fordított ismétlődéseket (TIR régiót) kék nyíl jelzi (Halász és mts., 2014a).

A részletes elemzés során a DNS-transzpozonokra jellemző vonásokat találtunk: az inszert végeinél azonosított fordítva ismétlődő szakaszok a transzpozonokra jellemző, ez esetben 82 bp méretű TIR régiók (terminal inverted repeat, láncvégi fordított ismétlődések). A két kar közti hasonlóság mértéke kb. 75%. Az inszert szekvenciájában nagy arányban fordult elő A és T bázis. A nested elrendeződés segítségével a TSD (target site duplication, az inszerció két végén elhelyezkedő direkt szekvenciáisméltódés) régiót is sikerült pontosan azonosítani. Az első inszerciót az *SFB_c*-allélban a ‘Currot’ és ‘Pannónia’ fajtákban azonosítottuk (Halász és mts., 2007b) egy spanyol kutatócsoporttal (Vilanova és mts., 2006) közel egy időben. Ennek az elemnek az *SFB₈*-allélba történő beékelődése egy 9 bp hosszú TSD szakaszt idézett elő, aminek szekvenciája TTTTATTTA, míg a nested elrendeződésű második inszerció TSD régiója TATTAGTAA szekvenciájú (tehát a két elem szekvenciájában kimutatott 3 báziscsere a TSD régióban jelentkezett, nem a transzpozon szekvenciájában). Az inszert mérete TSD nélkül 349 bp, és a két, nested elrendezésű inszerció szekvenciája azonos. Mindezen strukturális jellegzetességek alapján az inszerció egy ún. MITE, miniature inverted-repeat transposable element, vagyis rövid, fordított ismétlődéseket tartalmazó, nem autonóm transzpozabilis DNS-szakasz, aminek a *Falling Stones*, *FaSt* transzpozon nevet adtuk.

Az inszert BLASTN analízise számos homológ szekvenciát talált az NCBI Nucleotide adatbázisban: 1.) *Prunus persica* BAC clones 28F08 (E -érték = 8×10^{-137}) JGIBIXB-13B7 ($E \leq 7 \times 10^{-68}$); 2.) *P. avium* R2R3-MYB transzkripciós faktor intronja (*MYBF1* gén) ($E = 2 \times 10^{-78}$); valamint 3.) a *P. cerasifera* *S₆* 2. intronja ($E = 10^{-75}$) és az *S₁₄*-ribonukleáz ($E = 7 \times 10^{-73}$). Ahol a határoló régiók is elérhetőek voltak, ott a jellegzetes 9 bp TSD szakasz is jelen volt.

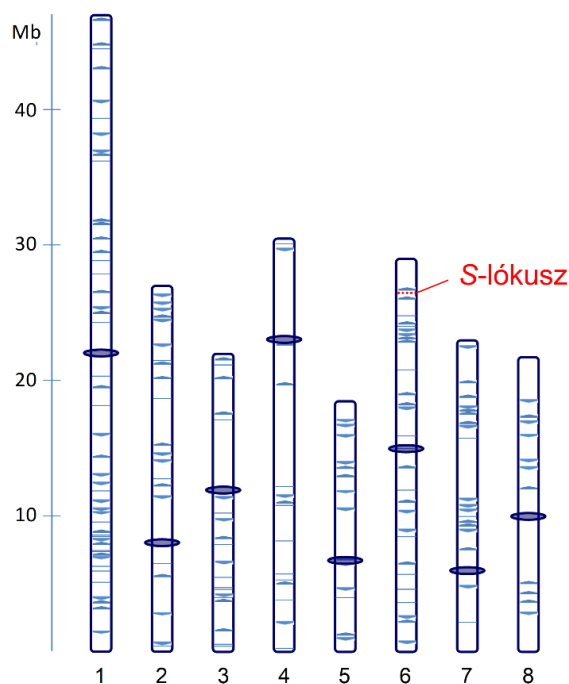
A 349 bp méretű kajszi *FaSt*-elemet keresőszekvenciaként használva BLAST-analízist végeztünk az őszibarack genomon. Összesen 121 teljes kópiát és 60 további részleges fragmentumot találtunk, amik 50%-nál nagyobb méretűek voltak a teljes inszercióhoz képest. Mindegyik egyezés E -értéke $\leq 10^{-102}$. Ezekon kívül is számos kisebb régiót találtunk, amiket kizártunk a vizsgálatból a TSD motívum hiánya miatt. Az összes szekvenciát letöltöttük az őszibarackgenom adatbázisából és összehasonlítottuk a kajszi

FaSt szekvenciával: az azonosság mértéke 0,877 (scaffold_1:11556280) és 0,925 (scaffold_6:19104870, scaffold_7:8851240 és scaffold_8:18494390) között változott. A maximum likelihood analízissel készített többségi konszenzus fa (majority-rule consensus tree) a szekvenciákat nem kromoszómák szerint vagy kromoszómán belüli pozíciójuk alapján csoportosította (24. ábra). Az egyik szekvenciaváltozat 10 példányban fordult elő az 1, 2, 4, 6, 7 és 9 scaffoldokon; egy másik öt kópiában az 1, 3 és 8 scaffoldon. Egy további variáns négy kópiája az 1 és 5 scaffoldon; míg két azonos változat az 1-es scaffoldon található, valamint egy másik pár az 5-ös és 7-es scaffoldokon.



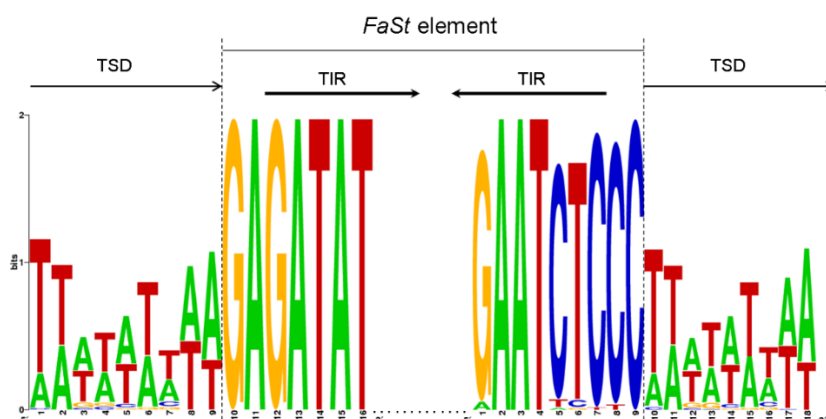
24. ábra: A kajszi és őszibarack *Falling Stones* transzpozon szekvenciák kladogramja. A maximum likelihood analízis alapú többségi konszenzus fa (majority-rule consensus tree) kládjai a bootstrap értékekkel (%; $n=1200$). Az *apricotins* és *apricotins2* jelöli az *SFB_C*- és *SFB_{C2}*-allélokból a kísérleteinkben azonosított *FaSt* elemeket (Halász és mts., 2014a).

Az őszibarackgenomon történő kereséssel (Phytosome) mind a nyolc kromoszómán találtunk *FaSt* elemeket. A legtöbb elem az 1-es kromoszómán, míg a legkevesebb a 8-as kromoszómán fordult elő. A centromeron régiókban nagyon kevés példány volt. A szubtelomerikus régiókban is megjelentek, így a 6-os kromoszómán is, közel az *S*-lókuszhoz (25. ábra).



25. ábra: Az újonnan azonosított *Prunus*-specifikus *Falling Stones* elemek pozíciója az őszibarackgenomban. A háromszögek a teljes hosszúságú inszerciók orientációját mutatják, a vonalak a részleges kópiákat. A centromeron relatív helyzetét kék ovális alakzat mutatja. A számok (1-8) az őszibarack kromoszómákat jelölik, külön feltüntetve a 6-os kromoszóma szubtelomerikus régiójában elhelyezkedő *S*-lókusz (Halász és mts., 2014a).

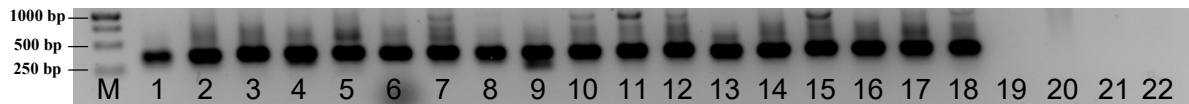
Az őszibarackgenom összesen 90 teljes hosszúságú *FaSt*-inszerciójának a határoló szakaszait vizsgáltuk meg a TSD azonosítása és elemzése érdekében. Mindegyik esetben 9 bp méretű TSD-t azonosítottunk a 349 bp hosszú szakaszt határoló régiókban. A szekvenciákat letöltöttük és a beékelődést határoló genomi régiók valamint az inszerciók szekvenciáit elemeztük: a *FaSt* 5' és 3' végei jelentős mértékben konzervatívak, a TSD-k túlnyomórészt A és T bázisokban gazdag szekvenciák (26. ábra).



26. ábra: A *Falling Stones* transzpozonban és határoló régiókban a bázisok gyakoriságát mutató szekvencia „logó”. A betűk mérete arányos a vizsgált szekvenciákban való előfordulásuk gyakoriságával (Halász és mts., 2014a).

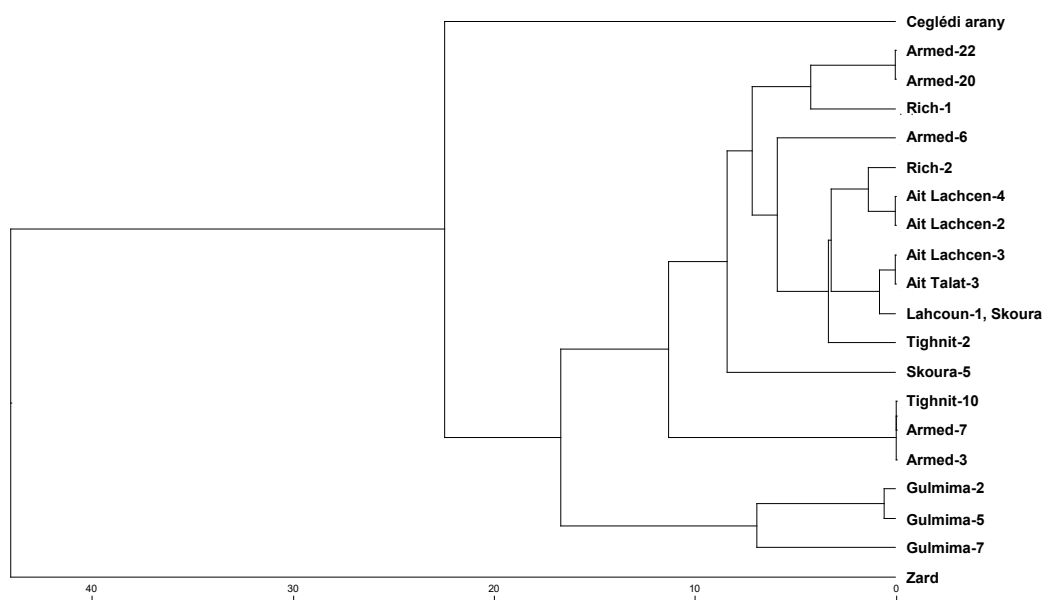
A Phytozome v9.1 adatbázisban elérhető 41 növényi genom BLAST-analízisét elvégezve nem találtunk *FaSt* elemet, még a *Rosaceae* családba tartozó *Fragaria vesca* és

Malus × domestica genomok esetében sem. Homológ szekvenciákat csak *Prunus* fajokban azonosítottunk (ősziarack, cseresznyeszilva és cseresznye). A kajszi és ősziarack *FaSt* elemek konzervatív TIR régiójára primerpárt terveztünk, ami egy 347 bp méretű szakaszt amplifikál. A vizsgált minták közül a 18 *Prunus* egyednél (kajszi, ősziarack, mandula, cseresznye, diploid és hexaploid szilva, valamint vad fajok) megjelent a várt méretű fragmentum, míg a szintén *Rosaceae* családba tartozó alma vagy birs, illetve a homoktövis (*Hippophae rhamnoides*, *Elaeagnaceae* család, *Rosales* rend) és a som (*Cornus mas*, *Cornales* rend) esetében nem keletkezett PCR-termék (27. ábra).



27. ábra: A *Falling Stones* transzpozonra specifikus primerekkel végzett PCR-analízis eredménye összesen 18 különböző *Prunus* faj és négy *Prunus* nemzetségen kívüli faj esetében. M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific), 1. *P. armeniaca* Armed-3 genotípus; 2. *P. dulcis* 'Tétényi bőtermő'; 3. *P. persica* 'Babygold 7'; 4. *P. avium* 'Germersdorfi óriás'; 5. *P. cerasus* 'Érdi jubileum'; 6. *P. salicina* 'Santa Rosa'; 7. *P. domestica* 'Tophit'; 8. *P. arabica*; 9. *P. tenella*; 10. *P. webbii*; 11. *P. salicina* × *P. armeniaca* hibrid; 12. *P. kansuensis*; 13. *P. kurdica*; 14. *P. sogdiana*; 15. *P. mume*; 16. *P. ferganensis*; 17. *P. cerasifera*; 18. *P. spinosa*; 19. *Malus × domestica* 'Jonagold'; 20. *Hippophae rhamnoides* 'Frugana'; 21. *Cydonia oblonga* 'Aromate'; és 22. *Cornus mas* 'Császlói' (Halász és mts., 2014a).

A két kópiában jelenlévő, azonos szekvenciájú inszerció arra utal, hogy a második beékelődés nem régen következhetett be. E feltételezés igazolására SSR-analízist végeztünk 10 lókuszt elemzésével, hogy az *SFB_{C2}*-allélt hordozó három marokkói egyed közti kapcsolatot jellemezzük. Az UPGMA dendrogramon a közép-ázsiai ÖM 'Zard' fajta kulcsoportot képezett, illetve az ÖT magyar 'Ceglédi arany' szintén távol került a marokkói egyedektől (28. ábra).



28. ábra: Marokkói és kontrollként használt egyéb kajszifajták 10 SSR-lókusztól származó dendrogramja a Nei-féle hasonlósági mátrixon alapuló csoportátlag módszerrel (unweighted pair group method with arithmetic averages analysis) (Halász és mts., 2014a).

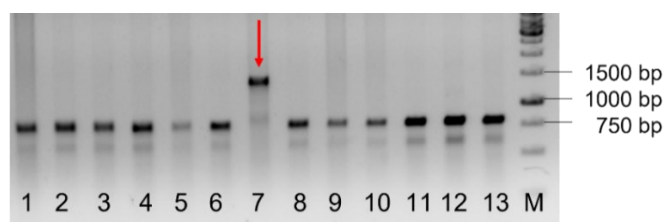
A Gulmima eredetű minták közös csoportba kerültek, míg az Armed, Tighnit, Ait-Lahcen, Skoura régiókból és az Atlas-hegységből származó egyedek vegyesen jelentek meg. Ugyanakkor az *SFB_{C2}*-allélt hordozó fák (Armed-3, Armed-7 és Tighnit-10) szinte azonos SSR-profil mutattak, közös csoportba rendeződtek.

5.3. A meggy (*Prunus cerasus* L.) genetikai vizsgálatának eredményei

5.3.1. A funkcióképtelen *S*-allélok jelenléte a magyar meggyfajtákban

A diploid fajok vizsgálata után a tetraploid meggyfajtákkal foglalkoztam. Hús gazdaságilag jelentős meggyfajta és 12 szelektált klón *S*-lókuszának variabilitását vizsgáltuk a cseresznye *S-RN-áz* gén 2. intronját határoló konzervatív régiókra tervezett konszenzus PaCons jelű primerekkel (Sonneveld és mts., 2003). A tetraploid genom miatt egyedenként max. 4 allél fordulhat elő és a legtöbb esetben 2-3 fragmentumot azonosítottunk az agaróz géleken 500–1000 bp mérettartományban. A ‘Csengődi’ és a ‘Pipacs 1’ fajták PCR-termékeit klónoztuk, megszekvenáltattuk, és az NCBI MEGABLAST analízisével igazoltuk, hogy a kapott termékek valóban *S-RN-áz* szekvenciák (*E* érték 4e-131 és 4e-138). Fajhibrid eredete miatt a meggy allélkészlete átfedést mutat a cseresznyével, ezért az ismert cseresznyeallélokat a PCR-termékek becslött mérete alapján, valamint a korábban meghatározott genotípusú fajtákhoz hasonlítva próbáltuk azonosítani, de ez csak az *S*₁, *S*₄, *S*₆ allélok esetében volt lehetséges. Mindemellett a funkcióképtelen allélok ezzel a primerpárral nem mutathatók ki, ezért a mutációk jelenlétére kidolgozott allélspecifikus primereket és/vagy CAPS-markereket használtuk a továbbiakban.

A PPM *S*₁’ egy 615 bp hosszúságú *Ds* (*Dissociation*) transzpozon elemet tartalmaz a gén kódoló régiójában (Hauck és mts., 2006a), így a határoló régiókhoz kapcsolódó PaSFB1-F/R primerpárral (Ikeda és mts., 2004a) 768 bp termék jelenik meg az *S*₁ és 1383 bp méretű fragmentum az *S*₁’ esetében. Összesen 15 fajtában azonosítottuk a vad típusú *S*₁ változatot (‘Favorit’, ‘Kántorjánosi’, ‘Érdi jubileum’, ‘Meteor korai’, ‘Du-1’, ‘Csengődi’, ‘Pándy 279’, ‘Debreceni bőtermő’, ‘Piramis’, ‘Korai pipacsmeggy’, ‘Éva’, ‘Petri’ és három VN jelű klónban), míg az *S*₁’-allélt csak az ‘Újfehértói fürtös’ fajta esetében (29. ábra). Az *S-RN-áz* gén 2. intronrégiójának szekvenciáját a ‘Csengődi’ fajtából meghatároztuk, és a BLAST vizsgálat alapján 100% egyezést találtunk az *S*₁-alléllal (877 bp).

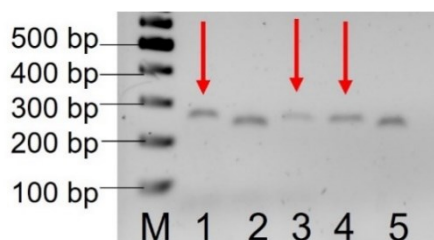


29. ábra: Az *S*₁- és *S*₁’-haplotípusok megkülönböztetése a PaSFB1-F/R (Tsukamoto és mts., 2008b) primerpárral. Az *S*₁’-haplotípus 1383 bp méretű fragmentumát a piros nyíl jelzi, míg az *S*₁-haplotípusok 768 bp méretű PCR-termékekkel jelennek meg. 1. ‘Favorit’, 2. ‘Kántorjánosi’, 3. ‘Érdi jubileum’, 4. ‘Meteor korai’, 5. ‘Csengődi’, 6. ‘Pándy 279’, 7. ‘Újfehértói fürtös’ 8. ‘Debreceni bőtermő’, 9. ‘Piramis’, 10. ‘Korai pipacsmeggy’, 11. ‘Éva’, 12. ‘Petri’, 13. VN-1, M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific).

Az SPM *S*_{6m}-haplotípus funkcióvesztését az *RN-áz* gén kódoló régiójába ékelődött 2715 bp inszerció okozza (Yamane és mts., 2003a). Egy másik SPM, az *S*_{6m2} esetében egy guanintartalmú nukleotid deléciója miatt kialakuló kereteltolódás korai stop kodont hozott létre (Tsukamoto és mts., 2006). Az *S*₆-, *S*_{6m}- és az *S*_{6m2}-haplotípusok megkülönböztetéséhez a specifikus PcS6-spF és PcS6-spR primerpárt használtuk (Tsukamoto és mts., 2008b). Az inszerció nélkül 192 bp hosszúságú PCR-termék keletkezik az *S*₆- és *S*_{6m2}-allélok esetén,

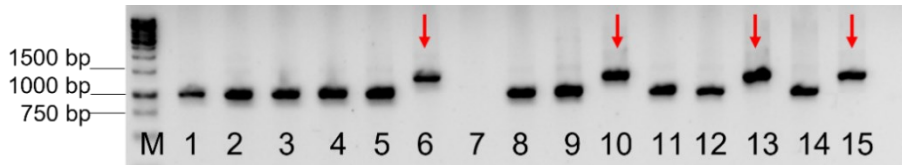
míg az S_{6m} előfordulása 2907 bp méretű fragmentumot idéz elő. Összesen 10 mintánál detektáltuk a nagyobb PCR-fragmentumot ('Meteor korai', 'Korai pipacsmeggy', 'Du-1', 'Érdi bőtermő' és klónjai). A vad típusú S_6 - és az S_{6m2} -haplotípus megkülönböztetéséhez a StyS6-F és S6-RNase-spR CAPS primerpárt használtuk (Tsukamoto és mts., 2008), amivel 295 bp terméket szaporítottunk fel minden vizsgált fajta esetében. A *StyI* restrikciós enzimmel történő hasítást követően az eredeti S_6 -RN-áz PCR-terméke egy 275 bp és egy 20 bp méretű fragmentumra hasadt, míg az S_{6m2} hasítatlan maradt. Összesen 8 fajtában azonosítottuk az S_6 -haplotípust ('Érdi jubileum', 'Montmorency', 'Oblacsinszka' és klónjai, VN klónok), míg az S_{6m2} -haplotípust 3 fajtában találtuk meg ('Cigány 7', 'Csengődi' és 'Cigány C. 404').

Az S_{13} funkcióképes haplotípusnak két funkcióképtelen változata ismert, egyik az *S-RN-áz* gént, míg a másik az *SFB* gént érinti. Az S_{13m} -haplotípusban egy 23 bp méretű deléció keletkezett a kódoló régióban, ami sérült *S-RN-áz* fehérjét eredményez. Az S_{13} '-haplotípus +533. pozíciójában egy adenin guaninra cserélődött, ami egy aminosavcserét idézett elő, valamint a +733. pozícióban egy guanin timinre cserélődött, ezáltal egy korai stop kodon jött létre (Tsukamoto és mts., 2006). A MaeS13m-F és MaeS13-Rnase-spR primerpárral végzett PCR során 161 bp méretű fragmentumot kaptunk az S_{13} - és S_{13} '-haplotípusok esetén és 138 bp-t az S_{13m} jelenlétekor. A kisebb S_{13m} fragmentumot csak a kontrollként használt 'Montmorency' fajtában azonosítottuk. Az S_{13} '-haplotípus kimutatásához *DdeI* restrikciós endonukleázt használtunk, aminek felismerőhelye az 5'-CTNAG-3' szekvencia. Az S_{13} '-allél esetében az SNP jelenléte ezt a felismerőhelyet változtatta meg (Tsukamoto és mts., 2008). A specifikus DdeS13-F és SFB13-spR primerpárokkal elvégzett PCR-t követően az S_{13} -haplotípus valamennyi változata esetén 278 bp hosszúságú fragmentumot kaptunk. A *DdeI* restrikciós endonukleázzal történő emésztést követően az enzim a működőképes S_{13} -haplotípust 235 bp, 24 bp és 19 bp hosszúságú szakaszokra hasította, míg az S_{13} '-t két részre, 254 bp és 24 bp hosszú szakaszokra (Tsukamoto és mts., 2008b) (30. ábra). A vizsgált növényanyagban az S_{13} '-haplotípust három fajtában azonosítottuk ('Favorit', 'Érdi jubileum' és 'Maliga emléke'), az S_{13} vad típusú allélt egy fajtában detektáltuk ('Korai pipacsmeggy').



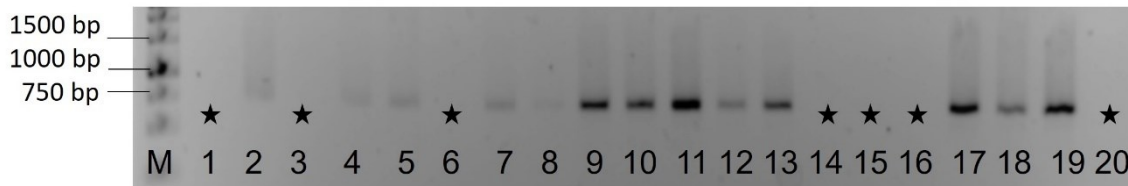
30. ábra: Az $S_{13/13m}$ - és S_{13} '-haplotípusok elkülönítése *DdeI* restrikciós endonukleázzal történő hasítással az *SFB*-gén DdeS13-F és SFB13-spR primerpárokkal végzett PCR-amplifikációját követően (Tsukamoto és mts., 2008b). A restrikciós endonukleáz a bibekomponensben eltérést mutató, de az *SFB*-génben azonos szekvenciájú S_{13} - és S_{13m} -haplotípusokat 235 bp, 24 bp és 19 bp méretű szakaszokra, míg a piros nyíllal jelölt, a pollenkomponensben eltérő S_{13} '-t 254 bp és 24 bp hosszú szakaszokra hasította. M: GeneRuler 100 bp DNS-marker (Thermo Fisher Scientific); 1. 'Érdi jubileum' (S_{13} ' kontroll); 2. 'Montmorency' (S_{13m} kontroll); 3. 'Favorit' (S_{13}); 4. 'Maliga emléke' (S_{13}); 5. 'Korai pipacsmeggy' (S_{13}).

Az S_{36} -haplotípusnak funkcióképes variánsát mindezidáig nem azonosították, csak négy funkcióképtelen változata (S_{36a} , S_{36b} , S_{36b2} és S_{36b3}) ismert. A PcS36ab-F2 és PcS36a-spR primerpárokkal (Tsukamoto és mts., 2010) végzett PCR-vizsgálat során 1042 bp hosszú fragmentum keletkezik az S_{36a} és S_{36b} esetén, míg 1348 bp az S_{36b2} -haplotípusnál (31. ábra).



31. ábra: Az S_{36a} -, S_{36b} - és S_{36b2} -haplotípusok azonosítása PcS36ab-F2 és PcS36a-spR primerpár alapján (Tsukamoto és mts., 2010). S_{36a} és S_{36b} esetén 1042 bp méretű fragmentum, míg az S_{36b2} esetén (nyílal jelölve) 1348 bp méretű ampikon keletkezik. M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific); 1. ‘Favorit’ ($S_1S_{13}S_{35}S_{36a}$); 2. ‘Kántorjánosi 3’ ($S_1S_4S_{35}S_{36b}$); 3. ‘Meteor korai’ ($S_1S_{6m}S_{35}S_{36a}$); 4. ‘Érdi jubileum’ ($S_1S_6S_{13}S_{36b}$); 5. ‘Maliga emléke’ ($S_{13}S_{35}S_{36a}S_{36b}$); 6. ‘Cigánymeggy 7’ ($S_{6m2}S_9S_{26}S_{36b2}$); 7. ‘Du-1’ ($S_1S_{6m}S_{12}S_{35}$); 8. ‘Újfehértói fürtös’ ($S_1S_4S_{35}S_{36b}$); 9. ‘Pándy 279’ ($S_1S_4S_{35}S_{36b}$); 10. ‘Cigánymeggy C. 404’ ($S_{6m2}S_9S_{26}S_{36b2}$); 11. ‘Debreceni bőtermő’ ($S_1S_4S_{35}S_{36b}$); 12. ‘Piramis’ ($S_1S_{35}S_{36a}S_{36b}$); 13. ‘Pipacs 1’ ($S_{12}S_{14}S_{26}S_{36b2}$); 14. ‘Korai pipacsmeggy’ ($S_1S_{6m}S_{13}S_{36b}$); 15. ‘Fanal’ (S_9S_{36b2}).

Az S_{36a} és S_{36b} elkülönítéséhez az S_{36a} -allélra specifikus PcS36ab-F és PcS36a-spR primereket alkalmaztuk (Tsukamoto és mts., 2010), mellyel az S_{36a} -allél jelenléte esetén egy 898 bp méretű fragmentum keletkezik. Ezen eredményeket megerősítettük még a PcS36ab-F és PcS36b/b2/b3-R primerpárral (Tsukamoto és mts., 2010) végzett PCR eredményeivel is, amivel 760 bp méretű szakasz amplifikálódik az S_{36b} és S_{36b3} esetén, valamint egy 759 bp méretű az S_{36b2} esetében, de az S_{36a} -allélról nem történik amplifikáció (32. ábra).

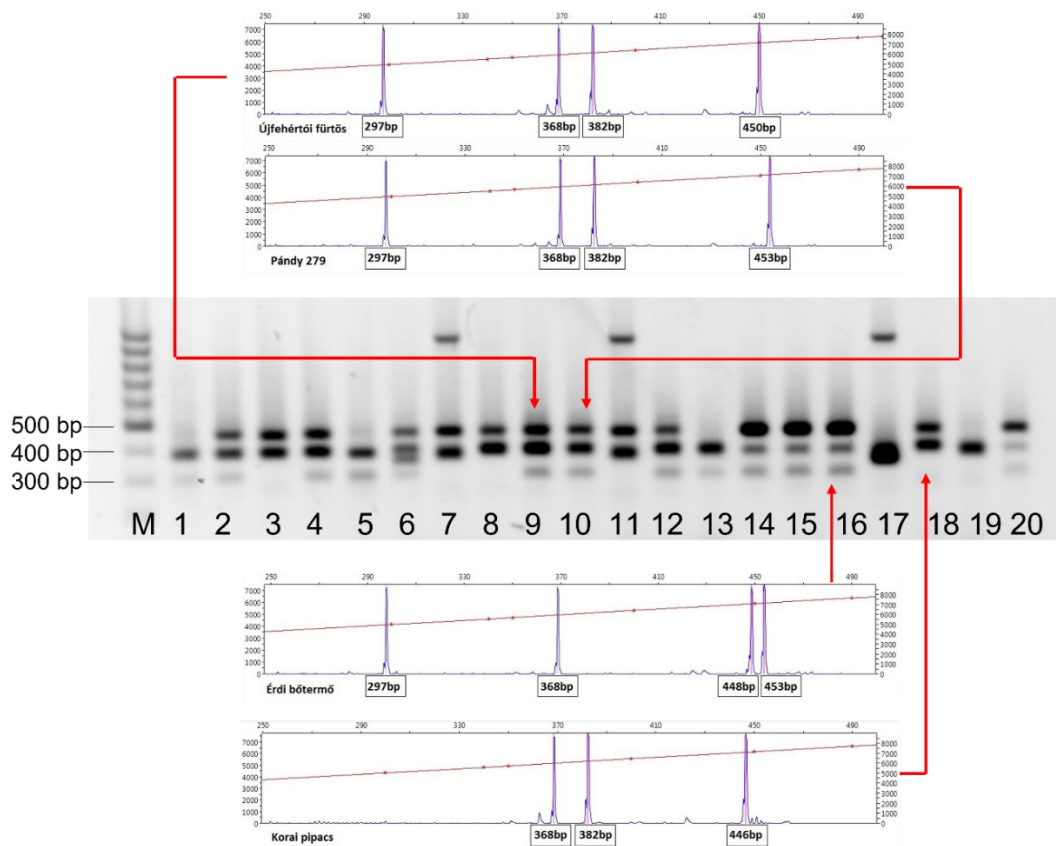


32. ábra: Az S_{36a} -, S_{36b} - és S_{36b2} -haplotípusok azonosítása PcS36ab-F és PcS36b/b2/b3-R primerpárral (Tsukamoto és mts., 2010). Az S_{36b} és S_{36b3} esetén 760 bp méretű szakasz, míg az S_{36b2} esetében egy 759 bp méretű szakasz amplifikálódik, ugyanakkor az S_{36a} -allélról nem történik amplifikáció, amit csillag jelöl az ábrán. M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific); 1. ‘Favorit’ ($S_1S_{13}S_{35}S_{36a}$); 2. ‘Kántorjánosi 3’ ($S_1S_4S_{35}S_{36b}$); 3. ‘Meteor korai’ ($S_1S_{6m}S_{35}S_{36a}$); 4. ‘Érdi jubileum’ ($S_1S_6S_{13}S_{36b}$); 5. ‘Maliga emléke’ ($S_{13}S_{35}S_{36a}S_{36b}$); 6. ‘Du-1’ ($S_1S_{6m}S_{12}S_{35}$); 7. ‘Cigánymeggy 7’ ($S_{6m2}S_9S_{26}S_{36b2}$); 8. ‘Csengődi’ 9. ‘Újfehértói fürtös’ ($S_1S_4S_{35}S_{36b}$); 10. ‘Pándy 279’ ($S_1S_4S_{35}S_{36b}$); 11. ‘Cigánymeggy C. 404’ ($S_{6m2}S_9S_{26}S_{36b2}$); 12. ‘Debreceni bőtermő’ ($S_1S_4S_{35}S_{36b}$); 13. ‘Piramis’; 14. N2 ($S_4S_{6m}S_{35}S_{36a}$); 15. L ($S_4S_{6m}S_{35}S_{36a}$); 16. ‘Érdi bőtermő’ ($S_4S_{6m}S_{35}S_{36a}$); 17. ‘Pipacs 1’ ($S_{12}S_{14}S_{26}S_{36b2}$); 18. ‘Korai pipacsmeggy’ ($S_1S_{6m}S_{13}S_{36b}$); 19. ‘Fanal’ (S_9S_{36b2}); 20. ‘Montmorency’ ($S_6S_{13m}S_{35}S_{36a}$).

Ezen utóbbi primerpárok PCR-eredményeinek összesítésével az ‘Érdi bőtermő’ klónokkal együtt 12 mintában találtuk meg az S_{36a} -haplotípust (‘Favorit’, ‘Meteor korai’, ‘Maliga emléke’, ‘Piramis’, ‘Montmorency’, ‘Érdi bőtermő’ és klónjai), valamint tíz fajtában az S_{36b} -allélt (‘Érdi jubileum’, ‘Maliga emléke’, ‘Újfehértói fürtös’, ‘Pándy 279’, ‘Debreceni bőtermő’, ‘Piramis’, ‘Korai pipacsmeggy’, ‘Éva’, ‘Petri’ és ‘Kántorjánosi 3’). További tíz fajtában az S_{36b2} -t (‘Cigánymeggy 7’, ‘Csengődi’, ‘Cigánymeggy C. 404’, ‘Pipacs 1’, ‘Fanal’, ‘Oblacsinszka’ és klónjai, VN klónok) mutattuk ki. S_{36b3} -haplotípust egyik magyar meggyfajtában sem találtunk.

5.3.2. Az *S*-genotipizálás hatékonyságának növelése

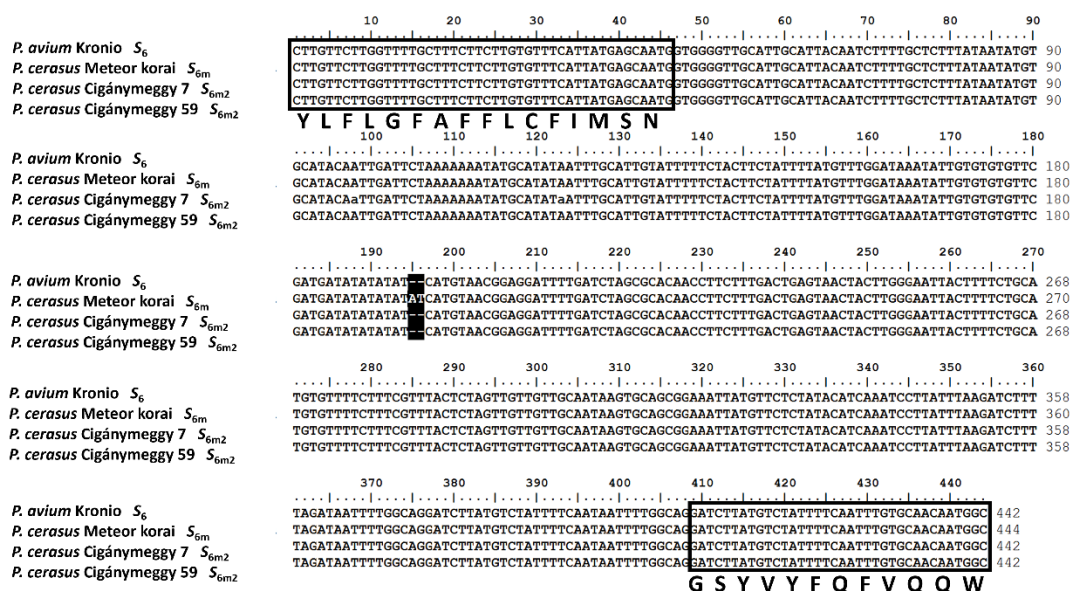
Cseresznye esetében az *S-RN-áz* gén első intronrégiójának (kb. 100–450 bp) fragmentumhossz-analízise megbízható és pontos technikának bizonyult a különböző *S*-genotípusok azonosítására (Cachi és Wunsch, 2014). Ugyanakkor meggy esetében nem volt adat az intronrégió méretbeli variabilitásáról. Ezért meggy *S*-genotípusok meghatározásához elsőként alkalmaztuk a cseresznyére kidolgozott PaConSI-F_{FAM} és PaConSI-R2 primerpárt (Sonneveld és mts., 2006). A PCR eredményességét agaróz-gélelektroforézissel ellenőriztük (33. ábra), és az ampikonok mérete a vártnak megfelelően szinte minden esetben 500 bp-nál kisebb volt. Ennek megfelelően a fragmentumok pontos méretét automata szekvenátor segítségével határoztattuk meg a fluoreszcens FAM jelölés segítségével. Az eredmények kiértékelése során a Sonneveld és munkatársai (2006), valamint Cachi és Wunsch (2014) által cseresznye esetében közölt adatokat vettük alapul (9. táblázat).



33. ábra: Az *S-RN-áz* gén első intronrégiójának PaConSI-F_{FAM} és PaConSI-R2 konszenzus primerpárral (Sonneveld és mts., 2006) végzett PCR-amplifikációját követő agaróz gélelektroforézis és fragmentumhossz-analízis eredményei. M: GeneRuler 100 bp DNS-marker (Thermo Fisher Scientific); 1. ‘Favorit’; 2. ‘Kántorjánosi 3’; 3. ‘Érdi jubileum’; 4. ‘Meteor korai’; 5. ‘Maliga emléke’; 6. ‘Du-1’; 7. ‘Cigánymeggy 7’; 8. ‘Csengődi’; 9. ‘Újfehértói fürtös’; 10. ‘Pándy 279’; 11. ‘Cigánymeggy C. 404’; 12. ‘Debreceni bőtermő’; 13. ‘Piramis’; 14. N2; 15. L; 16. ‘Érdi bőtermő’; 17. ‘Pipacs 1’; 18. ‘Korai pipacsmeggy’; 19. ‘Fanal’; 20. ‘Montmorency’.

Kontrollként az alábbi fajtákat használtuk, melyek genotípusát már korábban meghatározták: ‘Újfehértói fürtös’, Pándy klónok, Cigánymeggy klónok, ‘Érdi jubileum’ és ‘Érdi bőtermő’, valamint ‘Montmorency’ (Tsukamoto és mts., 2010). Az *S*₁- és *S*₁’-allél 382 bp-ral jellemezhető méretét 16 fajtában, köztük három kontrollban azonosítottuk (‘Favorit’, ‘Kántorjánosi 3’, ‘Érdi jubileum’, ‘Meteor korai’, ‘Du-1’, ‘Csengődi’, ‘Újfehértói fürtös’, ‘Pándy 279’, ‘Debreceni bőtermő’, ‘Piramis’, ‘Korai pipacsmeggy’, ‘Éva’, ‘Petri’ és három

VN klón). A korábban bemutatott S_1 -haplotípus-specifikus PCR-vizsgálatok igazolták ezen adatokat. Összesen 13 fajtában, köztük három kontrollban ('Kántorjánosi 3', 'Újfehértói fűrtös', 'Pándy 279', 'Debreceni bőtermő', 'Érdi bőtermő' és klónjai, 'Éva' és 'Petri') azonosítottuk a 453 bp méretű fragmentumot, ami a cseresznye S_4 -allél jellemző értéke (Cachi és Wunsch, 2014). Összefüggést találtunk a 448 bp méretű fragmentum és a korábban azonosított S_{6m} -haplotípusok, valamint a 446 bp méret és az S_6 - vagy S_{6m2} -allélok között. Az értékek alapján az S_{6m} -haplotípust tíz fajtában ('Meteor Korai', 'Du-1', 'Érdi bőtermő' és klónjai, valamint 'Korai pipacsmeggy') detektáltuk. Az S_6 - és S_{6m2} -allélok első intronrégiójának méretei azonosak, de az elvégzett S_6 -haplotípus-specifikus PCR-vizsgálatokkal egymástól elkülöníthetők voltak. A kontroll fajták közül négy tartalmazta az S_6 -haplotípus valamelyik változatát. Az S_6/S_{6m2} illetve az S_{6m} -allélok közt tapasztalt kétnukleotidnyi eltérés (446 bp és 448 bp) miatt a 'Meteor korai' (S_{6m}) és 'Cigánymeggy 7' (S_{6m2}) fajták PCR-termékeit klónozást követően megszekvenáltattuk. A szekvenciaillesztés alapján két nukleotidnyi AT inszerciót azonosítottunk az S_{6m} -allél első intronjában. A 'Kronio' fajta adatbázisból letöltött S_6 -allél-szekvenciájában az AT motívum 5 példányban fordul elő, így egy mikroszatellit (SSR) képez, míg az S_{6m} -allél esetében ugyanez a motívum 6 kópiában van jelen (34. ábra).



34. ábra: Az *S-RN-az* gén első intronrégiójának szekvenciaillesztése a meggy három különböző S_6 -haplotípusa esetében. A kontrollként használt vad típusú S_6 -allél a 'Kronio' cseresznyefajtából származik (EU077236.1), míg az S_{6m2} a 'Cigánymeggy 59' fajtából (DQ385841). A vizsgálat során újonnan izolált szekvenciák a 'Meteor korai' (S_{6m} : KY965069) és 'Cigánymeggy 7' (S_{6m2} : KY965070) fajtákból származnak. Az exonrégiókat keret jelzi a kódolt aminosavak feltüntetésével, a különbséget fekete háttér mutatja.

A 'Pipacs 1' fajtában találtunk egy 347 bp méretű fragmentumot, ami a cseresznyéből származó S_{12} -haplotípus adataival egyezik meg, és más fajtában nem fordult elő. Ezenkívül egy másik cseresznye allélméretet (336 bp) is csak a 'Pipacs 1' fajtában találtunk, ezt a fragmentumot klónoztuk és megszekvenáltattuk. A BLAST analízis során 100%-os egyezést mutatott a cseresznyéből származó S_{14} -*RN-az*szal. Azokban a mintákban, ahol a korábban elvégzett specifikus PCR-ek alapján az S_{13} -haplotípusok jelenléte igazolódott, az első intronrégió vizsgálatánál nem amplifikálódott PCR-termék. Három fajtában ('Pipacs 1', 'Cigánymeggy 7', 'Cigánymeggy C. 404.') találtunk az *S-RN-az* gén első intronrégiója esetén szokatlanul nagyméretű (kb. 900 bp) fragmentumot (33. ábra). A PCR-terméket klónoztuk és megszekvenáltattuk a 'Cigánymeggy 7' klónfajtából és az

NCBI adatbázisból letölthető szekvenciaadatok alapján (EU035975) azonosnak bizonyult a *P. fruticosa* S₂₆-alléllal. Az első intronrégió szekvenciából meghatározott, pontos mérete 923 bp. Az S₉-allélt 358 bp mérettel azonosítottuk hat fajtában, köztük egy kontroll esetében is ('Cigánymeggy 7', 'Cigánymeggy C. 404.', 'Fanal', 'Oblacsinszka' és klónjai).

A *P. fruticosa* fajból származó S₃₅-allélt 297 bp-nál detektáltuk, ami 19 fajtában jelent meg ('Kántorjánosi 3', 'Favorit', 'Meteor korai', 'Maliga emléke', 'Du-1', 'Újfehértói fürtös', 'Pándy 279', 'Debreceni bőtermő', 'Piramis', 'Érdi bőtermő' és klónjai, 'Montmorency', 'Éva' és 'Petri'). Az S_{36a}- és S_{36b}-allélok esetén 368 bp, míg az S_{36b2} esetén 370 bp méretű fragmentumot kaptunk a PCR során. Ennek az eltérésnek az oka egy 2 bp-os inszerció az *S-RN-áz* gén első intronjában (Tsukamoto és mts., 2010). Ezt összevetve az S₃₆-haplotípus-specifikus vizsgálatokkal az S_{36a}-haplotípust összesen 12 fajtában azonosítottuk, ebből kettő kontrollfajta ('Favorit', 'Meteor korai', 'Piramis', 'Maliga emléke', 'Montmorency', 'Érdi bőtermő' és klónjai). Az S_{36b}-allélt 10 fajtában találtuk meg, köztük három kontroll fajtában ('Érdi jubileum', 'Maliga emléke', 'Újfehértói fürtös', 'Pándy 279', 'Debreceni bőtermő', 'Piramis', 'Korai pipacsmeggy', 'Éva', 'Petri' és 'Kántorjánosi 3'). Az S_{36b2}-haplotípust 10 fajtában mutattuk ki, köztük egy kontroll fajta volt ('Cigánymeggy 7', 'Csengődi', 'Cigánymeggy C. 404', 'Pipacs 1', VN klónok, 'Oblacsinszka' és klónjai). Az így meghatározott S-haplotípusokra jellemző pontos méreteket a 9. táblázat foglalja össze.

9. táblázat: A meggy *S-RN-áz* allélok első intronrégiójának fragmentumhossz-analízisével meghatározott pontos méretei (500 bp alatt) a PaConsI-F/PaConsI-R2 primerpár használatával (Sonneveld és mts., 2006), az adott haplotípus eredetének feltüntetésével. Az S₂₆ esetében a 923 bp méretet szekvenálás alapján határoztuk meg

Allélok	Méret (bp)	Eredet
S ₁ , S ₁ '	382	<i>P. avium</i>
S ₄	453	<i>P. avium</i>
S ₆ , S _{6M2}	446	<i>P. avium</i>
S _{6M}	448	<i>P. avium</i>
S ₉	358	<i>P. avium</i>
S ₁₂	347	<i>P. avium</i>
S ₁₃	nincs termék	<i>P. avium</i>
S ₁₄	336	<i>P. avium</i>
S ₂₆	923	<i>P. fruticosa</i>
S ₃₅	297	<i>P. fruticosa</i>
S _{36A} , S _{36B}	368	<i>P. fruticosa</i>
S _{36B2}	370	<i>P. fruticosa</i>

Összesen 10 különböző S-haplotípust (S₁, S₄, S₆, S₉, S₁₂, S₁₃, S₁₄, S₂₆, S₃₅ és S₃₆) vagy ezek funkcióképtelen variánsait azonosítottuk 28 meggyfajta és néhány szelektált klón S-allél-készletének meghatározásával (10. táblázat).

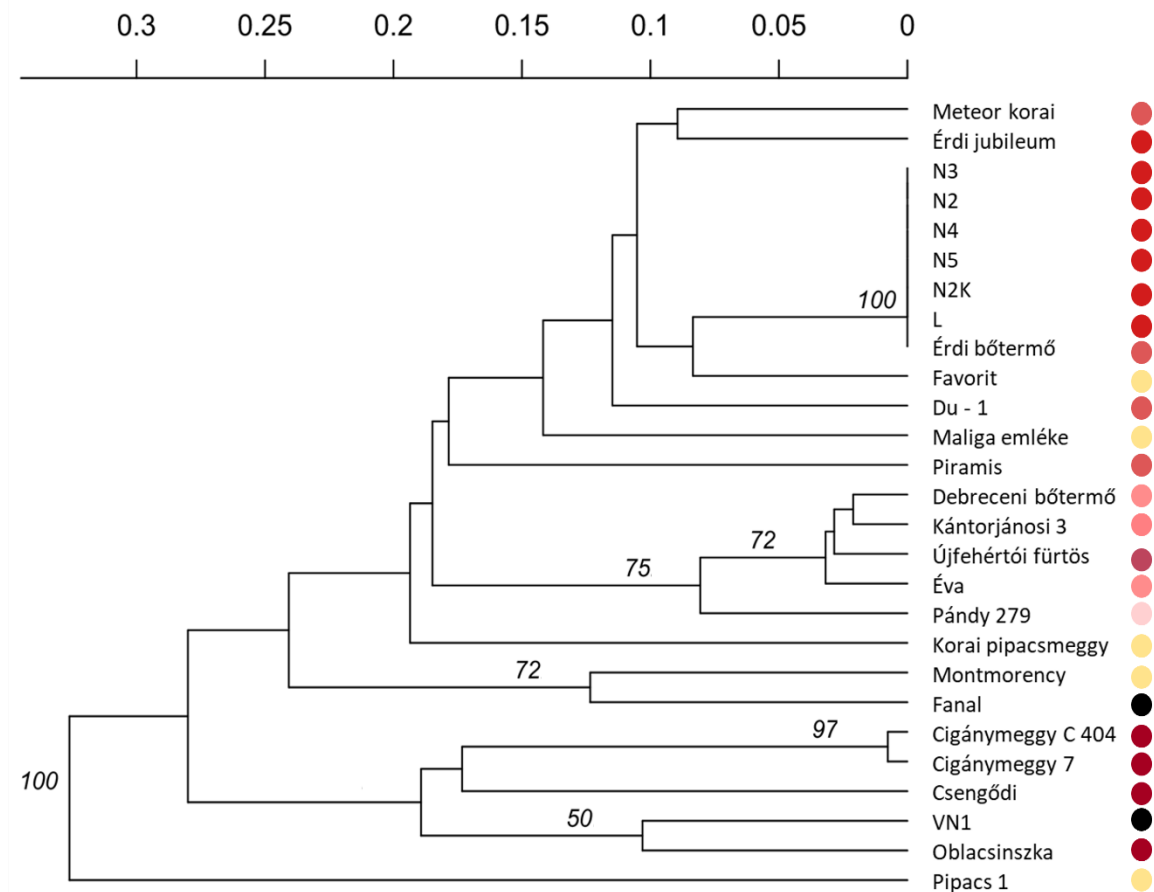
10. táblázat: A vizsgálatba vont magyar meggyfajták és szelektált klónok *S*-genotípusa

Fajta	<i>S</i> -genotípus	Eredet
Cigánymeggy 7*	$S_{6m2}S_9S_{26}S_{36b2}$	Őshonos, spontán létrejött fajta
Cigánymeggy C. 404	$S_{6m2}S_9S_{26}S_{36b2}$	Őshonos, spontán létrejött fajta
Csengődi	$S_1S_{6m2}S_{36b2}$	Tájszelekció, Csengőd-Akasztó
Debreceni bőtermő	$S_1S_4S_{35}S_{36b}$	Tájszelekció, Debrecen
Du-1	$S_1S_{6m}S_{12}S_{35}$	Tájszelekció, Dunavecse
Érdi bőtermő*	$S_4S_{6m}S_{35}S_{36a}$	Pándy × Nagy angol
Érdi jubileum*	$S_1S_6S_{13}'S_{36b}$	Pándy × Eugenia
Éva	$S_1S_4S_{35}S_{36b}$	Tájszelekció, Fényeslitke
Fanal	S_9S_{36b2}	Schattenmorelle klón, Németország
Favorit	$S_1S_{13}'S_{35}S_{36a}$	Pándy × Montreuilli
Kántorjánosi 3	$S_1S_4S_{35}S_{36b}$	Tájszelekció, Mátészalka
Korai pipacsmeggy	$S_1S_{6m}S_{13}S_{36b}$	Pándy × Császár
L	$S_4S_{6m}S_{35}S_{36a}$	Érdi bőtermő klón
Maliga emléke	$S_{13}'S_{35}S_{36a}S_{36b}$	Pándy × Eugenia
Meteor korai	$S_1S_{6m}S_{35}S_{36a}$	Pándy × Nagy angol
Montmorency*	$S_6S_{13m}S_{35}S_{36a}$	Tájszelekció, Franciaország
N2	$S_4S_{6m}S_{35}S_{36a}$	Érdi bőtermő klón
N212	$S_4S_{6m}S_{35}S_{36a}$	Érdi bőtermő klón
N3	$S_4S_{6m}S_{35}S_{36a}$	Érdi bőtermő klón
N4	$S_4S_{6m}S_{35}S_{36a}$	Érdi bőtermő klón
N5	$S_4S_{6m}S_{35}S_{36a}$	Érdi bőtermő klón
Oblacsinszka	$S_6S_9S_{36b2}$	Tájszelekció, Jugoszlávia
Oblacsinszka 3/133	$S_6S_9S_{36b2}$	Klónszelekció, Újfehértó
Oblacsinszka 3/142	$S_6S_9S_{36b2}$	Klónszelekció, Újfehértó
Pándy 279*	$S_1S_4S_{35}S_{36b}$	Őshonos, spontán létrejött fajta
Petri	$S_1S_4S_{35}S_{36b}$	Tájszelekció, Lövőpetri
Pipacs 1	$S_{12}S_{14}S_{26}S_{36b2}$	Tájszelekció, Kecel
Piramis	$S_1S_{35}S_{36a}S_{36b}$	M221 × Meteor korai
Újfehértói fűrtös*	$S_1'S_4S_{35}S_{36b}$	Tájszelekció, Újfehértó
VN-1	$S_1S_6S_{36b2}$	Tájszelekció, Vásárosnamény
VN-5	$S_1S_6S_{36b2}$	Tájszelekció, Vásárosnamény
VN-7	$S_1S_6S_{36b2}$	Tájszelekció, Vásárosnamény

*kontrollként használt, ismert *S*-genotípusú fajta (Yamane és mts., 2001; Hauck és mts., 2006b; Tsukamoto és mts., 2006, 2008a;b)

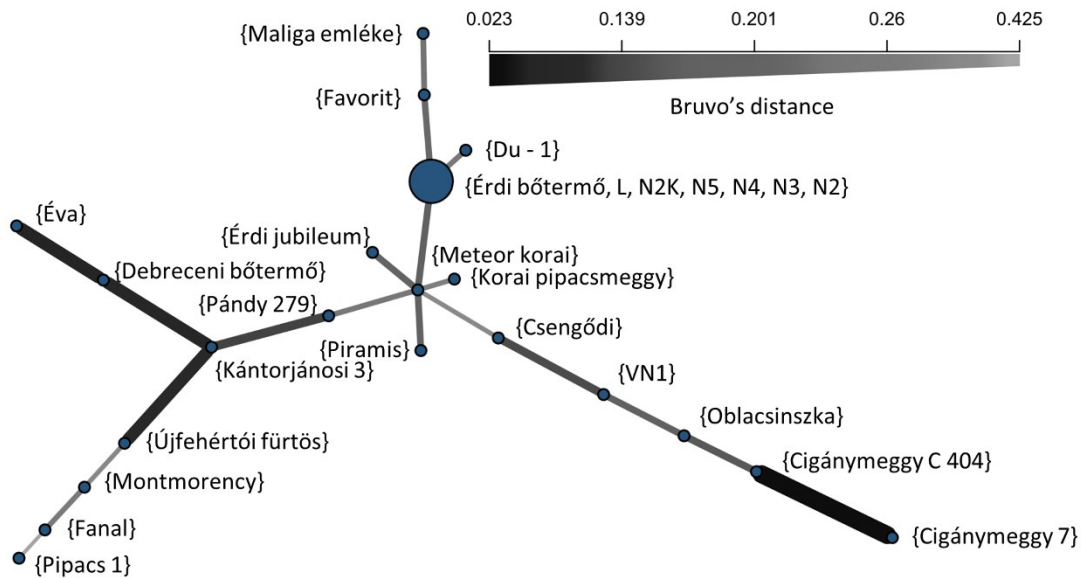
5.3.3. Magyar meggyfajták genetikai jellemzése SSR-markerekkel

Ugyanezen meggyfajtákat a *Prunus* nemzetségben polimorfnek bizonyuló 10 SSR-lókuszból is megvizsgáltuk (Xu és mts., 2004; Dirlewanger és mts., 2002; Mnejja és mts., 2004), hogy genetikai háttérükről még szélesebb körű képet kapjunk. Az adatokból UPGMA elemzést végeztünk, melynek eredményét a 35. ábra szemlélteti.



35. ábra: A tíz SSR-lókuszból készült UPGMA dendrogram ('poppr' package in R, a kládok bootstrap támogatottságával (%), $n=10\ 000$), az elágazásoknál az 50 feletti értéket tüntettük fel; R Core Team, 2013). A fajtanevek melletti korongok színének intenzitása utal a fajta gyümölcshúsának színmélységére, antocianin-tartalmára, a festőlevűség mértékére (Nyéki, 2016; Papp és mts., 2010), a sötét jelöli az erőteljes festőlevűséget.

A dendrogramon a 'Pipacs 1' különül el a leginkább, ezáltal kulcsoportot képezve, ami a többi egyedtől való jelentős genetikai távolságát szemlélteti. Az 'Érdi bőtermő' fajta, valamint a 6 klónja (N2, N3, N4, N5, N2K és L) között a dendrogram azonosságát mutat, vagyis a vizsgált lókuszból eltérést nem tudunk kimutatni. Hasonló tapasztalható a 'Cigánymeggy' klónok esetében is. A két külföldi fajta, a 'Fanal' és 'Montmorency' teljesen külön áll a magyar fajtáktól. A meggy gyümölcse kétféle típusba sorolható: az amarella meggy húsa világos, leve csaknem színtelen, a morello típusra a sötétpiros hússzín jellemző, festőlevű, antocianin-tartalma nagy (Nyéki, 2016; Papp és mts., 2010). A vizsgált fajták között mindkét típus megtalálható. Az ábrán feltüntettem a gyümölcshús színintenzitását, így jól látható, hogy van olyan klád, ahol csak nagy antocianintartalmú gyümölcsöt termő fajták találhatók (a 'Cigánymeggy' klónok, 'Csengődi', VN-1 stb.), de festőlevű fajták más csoportokban is találhatók (pl. 'Fanal'), ráadásul az amarella típusú 'Montmorency' fajta is áll legközelebb. Mindez arra utal, hogy a fajták nem a gyümölcshús festőlevűsége alapján csoportosulnak, ez a jelleg feltehetően több fajtaleszármazási útvonalon is kialakulhatott.



36. ábra: A 10 SSR marker adatai alapján készített minimum spanning hálózat (MSN, Minimum Spanning Network) szemlélteti a meggyfajták rokonsági kapcsolatait. A fekete-szürke skálásáv mutatja Bruvo-féle genetikai távolságot; ami minél nagyobb, annál világosabb a szín és vékonyabb a vonal (Bruvo és mts., 2004; Linde és Smith, 2019).

Az UPGMA dendrogram eredményeit tovább erősíti a minimum spanning hálózati vizsgálat (36. ábra). Az ismertén eltérő genetikai háttérű fajták csoportjai (pl. északkelet-magyarországi szelekcióból, az érdi nemesítési programból származó fajták vagy a magyar eredetűnek tartott Cigánymeggy klónok) jól elkülönülnek egymástól. Az analízis még látványosabban igazolja, hogy például a festőlevű ‘Fanal’ legközelebbi kapcsolatai az amarella típusú ‘Pipacs 1’ és ‘Montmorency’ fajták.

5.3.4. Az *S-RN-áz* gén molekuláris markerként történő felhasználása különböző ploidszintű, spontán *Prunus fruticosa* Pall. hibridek jellemzésére

A cseplezsmeggynek (*P. fruticosa* Pall.) nemcsak a meggy faj kialakulásában volt fontos szerepe, de alanyként történő felhasználása miatt is jelentős értékkel bír mind a cseresznye-, mind a meggytermesztésben. A Kárpát-medencében reliktumnak tekintett élőhelyeken fordul elő, elsőként a Budai hegyekben írták le (Surányi, 1982). Az alanynemesítési programokban begyűjtött ígéretes példányok taxonómiai besorolása több esetben kérdéseket vetett fel, ezért az *in situ* előfordulású és *ex situ* génbanki megőrzés alatt álló egyedeket alaposabb vizsgálatnak vetettük alá. A részletes morfológiai jellemzést SSR- és *S*-lókusz-alapú markerezési módszerekkel egészítettük ki.

A *P. fruticosa* Pall. ($2n=4\times=32$) tetraploid faj és számos, akár eltérő ploidszintű *Prunus* fajjal is spontán kereszteződik (Olden és Nybom, 1968), ezért hibridjei között különböző ploidszintű egyedek is előfordulhatnak. Önmagában az SSR- és *S*-lókusz-analízis a ploidiafok meghatározására nem elegendő, de vizsgálataink során a korábbi botanikai, morfológiai leírásokkal egybevágó eredményeket kaptunk. Önmeddő egyedek estén a homozigótaság kizárható az *S*-lókuszban, így a különböző allélok száma korrelálhat a ploidszinttel. A huszonkét helyszínről begyűjtött egyedek vizsgálata során az *S-RN-áz* első intronrégióján alapuló ILP-módszer összesen 26 eltérő allél jelenlétét mutatta (234–900 bp). A természetes hibridizáció következtében különböző fajokban ugyanazokat az allélokat detektáltuk: 368 bp *P. fruticosa*, *P. × mohácsyana* és *P. cerasus*; 370 bp és a 446 bp az előző három faj és a *P. × eminens*; 345 bp *P. fruticosa* és *P. × mohácsyana*; 900 bp *P. fruticosa*,

P. × eminens és *P. cerasus*; 358 bp *P. × eminens* és *P. cerasus* esetében. Az egyes fajokat képviselő egyedekben közel ugyanannyi allélt mutattunk ki, mint amennyit 8 SSR-lókuszban is találtunk: négy allélt a *P. cerasus* és *P. fruticosa*, három allélt a *P. × mohácsyana* és *P. × jávorkae* hibridekben, valamint két allélt a *P. avium*, *P. mahaleb* és *P. mahaleb × P. avium* genotípusokban (11. táblázat). Négy egyed volt kivétel: a *P. fruticosa* ‘Prob’ és *P. × eminens* 3H esetében a várt 4 helyett 2 allélt, a *P. × mohácsyana* Arborétum esetében a várt 3 helyett 2 allélt, a *P. cerasus* CAB 11E esetében a várt 4 helyett 3 allélt azonosítottunk. Ezek mindegyike a vizsgált SSR-lókuszok többségében az elvárt allélszámot mutatta, amit a morfológiai bélyegek is alátámasztottak a triploidok esetében.

11. táblázat: Alanyként és alanynemesítési programokban felhasznált, különböző ploidszintű *Prunus* fajok és spontán hibridjeik *S-RN-áz* gén 1. intronrégió (bp) fragmentumhossz-analízisének eredménye (Hrotkó és mts., 2019)

Taxon	Származási hely	<i>S-RN-áz</i> 1. intronrégió (bp) ¹	Feltételezett ploidszint ²
<i>P. avium</i>	<i>in situ</i> , Hármashatár-hegy	417, 395	diploid
<i>P. fruticosa</i> f. <i>fruticosa</i>	<i>in situ</i> , Hármashatár-hegy	338, 368 , 370 , 374	tetraploid
<i>P. fruticosa</i> f. <i>aucta</i>	<i>in situ</i> , Pázmánd, Kálvária domb	345 , 368 , 370 , 900	tetraploid
<i>P. fruticosa</i> ‘Prob’	<i>ex situ</i> , Soroksár, Kárpáti (1944) gyűjtése	345 , 368	tetraploid
<i>P. fruticosa</i> ‘Globosa’	<i>ex situ</i> , Budai Arborétum, dísznövény	297, 368 , 370 , 446	tetraploid
<i>P. × mohácsyana</i> PZ2	<i>ex situ</i> , eredeti gyűjtés Pázmánd, Kálvária domb	340, 368 , 379	triploid
<i>P. × mohácsyana</i> PZ3	<i>ex situ</i> , eredeti gyűjtés Pázmánd, Kálvária domb	345 , 370 , 379	triploid
<i>P. × mohácsyana</i> PZ5	<i>ex situ</i> , eredeti gyűjtés Pázmánd, Kálvária domb	370 , 379 , 383	triploid
<i>P. × mohácsyana</i> KV2	<i>ex situ</i> , eredeti gyűjtés Visegrád, Kis Villám	370 , 379 , 383	triploid
<i>P. × mohácsyana</i> Arborétum	<i>ex situ</i> , Budai Arborétum, dísznövény	368 , 446	triploid
<i>P. × mohácsyana</i> 3H <i>in situ</i>	<i>in situ</i> , Hármashatár-hegy	348 , 368 , 379	triploid
<i>P. × mohácsyana</i> 3H <i>ex situ</i>	<i>ex situ</i> , eredeti gyűjtés Hármashatár-hegy	348 , 368 , 379	triploid
<i>P. × eminens</i> 3H	<i>in situ</i> , Hármashatár-hegy	353, 388	tetraploid
<i>P. × eminens</i> KV2	<i>ex situ</i> , eredeti gyűjtés Visegrád, Kis Villám	358 , 370 , 446 , 900	tetraploid
<i>P. × javorkae</i>	<i>ex situ</i> , eredeti gyűjtés Hármashatár-hegy	368 , 388 , 393	triploid
<i>P. cerasus</i> ‘Victor’	<i>ex situ</i> , olasz alany	358 , 370 , 446 , 900	tetraploid
<i>P. cerasus</i> CAB 11E	<i>ex situ</i> , olasz alany	297, 368 , 446	tetraploid
<i>P. avium</i> F12/1	<i>ex situ</i> , alany	335, 347	diploid
<i>P. mahaleb × P. avium</i>	<i>ex situ</i> , alany	234, 342	diploid
<i>P. mahaleb</i> ‘Bogdány’	<i>ex situ</i> , alany	302 , 403	diploid
<i>P. mahaleb</i> ‘Magyar’	<i>ex situ</i> , alany	302 , 403	diploid
<i>P. mahaleb</i> ‘Dalmata’	<i>ex situ</i> , alany	404, 414	diploid

¹Az azonos allélra utaló fragmentumméreteket azonos színek mutatják

²A feltételezett ploidszint esetében dőlt szedéssel jelöltük, ahol a kimutatott allélok száma megegyezett a várt allélszámmal

Kutatócsoportunk részt vett a tetraploid *P. fruticosa* Pall. genomszekvenálásában (Wöhner és mts., 2021). A szekvenálásra került növényegyedet a Hármashatárhegyen (47°33'15.322"N, 18°59'49.623"E) gyűjtöttük. A genom 84.524 fehérjekódoló gént tartalmaz és a repetitív szekvenciák aránya 51,75%. A nyolc kromoszómából álló genom

mérete 366 Mb. Az *S*-lókusz, a többi *Prunus* fajhoz hasonlóan a 6-os kromoszómán található, pontos helye 43.997.811-44.041.281 bp.

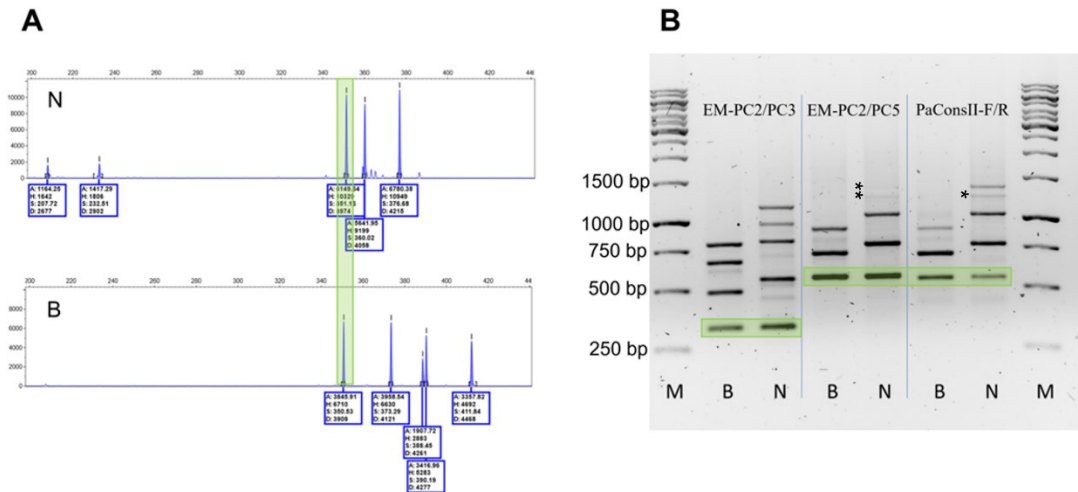
5.4. A házi szilva (*Prunus domestica* L.) genetikai vizsgálatának eredményei

Az eredetvédett szatmári szilvapálinka alapját adó Nemtudom és Besztercei fajtakör variabilitása az *S*-allél-összetétel alapján

Az összetett, hexaploid genommal rendelkező házi szilva (*Prunus domestica* L.) hazánkban fellelhető hagyományos- és tájfajtáinak az *S*-lókuszban megjelenő variabilitásával PhD hallgatóm doktori munkájában foglalkoztunk. Összesen 55 fajta *S*-ribonukleáz génjének C2-C5 szakaszáról 113 PCR-fragmentumot klónoztunk és szekvenáltattunk, amelyből új allélként 11 részleges (C2–C5), valamint 3 teljes (SP–C5) szekvenciát írtunk le, a jellegzetes és polimorf intronméretekkel. Húsz modern, 12 hagyományos, 20 tájfajta és három alanyfajta teljes vagy részleges *S*-gentoípusát azonosítottuk (Makovicsné, 2019).

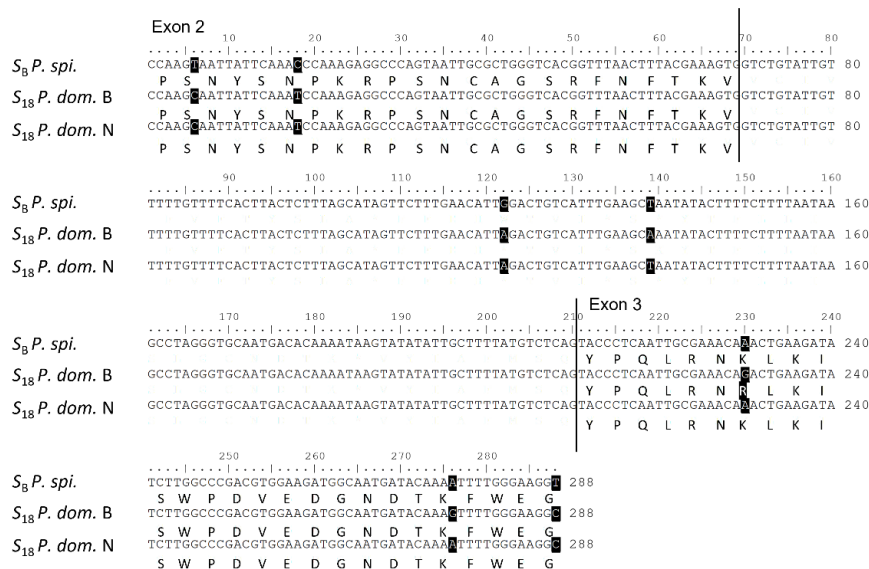
Ezt követően két gazdasági és kulturális értelemben is jelentős hazai, emblematikus fajta további vizsgálatát kiemelten kezeltém. A szatmári szilvapálinka ugyanis eredetvédett magyar pálinka, amely a teljesen érett Nemtudom és Besztercei fajtakörök gyümölcséből készül. A Magyar Köztársaság 2008. évi LXXIII. törvényének megfelelően olyan speciális eljárással készített gyümölcspárlat nevezhető pálinkának, amelyet Magyarországon termelt gyümölcsből készítettek. A földrajzi árujelző jelölés Magyarország gazdaságában a mezőgazdaság és az élelmiszeripar szempontjából különleges jelentőséggel bír. A földrajzi árujelző [Vt. 103.§.(1)] egy olyan gyűjtőnév, amely a kereskedelmi forgalomban a termékek földrajzi eredetének azonosítására használatos. Ebben az esetben a földrajzi árujelzőt Kelet-Magyarországon, Szabolcs-Szatmár-Bereg megyében, a Vásárosnamény és 63 környező település területéről származó, szilvából készített termékre lehet alkalmazni (NÉBIH, 2017). Ezek a településeken a vadon termő szilvafákat közös néven Nemtudom szilvaként ismerik (Pethő, 2011). Termesztői megfigyelések alapján ezek az állományok bár nagyon hasonlóak, nem mindegyike egyöntetű. Az egyes településeken előforduló fákról semmiféle genetikai információ nem volt korábban, ezért munkánk elsődleges célja volt feltérképezni az ugyanazon névvel jelölt fák egyöntetűségét. Kontrollként a NÉBIH által elfogadott és bejegyzett ‘Nemtudom P3’ és ‘Besztercei Bt.2’ fajtákat használtuk (NÉBIH, 2021).

Az *S*-*RN-áz* gén első intronrégiójának fragmentumhossz-analízise során öt különböző allél jelenlétét detektáltuk a két kontroll fajtában: 208, 232, 351, 360 és 376 bp a ‘Nemtudom P3’ és 351, 373, 388, 390, 412 bp a ‘Besztercei Bt.2’ fajta esetében (37. ábra). Mindössze egy fragmentumméret volt közös (351 bp). A második intronrégió amplifikálásához három konszenzus primerpárt is felhasználtunk, hogy minél több allél jelenlétét értékelhessük. A ‘Besztercei Bt.2’ esetében, az EM-PC2/PC3 primerpárral négy allél, míg a nagyobb régiót átfogó C2 és C5 közötti szakaszt amplifikáló primerpárokkal csak három allél PCR-termékét látszódt az agarózgélen. Ugyanakkor a ‘Nemtudom P3’ fajtánál mindhárom kombináció öt allél PCR-termékét tette láthatóvá, bár a nagyobb méreteknél az amplifikáció intenzitása gyengébb volt. A közös allél jelenléte itt is jól látható volt.



37. ábra: Az *S*-ribonukleáz gén PCR-vizsgálata két hexaploid szilvafajta esetében. (A) Az első intronrégió FAM fluoreszcens festékkel jelölt ampliconjainak méreteit automata szekvenátorral határoztuk meg és Peak Scanner 3.0 szoftverrel elemeztünk (Applied Biosystems Sizing Analysis Module); (B) A második intronrégió amplifikációja három konszenzus primerpárral. A közös allél jelenlétét zöld szín jelzi, a csillagok a halvány, de látható fragmentumokat mutatják. M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific); B: ‘Besztercei Bt.2’; és N: ‘Nemtudom P3’ (Halász és mts., 2023).

A ‘Nemtudom P3’ és a ‘Besztercei Bt.2’ esetében jelentkezett azonos méretű, a 2. intronrégiót amplifikáló primerpárral nyert fragmentumot klónoztuk és szekvenciáját meghatároztuk mindkét fajta esetében. A szekvenciákat OR161115 és OR161116 azonosító szám alatt benyújtottuk a nemzetközi adatbázisba. BLASTN analízisük igazolta, hogy a *P. spinosa* S_B -allél a legközelebbi homológ szekvencia (*E* érték $4e-141$ és $4e-136$). Illesztésük feltárta, hogy a hét különböző pozícióból kettő az intronban található, négy szinonim mutáció, és csak egy okoz konzervatív aminosavcserét (Lys→Arg) a ‘Besztercei Bt.2’ szekvenciában (38. ábra).



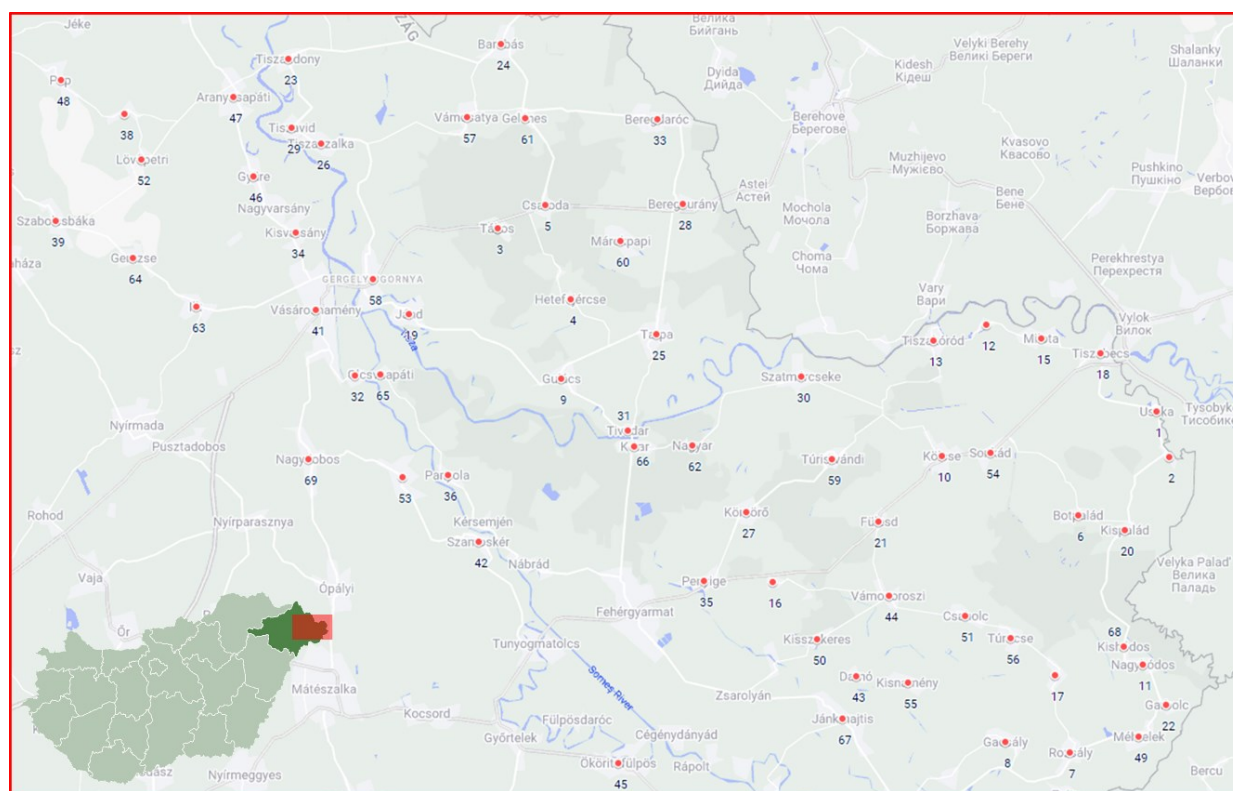
38. ábra: A *P. domestica* ‘Besztercei Bt.2’ (B) és a ‘Nemtudom P3’ (N) S_{18} -ribonukleáz allélok illesztése a *P. spinosa* S_B -RN-áz szekvenciájával. A származtatott aminosav-szekvencia a kodonok alatt látható, a konzervatív aminosavcseréket fekete háttér jelöli. A 2. intron határait függőleges vonalak mutatják, a 2. és 3. exonrégiók kezdetének megjelölésével (Halász és mts., 2023).

Mivel a ‘Nemtudom P3’ fajta termékenyülési fenotípusáról semmilyen adat nem volt elérhető, szabadföldi irányított öntermékenyülési (geitonogámia) vizsgálatokat végeztünk. Május végén a szabad megporzásból származó adatok nagyobb gyümölcskötődési arányt mutattak, mint az öntermékenyülésből származó adatok. Ugyanakkor a júniusi gyümölcszuhallást követően mindkét megporzási mód hasonló eredményt adott, a gyümölcskötődési arány 8-9% volt (12. táblázat), ami a ‘Nemtudom P3’ öntermékenyülő fenotípusát igazolja.

12. táblázat: Gyümölcskötődési arány a ‘Nemtudom P3’ szilva ön- és szabad megporzását követően (Kemenessömjen, 2021)

	2021.04. 04.		2021.05.23.		2021.07. 04.
	A megporzott virágok száma	A gyümölcs-kezdemények száma	Gyümölcs-kötődési arány (%)	A gyümölcs-kezdemények száma	Gyümölcs-kötődési arány (%)
Szabad megporzás	183	36	19,7	17	9,3
Irányított öntermékenyítés	173	15	8,7	14	8,1

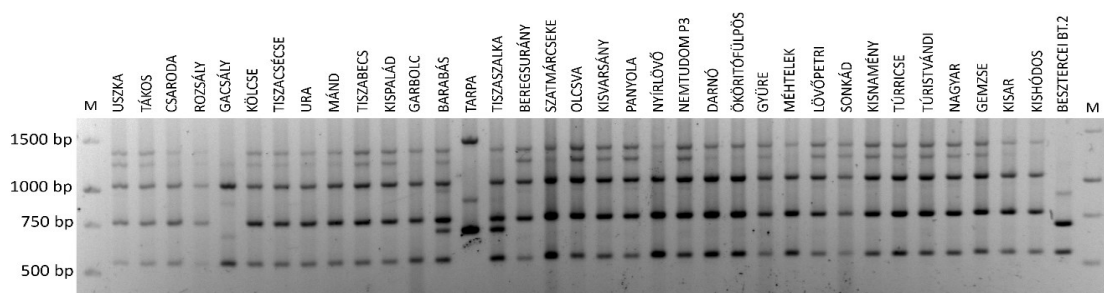
A Nemtudom néven ismert szilva Északkelet-Magyarországon vadon él a Tisza és a Szamos partvidékén (39. ábra), ahonnan 68 különböző településről származó fákról gyűjtöttünk levélmintát DNS-izoláláshoz.



39. ábra: A Nemtudom szilvák gyűjtési helye (1-68) piros pontokkal jelölve a Tisza és a Szamos partvidékén lévő településekről (Halász és mts., 2023).

Az *S-RN-áz* alapú PCR vizsgálat során csak négy település, Gacsály, Barabás, Tarpas és Tiszaszalka területekről származó egy-egy fa mutatott eltérő mintázatot (40. ábra). Mindegyikben egy 750 bp alatti fragmentum detektálható, ami szintén megjelenik a ‘Besztercei Bt.2’ fajtában. A ‘Besztercei Bt.2’ egy másik allélja látszódik a Gacsály és

Tarpa térségek mintáiban (kb. 900 bp). Ez utóbbi genotípusban még egy 1500 bp méretű fragmentum is amplifikálódik, ami semelyik másik mintában nem volt kimutatható. Összességében a legtöbb begyűjtött minta azonos *S*-genotípust mutatott a kontroll ‘Nemtudom P3’ fajtáéval.



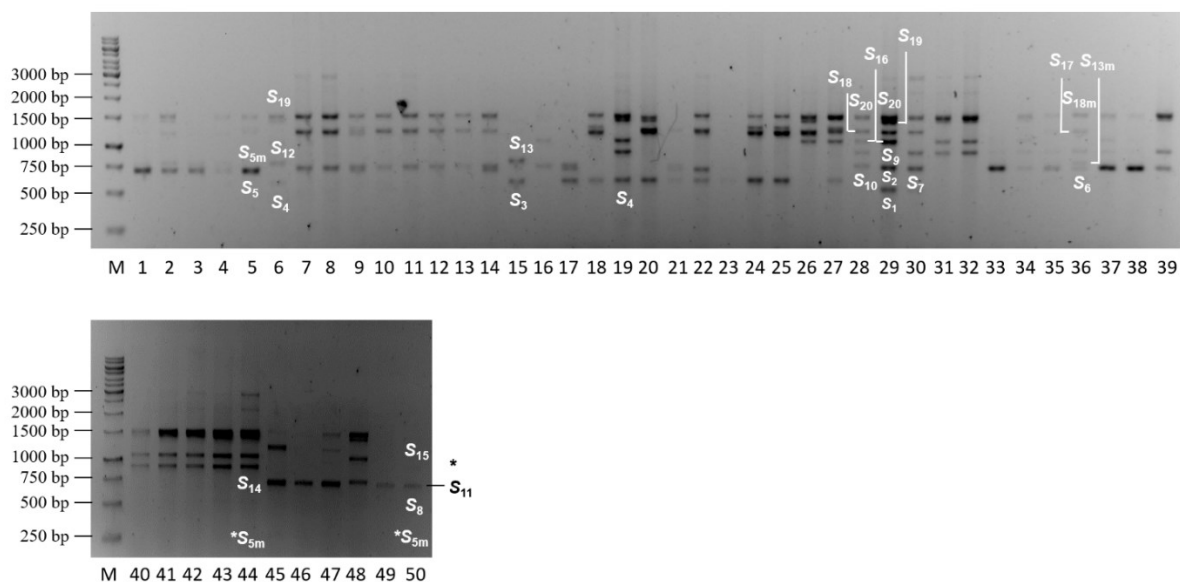
40. ábra: A vadon élő Nemtudom szilvák közül 35 egyed PCR-mintázata az *S-RN-az* gén második intronrégiójának PaConsII-F/R primerpárral végzett amplifikációja alapján, kontroll: ‘Besztercei Bt.2’ és ‘Nemtudom P3’. M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific). Az egyedek nevét a begyűjtési hely alapján jelöltük meg (Halász és mts., 2023).

5.5. A babérmeggy (*Prunus laurocerasus* L.) genetikai vizsgálatának eredményei

5.5.1. Az *S-RN-az* allélok azonosítása egy extrém poliploid faj esetében

A babérmeggy (*Prunus laurocerasus* L.) Magyarországon és a hazánktól nyugatra fekvő európai országokban elsősorban mint népszerű dísznövény ismert. Törökországban azonban a növény gyümölcsének fogyasztása komoly tradíciókkal bír; termése frissen és különböző termékekben feldolgozva is keresett; illetve hagyományosan a népgyógyászat is alkalmazza. Ploidszintje és kromoszómaszáma a *Prunus* fajok között kiugróan nagy ($2n=22x\sim 176$). A dokozaploid faj vizsgálata segíthet a *Prunus* fajok *S*-lókuszának működését jobban megérteni, ezért 50 fenotípusosan különböző, a Fekete-tenger törökországi partvidékéről származó babérmeggy *S-RN-az*-allél alapú vizsgálatát végeztük el.

A cseresznyére tervezett PaConsII-F/R (Sonneveld és mts., 2003) primerpárral 500–3000 bp mérettartományú PCR-termékeket kaptunk, mintánként legfeljebb 7 fragmentummal. Ez jóval kisebb szám, mint amit előzetesen vártunk, de a gélen az egyes sávok festődési intenzitásának különbségei is jól láthatók voltak (41. ábra).



41. ábra: A PaConsII-F/R konszenzus primerpárral (Sonneveld és mts., 2003) végzett PCR eredménye 50 babérmeggy (*Prunus laurocerasus*) egyed esetében (1-50). M: GeneRuler 1 kb DNS-marker (Thermo Fisher Scientific); a fekete csillag halvány, de látható fragmentumot jelöl; a fehér csillag szekvenálással kimutatott allélt jelöl, ami az agaróz gélen nem volt detektálható (Halász és mts., 2021a).

Elvégeztük az első intronrégió fragmentumhossz-analízisét is a PaConsI-F_{FAM}/R2 primerpárral (Sonneveld és mts., 2006), hogy lássuk, a gén egy másik régiója alapján, mennyi allél jelenléte mutatható ki. Összesen 23 mintát teszteltünk, melyeknél 2–9 fragmentum amplifikálódott, így 151 fragmentumot detektáltunk, 32 különböző mérettel. Néhány esetben csak egy-egy nukleotidos eltérést tapasztaltunk.

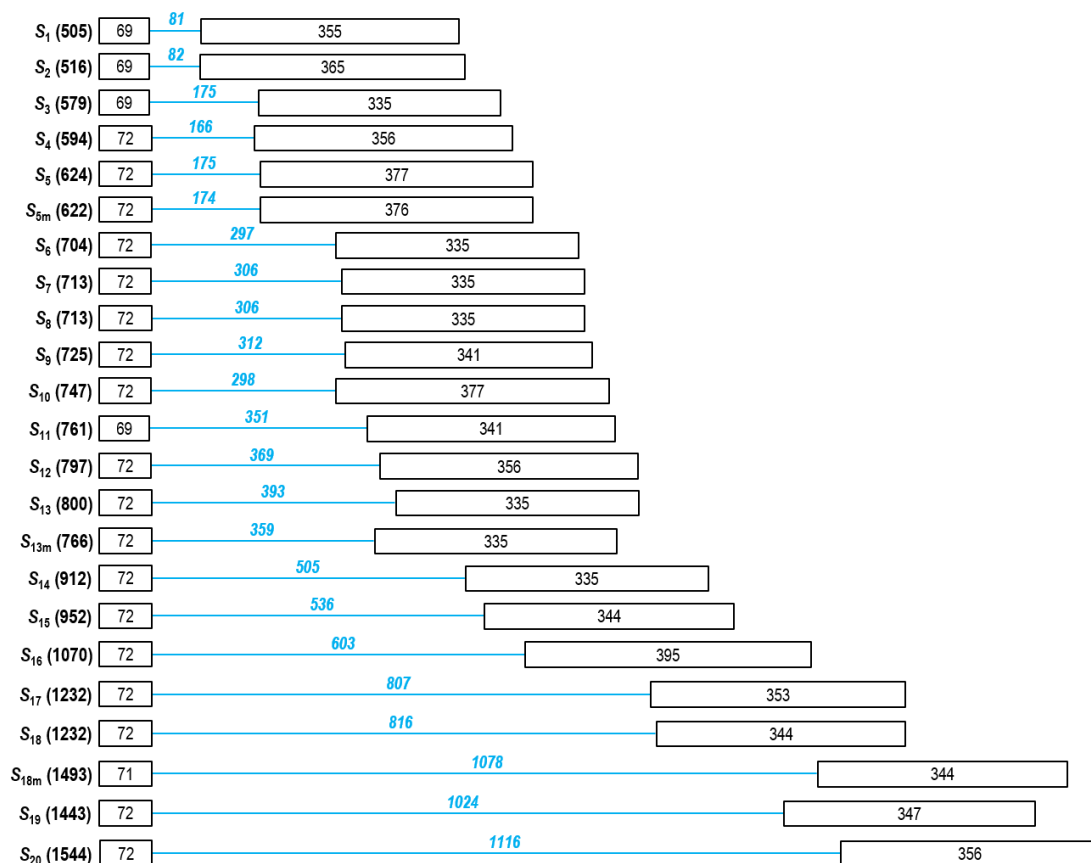
A második intronrégió PCR-mintázata alapján feltételezhető volt, hogy az agarózgélen nem minden esetben volt sikeres a fragmentumok elválasztása, esetenként hasonló méretű, de különböző szekvenciájú DNS-szakaszok is amplifikálódhattak. Ezért 10 egyed mintájából a keletkezett amplikonokat klónozást követően megszekvenáltattuk, melyek összesen 23 különböző szekvenciát eredményeztek, mintánként 1-5 eltérő szekvenciát. A szekvenciákkal NCBI BLASTN analízist végeztünk a GeneBank adatbázisban. A statisztikailag is megerősített (*E*-értékek: 0,0 és $7e^{-152}$ között) eredmény alapján a más *Prunus S-RN-ázokkal* homológiát mutató szekvenciák feltételezhetően új *S-RN-áz* allélok. Intronméretük szerint sorba rendezve S_1 – S_{20} néven jelöltük meg ezeket (42. ábra), külön feltüntetve három, feltételezett mutációt hordozó allélt (S_{5m} , S_{13m} és S_{18m}). A leírt allélok az NCBI GenBank adatbázisban az alábbi azonosítók alatt érhetők el: MG593769-MG593775, MG595258-MG595259, MG601104-MG601115 és MG922592-MG922593 (13. táblázat).

13. táblázat: Az újonnan azonosított *Prunus laurocerasus* *S*-*RN*-áz-allélszekvenciák BLASTN analízisének eredményei (Halász és mts., 2021a)

Allél	NCBI GenBank azonosító	Lefedettség (%)	Azonosság (%)	<i>E</i> -érték	Legközelebbi homológ (faj és GenBank azonosító)
<i>S</i> ₁	MG593769	98	97,8	0,0	<i>P. speciosa</i> <i>S</i> ₂₂ , AB289876
<i>S</i> ₂	MG593770	98	97,1	0,0	<i>P. speciosa</i> <i>S</i> ₃₄ , AB289887
		99	96,9	0,0	<i>P. cerasus</i> <i>S</i> ₃₅ , EU054327
		94	97,1	0,0	<i>P. avium</i> <i>S</i> ₂₇ , AY259112
		99	99,7	0,0	<i>P. avium</i> <i>S</i> ₆ , EU077236
<i>S</i> ₃	MG593771	100	99,1	0,0	<i>P. avium</i> <i>S</i> ₂₄ , AY259112
		100	98,1	0,0	<i>P. virginiana</i> <i>S</i> ₄ , JF907560
		99	97,5	0,0	<i>P. armeniaca</i> <i>S</i> ₆₅ , JQ327151
		99	97,3	0,0	<i>P. armeniaca</i> <i>S</i> ₄₈ , HQ342878
<i>S</i> ₄	MG593772	100	97,0	0,0	<i>P. armeniaca</i> <i>S</i> ₂₄ , HQ615602
		98	97,0	0,0	<i>P. armeniaca</i> <i>S</i> ₃₈ , GU586228
		95	97,9	0,0	<i>P. tenella</i> <i>S</i> ₁ , DQ983373
		100	95,8	0,0	<i>P. armeniaca</i> <i>S</i> ₄ , AY587564
		91	98,0	0,0	<i>P. mira</i> <i>S</i> ₁ , AB597200
		88	94,8	0,0	<i>P. virginiana</i> <i>S</i> ₂ , JF907558
		98	93,8	0,0	<i>P. virginiana</i> <i>S</i> ₅ , JQ627793
		98	87,1	0,0	<i>P. domestica</i> <i>S</i> ₅ , MW407938
<i>S</i> _{5m}	MG922592	98	93,5	0,0	<i>P. virginiana</i> <i>S</i> ₅ , JQ627793
<i>S</i> ₆	MG593774	99	94,0	0,0	<i>P. spinosa</i> <i>S</i> ₃₋₁ , DQ677584
		100	93,2	0,0	<i>P. laurocerasus</i> <i>S</i> ₈ , MG595258
		90	94,7	0,0	<i>P. virginiana</i> <i>S</i> ₆ , JF907562
		83	96,7	0,0	<i>P. armeniaca</i> <i>S</i> ₁₇ , EU516388
		47	97,6	8e-158	<i>P. mume</i> <i>S</i> ₁₁ , EU020118
		57	97,0	2e-154	<i>P. mume</i> <i>S</i> ₁₅ , EU020122
		98	93,1	0,0	<i>P. dulcis</i> <i>S</i> ₅₅ , FN599511
<i>S</i> ₇	MG593775	99	93,0	0,0	<i>P. dulcis</i> <i>S</i> ₄₀ , HQ622703
		99	92,6	0,0	<i>P. armeniaca</i> <i>S</i> ₆₆ , JQ327152
		98	92,0	0,0	<i>P. webbii</i> <i>S</i> _k , AM690360
		99	98,7	0,0	<i>P. spinosa</i> <i>S</i> ₃₋₁ , DQ677584
<i>S</i> ₈	MG595258	100	93,2	0,0	<i>P. laurocerasus</i> <i>S</i> ₆ , MG593774
		89	93,8	0,0	<i>P. virginiana</i> <i>S</i> ₆ , JF907562
		83	98,0	0,0	<i>P. armeniaca</i> <i>S</i> ₁₇ , EU516388

Allél	NCBI GenBank azonosító	Lefedettség (%)	Azonosság (%)	E-érték	Legközelebbi homológ (faj és GenBank azonosító)
S_9	MG595259	94	96,8	0,0	<i>P. avium</i> S_{13} , DQ385842
		56	98,5	8e-163	<i>P. mume</i> S_{11} , EU020118
		56	97,9	2e-159	<i>P. mume</i> S_{15} , EU020122
S_{10}	MG601104	57	99,4	2e-173	<i>P. tenella</i> S_{17} , KU167069
		87	93,2	0,0	<i>P. dulcis</i> S_{54} , AY613341
		87	93,7	0,0	<i>P. dulcis</i> S_{63} , AY613919
		87	93,7	0,0	<i>P. dulcis</i> S_{56} , AY613343
		85	93,4	0,0	<i>P. armeniaca</i> S_{49} , HQ342879
		86	92,9	0,0	<i>P. armeniaca</i> S_{50} , HQ342880
S_{11}	MG601105	88	96,8	0,0	<i>P. virginiana</i> S_7 , JQ627795
		99	98,4	0,0	<i>P. speciosa</i> S_3 , AB289860
		99	97,5	0,0	<i>P. virginiana</i> S_6 , JF907562
S_{12}	MG601106	96	97,0	0,0	<i>P. armeniaca</i> S_{40} , GU354239
		99	94,1	0,0	<i>P. speciosa</i> S_{44} , AB289895
		99	93,1	0,0	<i>P. simonii</i> S_1 , EU376959
		95	93,1	0,0	<i>P. salicina</i> S_h , AB084148
S_{13}	MG601107	93	99,7	0,0	<i>P. avium</i> S_9 , AJ635270
S_{13m}	MG601108	93	93,2	0,0	<i>P. avium</i> S_9 , AJ635270
S_{14}	MG601109	92	96,3	2e-175	<i>P. dulcis</i> S_9 , MH316092
S_{15}	MG601110	100	93,8	0,0	<i>P. spinosa</i> S_7 , EU833958
S_{16}	MG601111	70	93,4	2e-163	<i>P. japonica</i> S_1 , EF635417
S_{17}	MG601112	44	94,0	0,0	<i>P. serotina</i> S_3 , MN098835
S_{18}	MG601113	75	84,9	0,0	<i>P. armeniaca</i> S_c , DQ422947
S_{18m}	MG922593	65	85,0	0,0	<i>P. armeniaca</i> S_c , DQ422947
S_{19}	MG601114	77	92,5	0,0	<i>P. tenella</i> S_9 , DQ983370
		62	92,3	0,0	<i>P. armeniaca</i> S_{25} , EU037264
		76	94,1	0,0	<i>P. dulcis</i> S_{54} , FN599510
S_{20}	MG601115	29	98,0	5e-168	<i>P. dulcis</i> S_n , DQ093825
		36	88,9	7e-152	<i>P. armeniaca</i> S_1 , AY587561

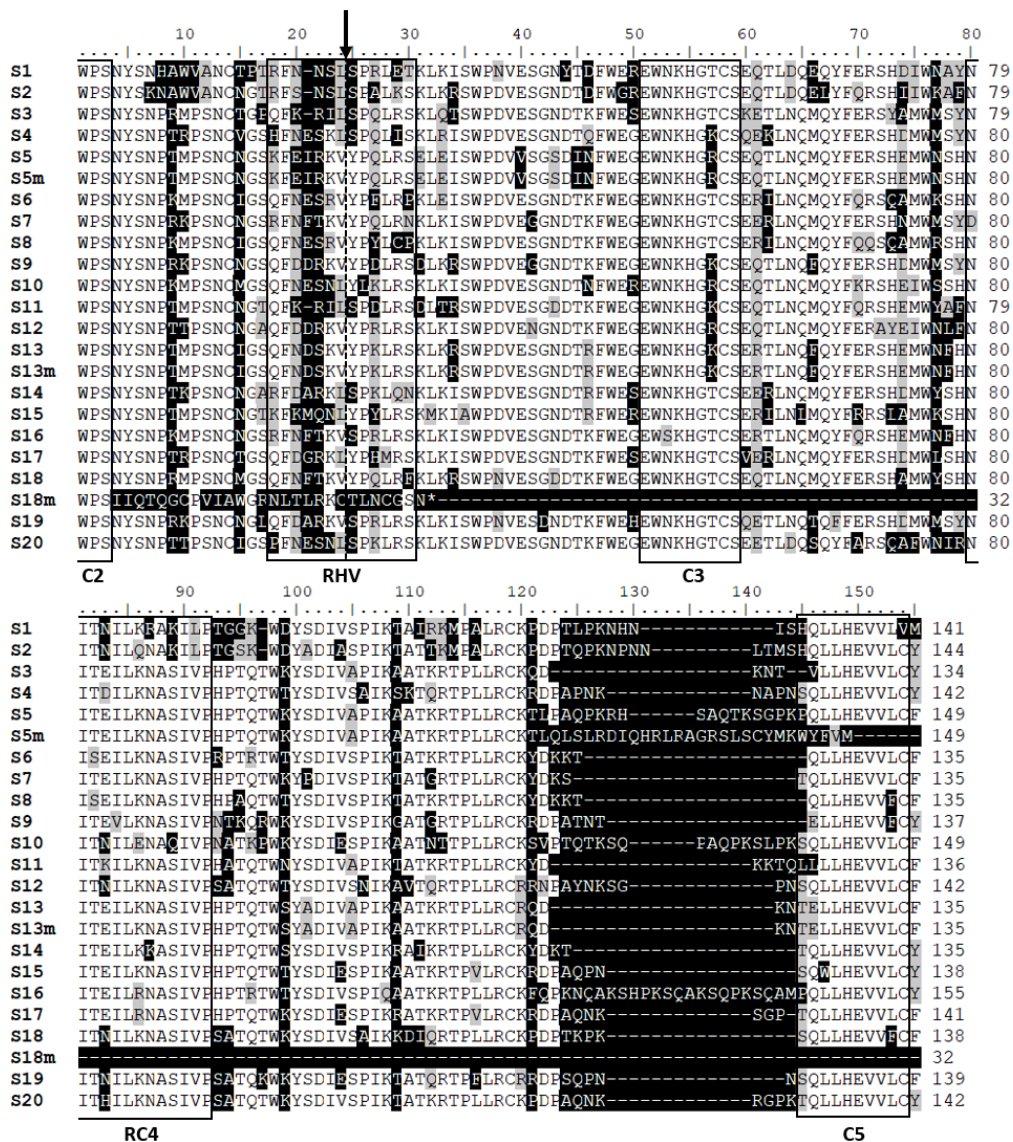
A szekvenálás igazolta a több DNS-szekvenciát tartalmazó, komplex sávok jelenlétét. Az 5. mintában például a 750 bp alatti fragmentum az S_5 - és S_{5m} -allélokot tartalmazza; a 29. mintában az 500 bp feletti fragmentum az S_{17} - és S_{18} -allélokot; míg az 1500 bp körüli DNS-szakaszban szerepelnek az S_{19} - és S_{20} -allélok PCR-termékei is. Továbbá az S_3 / S_4 ; $S_6 / S_7 / S_8 / S_9 / S_{10} / S_{11}$; S_{12} / S_{13} ; S_{14} / S_{15} ; S_{17} / S_{18} ; és S_{18m} / S_{20} elkülönítése is nehézséget okoz az agarózgélen, mert hasonló mérettartományban jelennek meg. A szekvenálás során megállapítható volt, hogy az S_{17} - és S_{18} - allélok mérete között ez a különbség 0 bp, míg az S_6 és S_{11} között 57 bp. Emiatt a gélfotót bemutató 36. ábrán csak a szekvenálásból származó, megerősített allélok jelölését tüntettük fel.



42. ábra: A *Prunus laurocerasus* S - RN -áz allélok részleges exon-intron szerkezete. A téglalapok az exonokat, a vonalak az intronokat jelölik. A DNS-szekvenciát a C2 és C5 konzervatív régiók között határoztuk meg, így a fekete számokkal a 2. és 3. exonok, míg kék számmal a 2. intron méretét ábrázoltuk. A zárójelben levő érték a megszekvenált részleges (C2-C5) S - RN -áz szekvencia méretét mutatja (bp) (Halász és mts., 2021a).

5.5.2. Az S - RN -áz allélok jellemzése egy extrém poliploid faj esetében

A megszekvenált részleges allélméretetek 505 és 1544 bp közötti tartományba esnek, amelynél a méretpolimorfizmust a 2. intronhossz méretének variabilitása adja (81–1116 bp). A legrövidebb származtatott aminosavszekvencia 32 aminosavból áll egy korai stop kodon miatt. Az összes többi 134–155 aminosavat tartalmaz, ahol a különbségeket főként a C5 régiótól upstream irányban elhelyezkedő indelek okozzák, de az RHV régióban és az RC4 régió közelében is található néhány aminosav-pozíciót érintő hézag. A származtatott aminosav-szekvenciák illesztését a 43. ábra mutatja.

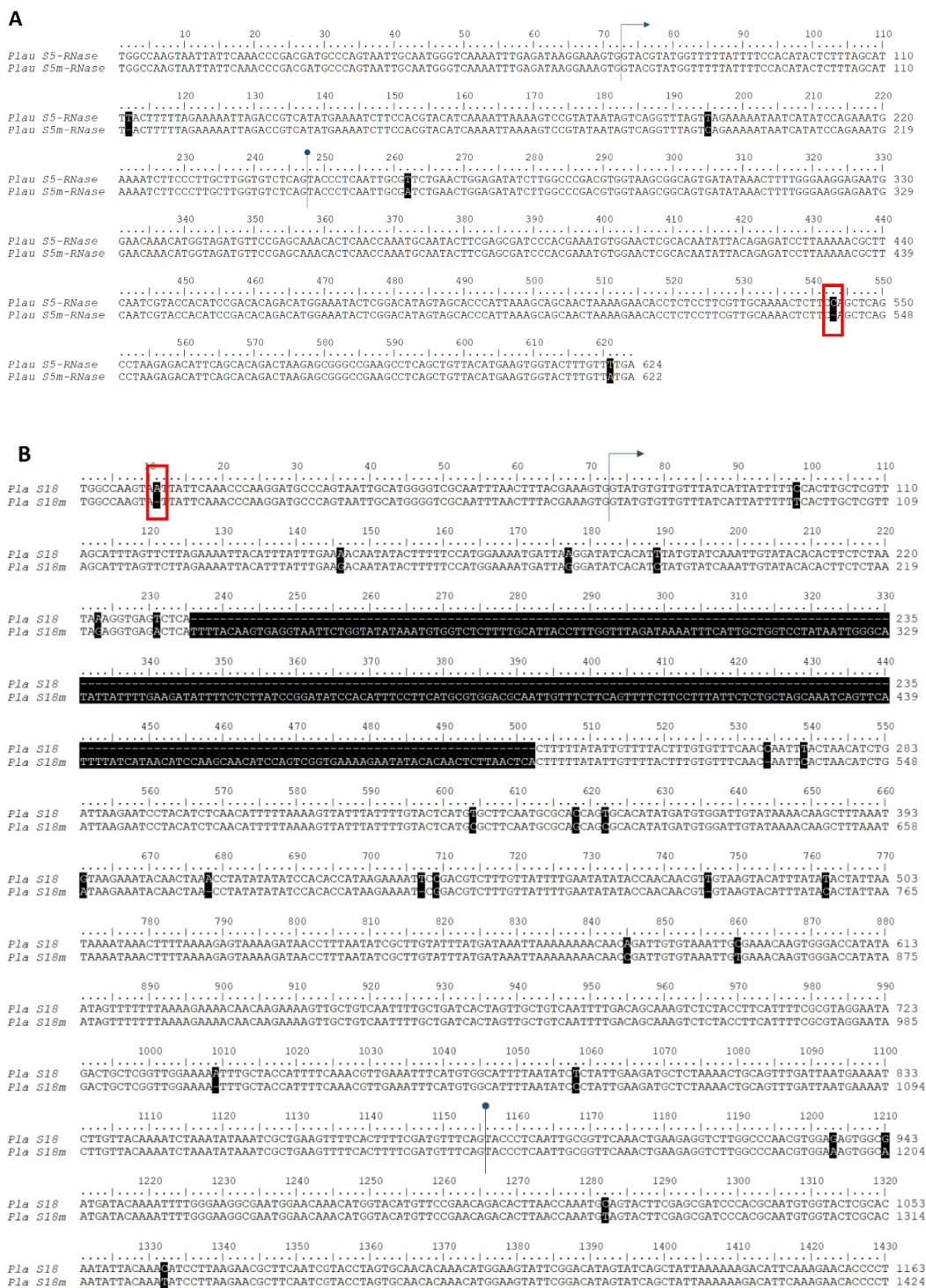


43. ábra: Az újonnan izolált *Prunus laurocerasus* S-RN-ázok származtatott részleges aminosav-szekvenciájának illesztése az S₁–S₂₀ és három, mutációt hordozó allél esetében (S_{5m}, S_{13m} és S_{18m}). A konzervatív (C2, C3, RC4 és C5) és hipervariábilis régiókat (RHV) az Ushijima és mts. (1998) által meghatározott módon jelöltük. A 2. intron pozícióját fekete nyíl mutatja, a szemikonzervatív aminosav-helyettesítéseket szürke, a nem konzervatív aminosavcserét fekete háttér jelzi (Halász és mts., 2021a).

Az exonrégiók DNS-szekvenciájának páronkénti összevetéséből számolt átlagos hasonlóság 80%, ami 64% (S₂- és S₅-allélok között) és 97% (S₆- és S₈-alléloknál) szélső értékek között változott; míg a származtatott aminosav-szekvenciák tekintetében az átlag 69,1%. Az S₂–S₅ allélpár mutatta a legkisebb (52,9%) és az S₆–S₈ (93,3%) pár a legnagyobb mértékű hasonlóságot.

Három izolált szekvencia esetében mutációs eseményeket is azonosítottunk, amiket a más fajoknál használt nevezéktan szerint „m” betűvel jelöltünk: S_{5m}, S_{13m} és S_{18m}. A vad típusú és a mutációt hordozó allélok közötti azonosság mértéke 99,3% (S₅/S_{5m}), 99,2% (S₁₃/S_{13m}) és 97,8% (S₁₈/S_{18m}) volt. Az S₁₃/S_{13m} párnál a kódoló régióban csak három szinonim aminosav-szubstitúciót azonosítottunk, így feltételezhető, hogy a mutáns allél funkciója megegyezik az eredeti vad típusú alléllal. A legtöbb különbség, mint például egy 35 bp deléció, négy mikroindel és 10 SNP a második intronrégióban volt kimutatható. Az intronban lévő különbségek mellett az S_{5m}-RN-áz esetében a 3. exonban egy citozintartalmú nukleotid deléciója kereteltolódásos mutációt idézett elő a C5 régiótól upstream irányban, így a C5 régió feltételezhetően nincs jelen a fehérjében. Egy másik kereteltolódás észlelhető az S_{18m}-RN-áz nukleotidszekvenciájában egy adenintartalmú

nukleotid kiesése miatt. Ennek hatására a C2 régiótól downstream irányban korai stop kodon keletkezett, ami miatt az RHV, C3, RC4 és C5 régiók feltételezhetően hiányoznak a kódolt fehérjéből (44. ábra). Az *S₉-RN-áz* allélban a második intron 3' végét lezáró AG szekvencia utolsó előtti nukleotidpozíciójában az adenin helyett guanin található.

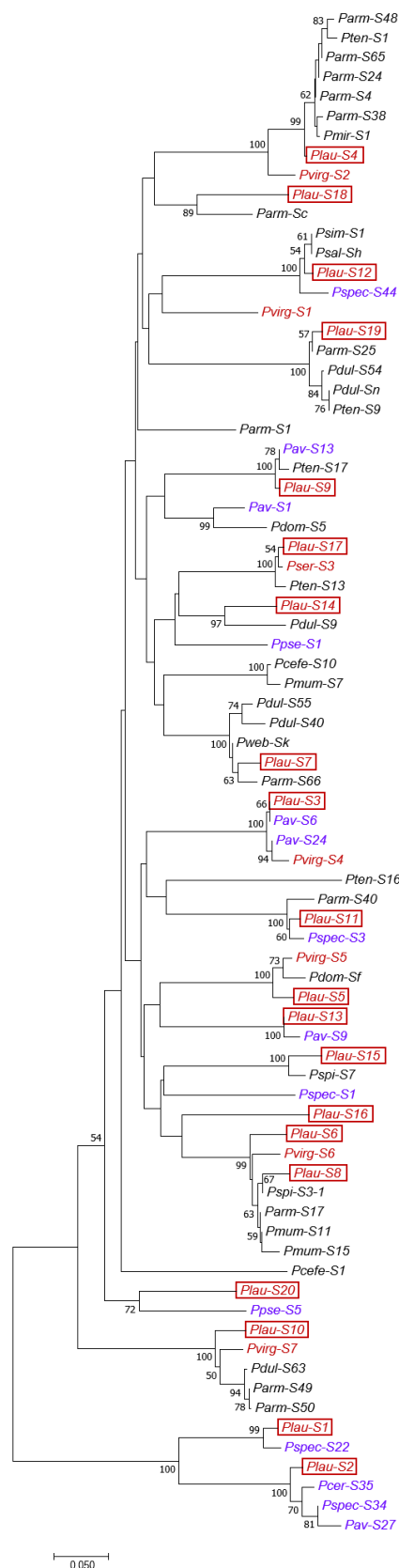


44. ábra: A vad típusú és funkcióképtelen allélpárok nukleotidszekvenciájának összehasonlítása, **A:** *S₅* és *S_{5m}*; **B:** *S₁₈* és *S_{18m}* *RN-áz* allélok. Az *S-RN-áz* gén 2. intronjának 5' végét kék nyíl, 3' végét kör mutatja. A különbségeket fekete háttér jelöli. A fehérjekódoló régióban bekövetkező kereteltolódást (frame-shift) piros téglalap jelöli: az *S_{5m}-RN-áz* esetében a 3. exonban egy citozintartalmú nukleotid deléciója, míg az *S_{18m}-RN-áz* esetében egy adenintartalmú nukleotid kiesése okozza a translált fehérje feltételezett funkcióvesztését (Halász és mts., 2021a).

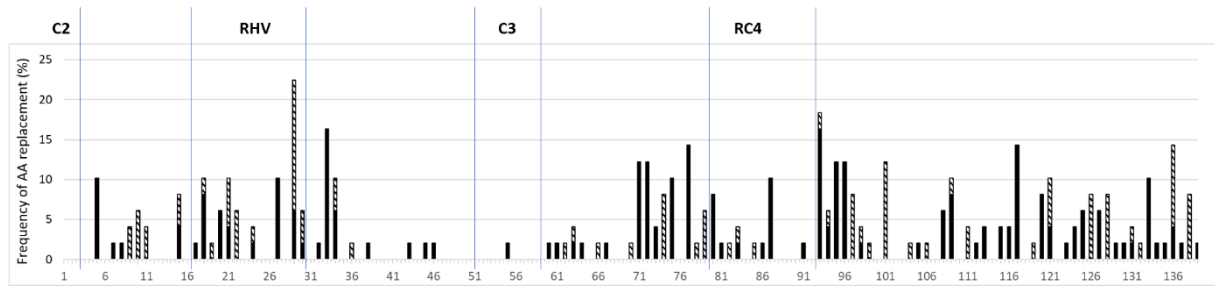
Az új *S*-RN-ázok származtatott aminosavszekvenciáit felhasználva BLASTP analízist végeztünk az NCBI adatbázisban. A kapott *E*-értékek megerősítették a más *Prunus* *S*-RN-ázokkal fennálló homológiát. Az azonosság mértéke 81 és 100% között volt. Több fehérjeszekvencia (*S*₂, *S*₃, *S*₄, *S*₅, *S*₇, *S*₈, *S*₉, *S*₁₁, *S*₁₂, *S*₁₃, *S*₁₇ és *S*₁₉) 96% feletti azonosságot mutatott egy vagy több adatbázisba feltöltött szekvenciával, míg néhány (*S*₁, *S*₆, *S*₁₀ és *S*₁₅) a 96%-nál egy kicsit kisebb mértékű azonosságot adott, a maradék pedig (*S*₁₄, *S*₁₆, *S*₁₈ és *S*₂₀) 80 és 94% közé eső értékkel jellemezhető. Az intronrégiók közti azonosság mértéke tág határok között mozgott: 17,9 és 99,8% között változott.

Jelentős mértékű azonosságot találtunk néhány babérmeggy (*Plau*) *S*-allél és a közelebbi homológok között. Az *S*₃ és *S*₁₃ AS szekvenciák azonosak a cseresznye (*Pav*) *S*₆ és *S*₉-RN-ázokkal. A *Plau-S*₃ hasonló volt a *Pav-S*₂₄ és *Pvirg-S*₄ szekvenciákhoz. A két cseresznyeallél között csak a C1-C2, általunk nem vizsgált régióban van különbség (Wünsch és Hormaza, 2004). Érdekes, hogy a *Plau-S*₃ mindkét alléllal azonos a C2-C5 régióban. Intronjaik csak egyetlen nukleotidnyi különbséget mutatnak. A *Pvirg-S*₄-allélban 3 AS csere, továbbá egy 4 bp-os inszerció és egy bázissubsztitúció észlelhető a második intronban. Ez a nagy mértékű hasonlóság a közös eredetre utal. A *Plau-S*₉-RN-áz 99,2% azonosságot mutat a *Pav-S*₁₃-alléllal, mindössze egy konzervatív AS csere van köztük. A *Plau-S*₁₁-RN-áz 98,5%-ban azonos a *P. speciosa* (Koidz.) Ingram (*Pspec*) *S*₃-RN-ázzal. *Plau-S*₁ és *Pspec-S*₂₂ mindössze 4 AS pozícióban és két intronbeli nukleotidban különbözik. A *Plau-S*₄-RN-áz 98%-ban azonos öt *P. armeniaca* L. alléllal (*Parm-S*₄, *S*₂₄, *S*₃₈, *S*₄₈ és *S*₆₅), miközben az intronszekvenciák között 90% fölötti volt az azonosság mértéke. A *P. virginiana* (*Pvirg*) *S*₂ 94% azonosságot mutat a *Plau-S*₄ AS szekvenciával, ugyanakkor intronjaik számottevően eltérnek egymástól (29% azonosság). A *Plau-S*₅-, *S*₇-, *S*₁₂-, *S*₁₅-, *S*₁₇- és *S*₁₉-allélok nagymértékű azonosságot mutattak AS szekvenciák tekintetében a közeli homológokkal, de az intronszekvenciák között feltűnő különbségek tapasztalhatók (20 és 94%). A *Plau-S*₁₄, *S*₁₈ és *S*₂₀-RN-áz allélok és a legközelebbi homológok között az intronszekvenciák sok eltérést mutattak (18-63%), de származtatott AS sorrendjük is csak 80-90%-os azonosságot adott, amit jól tükröz a filogenetikai törzsfán elfoglalt pozíciójuk is (45. ábra).

A *P. laurocerasus* és más *Prunus* *S*-RN-ázok evolúciós történetének részletesebb megismeréséhez a C2-C5 régiók közötti származtatott AS szekvenciákkal filogenetikai elemzést végeztünk a Minimum Evolution algoritmus alapján (45. ábra). Az illesztett szekvenciák közti hasonlóság mértéke 44,4 (*Pav-S*₉ és *Pcer-S*₃₅) és 100% (*Plau-S*₃ és *Pav-S*₆; *Pmum-S*₁₁ és *Parm-S*₁₇; *Psal-S*_h és *P. simonii* Carr. *S*₁, *Pdul-S*_n és *Pten-S*₉) között mozgott. A törzsfán a babérmeggy-szekvenciák a legközelebbi homológokhoz csoportosultak. A hosszabb ágak nagyobb evolúciós távolságra utalnak négy allél (*S*₁₀, *S*₁₄, *S*₁₈ és *S*₂₀) és a legközelebbi homológjaik között, ahol mind a nukleotid-, mind az aminosav-szekvenciák között kisebb mértékű a hasonlóság. A *Plau-S*₅, *S*₁₀ és *S*₁₇-RN-áz szekvenciák a fűrtvirágzatúak kládjához tartozó fajok szekvenciáival csoportosultak, miközben a *Plau-S*₄ közelebb található a kajsziszekvenciákhoz (magányos virágúak) mint a *Pvirg-S*₂. Az *S*₉- és *S*₁₁-allélok egy csoportban vannak a sátorvirágzatúak és magányos virágúak kládjának szekvenciáival és ezen az ágon a *P. laurocerasus* szekvenciák közelebb kerültek a sátorvirágzatúak kládjának tagjaihoz, mint a magányos virágúak kládjába tartozó fajok alléjaihoz.



45. ábra: Az újonnan azonosított *P. laurocerasus* és más *Prunus* S-RN-áz szekvenciák alapján készült filogenetikai törzsfá Minimum Evolution módszert alkalmazva az 50%-nál nagyobb bootstrap értékek feltüntetésével (% $n=1000$). A fekete szín a magányos virágúak, a kék a sátorvirágzatúak és a bordó szín a fürtvirágzatúak kládját jelzi a *Prunus* nemzetségen belül (Chin és mts., 2013, 2014 alapján). Az újonnan azonosított babérmeggy S-allélok keret jelöli (Halász és mts., 2021a).



46. ábra: A *Prunus S-ribonukleáz* gén különböző régióiban előforduló mutációs események gyakorisága, fekete oszlop a konzervatív, sávozott oszlop a nem konzervatív AS-cseréket jelzi. Az „x” tengelyen lévő számok az AS pozíciókat mutatják az illesztés során; a gén régióit Ushijima és mts. (1998) adatai alapján jelöltük (Halász és mts., 2021a).

Összesen 237 mutációs eseményt azonosítottunk az 55 pár szekvencia vizsgálata során, amiből 33% nem konzervatív AS-cserét jelent. Kis számban, de előfordult AS-csere a C3 és RC4 régiókban, főként az RC4 szakaszon. Az összes mutáció 16%-a az RHV-ben volt kimutatható. Az *S-RN-áz* gén jól jellemzett régiói közti szakaszokon különböző számú mutáció jelent meg: az összes mutáció 8-8%-a C2-RHV és RHV-C3 szakaszok között, 17%-a a C3-RC4 és 43%-a az RC4-C5 régiók között. Az AS-cserével és a nem konzervatív helyettesítéssel járó mutációk leggyakrabban az RC4-C5, C3-RC4 és az RHV régiókban fordultak elő (46. ábra).

6. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

6.1. A mandula genetikai vizsgálatának összefoglalása

6.1.1. Magyar és kelet-európai mandulafajták, valamint amerikai fajtajelöltek termékenyülésének genetikai háttere

A mandula önmeddősége hosszú idő óta ismert, és ez az egyik olyan csonthéjas gyümölcsfaj, ahol elsőként igazolták, hogy a tulajdonság genetikailag meghatározott. Tufts és Philp (1922) irányított keresztezést követő kötődési vizsgálatokkal a XX. század elején írták le az első *S*-genotípusokat és a fajták két olyan csoportját, melyek egymást nem képesek megtermékenyíteni. A század végén és a 2000-es évek elején a fenotípusos vizsgálatok mellett az *S*-RN-áz izoenzimek kimutatásával határozták meg sok amerikai, spanyol, olasz és francia fajta *S*-genotípusát (Bošković és mts., 2003). Az *S*-RN-áz allélok intronjának méretpolimorfizmusa alapján a fenti fajták között 18 inkompatibilitási csoport létezését sikerült megerősíteni (Ortega és mts., 2006) vizsgálataink kezdetekor. A kelet-európai fajtákról azonban nem volt információ, ezért kezdtük el a régióban fellelhető fajták genotipizálását.

Összesen 14 különböző *S*-genotípust rögzítettünk, melyek közül a legtöbb egyedi genotípus, így nem tartoznak egyetlen ismert kölcsönösen meddő (inter-inkompatibilitási) csoportba (CIG) sem (Ortega és mts., 2006; Gómez és mts., 2019b), ami azt jelenti, hogy genetikai kompatibilitás tekintetében pollenadóként bármely fajta mellé társíthatók. Az S_6S_8 allél-összetételű 'Tétényi kedvenc' a XIII. csoportba került, ahol több kaliforniai fajta található. Két további, új inter-inkompatibilitási csoportot azonosítottunk: a 'Szigetcsépi 55' (3/9) és 'Eriane' $S_{11}S_{31H}$ genotípusúakat a XXI. csoportba, míg az $S_{36}S_{37}$ genotípusú három 'Nyikitszkij' klónt és az 'Óriás kagyló' (4/4) fajtát a XXII. csoportba soroltuk. A XXI. csoport magyar és francia fajtákat tartalmaz és szemi-kompatibilis számos 0. csoportba tartozó fajtával (Bošković és mts., 2003). A XXII. csoportba magyar és ukrán fajták kerültek, amik szemi-kompatibilisek a 'Szigetcsépi 92' és 'Vinoszlivij' fajtákkal. Ezen információk elsősorban az európai nemesítő műhelyek számára értékesek. Az általunk leírt inkompatibilitási csoportokat a nemzetközi mandulanemesítési programok átvették, és azok valamennyi aktualizált táblázatnak részét képezik (Gómez és mts., 2019b). Tekintettel arra, hogy több kutatócsoport szimultán módon írt le inkompatibilitási csoportokat ugyanazon számokkal jelölve, illetve néhány inkompatibilitási csoport létezését nem sikerült a későbbi molekuláris vizsgálatokkal megerősíteni, a táblázatot és a csoportok nevét alaposan át kellett alakítani. Az általunk azonosított csoportok jelenleg a CIG XXVII (eredetileg XXI) illetve CIG XXVIII (eredetileg XXII) számokon szerepelnek.

Az *S*-genotípusok meghatározása a génbanki tételek ellenőrzésére is alkalmas marker, hiszen eltérő *S*-genotípus esetén nem lehet ugyanarról a fajtáról beszélni (Lacis és mts., 2008). A génbanki gyűjteményünkben két 'Óriás kagyló' néven jelölt fa állt, de ezeknél különböző *S*-genotípust állapítottunk meg (S_6S_{25} és $S_{36}S_{37}$). Valószínűleg a nagy terméssel rendelkező hibrideknek ugyanezt a nevet adták, így nem egységes genetikai hátterű növények kerültek ki azonos néven (Brózik és Apostol, 2003). A felmérésünk során hasonló eredményre jutottunk a 'Szigetcsépi 55' esetében is, mert a különböző időpontban szaporított, eltérő életkorú két fa genotípusa nem volt azonos, ami a nyilvántartás pontatlanságára vagy véletlen keveredésre utalhat. A francia 'Eriane' fajta két egyedének azonosságát azonban megerősítette a vizsgálatunk.

Érdekes, hogy az S_1 -, S_3 -, S_5 -, S_7 - és S_8 - allélok, amiket korábban ismeretlen eredetű fajták esetében írtak le (López és mts., 2006), a vizsgálatainkban nem fordultak elő. Az S_6 , S_{31H} és S_{11} jelent meg leggyakrabban, ami az *S*-allélok egyenlőtlen földrajzi eloszlására utal a termesztett mandulák között. A kelet-európai ismeretlen eredetű fajták pedigréjében lehetnek közös pontok, mint ahogy ez a kaliforniai fajták között is előfordul, leginkább a 'Nonpareil' (S_7S_8) és 'Mission' (S_1S_5) fajták szülőként való gyakori alkalmazása miatt (Kester, 1993; Lopez és mts., 2006; Pérez de Los Cobos és mts., 2021).

Öt új mandula *S*-RN-áz allélt azonosítottunk, amelyek különböznek minden korábban leírt mandulaalléltól. Az S_{31H} nagyon hasonló exon-intron szerkezettel rendelkezik, mint az S_9 -allél, ezért az ILP-technika ebben az esetben nem használható, így allélspecifikus primer tervezésére

volt szükség ennél az egy esetenél. Hasonló jelenség cseresznyénél az S_2 - és S_7 -alléloknál fordul elő (Sonneveld és mts., 2006). Az S_{36} és az S_{21} , az S_{37} és az S_9 , valamint az S_{38} és az S_{12} 2. intronrégió mérete hasonló (kevesebb, mint 20 bp-nyi különbséggel) (Ortega és mts., 2006), de az 1. intronrégió méretei egyértelmű elkülönítést tesznek lehetővé, így a két konszenzus primerpár alkalmazásával az allélok azonosítása megbízható módon működik.

A jelenlegi mandulanemesítési programok egyik fő célkitűzése az ÖT fajták előállítás (Martínez-Gómez és mts., 2007; Sáez és mts., 2020; Gradziel, 2022). A kereskedelmi mandulafajták ÖT fenotípusáért felelős S_F -allél az olaszországi Apúlia (Puglia) régióból eredeztethető (Godini, 1979, Bošković és mts., 2007), az allélt hordozó fajtákat világszerte (de különösen a kaliforniai és mediterrán nemesítő műhelyek) intenzíven használják keresztezési partnerként. Kelet-Európában azonban máig nem ismert egyetlen ÖT fajta és ilyen irányú nemesítési programról sem tudunk. Az S_F -allélt ennek megfelelően nem is tudtuk kimutatni az általunk vizsgált magyar, ukrán és moldáv fajtákban. A kelet-európai mandulafajták önmeddősége miatt az S -genotípusok ismerete elengedhetetlenül fontos mind a termesztésben, mind a nemesítési alapanyagok felhasználásakor. A termő ültetvényekben a teljesen kompatibilis (különböző S -allélok hordozó) fajták nagyobb kötődési arányt eredményeznek, különösen azokban a régiókban, ahol a kora tavaszi időjárási körülmények korlátozzák a beporzó rovarok aktivitását. Az ÖT jelleg tovább növelheti a fajták termésbiztonságát (Sapir és mts., 2008; Gradziel, 2022). Az S -genotípusok meghatározása az első lépés a nemesítésben kiaknázható kombinációk, szülőpartnerek kiválasztásához.

A kaliforniai USDA mandulanemesítési program (Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture) számára általunk vizsgált hibridek közül 2021-ben új ÖT fajtaként fogadták el Craig A. Ledbetter Y116-161-99 nemesítői jelzésű hibridjét, ‘Yorizane’ néven (márkanéve: The Gold Nut™). Az új fajta rendkívül ígéretes, mert mind méretében, ízében és megjelenésében (különösen aranysárga színe miatt) az egyik vezető fajtává válhat rövid időn belül a kaliforniai ültetvényekben (Ledbetter, 2021). Az általunk genotipizált további ÖT hibridek jelenleg a bejelentést követő vizsgálat alatt állnak (Ledbetter szóbeli közlés, 2023). Az ÖM hibridek inkompatibilitási csoportba sorolását megtettük, így a 82-73 (S_7S_8) és ‘Nonpareil’ nem telepíthető együtt (CIG I), csakúgy, mint a 23-122 a ‘Thompson’ (S_5S_7) vagy ‘Wood Colony’ fajtákkal (CIG III) vagy a K10-26 (S_5S_8) a ‘Carmel’ és ‘Livingston’ fajtákkal (CIG V). Az 5627-6 (S_8S_{14}) új inter-inkompatibilitási csoportot alkot a kései virágzású ‘Titan’ fajtával. Ezt a csoportot akkor kell véglegesíteni és az inter-inkompatibilitási táblázatban nevesíteni, amikor az 5627-6 jelű hibrid kereskedelmi forgalomba kerül.

Az 23.5-16 hibridben egy *P. tenella* fajban leírt vagy ahhoz nagyon hasonló allélt (S_{17}) azonosítottunk. Később E. Ortega csoportja egy iráni mandulafajtában talált egy ezekhez nagyon hasonló allélt (FN599509), amit S_{53} -nak nevezték el. Természetesen a funkcionális azonosság tisztázásához további vizsgálatok szükségesek, de nemesítési szempontból annyiban érdekes ez a tény, hogy a mandulafajták között korábban nem azonosított, ritka allél miatt ez a hibrid valamennyi ismert árufajtával hatékonyan társítható lehet az ültetvényekben, így az egyedi genotípusokat tartalmazó 0. csoportba tartozik.

Az első mandulafajták S -genotipizálása óta közel 100 év telt el. Munkánk kezdetekor húsz inter-inkompatibilitási csoport volt ismert, ami jelenleg már 51-re bővült, melyekbe 313 fajta besorolása történt meg, az inkompatibilitási allélok száma pedig 53 (S_1 – S_{53}) (Gómez és mts., 2019b; Gouta és mts., 2021). Az 51 CIG-ből kettőt mi azonosítottunk, egy harmadik csoport véglegesítése a közeljövőben várható; a 323 fajta és génbanki tétel szakirodalomban publikált S -genotípusából 28-at mi határoztunk meg, az ismert 53 S -RN-áz allélból 5 a mi munkánk eredménye, és a minden más csoporttal kompatibilisen használható, egyedi genotípusokat tartalmazó 0. csoportot is 11 tétellel bővítettük.

6.1.2. A hazai és a világ jelentősebb termőterületeiről származó mandulafajták összehasonlító genetikai elemzése

Számos földrajzi régióból származó mandulafajta és génbanki tétel genetikai variabilitásának felmérése megtörtént. A kínai (Xu és mts., 2004), spanyol (Fernández i Martí és mts., 2009), kaliforniai (Dangl és mts., 2009), francia, olasz, örmény, iráni, tunéziai, ausztrál, ukrán, portugál és szlovák (Zeinalabedini és mts., 2010; Rahemi és mts., 2012), valamint marokkói (El Hamzaoui és mts., 2013) mandulatételek genetikai elemzését főként sejtmagi és kloroplasztisz SSR-markerek segítségével hajtották végre. Vizsgálatainkat az a sajnálatos tény ösztönözte, hogy ezen tanulmányokban magyar fajták soha nem szerepeltek, miközben a kutatócsoportunk legfontosabb tudományos tevékenysége, a csonthéjas gyümölcsfajok önmeddőségének genetikai vizsgálata nyilvánvalóan kapcsolatban áll az egyes fajokon belül kimutatható genetikai variabilitással.

Összesen 11 sejtmagi és 4 EST-SSR primerpár használatával 238 allélt detektáltunk a vizsgálatba volt 86 különböző földrajzi régiókból származó mandulagenotípusban. A lókuszonkénti allélszám a nem kódoló régiók esetében 17,54 volt, ami nagyobb, mint a korábbi munkákban leírt 8,4 (Testolin és mts., 2004), 4,7 (Martínez-Gómez és mts., 2003), 6,3 (Xie és mts., 2006), 14,9 (El Hamzaoui és mts., 2013) és 17,21 (Fernández i Martí és mts., 2009) értékek. Az irodalomban található legnagyobb értékektől, a Fernández i Martí és mts. (2015) által kapott 18,66 és a Distefano és mts. (2013) által meghatározott 18 allél/lókusztól is csak kis mértékben maradt el az általunk kimutatott lókuszonkénti átlagos allélszám. Az EST-SSR primerekkel kapott érték kisebb volt, 11,25 (Halász és mts., 2019). A PIC érték nagyon informatív az egyes markerek használatához, mert nemcsak a lókuszonkénti allélszámot, hanem a relatív gyakoriságukat is figyelembe veszi a kérdéses populációkban (Anderson és mts., 1993), ezért mindegyik lókuszt esetében kiszámítottuk. Az átlagos PIC érték az EST-SSR lókuszeknél (0,66) kisebb volt, mint az SSR-lókuszek esetében (0,80). Nem csak mandula (Rahemi és mts., 2012), hanem más fajknál is ugyanez volt a tapasztalat (Tahan és mts., 2009). Ezen adatok alátámasztják, hogy a genetikai variabilitás SSR-lókuszekkel történő felmérése megbízhatóbb eredményre vezet, mintha csak a kódoló régiókból (EST-SSR) nyernénk információt.

A megfigyelt heterozigótaság átlagértéke (0,73) közel azonos volt a Fernández i Martí és mts. (2009) által közölttel (0,72), viszont kis mértékben nagyobb, mint a 0,59 és 0,62 értékek más vizsgálatokban (El Hamzaoui és mts., 2013; Martínez-Gómez és mts., 2003; Fernández i Martí és mts., 2015). Általában a H_e értékek nagyobbak voltak, mint a H_o , ezért a fixációs index 14 primerpárral pozitív, míg egy EST-SSR marker esetében viszont negatív értéknek adódott (Halász és mts., 2019). Az F értékek átlaga 0,13, ami kisebb, mint a Fernández i Martí és mts. (2015) által közölt 0,23.

A genotípusok egymás közti genetikai kapcsolatát ábrázoló UPGMA (Nei és Li, 1979) dendrogramon a 86 minta két eltérő méretű csoportba sorolódott, melyek közül az egyik kizárólag a *P. tenella* faj egyedét tartalmazta. Mindez alátámasztja, hogy a *P. tenella* feltehetően nem vett részt a modern termesztett fajták kialakulásában, az *Amygdalus* alnemzetség többi tagját tömörítő klád testvércsoportja (Bortiri és mts., 2006). A STRUCTURE analízis eredményeként kilenc csoportba kerültek a genotípusok, alátámasztva a dendrogram topológiáját. A második csoportba sorolt olasz fajták mellett a *P. webbii* is megjelent. Ezek a fajták öntermékenyülők (Socias i Company, 1990) és több hipotézis szerint a *P. webbii* faj volt az ÖT fenotípus génforrása az apúliai régióban, amire morfológiai bélyegek és molekuláris adatok is utalnak (Godini 1979, 2000; Socias i Company, 1990; Martínez-Gómez és mts., 2003). Később Bosković és mts. (2007) az apúliai mandulák és *P. webbii* egyedek S -genotipizálása alapján arra következtetett, hogy az S_f allélváltozat a *P. dulcis* fajban jött létre és introgresszióval került át a *P. webbii* egyedekbe. Az eredményeink is ezt a feltételezést támasztják alá, mert a vizsgált *P. webbii* genotípus az apúliai fajták alléljaiból többet is hordoz, de az ÖT fajtákban nem fordul elő „vad” *P. webbii* allél. A két faj közti introgresszív pollenátvitel irányától függetlenül ez a csoportosulás megerősíti azt a feltevést, hogy a mediterrán régióban kialakult mandulafajták több introgressziós eseményen

mehettek keresztül, különösen a vadon élő *P. webbii* faj egyedével, aminek jelentős szerepe lehetett a Földközi-tenger északi partja mentén élő mandulapopulációk kialakulásában (Socias i Company, 2004).

Eredményeink alapján a ‘Tuono’ és ‘Supernova’ különböző fajták, amit Fernández i Martí és mts. (2009) is kimutatott. Korábbi SSR-vizsgálatok szerint Distefano és mts. (2013), illetve Dicenta és mts. (2015) a két fajtát azonosnak találták. Szicíliai természetők a két fajta termését nagyon hasonlóan jellemezték, de a virágzási idejük és a növekedési habitusuk kissé eltérő (Marchese és mts., 2008), ami egybevág az eredményeinkkel. Az ismeretlen eredetű ‘Filippo Ceo’ és ‘Falsa Barese’ SSR-mintázata nagyon hasonlóan bizonyult, ahogyan agronómiai és morfológiai tulajdonságaik is (De Giorgio és Polignano, 2001). Feltehetően közös pedigrijük lehet, esetleg szülő-leszármazott kapcsolatban állhatnak egymással.

A harmadik csoportba kerültek a marokkói egyedek a *P. arabica* genotípussal. A marokkói csoport elkülönülését korábban El Hamzaoui és mts. (2013) is kimutatták. Delplancke és mts. (2013) sejtmagi és kloroplasztisz SSR-lókuszok alapján endemikus allélok jelenlétét feltételezték a marokkói régióban, ami a területen történő nagyon korai megjelenésükre utalhat vagy glaciális refúgiumként maradtak meg (Médail és Diadema, 2009). A *P. arabica* feltehetően részt vett a ma ismert mandula genetikai hátterének kialakításában. Ez a faj Irak, Jordánia és Szíria területein honos, ahol természetes körülmények között több faj hibridizációja bekövetkezhetett (Meikle, 1966). Delplancke és mts. (2016) molekuláris adatai is arra utaltak, hogy a termesztett mandula létrejöttét a *P. arabica* fajjal történt spontán hibridizáció is segítette. A *P. arabica* fajt vagy interspecifikus hibridjeit a karthágóiak az i.e. 4. vagy 5. században, esetleg az arabok a 6. vagy 7. században vihették Marokkóba (Kester és mts., 1991).

A kaliforniai fajták is önálló csoportot alkotnak. Az 1800-as évekből származó, a kaliforniai mandulaipar alapító fajtáinak tekintett ‘Ne Plus Ultra’ és ‘Nonpareil’ (Wood, 1925) kicsit távolabbra került a többi fajtától. A ‘Monterey’ a ‘Nonpareil’ leszármazottja, a ‘Thompson’ eredete ismeretlen (Brooks és Olmo, 1952), de eredményeink alapján, amit az *S*-genotípusuk és RAPD-analízisük is alátámaszt (Bartolozzi és mts., 1998), a ‘Nonpareil’ lehet az egyik szülőpartner. A ‘Mission’ is nagyon közel helyezkedik el a ‘Thompson’ fajtához, aminek mediterrán eredetét már Fernández i Martí és mts. (2015) is feltételezték, és az eredményeink alapján ez további megerősítést nyert, mert Akdamar-szigeteki (Dél-Törökország) allélok jelenlétét mutattuk ki az amerikai fajtákban.

Két alcsoportban különböző eredetű fajták keverednek. Az egyik alcsoportban magyar, francia és marokkói genotípusok, míg a másikban néhány ukrán és magyar genotípus található. A ‘Szigetcsépi 55’ csak kisebb eltéréseket mutatott az ‘Eriane’ fajtához képest a vizsgált lókuszok közül kettőben. Az ‘Eriane’ megjelenése ebben az alcsoportban egy marokkói genotípussal együtt jelzi a mediterrán országok és a különböző génbankok közötti intenzív kapcsolatokat, amelyek a föníciai kereskedelemről a XX. század második felében tett gyűjtőutakig terjednek (Gradziel, 2011). Egyik alcsoportban ukrán és magyar fajták, valamint az ‘Afrnitsplates’ (feltételezett afrikai eredetű) található. Az ukrán fajták és a magyar genotípusok (‘Diódsi félpapírhéjú’, Cegléd-451 és Gellérthegy-9) az európai és vad fajok csoportjára jellemző allélokat hordoznak. Az ukrán nemesítési programok alapját francia (Yezhov és mts., 2005) és vad fajokból származó génbanki tételek adták (Gradziel, 2011).

Az 5. csoportba 22 magyar egyed került régi fajtákkal, alanyokkal, felhagyott ültetvények után maradt, kivadult állományok egyedével. Az ismert pedigrijük fajták a származásuknak megfelelő csoportosítást mutattak. Számos keserű magvú mandula az édes magvúak csoportjába sorolódott. Ezek a keserű magbelű gellérthegyi egyedek a XIX. sz. második felében telepített őszibarack-ültetvények alanyai voltak (Rapaics, 1940). Az őszibarack-ültetvények felszámolását követően a mandulaalanyok megmaradtak és a Duna-part festői szépségű látképét tovább emelték, ami az UNESCO Világörökségének részévé vált. Az édes és keserű magbelű egyedek kevert megjelenése nem váratlan, hiszen e tulajdonságot mindössze egy gén határozza meg (Dicenta és García, 1993b).

A 6. csoportba főként török, néhány marokkói és magyar egyed, valamint a mediterrán eredetű 'Santa Caterina' fajta tartozik. Ez a csoport arra utal, hogy a Monoron (Magyarország) mintavételezett nagyon idős fák kapcsolatban állhatnak a mediterrán genotípusokkal. A mandulát először a rómaiak hozták Magyarországra (Pannónia) (Rapacs, 1940; Gradziel, 2011), majd a középkorban latin szerzetesek és kereskedők. Ezt az etimológia is alátámasztja, mivel a latin mandorla/mandola szóból ered a magyar „mandula” kifejezés. A török növényanyag két csoportba került, mert az Akdamar-szigetek (Van-tó) és a Bademli (Erzurum) régió jól elkülönült egymástól. A Bademli-31 a kirgiz minták közé sorolódott, ami valószínűleg a Selyemút kereskedelmi útvonalának földrajzi közelségével magyarázható (Gradziel, 2011).

A STRUCTURE-analízissel meghatározott főcsoportok variabilitási paramétereit is meghatároztuk. Az AMOVA-analízis kimutatta, hogy jelentős genetikai variabilitás figyelhető meg a populációkon belül (71,30%), illetve közöttük is (28,70%). Ez az érték nagyobb, mint a korábban vizsgált *P. sibirica* (Wang és mts., 2014) vagy *P. mahaleb* (Jordano és Godoy, 2000) populációk között. Mivel az allélgyakoriságok mértékét a vizsgált egyedszám is befolyásolja, az akdamari, bademli és marokkói csoportok közvetlenül összehasonlíthatók a 11 egyedből álló azonos mintaszám miatt. Ennek alapján az akdamari populáció genetikai variabilitása kisebb a két másik csoporthoz hasonlítva. A legnagyobb megfigyelt heterozigótasági értékek hasonlóak voltak a korábbi publikációkban közöltekhez (Martínez-Gómez és mts. 2003; El Hamzaoui és mts. 2013; Fernández i Martí és mts. 2015), és összhangban állnak a faj önmeddő fenotípusával. A génáramlással kapcsolatos N_m paraméter, ha egynél nagyobb, akkor a genetikai sodródás (drift) következtében kialakuló differenciálódás nem jellemző (Slatkin és Barton, 1989). A vizsgált populációk mindegyikében egynél kisebb értéket kaptunk, ami a populációk közötti jelentős genetikai differenciálódást mutatja. Továbbá az allélok méretét, az SSR ismétlődések tagszámát is figyelembe vevő R_{ST} értékek is megbízható információt adnak a populációk differenciáltságáról (Slatkin, 1995; Mihretie és mts., 2015). Eredményeinkben csak kis eltérés mutatkozott az F_{ST} és R_{ST} értékek között, összefüggésüket Mantel-tesztel is igazoltuk. Néhány csoport között, ahol az F_{ST} szignifikánsan nagyobb volt, mint az R_{ST} , valószínűsíthető, hogy a populációk differenciálódását elsősorban a genetikai sodródás alakította ki, de a legtöbb populáció között a kisléptékű mutációk felhalmozódása is hozzájárulhatott a végső állapot létrejöttéhez (Hardy és mts., 2003). A Mantel-teszt nem mutatott szignifikáns összefüggést a földrajzi és genetikai távolságok között, vagyis nem a földrajzi távolság okozza a genetikai differenciálódást.

A beltenyésztési együttható (F_{IS}) alacsony pozitív értékei a magyar, bademli, marokkói egyedeknél és az olasz öntermékenyülő fajtáknál nagyon kis mértékű beltenyésztésre utalnak, amit más populációkból származó adatok is alátámasztanak (Xie és mts., 2006; Fernández i Martí és mts. 2009; El Hamzaoui és mts. 2013). Vadon növekvő populációk esetében a közös eredetre visszavezethető, rokon egyedek közti szaporodás eredményeként csökkenhet a heterozigótaság mértéke (Hadziabdic és mts., 2012; Veron és mts., 2005). A szelekciós nemesítési folyamat is hasonló következményekkel járhat. A kiváló genotípusok preferálása a szaporítás során (Lansari és mts., 1994; Ercisli, 2004; Gradziel, 2011) hosszú távon a genetikai diverzitás eróziójához vezetett, ami megerősíti az eredményeinket, hogy bizonyos mértékű beltenyésztés a helyi populációkban előfordulhat. Az ember által gyakorolt szelekciós nyomás következményei intenzív nemesítés nélkül is megjelenhetnek, ahogyan az a bademli és marokkói egyedek esetében látható. A marokkói régióban nagy genetikai diverzitás tapasztalható az átlagos allélszám és a megfigyelt heterozigótaság alapján. Ez valószínűleg a mandula többszörös és ismétlődő betelepítésének köszönhető, ami a domesztikáció hatására kialakult palacknyak-effektus elkerülésével a helyi diverzitás növelését eredményezte (Pickersgill, 1998). Delplancke és mts. (2013) megerősítették, hogy a marokkói allélkészlet kialakulására a dél-európai és észak-afrikai területek közötti cserekereskedelem jelentős hatással volt.

Az olasz fajták kisebb mértékű heterozigótaságát első megközelítésben az öntermékenyülő fenotípusukra is visszavezethetnénk, ugyanakkor Fernández i Martí és mts. (2009) nem találtak különbséget az ÖT és ÖM fajták heterozigótaságának mértékében. Ez nem is volt meglepő, mert ezek a fajták az S_F -allélra is heterozigóták (Socias i Company, 1990), és a mandulanemesítésben

az öntermékenyítést nem használják a nemesítők a beltenyésztéses leromlás súlyos következményei miatt (Martínez-García és mts., 2012). Az öntermékenyülő jelleg viszonylag újkeletű a mandulánál (kb. 50 éve írták le először, Godini, 1975), így nem eredményezhette a káros hatású allélok felhalmozódását és a variabilitás jelentős mértékű beszűkülését (Socias i Comany 2002; Szikriszt és mts., 2011). A fajták viszont sok esetben ugyanarra a szülőre vezethetők vissza, így feltehetően ez esetben is inkább a kevés, kiváló, az öntermékenyülési képesség donorjaként használt szülőfajta használata, az utódok közeli rokoni kapcsolata vezethetett a genetikai variabilitás eróziójához.

Két csoport, a kaliforniai és az akdamari mutatott negatív F_{IS} értéket, ami a heterozigóták elméletileg várhatóán nagyobb arányára utal. A kaliforniai fajták mindegyike közeli rokonságban áll a közös származásuk miatt, ugyanakkor Lansari és mts. (1994) adatai alapján bár a legtöbb fajta pedigréjében a 'Nonpareil' és 'Mission' fajták szerepelnek, a beltenyésztési együttható alacsony, amit a mi eredményeink is igazolnak. A legkisebb F_{IS} érték az akdamari populációnál fordult elő, ami egy földrajzilag izolált terület egyedeit jellemzi. Akdamar-sziget a Van-tó partjától 3,5 km-re található, amekkora távolságot a beporzó rovarok általában képesek ugyan átrepülni, de a víztükör reflektanciája elriasztja a rovarokat, nem vállalkoznak a számukra végeláthatatlan, veszélyeket rejtő, nagy kiterjedésű vízfelület áthidalására (Tautz és mts., 2004). Az itt vizsgált egyedek nagy részének genotípusa szinte nem tér el egymástól, ami önmeddő növények esetén legvalószínűbb módon az alapító hatással magyarázható, mely a kultúrnövények evolúciója szempontjából is ismert jelenség (Ladzinsky, 1985). Akdamar-szigetére feltehetően mindössze néhány egyed (mag) kerülhetett, és ma a szigeten élő fák ezek leszármazottjai. Mivel a több kilométeres tengervíz a megporzó rovarok átjutását, így a partvidéken élő mandulafákról pollenszem bekerülését nem teszi lehetővé, a földrajzi izoláció miatt a populációt a mai napig változatlanul kis genetikai variabilitás jellemzi.

Eredményeink szerint a mandula genetikai variabilitását jellemző paraméterek nem mutatnak jelentős eltérést a feltételezett közép-ázsiai géncentrum (Martínez-Gómez és mts. 2007) és a vizsgált területek között. Ez jelentősen eltér a kajszi esetében megmutatkozó tendenciától, ahol a közép-ázsiai géncentrumtól a nyugat- és közép-európai illetve mediterrán régiók irányában a genetikai variabilitás nagymértékű beszűkülése tapasztalható (Pedryc és mts., 2009; Bourguiba és mts., 2012a;b). A kajszi genetikai variabilitásának eróziója a heterozigótaság mértékének csökkenésével jár együtt, de a mandulánál ez csak kis mértékben tapasztalható. A beltenyésztés hatása is csak korlátozottan mutatkozott, még az ÖT fajták esetében is. Ez egyértelműen annak köszönhető, hogy a tulajdonság felbukkanása viszonylag új jelenség és a beltenyésztéses leromlás miatt a nemesítők sem alkalmazzák az öntermékenyítést.

A legtöbb populációnál jelentős mértékű genetikai differenciálódást tapasztaltunk, ami főként a drift hatásának, illetve mutációk megjelenésének köszönhető. Fontos oka lehet még a vad fajokkal (*P. webbii*, *P. orientalis* és *P. arabica*) történő fajkereszteződés (introgresszió) is. Több tanulmány bizonyította a kétirányú génáramlás jelenségét a vad és termesztett mandulafajok között (Godini, 2000; Bosković és mts., 2007; Zeinalabedini és mts., 2012; Delplancke és mts., 2012). A modern nemesítési programokban a kedvelt genotípusok gyakori használata, míg természetes viszonyok között az alapítóhatás és a földrajzi izoláció vezethet a genetikai variabilitás kismértékű csökkenéséhez. A genetikai változékonyság azonban mégsem mutat olyan jelentős, negatív irányú változást, mint a kajszi (Bourguiba és mts., 2012a;b) vagy a legközelebbi rokon őszibarack esetében (Forcada és mts., 2012; Verde és mts., 2013). A mandula és őszibarack filogenetikai szétválása 8-10 millió évvel ezelőtt következhetett be (Velasco és mts., 2016), és a legjelentősebb eltérés az önmeddőség elvesztése volt az őszibarack evolúciója során (Tao és mts., 2007). A mandulánál az öntermékenyülési képesség annyira recens jelenség, hogy nem okozott jelentős mértékű veszteséget még kialakulásának helyszínén, az apúliai régióban sem, ugyanakkor az ember által gyakorolt szelekciós nyomás érezteti hatását a genetikai sokféleség és a megfigyelt heterozigótaság enyhe csökkenésével.

6.2. A kajszi genetikai vizsgálatának összegzése

6.2.1. A magyar és török kajszifajták közti kapcsolat feltárása az *S*-lókusz alapján

Számos amerikai és európai kajszifajta *S*-genotípusa ismert volt, de a világ legnagyobb kajszitermését adó Törökország fajtáiról semmilyen adat nem állt rendelkezésre, ezért ezen a területen munkánk úttörőnek számított. Nemcsak a termesztők és nemesítők számára jelentett új információt a török fajták *S*-allél-készlete, de a faj kultúrevolúciós történetére vonatkozó ismereteinket is jelentős mértékben gazdagította.

Eredményeink megszületésében döntő szerep jutott az allélok kimutatása során elvégzett módszerfejlesztésnek. PhD munkám keretében elsőként terveztem egy olyan primerpárt (AprSFB-F1 és AprSFB-R), amely képes volt a homozigóta és heterozigóta öntermékenyülő és önmeddő *S*-genotípusok kimutatására egyetlen PCR-rel. Mivel a reakció során 1100 és 1500 bp méretű fragmentumokat amplifikáltunk, olykor a *Prunus* fajokra általánosan jellemző, PCR inhibitorokban gazdag DNS-kivonatok esetében az amplifikáció hatékonysága nem volt kielégítő. Mivel ebben az időben az *S*₈-allél jelenléte, mint az *S*_C vad típusú, nem mutáns változata, csak néhány magyar fajtában volt bizonyított, az *S*₈- és *S*_C-allélok diszkriminációja kevesek számára volt érdekes. Vizsgálataink alapján azonban kiderült, hogy a kajszi géncentruma felé haladva az *S*₈-allél gyakorisága számottevő, ezért szükség volt olyan molekuláris markerekre (ilyenek az általunk kidolgozott AprSC8 és AprFBC8 primerpárok), amelyekkel két egymást követő lépésben hatékonyan, nem költséges és megbízható módon igazolható, hogy az *S*₈/*S*_C-*RN-áz* allélt hordozzák-e a vizsgált egyedek, illetve hogy az *S*_C-haplotípus jelen van-e, és ha igen, homo- vagy heterozigóta állapotban található meg. A primerpárok kisméretű fragmentumokat amplifikálnak, az amplikonok agaróz gélen azonosíthatók. Primerpárjainkat számos további kísérletben sikerrel alkalmazták a kajszinemesítés és -termesztés területén legjelentősebb országokban (Boubakri és mts., 2021; Herrera és mts., 2018a,b; 2022; Pinar és mts., 2022; Nicolás-Almansa és mts., 2023).

Összesen 51 fajta teljes, valamint négy török fajta részleges *S*-genotípusát határoztuk meg, mintegy 32 különböző genotípus azonosításával. Vizsgálataink előtt csak két kajszi interinkompatibilitási csoportot írtak le, az elsőt néhány észak-amerikai fajta (Egea és Burgos, 1996), a másodikat a magyar Óriáskajszi (Szabó és Nyéki, 1991) alkotják, de a török genotípusok meghatározásával 14-re nőtt a csoportok száma, ugyanis tizenkét új interinkompatibilitási csoport létezését igazoltuk (III–XIV). Mivel a korábban vizsgálatba vont fajták túlnyomó részt a genetikailag kevésbé változékony európai ökoföldrajzi csoportba tartoztak, és ezen fajták többsége ÖT (Mehlenbacher és mts., 1991), nem volt váratlan, hogy a többi csonthéjas fajhoz képest sokkal kevesebb, mindössze két CIG csoport létezését igazolták (Egea és Burgos, 1996; Szabó és Nyéki, 1991). A többi termesztett *Prunus* faj (cseresznye, mandula, japánszilva) esetében már ebben az időben is sokkal több csoport volt ismert (Tobutt és mts., 2005; Ortega és mts., 2006; Halász és mts., 2007a; Guerra és mts., 2009). Tizenkét fajta egyedi *S*-genotípussal jellemezhető, így az ún. univerzális pollenadók közé sorolhatók, mert genetikailag kompatibilis mind a 14 CIG csoport fajtáival. Az 55 fajtából mindössze 7 bizonyult ÖT fenotípusúnak, melyek közül 6 esetben ezt gyümölcskötődési arány vizsgálatával is bizonyították (Gülcan és mts., 2006). Az öntermékenyítést követően az *S*_C*S*_C homozigóta 'Canakkale' például kiemelkedően nagy, 30% feletti gyümölcskötődést mutatott két egymást követő évben is.

Korábban, a PhD munkám vizsgálatai során bebizonyítottuk, hogy a kajszi elsődleges, távolkeleti géncentrumától nyugat felé haladva egyre kevesebb *S*-allél mutatható ki, amit csak a közép-ázsiai génforrást felhasználó nemesítési programok (pl. Magyarország, USA) hatása módosít (Halász, 2007). Néhány allél csak bizonyos földrajzi régiókban jelent meg, mint például az *S*₁₀-*S*₁₄ az örmény eredetű fajtákban (Halász és mts., 2005), az *S*₈, *S*₉, *S*₁₉ és *S*₂₀ csak magyar fajtákban (Halász, 2007b; Halász és mts., 2007b). Az *S*₁₁-*S*₁₃-allélok ezúttal török fajtákban is azonosítottuk, főként a török-örmény határhoz közeli területekről származókban. Ráadásul a korábban csak magyar fajtákból ismert allélok viszonylag nagy gyakorisággal találtuk meg a török fajtákban, és még a CIG II. csoportba sorolt Óriáskajszi genotípusát hordozó három török fajtát is találtunk. A török növényanyagban 12 allélt, a magyar fajták között öt allélt írtunk le és

mind az öt allél a törökökben is előfordult. Ez molekuláris bizonyítékként támasztja alá azokat az írásos dokumentumokat, melyek szerint a XV. és XVI. században sokszor érkezett kajszi szaporítóanyag Törökországból Magyarországra (Faust és mts., 1998). A törökök visszavonulása után a kajsziültetvények elhanyagolttá váltak és néha meg is semmisítették azokat, ugyanakkor a magok és néhány túlélő egyed által a növények közül több fennmaradt. Kajszi esetében bizonyították, hogy a szelekció jelentős mértékű genetikai előrehaladást eredményezhet (Ledbetter, 2008). Az ily módon importált török növényanyag ezt követően természetes és emberi szelekciós nyomás alá került, aminek következtében néhány kifejezetten jól alkalmazkodott a magyar ökológiai viszonyokhoz és kiváló pomológiai értékekkel rendelkezett. Ez lehet az oka, hogy a mai magyar és török kajszifajták már nem hasonlítanak egymáshoz, számos eltérés ismert köztük.

A jelenlegi magyar fajták többségét öt-hat évtizeddel ezelőtt szelektálták az egykori török birtokokkal és gyümölcsösökkel átfedésben lévő területeken (Faust és mts., 1998). A 'Korai piros' fajtában lévő S_{20} -allélt két török fajtában is azonosítottuk. Az ismeretlen eredetű 'Korai piros' tájfajtát egy több, mint 100 évig török felügyelet alatt álló területen találták (Harsányi, 1985). A magyar és iráni-kaukázusi fajták közti kapcsolatot SSR-adatok is bizonyítják (Maghuly és mts., 2005). Úgy tűnik azonban, hogy ez a kapcsolat viszonylag újkeletű és a kb. 300 évvel ezelőtti történelmi eseményekkel, hazánk török hódoltságával hozható kapcsolatba, nem a kajszi 2000 évvel ezelőtti elsődleges elterjedési útjával Közép-Ázsiától Európáig, mint ahogy azt korábban feltételezték (Faust és mts., 1998; Maghuly és mts., 2005).

Nagyon érdekes, hogy az S_C -allélt hordozó ÖT fajták csak a Törökország nyugati és középső részéből származó minták közt fordultak elő, a keleti területeken nem, holott az allél eredeti, vad típusa, az S_8 -allél mindenfelé, így keleten is jelen volt. Annak érdekében, hogy még pontosabb képet kapjunk az S_C -allél felbukkanásáról, felmértük a közép-keleti Erzincan régióban vadon élő további 63 kajszifa S -allél-készletét is. Ez azért is érdekes, mert az S_C -allél legkeletibb előfordulása éppen az Erzincannal határos Malatya régióra jellemző. Eredményeink rávilágítottak, hogy az S_C -allél egyik egyedben sem fordult elő Erzincanban, miközben az S_8 volt a leggyakoribb allél. Az S_C -allél hiányának három oka lehet: 1.) a mutáció másik földrajzi régióban következett be; 2.) az S_C -allél jelen van a régióban, de annyira ritka, hogy a nagy számú mintavételezés ellenére sem találtunk olyan egyedet, ami hordozza; 3.) előfordulhat, hogy jelen volt a régióban, de a természetes szelekció miatt már eltűnt, a sorozatos öntermékenyülés hatására kialakult beltenyésztes leromlás következtében. Ugyanakkor a mandula beltenyésztes leromlásával szemben (Ortega és mts., 2010), kajszi esetében ilyen adat nincs, sőt korábbi megfigyelések szerint a több generáción keresztül bekövetkező öntermékenyülés sem okozott leromlást (Nyujtó és Surányi, 1981). Eredményeink, bár nem bizonyító erejűek, arra utalnak, hogy a funkcióképtelen S_C -allél kialakulásának legvalószínűbb helye Közép-Törökország lehetett. Az S_C -haplotípusú pollenszemek bármely genotípusú bibével kompatibilisek, így a terjedésük akadálytalan volt. Amennyiben az S_C -haplotípus bekerült Magyarországra, az öntermékenyülő fajták megjelenésével a hűvösebb, csapadékosabb területeken is kielégítő gyümölcsötöndést eredményezhetett. A Magyarkajszi fajtakör jól ismert Közép-Európában, és mindegyik tagja $S_C S_8$ genotípusú (Halász és mts., 2007b). A török fajták közül három is ugyanilyen allél-összetétellel rendelkezett. Mindhárom közepes gyümölcsméretű és kettőt friss fogyasztásúként értékesítenek a Magyarkajszihoz hasonlóan. Elképzelhető, hogy ezen fajták ősei hozzájárultak a Magyarkajszi kialakulásához.

A 63 vadon élő egyedben 36 különböző S -genotípust határoztunk meg, amelyek közül 9 nem fordult elő a termesztett fajtákban (Burgos és mts., 1998; Halász és mts., 2005; 2007b; Lachkar és mts., 2013). Egy ilyen változatos populációban szelekciós nyomásra van szükség az allélfrekvencia jelentős megváltozásához. Például a kedvezőtlen időjárási viszonyok befolyásolhatták a kajszi elterjedését. Nyugat-Törökországban a virágzási idő alatt nagyobb a csapadékmennyiség, mint az Erzincan régióban (<http://www.mgm.gov.tr/files/en-US/climateofturkey.pdf>), ami a megporzó rovarok aktivitásának csökkenésével jár. Ilyen csapadékos közegben az öntermékenyülési képesség kialakulása jelentős előnyt ad a megfelelő

gyümölcskötődés létrejöttéhez, ahogyan az az őszibarack faj kialakulása során is megtörténhetett (Tao és mts., 2007). Ennek megfelelően viszonylag nagy gyakorisággal találtunk ÖT fajtákat a nedvesebb területeken (Edirne, Çanakkale, İzmir és Bursa). A természetben lévő fajták esetében nemcsak a természetes, hanem a humán szelekció is befolyásolta az allélgyakoriságot. A vad és a termesztett török kajszik S -allél-készletének jelentős átfedése azt mutatja, hogy a török kajszinemesítési programok meghatározó részben merítettek a vadon fellelhető gazdag növényanyagból, így a hagyományos fajták és a vadon élő egyedek közötti nagyon szoros genetikai kapcsolat máig kimutatható.

Néhány allél dominanciája meglepő volt (pl. S_2 és S_8), de vad cseresznyepopulációknál is tapasztaltak hasonlóan egyenlőtlen alléeloszlást (De Cuyper és mts., 2005; Schueler és mts., 2006). Az eltérő allélgyakoriság több tényezővel is magyarázható, például az alapító hatással vagy a bizonyos S -allélokkal kapcsolt más régiókra ható szelekciós nyomással. A GSI rendszerekre jellemző nagy arányú heterozigótáság elősegíti a káros hatású, recesszív allélok felhalmozódását a populációban. A hasonló inkompatibilitási háttérű *Solanum* nemzetségben a hét vizsgált S -allél közül kettőhöz kapcsoltan számos súlyosan káros mutációt mutattak ki (Stone, 2004). Az S_8 -allél gyakorisága arra utal, hogy ennél az allélnél nincs olyan kapcsolt, káros hatású genomi régió, amely tisztító szelekciónak lenne kitéve. Bár az ÖT fajták elterjedésében az emberi szelekció kiemelt szerepet játszott, de ha bármilyen káros hatású kapcsolt régió jellemezné ezt az allélváltozatot, akkor az $S_C S_C$ homozigóta, illetve az $S_C S_8$ heterozigóta egyedeknél ez manifesztálódhatott volna a fenotípusban. Ugyanakkor egyetlen ezen genotípusú fajtában sem tudunk ilyen jelenségről (Vilanova és mts., 2006; Halász és mts., 2007b). Már Entz Ferenc is megjegyezte kivételes humorával, hogy a bűnbeesés bibliai története sem lehet pontos, mert Éva nem találhatta jónak és tetszetősnek az akkoriban még minden bizonnyal kicsi és fanyar almagyümölcsöt: „Nem alma volt az, (...) hanem kajszibarack és pedig valóságos Magyar kajsz, mely mai nap is magva után jobbra egész eredeti jóságában szaporítható, s annak következtében már Ádám korában is szintoly jó volt, mint most.” Napjainkban még az ilyen régi adomák háttérét is megvilágíthatja a genetika tudománya.

A kajszifaj kultúrevolúciós történetének egyik legmeghatározóbb tényezője az öntermékenyülő fenotípus megjelenése volt, amelynek hatására a genetikai variabilitás súlyos mértékben beszűkült mind Európában, mind a Mediterráneumban (Pedryc és mts., 2009; Bourguiba és mts., 2012a;b). Nagy földrajzi régiókat átfogó, széleskörű SSR-vizsgálatunk során bizonyítottuk, hogy Euráziában nyugatról keleti irányban haladva növekvő alléldiverzitás tapasztalható, ami a legnagyobb értéket a közép-ázsiai régióban és Kínában éri el. Ugyanakkor a kajsz, európai öko-földrajzi csoportja bizonyult a legkevésbé változékony csoportnak ebben a vizsgálatban is (Pedryc és mts., 2009).

6.2.2. Az európai és észak-afrikai kajsz kultúrevolúciós története az S -lókusz tükrében

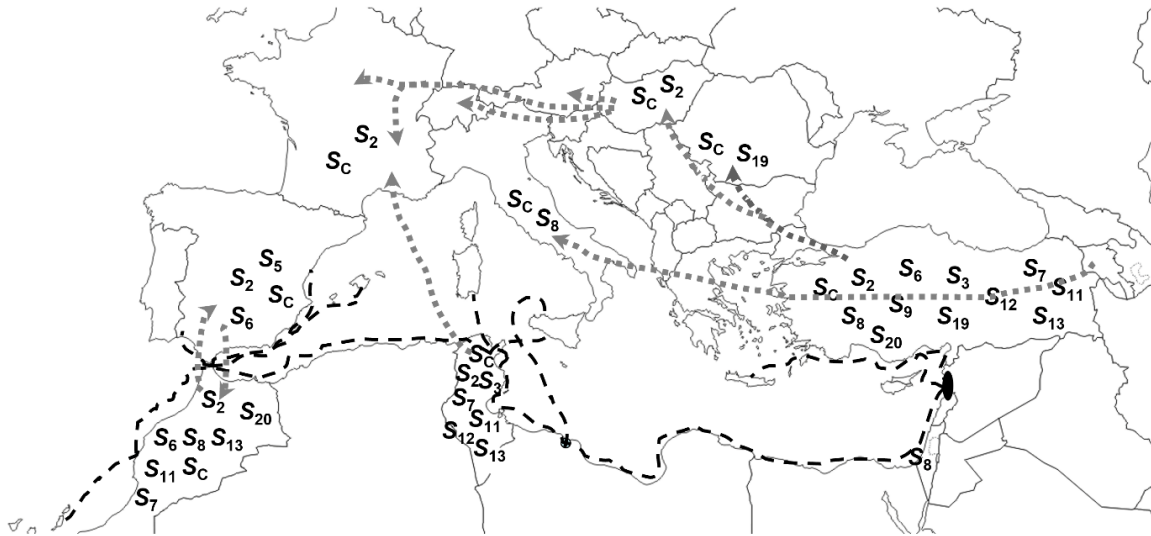
Az öntermékenyülésért felelős allél megjelenése nemcsak az európai kajsz történetét befolyásolta. A részletesebb kép megismerése érdekében az észak-afrikai régióban termesztett kajsz jellegzetes S -allél-összetételét is elemeztük, mert az iráni-kaukázusi csoportba sorolt (Kosztina, 1970) dél-mediterrán régióról sem volt elérhető információ.

Az 55 marokkói egyed S -genotípusának meghatározása alapján hét korábban leírt S -allélt azonosítottunk. Az S_C -allél bizonyult a leggyakoribbnak, ezt követően az S_{13} , S_7 , S_{11} , S_2 , S_{20} , S_8 és S_6 . Tizenkilenc genotípus esetében az irányított szabadföldi öntermékenyítést követő pollentömlő-növekedési és gyümölcskötődési arány vizsgálatával igazoltuk, hogy az S_C -allélt hordozó egyedek valóban öntermékenyülők, míg a többi egyed önmeddő. A vizsgált marokkói kajsz zömét az oázis agro-ökoszisztémákban datolyapálmával közös ültetvényekben termesztik, és a termést főként állati takarmányként használják (Carraut és Crossa-Raynaud, 1974). Ezek a területek a bő termést adó fákat magról szaporították. Mivel az ÖT egyedek megbízható kötődést és jelentős termésmennyiséget produkáltak, leginkább ezeket a típusokat preferálták. A legtöbb mag öntermékenyülést követően jött létre, így ezzel magyarázható a főként homozigóta egyedek

dominanciája, ami az *S*-lókusz diverzitásának drámai beszűkülését idézte elő a Tighnit és Armed (Agdz), valamint a Skoura oázisokban. Ezen oázisokban a kajszi fák kevésbé erőteljesek és fiatalabbak, mint a többi területen, ami arra utal, hogy a szaporítási tevékenység intenzívebb volt Dél-Marokkóban, mint északon, feltehetően a kedvezőbb éghajlati tényezők miatt. Rich, Gulmima és Kelaat M'Gouna esetében az éghajlati viszonyok általában kedvezőtlenek a gyümölcsstermesztés szempontjából a virágzási időszakban előforduló tavaszi fagykárak miatt, ellentétben az enyhe telű Tighnit, Armed és Skoura oázisokkal. Így a Rich, Gulmima és Kelaat M'Gouna oázisokban a szaporítás nem volt olyan intenzív, ebből következően az ÖT típusok irányában végzett szelekció hatékonysága is kisebb mértékű volt. Ez lehet a magyarázata annak, hogy ezekben a régiókban más oázisokhoz képest nagyobb az *S*-allélok száma. Bourguiba és mts. (2012a;b) SSR-markereket használva megállapították, hogy a Draa-völgyben (a Tighnit és Armed oázisok itt találhatóak) kisebb a genetikai diverzitás, mint az északabbra fekvő Moulouya-völgyben. Eredményeink nemcsak megerősítik ezt a megállapítást, de segítenek megérteni a jelenség okait is: a dél-marokkói Draa-völgyben termesztett kajszi csökkent mértékű genetikai variabilitása feltehetően az ÖT jellegű és a bőtermésű egyedeket preferáló humán szelekció hatására alakult ki ezeken a területeken.

Hagen és mts. (2002) szerint a marokkói kajszi az iráni-kaukázusi csoportból eredeztethető, azon belül egy önálló, mediterrán csoportot képez. Az evolúciós történetre irányuló vizsgálatok szerint a mediterrán térség keleti részéből két útvonalon érkezett a kajszi a nyugatabbra eső területekre. Először a Földközi-tenger európai partján, majd a második útvonal feltehetően Észak-Afrikán keresztül vezetett az arabok segítségével (Zohary és Hopf, 2001; Faust és mts., 1998; Zhebentyayeva és mts., 2012). Ezt a hipotézist erősítik meg Bourguiba és mts. (2012a;b) SSR-eredményei is. A Közép-Törökország területén megjelenő *S_C*-allél a földrajzi közelség miatt könnyen eljuthatott a mediterrán régióba, onnan Európába és Észak-Afrikába. Ezt az evolúciós forgatókönyvet alátámasztja az is, hogy az *S_C*-allél jelenlétét a mai napig nem sikerült kimutatni az Erzincantól Kínáig húzódó területeken termesztett és vadon növényekben (Zhang és mts., 2008a; Wu és mts., 2009).

Az *S_C*-allél marokkói megjelenése felveti a kérdést, hogy vajon Spanyolországon vagy Észak-Afrikán keresztül kerülhetett be az országba, hiszen az *S_C*-allél mindkét régióban jelen van. Korábbi munkáink során kirajzolódott egy jellegzetes kép az egyes *S*-allélok földrajzi eloszlásáról. Az eredeti, vad típusú *S₈*-allélt csak Törökországban és Közép-Európában (a török hódoltságra visszavezethető okokból) találtuk meg, a nyugat-európai növényanyagban nem volt jelen. Mivel a marokkói egyedekben mind az *S₈*-, mind az *S_C*-allélok előfordulnak, valószínűbbnek látszik, hogy az iráni-kaukázusi csoport tagjaiból kerülhetett ide Észak-Afrikán keresztül, nem pedig Spanyolországból. Hipotézisünket tovább erősíti, hogy az *S₁₁*- és *S₁₃*-allélok jelen vannak Törökország déli részén, a hajdani Fönícia területéhez közel eső területeken. Ugyanakkor ezeket az allélokat az Európa nyugati és déli részén termesztett fajtákban nem tudtuk kimutatni, miközben a marokkói populációban nagyon gyakoriak. A ritkának számító *S₂₀*-allél mindössze egy magyar fajtában és két török tájfajtában fordult elő a vizsgálataink első szakaszában, de viszonylag gyakori a marokkói egyedek körében is. Az adatok megbízhatóságának növelése érdekében specifikus primert is fejlesztettünk a kimutatására. Feltételezésünket tovább erősítette az a tény, hogy a tunéziai fajták jellemzése során szintén megtaláltuk az *S_C*-, *S₈*-, *S₁₁*- és *S₁₃*-allélokat a helyi fajtákban. A Törökországban azonosított 12 *S*-allélból tehát Tunéziában hét, Marokkóban nyolc található meg. Történeti dokumentumok arra utalnak, hogy a kajszi először a föníciai kereskedők révén jutott el Észak-Afrika földközi-tengeri kikötőibe (Krichen és mts., 2008), ami az ismert föníciai kereskedelmi hajózási útvonalaknak megfelelően (Lipiński, 2004) közvetlen kapcsolatot valószínűsít a Törökország déli területeihez közel eső ókori Fönícia és az észak-afrikai országok (Marokkó és Tunézia) között. Mindezen adatokat összevetve eredményeink arra utalnak, hogy a vizsgált marokkói kajszi egyedek iráni-kaukázusi eredetűek és az észak-afrikai útvonalon kerültek a térségbe, ahol a növény a kedvező körülmények hatására jól adaptálódott (47. ábra).



47. ábra: Az *S-RN-az* allélok elterjedése a Földközi-tenger térségében. A szaggatott fekete vonalak a föníciai hajózási útvonalakat mutatják és a kajszii feltételezett elsődleges elterjedését a Mediterráneumban. A szürke pontozott vonalak nyilak segítségével a kajszii génforrások közti dokumentált mozgásokat jelzik (Faust és mts., 1998). Az *S*-allélok földrajzi régiókban történő ábrázolása során a saját eredményeinken túl felhasználtuk az Albuquerque és mts. (2002), illetve Vilanova és mts. (2005) által publikált adatokat is (Kodad és mts., 2013a).

Szintén a föníciai kereskedők portékájaként kerülhetett a kajszii Dél-Európába is. Valamivel később, az i.e. I. században Örményországból érkezett Olaszországba, a faj latin neve is erre utal (Faust és mts., 1998). Ezt követően a Római Birodalom egészében megjelent, így az egykori Pannónia területén is. Ugyanakkor a jelentős fellendülés a másodlagos megjelenése után következett be, a török hódoltság idején, a XVI. században. A török eredetű magyar fajták Európán keresztül terjedtek tovább, feltételezett leszármazottjaik közül jól ismert a ‘Luizet’ és ‘Nancy’, amelyeket Észak-Franciaországban természetettek, míg az arabok által bevittek délen. Az északabbra eső területeken elterjedt fajták öntermékenyülők (Halász és mts., 2007b), ami a hideg és csapadékos tavaszi időszakokban az őszibarack evolúciós történeténél is látott módon jelentős előnnyel járt (Tao és mts., 2007).

Eredményeink szerint Európában sokkal kisebb mértékű a kajszifaj variabilitása, mint Észak-Afrikában. Néhány marokkói oázisban, ahol a régió teljes allélkészletéhez képest igencsak korlátozott számú *S*-allél található, a hosszú ideje magról szaporított fák túlnyomórészt öntermékenyülők. Ugyanez a jelenség figyelhető meg Közép-Európában, ahol csak kis számú *S*-allél fordul elő és a fajták zöme öntermékenyülő. A genetikai variabilitás csökkenése mindkét esetben jól látható módon összefügg az öntermékenyülő jelleg felbukkanásával. A kajszii európai és észak-afrikai helyzetének összevetése, valamint tágabb szemszögből a kajszii és mandula fajokra jellemző genetikai variabilitás összehasonlítása azt mutatja, hogy a genetikai diverzitás csökkenése arányos azzal a relatív időtartammal, amit az adott faj egyedei az öntermékenyülés kialakulását követően eltöltöttek azokon a területeken, ahol a faj nem fordul elő vadon (például a marokkói oázisokban vagy Közép-Európában).

6.2.3. A kajszii önmeddőségét áttörő *Prunus*-specifikus transzpozon azonosítása és hatása

Korábban ismertté vált, hogy az öntermékenyülő jelleg kialakításáért egy 358 bp hosszú inszerció a felelős, amely az *SFB₈* gén ORF régiójába ékelődve kereteltolódásos mutációt okoz (Vilanova és mts., 2006; Halász és mts., 2007b). A beékelődött szekvencia pontos jellemzésére és

szerkezeti sajátosságainak meghatározására azután nyílt lehetőségünk, hogy néhány marokkói kajsziegyedben azonosítottuk az *SFBC₂*-allélt. A DNS-szekvencia igazolta, hogy az inszerció két kópiában egymásba ékelődve, nested elrendeződéssel található meg ebben az allélban. Kimutattuk, hogy az inszerció két végén 82 bp hosszú fordítva ismétlődő motívumok találhatóak, ami a DNS transzpozonokra jellemző TIR régió jelenlétére utal (Wicker és mts., 2007, Lee és Kim, 2014). Az első inszerción egy látszólag 11 bp méretű, azonos orientációjú direkt szekvenciaismétlődést, TSD-t (target site duplication) azonosítottunk (CCTTTTATTTA); ugyanakkor a második, nested elrendeződésű inszerció esetében a TSD mérete 9 bp-nak adódott. A nested elem 3' végén egy TCCC motívum volt, ami világossá tette, hogy a CCTTTTATTTA szekvencia első két bázisa nem a TSD, hanem a transzpozon TIR régiójának része. Ennek alapján az eredeti inszerció TSD régiója is egy 9 bp méretű motívum (TTTTATTTA). A két citozintartalmú nukleotid a transzpozon szekvenciájának 3' végéhez tartozik. A pontos azonosítás az *SFBC* esetében azért nem volt lehetséges, mert a TSD-től upstream irányban egy Pro kodon található, melynek első két bázisa szintén citozin. Ezért tűnt úgy, mintha a 3' oldalon található TSD is tartalmazná ezt a CC dinukleotidot. A második inszerció TSD régiójától upstream irányban azonban TA dinukleotid szerepel, ami viszont nincs benne a 3' TSD-ben, helyette itt is a transzpozonszekvenciát lezáró CC bázisok vannak jelen, ezzel igazolva, hogy ezek a nukleotidok nem a TSD részei. A TSD pontos azonosítása elengedhetetlen volt a transzpozon osztályozásához: a *FaSt* elem a II-es osztály Mutator szupercsaládjába tartozik (Feschotte és mts., 2002).

Rizs esetében a 6600 azonosított MITE (miniature inverted-repeat transposable element, rövid, fordított ismétlődéseket tartalmazó transzpozabilis DNS-szakasz) közül több, mint a 10% multimerként, szomszédos vagy nested elrendeződéssel fordult elő, köztük a *Tourist* elem mutatta a leggyakoribb „saját magába ékelődő” formát (Jiang és Wessler, 2001). Ráadásul a rizsgenomban előforduló összes multimer egyedi volt, ami arra utal, hogy a nested transzpozon-komplex ebben a formában már nem képes áthelyeződni. Ennek magyarázata a nested *FaSt* elem *SFBC₂*-allélbeli előfordulásánál is jól látható, mert a második kópia az első elem TIR régiójának 3' végét szakítja meg, emiatt a TIR régiót vélhetően nem tudja felismerni a megfelelő transzpozáz enzim, így nem vághatja ki és helyezheti át. Mindez végső soron az ÖT fenotípus rögzítését segíti elő.

Vizsgálataink idején az első és egyetlen elérhető genomszekvencia a *Prunus* nemzetségen belül az őszibarackgenom volt (Verde és mts., 2013). BLAST analízissel igazoltuk, hogy a *FaSt* elemek felhalmozódása a génekben gazdag kromoszómaregiókban figyelhető meg. Ehhez hasonlóan más genomszekvenciákban szintén az volt látható, hogy a MITE és általában a DNS-transzpozonok az eukromatin régiókban koncentráálódtak például az *Arabidopsis* és rizs (Feschotte és mts., 2002), *Sorghum* (Paterson és mts., 2009), *Brachypodium* (International *Brachypodium* Initiative, 2010) és árpa (International Barley Genome Sequencing Consortium, 2012) esetében. A több mint 100 *FaSt* kópia TSD régióját elemezve feltűnő volt, hogy az inszerciók célhely túlnyomó részben AT bázisokat tartalmaz. Elemzésünk alapján az őszibarackgenomban a *FaSt* elemeknek mindössze kb. 30%-a tartalmaz elvéve C és G bázisokat. Ennek az inszerciók preferenciájának az eredménye, hogy a *FaSt* számos esetben az intronokba ékelődik, hiszen a növényi intronszekvenciák igen gazdagok A és T bázisokban (Goodall és Filipowicz, 1989). *FaSt* kópiát találtunk például a *P. cerasifera* *S₆*- és *S₁₄-RN-áz* allélok 2. intronjában. A MITE elemek eukromatin régióbeli gyakorisága az aktív transzkripció folyamatok miatti lazább DNS-konformációval magyarázható, ami így a transzpozázok számára könnyebben hozzáférhető (Civán és mts., 2011). Ugyanakkor a tény, hogy az inszerció csak A/T-gazdag szekvenciákban lehetséges, csökkenti annak a veszélyét, hogy a *FaSt* tönkretegy a gén fehérjekódoló régióit. Nagyon érdekes, hogy 802 különböző eukarióta genomból származó transzpozonszekvencia elemzése azt mutatta, hogy a nested elrendeződésű transzpozonok a legtöbbször exonokba ékelődtek (Gao és mts., 2012). Ezt magyarázhatja egy jelenleg ismeretlen mechanizmus, de az is lehet, hogy pusztán valószínűségi alapon alakul ki ez az egyenlőtlen eloszlás. A *FaSt* elem maga is nagyrészt AT-ben gazdag szegmenseket tartalmaz, így lehetőséget kínál újabb *FaSt* kópiák inszerciójára. Ráadásul ezek az események a tisztító szelekció negatív hatásaitól is mentesek, mert a gén már funkcióképtelen volt az első inszerciót követően, az újabb példány beékelődése ezen nem változtat.

Kajszi esetében a 358 bp méretű inszerció megjelenése az *S-haplotípus-specifikus F-box* génben a termékenyülési fenotípus megváltozásához vezetett (Vilanova és mts., 2006), hiszen az *SFB* a pollenkomponens a saját/idegen felismerési rendszerben (Entani és mts., 2003; Romero és mts., 2004). Az *SFB_C*-allélban a funkcióvesztést egy korai stop kodon idézi elő, ami egy sérült, a C terminális felőli véget nem tartalmazó fehérjemolekula keletkezésével jár (Vilanova és mts., 2006). Ennek következtében a specifikus felismerésben szerepet játszó HVa és HVb régiók is hiányoznak az *SFB* fehérjéből. Az AT-ben gazdag szekvenciákat előnyben részesítő inszerció beékelődési helye egy tirozin kodon (TAT) volt, annak 2. nukleotidpozícióját követően (TA_T). Mivel a beékelődő transzpozonszekvencia guanin bázissal kezdődik, így kialakul egy korai stop kodon (TAG). Feltételeztük, hogy az *SFB_{C2}* az *SFB_C*-hez hasonlóan funkcióképtelen, hiszen már az első inszerció egy korai stop kodon kialakulásához vezetett. Mindezt pollentömlő-növekedési és gyümölcskötődési vizsgálatokkal igazoltuk az Armed-3 (*S_{C2}S_{C2}*) egyednél. Valójában az a tény, hogy az *S_{C2}*-allélra homozigóta genotípus kialakulhatott, önmagában is alátámasztja az allél funkcióképtelenségét, hiszen funkcióképes, ÖM jellegű kódoló allélok nem fordulhatnak elő homozigóta formában (De Nettancourt, 2001).

A 34 vizsgált marokkói egyed közül mindössze három olyat találtunk a Tighnit és Armed oázisokban, amelyek az *SFB_{C2}*-allélt hordozzák. Ebből kettő heterozigóta, egy homozigóta volt. Mivel az *SFB_{C2}* és az *SFB_C* is funkcióképtelen, ugyanolyan az ÖT fenotípust kódolnak, így az azonos szelekciós hatás következtében populáción belüli gyakoriságuk sem térhet el egymástól jelentős mértékben. Ugyanakkor az *SFB_C* 95%-os gyakorisággal a legelterjedtebb allél volt a vizsgált oázisokban. Ez az egyenlőtlenség csak azzal a ténnyel magyarázható, hogy az *SFB_{C2}* kialakulása sokkal később következett be, mint az *SFB_C* megjelenése a területen. A két oázis közti különbség kb. 4 km, a szaporítóanyagok cseréje pedig nagyon intenzív az egyes oázisok között. Ezt a feltételezésünket SSR-markerek segítségével is alátámasztottuk, mert a három egyed nagyon közeli genetikai kapcsolatot mutatott, vagyis az *SFB_{C2}*-allél kialakulása egy valószínűleg recens esemény volt.

Felmerül a kérdés, hogy miért éppen Marokkóban és csak ott találtunk bizonyítékot a *FaSt* elem közelmúltbeli aktivitására. Ehhez figyelembe kell veyük az alábbi tényeket: Tighnit és Armed oázisokban a kajszi intenzíven szaporították, a fák fiatalabbak és adott idő alatt több nemzedékük volt más területekkel összehasonlítva, ahol kevésbé volt intenzív a szaporítási tevékenység. Ez növeli a mutációk bekövetkezési esélyét. Ráadásul mivel az egyedek többsége öntermékenyülő, az effektív populációméret kisebb. A kis populációméret miatt a transzpozon-inszerció révén kialakult allélok fixációja hatékonyabb (Kejnovsky és mts., 2012). További magyarázatot kínálhat az a megfigyelés, hogy a DNS-transzpozonok aktivizálódnak számos stressztényező hatására (Casacuberta és González, 2013). Például a rizsben az *mPing* jelölésű MITE a közelében elhelyezkedő gének expressziós mintázatát megváltoztatta, lehetővé téve a stressz hatására történő nagyobb mértékű expressziójukat (Naito és mts., 2009). Magát a transzpozonok aktivitását is befolyásolja a stressz genetikai vagy epigenetikai szabályozás útján (Lisch, 2009). A biotikus stressz hatására módosulhat a DNS metilezettsége (Downen és mts., 2014), valamint a *Solanaceae* családban igazolták, hogy néhány MITE transzpozonról kis RNS-molekulák képződnek, amik más gének szabályozásában vehetnek részt (Kuang és mts., 2009). A marokkói oázisok száraz és forró időjárása okozhat olyan stresszhatást, ami befolyásolja a transzpozonok aktivitását. A *FaSt* első inszerciója, az *SFB_C*-allél kialakulása eredményeink szerint Törökország középső részén következhetett be, ahol szintén a száraz, forró időjárási körülmények jellemzők. A *FaSt* transzpozíciójának abiotikus stressztől való függése mindenképpen izgalmas kutatási feladat a jövőre nézve.

A *FaSt* elem lehetséges egyéb hatásai mellett az *SFB* génbe történő inszerciója drámai következményekkel járt, a termékenyülési fenotípus megváltozásával. Mivel a csonthéjas fajok túlnyomó többsége önmeddő, egy ilyen mutáció fennmaradása valószínűleg a beltenyésztés káros hatásainak elkerülésén múlt. Az önmeddő fenotípusról öntermékenyülőre váltás homozigótasághoz vezetett, de a genotípusok közül csak azok maradtak fenn, amelyekben a létfontosságú gének működőképes alléljai voltak jelen. Ugyanakkor az öntermékenyülést előidéző

transzpozíciós esemény közvetett következményei is jelentősnek bizonyultak, hiszen a genetikai variabilitás drámai mértékű beszűküléséhez vezetett Nyugat-Európában és a mediterrán területeken is (Halász és mts., 2007b; Pedryc és mts., 2009; Bourguiba és mts., 2012a;b).

A *FaSt* elemeket azonosítottuk az őszibarack (*P. persica*) pszeudo-kromoszómáin (kapcsoltsági csoportjain) és a 6-os kromoszóma szubtelomerikus régiójában, ahol az *S*-lókusz is található, számos példányt mutattunk ki. Egy teljes és részleges elemet találtunk két *P. cerasifera S-RN-áz* allél intronjában is. Az NCBI-ban elérhető további 13 *P. cerasifera S-RN-áz* allélban nincs jelen a *FaSt* elem, ami arra utal, hogy a transzpozon az allélok kialakulását követően inszertálódott az érintett két allél 2. intronjába. Mindenezek alapján a *FaSt* elem viszonylag gyakori megjelenése jellemző a *Prunus* fajok *S*-lókuszára és annak környezetére, és recens aktivitása is feltételezhető

Az azonosított kajszi *FaSt* elemek egyértelműen különböztek a legtöbb őszibarack-szekvenciától, amit a nagy bootstrap értékek is tükröznek a maximum likelihood analízis alapú többségi konszenzus fa kládjainál, de viszonylag közeli genetikai kapcsolatban állnak egy sor olyan őszibarack elemmel, amelyek különböző kromoszómákon helyezkedtek el. Néhány esetben az őszibarack különböző kromoszómáin található *FaSt* elemek kerültek egy csoportba, például az egyik csoportot az 1-es, 5-ös, 7-es és 8-as kromoszóma elemei alkotják. Ez a mintázat, összhangban a kajszi és őszibarack fajok *FaSt* elemei között tapasztalható szekvenciaeltérések által sugallt gyors evolúcióval, tovább erősíti a *FaSt* aktivitásának tényét.

A *FaSt* elemek jelentős szekvenciavariabilitást mutattak az őszibarackgenomban, így a nested elrendeződésű azonos szekvenciák a kajszi *SFB_{C2}*-allél esetében szintén közelmúltbéli, lókuszon belüli integrációra utalnak. Egy *S_CS_C* homozigóta genotípusban megtörténhetett a *FaSt* kivágódása a homológ kromoszómapár egyik tagjából, majd annak integrációja a másikba. Akár így történt, akár nem, érdekes az a felismerés, hogy a nested elrendeződés egy olyan régióban jelent meg, ahol a kajszi nagy része *S_CS_C* genotípusú, ami a lókuszon belüli integrációra kiváló lehetőséget biztosít.

Az ilyen módon azonosított és jellemzett nem-autonóm *Mutator* elemet *Falling Stones* néven írtuk le (Halász és mts., 2014a). Ez az elnevezés utal a csonthéjas gyümölcsök angol nevére (stone fruits), hiszen csak ebben a nemzetségben sikerült igazolni a *FaSt* genomi jelenlétét. A név „hulló kavicsok” jelentése érzékelteti azt a kölavina-szerű gyors elterjedést, aminek hatására az evolúció viszonylag kései szakaszán kialakult transzpozon valamennyi kromoszómán számos példányban el tudott terjedni viszonylag rövid idő alatt. Ugyanerre utal a rövidítésként használt *FaSt* megjelölés is. Az elnevezés további jelentésrétegét képezi, hogy a *Falling Stones* szintagma felidézi a Rolling Stones szókapcsolatot is, amely angol nyelvterületeken, tolvajnyelven azt jelenti, csavargó: ezzel utalva a transzpozon szakadatlan és visszatérő helyváltoztatására. Bioinformatikai elemzéssel és kísérleti adatainkkal igazoltuk, hogy a *Falling Stones* nem autonóm transzpozon képes volt az *SFB* gén funkcióvesztését előidézni. Az önmeddőség áttörése döntő fontosságú volt a kajszi kultúrevolúciója során, és mivel a *FaSt* elemek elsősorban a génekben gazdag régiókban fordulnak elő, feltételeztük, hogy más gének működését is befolyásolhatja a transzpozon aktivitása., Mindez 2017-ben, három évvel a *FaSt* azonosítását követően, váratlanul és egyben óriási meglepetést okozva igazolódott is.

Vilanova és mts. (2006) az *S_CS₂* genotípusú ‘Canino’ spanyol fajta utódnemzetékében azt tapasztalták, hogy az *S_C*-allélt nem tartalmazó egyedek is képesek öntermékenyülni. Ráadásul *S₂S₂* homozigóták is létrejöttek, vagyis az ÖT jelleg nem csak az *S_C*-allélhoz kötődhet. Az *SFB₂* és az *S₂-RN-áz* teljes szekvenciájában azonban nem találtak olyan mutációt, ami funkcióvesztést idézhetett volna elő. A ‘Goldrich’ fajtával történő keresztezést követően a hasadó nemzedék genotípusainak arányából arra következtettek, hogy ez a PPM jelenség a ‘Canino’ esetében nem az *S*-lókuszhoz kapcsolt módon öröklődik. A feltételezett, pollenfunkciót módosító új lókuszt, „M” betűvel („modifier”) jelölték, és a hasadó populáció elemzését követően a ‘Canino’ genotípusát heterozigótának határozták meg, *S_CS₂ Mm*. Később SSR-marker alapú kapcsoltsági térképezés alapján kiderült, hogy az *M*-lókusz nem az *S*-lókuszt is hordozó 6-os, hanem a 3-as kromoszómán helyezkedik el (Zuriaga és mts., 2012). Az észak-amerikai Zaigers Genetics által nemesített *S₁S₂*

genotípusú ‘Katy’ fajta is öntermékenyülőnek bizonyult, ráadásul a ‘Goldrich’ (S_1S_2) fajttal keresztezve szintén létrejöttek S_2S_2 homozigóta egyedek. Kapcsoltsági térképezés alapján ennél a fajtánál is a 3-as kromoszómára térképeződött a pollenfunkciót befolyásoló, módosító lókuszt pozíciója, miután az S -lókusztban itt sem jelent meg semmiféle mutációs esemény (Zuriaga és mts., 2013). További nagy felbontású finomtérképezés során egy 134 kb méretű régióra szűkítették az M -lókuszt lehetséges pozícióját. Ezen szakaszon 16 gént azonosítottak, melyek közül a *ParM-7* és *-14* expresszáldott pollen-specifikusan, az *SFB*-hez hasonlóan. Tizenkét kajszi fajta összehasonlítása során azt találták, hogy az ÖT ‘Canino’ és ‘Katy’ fajták esetében a *ParM-7* génbe ugyanaz a *FaSt* elem integrálódott, mint az *SFB_C*-haplotípusba. A gén ORF régiójába ékelődve kereteltolódást okoz, aminek hatására a 6 exon régióból 4 már nem jelenik meg a feltételezett fehérjetermékben (Muñoz-Sanz és mts., 2017).

Szekvencaanalízis alapján megállapították, hogy a génjelölt egy *diszulfid-hid-A oxidoreduktáz*, ami a *thioredoxin (Trx)* szupercsalád tagja. Ennek megfelelően a gén neve *M-lókuszt-DsbA-oxidoreduktáz*, röviden *ParMDO* (*Prunus armeniaca M-locus disulfide bond-like oxidoreductase*) lett. A fehérje egy jellegzetes CxxC motívummal rendelkezik, és a célfehérjék redox állapotának szabályozásával részt vesz a szubsztrát fehérjék térszerkezetének kialakításában (folding) és a stabilitásuk elnyerésében. A *ParMDO* pontos fiziológiai funkciója még nem ismert, de elképzelhető, hogy segíti a saját S -RN-áz aktív konformációjának fenntartását a pollentömlő citoplazmájának redukáló hatású körülményei között (Muñoz-Sanz és mts., 2017). A *ParMDO FaSt*-inszercióval rendelkező, öntermékenyülést előidéző génváltozatát „m”, míg az eredeti vad típust „M” betűk jelölik. Összesen 56 különböző eredetű kajszi fajta tesztelését végezték el az M -allélváltozatokra és 12 esetben találtak ÖT heterozigóta (mM) genotípusokat, melyek mindegyike mediterrán, főként spanyol eredetű fajta volt (Marchesano és mts., 2022). A tanszékünk soroksári génbanki gyűjteményéből származó 36 fajtát, köztük magyar fajtákat is megvizsgálva, egyikben sem azonosítottam az „m” allélváltozatot (be nem mutatott eredmények), ami arra utal, hogy a *ParMDO* mutációja sokkal kevésbé elterjedt, mint az *SFB_C* által reprezentált mutáció. Ez a szintén öntermékenyülést előidéző mutáció egy szűk földrajzi régióra korlátozódik, miközben az S_C -allél a világ minden kajszi termesztő táján széles körben elterjedt. Ennek valószínűleg az az oka, hogy a kajszi elterjedési útvonala mentén a géncentrumtól, keletről nyugatra haladva a török területen felbukkanó S_C -allél könnyen eljuthatott a nyugatabbra eső országokba. Ugyanakkor a mediterrán régióban kialakuló, az M -lókuszt érintő mutáció nem terjedt el, mert nyugat felől keleti irányba, a genetikailag kevésbé variábilis régióból a sokkal nagyobb változatosságot mutató országok irányába nem került sor a kajszi szaporítóanyagok tömeges bevitelére. Míg tisztázatlan, hogy a spanyol tájfajtaként ismert ‘Canino’ és az észak-amerikai nemesítésű ‘Katy’ miképpen hordozhatja pontosan ugyanazt a mutációt, de feltehetően valamilyen, nem ismert közös elem valószínűsíthető a pedigréjükben, hiszen annak nagyon kicsi a valószínűsége, hogy ugyanaz a mutációs esemény a gén pontosan ugyanazon szakaszán, egymástól függetlenül, többször is bekövetkezzen.

A *Falling Stones* transzpozon jelentős mértékben hatott a csonthéjas gyümölcsfajok genom szerkezetére, hiszen nagy példányszámban fordul elő, minden kromoszómán megtalálható és valószínűleg még ma is aktív. Rendkívül érdekes tény, hogy két olyan, egymástól független fehérjekódoló génben okozott funkcióvesztéses mutációt, amely a termékenyülési fenotípus megváltozásához vezetett. Önmagában az öntermékenyülő jelleg kialakulása is drámai hatással járt, ugyanakkor nem zárható ki, hogy a *FaSt* más gének esetében is előidézett hasonló funkcióvesztéses mutációkat, amelyek felderítésével jelenleg is foglalkozunk.

6.2.4. A kajszi S -allél-rendszerének jelenlegi helyzete, az inter-inkompatibilitási csoportok száma

PhD munkám során meghatároztam 51 gazdaságilag jelentős kajszi fajta és értékes nemesítési alapanyag S -genotípusát. Eredményeinket az addig publikált adatokkal összevetve elkészítettem a kajszi fajták inter-inkompatibilitási táblázatát, mely a más munkák által közzétett

eredményekkel összesítve 67 fajtát sorolt két CIG csoportba, illetve az univerzális pollenadók közé, továbbá az első inkompatibilitási csoportot két fajtaival bővítettük (Halász, 2007a; Halász és mts., 2005; 2007b). Ezt követően a törökországi növényanyagból származó eredményeink alapján tizenkettővel növekedett a CIG csoportok száma (III–XIV.). A 12 tunéziai helyi fajta *S*-genotípusának azonosítása alapján tovább bővítettük a sort, mert az *S*₇*S*₈ genotípusú ‘Oueld El Oud’ fajta és a török ‘Turfanda Izmir’ genotípusa azonosnak bizonyult, így ezek a fajták alkotják a XV. csoportot. További két tunéziai fajta *S*₇*S*₁₁ genotípussal (‘Hamidi’ és ‘Bouk Ahmed’) a XVI. csoportba sorolódik, míg a XVII. csoportba (*S*₈*S*₁₂) a tunéziai ‘Adedi Ahmar’ és a török ‘Alioglu 49’ került.

Az elmúlt 27 év alatt az első vizsgálatok óta (Egea és Burgos, 1996) mostanáig 30-nál is több *S*-allélt ismertünk meg, közel 250 fajta *S*-genotípusát és 33 CIG csoportot írtunk le (Egea és Burgos, 1996; Halász és mts., 2010b; Herrera és mts., 2018b; Boubakri és mts., 2021). Ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy a szakirodalomban megjelent adatok között számos ellentmondás és homonímia keletkezett. Az egyik fő problémát az okozza, hogy a kínai kutatók nem vették figyelembe az európai kutatók által publikált és elfogadott allélnevezéktant. A termesztők számára is komoly gondot okoz például, hogy az általunk leírt *S*₉-allél ellenére egy másik allélt szintén *S*₉-ként publikáltak (Jie és mts., 2005; Feng és mts., 2006; Zhang és mts., 2008a), így Herrera és mts. (2018b) tévesen soroltak be egyes fajtákat az általunk megalkotott *S*₈*S*₉ vagy az *S*₆*S*₉ genotípusokkal jellemzett inkompatibilitási csoportokba. Ráadásul egymás eredményeit sem vették figyelembe, mert Zhang és mts. (2008b) *S*₁₁-től *S*₂₀-ig adták meg a neveket, de Wu és mts. (2009) a 21 kihagyásával *S*₂₂–*S*₃₀-ig közöltek adatokat, mindeközben az NCBI adatbázisban publikálatlan adatként *S*₅₂-ig is töltöttek fel szekvenciarekordokat.

A kaotikus nevezéktan miatt jelenleg a kajszi inkompatibilitási táblázatok a gyakorlat számára alig használhatók, ami sürgetővé tette a kajszi *S*-allél-rendszerének harmonizálását. Ezt több esetben kezdeményeztük, mert a kaotikus adatok harmonizálását a szakterület vezető kutatóinak együttes részvételével lenne szerencsés megvalósítani. Ehhez hasonló kezdeményezés körte esetében sikeres volt (Goldway és mts., 2009), amikor azonos nevek alatt közölt különböző allélok miatt újraszámolták a teljes *S*-allél-sorozatot *S*₁₀₀-tól indulva. Reméljük, hogy az elkövetkező években a kajszi és minden más gyümölcsfaj esetén sikerül majd megbízhatóan használható nomenklatúrát és egyértelmű csoportbesorolásokat kialakítani.

6.3. A meggy genetikai vizsgálatának összegzése

6.3.1. A funkcióképtelen allélok jelenléte és hatása a magyar meggyfajtákban

A meggy (*P. cerasus* L.) a cseresznye (*P. avium* L.) és a csepleszmeggy (*P. fruticosa* Pall.) spontán hibridjeként jött létre. A keletkezésének helyszíne valószínűleg Kis-Ázsia és a Kaukázus vidékére tehető, ahol a cseresznye és a csepleszmeggy termőterülete átfedi egymást (Olden és Nybom, 1968). Mivel a meggyfajták túlnyomó többsége öntermékenyülő (Lansari és Iezzoni, 1990), viszonylag kevés fajta *S*-genotípusa ismert, bár kétségkívül vannak gazdaságilag jelentős, önmeddő fajták is (Dondini és mts., 2018). Ezek közül a legismertebb sok egyéb kiváló tulajdonságának köszönhetően éppen a magyar ‘Pándy meggy’ (Borbola, 1942; Rapaics, 1940). Fajhibrid jellege miatt a cseresznye genomjára kidolgozott konszenzus primerek (Sonneveld és mts., 2003) alkalmasak a meggy *S*-lókuszának vizsgálatára, de önmagában nem elegendők a funkcióképtelen allélok azonosítására. Az ÖT jelleget meghatározó funkcióképtelen allélok kimutatásához specifikus markerekre van szükség, amiket egy japán-amerikai kutatócsoport dolgozott ki (Tsukamoto és mts., 2008a;b; 2010), így ezeket használtuk a magyar fajták vizsgálatához.

A pollen oldali mutáns *S*₁’ egy 615 bp hosszúságú inszertálódott *Dissociation* transzpozon elemet, és ezen belül egy korai stop kodont tartalmaz az *SFB* gén kódoló régiójában (Hauck és mts., 2006a), amit a specifikus markerrel csak az ‘Újfehértói fürtös’ fajta esetében tudunk kimutatni. Az *S*_{6m}-haplotípusban az *S*₆-*RN*-áz allél egy 2615 bp-os inszerciót hordoz a kódoló régiótól upstream irányban (Yamane és mts., 2003a), míg egy másik bibe oldali funkcióvesztés

haplotípus, az S_{6m2} esetében a +555 pozícióban található nukleotid deléciójával kereteltolódás jött létre, ami korai stop kodont eredményezett (Tsukamoto és mts., 2006). Összesen 8 fajtában azonosítottuk a funkcióképes S_6 -haplotípust, míg az S_{6m2} -haplotípust három fajtában. Az S_{13} funkcióképes haplotípusnak két funkcióképtelen változata közül az S_{13m} -haplotípusban egy 23 bp hosszúságú deléció eredményez sérült fehérjeterméket, míg az S_{13} '-haplotípusban egy SNP miatt keletkezett egy korai stop kodon (Tsukamoto és mts., 2006). Az S_{13m} -haplotípust a kontrollként használt 'Montmorency' fajtában azonosítottuk, míg az S_{13} '-haplotípust három fajtában találtuk meg.

A cseresznyében korábban nem ismert S_{36} -haplotípusnak négy funkcióképtelen változatát azonosították meggyfajtákban (Tsukamoto és mts., 2010). Az S_{36} -haplotípus két variánsának szekvenciaadatait a 'Rheinische Schattenmorelle' (S_{36a}) és az 'Újfehértói fürtös' (S_{36b}) meggyfajtákból írták le. Érdekes, hogy a funkcióképes allélt eddig még sehol nem mutatták ki. Az SFB $_{36a}$ és SFB $_{36b}$ aminosav-szekvenciák összehasonlítása más cseresznye SFB-szekvenciákkal az alábbi eltérést mutatta: a 188. aminosav pozícióban az összes *Prunus* faj esetében tirozin fordul elő, ami helyett itt mindkét allélban fenilalanin található. Továbbá mind a négy funkcióképtelen S_{36} változatban található egy 306 bp-os nem autonóm *Helitron* transzpozon az *SFB* stop kodonjától downstream irányban, 38 bp távolságra. Feltételezhető, hogy ez a *Helitron* elem felel a funkcióvesztésért, de ennek pontos oka máig nem tisztázott (Tsukamoto és mts., 2010). Összesen 12 genotípusban találtuk meg az S_{36a} -haplotípust, míg tíz fajtában az S_{36b} -allélt, valamint további 10 fajtában az S_{36b2} -t. A 12 funkcióképes meggy haplotípusból kilencet azonosítottunk a magyar fajtákban, az S_{16} , S_{33} és S_{34} nem fordult elő. Az S_{16} és S_{34} cseresznyében is ismert allélok, míg a harmadik nem, ezért az feltehetően *P. fruticosa* eredetű (Tsukamoto és mts., 2010; Szikriszt és mts., 2013). A funkcióképtelen allélok közül csak az S_{36b3} -allél nem volt jelen a vizsgált növényanyagban. Ezt a változatot eddig csak az MSU III 18 jelű, Michigan Egyetemen előállított hibridben azonosították (Tsukamoto és mts., 2008a).

A cseresznyénél alkalmazott módszerhez hasonlóan (Cachi és Wunsch, 2014), meggy esetében elsőként határoztuk meg az *S-RN-áz* gén első intronrégiójának méreteit, ami jelentősen megkönnyítette a genotipizálást. Leszűkíti a lehetséges allélok körét, így nem kell az összes funkcióképtelen allélra tervezett specifikus markert alkalmazni. A Tsukamoto és mts. (2008a;b; 2010) által kidolgozott PCR-alapú markerezési módszer elsősorban az ÖT és az ÖM genotípusok elkülönítését célozta meg. A specifikus primerek és a CAPS-markerek együttes használata az almafajták *S*-genotipizálásánál is nagy áttörést jelentett költség- és időtakarékosági szempontból (Kim és mts., 2009).

Az allélok funkcióvesztését leggyakrabban deléciós, inszerciós vagy nukleotidszubsztitúciós mutációk idézik elő. E változások gyakran összekapcsolhatók a mozgó genetikai elemek előfordulásával (Hauck és mts., 2006a), amelyek evolúciós hajtóerőként számos esetben az önmeddőség áttörését idézték elő. A *Prunus* genom kb. 30%-át teszik ki mozgó genetikai elemek (Alioto és mts., 2020). Nem csak az általunk azonosított *Falling Stones (FaSt)* *Prunus*-specifikus, nem autonóm *Mutator* elem okozhat ilyen változást, hanem például a meggy *SFB* $_1$ -alléljába ékelődő *Moshan* transzpozon is, ami szintén ÖT fenotípust idézett elő (Wang és mts., 2016). Kiemelendő, hogy a cseresznye hibridjeként létrejött meggyben megtalálható számos cseresznye *S*-allél, melyek funkcióvesztése cseresznyefajtákban nem következett be, de meggy esetében több példa is van erre. Mindez a meggy tetraploid genomjával magyarázható, hiszen egy poliploid fajnál egyetlen mutáció még nem változtatja meg a pollen fenotípusát, ha a másik allél funkcióképes. Ez azt jelenti, hogy a sérült allélok szelekciós következmény nélkül felhalmozódhattak a meggy populációkban. Ugyanakkor maga az öntermékenyülés csak abban az esetben alakul ki, ha az egyedekben két működésképtelen *S*-allél együttesen van jelen (Tsukamoto és mts., 2006; Hegedűs és mts., 2012).

A konszenzus primerek használatánál előfordul az ún. preferenciális amplifikáció (Walsh és mts., 1992), amely során – különösen poliploid fajoknál – néhány allél amplifikálódik, mások nem. A primer kötődési helyén jelentősebb szekvenciaeltérés kevesebb allél kimutatását teszi lehetővé. Előfordulhat, hogy bizonyos funkcióvesztett allélok több példányban vannak jelen, ezért

nem mutattuk ki a ploidszint alapján várható számú, különböző méretű amplikont (Esselink és mts., 2004), esetleg az *S*-lókuszot tartalmazó kromoszómarégió részleges deléciója is bekövetkezhetett a homeológ kromoszómák között, mint ahogy azt a meggy S_{null} esetében kimutatták (Yamane és mts., 2001).

Az 'Érdi bőtermő', 'Oblacsinszka' és VN klónok *S*-allél-készlete teljesen azonos az eredeti fajtákéval. Az egyes klónok leggyakrabban az érési idejükben térnek el egymástól (Szabó, 2007), de vizsgálataink alapján a termékenyülési rendszerük genetikai háttere azonos. Nagy méretű, jó minőségű gyümölcsének köszönhetően a Pándy nagyon népszerű szülő volt a nemesítési programokban. Szabadmegporzásból szelektált utódai gyümölcsminőségben hasonlítanak hozzá, ezért ma már alkalmasak az önmeddő Pándy klónok leváltására (Nyéki és mts., 2016). A nemesítési programokban történő gyakori felhasználása az utódok *S*-allél-készletében jól követhető ($S_1S_4S_35S_36b$): 'Favorit' ($S_1S_{13}S_{35}S_{36a}$), 'Érdi jubileum' ($S_1S_6S_{13}S_{36b}$), 'Meteor korai' ($S_1S_{6m}S_{35}S_{36a}$), 'Maliga emléke' ($S_{13}S_{35}S_{36a}S_{36b}$), 'Érdi bőtermő' ($S_4S_{6m}S_{35}S_{36a}$) és 'Korai pipacsmeggy' ($S_1S_{6m}S_{13}S_{36b}$) (a Pándy-allélokot vastagon szedve jelöltem). Az önmeddő Pándy klónokban csak az S_{36b} -allél funkcióképtelen, de a keresztezési partnerek miatt mind a hat vizsgált utódja öntermékenyülő lett két funkcióképtelen alléllal. Diploid fajok esetében két önmeddő szülő keresztezéséből soha nem tud létrejönni öntermékenyülő utód, ellenben a tetraploidoknál egy-egy funkcióképtelen allélt hordozó önmeddő szülők keresztezésekor az utódok között lehetnek öntermékenyülő genotípusok is (Tsukamoto és mts., 2008b).

A Pándy fajtával azonos *S*-genotípusú 'Kántorjánosi 3', 'Debreceni bőtermő', 'Éva' és 'Petri' fajtákban egyetlen funkcióképtelen allélt azonosítottunk. A 'Kántorjánosi 3' fajtát a termesztők „részben öntermékenyülőnek” tartják (Nyéki és mts., 1997), és pollenadóként az 'Újfehértói fürtös' fajtát javasolják mellé. Szabó (2007) szabadföldi termékenyülési vizsgálatok alapján a 'Debreceni bőtermő' fajtáról azt írta, hogy öntermékenyülése „elfogadható mértékű”, mert 5-10%-os terméskötődést tapasztalt autogám vizsgálatból, ugyanígy az 'Éva' fajtát gyengének minősítette 5% alatti értékkel. A 'Petri' fajtát „megfelelőnek” találta, de a jelenleg azonosított funkcióképtelen allélok közül másodikat nem találtunk ezek genotípusában, így egyelőre mindegyiket önmeddőnek kell tekintenünk. Az azonos genotípus alapján vélhető kölcsönös inkompatibilitásukat alá is támasztja az a több éves vizsgálati sorozat, amikor a Pándy fajtát anyagként használva 0%-os gyümölcskötődést tapasztaltak a 'Kántorjánosi 3' és a 'Debreceni bőtermő' pollenadó fajtával (Nyéki és mts., 2016).

Külön érdekesség, hogy két fajtában ('Piramis' $S_1S_{35}S_{36a}S_{36b}$ és 'Maliga emléke' $S_{13}S_{35}S_{36a}S_{36b}$) az S_{36} -allél mindkét funkcióképtelen haplotípusa egyszerre van jelen. Tsukamoto és mts. (2010) a hasonló jelenséget mutató 'Tarina' ($S_1S_4S_{36a}S_{36b}$) fajta gamétaképződését elemezték, és csak négyféle allélkombinációt találtak a diploid gaméták között (S_1S_{36a} , S_4S_{36b} , S_1S_{36b} , S_4S_{36a}), az elméletileg várt hat helyett. Észrevették, hogy soha nem jött létre olyan gaméta, amely egyszerre tartalmazta volna az S_{36a} - és S_{36b} -allélokot. Mivel az eredeti allél a *P. fruticosa* fajtából származik, a gametogenezis során a meiózisban a homológ kromoszómák párokba rendeződésekor az azonos genomból származó kromoszómák állnak párba, így az anafázisban történő szétválásuk során soha nem kerülhetnek együtt a keletkező utódsejtekbe. Ugyanakkor a többi *P. fruticosa* eredetű allélnél ez nem feltétlenül így alakul, tehát a preferenciális párosodás inkább arra vezethető vissza, hogy az *S*-allélhoz (egy allél két változata van jelen a kromoszómákon) hasonlóan e két kromoszóma többi régiója is nagyrészt azonos lehet. Ez azt jelenti, hogy ha egy fajtában az S_{36a} - és S_{36b} -allél jelen van, akkor egyiket az egyik, másikat a másik szülőtől kaphatta. Más haplotípusok esetén ilyenre nincs példa, egyik esetben sem találták meg ugyanannak az allélnak két funkcióképtelen változatát egyetlen fajtában.

A 'Pipacs 1' különleges és egyedi magyar meggyfajta, főként a gyümölcsében jelentős mennyiségben felhalmozódó izoflavonoid vegyületek miatt (Abrankó és mts., 2015). A kiskőrösi termőtájban szelektált fajta eredetéről nincs ismert adat. Korábban a Pándy volt a legnépszerűbb fajta a 19-20. században, a francia eredetű 'Montmorency' fajtát pedig már 300 éve termesztik Magyarországon (Szabó, 2007; Nyéki és mts., 2016). A 'Pipacs 1' ezekhez hasonlóan az amarella típusú meggyek közé tartozik, ezért megnéztük, hogy e két fajta közül bármelyik szerepet

játszhatott-e a 'Pipacs 1' kialakulásában. Az *S*-genotípus vizsgálata alapján a 'Pipacs 1' és a két ismert amarella típusú meggyfajta *S*-genotípusa nem egyezik meg, tehát közvetlenül biztosan nem ezektől a fajtától származik. Mivel a 'Korai pipacsmeggy' genotípusa is teljesen más, köztük sincs rokonsági kapcsolat, csak elnevezésük hasonló. A 'Pipacs 1'-nek a többi fajtától eltérő, egyedülálló *S*-genotípusa ($S_{12}S_{14}S_{26}S_{36b2}$) van. Az S_{12} - és S_{14} -allélok semelyik másik vizsgált meggyfajtában nem fordultak elő. A ritka S_{26} -, valamint az S_{36b2} -allélok együttes megjelenését eddig csak a Cigánymeggy klónfajtákban azonosították. Mindkét allél jelenlétét szekvenciaadatokkal is bizonyítottuk. A morello típusú Cigánymeggy fajtákban előforduló allélok jelenléte miatt az sem kizárható, hogy a 'Pipacs 1' a Cigánymeggy leszármazottja lehet. Az S_{36b2} -allél még az 'Oblacsinszka', 'Fanal' fajtákban, valamint a VN klónokban jelenik meg.

A Pándy önmeddő jellege régóta ismert (Borbola, 1942), míg a szintén népszerű 'Újfehértói fürtös' öntermékenyülő fajta (Nyéki és mts., 2016). A 'Pándy 38' és '114' klónok *S*-genotípusát már korábban meghatározták ($S_1S_4S_{35}S_{36b}$) (Tsukamoto és mts., 2008b), ami azonos az általunk vizsgált 'Pándy 279' genotípusával. A négy *S*-allél közül három (az S_1 , S_4 és S_{35}) funkcióképes, míg az S_{36b} -allél funkcióképtelen. Az 'Újfehértói fürtös' *S*-genotípusa ($S_1'S_4S_{35}S_{36b}$) majdnem ugyanaz, mint a Pándy meggyé, csak ebben az esetben a Pándy meggyben funkcióképes S_1 -allélnak itt egy funkcióképtelen (S_1') változata van jelen (Hauck és mts., 2006). A funkcióvesztés a pollenfunkciót tette tönkre. Előfordulhat, hogy ez a mutáció a Pándy meggy mikrosporogenezise során következett be, melynek hatására a két funkcióvesztéses allélt hordozó pollenszemek képessé váltak az öntermékenyítésre. Az is lehet, hogy a Pándyhoz hasonló genotípusú egyeddel történő kereszteződés révén alakult ki az 'Újfehértói fürtös'. Érdekes tény, hogy már Rapaics (1940) megemlíttette: a Pándy meggy állományaiiban kerestek és találtak is öntermékenyülő változatot! Ezt a hipotézist megerősítik a mikroszatellit analízisek eredményei. Az 'Újfehértói fürtös' fajttal kapcsolatos első SSR-vizsgálatok (Cantini és mts., 2001) szerint az 'Újfehértói fürtös' és a 'Pándy 114' a legtöbb mikroszatellit lókuszban teljesen megegyezik (pl. pchpgm3, PS08E08, PMS2, PMS30, PceGA59).

A Cigánymeggyek *S*-genotípusa $S_{6m2}S_9S_{26}S_{36b2}$, vagyis a Pándyval és az 'Újfehértói fürtös' egy közös alléljuk van (S_{36}), de ennek is két különböző változatát hordozzák. Mindezek alapján genetikailag az 'Újfehértói fürtös' sokkal közelebb áll a Pándy meggyhez, mint a Cigánymeggyekhez. Az 'Újfehértói fürtös' gyümölcsének antocianintartalma meghaladja a Pándy meggyét (Papp és mts., 2010), ami alapot adott annak a korábbi népszerű hipotézisnek, hogy a festőlevű Cigánymeggy fajtakör valamely tagja részese lehet az 'Újfehértói fürtös' pedigréjének. A fent bemutatott molekuláris adatok alapján ez a lehetőség kizárható, amihez SSR-vizsgálataink is további megerősítést adtak.

A festőlevűség egy felhasználás szempontjából fontos tulajdonság, mert a világos héj- és hússzínű fajták kiváló desszertmeggyek, hiszen nem festik meg a sütemények piskótarétegét, sem a krémet (G. Tóth, 1997). A 'Pándy 279' egy alig festőlevű fajta, a vizsgált utódjai azonban különböző mértékű festőlevűséget mutatnak; míg a 'Nagy angol' fajttal létrehozott 'Meteor korai' és 'Érdi bőtermő' fajták, valamint az 'Eugénia' fajttal történt keresztezésből származó 'Érdi jubileum' közepesen festőlevűek, a szintén 'Pándy' és 'Eugénia' keresztezésével előállított 'Maliga emléke' fajta nem festőlevű. A Pándy és a 'Császár meggy' fajták keresztezésével előállított 'Korai pipacsmeggy', valamint a 'Montreuilli' fajttal létrehozott 'Favorit' fajták szintén nem festőlevűek (Nyéki és mts., 2016). Az amarella típusú 'Montmorency' és 'Pándy' fajták nem mutatnak rokonsági kapcsolatot a szintén amarella típusú 'Pipacs 1' fajttal. Ellenben a fent bemutatott adatok alapján a morello típusú 'Cigánymeggy' fajtákban előforduló allélok jelenléte arra enged következtetni, hogy a 'Pipacs 1' pedigréjében juthatott szerep a 'Cigánymeggynek', bár a filogenetikai analízisünk és a genetikai távolságok elemzése nem utalt közvetlen kapcsolatra.

Korábban a festőlevűséget a bizonytalan rokonsági kapcsolatok esetében jelentős közös tulajdonságnak tekintették, vagyis a hasonló fajták között genetikailag szoros kapcsolatot véltek. Mivel megfigyelhető, hogy az alig festő 'Pándy' fajta utódai között is jelen vannak mind festő, mind nem festő fajták, már csupán a Pándy-rokonfajták vizsgálata alapján is kijelenthető, hogy a

festőlevű és nem festőlevű fajták genetikai állománya nem különül el élesen. Ennek oka nagy valószínűséggel abban áll, hogy a gyümölcs antocianintartalmában jelentkező különbségekért mindössze néhány gén (pl. MYB transzkripciós faktorok) felelős, melyek aktivitását számos más tényező is befolyásolhatja, a gén kifejeződését befolyásoló mutációk egymástól függetlenül, több alkalommal is bekövetkezhetnek az egyes fejlődési ágakon, így önmagában a festőlevűség nem elegendő morfológiai marker a rokonsági kapcsolatok meghatározásához (Yang és mts., 2021; Liu és mts., 2023).

A meggy allopoliploid genomjának komplexitása jelentősen megnehezíti az *S*-genotípus analízisét, többféle markerezési technika együttes alkalmazására van szükség a diagnosztizáláshoz. A folyamatban kulcskérdés a vizsgálatok idő- és költségigénye. Az általunk meghatározott *S-RN-áz* gén első intronrégióját jellemző méretekkkel növelhető a meggy által hordozott cseresznye- és cseplésmeggy-eredetű *S*-allélok azonosításának megbízhatósága.

6.3.2. Az *S-RN-áz* gén molekuláris markerként történő felhasználása

Az *S-RN-áz* gén jelentős mértékű polimorfizmusa (McClure, 2004; McClure és mts., 2011) jó alapot ad arra, hogy a termékenyülés fenotípusos vizsgálatán túl, a genetikai variabilitás elemzésében is felhasználható legyen markerként. Kodomináns kimutathatósága miatt leginkább olyan más markerekkel együtt kombinálva használják, ami szintén kodomináns típusú, így általában az SSR-vizsgálatok kiegészítéseként nagyon hasznos (Gupta és mts., 1996; Garkava-Gustavsson és mts., 2008; Gisbert és mts., 2009; Liu és mts., 2018; Baraket és mts., 2019). A génbanki tételek azonosságainak, eltéréseinek felmérésére, illetve a szülő-utód kapcsolat kizárására vagy megerősítésére megbízhatóan alkalmazható (Kitahara és mts., 2005; Matsumoto és mts., 2007; Sawamura és mts., 2008; Kim és Nou, 2016). A ploidszintek meghatározásához jó alapot biztosít, mivel az ÖM genotípusok esetében a homozigotás diploidoknál kizárható, a magasabb ploidszintű genotípusoknál is általában különböző allélok fordulnak együttesen elő. Önmagában nem elégséges a ploidszint megállapításához, hiszen amennyiben nem az összes allél detektálható (pl. deléción, nagy méretű inszerción, öntermékenyülők homozigotásága miatt), akkor nem kapunk teljes képet a kópiaszámról sem. A mikroszkópos vagy flow-citométeres vizsgálatokat nem helyettesíti. Ugyanakkor több lókuszt egyidejű analízisével a morfológiai bélyegeket vagy a származás alapján feltételezett ploidszinteket megerősítheti.

A *P. fruticosa* tetraploid faj (Olden és Nybom, 1968; Brown és mts., 1996). Négy egyedének vizsgálatából három esetben négy allélt azonosítottunk. A hazánkban őshonos *P. fruticosa* élőhelyei átfedésben vannak a diploid *P. avium* és *P. mahaleb* fajokéval, így nagyon gyakran spontán hibridizáció is bekövetkezhet a fajok között (Kárpáti, 1944; Terpó, 1974; Wojcicki, 1991; Hrotkó és Facsar, 1996; Faust és Surányi, 1997). Herbáriumi és terepi megfigyelések alapján Kárpáti (1944) a nagyobb habitusú és nagyobb levélmérettel rendelkező egyedeket elkülönítette a *P. fruticosa* f. *aucta* csoporttól és hibridként, *P. × mohácsyana* Kárp. (*P. avium* × *P. fruticosa*) néven jelölte. A hét általunk vizsgált egyed közül hat esetben 3 *S*-allélt detektáltunk, mindössze a Budai Arborétum egyik egyedében azonosítottunk csak kettőt. Macková és mts. (2017) flow citométeres vizsgálattal a *P. × mohácsyana* egyedeket triploidnak határozták meg, a *P. × eminens* genotípusokat pedig tetraploidnak. A triploid egyedek sterilitásuk miatt élőhelyükön további hibridizációkban nem vesznek részt, de vegetatív úton (sarjképződés) fennmaradnak. A vizsgált két *P. × eminens* egyedből egyiknél négy, másiknál két *S*-allélt azonosítottunk. A hat diploid egyed (*P. avium* 2 genotípus, *P. mahaleb* 3 genotípus és *P. mahaleb* × *P. avium* 1 genotípus) mindegyikében két allél jelenléte volt igazolható. Szintén Kárpáti (1944) írta le a *P. × javorkae* Kárp. hibridet, amely a *P. fruticosa* × *P. mahaleb* spontán hibridizációjából jött létre. De Palma és mts. (1996) mesterséges keresztezéssel állítottak elő *P. fruticosa* × *P. mahaleb* hibrideket, amelyek triploidnak ($2n=3\times=24$) bizonyultak. Az általunk vizsgált egyetlen hármashatárhegyi példány is három *S*-allélt hordoz. Össességében a 22 vizsgált egyedből négy esetben nem a várt allélszámot kaptuk, de nyolc SSR-lókuszt elemzésével kiegészítettük az

analízisünket, amelyek a kérdéses négy egyednél is a várt allélszámot adták. A két markerrendszer közös használatával a vizsgálatok megbízhatósága egyértelműen növelhető.

6.4. Az eredetvédett szatmári szilvapálinka alapját adó Nemtudom és Besztercei fajtakör jellemzése *S*-genotípus alapján

A hagyományos magyar szilva tájfajtákat kedvelt tulajdonságaik miatt hosszú ideje termesztik hazánkban, ugyanakkor főként PPV fogékonysága okán, javításuk fontos nemesítési cél napjainkban is. Termékenyülési hátterük molekuláris vizsgálatára eddig nem került sor, ami azonban elkerülhetetlen lesz a jövőbeli nemesítési munka sikeréhez. Emiatt a két legjelentősebb fajtakör államilag elismert fajtáinak ('Nemtudom P3' (Penyigei) és 'Besztercei Bt.2') *S-RN-áz* alapú vizsgálatát végeztük el.

A hexaploid *P. domestica* esetében legfeljebb hat allél megjelenése várható egyedenként. A legtöbb allélt amplifikáló PCR-hez több korábban leírt konszenzus primerpárt is teszteltünk. A PaConsII (Sonneveld és mts., 2003) és EM-PC2/PC5 primerpárok kb. 220 bp mérettel nagyobb ampliconokat eredményeznek, mint az EM-PC2/PC3 primerpár (Sutherland és mts., 2004), mert a reverz primer az *S-RN-áz* gén C5 régiójához kötődik a C3 helyett. Ugyanakkor egyik primerpárral sem tudtunk hat PCR-terméket kimutatni, öt különböző méretűt detektáltunk mindkét fajtában, köztük egy azonosat. Az eddig publikált tanulmányok is arról számoltak be, hogy hatnál kevesebb allél amplifikációja volt sikeres szinte minden esetben (Halász és mts., 2014b; Sutherland és mts., 2004; Fernandez i Martí és mts., 2021), hat különböző allélt mindössze egyetlen fajtánál sikerült kimutatni (Abdallah és mts., 2019).

A két fajta egyik *S*-allélja azonosnak látszott az *S-RN-áz* jellemző intronrégiójának méretei alapján, amit a C2-C3 régió DNS-szekvenciája is megerősített. Az *S-RN-áz*ok allélspecifitását leginkább az RHV régió határozza meg (Ushijima és mts., 1998), ami a vizsgált szekvenciák esetén azonos volt. Az RHV régió után bekövetkezett konzervatív aminosavcsere valószínűleg nem jár az allélspecifitás megváltozásával, mindez csak irányított megporzással bizonyítható, az is csak akkor, ha az *S₁₈-RN-áz* funkciója sértetlen. Az allél elnevezésekor követtük a Sutherland és mts. (2008) valamint a Fernandez i Martí és mts. (2021) által leírt allélsorozatot.

Az általunk azonosított *S₁₈-RN-áz* allél 97,9–98,9% azonosságot mutatott a *P. spinosa* *S_B-RN-ázzal* (MN069632). Ez magyarázható a transzspecifikus evolúcióval, de a nagymértékű egyezés a *P. domestica* feltételezett eredetével is összhangban áll (Zhebentyayeva és mts., 2019), miszerint a *P. spinosa* leszármazottja. Mindezt tovább erősítik Fernandez i Martí és mts. (2021) eredményei, akik két további *P. domestica* *S-RN-áz* allélt azonosítottak, amelyek 95–98%-ban azonosak a *P. spinosa* allélokkal. A 'Besztercei Bt.2' és 'Nemtudom P3' *S₁₈-RN-áz* DNS-szekvenciái között három bázisszubsztitúció történt, és mindhárom pozícióban a 'Nemtudom P3' azonos volt a *P. spinosa* *S_B-RN-ázzal*, amelyről kimutattuk, hogy gyakran előfordul a Nemtudom szilvával azonos földrajzi régióban őshonos kökénypopulációkban (Halász és mts., 2021b).

Érdekes megfontolni, hogy a Nemtudom, mint kis gyümölcsű tájfajta egy olyan genotípust képvisel-e, amely közel áll a feltételezett, *P. cerasifera* és a *P. spinosa* közötti introgresszív hibridizációból eredő, interspecifikus utódokhoz. A *P. domestica* eredetére összpontosító további elemzésekhez a Nemtudom szilva tájfajta perspektivikus alapanyagot kínálhat.

A vizsgálatba bevont 68 fa *S*-genotípusa többségében azonos volt, ami megegyezett a kontrollként használt 'Nemtudom P3' mintázatával. Ez egybevág azzal a ténnyel, hogy a szilvát ezen térségben régóta szaporítják vegetatívan sarjhajtásokról (Pethő és mts., 2010; Pethő, 2011). Ugyanakkor a Gacsály, Barabás és Tizzaszalka települések mintái egy vagy két olyan allélt is hordoznak, melyeket a 'Besztercei Bt.2' fajtában is azonosítottunk. Ez arra utal, hogy ezen egyedek feltehetően a Besztercei és Nemtudom tájfajták kereszteződéséből jöhettek létre. Az eredetvédett Szatmári szilvapálinka csak ezen két fajta terméséből készülhet (Stéger-Máté, 2006), ezért a térségben e két fajta egyedei találhatóak meg döntő mértékben. Eredményeink bizonyítják, hogy lehetséges közöttük hibridizáció és az így keletkezett magoncok is fennmaradtak.

A tarpai mintában három olyan *S*-allélt mutattunk ki, amelyek nem fordulnak elő a Nemtudom fajtában. Kettő azonos a 'Besztercei Bt.2' alléljaival, ami felveti annak lehetőségét, hogy ez a fa a Besztercei öntermékenyüléséből származik. A Besztercei klónokat öntermékenyülőként jellemezték minden eddigi vizsgálatban (Tóth, 1975; Nyéki és Szabó, 1996). Az 1500 bp méretű alléltermék a 'Besztercei Bt.2' kontrollban nem jelenik meg, valószínűleg a nagyobb mérete miatt, de a tarpai mintánál a két genomi kópia megnövelhette az amplifikáció hatékonyságát. Ha ez az egyed valóban a Besztercei öntermékenyüléséből származik és így minden allélja két példányban van jelen, akkor automatikusan azonosítja a Besztercei funkcióképtelen *S*-haplotípusait. A Hauck és mts. (2006) által igazolt modell alapján a hexaploid genomban három funkcióképtelen allél jelenléte szükséges az öntermékenyüléshez. Valószínűleg ez mutatkozik meg a tarpai genotípusban, ezért a későbbiekben a funkciót érintő mutációk felderítéséhez jó alapot adhat. Érdekes tény, hogy a Nemtudom esetében nem találtunk öntermékenyülésből származtatható egyedeket. Bár a Nemtudom fajtát öntermékenyülőként tartják számon a termesztők, erre megbízható irodalmi adat nem volt található. Emiatt végeztük el a szabadföldi gyümölcskötődési vizsgálatot, ami igazolta az öntermékenyülő fenotípust. Elképzelhető, hogy még több minta bevonásával találhatnánk öntermékenyülésből származó magoncot is, de az is lehet, hogy például a beltenyésztés káros következményei (DeBuse és mts., 2005) miatt nem jöttek létre vagy nem maradtak fenn ilyen utódok.

Eredményeink igazolták, hogy az északkelet-magyarországi régióban vadon növény Nemtudom szilva állományait kismértékű genetikai variabilitás jellemzi, ami indokolja a közelmúltban megkezdett szelekciós nemesítési programok folytatását. A jövőbeli nemesítési programok sikere kétségtelenül attól függ, hogy mennyire hatékonyan azonosítjuk a potenciális és egyedi donor genotípusokat, melyek alapanyagként felhasználhatók. Eredményeinkkel a hazai szilva tájfajták további nemesítéséhez igyekeztünk hozzájárulni, melyet a hexaploid házi szilva öntermékenyülésének tisztázását célzó jövőbeli kutatásaink kiindulópontjának tekintünk.

6.5. A babérmeggy genetikai vizsgálatának összefoglalása

6.5.1. Funkcióképes és funkcióképtelen *S-RN-áz* allélok azonosítása egy extrém poliploid faj esetében

A ploidszinthez képest kis számú allélt detektáltunk mintánként. Ennek több oka is lehet, mint a korábban vizsgált tetraploid meggy és hexaploid szilva esetében is tárgyaltuk. A preferenciális amplifikáció konszenzus primerek használatánál (Walsh és mts., 1992) nem kizárható, de jelen lehet ugyanaz az allél több kópiában, és a hasonló méretű alléltermékek sem lesznek elkülöníthetők az agarózgélen (Sonneveld és mts., 2003; Nantongo és mts., 2016). Az első két lehetőséget nem tudtuk ellenőrizni, de az amplikonok szekvenálásával a harmadik lehetőség bizonyítást nyert, ugyanis az intenzívebb sávként megjelenő PCR-termékek több hasonló méretű allélszekvenciát rejtettek, amit azonosítani tudtunk a szekvenálás elvégzését követően. Ilyen jelenség ritkán előfordul diploid fajok diagnosztizálása esetén is (Sonneveld és mts., 2003; Ortega és mts., 2005; Halász és mts., 2008), de eredményeink alapján kijelenthető, hogy egy extrém ploidszintű faj esetében az ILP-módszer önmagában nem alkalmas az *S-RN-áz* allélok azonosítására és elkülönítésére. A szekvenálás, majd az ismert allélokra tervezett specifikus primerek, illetve az almánál és meggyénél is alkalmazott CAPS-módszer lehet célravezető. A probléma természetesen omikai megközelítéssel is kezelhető lenne, de ilyen magas ploidszint mellett a genom- és transzkriptom szintű adatok sem adnának megbízható eredményt. A 23 különböző allél azonosítása nem volt váratlan, mert a *Prunus* nemzetség fajai között átlagosan 30–40 allél ismert (Cachi és mts., 2017; Herrera és mts., 2018b; Gómez és mts. 2019a). A nagy allélszám valószínűsíti, hogy a GSI-rendszer működése zavartalan a babérmeggyben is.

Három allélpárnál csak kisebb eltéréseket találtunk, ezért ugyanazzal a számmal, de a mutációra utaló 'm' betű kiegészítéssel jelöltük meg ezeket. Két esetben (S_{5m} és $S_{18m-RN-áz}$) egy nukleotidos deléció észleltünk a kódoló régióban, ami korai stop kodont idéz elő a kereteltolódás miatt. Az S_{5m} fehérjetermékben a C5 régió feltehetően hiányzik. Tao és mts. (2007) kimutatták,

hogy az őszibarack S_{2m} -RN-áz fehérje C5 régiójában egy ciesztein helyett tirozin található, ami ahhoz vezetett, hogy a fehérje nem volt kimutatható a bibeszövet-kivonatban. Az általunk azonosított mutáció hatására a teljes C5 régió szekvenciája hiányzik, így a fenti ciesztein nélkül nem alakulhat ki az S -RN-áz aktív térszerkezetéhez nélkülözhetetlen diszulfidhíd sem. Mindez kizárja az S -RN-áz funkcióképességét. Az S_{18m} -RN-áz valószínűleg már az allélspecifitást jelentős mértékben meghatározó RHV régiót (Ioerger és mts., 1991; Ushijima és mts., 1998) sem tartalmazza, így ez az allél sem lehet funkcióképes. Az S_9 -RN-áz allélnál a 2. intron kivágódásához szükséges szignál változott meg az intron 3' végén, AG-ről GG-re. Mind humán, mind növényi példák igazolják, hogy az intron 3' végén található hasítóhely (akceptor szekvencia) megváltozása megakadályozza az intron kivágódását (McNellis és mts., 1994; Hartevelde és mts., 1996). A ki nem vágódó intron következtében 13 új aminosav épül be a fehérjébe, amíg egy stop kodon (TAA) miatt valószínűleg befejeződik a transláció. A megszekvenált allélok közül három olyat találtunk, mely nagy valószínűséggel elveszítette biológiai funkcióját, de feltehetően ennél több is lehet. A *Prunus* nemzetségben az ÖT fenotípus kialakulását többször idézi elő a pollenkomponens mutációja, mint az S -RN-áz géné (Hegedűs és mts., 2012; Socias i Company és mts., 2015). Az *SFB*-allélok azonosítása a babérmeggy faj esetében még nem történt meg. Ha a tetraploid meggy modellje működik a magasabb ploidisztű *Prunus* fajoknál is (Hauck és mts., 2006), akkor itt 11 funkcióképtelen allél jelenléte lenne szükséges az ÖT fenotípushoz, aminek az esélye csekély. Amennyiben a heteroallélikus pollenszemek öntermékenyülést idéznének elő, ahogyan azt a tetraploid *P. pseudocerasus* faj esetében vélelmezték (Gu és mts., 2012), az általunk azonosított allélszám mellett az öntermékenyülési képesség gyakran előfordulna a babérmeggy fajták között. Az eddigi adatok alapján azonban a babérmeggy valamennyi vizsgált fajtája önmeddőnek bizonyult (Sulusoglu és Cavusoglu, 2014a;b), ami alátámasztja, hogy a babérmeggy öntermékenyülése a meggy esetében leírt modellhez hasonlóan alakulhat ki (Hauck és mts., 2006). Kőkénynél is bizonyították, hogy a négy különböző S -allélt hordozó pollenszemek nem képesek áttörni az önmeddőségi gátat (Nunes és mts., 2006). A heteroallélikus pollen által előidézett öntermékenyülés a nem-saját felismerési modell működéséből következik, miközben a *Prunus* fajok gametofitikus önmeddőségi rendszere a saját felismerési modellen alapul (Fuji és mts., 2016).

6.5.2. Az S -RN-áz allélok jellemzése egy extrém poliploid faj esetében

A nukleotidszekvenciák közti hasonlóság mértéke nagyobb volt, mint a származtatott aminosav-sorrendé, hasonlóan más *Prunus* S -RN-áz szekvenciákhoz (Gu és mts., 2012). A babérmeggy S -RN-áz fehérjeszekvenciák azonosságának mértéke a mandulához volt hasonló, 46,6 és 93,9% közötti értékekkel (Ortega és mts., 2006). Tizenkét *P. laurocerasus* S -RN-áz esetében találtunk egy vagy több homológ szekvenciát, ami 96% feletti azonosságot mutatott, továbbá négy olyat, ahol valamennyivel kisebb mértékű volt az azonosság, illetve további négy olyat, ahol csak jelentősebb mértékben különböző (81–93%-os azonosság) homológ szekvenciák voltak azonosíthatók. Az a tény, hogy különböző fajok S -allél-szekvenciái között nagyobb azonosság lehet, mint ugyanazon faj két S -allélja közt, az S -allélok transzspecifikus evolúciójára utal, vagyis hogy az S -allélok a fajok kialakulása előtt megjelentek. Ezt számos alkalommal bizonyították a *Prunus* S -RN-ázokkal kapcsolatban (Ioerger és mts., 1990; Ushijima és mts., 1998; Iqic és Kohn, 2001; Sutherland és mts., 2008). Az egyes fajok kialakulásának, vagyis a közös őstől való elválásának pillanatától kezdve a transzspecifikus allélok szekvenciájában egymástól függetlenül, az egyes fajokban eltérő változások mehetnek végbe, melyek mértéke arányos a fajok szétválása óta eltelt idő hosszával. Ugyanazon S -RN-áz allél jelenléte két fajban azonban az introgresszió következménye is lehet, ami a *P. laurocerasus* esetében szinte biztosan kizárható, hiszen a dokozaploid faj diploid vagy tetraploid fajjal történő kereszteződése a ploidiszt drámai megváltozását idézné elő. Sutherland és mts. (2008) a transzspecifikus allélok fehérjeszekvenciáinak azonosságát 96–100% közé tették, míg a többi allélhoz viszonyított azonosság 71–85% volt. Azóta az elmúlt 15 évben számos faj újabb allélszekvenciája vált ismertté,

ami tovább segítheti az evolúciós kapcsolatok részletesebb jellemzését. A *Plau-S₁-S₉*, *S₁₁-S₁₃*, *S₁₅*, *S₁₇* és *S₁₉* allélok a legközelebbi homológjaikkal transzspecifikusnak bizonyultak. Az intronszekvenciák között nagyobb különbségeket tapasztaltunk, mint az AS sorrendben. A 2. intronrégió szekvenciája 94%-nál kisebb mértékű azonosságot mutatott a *Plau-S₂*, *S₅*, *S₆*, *S₇*, *S₉*, *S₁₂*, *S₁₅*, *S₁₇* és *S₁₉* és legközelebbi homológjaik között. A különbségek főként indel és néhány nukleotidcserét jelentettek, de a nem kódoló régiók mentesek a tisztító szelekció hatásától, így a szekvenciaváltozások gyorsabban megjelenhetnek ezekben a régiókban (Patthy, 2008).

Az RHV régióban előforduló mutációk eltérő allélspecifitásra utalnak a különböző allélok között (Matton és mts., 1997; Ushijima és mts., 1998). Az ilyen jelenség a transzspecifitás esélyét csökkenti (pl. *Plau-S₄* és *Pvirg-S₂*), bár a mutációk a fajok szétválását követően is kialakulhattak. Ugyanakkor az tény, hogy a *P. virginiana* szintén a fürtvirágzatúak csoportjába tartozik, mint ahogyan a *P. laurocerasus* is, így a filogenetikai fán is egymással közelebbi pozícióba kellene kerülniük, mint a magányos virágúak csoportjába tartozó bármely faj szekvenciájával. Ezek a jelenségek is informatívak lehetnek a transzspecifikus eredetű allélok azonosításakor.

A legtöbb AS-csere (43%) az RC4 és C5 között következett be, ezt követi a C3 és RC4 közti szakasz (18%), majd az RHV (16%). Ezek a régiók megfeleltethetők a Malinae altribus PS3, PS2 és PS1 *S-RN-áz* régióinak, ahol a pozitív szelekció kimutatható és az allélspecifitás kialakulásában fontos szerepük van (Ishimizu és mts., 1998). Az RHV régióról írták le elsőként, hogy az allélspecifikus jelleg kialakításáért felelős (Ushijima és mts., 1998), majd transzgenikus *Solanum chacoense* növényekkel bizonyították (Matton és mts., 1997). Amennyiben az allélok közös eredetűek és az AS-cserék ezt a régiót érintik, akkor az allélspecifitás megváltozik. Emiatt nagyon érdekes az a tény, hogy a C3-RC4 szakaszon valamelyest nagyobb számban fordulnak elő mutációk az RHV-hez képest. Mindemellett a legnagyobb gyakoriság (43%-os) az RC4-C5 régiók között adódott. Ebben a régióban található egy jelentős méretű indel, melynek nagysága 6-25 AS között változik az újonnan azonosított babérmeggy *S-RN-áz*ok esetében. Ez a szakasz a 3D fehérjeszerkezetben egy hurok (loop) képződését idézi elő (Fernandez i Martí és mts., 2012), ami általában eltűri az indelek előfordulását (Patthy, 2008). Ilyen indel események gyakoriak lehetnek a gén ezen szakaszán, mert nem hat rájuk a tisztító szelekció. Ráadásul a régiónak megfeleltethető PS3 a Malinae altribusban pozitív szelekció alatt áll, ami a régió allélspecifitásában betöltött szerepére utal. Ezt Ortega és mts. (2006) is alátámasztották, amikor a 10 AS különbségből hatot ebben a régióban azonosítottak a mandula *S₁₁*- és *S₂₄*-allélokknál. A nem konzervatív AS-cserék a legnagyobb mértékben az RHV régióban (50%), majd az RC4-C5 (33%) és C3-RC4 (28%) régiókban fordultak elő. Összesen 88 *Prunus S-RN-áz* szekvencia vizsgálata során Vieira és mts. (2007) 28 AS pozíciót határoztak meg, melyekre pozitív szelekció hat, ezek közül a legtöbb (9) az RC4-C5, majd ezt követően 5 a C3-RC4 és 4 az RHV régiókban fordult elő. Eredményeink is alátámasztják, hogy a C5 régiótól N-terminális felőli irányban található fehérjerész is hozzájárul a *Prunus S-RN-áz* gén allélspecifitásához.

Eredményeink a babérmeggy *S*-allél-rendszerére vonatkozó első információt jelentik. Adataink közvetlenül felhasználhatók lesznek a tömegtermesztésre szánt új fajták előállítását célzó nemesítési programokban, valamint értékes forrást adnak a faj és a nemzetség evolúciós történetének minél részletesebb feltáráshoz, különösen a kevésbé tanulmányozott fürtvirágzatúak csoportjára vonatkozóan. Egy gyümölcsfaj *S*-lókuszáról megállapított első információk minden esetben kiemelt jelentőségűek, melynek értékét tovább emeli a babérmeggy poliploid jellege. Az extrém poliploid faj vizsgálata segíthet jobban megérteni a *Prunus* fajok *S*-lókuszának működését is.

7. KÖVETKEZTETÉSEK

7.1. Gyakorlati hasznosulás

A csonthéjas gyümölcsfajták termékenyülési rendszerét irányító *S*-lókusz minél alaposabb megismerése közvetlenül a gyakorlatban felhasználható eredménnyel jár. A molekuláris vizsgálatok adatai ma már szinte az összes önmeddő gyümölcsfaj esetében a fajtaleírások részét képezik, amit ültetvények létesítésekor megbízható információként kezelnek a gyakorlatban. A nemesítési folyamat során az öntermékenyülési képességet kimutató molekuláris markerek használatával a célzott tulajdonságot hordozó magoncok kiválogathatók, a szelekció sokkal hatékonyabbá tehető. Mind diploid, mind a poliploid fajok esetében a keresztezési partnerek *S*-genotípusának ismerete előre vetíti az utódpopuláció hasadási arányait.

A dolgozatomban tárgyalt minden faj esetében kaptunk arról visszajelzést, hogy eredményeinket már hasznosítják a gyakorlatban. Az egyik legnevesebb kaliforniai mandulanemesítő műhely, az USDA Agricultural Research Service (Parlier) képviselőjében Dr. Craig Ledbetter felkérésére az intézet 10 új fajtajelöltjének *S*-genotípusát mi határoztuk meg. Azóta 2021-ben új ÖT fajtaként fogadták el a ‘Yorizane’ (Gold Nut™) hibridet, melynek fajtaleírásában már szerepel az *S*-allél-összetétele (Ledbetter, 2021). Ennek alapján a részlegesen inkompatibilis (egy közös inkompatibilitási allélt hordozó) megporzó fajták is elkerülhetők az ültetvényekben, így a pollenszemek 100%-a genetikailag kompatibilis lesz, ami tovább fokozhatja a termékenyülést.

A gyümölcsfajták forgalmazásával és marketingjével foglalkozó Artevos német cég számára szintén teszteltünk mandulafajtákat az *S_F*-allél kimutatása érdekében, illetve meggy fajtajelölteket is az inter-inkompatibilitás megállapításához. Több magyarországi kajszi termesztőnek bocsájtottuk rendelkezésére az újonnan forgalomba kerülő nemzetközi fajták *S*-genotípusát a hazai ültetvényszerkezet tervezéséhez, illetve szaktanácsot nyújtottunk a potenciális porzópartnerek kijelöléséhez olyan esetekben, amikor a termesztő a külföldi faiskolából beszerzett, felületesen megismert fajtát nagy területen eltelepítve néhány év elteltével egy gyönyörűen virágzó, de alig termő ültetvényben találta magát. A *Journal of Visualized Experiments* folyóiratban 2020-ban megjelent kajszi termékenyülési vizsgálatokat összefoglaló, nemzetközileg egységes protokoll az általunk tervezett és optimalizált primereket ajánlja a genetikai analízishez (Herrera és mts., 2020). Egy hazai meggy nemesítési program 2017 óta megjelenő összes fajtajelöltjét vizsgáltuk és *S*-genotípusukat, inter-inkompatibilitásukat meghatároztuk. Az észak-kelet magyarországi régióban vadon előforduló Nemptudom szilvaegyedek fajtaazonossága nem minden esetben volt meggyőző, ennek tisztázását az *S*-allél-összetételük meghatározásával segítettük. A babérmeggy egyedekről származó adatainkat egy török gyümölcsnemesítési programban használják. A témában megjelent magyar nyelvű ismeretterjesztő cikkeinket a termesztők tájékoztatására szántuk, egy angol nyelvű virágzásbiológiai szakkönyvbe írt, a gyümölcsfák önmeddőségének molekuláris biológiai hátterét és ennek gyakorlati alkalmazását áttekintő fejezeteinket nemzetközi PhD programokban tankönyvként használják.

7.2. Hozzájárulás a csonthéjas gyümölcsfajok genetikai alapjainak megismeréséhez

Gazdasági jelentőségén túlmenően az inkompatibilitásért felelős gének elemzése számos alapvető információval gazdagította a gyümölcsfákkal kapcsolatos genetikai ismereteinket. Az öntermékenyülés megjelenése legtöbb esetben az *S*-lókuszban bekövetkezett mutáció(k)nak volt köszönhető. Az öntermékenyülő fenotípus megjelenése a termesztés során kiválasztott fajták népszerűségére éppúgy döntő hatással volt mindegyik faj esetében, ahogy a faj kultúrevolúcióját is befolyásolta. A diploid fajoknál bekövetkező mutáció a fenotípusra közvetlenül hat, míg a poliploidoknál egy ideig latens módon van jelen, így az eltérő ploidszintű növényeknél másképpen formálta a termesztett faj genetikai alapjait az öntermékenyülést kialakító mutáció megjelenése. Nemcsak a ploidszint, hanem az öntermékenyülési képesség kialakulásának időbelisége is alapvető változásokat eredményezett. A mandulánál evolúciós időben mérve újnak számító

tulajdonság miatt még nem következhetett be palacknyak-effektus, hiszen a homozigótáság növekedésével a beltenyésztéses leromlás további gátat képez. Mandula esetében csak a humán szelekció hatása eredményezett kismértékű változást a faj genetikai hátterében.

A kajszi öntermékenyülési képessége azonban sokkal régebben alakult ki, feltehetően Törökország középső, kontinentális éghajlatú területein, ahol egy általunk elsőként azonosított transzpozon ugrásának köszönhetően jött létre. Szerencsés véletlen, hogy a kialakulásához közeli régiókba átjutva olyan környezeti tényezők közé került az új képességet eredményező, mutáns allél, mely szelekciós előnyt jelentett az azt hordozó egyedek számára. Csodálatos felismerni, hogy az őszibarack faj kialakulása mögött feltehetően ugyanilyen molekuláris változások álltak.

Munkahelyem jogelőd intézményének, a Magyar Királyi Kertészeti Tanintézet legendás professzorának, Mohácsy Mátyásnak a közel 70 éves sorai a tudományos igazság újabb és újabb rétegeit tárják fel napjainkban a molekuláris genetika szédítő fejlődésével: „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.” Eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy a termékenyülési fenotípus megváltozása egyaránt mélyreható következményekkel jár a gyümölcsfák termesztésére, nemesítésére és genetikai alapjainak alakulására vonatkozóan. Ezek a kutatások szerepet játszanak a különböző molekuláris hálózatok feltárásában és a kultúrnövények evolúciós kapcsolatainak feltérképezésében is. Munkám során mindig örömet jelentett, hogy az ültetvényben jelentkező problémák közvetlen, gyakorlati megoldásától a ma ismert gyümölcsfajok kialakulását irányító folyamatok megértéséig vezetett ez a kalandos utazás. Olyan titkokra pillanthattunk rá elsőként, amelyek feltárását munkánk kezdetekor nem is remélhettük.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Öt új, természetesen előforduló *S-RN-áz* allélt azonosítottunk (S_{31H} , S_{36-S39}), jellemeztük exon-intron szerkezetüket, melynek alapján kimutatásukhoz specifikus markert dolgoztunk ki.
2. Meghatároztuk 32 kelet-európai és kaliforniai mandulafajta, illetve nemesítési alapanyag *S*-genotípusát, leírtunk három új inter-inkompatibilitási csoportot (XXI, XXII és XXVIII).
3. Igazoltuk, hogy a kajszii öntermékenyülését előidéző *SFB_C*-allél törökországi gyakorisága keletről nyugati irányba növekszik, kialakulásának legvalószínűbb területe Közép-Törökország.
4. Török és tunéziai fajták *S*-genotípusának meghatározását követően a kajszii inter-inkompatibilitási csoportjainak számát jelentős mértékben, 15-tel bővítettük (az általunk leírt új III–XVII. CIG csoportok megalkotásával).
5. Az *S*-lókusz vizsgálatával megállapítottuk, hogy az észak-afrikai országokban természetesen kajszii genetikai variabilitása felülmúlja az európai fajtakör variabilitását, amit az elterjedési útvonalukon és jelenlegi termőhelyükön megnyilvánuló eltérő szelekciós hatások eredményeztek.
6. SSR és *S*-lókusz alapú molekuláris markerezési adatokkal igazoltuk, hogy kajszii esetében a genetikai variabilitás csökkenésének fő oka az öntermékenyülési képesség megjelenése volt (pl. marokkói oázisok, Európa). A genetikai diverzitás csökkenése arányos azzal a relatív időtartammal, ami az öntermékenyülés kialakulását követően eltelt. A mandula esetében, ahol az első öntermékenyülés mindössze néhány évtizede ismert, a mandula genetikai sokféleségének eróziója más tényezőkre (pl. a kiváló tulajdonságú szülőnövények többszöri felhasználása, alapító hatás) vezethető vissza.
7. Azonosítottunk egy új, öntermékenyülést előidéző kajszii *S*-allélt (*SFB_{C2}*). Igazoltuk, hogy a kajszii *SFB_C*- és *SFB_{C2}*-haplotípusok funkcióvesztését egy *Prunus*-specifikus, *Mutator* szupercsaládba tartozó, nem-autonóm DNS-transzpozon inszerciója okozza, melyet elsőként írtunk le, jellemeztük a szerkezetét és *Falling Stones (FaSt)* névvel jelöltünk. A *FaSt*-elem az AT-motívumokban gazdag eukromatin régiókban nagy számban fordul elő, közelmúltbeli aktivitását szekvencia alapú és filogenetikai elemzéssel bizonyítottuk.
8. Meggy esetében meghatároztuk az *S-RN-áz* gén első intronrégióját jellemző méreteket, amivel növelhető a meggy által hordozott cseresznye- és csepleszmeggy-eredetű *S*-allélok azonosításának megbízhatósága, így csökkenthető a diagnosztikai eljárás idő- és költségigénye.
9. Összesen 10 különböző *S*-haplotípust ($S_1, S_4, S_6, S_9, S_{12}, S_{13}, S_{14}, S_{26}, S_{35}$ és S_{36}) vagy ezek funkcióképtelen változatait azonosítottuk 26 korábban nem vizsgált magyar meggyfajta és néhány szelektált klón *S*-allél-készletének meghatározásával. Megállapítottuk, hogy a gyümölcs festőlevősége nem alkalmas a fajta rokon kapcsolatainak feltárására.
10. Azonosítottunk egy közös *S-RN-áz* allélt (S_{18}) a Nemtudom és Besztercei szilva genotípusában, melyet korábban kökényfajtákban is kimutattunk. Igazoltuk, hogy az északkelet-magyarországi régióban vadon növe Nemtudom szilva állományait kismértékű genetikai variabilitás jellemzi, ami indokolja a közelmúltban megkezdett szelekciós nemesítési programok folytatását.
11. Az extrém poliploid *Prunus laurocerasus* L. ($2n=22x$) faj esetében elsőként azonosítottunk 23 *S-RN-áz* allélt ($S_1-S_{20}, S_{5m}, S_{13m}$, és S_{18m}), melyek szekvenciáit a C2-C5 régióban meghatároztuk. A 20 funkcióképes allél mellett három funkcióképtelen allélt jellemeztünk, eredményeink közvetett módon alátámasztják a tetraploid meggy öntermékenyülését meghatározó modell működését más ploid szintű fajok esetében is.

Az új tudományos eredmények alapját az alábbi lektorált folyóiratcikkek képezik:

I. MANDULA

1. **Halász, J.**, Fodor, Á., Hegedűs, A., Pedryc, A. (2008): Identification of a new self-incompatibility allele (S_{31}) in a Hungarian almond cultivar and its reliable detection. *Scientia Horticulturae*, 116(4), 448–451. **Q1 IF 0,859**
2. **Halász, J.**, Fodor, A., Pedryc, A., Hegedűs, A. (2010): *S*-genotyping of Eastern European almond cultivars: identification and characterization of new (S_{36} – S_{39}) self-incompatibility ribonuclease alleles. *Plant Breeding*, 129(2), 227–232. **Q1 IF 1,391**
3. Mercure, E., **Halász, J.**, Hegedűs, A., Ledbetter, C. (2013): Yield, pollination aspects and kernel qualities of almond (*Prunus dulcis*) selections trialed in the southern San Joaquin valley. *Journal of the American Pomological Society*, 67(3), 126–136. **IF 0,2**
4. **Halász, J.**, Kodad, O., Galiba, G. M., Skola, I., Ercisli, S., Ledbetter, C. A., Hegedűs, A. (2019): Genetic variability is preserved among strongly differentiated and geographically diverse almond germplasm: an assessment by simple sequence repeat markers. *Tree Genetics and Genomes*, 15(1), 1–13. **D1 IF 2,081**

II. KAJSZI

5. **Halász, J.**, Pedryc, A., Ercisli, S., Yilmaz, K. U., Hegedűs, A. (2010): *S*-genotyping supports the genetic relationships between Turkish and Hungarian apricot germplasm. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 135(5), 410–417. **Q1 IF 0,905**
6. **Halász, J.**, Hegedűs, A., Szikriszt, B., Ercişli, S., Orhan, E., Ünlü, H. M. (2013): The *S*-genotyping of wild-grown apricots reveals only self-incompatible accessions in the Erzincan region of Turkey. *Turkish Journal of Biology*, 37(6), 733–740. **Q2 IF 1,216**
7. Kodad, O., Hegedűs, A., **Halász, J.** (2013): Self-(in) compatibility genotypes of Moroccan apricots indicate differences and similarities in the crop history of European and North African apricot germplasm. *BMC Plant Biology*, 13(1), 1–11. **D1 IF 3,942**
8. Lachkar, A., Fattouch, S., Ghazouani, T., **Halász, J.**, Pedryc, A., Hegedűs, A., Mars, M. (2013): Identification of self-(in) compatibility *S*-alleles and new cross-incompatibility groups in Tunisian apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 88(4), 497–501. **Q2 IF 0,509**
9. Kodad, O., **Halász, J.**, Hegedűs, A., Messaoudi, Z., Pedryc, A., Socias i Company, R. (2013): Self-(in)compatibility and fruit set in 19 local Moroccan apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 88(4), 457–461. **Q2 IF 0,509**
10. **Halász, J.**, Kodad, O., Hegedűs, A. (2014): Identification of a recently active *Prunus*-specific non-autonomous Mutator element with considerable genome shaping force. *The Plant Journal*, 79(2), 220–231. **D1 IF 5,972**

III. MEGGY

11. **Halász, J.**, Balogh, E., Makovics-Zsohár, N., Hegedűs, A. (2019): *S*-genotyping of Hungarian sour cherry cultivars. *Acta Horticulturae* 1231, 161–166.
12. Hrotkó, K., Feng, Y., **Halász, J.** (2020): Spontaneous hybrids of *Prunus fruticosa* Pall. in Hungary. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 67(2), 489–502. **Q2 IF 1,071**

IV. HÁZI SZILVA

13. **Halász, J.**, Szendy, G., Ivanovska, B., Tóth, E.Gy., Hegedűs, A. (2023): The self-incompatibility locus and chloroplast DNA regions of *Prunus domestica* reflect the origin and genetic diversity of traditional cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 148(5):230–239. **Q1 IF 1,9**

V. BABÉRMEGGY

14. **Halász, J.**, Molnár, A. B., Ilhan, G., Ercisli, S., Hegedűs, A. (2021): Identification and molecular analysis of putative self-incompatibility ribonuclease alleles in an extreme polyploid species, *Prunus laurocerasus* L. *Frontiers in Plant Science*, 12, 715414. **D1 IF 6,627**

MELLÉKLETEK

1. melléklet: A vizsgált török kajszifajták a származási helye, a gyümölcs érési ideje, a héjszín, a húskeménység, a méret, a felhasználási cél, a termékenyülési típus, valamint az általunk meghatározott *S*-genotípus bemutatása

Szám	Fajtanév	Származási tartomány	Érési idő	Héjszín	Húskeménység	Gyümölcsméret	Felhasználás	Termékenyülési típus	<i>S</i> -genotípus
1	Adilcevaz 1	Bitlis	közepes	sárga	kemény	apró	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₈ <i>S</i> ₁₉
2	Adilcevaz 3	Bitlis	közepes	sárga	kemény	közepes	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₁₃ <i>S</i> ₁₉
3	Adilcevaz 5	Bitlis	közepes	sárga	igen kemény	közepes	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₉ <i>S</i> ₁₃
4	Agerik	Igdir	közepes	fehér	kemény	nagy	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₇ <i>S</i> ₁₃
5	Akcadag Günay	Malatya	közepes	sárga	kemény	apró	aszalás	ÖM	<i>S</i> ₃ <i>S</i> ₉
6	Alioglu 49	ismeretlen	közepes	sárga	közepes	közepes	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₈ <i>S</i> ₁₂
7	Alyanak	Izmir	közepes	sárga	kemény	nagy	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₂ <i>S</i> ₈
8	Artvin P.A	Artvin	közepes	sárga	puha	közepes	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₂ <i>S</i> ₇
9	Canakkale	Canakkale	közepes	sárga	kemény	közepes	frissfogyasztás	ÖT	<i>S</i> _C <i>S</i> _C
10	Cataloglu	Malatya	közepes	sárga	közepes	közepes	aszalás	ÖM	<i>S</i> ₆ <i>S</i> ₉
11	Cekirge 52	Bursa	közepes	halvány narancs	kemény	közepes	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₉ <i>S</i> ₂₀
12	Cigli	Izmir	közepes	sárga	kemény	apró	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₇ <i>S</i> ₁₉
13	Cologlu	Malatya	közepes	sárga	kemény	apró	aszalás	ÖM	<i>S</i> ₈ <i>S</i> ₉
14	Dörtyol 2	Hatay	közepes	sárga	közepes	közepes	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₉
15	Dörtyoln 4	Hatay	közepes	halvány narancs	puha	közepes	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₂ <i>S</i> ₁₉
16	Ethembey	Edirne	közepes	halvány narancs	kemény	közepes	frissfogyasztás	ÖT	<i>S</i> _C <i>S</i> ₈
17	Gec Aprikoz	Igdir	közepes	sárga	kemény	nagy	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₆ <i>S</i> ₁₁
18	Güz Aprikozu	Malatya	késői	sárga	közepes	nagy	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₆
19	Haci Haliloglu	Malatya	közepes	sárga	kemény	közepes	aszalás	ÖM	<i>S</i> ₉ <i>S</i> ₁₃
20	Hacikiz	Malatya	közepes	sárga	igen kemény	közepes	aszalás	ÖM	<i>S</i> ₆ <i>S</i> ₈
21	Hasanbey	Malatya	közepes	sárga	igen kemény	közepes	friss és aszalás	ÖM	<i>S</i> ₂ <i>S</i> ₉
22	Imrahor	Izmir	közepes	sárga	közepes	közepes	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₃
23	Iri Bitirgen	Tekirdag	közepes	halvány narancs	közepes	közepes	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₂ <i>S</i> ₆
24	Ismailaga	Malatya	közepes	sárga	kemény	közepes	aszalás	ÖM	<i>S</i> ₉ <i>S</i> ₁₁
25	Kabaasi	Malatya	közepes	sárga	kemény	közepes	aszalás	ÖM	<i>S</i> ₉ <i>S</i> ₁₃
26	Kadioglu	Malatya	közepes	narancssárga	közepes	apró	aszalás	ÖM	<i>S</i> ₈ <i>S</i> ₉
27	Kamelya	Izmir	közepes	halvány narancs	kemény	közepes	frissfogyasztás	ÖM	<i>S</i> ₉ <i>S</i> ₁₃

Szám	Fajtanév	Származási tartomány	Érés idő	Héjszín	Húskeménység	Gyümölcsméret	Felhasználás	Termékenyülési típus	S-genotípus
28	Karacabey	Bursa	közepes	narancssárga	igen kemény	közepes	frissfogyasztás	ÖT	S _C S ₂
29	Kayisi Erigi	Nigde	közepes	sárga	kemény	közepes	frissfogyasztás	ÖM	S ₁₁ S _{plum} ¹
30	Kayseri P.A	Kayseri	közepes	sárga	igen kemény	apró	frissfogyasztás	ÖM	S ₃ S ₈
31	Kurukabuk	Malatya	közepes	halvány narancs	közepes	közepes	aszalás	ÖM	S ₇ S ₉
32	Levent	Malatya	igen késői	sárga	közepes	közepes	frissfogyasztás	ÖM	S ₆ S ₁₉
33	Mahmudun Erigi	Erzincan	közepes	sárga	igen kemény	közepes	frissfogyasztás	ÖM	S ₁₃
34	Mektep	Izmir	közepes	sárga	közepes	közepes	frissfogyasztás	ÖT	S _C S ₈
35	No 1 Zerdali	Van	közepes	sárga	puha	közepes	frissfogyasztás	ÖM	S ₆ S ₁₂
36	No 2 Zerdali	Konya	közepes	sárga	közepes	közepes	frissfogyasztás	ÖM	S ₉ S ₁₃
37	Ordubat	Igdir	közepes	sárga	igen puha	apró	aszalás	ÖM	S ₇ S ₁₂
38	Ozal saglam	Malatya	igen késői	sárga	puha	apró	frissfogyasztás	ÖM	S ₆ S ₉
39	Pasa Mismisi	Malatya	közepes	sárga	közepes	nagy	aszalás	ÖT	S _C S ₈
40	Sakit 1	Hatay	közepes	sárga	közepes	közepes	frissfogyasztás	ÖM	S ₆ S ₁₉
41	Sakit 3	Hatay	közepes	halvány narancs	puha	közepes	frissfogyasztás	ÖM	S ₃ S ₁₉
42	Salak (Aprikoz)	Igdir	közepes	sárga	puha	közepes	frissfogyasztás	ÖM	S ₁₁ S ₁₃
43	Sam	Izmir	közepes	sárga	puha	közepes	frissfogyasztás	ÖT	S _C S ₂
44	Sebbiyiki	Malatya	közepes	sárga	kemény	közepes	aszalás	ÖM	S ₂ S ₁₉
45	Seftalioglu	Malatya	közepes	sárga	kemény	közepes	aszalás	ÖM	S ₈ S ₉
46	Sekerpare	Erzincan	közepes	sárga	puha	közepes	aszalás	ÖM	S ₃ S ₆
47	Soganci	Malatya	közepes	sárga	igen kemény	közepes	aszalás	ÖM	S ₆ S ₉
48	Tokaloglu izmir	Izmir	közepes	halvány narancs	közepes	közepes	frissfogyasztás	ÖM	S ₃ S ₁₉
49	Turfanda Izmir	Izmir	korai	sárga	közepes	közepes	frissfogyasztás	ÖM	S ₇ S ₈
50	X1 Zerdali	Malatya	közepes	sárga	kemény	közepes	frissfogyasztás	ÖM	S ₆ S ₁₂
51	X2 Zerdali	Malatya	közepes	sárga	kemény	apró	frissfogyasztás	ÖM	S ₇ S ₁₂
52	X3 Zerdali	Malatya	közepes	sárga	kemény	apró	frissfogyasztás	ÖM	S ₉ S ₂₀
53	Yegen	Malatya	közepes	halvány narancs	igen puha	közepes	aszalás	ÖM	S ₈ S ₁₁
54	Yerli	Izmir	közepes	sárga	közepes	közepes	frissfogyasztás	ÖT	S _C S ₇
55	Ziraat Okulu	Malatya	közepes	sárga	közepes	nagy	frissfogyasztás	ÖM	S ₂ S ₈

A termékenyülési típus szabadföldi irányított öntermékenyítésből származó gyümölcskötődési arány alapján öntermékenyülő (ÖT) vagy önmeddő (ÖM) (Gülcan és mts., 2006).

¹*P. salicina* eredetű allél (plum)

2. melléklet: A marokkói kajszi genotípusok jelölése, származási helye, az *S-RN-áz* gén 1. és 2. intronrégiójának PCR-rel amplifikált fragmentumméretei, az *SFB_C*- és *SFB₈*-allélok specifikus kimutatása és az *S*-genotípusok felsorolása

Sorszám	Mintanév	Előfordulás	1. intron (bp) ¹	2. intron (bp) ²	<i>S_C/S₈-RN-áz</i>	<i>SFB_{C/8}</i>	<i>S</i> -genotípus
1	Armed-22	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
2	Armed-20	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
3	Armed-6	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
4	Armed-5	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
5	Armed-16	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
6	Armed-15	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
7	Armed-18	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
8	Tighnit-11	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
9	Tighnit-19	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
10	Tighnit-7	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
11	Tighnit-8	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
12	Tighnit-13	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
13	Tighnit-4	Agdz	355	950, –	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS₂</i>
14	Tighnit-14	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
15	Tighnit-1	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
16	Tighnit-20	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
17	Tighnit-16	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
18	Tighnit-5	Agdz	223, 332	950, –	–	–	<i>S₂S₂₀</i>
19	Armed-11	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
20	Tighnit-6	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
21	Tighnit-2	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
22	Tighnit-18	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
23	Tighnit-15	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
24	Tighnit-21	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
25	Tighnit-12	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
26	Tighnit-3	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
27	Tighnit-23	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
28	Tighnit-17	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
29	Tighnit-9	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
30	Tighnit-22	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
31	Tighnit	Agdz	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
32	Rich-2	Atlasz-hegys.	305, 401	750, 1500	–	–	<i>S₇S₁₁</i>
33	Rich-1	Atlasz-hegys.	289, 305	1350, 1500	–	–	<i>S₁₁S₁₃</i>
34	Rich	Atlasz-hegys.	332, 379	950, 1350	–	–	<i>S₂S₁₃</i>
35	Lahcoun-2	Skoura	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>

Sorszám	Mintanév	Előfordulás	1. intron (bp)1	2. intron (bp)2	<i>Sc/S8-RN-áz</i>	<i>SFB_{C/8}</i>	<i>S</i> -genotípus
36	Lahcoun-1	Skoura	355	2800	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
37	Skoura-5	Skoura	355	–	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
38	Skoura-4	Skoura	355	–	+	<i>S_C</i>	<i>S_CS_C</i>
39	Ait-Lahcen-7	Kelaat M’Gouna	305, 401	750, 1500	–	–	<i>S₇S₁₁</i>
40	Ait-Lahcen-6	Kelaat M’Gouna	223, –	–, 1350	–	–	<i>S₁₃S₂₀</i>
41	Ait-Lahcen-3	Kelaat M’Gouna	355, 401	2800, 750	+	<i>S₈</i>	<i>S₇S₈</i>
42	Ait-Lahcen-4	Kelaat M’Gouna	289, 305	1350, 1500	–	–	<i>S₁₁S₁₃</i>
43	Ait-Lahcen-2	Kelaat M’Gouna	305, 401	750, 1500	–	–	<i>S₇S₁₁</i>
44	Ait-Lahcen-1	Kelaat M’Gouna	332, 379	950, 1350	–	–	<i>S₂S₁₃</i>
45	Ait-Lahcen-5	Kelaat M’Gouna	223, 305	–, 1500	–	–	<i>S₁₁S₂₀</i>
46	Ait-Talat-3	Kelaat M’Gouna	306, 332	950, 1500	–	–	<i>S₂S₁₁</i>
47	Ait-Talat-1	Kelaat M’Gouna	379, 401	1350, 750	–	–	<i>S₇S₁₃</i>
48	Ait-Talat-5	Kelaat M’Gouna	379, 401	1350, 750	–	–	<i>S₇S₁₃</i>
49	Gulmim-2	Gulmima	223, 355	–, 2800	+	<i>S₈</i>	<i>S₈S₂₀</i>
50	Gulmim-5	Gulmima	223, 306	–, 1500	–	–	<i>S₁₁S₂₀</i>
51	Gulmim-8	Gulmima	424, 401	1300, 750	–	–	<i>S₆S₇</i>
52	Gulmim-3	Gulmima	355, 379	–, 1350	+	<i>S_C</i>	<i>ScS₁₃</i>
53	Gulmim-7	Gulmima	355, 379	–, 1350	+	<i>S_C</i>	<i>ScS₁₃</i>
54	Gulmim-1	Gulmima	355, 223	–	+	<i>S_C</i>	<i>ScS₂₀</i>
55	Gulmim-4	Gulmima	332, 401	950, 750	–	–	<i>S₂S₇</i>

¹ Az amplikonok fluoreszcens jelölését követően automata szekvenátorral meghatározott értékek

² Agarózgél-elektroforézist követően becsült fragmentumméret

IRODALOMJEYZÉK

1. Abdallah, D., Baraket, G., Perez, V., Ben Mustapha, S., Salhi-Hannachi, A., Hormaza, J.I. (2019): Analysis of self-incompatibility and genetic diversity in diploid and hexaploid plum genotypes. *Front. Plant Sci.*, 10: 896.
2. Abdallah, D., Baraket, G., Perez, V., Salhi Hannachi, A., Hormaza, J.I. (2020): Self-compatibility in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: patterns of diversity surrounding the *S*-locus and analysis of *SFB* alleles. *Hortic. Res.*, 7: 170.
3. Abrankó, L., Nagy, Á., Szilvássy, B., Stefanovits-Bányai, É., Hegedűs, A. (2015): Genistein isoflavone glycoconjugates in sour cherry (*Prunus cerasus* L.) cultivars. *Food Chem.*, 166: 215–222.
4. 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. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.*, 78: 402–409.
5. Ádám, V., Dux, L., Faragó, A., Fésüs, L., Machovich, R., Mandl, J., Sümegi, B. (2002): Fehérjeszintézis: a transláció mechanizmusa és a polipeptidlánc további sorsa. In: Ádám V (szerk.), *Orvosi Biokémia. Medicina Könyvkiadó Rt, Budapest.*
6. Aguiar, B., Vieira, J., Cunha, A.E., Fonseca, N.A., Iezzoni, A., van Nocker, S., Vieira, C.P. (2015): Convergent evolution at the gametophytic self-incompatibility system in *Malus* and *Prunus*. *PloS One*, 10(5): e0126138.
7. Akagi, T., Henry, I.M., Morimoto, T., Tao, R. (2016): Insights into the *Prunus*-specific *S*-RNase-based self-incompatibility system from a genome-wide analysis of the evolutionary radiation of *S* locus-related *F-box* genes. *Plant Cell Physiol.*, 57(6): 1281–1294.
8. Akbulut, M., Macit, I., Ercisli, S., Koc, A. (2007): Evaluation of 28 cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) genotypes in the Black Sea region, Turkey. *New Zeal. J. Crop Hort.*, 35: 463–465.
9. Albuquerque, N., Egea, J., Pérez-Tornero, O., Burgos, L. (2002): Genotyping apricot cultivars for self-(in)compatibility by means of RNases associated with *S* alleles. *Plant Breed.*, 121: 343–347.
10. Alioto, T., Alexiou, K.G., Bardil, A., Barteri, F., Castanera, R., Cruz, F., Arús, P. (2020): Transposons played a major role in the diversification between the closely related almond and peach genomes: results from the almond genome sequence. *The Plant Journal*, 101(2): 455–472.
11. Allen, A.M., Hiscock, S.J. (2008): Evolution and Phylogeny of Self-Incompatibility Systems in Angiosperms. In: *Self-incompatibility in flowering plants. Evolution, diversity, and mechanisms*, Springer Berlin, Heidelberg, eds. Franklin-Tong, V. E.
12. Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J. (1990): Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.*, 215: 403–410.
13. Anderson, J.A., Churchill, G.A., Autrique, J.E., Tanksley, S.D., Sorrells, M.E. (1993): Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36: 181–186.
14. Anderson, M.A., Cornish, E.C., Mau, S.L., Williams, E.G., Hoggart, R., Atkinson, A., Bonig, B., Grego, R., Simpson, P.J., Roche, J.D., Haley, J.D., Penschow, H.D., Niall, G.W., Tregear, J.P., Coghlan, R.J., Crawford, Clarke, A.E. (1986): Cloning of cDNA for a stylar glycoprotein associated with expression of self-incompatibility in *Nicotiana glauca*. *Nature*, 321(6065): 38–44.
15. Anderson, M.A., McFadden, G.I., Bernatzky, R., Atkinson, A., Orpin, T., Dedman, H., Clarke, A.E. (1989): Sequence variability of three alleles of the self-incompatibility gene of *Nicotiana glauca*. *The Plant Cell*, 1(5): 483–491.
16. Angyal D. (1925): Gyümölcsstermesztés. Pátria, Budapest.
17. Apostol J. (2003): A fontosabb meggyfajták ismertetése. In: Hrotkó K. (Szerk.) *Csereesznye és meggy. Mezőgazda Kiadó. Budapest.* 74–95.
18. Apostol, J. (2001). New sweet cherry varieties and selections in Hungary. In IV International Cherry Symposium. *Acta Hort.*, 667: 59–64.
19. Aranzana, M.J., Garcia-Mas, J., Carbo, J., Arús, P. (2002): Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. *Plant Breed.*, 121: 87–92.
20. Ashkani, J., Rees, D.J.G. (2016): A comprehensive study of molecular evolution at the self-incompatibility locus of *Rosaceae*. *J. Mol. Evol.*, 82: 128–145.
21. Austin, P.T., Hewett, E.W., Noiton, D., Plummer, J.A. (1998): Self-incompatibility and temperature affect pollen tube growth in ‘Sundrop’ apricot (*Prunus armeniaca* L.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 73(3): 375–386.
22. Balogh, E., Halász, J., Soltész, A., Erős-Honti, Z., Guterth, Á., Szalay, L., Höhn, M., Vágújfalvy, A., Hegedűs, A. (2019): Identification, structural and functional characterization of dormancy regulator genes in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Frontiers in Plant Science*, 10, 402.
23. Baraket, G., Abdallah, D., Ben Mustapha, S., Ben Tamarzizt, H., Salhi-Hannachi, A. (2019): Combination of simple sequence repeat, *S*-locus polymorphism and phenotypic data for identification of Tunisian plum species (*Prunus* spp.). *Biochem.Genet.*, 57: 673–694.
24. Barrett, S. C. (2019): ‘A most complex marriage arrangement’: recent advances on heterostyly and unresolved questions. *New Phytol.*, 224(3): 1051–1067.
25. Bartolozzi, F., Warburton, M.L., Arulsekhar, S., Gradziel, T.M. (1998): Genetic characterization and relatedness among California almond cultivars and breeding lines detected by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 123: 381–387.
26. Beecher, B., McClure, B.A. (1999): Expressing self-incompatibility RNases (*S*-RNases) in transgenic plants. In: Schein CH, ed. *Nuclease methods and protocol*. Totowa, NJ: Humana, 65–85.
27. Ben-Njima, N., Socias i Company, R. (1995): Characterization of some self-compatible almonds. I. Pollen tube growth. *HortScience*, 30: 318–320.
28. Beppu, K., Komatsu, N., Yamane, H., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Tao, R., Kataoka, I. (2005): Se-haplotype confers self-compatibility in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 80(6): 760–764.
29. Beppu, K., Takemoto, Y., Yamane, H., Yaegaki, 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. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 78: 315–318.

30. Beppu, K., Yamane, H., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Kataoka, I., Tao, R. (2002): Diversity of *S*-RNase genes and *S*-haplotypes in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 77: 658–664.
31. Bertin, R.I., Newman, C.M. (1993): Dichogamy in angiosperms. *Bot. Rev.*, 59: 112–152.
32. Bittencourt Júnior, N.S. (2017): Evidence for post-zygotic self-incompatibility in *Handroanthus impetiginosus* (Bignoniaceae). *Plant Reprod.*, 30(2): 69–79.
33. Blanc, G., Wolfe, K.H. (2004): Functional divergence of duplicated genes formed by polyploidy during *Arabidopsis* evolution. *The Plant Cell*, 16(7): 1679–1691.
34. Bošković, R., Tobutt, K.R., Batlle, I., Duval, H. (1997): Correlation of ribonuclease zymograms and incompatibility genotypes in almond. *Euphytica*, 97: 167–176.
35. Bošković, R., Tobutt, K.R., Batlle, I., Duval, H., Martínez-Gómez, P., Gradziel, T.M. (2003): Styler ribonucleases in almond: correlation with and prediction of incompatibility genotypes. *Plant Breeding*, 122: 70–76.
36. Bošković, R., Tobutt, K.R., Duval, H., Batlle, I., Dicenta, F., Vargas, F.J. (1999): A styler ribonuclease assay to detect self-compatible seedlings in almond progenies. *Theor. Appl. Genet.*, 99: 800–810.
37. Bošković, R., Tobutt, K.R., Duval, H., Rovira, M., Romero, M., Batlle, I., Dicenta, F. (1998): Inheritance of styler ribonucleases in two almond progenies and their correlation with self-compatibility. *Acta Hort.*, 470: 118–122.
38. Bošković, R., Tobutt, K.R., Ortega, E., Sutherland, B.G., Godini, A. (2007): Self-(in)compatibility of almonds *P. dulcis* and *P. webbii*: detection and cloning of ‘wild-type *S_f*’ and new self-compatibility alleles encoding inactive *S*-RNases. *Mol. Genet. Genomics*, 278: 665–676.
39. Bošković, R., Tobutt, K.R. (1996): Correlation of styler ribonuclease zymograms with incompatibility alleles in sweet cherry. *Euphytica*, 90: 245–250.
40. Bošković, R., Tobutt, K.R., Schmidt, H., Sonneveld, T. (2000): Re-examination of (in) compatibility genotypes of two John Innes self-compatible sweet cherry selections. *Theor. Appl. Genet.*, 101: 234–240.
41. Borbola, I. (1942): Miért terméketlen a Pándy meggy? *Kertészeti Szemle*. XIV (4): 54–55.
42. Bortiri, E., Heuvel, B.V., Potter, D. (2006): Phylogenetic analysis of morphology in *Prunus* reveals extensive homoplasy. *Plant. Syst. Evol.*, 259: 53–71.
43. Boubakri, A., Krichen, L., Batnini, M.A., Trifi-Farah, N., Roch, G., Audergon, J.M., Bourguiba, H. (2021): Self-(in) compatibility analysis of apricot germplasm in Tunisia: *S*-RNase allele identification, *S*-genotype determination and crop history evolution. *Sci. Hortic.*, 276: 109758.
44. Bourguiba, H., Audergon, J.M., Krichen, L., Trifi-Farah, N., Mamouni, A., Trabelsi, S., D’Onofrio, C., Asma, B.M., Santoni, S., Khadari, B. (2012a): Loss of genetic diversity as a signature of apricot domestication and diffusion into the Mediterranean Basin. *BMC Plant. Biol.*, 12: 49.
45. Bourguiba, H., Audergon, J.M., Krichen, L., Trifi-Farah, N., Mamouni, A., Trabelsi, S., Khadari, K. (2012b): Genetic diversity and differentiation of grafted and seed propagated apricot (*Prunus armeniaca* L.) in the Maghreb region. *Sci. Hortic.*, 142: 7–13.
46. Bourguiba, H., Khadari, B., Krichen, L., Trifi-Farah, N., Mamouni, A., Trabelsi, S., Audergon, J.M. (2013): Genetic relationships between local North African apricot (*Prunus armeniaca* L.) germplasm and recently introduced varieties. *Sci. Hortic.*, 152: 61–69.
47. Brace, J., Ockendon, D.J., King, G.J. (1993): Development of a method for the identification of *S* alleles in *Brassica oleracea* based on digestion of PCR-amplified DNA with restriction endonucleases. *Sex. Plant Reprod.*, 6(2): 133–138.
48. Brace, J., Ryder, C.D., Ockendon, D.J. (1994): Identification of *S*-alleles in *Brassica oleracea*. *Euphytica*, 80, 229–234.
49. Braglia, L., Manca, A., Mastromauro, F., Breviario, D. (2010): cTBP: A successful intron length polymorphism (ILP)-based genotyping method targeted to well defined experimental needs. *Diversity*, 2(4): 572–585.
50. Bredemeijer, G.M.M., Blaas, J. (1981): *S*-specific proteins in styles of self-incompatible *Nicotiana glauca*. *Theor. Appl. Genet.*, 59(3): 185–190.
51. Brooks, R.M., Olmo, H.P. (1952): Register of new fruit and nut varieties, 2nd edn. University of California Press, Berkeley, California, pp 1–7.
52. Broothaerts, W., Janssens, G.A., Proost, P., Broekaert, W.F. (1995): cDNA cloning and molecular analysis of two self-incompatibility alleles from apple. *Plant. Mol. Biol.*, 27: 499–511.
53. Browicz, K., Zohary, D. (1996): The genus *Amygdalus* L. (Rosaceae): species relationships, distribution and evolution under domestication. *Genet. Resour. Crop Ev.* 43: 229–247.
54. Brown, S.K., Iezzoni, A.F., Fogie, H.W. (1996): Cherries. In: Janick J, Moore JN (eds) *Fruit breeding. Tree and tropical fruits*, vol 1. Wiley, New York, pp 213–255.
55. Brózik, S., Apostol, J. (2003): Államilag elismert fő árufajták. In: *Mandula* (Szerk.: Brózik, S., Kállay, T., Apostol, J.). Mezőgazda Kiadó, Budapest.
56. Brózik, S., Nyéki, J. (1975): Gyümölcsstermő növények termékenyülése. Mezőgazdasági Könyvkiadó, Budapest.
57. Bruvo, R., Michiels, N.K., D’Souza, T.G., Schulenburg, H. (2004): A simple method for the calculation of microsatellite genotype distances irrespective of ploidy level. *Mol. Ecol.*, 13(7): 2101–2106.
58. Burgos, L., Berenguer, T., Egea, J. (1993): Self- and cross-compatibility among apricot cultivars. *HortScience*, 28: 148–150.
59. Burgos, L., Egea, J., Guerriero, R., Viti, R., Monteleone, P., Audergon, J.M. (1997): The self-compatibility trait of the main apricot cultivars and new selections from breeding programmes. *J. Hortic. Sci.*, 72: 147–154.
60. Burgos, L., Pérez-Tornero, O. (1999): Review of self-incompatibility in apricot. *Acta Hort.*, 488: 267–273.
61. Burgos, L., Pérez-Tornero, O., Ballester, J., Olmos, E. (1998): Detection and inheritance of styler ribonucleases associated with incompatibility alleles in apricot. *Sex. Plant Reprod.*, 11: 153–158.
62. Cachi, A. M., Wünsch, A. (2011): Characterization and mapping of non-*S* gametophytic self-compatibility in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *J. Exp. Bot.*, 62(6): 1847–1856.
63. Cachi, A.M., Hedhly, A., Hormaza, J.I., Wünsch, A. (2014): Pollen tube growth in the self-compatible sweet cherry genotype, ‘Cristobalina’, is slowed down after self-pollination. *Ann. Appl. Biol.*, 164(1): 73–84.
64. Cachi, A.M., Wünsch, A. (2014): *S*-genotyping of sweet cherry varieties from Spain and *S*-locus diversity in Europe. *Euphytica*. 197 (2): 229–236.

65. Cachi, A.M., Wünsch, A., Vilanova, A., Guàrdia, M., Ciordia, M., Aletà, N. (2017): *S*-locus diversity and cross-compatibility of wild *Prunus avium* for timber breeding. *Plant Breed.*, 136: 126-131.
66. Calle, A., Cai, L., Iezzoni, A., Wünsch, A. (2018): High-density linkage maps constructed in sweet cherry (*Prunus avium* L.) using cross-and self-pollination populations reveal chromosomal homozygosity in inbred families and non-syntenic regions with the peach genome. *Tree Genet. Genomes*, 14(3): 1–14.
67. Cantini, C., Iezzoni, A.F., Lamboy, W.F., Boritzki, M., Struss, D. (2001): DNA fingerprinting of tetraploid cherry germplasm using simple sequence repeats. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 126: 205–209.
68. Carraut, A., Crossa-Raynaud, P. (1974): L'amélioration des variétés d'abricotier en Tunisie. *Ann. Inst. Natl. Rech. Agron. Tunis*, 47: 33.
69. Casacuberta, E., González, J. (2013): The impact of transposable elements in environmental adaptation. *Mol. Ecol.*, 22, 1503–1517.
70. Celik, F., Ercisli, S., Yilmaz, S.O., Hegedus, A. (2011): Estimation of certain physical and chemical fruit characteristics of various cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) genotypes. *HortScience*, 46, 924–927.
71. Cerović, R., Akšić, M.F., Đorđević, M., Meland, M. (2021): The effects of pollinizers on pollen tube growth and fruit set of European plum (*Prunus domestica* L.) in a Nordic climate. *Sci. Hortic.*, 288: 110390.
72. Cerovlć, R., Ružić, D. (1992): Pollen tube growth in sour cherry (*Prunus cerasus* L.) at different temperatures. *J. Hort. Sci.*, 67(3): 333–340.
73. Certal, A.C., Almeida, R.B., Bošković, R., Oliveira, M.M., Feijó, J.A. (2002): Structural and molecular analysis of self-incompatibility in almond (*Prunus dulcis*). *Sex. Plant Reprod.*, 15(1): 13–20.
74. Chai, L., Ge, X., Biswas, M.K., Xu, Q., Deng, X. (2011): Self-sterility in the mutant 'Zigui shatian' pummelo (*Citrus grandis* Osbeck) is due to abnormal post-zygotic embryo development and not self-incompatibility. *PCTOC*, 104(1): 1–11.
75. Chen, Q., Meng, D., Gu, Z., Li, W., Yuan, H., Duan, X., Yang, Q., Li, Y., Li, T. (2018): *SLFL* genes participate in the ubiquitination and degradation reaction of *S*-RNase in self-compatible peach. *Front. Plant Sci.* 9, 227.
76. Chin, S.W., Lutz, S., Wen, J., Potter, D. (2013): The bitter and the sweet: inference of homology and evolution of leaf glands in *Prunus* (Rosaceae) through anatomy, micromorphology, and ancestral-character state reconstruction. *Int. J. Plant Sci.*, 174: 27–46.
77. Chin, S.W., Shaw, J., Haberle, R., Wen, J., Potter, D. (2014): Diversification of almonds, peaches, plums and cherries—molecular systematics and biogeographic history of *Prunus* (Rosaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 76: 34–48.
78. Cipriani, G., Lot, G., Huang, W.G., Marrazzo, M.T., Peterlunger, E., Testolin, R. (1999): AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L) Batsch]: isolation, characterisation and cross-species amplification in *Prunus*. *Theor. Appl. Genet.*, 99: 65–72.
79. Civan, P., Svec, M., Hauptvogel, P. (2011): On the coevolution of transposable elements and plant genomes. *J. Bot.*, ID 893546.
80. Claessen, H., Keulemans, W., Van de Poel, B., De Storme, N. (2019): Finding a compatible partner: Self-incompatibility in European pear (*Pyrus communis*); molecular control, genetic determination, and impact on fertilization and fruit set. *Front. Plant Sci.*, 10, 407.
81. Clarke, A.E., Newbigin, E. (1993): Molecular aspects of self-incompatibility in flowering plants. *Annu. Rev. Genet.*, 27: 257–279.
82. Compton, R.H. (1913): Phenomena and problems of self-sterility. *New Phytol.*, 12: 197–206.
83. Cookson, S.J., Clemente Moreno, M.J., Hevin, C., Nyamba Mendome, L.Z., Delrot, S., Magnin, N., Ollat, N. (2014): Heterografting with nonself rootstocks induces genes involved in stress responses at the graft interface when compared with autografted controls. *J. Exp. Bot.* 65: 2473–2481.
84. Corsa, W.P. (1896): Nut culture in the United States: embracing native and introduced species. US Government Printing Office, Washington.
85. Crane, M.B. (1923): Report on tests of self-sterility and cross-incompatibility in plums, cherries, and apples at the John Innes Horticultural Institution.-II. *J. Pomol. Hortic. Sci.* 3(2): 67–84.
86. Crane, M.B., Brown, A.G. (1938): Incompatibility and sterility in the sweet cherry, *Prunus avium* L. *J. Pomol. Hortic. Sci.*, 15(2): 2-116.
87. Crane, M.B., Lawrence, W.J.C. (1929): Genetical and cytological aspects of incompatibility and sterility in cultivated fruits. *J. Pomol. Hort. Sci.*, 7: 276–301.
88. Crane, M.B., Lewis, D. (1942): Genetical studies in pears. III Incompatibility and sterility. *J. Genet.*, 43: 31–49.
89. Crossa-Raynaud, P., Grasselly, C. (1985): Existence de groupes d'interstérilité chez l'amandier. *Options Méditerranéennes. Serie Études*, 1: 43–45.
90. Cusack, B.P., Wolfe, K.H. (2007): When gene marriages don't work out: divorce by subfunctionalization. *Trends Genet.*, 23(6): 270–272.
91. Daguin, C., Bonhomme, F., Borsa, P. (2001): The zone of sympatry and hybridization of *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis*, as described by intron length polymorphism at locus *mac-1*. *Heredity*, 86(3): 342–354.
92. Dangl, G., Yang, J., Golino, D., Gradziel, T. (2009): A practical method for almond cultivar identification and parental analysis using simple sequence repeat markers. *Euphytica*, 168: 41–48.
93. Darwin, C.R. (1862): On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilised by insects, and on the good effect of intercrossing. London: John Murry.
94. Darwin, C.R. (1878): The effects of cross and self-fertilisation in the vegetable kingdom, 2nd edn. London: John Murry.
95. De Cuyper, B., Sonneveld, T., Tobutt, K.R. (2005): Determining self-incompatibility genotypes in Belgian wild cherries. *Mol. Ecol.*, 14: 945–955.
96. De Franceschi, P., Dondini, L., Sanzol, J. (2012): Molecular bases and evolutionary dynamics of self-incompatibility in the Pyrinae (Rosaceae). *J. Exp. Bot.*, 63(11): 4015–4032.
97. De Giorgio, D., Polignano, G.B. (2001): Evaluating the biodiversity of almond cultivars from germplasm collection field in Southern Italy. *Sustain. Global Farm*, 56: 305–311.

98. De Nettancourt, D. (1977): Interspecific Incompatibility. In: Incompatibility in Angiosperms. Monographs on Theoretical and Applied Genetics, vol 3. Springer, Berlin, Heidelberg.
99. De Nettancourt, D. (2001): Incompatibility in angiosperms. New York: Springer.
100. De Palma, L., Palasciano, M., Godini, A. (1996): Interspecific hybridization program aimed at obtaining dwarfing and non-suckering rootstocks for sweet cherry. *Acta Hort.*, 410: 177–181.
101. DeBuse, C.J., Shaw, D.V., DeJong, T.M. (2005): Response to inbreeding of seedling traits in a *Prunus domestica* L. breeding population. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 130: 904–911.
102. Delplancke, M., Alvarez, N., Benoit, L., Espindola, A., Joly, H., Neuenschwander, S., Arrigo, N. (2013): Evolutionary history of almond tree domestication in the Mediterranean basin. *Mol. Ecol.*, 22: 1092–1104.
103. Delplancke, M., Alvarez, N., Espindola, A., Joly, H., Benoit, L., Brouck, E., Arrigo, N. (2012): Gene flow among wild and domesticated almond species: insights from chloroplast and nuclear markers. *Evol. Appl.*, 5: 317–329.
104. Delplancke, M., Yazbek, M., Arrigo, N., Espindola, A., Joly, H., Alvarez, N. (2016): Combining conservative and variable markers to infer the evolutionary history of *Prunus* subgen. *Amygdalus* under domestication. *Genet. Resour. Crop Ev.*, 63: 221–234.
105. Dicenta, F., García, J.E. (1993a): Inheritance of self-compatibility in almond. *Heredity*, 70: 313–317.
106. Dicenta, F., García, J.E. (1993b): Inheritance of the kernel flavour in almond. *Heredity*, 70: 308–312.
107. Dicenta, F., Sánchez-Pérez, R., Rubio, M., Egea, J., Batlle, I., Miarnau, X., Palasciano, M., Lipari, E., Confolent, C., Martínez-Gómez, P., Duval, H. (2015): The origin of the self-compatible almond ‘Guara’. *Sci. Hortic.*, 197: 1–4.
108. Dickinson, T.A. (2018): Sex and Rosaceae apomicts. *Taxon*, 67: 1093–1107.
109. Dirlwanger, E., Cosson, P., Howad, W., Capdeville, G., Bosselut, N., Claverie, M.R., Voisin, C., Poizat, B., Lafargue, O., Baron, F., Laigret, M., Kleinhentz, P., Arús, Esmenjaud, D. (2004): Microsatellite genetic linkage maps of myrobalan plum and an almond-peach hybrid—location of root-knot nematode resistance genes. *Theor. Appl. Genet.*, 109(4): 827–838.
110. Dirlwanger, E., Cosson, P., Tavaud, M., Aranzana, M., 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.). *Theor. Appl. Genet.*, 105: 127–138.
111. Distefano, G., Caruso, M., La Malfa, S., Ferrante, T., Del Signore, B., Gentile, A., Sottile, F. (2013): Genetic diversity and relationships among Italian and foreign almond germplasm as revealed by microsatellite markers. *Sci. Hortic.*, 162: 305–312.
112. Dondini, L., Lugli, S., Sansavini, S. (2018): Cherry breeding: sweet cherry (*Prunus avium* L.) and sour cherry (*Prunus cerasus* L.). In *Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits* pp. 31–88. Springer, Cham.
113. Donoso, J.M., Aros, D., Meneses, C., Infante, R. (2009): Identification of *S*-alleles associated with self-incompatibility in apricots (*Prunus armeniaca* L.) using molecular markers. *J. Food Agric. Environ.*, 7: 270–273.
114. Down, R.H., Pelizzola, M., Schmitz, R.J., Lister, R., Down, J.M., Nery, J.R., Dixon, J.E. and Ecker, J.R. (2014): Widespread dynamic DNA methylation in response to biotic stress. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 109(32): E2183–E2191.
115. Du, J., Ge, C., Li, T., Wang, S., Gao, Z., Sassa, H., Qiao, Y. (2021): Molecular characteristics of *S-RNase* alleles as the determinant of self-incompatibility in the style of *Fragaria viridis*. *Hortic. Res.*, 8.
116. Earl, D.A., von Holdt, B.M. (2012): STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.*, 4: 359–361.
117. East E.M, Yarnell S.H. (1929): Studies on self-sterility VIII. Self-sterility allelomorphs. *Genetics* 14, 455–487.
118. East, E.M, Park, J.B. (1917): Studies on self-sterility I. The behavior of self-sterile plants. *Genetics*, 2: 505–609.
119. East, E.M., Mangelsdorf, A.J. (1925): A new interpretation of the hereditary behavior of self-sterile plants. *Genetics*, 11: 166–171.
120. Ebert, P.R., Anderson, M.A., Bernatzky, R., Altschuler, M., Clarke, A.E. (1989): Genetic polymorphism of self-incompatibility in flowering plants. *Cell*, 56(2): 255–262.
121. Egea, J., Burgos, L. (1996): Detecting cross-incompatibility of three North-American apricot cultivars and establishing the first incompatibility group in apricot. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121: 1002–1005.
122. El Hamzaoui, A., Oukabli, A., Charafi, J., Moumni, M. (2013): Moroccan almond is a distinct gene pool as revealed by SSR. *Sci. Hortic.*, 154: 37–44.
123. Elleman, C.J., Dickinson, H.G. (1999): Commonalities between pollen/stigma and host/pathogen interactions: calcium accumulation during stigmatic penetration by *Brassica oleracea* pollen tubes. *Sex. Plant Reprod.*, 12(3): 194–202.
124. Ellstrand, N.C., Elam, D.R. (1993): Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 24: 217–242.
125. Emerson, S. (1939): A preliminary survey of the *Oenothera organensis* population. *Genetics* 24: 524–537.
126. Entani, T., Iwano, M., Shiba, H., Che, F. S., Isogai, A., Takayama, S. (2003): Comparative analysis of the self-incompatibility (*S*-) locus region of *Prunus mume*: identification of a pollen-expressed F-box gene with allelic diversity. *Genes to Cells*, 8(3): 203–213.
127. Ercisli, S. (2004): A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. *Genet. Resour. Crop Ev.*, 51: 419–435.
128. Erdem, S.O., Beyhan, N., Demirsoy, L. (2021): Identification of Self-incompatibility (*S*) Alleles of Some Local Sweet Cherry Genotypes from Turkey. *CR. Acad. Bulg. Sci.*, 74(6) 937–944.
129. Esselink, G.D., Nybom, H., Vosman, B. (2004): Assignment of allelic configuration in polyploids using the MAC-PR (microsatellite DNA allele counting—peak ratios) method. *Theor. Appl. Genet.*, 109: 402–408.
130. Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.*, 14: 2611–2620.
131. FAOSTAT: <https://www.fao.org/faostat/en/#data>, letöltés dátuma 2022. augusztus.14.
132. Faust, M., Surányi, D. (1997): Origin and dissemination of cherry. *Hortic. Rev.*, 19: 263–317.
133. Faust, M., Surányi, D., Nyujtó, F. (1998): Origin and dissemination of apricot. *Hortic. Rev.*, 22: 225–266.
134. Felsenstein, J. (1985): Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 783–791.
135. Feng, J., Chen, X., Wu, Y., Liu, W., Liang, Q., Zhang, L. (2006): Detection and transcript expression of *S-RNase* gene associated with self-incompatibility in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Mol. Biol. Rep.*, 33: 215–221.

136. Fernández i Martí, A., Alonso, J.M., Espiau, M.T., Rubio-Cabetas, M.J., Socias i Company, R. (2009): Genetic diversity in Spanish and foreign almond germplasm assessed by molecular characterization with simple sequence repeats. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 134: 535–542.
137. Fernandez i Martí, A., Castro, S., DeJong, T.M., Dodd, R.S. (2021): Evaluation of the *S*-locus in *Prunus domestica*, characterization, phylogeny and 3D modelling. *PloS One*, 16(5): e0251305.
138. Fernández i Martí, A., Gradziel, T.M. Socias i Company, R. (2014): Methylation of the *S_f* locus in almond is associated with *S*-RNase loss of function. *Plant. Mol. Biol.*, 86: 681–689.
139. Fernández i Martí, A., i Forcada, C.F., Kamali, K., Rubio-Cabetas, M.J., Wirthensohn, M. (2015): Molecular analyses of evolution and population structure in a worldwide almond [*Prunus dulcis* (Mill.) DA Webb syn. *P. amygdalus* Batsch] pool assessed by microsatellite markers. *Genet. Resour. Crop. Ev.*, 62: 205–219.
140. Fernandez i Martí, A., Wirthensohn, M., Alonso, J., Hrmova, M. (2012): Molecular modeling of *S*-RNases involved in almond self-incompatibility. *Front. Plant Sci.*, 3: 139.
141. Ferrer, M.M., Good, S.V. (2012): Self-sterility in flowering plants: preventing self-fertilization increases family diversification rates. *Ann. Bot.*, 110: 535–553.
142. Feschotte, C., Jiang, N., Wessler, S.R. (2002): Plant transposable elements: where genetics meets genomics. *Nat. Rev. Gen.*, 3(5): 329–341.
143. Fotirić Akšić, M., Cerović, R., Hjeltnes, S. H., Meland, M. (2022): The Effective Pollination Period of European Plum (*Prunus domestica* L.) Cultivars in Western Norway. *Horticulturae*, 8(1): 55.
144. Forcada, C.F., i Martí, À.F., i Company, R.S. (2012): Mapping quantitative trait loci for kernel composition in almond. *BMC Gen.*, 13: 1–9.
145. Franklin-Tong, N.V., Franklin, F.C.H. (2003): Gametophytic self-incompatibility inhibits pollen tube growth using different mechanisms. *Trends Plant Sci.*, 8(12): 598–605.
146. Fujii, S., Kubo, K.I., Takayama, S. (2016): Non-self-and self-recognition models in plant self-incompatibility. *Nature Plants*, 2(9): 1–9.
147. G. Tóth, M. (1997): Meggy. In: G. Tóth M. (szerk): Gyümölcsészet. Primon Vállalkozásélénkítő Alapítvány, Nyíregyháza.
148. Gagne, J.M., Downes, B.P., Shiu, S.H., Durski, A.M., Vierstra, R.D. (2002): The F-box subunit of the SCF E3 complex is encoded by a diverse superfamily of genes in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99(17): 11519–11524.
149. Gao, C., Xiao, M., Ren, X., Hayward, A., Yin, J., Wu, L., Li, J. (2012): Characterization and functional annotation of nested transposable elements in eukaryotic genomes. *Genomics*, 100(4): 222–230.
150. Garkava-Gustavsson, L., Kolodinska Brantestam, A., Sehic, J., Nybom, H. (2008): Molecular characterisation of indigenous Swedish apple cultivars based on SSR and *S*-allele analysis. *Hereditas*, 145(3): 99–112.
151. Gasi, F., Frøynes, O., Kalamujić Stroil, B., Lasić, L., Pojskić, N., Fotirić Akšić, M., Meland, M. (2020): *S*-Genotyping and Seed Paternity Testing of the Pear Cultivar ‘Celina’. *Agronomy*, 10(9): 1372.
152. Gelfand, Y., Rodriguez, A., Benson, G. (2007): TRDB—the tandem repeats database. *Nucl. Acids Res.*, 35(suppl_1): D80–D87.
153. Gisbert, A.D., Romero, C., Martínez-Calvo, J., Leida, C., Llácer, G., Badenes, M.L. (2009): Genetic diversity evaluation of a loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb) Lindl) germplasm collection by SSRs and *S*-allele fragments. *Euphytica*, 168: 121–134.
154. Glickman, M.H., Ciechanover, A. (2002): The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol. Rev.*, 374–415.
155. Godini, A. (1979): Ipotesi sulla comparsa dell’autocompatibilità nel mandorlo. *Riv. Sci. Tecn. Agr.*, 19: 3–10.
156. Godini, A. (2000): About the possible relationships between *Amygdalus webbi* Spach and *Amygdalus communis* L. *Nucis Newslett*, 9: 17–19.
157. Goldway, M., Sapir, G., Stern, A. (2007): Molecular basis and horticultural application of the gametophytic self-incompatibility system in Rosaceous tree fruits, in *Plant Breeding Reviews*. Ed. J. Janick (Hoboken, New Jersey: John Wiley Sons, Inc), 28: 215–237.
158. Goldway, M., Takasaki-Yasuda, T., Sanzol, J., Mota, M., Zisovich, A., Stern, R.A., Sansavini, S. (2009): Renumbering the *S*-RNase alleles of European pears (*Pyrus communis* L.) and cloning the *S*₁₀₉ RNase allele. *Sci. Hortic.*, 119(4): 417–422.
159. Gómez, E.M., Buti, M., Sargent, D.J., Dicenta, F., Ortega, E. (2019a): Transcriptomic analysis of pollen-pistil interactions in almond (*Prunus dulcis*) identifies candidate genes for components of gametophytic self-incompatibility. *Tree Genet. Genom* 15 (4): 1–13.
160. Gómez, E.M., Dicenta, F., Batlle, I., Romero, A., Ortega, E. (2019b): Cross-incompatibility in the cultivated almond (*Prunus dulcis*): Updating, revision and correction. *Sci. Hortic.*, 245: 218–223.
161. Gómez, E.M., Prudencio, Á.S., Ortega, E. (2022): Protein Profiling of Pollen–Pistil Interactions in Almond (*Prunus dulcis*) and Identification of a Transcription Regulator Presumably Involved in Self-Incompatibility. *Agronomy*, 12(2): 345.
162. Gonda, I., Vaszily, B. (2018): Gyümölcstermesztés. Debreceni Egyetemi Kiadó.
163. Goodall, G. J., Filipowicz, W. (1989): The AU-rich sequences present in the introns of plant nuclear pre-mRNAs are required for splicing. *Cell*, 58(3): 473–483.
164. Good-Avila, S.V., Mena-Alí, J.I., Stephenson, A.G. (2008): Genetic and environmental causes and evolutionary consequences of variations in self-fertility in self-incompatible species. - In: Franklin-Tong, V.E. (ed.): *Self-Incompatibility in Flowering Plants*. 33-51. Springer, Berlin – Heidelberg.
165. Goodstein, D., Batra, S., Carlson, J., Hayes, R., Phillips, J., Shu, S., Rokhsar, D. (2014). *Phytozome comparative plant genomics portal*.
166. Gorbunova, V., Levy, A.A. (1997): Non-homologous DNA end joining in plant cells is associated with deletions and filler DNA insertions. *Nucl. Acids Res.*, 25: 4650–4657.
167. Gouta, H., Ksia, E., Laaribi, I., Bennici, S., La Malfa, S., Gentile, A., Distefano, G. (2021): Efficiency of *S*-genotyping for diversity screening and self-incompatible group identification of almond cultivars within the Mediterranean basin. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 96(3): 338–343.
168. Gradziel, T.M. (2011): Origin and dissemination of almond. *Hort. Rev.*, 38: 23–82.

169. Gradziel, T.M. (2022): Transfer of Self-Fruitfulness to Cultivated Almond from Peach and Wild Almond. *Horticulturae*, 8(10): 965.
170. Gray, J.E., McClure, B.A., Bonig, I., Anderson, M.A., Clarke, A.E. (1991): Action of the style product of the self-incompatibility gene of *Nicotiana glauca* (*S-RNase*) on *in vitro*-grown pollen tubes. *The Plant Cell*, 3(3): 271–283.
171. Gu, C., Wu, J., Zhang, S.J., Yang, Y.N., Wu, H.Q., Tao, S.T., Zhang, S.L. (2012): Characterization of the *S-RNase* genomic DNA allele sequence in *Prunus speciosa* and *P. pseudocerasus*. *Sci. Hortic.*, 144: 93–101.
172. Guerra, M.E., Guerrero, B.I., Casadomet, C., Rodrigo, J. (2020): Self-(in) compatibility, *S-RNase* allele identification, and selection of pollinizers in new Japanese plum-type cultivars. *Sci. Hortic.*, 261: 109022.
173. Guerra, M.E., Rodrigo, J., López-Corrales, M., Wunsch, A. (2009): *S-RNase* genotyping and incompatibility group assignment by PCR and pollination experiments in Japanese plum. *Plant Breed.*, 128: 304–311.
174. Guerriero, R., Bartolini, S. (1995): Flower biology in apricot: main aspects and problems. *Acta Hort.*, 384: 261–271.
175. Gülcan, R., Misirli, A., Saglam, H., Ölmez, H.A., Paydas, S., Derin, K., Eti, S., Demir, T. (2006): Properties of Turkish apricot land races. *Acta Hort.*, 701: 191–197.
176. Guo, Y.L., Bechsgaard, J.S., Slotte, T., Neuffer, B., Lascoux, M., Weigel, D., Schierup, M. H. (2009): Recent speciation of *Capsella rubella* from *Capsella grandiflora*, associated with loss of self-incompatibility and an extreme bottleneck. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 106(13): 5246–5251.
177. Gupta, P.K., Balyan, I.S., Sharma, P.C., Ramesh, B. (1996): Microsatellites in plants: A new class of molecular markers. *Curr. Sci. India*, 70: 45–54.
178. Gupta, S.K., Bansal, R., Gopalakrishna, T. (2012): Development of intron length polymorphism markers in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] and their transferability to other *Vigna* species. *Mol. Breed.*, 30(3): 1363–1370.
179. Habu, T., Kishida, F., Morikita, M., Kitajima, A., Yamada, T., Tao, R. (2006): A simple and rapid procedure for the detection of self-compatible individuals in Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) using the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method. *HortScience*, 41(5): 1156–1158.
180. Hadziabdic, D., Wang, X., Wadl, P.A., Rinehart, T.A., Ownley, B.H., Trigiano, R.N. (2012): Genetic diversity of flowering dogwood in the Great Smoky Mountains National Park. *Tree Genet. Genomes*, 8: 855–871.
181. Hagen, L.S., Khadari, B., Lambert, P., Audergon, J.M. (2002): Genetic diversity in apricot revealed by AFLP markers: species and cultivars comparisons. *Theor. Appl. Genet.*, 105: 298–305.
182. Halász, J. (2007a): A kajszi önmédségét meghatározó *S*-allél-rendszer molekuláris háttere PhD disszertáció, Budapesti Corvinus Egyetem.
183. Halász, J. (2007b): Review of self-compatibility in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *World J. Agric. Sci.*, 3: 670–677.
184. Halász, J., Fodor, Á., Hegedűs, A., Pedryc, A. (2008): Identification of a new self-incompatibility allele (*S*₃₁) in a Hungarian almond cultivar and its reliable detection. *Sci. Hortic.*, 116: 448–451.
185. Halász, J., Fodor, A., Pedryc, A., Hegedűs, A. (2010a): *S*-genotyping of Eastern European almond cultivars: identification and characterization of new (*S*₃₆–*S*₃₉) self-incompatibility ribonuclease alleles. *Plant Breed.*, 129: 227–232.
186. Halász, J., Hegedűs, A. (2006): A critical evaluation of methods used for *S*-genotyping: from trees to DNA level. *Int. J. Hortic. Sci.*, 12(2): 19–29.
187. Halász, J., Hegedűs, A., Hermán, R., Stefanovits-Bányai, É., Pedryc, A. (2005): New self-incompatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) revealed by stelar ribonuclease assay and *S*-PCR analysis. *Euphytica*, 145: 57–66.
188. Halász, J., Hegedűs, A., Pedryc, A. (2006): Review of the molecular background of self-incompatibility in rosaceous fruit trees. *Int. J. Hortic. Sci.*, 12(2): 7–18.
189. Halász, J., Hegedűs, A., Szabó, Z., Nyéki, J., Pedryc, A. (2007a): DNA-based *S*-genotyping of Japanese plum and pluot cultivars to clarify incompatibility relationships. *HortScience* 42: 46–50.
190. Halász, J., Hegedűs, A., Szikriszt, B., Ercişli, S., Orhan, E., Ünlü, H.M. (2013): The *S*-genotyping of wild-grown apricots reveals only self-incompatible accessions in the Erzincan region of Turkey. *Turk. J. Biol.*, 37: 733–740.
191. Halász, J., Kodad, O., Galiba, G.M., Skola, I., Ercişli, S., Ledbetter, C.A., Hegedűs, A. (2019): Genetic variability is preserved among strongly differentiated and geographically diverse almond germplasm: An assessment by simple sequence repeat markers. *Tree Genet. Genomes*, 15: 1–13.
192. Halász, J., Kodad, O., Hegedűs, A. (2014a): Identification of a recently active *Prunus*-specific non-autonomous Mutator element with considerable genome shaping force. *Plant J.*, 79(2): 220–231.
193. Halász, J., Kurilla, A., Hegedűs, A. (2014b): Preliminary characterization of the self-incompatibility genotypes of European plum (*Prunus domestica* L.) cultivars. *Int. J. Hortic. Sci.*, 3: 23–26.
194. Halász, J., Makovics-Zsohár, N., Szőke, F., Ercişli, S., Hegedűs, A. (2021b): Simple sequence repeat and *S*-locus genotyping to assist the genetic characterization and breeding of polyploid *Prunus* species, *P. spinosa* and *P. domestica* subsp. *insititia*. *Biochemical Genetics*, 59: 1065–1087.
195. Halász, J., Molnár, A.B., İlhan, G., Ercişli, S., Hegedűs, A. (2021a): Identification and Molecular Analysis of Putative Self-Incompatibility Ribonuclease Alleles in an Extreme Polyploid Species, *Prunus laurocerasus* L. *Frontiers in Plant Sci.*, 12: 715414.
196. Halász, J., Pedryc, A., Ercişli, S., Yilmaz, K.U., Hegedűs, A. (2012): Apricot self-incompatibility shows more complex picture than believed: an urge for harmonization. *Acta Hort.*, 966: 193–197.
197. Halász, J., Pedryc, A., Ercişli, S., Yilmaz, K.U., Hegedűs, A. (2010b): *S*-genotyping supports the genetic relationships between Turkish and Hungarian apricot germplasm. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 135: 410–417.
198. Halász, J., Pedryc, A., Hegedűs, A. (2007b): Origin and dissemination of the pollen-part mutated *Sc* haplotype which confers self-compatibility in apricot (*Prunus armeniaca*). *New Phytol.*, 176: 792–803.
199. Halász, J., Szendy, G., Ivanovska, B., Tóth, E.Gy., Hegedűs, A. (2023): The self-incompatibility locus and chloroplast DNA regions of *Prunus domestica* reflect the origin and genetic diversity of traditional cultivars. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 148(5): 230–239.
200. Hall, T.A. (1999): BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, 41: 95–98.

201. Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. (2001): PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.*, 4: 1–9.
202. Hanada, T., Watari, A., Kibe, T., Yamane, H., Wunsch, A., Gradziel, T.M., Sasabe, Y., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Tao, R. (2014): Two novel self-compatible *S* haplotypes in peach (*Prunus persica*). *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.*, 83: 203–213.
203. Hardy, O.J., Charbonnel, N., Freville, H., Heuertz, M. (2003): Microsatellite allele sizes: a simple test to assess their significance on genetic differentiation. *Genetics*, 163: 1467–1482.
204. Harsanyi, J. (1985): Performance of apricot varieties and selections in a plot trial. In VIII International Symposium on Apricot Culture and Decline, 192: 345–352.
205. Hartevelt, C.L., Heister, J.G.A.M., Giordano, P.C., Batelaan, D., Delft, P.V., Haak, H.L., Wijermans, P.W., Losekoot, M., Bernini, L.F. (1996): An IVS1–116 (A→G) acceptor splice site mutation in the $\alpha 2$ globin gene causing α^+ thalassaemia in two Dutch families. *Brit. J. Haemat.*, 95: 461–466.
206. Hauck, N.R., Ikeda, K., Tao, R., Iezzoni, A.F. (2006a): The mutated *S*₁-Haplotype in sour cherry has an altered *S*-Haplotype-specific F-box protein gene. *J. Hered.*, 97(5): 514–520.
207. Hauck, N.R., Yamane, H., Tao, R., Iezzoni, A.F. (2002): Self-compatibility and incompatibility in tetraploid sour cherry (*Prunus cerasus* L.). *Sex. Plant Reprod.*, 15: 39–46.
208. Hauck, N.R., Yamane, H., Tao, R., Iezzoni, A.F. (2006b): Accumulation of non-functional *S*-haplotypes results in the breakdown of gametophytic self-incompatibility in tetraploid *Prunus*. *Genetics*, 172: 1191–1198.
209. Hegedűs, A., Halász, J. (2022): Catch a match: new insights into the genetics of self-(in)compatibility in fruit tree species. *Acta Hortic.*, 1342: 237–244.
210. Hegedűs, A., Lénárt, J., Halász, J. (2012): Sexual incompatibility in Rosaceae fruit tree species: molecular interactions and evolutionary dynamics. *Biol. Plantarum*, 56: 201–209.
211. Hegedűs, A., Szabó, Z., Nyéki, J., Halász, J., Pedryc, A. (2006): Molecular Analysis of *S*-haplotypes in Peach, a Self-compatible *Prunus* Species. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 131: 738–743.
212. Heng, W., Wu, J., Wu, H., Tao, S., Qi, K., Gu, C., Zhang, S. (2012): Identification and Characterisation of *SFBs* in *Prunus mume*. *Plant Mol. Biol.*, 30: 878–884.
213. Herrera, S., Lora, J., Hormaza, J. I., Herrero, M., Rodrigo, J. (2018a): Optimizing production in the new generation of apricot cultivars: self-incompatibility, *S-RNase* allele identification, and incompatibility group assignment. *Front. Plant Sci.*, 9: 527.
214. Herrera, S., Lora, J., Hormaza, J.I., Rodrigo, J. (2020): Determination of Self- and Inter-(in)compatibility Relationships in Apricot Combining Hand-Pollination, Microscopy and Genetic Analyses. *J. Vis. Exp.*, (160): e60241.
215. Herrera, S., Rodrigo, J., Hormaza, J.I., Lora, J. (2018b): Identification of self-incompatibility alleles by specific PCR analysis and *S-RNase* sequencing in apricot. *Int. J. Mol. Sci.*, 19: 3612.
216. Hershko, A., Ciechanover, A. (1998): The ubiquitin system. *Annu. Rev. Biochem.*, 67: 425–79.
217. Hershko, A., Ciechanover, A., Varshavsky, A. (2000): The ubiquitin system. *Nat. Med.*, 6(10): 1073–1081.
218. Hillwig, M.S., Contento, A.L., Meyer, A., Ebany, D., Bassham, D.C., MacIntosh, G.C. (2011): RNS2, a conserved member of the RNase T2 family, is necessary for ribosomal RNA decay in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 108(3): 1093–1098.
219. Hiscock, S.J., Tabah, D.A. (2003): The different mechanisms of sporophytic self-incompatibility. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biol. Sci.*, 358(1434): 1037–1045.
220. Hodgkin, T., Lyon, G.D., Dickinson, H.G. (1988): Recognition in flowering plants: a comparison of the Brassica self-incompatibility system and plant pathogen interactions. *New Phytol.*, 110(4): 557–569.
221. Horn, J. (1927): A gyümölcsfák terméketlensége. *Kertészet*, 1927. március 15., 41. oldal.
222. Horn, J. (1937): Ószibarack termesztése. *Növényvédelem és Kertészet*, Budapest.
223. Horn, J. (1939): Kajszi, cseresznye és meggy termesztése. *Növényvédelem és Kertészet*, Budapest.
224. Horn, J. (1940): Dió, mogyoró, mandula termesztés. *Növényvédelem és Kertészet*, Budapest.
225. Howad, W., Yamamoto, T., Dirlwanger, E., Testolin, R., Cosson, P., Cipriani, G., Arus, P. (2005): Mapping with a few plants: using selective mapping for microsatellite saturation of the *Prunus* reference map. *Genetics*, 171(3): 1305–1309.
226. Hrotkó, K., Facsar, G. (1996): Taxonomic classification of Hungarian populations of *Prunus fruticosa* (Pall.) Woronow hybrids. *Acta Hortic.*, 410: 495–498.
227. Hrotkó, K., Feng, Y., Halász, J. (2020): Spontaneous hybrids of *Prunus fruticosa* Pall. in Hungary. *Genet. Res. Crop Evol.*, 67(2): 489–502.
228. Hua, Z., Meng, X., Kao, T.H. (2007): Comparison of *Petunia inflata* *S*-locus F-box protein (*Pi SLF*) with Pi SLF-like proteins reveals its unique function in *S*-RNase-based self-incompatibility. *The Plant Cell*, 19(11): 3593–3609.
229. Huang, S., Lee, H.S., Karunanandaa, B., Kao, T. (1994): Ribonuclease activity of *Petunia inflata* *S* proteins is essential for rejection of self-pollen. *The Plant Cell*, 6: 1021–1028.
230. Hungarikumok Gyűjteménye: <http://www.hungarikum.hu/>, letöltés dátuma 2022. augusztus.14.
231. Ida, K., Norioka, S., Yamamoto, M., Kumasaka, T., Yamashita, E., Newbiggin, E.D., Clark, A.E., Sakiyama, F., Sato, M. (2001): The 1.55 Å resolution structure of *Nicotiana glauca* *S*_{F11}-RNase associated with gametophytic self-incompatibility. *J. Mol. Biol.*, 1: 103–112.
232. Igc, B., Kohn, J.R. (2001): Evolutionary relationships among self-incompatibility RNases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 98(23): 13167–13171.
233. Igc, B., Lande, R., Kohn, J.R. (2008): Loss of self-incompatibility and its evolutionary consequences. *Int. J. Plant Sci.*, 169(1): 93–104.
234. Ikeda, K., Igc, B., Ushijima, K., Yamane, H., Hauck, N.R., Nakano, R., Sassa, H., Iezzoni, A.F., Kohn, J.R., Tao, R. (2004a): Primary structural features of the *S* haplotype-specific F-box protein, *SFB*, in *Prunus*. *Sex. Plant Reprod.*, 16: 235–243.
235. Ikeda, K., Ushijima, K., Yamane, H., Tao, R., Hauck, N.R., Sebolt, A.M., Iezzoni, A.F. (2005): Linkage and physical distances between the *S*-haplotype *S-RNase* and *SFB* genes in sweet cherry. *Sex. Plant Reprod.*, 17: 289–296.
236. Ikeda, K., Watari, A., Ushijima, K., Yamane, H., Hauck, N.R., Iezzoni, A.F., Tao, R. (2004b): Molecular markers for the self-compatible *S*₄'-haplotype, a pollen-part mutant in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 129(5): 724–728.

237. Ioerger, T.R., Clark, A.G., Kao, T. (1990): Polymorphism at the self-incompatibility locus in *Solanaceae* predates speciation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 9732–9735.
238. Ioerger, T.R., Gohlke, J.R., Xu, B., Kao, T.H. (1991): Primary structural features of the self-incompatibility protein in *Solanaceae*. *Sex. Plant Reprod.*, 4: 81–87.
239. Ipek, A., Gulen, H., Akcay, M.E. (2011): Determination of self-incompatibility groups of sweet cherry genotypes from Turkey. *Genet. Mol. Res. GMR*, 10: 253–260.
240. Irie, M. (1999): Structure-function relationships of acid ribonucleases: lysosomal, vacuolar, and periplasmic enzymes. *Pharmacol. Ther.*, 81(2): 77–89.
241. Irisarri, P., Zhebentyayeva, T., Errea, P., Pina, A. (2019): Inheritance of self and graft-incompatibility traits in an F1 apricot progeny. *PLoS One*, 14: e0216371.
242. Ishimizu, T., Endo, T., Yamaguchi-Kabata, Y., Nakamura, K.T., Sakiyama, F., Norioka, S. (1998a): Identification of regions in which positive selection may operate in *S*-RNase of Rosaceae: implication for *S*-allele-specific recognition sites in *S*-RNase. *FEBS Lett.*, 440: 337–342.
243. Ishimizu, T., Miyagi, M., Norioka, S., Liu, Y. H., Clarke, A.E., Sakiyama, F. (1995): Identification of histidine 31 and cysteine 95 in the active site of self-incompatibility associated *S*₆-RNase in *Nicotiana glauca*. *J. Biochem.*, 118(5): 1007–1013.
244. Ishimizu, T., Shinkawa, T., Sakiyama, F., Norioka, S. (1998b): Primary structural features of rosaceous *S*-RNases associated with gametophytic self-incompatibility. *Plant Mol. Biol.*, 37(6): 931–941.
245. Ivanovych, Y. (2016): Sweet cherry genetic fingerprinting: methods and techniques. Marker-assisted selection (MAS) approaches for selection of sweet cherry varieties. *STSM Sci. Report*, 1–13.
246. Iwano, M., Takayama, S. (2012): Self/non-self-discrimination in angiosperm self-incompatibility. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 15: 78–83.
247. Jahnen, W., Batterham, M.P., Clarke, A.E., Moritz, R.L., Simpson, R.J. (1989): Identification, isolation, and N-terminal sequencing of style glycoproteins associated with self-incompatibility in *Nicotiana glauca*. *The Plant Cell*, 1: 493–499.
248. Jahnen, W., Lush, W.M., Clarke, A.E. (1989): Inhibition of *in vitro* pollen tube growth by isolated *S*-glycoproteins of *Nicotiana glauca*. *The Plant Cell*, 1(5): 501–510.
249. 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. *Theor. Appl. Genet.*, 91: 691–698.
250. Jiang, N., Wessler, S. R. (2001): Insertion preference of maize and rice miniature inverted repeat transposable elements as revealed by the analysis of nested elements. *The Plant Cell*, 13(11): 2553–2564.
251. Jie, Q., Shupeng, G., Jixiang, Z., Manru, G., Huairui, S. (2005): Identification of self-incompatibility genotypes of apricot (*Prunus armeniaca* L.) by *S*-allele-specific PCR analysis. *Biotechnol. Lett.*, 27: 1205–1209.
252. Jones, D.T., Taylor, W.R., Thornton J.M. (1992): The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. *Comput. Appl. Biosci.*, 8: 275–282.
253. Jordano, P., Godoy, J.A. (2000): RAPD variation and population genetic structure in *Prunus mahaleb* (Rosaceae), an animal-dispersed tree. *Mol. Ecol.*, 9:1293–1305.
254. Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A. et al. (2021): Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596: 583–589.
255. Jun, J.H., Kwon, J.H., Chung, K.H. (2007): Identification of self-incompatibility genotypes in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) by polymerase chain reaction and cross-pollination tests. *Hortic. Environ. Biotechnol.*, 48(4): 228–234.
256. Kállay, Tné. (1998): A hazai meggy- és cseresznyetermesztés helyzete és fejlesztésének stratégiai feladatai az EU-integráció küszöbén. In: Papp J. (Szerk.): Versenyképes kertészeti ágazatok fejlesztési koncepciójának alapjai. A Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományok Osztálya. Budapest.
257. Kállay, Tné. (2003): A cseresznye és meggy gazdasági jelentősége, a termesztés jelenlegi helyzete. In: Hrotkó, K. (Szerk.): Cseresznye és meggy. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 12–26.
258. Kamali, K., Alonso, J.M., Ebadi, A., Fattahi, M.R. (2010): Identification of *S*-genotypes in almond progenies by NEPHGE and PCR. *Options Méditerranéennes. Série A, Séminaires Méditerranéens*, 94: 101–104.
259. Kao, T.H., Huang, S. (1994): Gametophytic self-incompatibility: a mechanism for self/nonself discrimination during sexual reproduction. *Plant Physiol.*, 105(2): 461.
260. Kao, T.H., Tsukamoto, T. (2004): The molecular and genetic bases of *S*-RNase-based self-incompatibility. *Plant Cell*, 16: S72–S83.
261. Karpati, Z. (1944): Vizsgálatok a hazai *Cerasus* alnemzetségbe tartozó hazai *Prunus*sokon. *Bulletin of the Hungarian College for Horticulture and Viticulture*, Budapest, X., 66–80.
262. Karunanandaa, B., Huang, S., Kao, T.H. (1994): Carbohydrate moiety of the *Petunia inflata* *S*₃ protein is not required for self-incompatibility interactions between pollen and pistil. *The Plant Cell*, 6(12): 1933–1940.
263. Kejnovsky, E., Hawkins, J.S., Feschotte, C. (2012): Plant transposable elements: biology and evolution. In *Plant Genome Diversity Volume 1* (Wendel, J.F., Greilhuber, J., Dolezel, J. and Leitch, I.J., eds). Vienna: Springer.
264. Kent, W.J. (2002): BLAT—the BLAST-like alignment tool. *Gen. Res.*, 12(4): 656–664.
265. Kester, D.E. (1993): Almond cultivar and breeding programs in California. In *I International Congress on Almond*, 373: 13–28.
266. Kester, D.E., Gradziel, T.M. (1996): Almonds (*Prunus*) In: *Fruit Breeding*. Wiley Sons. (Szerk. Moore J.N., Janick J.), New York, USA, pp 1–97.
267. Kester, D.E., Gradziel, T.M., Micke, W.C. (1994): Identifying pollen incompatibility groups in Californian almond cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 119: 106–109.
268. Kester, D.E., Gradziel, T.M., Grasselly, C. (1991): Almonds (*Prunus*). *Genet. Res. Temper. Fruit Nut Crops*, 290: 701–760.
269. Kim, H., Kakui, H., Kotoda, N., Hirata, Y., Koba, T., Sassa, H. (2009): Determination of partial genomic sequences and development of a CAPS system of the *S*-RNase gene for the identification of 22 *S* haplotypes of apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Mol. Breed.*, 23 (3): 463–472.

270. Kim, H.T., Nou, I.S. (2016): Confirmation of Parentage of the Pear Cultivar 'Niitaka' (*Pyrus pyrifolia*) Based on Self-incompatibility Haplotypes and Genotyping with SSR Markers. Hort. Sci. Techn., 34(3): 453–460.
271. Kim, H.T., Robin, A.H. K., Nou, I.S. (2016): Parentage Confirmation of Korean Bred Pear Cultivars by Simple Sequence Repeat SSR Genotyping and S-Genotypes Analysis. Plant Breed. Biotech., 4(2): 198–211.
272. Kitahara, K., Matsumoto, S., Yamamoto, T., Soejima, J., Kimura, T., Komatsu, H., Abe, K. (2005): Molecular characterization of apple cultivars in Japan by S-RNase analysis and SSR markers. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 130(6): 885–892.
273. Kivistik, A., Jakobson, L., Kahu, K., Laanemets, K. (2022): Wild and Rare Self-Incompatibility Allele *S*₁₇ Found in 24 Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Cultivars. Plant Mol. Biol. Report., 40(2): 376–388.
274. Kodad, O., Hegedűs, A., Halász, J. (2013a): Self-(in) compatibility genotypes of Moroccan apricots indicate differences and similarities in the crop history of European and North African apricot germplasm. BMC Plant Biology, 13(1): 1–11.
275. Kodad, O., Halász, J., Hegedűs, A., Messaoudi, Z., Pedryc, A., Socias i Company, R. (2013b): Self-(in)compatibility and fruit set in 19 local Moroccan apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes. J. Hortic. Sci. Biotech., 88: 457–461.
276. Kodad, O., Nahli, S.E., Mina, E.L., Gomez, P.M., Garcia, P.J.M. (2021): Low fruitfulness in local almond orchards could be due to the inbreeding depression effect. Moroccan Journal of Agricultural Sciences, 2(1): 1–8.
277. Kodad, O., Sánchez, A., Oliveira, M.M. (2009): The expression of self-compatibility in almond may not only be due to the presence of the *S*_r allele. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 134(2), 221–227.
278. Kodad, O., Sánchez, A., Saibo, N., Oliveira, M., Sociasi Company, R. (2008): Identification and characterization of new *S*-alleles associated with self-incompatibility in almond. Plant Breed., 127(6): 632–638.
279. Kohn, J.R. (2008): What Genealogies of *S*-alleles Tell Us. In: Self-incompatibility in flowering plants. Evolution, diversity, and mechanisms, Springer Berlin, Heidelberg. eds. Franklin-Tong, V.E.
280. Kosztina, K.F. (1960): The use of varietal resources of apricots for breeding. Trud Nikit Bot Sad 1969, 40:45–63.
281. Kosztina, K.F. (1970): Self-fertility studies in apricot. Trud. Gos. Nikit. Botan. Sada, XLV: 7–17.
282. Kota-Dombrovska, I., Lacis, G. (2013): Evaluation of self-incompatibility locus diversity of domestic plum (*Prunus domestica* L.) using DNA-based *S*-genotyping. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, 67(2): 109.
283. Kovács, Sz. (2011): Korszerű kertészet. Gyümölcsfajta-értékelés. A szilva. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest. p. 66–81.
284. Krichen, L., Martins, J.M.S., Lambert, P., Daaloul, A., Trifi-Farah, N., Marrakchi, M., Audergon, J.M. (2008): Using AFLP markers for the analysis of the genetic diversity of apricot cultivars in Tunisia. J. Am. Soc. Hort. Sci., 133: 204–212.
285. Krocak, A., Wierzbicki, H., Urantówka, A.D. (2022): The Length Polymorphism of the 9th Intron in the Avian *CHDI* Gene Allows Sex Determination in Some Species of Palaeognathae. Genes, 13(3): 507.
286. KSH: <https://www.ksh.hu/letöltés dátuma 2022. augusztus.10>
287. Kuang, H., Padmanabhan, C., Li, F., Kamei, A., Bhaskar, P.B., Ouyang, S., Jiang, J., Buell, C.R. and Baker, B. (2009): Identification of miniature inverted-repeat transposable elements (MITEs) and biogenesis of their siRNAs in the Solanaceae: new functional implications for MITEs. Genome Res., 19: 42–56.
288. Kubo, K.I., Entani, T., Takara, A., Wang, N., Fields, A. M., Hua, Z., Takayama, S. (2010): Collaborative non-self recognition system in *S*-RNase-based self-incompatibility. Science, 330(6005): 796–799.
289. Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. (2016): MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol. Biol. Evol., 33: 1870–1874.
290. Kumar, S., Suleski, M., Craig, J.M., Kaspróvics, A.E., Sanderford, M., Li, M., Hedges, S.B. (2022): TimeTree 5: an expanded resource for species divergence times. Molecular Biology and Evolution, 39(8), 174.
291. Lachkar, A., Fattouch, S., Ghazouani, T., Halász, J., Pedryc, A., Hegedűs, A., Mars, M. (2013): Identification of self-(in)compatibility *S*-alleles and new cross-incompatibility groups in Tunisian apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars. J. Hortic. Sci. Biotech., 88: 497–501.
292. Lacis, G., Kaufmane, E., Rashal, I., Trajkovski, V., Iezzoni, A.F. (2008): Identification of self-incompatibility (*S*) alleles in Latvian and Swedish sweet cherry genetic resources collections by PCR based typing. Euphytica, 160: 155–163.
293. Ladizinsky, G. (1985): Founder effect in crop-plant evolution. Econ. Bot., 39: 191–199.
294. 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. Plant Mol. Biol., 50(1): 29–41.
295. Lansari, A., Iezzoni, A.F., Kester, D.E. (1994): Morphological variation within collections of Moroccan almond clones and Mediterranean and North American cultivars. Euphytica, 78: 27–41.
296. Lansari, A., Iezzoni, A. (1990): A preliminary analysis of self-incompatibility in sour cherry. HortScience, 25: 1636–1638.
297. Ledbetter, C.A. (2008): Apricots. Temperate fruit crop breeding: germplasm to genomics, 39–82.
298. Ledbetter, C.A. (2021): 'Yorizane': A New Self-compatible Almond Cultivar Suitable for California Production. HortScience, 56(9), 1142–1143.
299. Lee, S.I., Kim, N.S. (2014): Transposable elements and genome size variations in plants. Genom. Informatics, 12(3): 87.
300. Lénárt, J., Gere, A., Causon, T., Hann, S., Dernovics, M., Németh, O., Hegedűs, A., Halász, J. (2021): LC-MS based metabolic fingerprinting of apricot pistils after self-compatible and self-incompatible pollinations. Plant Mol. Biol. 105(4): 435–447.
301. Leppek, K., Das, R., Barna, M. (2018): Functional 5' UTR mRNA structures in eukaryotic translation regulation and how to find them. Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 19(3): 158–174.
302. Lewis, D. (1954): Comparative incompatibility in Angiosperms and Fungi. Adv. Genet. 6: 235–281.
303. Lewis, D., Crowe, L.K. (1954): The induction of self-fertility in tree fruits. J. Hortic. Sci. 29, 220–225.
304. Lewis, D. (1949): Structure of the incompatibility gene. II. Induced mutation rate. - Heredity 3: 339–355, 1949.
305. Li, W., Yang, Q., Gu, Z., Wu, C., Meng, D., Yu, J., Chen, Q., Li, Y., Yuan, H., Wang, D., Li, T. (2016): Molecular and genetic characterization of a self-compatible apple cultivar, 'CAU-1'. Plant Sci., 252, 162–175.
306. Li, Y., Duan, X., Wu, C., Yu, J., Liu, C., Wang, J., Zhang, X., Yan, G., Jiang, F., Li, T., et al. (2020): Ubiquitination of *S*₄-RNase by *S-LOCUS F-BOX LIKE2* contributes to self-compatibility of sweet cherry 'Lapins'. Plant Physiol., 184(4): 1702–1716.

307. Linde, C.C., Smith, L.M. (2019): Host specialisation and disparate evolution of *Pyrenophora teres* f. *teres* on barley and barley grass. *BMC Evolutionary Biology*, 19(1): 1–14.
308. Lipiński, E. (2004): *Itineraria phoenicia* (Vol. 127). Peeters Publishers.
309. Lipow, S.R., Wyatt, R. (2000): Single gene control of postzygotic self-incompatibility in poke milkweed, *Asclepias exaltata* L. *Genetics*, 154(2): 893–907.
310. Lippay J. (1665/2006): Pisoni kert. Akadémiai Kiadó/Pytheas
311. Lisch, D. (2009): Epigenetic regulation of transposable elements in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 60: 43–66.
312. Liu, C., Qi, X., Song, L., Chen, L., Dong, Y., Pan, F., ... & Wang, Z. (2023): Large-fragment deletion encompasses the R2R3 MYB transcription factor, PavMYB10. 1, causes yellow fruits in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Sci. Hort.*, 309: 111648.
313. Liu, C., Qi, X., Song, L., Li, Y., Li, M. (2018): Species identification, genetic diversity and population structure of sweet cherry commercial cultivars assessed by SSRs and the gametophytic self-incompatibility locus. *Sci. Hortic.*, 237, 28–35.
314. Liu, Q., Zhu, S., Hayashi, S., Iida, O., Takano, A., Miyake, K., Komatsu, K. (2022): Discrimination of *Curcuma* species from Asia using intron length polymorphism markers in genes encoding diketide-CoA synthase and curcumin synthase. *J. Nat. Med.*, 76(1): 69–86.
315. López, M., Mnejja, M., Rovira, M., Collins, G., Vargas, F. J., Arús, P., Batlle, I. (2004): Self-incompatibility genotypes in almond re-evaluated by PCR, stylar ribonucleases, sequencing analysis and controlled pollinations. *Theor. Appl. Gen.*, 109(5): 954–964.
316. López, M., Vargas, F.J., Batlle, I. (2006): Self-(in)compatibility almond genotypes: A review. *Euphytica*, 150: 1–16.
317. Lopez, M.F. (1999): Nonequilibrium pH gel electrophoresis (NEPHGE). 2-D Proteome Analysis Protocols, 129–131.
318. Luhtala, N., Parker, R. (2010): T2 Family ribonucleases: ancient enzymes with diverse roles. *Trends Biochem.*, 35(5): 253–259.
319. 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. *Genetics*, 159: 329–335.
320. Luu, D.T., Qin, X., Morse, D., Cappadocia, M. (2000): *S*-RNase uptake by compatible pollen tubes in gametophytic self-incompatibility. *Nature*, 407: 649–651.
321. Lv, S., Qiao, X., Zhang, W., Li, Q., Wang, P., Zhang, S., Wu, J. (2022): The origin and evolution of RNase T2 family and gametophytic self-incompatibility system in plants. *Genome Biol. Evol.*, 14(7): evac093.
322. 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). *Sex. Plant Reprod.*, 14(3): 163–167.
323. MacIntosh, G.C., Hillwig, M.S., Meyer, A., Flagel, L. (2010): RNase T2 genes from rice and the evolution of secretory ribonucleases in plants. *Mol. Gen. Genom.*, 283(4): 381–396.
324. Macková, L., Vít, P., Ďurišová, L., Eliáš, P., Urfus, T. (2017): Hybridization success is largely limited to homoploid *Prunus* hybrids: a multidisciplinary approach. *Plant Syst. Evol.*, 303: 481–495.
325. Maghuly, F., Fernandez, E.B., Ruthner, S., Pedryc, A., Laimer, M. (2005): Microsatellite variability in apricots (*Prunus armeniaca* L.) reflects their geographic origin and breeding history. *Tree Genet. Genom.*, 1: 151–165.
326. Magori, S., Citovsky, V. (2011): *Agrobacterium* counteracts host-induced degradation of its effector F-box protein. *Sci. Signal.*, 4(195): ra69.
327. Mahács, M. (1922): Gyakorlati gyümölcsstermesztés. Légrády Testvérek, Budapest.
328. Makovicné, Zs.N. (2019): Szilvafajták jellemzése SSR-és S-lókusz markerekkel. PhD értekezés, Szent István Egyetem
329. Makovics-Zsohár, N., Halász, J. (2016): Self-incompatibility system in polyploid fruit tree species-A review. *Int. J. Plant Reprod. Biol.*, 8(1): 24–33.
330. Mamouni, A., Oukabli, A. (2005): L'abricotier. *Transf. Techn. Agric.*, 134: 1–4.
331. Marchesano, B.M., Chiozzotto, R., Baccichet, I., Bassi, D., Cirilli, M. (2022): Development of an HRMA-Based Marker Assisted Selection (MAS) Approach for Cost-Effective Genotyping of S and M Loci Controlling Self-Compatibility in Apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Genes*, 13(3): 548.
332. Marchese, A., Boskovic, R.I., Caruso, T., Raimondo, A., Cutuli, M., Tobutt, K.R. (2007): A new self-compatibility haplotype in the sweet cherry 'Kronio', S5', attributable to a pollen-part mutation in the *SFB* gene. *J. Exp. Bot.*, 58: 4347–4356.
333. Marchese, A., Bošković, R.I., Martínez-García, P.J., Tobutt, K.R. (2008): The origin of the self-compatible almond 'Supernova'. *Plant Breed.*, 127: 105–107.
334. Marchese, A., Giovannini, D., Leone, A., Mafrica, R., Palasciano, M., Cantini, C., Marra, F. P. (2017): *S*-genotype identification, genetic diversity and structure analysis of Italian sweet cherry germplasm. *Tree Genet. Genomes*, 13(5): 1–20.
335. Martin, F.W. (1959): Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain. Technol.*, 34: 125–128.
336. Martínez-García, P.J., Dicenta, F., Ortega, E. (2012): Anomalous embryo sac development and fruit abortion caused by inbreeding depression in almond (*Prunus dulcis*). *Sci. Hortic-Amsterdam*, 133: 23–30.
337. Martínez-Gómez, P., Sánchez-Pérez, R., Dicenta, F., Howad, W., Arús, P., Gradziel, T. (2007): Almond. In: Kole C (ed) *Genome mapping and molecular breeding in plants*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 229–242.
338. Martínez-Gómez, P., Sozzi, G.O., Sánchez-Pérez, R., Rubio, M., Gradziel, T.M. (2003): New approaches to *Prunus* tree crop breeding. *J. Food. Agric. Environ.*, 1: 52–63.
339. Martinoli, D., Jacomet, S. (2004): Identifying endocarp remains and exploring their use at Epipalaeolithic Öküzini in southwest Anatolia, Turkey. *Veg. Hist. Archaeobot.*, 13: 45–54.
340. Matsui, K., Yasui, Y. (2020): Genetic and genomic research for the development of an efficient breeding system in heterostylous self-incompatible common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *Theor. Appl. Genet.*, 133(5): 1641–1653.
341. Matsumoto, D., Tao, R. (2016a): Distinct self-recognition in the *Prunus* *S*-RNase-based gametophytic self-incompatibility system. *Hortic. J.*, MI-IR06.
342. 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. *Plant. Mol. Biol.*, 91: 459–469.
343. Matsumoto, D., Tao, R. (2019): Recognition of *S*-RNases by an *S* locus F-box like protein and an *S* haplotype-specific F-box like protein in the *Prunus*-specific self-incompatibility system. *Plant Mol. Biol.*, 100: 367–378.

344. Matsumoto, S., Kitahara, K., Maejima, T., Komatsu, H. (2007): Parent-Offspring Relationships of Apple Cultivars 'Shinano Piccoro' and 'Komitsu' by *S*-RNase and SSR Markers. *Acta Hort.*, 763: 303–308.
345. Matsuura, T., Sakai, H., Unno, M., Ida, K., Sato, M., Sakiyama, F., Norioka, S. (2001): Crystal structure at 1.5-Å resolution of *Pyrus pyrifolia* pistil ribonuclease responsible for gametophytic self-incompatibility. *J. Biol. Chem.*, 276(48): 45261–45269.
346. Matthews, P., Dow, K.P. (1969): Incompatibility groups: sweet cherry (*Prunus avium*). In: R.L. Knight (Ed.) Abstract Bibliography of Fruit Breeding Genetics to 1965, *Prunus*, 540–544. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal.
347. 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. *The Plant Cell*, 9: 1757–1766.
348. Mau, S.L., Raff, J., Clarke, A.E. (1982): Isolation and partial characterization of components of *Prunus avium* L. styles, including an antigenic glycoprotein associated with a self-incompatibility genotype. *Planta*, 156(6): 505–516.
349. McClure, B. (2004): *S*-RNase and SLF determine *S*-haplotype-specific pollen recognition and rejection. *The Plant Cell*, 16(11): 2840–2847.
350. McClure, B. (2009): Darwin's foundation for investigating self-incompatibility and the progress toward a physiological model for *S*-RNase-based SI. *J. Exp. Bot.*, 60(4): 1069–1081.
351. McClure, B.A., Du, H., Liu, Y.H., Clarke, A.E. (1993): *S*-locus products in *Nicotiana glauca* pistils are subject to organ-specific post-transcriptional processing but not post-translational processing. *Plant Mol. Biol.*, 22: 177–187.
352. McClure, B.A., Franklin-Tong, V. (2006): Gametophytic self-incompatibility: understanding the cellular mechanisms involved in “self” pollen tube inhibition. *Planta*, 224(2): 233–245.
353. McClure, B.A., Gray, J.E., Anderson, M.A., Clarke, A.E. (1990): Self-incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen rRNA. *Nature*, 347(6295): 757–760.
354. McClure, B.A., Haring, V., Ebert, P.R., Anderson, M.A., Simpson, R.J., Sakiyama, F., Clarke, A.E. (1989): Style self-incompatibility gene products of *Nicotiana glauca* are ribonucleases. *Nature*, 342(6252): 955–957.
355. McClure, B.A., Cruz-García, F., Romero, C. (2011): Compatibility and incompatibility in *S*-RNase-based systems. *Ann. Bot.*, 108: 647–658.
356. McCubbin, A.G., Kao, T. (2000): Molecular recognition and response in pollen and pistil interactions. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 16: 333–364.
357. McCubbin, A.G., Kao, T.H. (1996): Molecular mechanisms of self-incompatibility. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 7(2): 150–154.
358. McNellis, T.W., Von Arnim, A.G., Araki, T., Komeda, Y., Miséra, S., Deng, X.W. (1994): Genetic and molecular analysis of an allelic series of *cop1* mutants suggests functional roles for the multiple protein domains. *Plant Cell*, 6: 487–500.
359. Médail, F., Diadema, K. (2009): Glacial refugia influence plant diversity patterns in the Mediterranean Basin. *J. Biogeogr.*, 36: 1333–1345.
360. Mehlenbacher, S.A., Cociu, V., Hough, L.F. (1991): Apricots (*Prunus*). In: Moore, J.N., Ballington, J.R. (Eds.): Genetic resources of temperate fruit and nut crops. Cap. 2.: 65–107. Wageningen, International Society for Horticultural Science.
361. Meikle, R.D. (1966): Contributions to the flora of Iraq. *Kew Bulletin* 19: 229.
362. Messina, R., Lain, O., Marrazzo, M.T., Cipriani, G., Testolin, R. (2004): New set of microsatellite loci isolated in apricot. *Mol. Ecol. Notes*, 4: 432–434.
363. Mihretie, Z., Schueler, S., Konrad, H., Bekele, E., Geburek, T. (2015): Patterns of genetic diversity of *Prunus africana* in Ethiopia: hot spot but not point of origin for range-wide diversity. *Tree Genet. Genom.*, 11: 1–13.
364. Mnejja, M., Garcia-Mas, J., Howad, W., Arús, P. (2005): Development and transportability across *Prunus* species of 42 polymorphic almond microsatellites. *Mol. Ecol. Notes*, 5: 531–535.
365. Mnejja, M., Garcia-Mas, J., Howad, 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. *Mol. Ecol. Notes*, 4: 163–166.
366. Mo, Z., Kaichun, Z., Lijie, J., Xiaoming, Z. (2005): Distinguish *SFB4*' Gene from *SFB4* Gene of Sweet Cherry (*Prunus avium*). *Acta Hort.*, 32(1): 97.
367. Montrichard, F., Alkhalfioui, F., Yano, H., Vensel, W.H., Hurkman, W.J., Buchanan, B. B. (2009): Thioredoxin targets in plants: the first 30 years. *J. Proteomics*, 72(3): 452–474.
368. Moore, R.C., Purugganan, M.D. (2005): The evolutionary dynamics of plant duplicate genes. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 8(2): 122–128.
369. Morgulis, A., Coulouris, G., Raytselis, Y., Madden, T.L., Agarwala, R., Schäffer, A.A. (2008): Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics*, 24(16): 1757–1764.
370. Morimoto, T., Akagi, T., Tao, R. (2015): Evolutionary analysis of genes for *S*-RNase-based self-incompatibility reveals *S* locus duplications in the ancestral *Rosaceae*. *The J. Hort.*, 84(3): 233–242.
371. Muñoz-Espinoza, C., Espinosa, E., Bascuñán, R., Tapia, S., Meneses, C., Almeida, A.M. (2017): Development of a molecular marker for self-compatible *S4*' haplotype in sweet cherry (*Prunus avium* L.) using high-resolution melting. *Plant Breed.*, 136(6): 987–993.
372. Muñoz-Sanz, J.V., Zuriaga, E., Cruz-García, F., McClure, B., Romero, C. (2020): Self-(in) compatibility systems: target traits for crop-production, plant breeding, and biotechnology. *Front. Plant Sci.*, 11: 195.
373. Muñoz-Sanz, J.V., Zuriaga, E., López, I., Badenes, M.L., Romero, C. (2017): Self-(in) compatibility in apricot germplasm is controlled by two major loci, *S* and *M*. *BMC Plant Biol.*, 17: 1–16.
374. Murfett, J., Bourque, J.E., McClure, B.A. (1995): Antisense suppression of *S*-RNase expression in *Nicotiana* using RNA polymerase II- and III-transcribed gene constructs. *Plant Mol. Biol.*, 29: 210–212.
375. Naito, K., Zhang, F., Tsukiyama, T., Saito, H., Hancock, C.N., Richardson, A.O., Okumoto, Y., Tanisaka, T. and Wessler, S.R. (2009): Unexpected consequences of a sudden and massive transposon amplification on rice gene expression. *Nature*, 461: 1130–1134.
376. 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. *PloS One*, 11: e0155638.
377. Nei M. (1978): Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 23: 341–369.

378. Nei, M. (1972): Genetic distances between populations. *American Naturalist*, 106: 283–292.
379. Nei, M., Kumar, S. (2000): *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
380. Nei, M., Li, W.H. (1979): Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 5269–5273.
381. Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (2017): Pálinka termékek jelölési útmutatója. <https://portal.nebih.gov.hu/documents>
382. Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (2021): Nemzeti Fajtajegyzék. v_1_0_2021, Budapest. Felelős kiadó: Zsigmond Richárd, felelős szerkesztő: Pernesz György.
383. Newbigin, E., Anderson, M.A., Clarke, A.E. (1993): Gametophytic Self-Incompatibility Systems. *The Plant Cell*, 5(10): 1315–1324.
384. Nicolás-Almansa, M., Ruiz, D., Salazar, J.A., Guevara, A., Cos, J., Martínez-Gómez, P., Rubio, M. (2023): Phenotypic and molecular characterization of new interspecific Japanese plum × apricot hybrids (plumcots). *Sci. Hortic.*, 318, 112131.
385. Nikolić, D., Milatović, D. (2010): Examining self-compatibility in plum (*Prunus domestica* L.) by fluorescence microscopy. *Genetika*, 42(2): 387–396.
386. Nowak, M.D., Davis, A.P., Anthony, F., Yoder, A.D. (2011): Expression and trans-specific polymorphism of self-incompatibility RNases in *Coffea* (Rubiaceae). *PLoS One*, 6(6): e21019.
387. Nunes, M.D.S., Santos, R.A.M., Ferreira, S.M., Vieira, J., Vieira, P. (2006): Variability patterns and positively selected sites at the gametophytic self-incompatibility pollen *SFB* gene in a wild self-incompatible *Prunus spinosa* (Rosaceae) population. *New Phytol.* 172: 577–587.
388. Nyéki, J. (1996): Pollination and fertilization. In: Nyéki, J., Soltész, M., (Eds.): *Floral Biology of Temperate Zone Fruit Trees and Small Fruits*. Akadémiai Kiadó, Budapest.
389. Nyéki, J., Szabó, Z. (1996): Fruit set of plum cultivars under Hungarian ecological conditions. *Acta Hort.* 423: 185–192.
390. Nyéki, J., Szabó, T., Soltész, M. (2016): Meggy. A jövedelmező intenzív termesztés alapjaival. ÉKASZ Szakmaközi Szervezet és Terméktanács. MKSZ Nonprofit Kft. Újfehértó.
391. Nyéki, J., Szabó, Z. (1995): Cross-incompatibility in stone fruits. *Hortic. Sci.*, 28: 23–31.
392. Nyéki, J., Szabó, Z. (1996): Cross-incompatibility in stone fruits. In VII International Symposium on Pollination, 437: 213–218.
393. Nyéki, J., Szabó, Z., Andrásfalvy, A., Soltész, M., Szabó, T., Kocsisné Molnár, G. (1997): Morphological and phenological properties of sour cherry varieties grown in Hungary and their inter-incompatibility relations. III International Cherry Symposium *Acta Hort.*, 468: 595–602.
394. Nyujtó, F., Surányi, D. (1981): *Kajszibarack*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
395. Nyujtó, F., Brózik Jr., S., Brózik, S., Nyéki, J. (1985): Fruit set in apricot varieties. *Acta Agron. Acad. Sci. Hung.*, 34: 65–72.
396. Olden, E.J., Nybon, N. (1968): On the origin of *Prunus cerasus* L. *Hereditas*, 59: 327–345.
397. Ono, K., Akagi, T., Morimoto, T., Wunsch, A., Tao, R. (2018): Genome Re-Sequencing of Diverse Sweet Cherry (*Prunus avium*) Individuals Reveals a Modifier Gene Mutation Conferring Pollen-Part Self-Compatibility, *Plant Cell Physiol.*, 59 (6): 1265–1275.
398. Ono, K., Chang, E.T., Nishiyama, S., Wunsch, A., Tao, R. (2020): Characterization of a gene co-expression network associated with MGST, the pollen modifier gene of gametophytic self-incompatibility in sweet cherry (*Prunus avium* L.). In III Asian Horticultural Congress-AHC2020, 1312: 9–16.
399. Ortega, E., Bošković, R.I., 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. *Mol. Genet. Genomics*, 276: 413–426.
400. Ortega, E., Dicenta, F. (2004): Suitability of four different methods to identify self-compatible seedlings in an almond breeding programme. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 79(5): 747–753.
401. Ortega, E., Dicenta, F. (2006): Self-fertilization in homozygous and heterozygous self-compatible almonds. *Sci. Hortic.*, 109(3): 288–292.
402. Ortega, E., Dicenta, F., Egea, J. (2007): Rain effect on pollen–stigma adhesion and fertilization in almond. *Sci. Hortic.*, 112(3): 345–348.
403. Ortega, E., Egea, J., Cánovas, J., Dicenta, F. (2002): Pollen tube dynamics following half-and fully-compatible pollinations in self-compatible almond cultivars. *Sex. Plant Reprod.*, 15: 47–51.
404. Ortega, E., Egea, J., Dicenta, F. (2004): Effective pollination period in almond cultivars. *HortSci.*, 39(1), 19–22.
405. Ortega, E., Martínez-García, P.J., Dicenta, F., Egea, J. (2010): Disruption of endosperm development: an inbreeding effect in almond (*Prunus dulcis*). *Sex. Plant Reprod.*, 23: 135–140.
406. Ortega, E., Sutherland, B.G., Dicenta, F., Bošković, R., Tobutt, K.R. (2005): Determination of incompatibility genotypes in almond using first and second intron consensus primers: detection of new *S*-alleles and correlation of reported *S* genotypes. *Plant Breed.*, 124: 188–196.
407. Oxley, D., Munro, S.L.A., Craik, D.J., Bacic, A. (1996): Structure of the N-glycans on the *S*₃- and *S*₆-allele stylar self-incompatibility ribonucleases of *Nicotiana glauca*. *Glycobiol.*, 6: 611–618.
408. Oxley, D., Munro, S.L.A., Craik, D.J., Bacic, A. (1998): Structure and distribution of N-glycans on the *S*₇-allele stylar self-incompatibility ribonuclease of *Nicotiana glauca*. *J. Biochem.*, 123: 978–983.
409. Page, R.D.M. (1996): Tree View: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput Appl Biosci*, 12: 357–358.
410. Pandey, K.K. (1967): Origin of genetic variability: combinations of peroxidase isozymes determine multiple allelism of the *S* gene. *Nature*, 213(5077): 669–672.
411. Papp, N., Blázovics, A., Félbel, H., Salido, S., Altarejos, J., Fehér, E., Kocsis, I., Szentmihályi, K., Abrankó, L., Hegedűs, A., Stefanovits-Bányai, É. (2015): Antihyperlipidemic effects of sour cherries characterized by different in vitro antioxidant power and polyphenolic composition. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 70: 408–413.

412. Papp, N., Szilvássy, B., Abrankó, L., Szabó, T., Pfeiffer, P., Szabó, Z., Nyéki, J., Ercisli, S., Stefanovits-Bányai, É., Hegedűs, A. (2010): Main quality attributes and antioxidants in Hungarian sour cherries: identification of genotypes with enhanced functional properties. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 45(2): 395–402.
413. Paterson, A.H., Bowers, J.E., Bruggmann, R., Dubchak, I., Grimwood, J., Gundlach, H., Rokhsar, D.S. (2009): The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses. *Nature*, 457(7229): 551–556.
414. Patkó, F. (2017): A rovarok (Insecta) általi beporzás. *Acta Sci. Trans.*, 25(3): 126–132.
415. Patthy, L. (2008): Protein evolution, 2nd edn. Oxford, UK: Blackwell.
416. Peakall, R., Smouse, P.E. (2012): GenAlEx 6.5: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 28: 2537–2539.
417. Pedryc, A., Ruthner, S., Hermán, R., Krska, B., Hegedűs, A., Halász, J. (2009): Genetic diversity of apricot revealed by a set of SSR markers from linkage group G1. *Sci. Hortic.* 121: 19–26.
418. Pérez de Los Cobos, F., Martínez-García, P.J., Romero, A., Miarnau, X., Eduardo, I., Howad, W., Batlle, I. (2021): Pedigree analysis of 220 almond genotypes reveals two world mainstream breeding lines based on only three different cultivars. *Hortic. Res.*, 8: 1–11.
419. Pershina, L.A., Trubacheeva, N.V. (2017): Interspecific incompatibility in the wide hybridization of plants and ways to overcome it. *Russ. J. Genet. Appl. Res.*, 7(4): 358–368.
420. Pethő, F. (2011): Tanulmány a Nemtudom szilváról. Újfehértói GyKSz Nonprofit Közhasznú Kft., Újfehértó.
421. Pethő, F., Inántszy, F., Szabó, T. (2010): Investigating the plum population of the Szatmár-Bereg Plain, with special attention to the rural selection of ‘Nemtudom’ cultivar. *Kertgazdasag-Horticulture*, 42: 45–55.
422. Pickersgill, B. (1998): Crop introductions and the development of secondary areas of diversity. In: Prendergast HD (ed.) *Plants for food and medicine*. Royal Botanic Gardens, Kew, 93–105.
423. Pimienta, E., Polito, V.S., Kester, D.E. (1983): Pollen tube growth in cross- and self-pollinated ‘Nonpareil’ almond. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 108: 643–647.
424. Pinar, H., Bircan, M., Uzun, A. (2022): Determination of self-(in) compatibility using molecular markers of some apricot cultivars which cultivated in Turkey. *Curr. Trends Nat. Sci.*, 11(22): 59–67.
425. Pongrácz, M. (1822/2022): A teltvirágú szegfű mesterséges megtermékenyítése, avagy útmutató a teltvirágú szegfűből magvak előállítására és pompás szegfűvirágok tenyésztésére. Debreceni Egyetem MÉK, Debrecen.
426. Porter, B.N. (1993): Sacred trees, date palms, and the royal persona of Ashurnasirpal II. *J. Near East. Stud.*, 52(2): 129–139.
427. Poulter, N. S., Vavovec, S., Franklin-Tong, V.E. (2008): Microtubules are a target for self-incompatibility signaling in *Papaver* pollen. *Plant Physiol.*, 146(3): 1358–1367.
428. Pratas, M.I., Aguiar, B., Vieira, J., Nunes, V., Teixeira, V., Fonseca, N.A., Vieira, C.P. (2018): Inferences on specificity recognition at the *Malus × domestica* gametophytic self-incompatibility system. *Sci. Rep.*, 8(1): 1717.
429. Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2): 945–959.
430. Qu, H., Guan, Y., Wang, Y., Zhang, S. (2017): PLC-mediated signaling pathway in pollen tubes regulates the gametophytic self-incompatibility of *Pyrus* species. *Front. Plant Sci.*, 8: 1164.
431. R Core Team (2013) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.Rproject.org/>.
432. Radičević, S., Cerović, R., Nikolić, D., Đorđević, M. (2016): The effect of genotype and temperature on pollen tube growth and fertilization in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Euphytica*, 209(1): 121–136.
433. Raduski, A.R., Haney, E.B., Igić, B. (2012): The expression of self-incompatibility in angiosperms is bimodal. *Evol. Int. J. Org. Evol.*, 66(4): 1275–1283.
434. Raff, J.W., Knox, R.B., Clarke, A.E. (1981): Style antigens of *Prunus avium* L. *Planta*, 153(2): 125–129.
435. Rahemi, A., Fatahi, R., Ebadi, A., Taghavi, T., Hassani, D., Gradziel, T., Folta, K., Chaparro, J. (2012): Genetic diversity of some wild almonds and related *Prunus* species revealed by SSR and EST-SSR molecular markers. *Plant. Syst. Evol.*, 298: 173–192.
436. Rahemi, A., Fatahi, R., Ebadi, A., Taghavi, T., Hassani, D., Gradziel, T., Chaparro, J. (2010): Genetic variation of *S*-alleles in wild almonds and their related *Prunus* species. *Aust. J. Crop Sci.*, 4(8): 648–659.
437. Ramanauskas, K., Igić, B. (2017): The evolutionary history of plant T2/*S*-type ribonucleases. *PeerJ*, 5: e3790.
438. Ramanauskas, K., Igić, B. (2021): RNase-based self-incompatibility in cacti. *New Phytol.*, 231(5): 2039–2049.
439. Rapaics, R. (1932): A növény felfedezése. Budapest, Magyar Szemle Társaság
440. Rapaics, R. (1940): A magyar gyümölcs. Királyi Magyar Természettudományi Társulat, Budapest
441. Richman, A.D., Kohn, J.R. (1996): Learning from rejection: the evolutionary biology of single-locus incompatibility. *Trends Ecol. Evol.*, 11(12): 497–502.
442. Romero, C., Vilanova, S., Burgos, L., Martínez-Calvo, J., Vicente, M., Llacer, G., Badenes, M.L. (2004): Analysis of the *S*-locus structure in *Prunus armeniaca* L. Identification of *S*-haplotype specific *S*-RNase and F-box genes. *Plant Mol. Biol.*, 56: 145–157.
443. Routley, M.B., Bertin, R.I., Husband, B.C. (2004): Correlated Evolution of Dichogamy and Self-Incompatibility: A Phylogenetic Perspective. *Int. J. Plant Sci.*, 165(6): 983–993.
444. Rucker, R.R., Thurman, W.N., Burgett, M. (2019): Colony collapse and the consequences of bee disease: market adaptation to environmental change. *J. Assoc. Environ. Res. Econom.*, 6(5): 927–960.
445. Ruiz, D., Rubio, M., Martínez-Gómez, P., López-Alcolea, J., Dicenta, F., Ortega, E., Egea, J. (2018): ‘Cebasred’ and ‘Primorosa’ apricots: Two new self-compatible, Plum pox virus (Sharka)–resistant, and very early ripening cultivars for the fresh market. *HortScience*, 53(12): 1919–1921.
446. Rzhetsky, A., Nei, M. (1992): A simple method for estimating and testing minimum evolution trees. *Mol. Biol. Evol.*, 9: 945–967.
447. Sáez, A., Aizen, M.A., Medici, S., Viel, M., Villalobos, E., Negri, P. (2020): Bees increase crop yield in an alleged pollinator-independent almond variety. *Sci. Rep.*, 10(1): 3177.

448. Saitou, N., Nei, M. (1987): The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4: 406–425.
449. Sajó, K. (1902): A gyümölcsfák termékenyülése. *Uránia Népszerű Tudományos Folyóirat, Uránia Magyar Tudományos Egyesület*, III (1), 10–15.
450. Sánchez-Pérez, R., Dicenta, F., Martínez-Gómez, P. (2004): Identification of *S*-alleles in almond using multiplex PCR. *Euphytica*, 138: 263–269.
451. Sanzol, J., Herrero, M. (2001): The “effective pollination period” in fruit trees. *Sci. Hortic.*, 90(1-2): 1–17.
452. Sapir, G., Stern, R. A., Shafir, S., and Goldway, M. (2007). Multiple introduction of honeybee colonies increases cross-pollination, fruit set and yield of ‘Black Diamond’ Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 82: 590–596.
453. Sapir, G., Stern, R. A., Shafir, S., and Goldway, M. (2008). *S*-RNase based *S*-genotyping of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) and its implication on the assortment of cultivar couples in the orchard. *Sci. Hortic.*, 118(1): 8–13.
454. 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. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 79: 223–227.
455. Sassa, H. (2016): Molecular mechanism of the *S*-RNase-based gametophytic self-incompatibility in fruit trees of *Rosaceae*. *Breed. Sci.*, 66: 116–121.
456. Sassa, H., Hirano, H., Ikehashi, H. (1992): Self-incompatibility-related RNases in styles of Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehd.). *Plant Cell Physiol.*, 33(6): 811–814.
457. Sassa, H., Kakui, H., Miyamoto, M., Suzuki, Y., Hanada, T., Ushijima, K., Koba, T. (2007): *S* locus F-box brothers: multiple and pollen-specific F-box genes with *S* haplotype-specific polymorphisms in apple and Japanese pear. *Genetics*, 175(4): 1869–1881.
458. Sassa, H., Nishio, T., Koyama, Y., Hirano, H., Koba, T., Ikehashi, H. (1996): Self-incompatibility (*S*) alleles of the *Rosaceae* encode members of a distinct class of the T2/S ribonuclease superfamily. *Mol. Gen. Genetics*, 250(5): 547–557.
459. Sattler, M.C., Carvalho, C.R., Clarindo, W.R. (2016): The polyploidy and its key role in plant breeding. *Planta*, 243(2): 281–296.
460. Sawada, H., Morita, M., Iwano, M. (2014): Self/non-self-recognition mechanisms in sexual reproduction: new insight into the self-incompatibility system shared by flowering plants and hermaphroditic animals. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 450(3): 1142–1148.
461. Sawamura, Y., Takada, N., Yamamoto, T., Saito, T., Kimura, T., Kotobuki, K. (2008): Identification of parent-offspring relationships in 55 Japanese pear cultivars using *S*-RNase allele and SSR markers. *J. Jap. Soc. Hortic. Sci.*, 77(4): 364–373.
462. Schilberszky, K. (1908): A gyümölcsfák virág-biológiája és terméshozama. *Gyümölcskertész*, XVIII (17): 269.
463. Schneider, D., Stern, R.A., Goldway, M. (2005): A comparison between semi and fully compatible apple pollinators grown under suboptimal conditions. *HortSci.*, 40: 1280–1282.
464. Schueler, S., Tusch, A., Scholz, F. (2006): Comparative analysis of the within-population genetic structure in wild cherry (*Prunus avium* L.) at the self-incompatibility locus and nuclear microsatellites. *Mol. Ecol.*, 15: 3231–3243.
465. Schuster, M. (2012): Incompatible (*S*-) genotypes of sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.). *Sci. Hortic.*, 148: 59–73.
466. Schuster, M. (2020): Self-incompatibility (*S*) genotypes of cultivated sweet cherries - an overview update 2020. *Open Agrar Repos.*, 20201016–141600.
467. Schuster, M., Flachowsky, H., Köhler, D. (2007): Determination of self-incompatible genotypes in sweet cherry (*Prunus avium* L.) accessions and cultivars of the German Fruit Gene Bank and from private collections. *Plant Breed.*, 126(5): 533–540.
468. Sharafi, Y., Mohammadi, S.A., Hajilou, J., Dejampour, J. (2009): Identification of self-incompatibility alleles in some almond genotypes by PCR analysis. In V International Symposium on Pistachios and Almonds 912: 629–633.
469. Sijacic, P., Wang, X., Skirpan, A. L., Wang, Y., Dowd, P.E., McCubbin, A.G., Huang, S., Kao, T.H. (2004): Identification of the pollen determinant of *S*-RNase-mediated self-incompatibility. *Nature*, 429(6989): 302–305.
470. Silva, N.F., Goring, D.R. (2001): Mechanisms of self-incompatibility in flowering plants. *Cell. Mol. Life Sci.*, 58(14): 1988–2007.
471. Slatkin, M. (1995): A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457–462.
472. Slatkin, M., Barton, N.H. (1989): A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution*, 43: 1349–1368.
473. Socias i Company R. (2004) The contribution of *Prunus webbii* to almond evolution. *Plant Genet Resour News* 14:9–13
474. Socias i Company, R. (1990): Breeding self-compatible almonds. *Plant Breed. Rev.*, 8: 313–338.
475. Socias i Company, R., Kester, D.E., Bradley, M.V. (1976): Effects of temperature and genotype on pollen tube growth in some self-incompatible and self-compatible almond cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 101: 490–493.
476. Socias i Company, R., Kodad, O., i Martí, A.F., Alonso, J.M. (2015): Mutations conferring self-compatibility in *Prunus* species: From deletions and insertions to epigenetic alterations. *Sci. Hortic.*, 192: 125–131.
477. Sonneveld, T., Robbins, T.P., Bošković, R., Tobutt, K.R. (2001): Cloning of six sweet cherry self-incompatibility alleles and development of allelespecific PCR detection. *Theor. Appl. Gen.*, 102: 1046–1055.
478. Sonneveld, T., Robbins, T.P., Tobutt, K.R. (2006): Improved discrimination of self-incompatibility *S*-RNase alleles in cherry and high throughput genotyping by automated sizing of first intron polymerase chain reaction products. *Plant Breed.*, 125(3): 305–307.
479. 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. *Theoretical and Applied Genetics*. 107: 1059–1070.
480. Sonneveld, T., Tobutt, K.R., Vaughan, S.P., Robbins, T.P. (2005): Loss of pollen-*S* function in two self-compatible selections of *Prunus avium* is associated with deletion/mutation of an *S* haplotype-specific F-box gene. *Plant Cell*, 17: 37–51.
481. Stéger-Máté, M. (2006): Speciality fruits unique to Hungary. *Handbook of Fruits and Fruit Processing*, 665.
482. Steinbachs, J.E., Holsinger, K.E. (2002): *S*-RNase-mediated gametophytic self-incompatibility is ancestral in Eudicots. *Mol. Biol. Evol.*, 19(6): 825–829.

483. Stern, R. A., Dag, A., Zisovich, A., Shafir, S., Goldway, M. (2004): Sequential introduction of honeybee colonies increases cross-pollination, fruit-set and yield of 'Spadona' pear (*Pyrus communis* L.): J. Hortic. Sci. Biotech., 79: 652–658.
484. Stern, R.A., Dag, A., Zisovich, A., Eisikowitch, D. (2001): Sequential introduction of honeybee colonies and doubling their density increases cross-pollination, fruit-set and yield in 'Red Delicious' apple. J. Hortic. Sci. Biotech., 76: 17–23.
485. Stone, J.L. (2004): Sheltered load associated with *S*-alleles in *Solanum carolinense*. Heredity, 92: 335–342.
486. Sulusoglu, M., Cavusoglu, A. (2014a): Pollination biology of cherry laurel and pollinizer effects on fruit characteristics. YYU Tar. Bil. Derg., 24: 280–289.
487. Sulusoglu, M., Cavusoglu, A. (2014b): *In vitro* pollen viability and pollen germination in cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.). The Sci. World J., 1–7.
488. Surányi, D. (1982): A szenvedelmes kertész rácsudálkozásai. Magvető Kiadó Budapest, 170–178.
489. Surányi, D. (szerk.): (2019): A házi szilva. Magyarország Kultúrflórája, Szent István Egyetemi Kiadó
490. Sutherland, B.G., Cerović, R., Robbins, T.P., Tobutt, K.R. (2009): The myrobalan (*Prunus cerasifera* L.): a useful diploid model for studying the molecular genetics of self-incompatibility in plums. Euphytica, 166(3): 385–398.
491. Sutherland, B.G., Robbins, T.P., Tobutt, K.R. (2004): Primers amplifying a range of *Prunus S*-alleles. Plant Breed., 123: 582–584.
492. Sutherland, B.G., Tobutt, K.R., Robbins, T.P. (2008): Trans-specific *S*-RNase and *SFB* alleles in *Prunus* self-incompatibility haplotypes. Mol. Gen. Genom., 279: 95–106.
493. Swayne, G. (1822): On fertilizing the blossoms of pear trees. Hortic. Trans., V. 208–212.
494. Szabó, Z., Nyéki, J. (1991): Blossoming, fructification and combination of apricot varieties. Acta Hort., 293: 295–302.
495. Szabó, Z. (2017): A kajszi fajtahasználatának tendenciái. Agroforum Online. <https://agroforum.hu/szakcikkek/gyumolcs/a-kajszi-fajtahasznalatanak-tendenciai/>
496. Szabó, T. (2007): Az északkelet-magyarországi meggy tájfajta szelekció eredményei és gazdasági jelentősége. Doktori disszertáció. Budapesti Corvinus Egyetem.
497. Szalay, L. (2011): Korszerű kertészet. Gyümölcsfajta-értékelés. A kajszi. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest. 82–108.
498. Szikriszt, B., Doğan, A., Ercisli, S., 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. Tree Genet. Genomes, 9: 155–165.
499. Szikriszt, B., Hegedűs, A., Halász, J. (2011): Review of genetic diversity studies in almond (*Prunus dulcis*). Acta Agron. Hung., 59: 379–395.
500. Tahan, O., Geng, Y., Zeng, L., Dong, S., Chen, F., Chen, J., Song, Z., Zhong, Y. (2009): Assessment of genetic diversity and population structure of Chinese wild almond, *Amygdalus nana*, using EST-and genomic SSRs. Biochem. Syst. Ecol., 37: 146–153.
501. Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011): MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol. Biol. Evol., 28(10): 2731–2739.
502. 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. Theor. Appl. Genet., 101: 344–349.
503. Tao, R., Habu, T., Namba, A., Yamane, H., Fuyuhiro, F., Iwamoto, K., Sugiura, A. (2002): Inheritance of *S*-RNase in Japanese apricot (*Prunus mume*) and its relation to self-compatibility. Theor. Appl. Genet., 105(2): 222–228.
504. Tao, R., Habu, T., Yamane, H., Sugiura, A., Iwamoto, K. (2000): Molecular markers for self-compatibility in Japanese apricot (*Prunus mume*). HortScience, 35(6): 1121–1123.
505. Tao, R., Iezzoni, A.F. (2010): The *S*-RNase-based gametophytic self-incompatibility system in *Prunus* exhibits distinct genetic and molecular features. Sci. Hortic., 124(4): 423–433.
506. Tao, R., Namba, A., Yamane, H., Fuyuhiro, Y., Watanabe, T., Habu, T., Sugiura, A. (2003): Development of the *S*-RNase gene-specific PCR primer set for Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.). Hortic. Res., 2: 237–240.
507. Tao, R., Watari, A., Hanada, T., Habu, T., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Yamane, H. (2007): Self-compatible peach (*Prunus persica*) has mutant versions of the *S* haplotypes found in self-incompatible *Prunus* species. Plant Mol. Biol., 63(1): 109–123.
508. Tao, R., Yamane, H., Sassa, H., Mori, H., Gradziel, T.M., Dandekar, A.M., Sugiura, A. (1997): Identification of stylar RNases associated with gametophytic self-incompatibility in almond (*Prunus dulcis*). Plant Cell Physiol., 38(3): 304–311.
509. Tao, R., Yamane, H., Sugiura, A., Murayama, H., Sassa, H., Mori, H. (1999): Molecular typing of *S*-alleles through identification, characterization and cDNA cloning for *S*-RNases in sweet cherry. J. Am. Soc. Hort. Sci., 124(3): 224–233.
510. Tautz, J, Zhang, S., Spaethe, J., Brockmann, A., Si, A., Srinivasan, M. (2004): Honeybee odometry: performance in varying natural terrain. PLoS Biol., 2: e211.
511. Terpó, A. (1974): Gyümölcsstermő növényeink rendszertana és földrajza. In: Gyuró F (ed) A gyümölcsstermesztés alapjai. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 139–219.
512. Testolin, R., Messina, R., Lain, O., Marrazzo, M.T., Huang, W.G., Cipriani, G. (2004): Microsatellites isolated in almond from an AC-repeat enriched library. Mol. Ecol. Notes, 4: 459–461.
513. Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. (1994): CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res., 22: 4673–4680.
514. Tobutt, K.R., Bošković, R., Cerović, R., Sonneveld, T., Ružić, Đ. (2004): Identification of incompatibility alleles in the tetraploid species sour cherry. Theor. Appl. Genet., 108(5): 775–785.
515. Tobutt, K.R., Sonneveld, T., Bekefi, Z., Bošković, R. (2005): Cherry (in)compatibility genotypes - an updated cultivar table. Acta Hort., 663: 667–671.
516. Töltényi, Sz. (1820): A' Plántáknak és Gyümölcsöknek Virágok által való megnevelésük módja. Tudományos Gyűjtemény, 4(5): 82–87.
517. Tóth, E. (1975): Clone selection of the cultivar 'Besztercei'. Acta Hort., 48: 111–120.
518. Tóth, M., Bujdosó, G. (2011): Gyümölcsstermesztés és fajtahasználat. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest.

519. Triest, L., Trung, L.Q., Haque Talukder, A.M., Van Puyvelde, K. (2009): Nuclear cyp73 intron fragment length polymorphism supports morphological analysis of *Salix* species and hybrids. *Plant Biosyst.*, 143(3): 555–563.
520. Tsai, D.S., Lee, H.S., Post, L.C., Kreiling, K.M., Kao, T. (1992): Sequence of an *S*-protein of *Lycopersicon peruvianum* and comparison with other solanaceous *S*-proteins. *Sex. Plant Reprod.*, 5: 256–263.
521. Tsukamoto, T., Hauck, N.R., Tao, R., Jiang, N., Iezzoni A.F. (2006): Molecular characterization of three non-functional *S*-Haplotypes in sour cherry (*Prunus cerasus*). *Plant Mol. Biol.*, 62(3): 371–383.
522. Tsukamoto, T., Hauck, N.R., Tao, R., Jiang, N., 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.). *Genetics*, 184(2): 411–427.
523. Tsukamoto, T., Potter, D., Tao, R., Vieira, C.P., Vieira, J., Iezzoni, A.F. (2008a): Genetic and molecular characterization of three novel *S*-haplotypes in sour cherry (*Prunus cerasus* L.). *J. Exp. Bot.*, 59: 3169–3185.
524. Tsukamoto, T., Tao, R., Iezzoni, A. F. (2008b): PCR markers for mutated *S*-haplotypes enable discrimination between self-incompatible and self-compatible sour cherry selections. *Mol. Breed.*, 21(1): 67–80.
525. Tufts, W.P., Philp, G.L. (1922): Almond pollination. California Agricultural Experimental Station Bulletin, 346: 35.
526. Tufts, W.P., Philp, G.L. (1923): Almond pollination (Vol. 346). University of California Press.
527. Ushijima, K., Sassa, H., Dandekar, A.M., Gradziel, T.M., Tao, R., Hirano, H. (2003): Structural and transcriptional analysis of the self-incompatibility locus of almond: identification of a pollen-expressed F-box gene with haplotype-specific polymorphism. *The Plant Cell*, 15(3): 771–781.
528. Ushijima, K., Sassa, H., Tamura, M., Kusaba, M., Tao, R., Gradziel, T. M., Hirano, H. (2001): Characterization of the *S*-locus region of almond (*Prunus dulcis*): analysis of a somaclonal mutant and a cosmid contig for an *S* haplotype. *Genetics*, 158(1): 379–386.
529. Ushijima, K., Sassa, H., Tao, R., Yamane, H., Dandekar, A.M., Gradziel, T.M., Hirano, H. (1998): Cloning and characterization of cDNAs encoding *S*-RNases from almond (*Prunus dulcis*): primary structural features and sequence diversity of the *S*-RNases in *Rosaceae*. *Mol. Gen. Genet.*, 260: 261–268.
530. Ushijima, K., Yamane, H., Watari, A., Kakehi, E., Ikeda, K., Hauck, N.R., Iezzoni, A.F., Tao, R.T. (2004): The *S* haplotype-specific F-box protein gene, *SFB*, is defective in self-compatible haplotypes of *Prunus avium* and *P. mume*. *Plant J.*, 39: 573–586.
531. Van de Peer, Y., Ashman, T.L., Soltis, P.S., Soltis, D.E. (2021): Polyploidy: an evolutionary and ecological force in stressful times. *The Plant Cell*, 33(1): 11–26.
532. Varadi, M., Anyango, S., Deshpande, M., Nair, S., Natassia, C., Yordanova, G., et al. & Velankar, S. (2022). AlphaFold Protein Structure Database: massively expanding the structural coverage of protein-sequence space with high-accuracy models. *Nucleic Acids Res.*, 50: D439–D444.
533. Vardi, A., Levin, I., Carmi, N. (2008): Induction of seedlessness in citrus: from classical techniques to emerging biotechnological approaches. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 133: 117–126.
534. Varga, F. (1942): A Germersdorfi cseresznye megtermékenyüléséről. *Kertészeti Szemle*, XIV(3): 40–42.
535. Vaughan, S.P., Bošković, R.I., Gisbert-Climent, A. Russell, K., Tobutt, K.R. (2008): Characterisation of novel *S*-alleles from cherry (*Prunus avium* L.). *Tree Genet. Genomes* 4: 531–541.
536. Vaughan, S.P., Russell, 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. *Theor. Appl. Genet.*, 112(5): 856–866.
537. Vavilov, N.I. (1926): The mountainous districts as the home of agriculture. *Studies on the origin of cultivated plants*. *Bul. Appl. Bot. in: Plant Breeding*, 16: 218–220. 251.
538. Vavilov, N.I. (1951): Phytogeographic basis of plant breeding. *Chronica Botanica.*, 13–54.
539. Velasco, D., Hough, J., Aradhya, M., Ross-Ibarra, J. (2016): Evolutionary genomics of peach and almond domestication. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 6(12): 3985–3993.
540. Verde, I., Abbott, A.G., Scalabrin, S., Jung, S., Shu, S., et al. (2013): The high-quality draft genome of peach (*Prunus persica*) identifies unique patterns of genetic diversity, domestication and genome evolution. *Nat. Gen.*, 45(5), 487–494.
541. Veron, V., Caron, H., Degen, B. (2005): Gene flow and mating system of the tropical tree *Sextonia rubra*. *Silvae Genet.*, 54: 275–280.
542. Vieira, J., Morales-Hojas, R., Santos, R.A., Vieira, C.P. (2007): Different positively selected sites at the gametophytic self-incompatibility pistil *S*-RNase gene in the *Solanaceae* and *Rosaceae* (*Prunus*, *Pyrus*, and *Malus*). *J. Mol. Evol.*, 65(2): 175–185.
543. Vieira, J., Pimenta, J., Gomes, A., Laia, J., Rocha, S., Heitzler, P., Vieira, C.P. (2021): The identification of the *Rosa* *S*-locus and implications on the evolution of the *Rosaceae* gametophytic self-incompatibility systems. *Sci. Rep.*, 11(1): 1–12.
544. Vilanova, S., Badenes, M.L., Burgos, L., Martínez-Calvo, J., Llácer, G., Romero, C. (2006): Self-compatibility of two apricot selections is associated with two pollen-part mutations of different nature. *Plant Physiol.*, 142: 629–641.
545. 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. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 130: 893–898.
546. Walsh, P.S., Erlich, H.A., Higuchi, R. (1992): Preferential PCR amplification of alleles: mechanisms and solutions. *PCR Methods Applicat.*, 1: 241–250.
547. Wang, L., Peng, Q., Zhao, J., Ren, F., Zhou, H., Wang, W., Han, Y. (2016): Evolutionary origin of *Rosaceae*-specific active non-autonomous *hAT* elements and their contribution to gene regulation and genomic structural variation. *Plant Mol. Biol.*, 91(1-2): 179–191.
548. Wang, Z., Kang, M., Liu, H., Gao, J., Zhang, Z., Li, Y., Wu, R., Pang, X. (2014): High-level genetic diversity and complex population structure of Siberian apricot (*Prunus sibirica* L.) in China as revealed by nuclear SSR markers. *PloS One*, 9: e87381.
549. Watanabe, M., Suzuki, G., Takayama, S. (2008): Milestones identifying self-incompatibility genes in *Brassica* species: from old stories to new findings, in *Self-incompatibility in flowering plants – evolution, diversity, and mechanisms*. Ed. V.E. Franklin-Tong (Berlin Heidelberg: Springer Verlag), 151–172.
550. Waugh, F.A. (1896): The pollination of plums. Vermont Agricultural Experiment Station.

551. Wicker, T., Sabot, F., Hua-Van, A., Bennetzen, J.L., Capy, P., Chalhoub, B., Schulman, A. H. (2007): A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nat. Rev. Gen.*, 8(12): 973–982.
552. 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. *Planta*, 156(6), 517–519.
553. Wöhner, T.W., Emeriewen, O.F., Wittenberg, A.H., Schneiders, H., Vrijenhoek, I., Halász, J., Hrotkó, K., et al., Flachowsky, H. (2021): The draft chromosome-level genome assembly of tetraploid ground cherry (*Prunus fruticosa* Pall.) from long reads. *Genomics*, 113(6): 4173–4183.
554. Wojcicki, J.J. (1991): *Prunus x stacei* (Rosaceae), a new spontaneous hybrid of *P. fruticosa*, *P. cerasus* and *P. avium*. *Fragm. Flor. Geobot.* 35(1–2): 139–142.
555. Wood, M.N. (1925): Almond varieties in the United States. U.S. Dept. of Agr. Tech. Bul. 1282: 1–142.
556. Woodcock, T.S. (2012): Pollination in the Agricultural Landscape in Best Management Practices for Crop Pollination (Univ. of Guelph: Canadian Pollination Initiative NSERC-CANPOLIN), 1–113.
557. Woodward, J.R., Bacic, A., Jahnen, W., Clarke, A.E. (1989): N-linked glycan chains on S-allele-associated glycoproteins from *Nicotiana glauca*. *The Plant Cell*, 1: 511–514.
558. Wright, S.I., Kalisz, S., Slotte, T. (2013): Evolutionary consequences of self-fertilization in plants. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1760): 20130133.
559. Wu, J., Gu, C., Khan, M.A., Wu, J., Gao, Y., Wang, C., Zhang, S. (2013): Molecular determinants and mechanisms of gametophytic self-incompatibility in fruit trees of Rosaceae. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 32(1): 53–68.
560. Wu, J., Gu, C., Zhang, S.L., Zhang, S.J., Wu, H.Q., Heng, W. (2009): Identification of S-haplotype-specific S-RNase and SFB alleles in native Chinese apricot (*Prunus armeniaca* L.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 84: 645–652.
561. Wünsch, A., Hormaza, J.I. (2004): Cloning and characterization of genomic DNA sequences of four self-incompatibility alleles in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 108: 299–305.
562. Xie, C.M., Wei, W., Sun, Y. (2013): Role of SKP1-CUL1-F-box-protein (SCF) E3 ubiquitin ligases in skin cancer. *J. Genet. Genom.*, 40(3): 97–106.
563. Xie, H., Sui, Y., Chang, F.Q., Xu, Y., Ma, R.C. (2006): SSR allelic variation in almond (*Prunus dulcis* Mill.). *Theor. Appl. Genet.*, 112: 366–372.
564. Xu, G., Ma, H., Nei, M., Kong, H. (2009): Evolution of F-box genes in plants: different modes of sequence divergence and their relationships with functional diversification. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 106(3): 835–840.
565. Xu, Y., Ma, R.C., Xie, H., Liu, J.T., Cao, M.Q. (2004): Development of SSR markers for the phylogenetic analysis of almond trees from China and the Mediterranean region. *Genome*, 47: 1091–1104.
566. Xu, Y., Zhang, Q., Zhang, X., Jian, W., M., Ayup, B., Yang, G., Gong, P., Dong, W. (2022): The proteome reveals the involvement of serine/threonine kinase in the recognition of self-incompatibility in almond. *J. Prot.*, 256: 104505.
567. Xue, Y., Carpenter, R., Dickinson, H.G., Coen, E.S. (1996): Origin of allelic diversity in antirrhinum S locus RNases. *The Plant Cell*, 8(5): 805–814.
568. Yamane, H., Fukuta, K., Matsumoto, D., Hanada, T., Mei, G., Esumi, T., Tao, R. (2009): Characterization of a novel self-compatible S₃' haplotype leads to the development of a universal PCR marker for two distinctly originated self-compatible S haplotypes in Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.). *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.*, 78(1): 40–48.
569. Yamane, H., Ikeda, K., Hauck, N. R., Iezzoni, A. F., Tao, R. (2003a): Self-incompatibility (S) locus region of the mutated S₆-haplotype of sour cherry (*Prunus cerasus*) contains a functional pollen S allele and a non-functional pistil S allele. *J. Exp. Bot.*, 54(392): 2431–2437.
570. 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*. *Plant Cell Physiol.*, 44: 764–769.
571. Yamane, H., Tao, R. (2019): Molecular and Developmental Biology: Self-incompatibility. In *The Prunus mume Genome*, Springer, Cham.
572. Yamane, H., Tao, R., Murayama, H., Ishiguro, M., Abe, Y., Soejima, J., Sugiura, A. (2000): Determining S-genotypes of two sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars, 'Takasago (Rockport Bigarreau)' and 'Hinode (Early Purple)'. *J. Jap. Soc. Hortic. Sci.*, 69(1): 29–34.
573. Yamane, H., Tao, R., Sigiura, A. (1999): Identification and cDNA cloning for S-RNases in self-incompatible Japanese plum (*Prunus salicina* Lind. cv Sordum). *Plant Biotechnol.*, 16: 389–396.
574. 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*). *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 126(6): 661–667.
575. Yang, H., Tian, C., Li, X., Gong, H., & Zhang, A. (2021): Transcriptome co-expression network analysis identifies key genes and regulators of sweet cherry anthocyanin biosynthesis. *Horticulturae*, 7(6): 123.
576. Yang, L., Jin, G., Zhao, X., Zheng, Y., Xu, Z., Wu, W. (2007): PIP: a database of potential intron polymorphism markers. *Bioinformatics*, 23(16): 2174–2177.
577. Yang, X., Kalluri, U.C., Jawdy, S., Gunter, L.E., Yin, T., Tschaplinski, T.J., Tuskan, G.A. (2008): The F-box gene family is expanded in herbaceous annual plants relative to woody perennial plants. *Plant Physiol.*, 148(3): 1189–1200.
578. Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T.B., Ye, Z.H., Mao, J.X. (1997): POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. *Mol. Biol. Biotechnol.*, University of Alberta, Canada, 10: 295–301.
579. Yezhov, V.N., Smykov, A.V., Khokhlov, S.Y., Zaurov, D.E., Mehlenbacher, S.A., Molnar, T.J., Goffreda, J.C., Funk, C.R. (2005): Genetic resources of temperate and subtropical fruit and nut species at the Nikita Botanical Gardens. *HortSci*, 40: 5–9.
580. Yilmaz, K.U., Basbug, B., Gurcan, K., Pinar, H., Halasz, J., Ercisli, S., Uzun, A., Cocen, E. (2016): S-Genotype profiles of Turkish apricot germplasm. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca*, 44(1): 67–71.
581. Zeinalabedini, M., Khayam-Nekoui, M., Grigorian, V., Gradziel, T.M., Martínez-Gómez, P. (2010): The origin and dissemination of the cultivated almond as determined by nuclear and chloroplast SSR marker analysis. *Sci. Hortic.*, 125: 593–601.

582. Zeinalabedini, M., Sohrabi, S., Nikoumanesh, K., Imani, A., Mardi, M. (2012): Phenotypic and molecular variability and genetic structure of Iranian almond cultivars. *Plant Syst. Evol.*, 298: 1917–1929.
583. Zhang, L., Chen, X., Chen, X.L., Zhang, C., Liu, X., Ci, Z.J., Zhang, H., Wu, C., Liu, C. (2008a): Identification of self-incompatibility (*S*-) genotypes of Chinese apricot cultivars. *Euphytica*, 160: 241–248.
584. Zhang, S.J., Huang, S.X., Heng, W., Wu, H.Q., Wu, J., Zhang, S.L. (2008b): Identification of *S*-genotypes in 17 Chinese cultivars of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) and molecular characterisation of 13 novel *S*-alleles. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 83: 635–640.
585. Zhang, S.L., Huang, S.X., Kitashiba, H., Nishio, T. (2007): Identification of *S*-haplotype-specific F-box gene in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Sex. Plant Reprod.*, 20: 1–8.
586. Zhao, H., Zhang, Y., Zhang, H., Song, Y., Zhao, F., Zhang, Y. E., Xue, Y. (2022): Origin, loss, and regain of self-incompatibility in angiosperms. *The Plant Cell*, 34(1): 579–596.
587. Zhebentyayeva, T., Ledbetter, C., Burgos, L., Llácer, G. (2012): Apricot. In: *Fruit Breeding, Handbook of Plant Breeding, Volume 8*, Edited by Badenes, M.L., Byrne, D. Heidelberg: Springer Verlag, :415–458.
588. Zhebentyayeva, T., Shankar, V., Scorza, R., Callahan, A., Ravelonandro, M., Castro, S., DeJong, T., Saski, C.A., Dardick, C. (2019): Genetic characterization of worldwide *Prunus domestica* (plum) germplasm using sequence-based genotyping. *Hortic. Res.*, 6: 12.
589. Zisovich, A., Stern, R. A., Shafir, S., Goldway, M. (2005): Fertilisation efficiency of semi and fully-compatible European pear (*Pyrus communis*) cultivars. *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 80: 143–146.
590. Zisovich, A.H., Stern, R.A., Sapir, G., Shafir, S., Goldway, M. (2004): The RHV region of *S*-RNase in the European pear (*Pyrus communis*) is not required for the determination of specific pollen rejection. *Sex. Plant Reprod.*, 17: 151–156.
591. Zohary, D., Hopf, M. (2001): *Domestication of plants in the Old World*. Oxford University Press.
592. Zuriaga, E., Molina, L., Badenes, M.L., Romero, C. (2012): Physical mapping of a pollen modifier locus controlling self-incompatibility in apricot and synteny analysis within the Rosaceae. *Plant Mol. Biol.*, 79: 229–242.
593. Zuriaga, E., Munoz-Sanz, J.V., Molina, L., Gisbert, A.D., Badenes, M.L., Romero, C. (2013): An *S*-locus independent pollen factor confers self-compatibility in ‘Katy’ apricot. *PLoS One*, 8(1): e53947.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsősorban Férjemnek, *Attilának (Prof. Hegedűs Attila)* köszönöm, hogy az első közös pillanatunktól kezdve messzemenőig támogat mindenben. A tudományos munkák ötletétől kezdve, a kísérletek elindításán és kivitelezésén át az eredmények közzétételéig minden lépést igyekezett megtanítani nekem, példaképként tekinthetek rá. Mindemellett ikergyermekeinket is nagy egyetértésben neveljük, így a szeretettel teli otthoni háttér döntő fontosságú abban, hogy szakmailag erre a szintre érhettem.

Dolgozatomat *Prof. Nyéki József (†)* emlékének ajánlom. Megtiszteltetés volt számomra, hogy a hazai virágzásbiológia úttörőjeként kezdettől fogva mentorált engem. Számos olyan lehetőséget biztosított, ami később meghatározó volt a munkánk hazai és nemzetközi elismerésében. Folyamatosan és kitartóan biztatott az MTA doktora cím megszerzésére. Soha nem gondoltam volna, hogy pont ő nem lehet majd ott, ha erre sor kerül. Emlékét és szakmai örökségét szeretettel őrzöm.

Köszönöm egykori PhD témavezetőmnek, *Prof. Pedryc Andrzejnek (†)*, hogy „megtalálta” számomra ezt a kutatási témát, amit 2003-ban kezdhettem el.

A dolgozatban összesen 482 tétel szerepel a vizsgált növényanyagot illetően. Ez a gazdag és felbecsülhetetlen értékű DNS-gyűjtemény csak úgy kerülhetett hozzánk, hogy elhivatott, a gyümölcsfák értékét hirdető kutatókkal sikeres együttműködéseket kötöttünk mind hazai, mind pedig a nemzetközi szinten. Ennek köszönhetően jutottunk hozzá a világ számos pontjáról származó olyan fajtákhoz és vadon élő egyedekhez, melyek közül több kifejezetten kulcsfontosságúnak bizonyult az eredményeink elérésében, az öntermékenyülés titkainak megfejtésében. Köszönetként szeretném felsorolni mindannyiukat, aki ebben részt vett: *Dr. Craig Ledbetter* (USA), *Prof. Sezai Ercisli* (Törökország), *Dr. Ossama Kodad* (Marokkó), *Dr. Amal Lachkar* (Tunézia), *Dr. Szabó Tibor*, *Szőke Ferenc*, *Dr. Gutermuth Ádám*, *Prof. Hrotkó Károly*, *Skola István*, *Rácz-Szabó Róbert* és *Mórucz István*.

Köszönöm doktorandusz, diplomázó és tudományos diákkörös hallgatóimnak a lelkes részvételüket, bekapcsolódásukat a kutatási programunkba. Visszajelzéseik alapján mondhatom, hogy e témákkal dolgozva jó alapként tudtak elindulni szakmai karrierjükben és büszke vagyok rájuk, hogy ennek értékét megbecsülik. A dolgozatban szereplő területek közül az alábbi hallgatóimat illeti nagy köszönet az értékes hozzájárulásukért: *Dr. Fodor Ágota* (mandula), *Dr. Taller Dénes* (kajszi), *Dr. Szikriszt Bernadett* (kajszi), *Makovicsné Dr. Zsohár Noémi* (szilva), *Balogh Emese* (meggy), *Molnár Anna Borbála* (babérmeggy), *Galiba Gábor Máté* (mandula) és *Szendy Gergő* (szilva). Az OTDK versenyekre történő felkészülés nekem is meghatározó és nagy élmény volt minden alkalommal.

Hálás vagyok a jelenlegi tanszékünk *Kertészeti növénygenetika csoportjának* a támogatásért, együttműködésért és a jó kapcsolatainkért. Köszönöm *Hermán Rita* sokrétű és folyamatos segítségét, hiszen ő mindenre odafigyel, még olyanokra is, ami nekem nem jutna eszembe, így megbízható, stabil hátteret teremt. Köszönöm *Benyóné Dr. György Zsuzsanna* kezdettől fogva tartó barátságát, segítőkészségét és problémamegoldó-hajlandóságát, hiszen bármilyen váratlan nehézség bukkan fel a 20-as laborban, valamilyen módon (általában jókedvűen) mindig próbálunk felülkerekedni rajta. A laborban nyújtott technikai segítségét köszönöm *Chicki Melisának*.

Köszönöm az egykori *Genetika és Növénynevelés Tanszék* összes munkatársának valamennyi segítségét és a barátságos légkört, amire mindig jószívvel gondolok vissza: a laboratóriumi munkákban *Bacskainé Papp Anna*, a szabadföldi munkákban *Tóth Vera* és *Gyurcsáné Millei Ágnes* segített. Egykori munkahelyi vezetőmként *Prof. Tóth Magdolna* támogatását köszönöm, valamint a gyümölcsészet szakma oldaláról *Dr. Szalay Lászlónak*, *Kovácsné Dr. Békefi Zsuzsannának*, *Dr. Szabó Zoltánnak*. A meggyadatok bioinformatikai

kiértékelésében *Dr. Tóth Endre György* segített. Köszönöm a mindig biztató és kedves szavait *Stefanovitsné Dr. Bányai Évának* és *Nagyné Dr. Sárdi Évának*.

Köszönöm *Prof. Posta Katalin* (Genetika és Biotechnológia Intézet) intézetigazgató asszony mindenkori támogatását és kutatócsoportunkba vetett bizalmát. Köszönöm az *egyetem vezetőségének*, hogy lehetőséget teremtettek az egyetemi tanári kinevezésemhez, amely nagyrészt a dolgozatomban bemutatott eredményeknek köszönhető.

Munkáink sikerességét az alábbi *kutatási pályázatok* alapozták meg:

OTKA PD 78124 (A kajszi- és mandula genetikai diverzitásának és termékenyülésének jellemzése, a magyar fajták eredetének molekuláris vizsgálata)

Magyar-Marokkói Intézményközi Tét Együtműködés (Közép-Európai és marokkói kajszifajták termékenyülésének vizsgálata)

OTKA K 112554 (A poliploid gyümölcsfák termésbiztonságát befolyásoló néhány gén és génjelölt vizsgálata)

OTKA K 128874 (Gazdasági tulajdonságokat befolyásoló DNS-polimorfizmusok azonosítása és jellemzése diploid és poliploid gyümölcsfák esetében)

Külön kiemelendő, hogy személyes támogatást kaptam a *Magyar Tudományos Akadémiától*, amely nagy mértékben hozzájárult a dolgozat elkészüléséhez. Köszönetemet ezúton szeretném kifejezni az alábbi ösztöndíjakért és elismerésekért:

MTA Gyermeket nevelő kutatók támogatása (2022)

MTA Bolyai János Kutatói Ösztöndíj (2009-2013; 2014-2017) és MTA Bolyai-plakett (2014)

Nagyon köszönöm *Anyukámnak*, *Apukámnak* és *Nővéremnek* a mindenkori támogatását és a szeretetteljes háttérrel. Nélkülük nem érhettem volna el mindazt, ami itt bemutatásra került.