AZ ALMA ETILÉN BIOSZINTÉZISÉNEK GÁTLÁSA ÉS KÜLÖNBÖZŐ *FESTUCA* FAJOK TAXONÓMIAI ÖSSZEHASONLÍTÁSA MOLEKULÁRIS GENETIKAI MÓDSZEREKKEL

Doktori értekezés tézisei

Galli Zsolt

Gödöllő
2004

Doktori iskola: Növénytudományi Doktori Iskola

Vezetője: Dr. Virányi Ferenc
egyetemi tanár, MTA doktora
SZIE Növényvédelem Tanszék

Tudományos titkár: Dr. Gyulai Gábor
egyetemi docens, a biológiai tudományok doktora
SZIE Genetika és Növénynemesítés Tanszék

Tudományterület: 4. Agrártudományok

Tudományága: 4.1. Növénytermesztési és kertészeti tudományok

Program: Növénynemesítés Genetikai és Biotechnológiai módszerekkel

Programvezető: Dr. Heszky László
tanszékvezető egyetemi tanár, az MTA levelező tagja
SZIE Genetika és Növénynemesítés Tanszék

Témavezetők: Dr Kiss Erzsébet
egyetemi tanár, a mezőgazdaságtudomány kandidátusa
SZIE Genetika és Növénynemesítés Tanszék

Dr. Heszky László
tanszékvezető egyetemi tanár, az MTA levelező tagja
SZIE Genetika és Növénynemesítés Tanszék

……
Dr. Kiss Erzsébet
témavezető

……
Dr. Heszky László
program- és témavezető

…….
Dr. Virányi Ferenc
doktori iskola vezetője

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK

A biotechnológia már ma is a XXI. századi tudásalapú társadalom fejlődésének egyik meghatározó területe melynek jelentősége a jövőben várhatóan csak nőni fog. Az egyre kifinomultabb molekuláris technikák rutinszerű alkalmazása lehetővé teszi haszonnövényeink célirányos javítását úgy, hogy a hagyományos nemesítéssel kialakított kedvező jellegek változatlanul maradjanak. Emellett az alapkutatás szolgálatába állítva ezeket a molekuláris módszereket, a bennünket körülvevő élővilág fenotípusos megnyilvánulásánál mélyebb megismerésében nyújthat segítséget. A disszertáció témája is e két nagy területhez kapcsolódóan foglalja össze mind az alap-, mind az alkalmazott kutatásokban elért eredményeket.

1.1. Az alma etilén bioszintézisének molekuláris gátlása

Az ismert bioszintetikus utak gátlásával a növények életfolyamatai tudatosan blokkolhatók, vagy új alternatív utakra terelhetők. Az etilén bioszintézis lépéseinek tisztázása, valamint a génexpresszió molekuláris gátlásának lehetősége megteremtették az utat az érési folyamatokba történő géntechnológiai beavatkozáshoz is. Az ú.n. utóérő gyümölcsöknél, amelyek közé az alma is tartozik, az érés közvetlen kiváltó oka a jelentősen emelkedő (több százszorosra) etilén szint. Az autokatalitikus etiléntermelés beindítását először paradicsomban sikerült megakadályozni géntechnológiai módszerekkel az 1990-es évek elején. Ennek eredményeként elsők között került a piacra szobahőmérsékleten is hosszú ideig tárolható transzgénikus paradicsom. Ezekre az eredményekre alapozva kezdtük el kísérleteinket almával, melyek elsődleges *célja olyan etiléntermelésükben gátolt almavonalak előállítása volt, melyek gyümölcsei hosszabb ideig tárolhatóak minőségi romlás nélkül*. Ezáltal a tárolási költségek is csökkenthetők, mivel a gyümölcsök betakarítását követő ú.n. post-harvest érés késleltetésével nincs szükség szabályozható hűtőtárolókra. Ezen a területen elért eredményeink az első adatokat jelentik az etilén bioszintézist antiszensz gén bevitelével gátolt transzgénikus almák post-harvest viselkedésére vonatkozóan. Gazdasági jelentőségük mellett, az érési folyamat biokémiájának és fiziológiájának jobb megismeréséhez, tanulmányozásához és megértéséhez is segítségül szolgálhatnak.

1.2. Különböző *Festuca* fajok molekuláris taxonómiája

A földi élővilág rendszerezése kezdetben morfológiai, majd szövettani és citológiai alapon történt. Sok faj meghatározása és besorolása napjainkig is vitatott, melynek legfontosabb oka a fenotípusos taxonómiai bélyegek környezetfüggősége. Mivel molekuláris genetikai módszerek alkalmazásával a környezeti tényezők hatása eliminálható, ezért a fajok elkülönítésére alkalmas megbízható módszert a genomiális eltéréseik alapján működő DNS alapú markerek jelenthetik. Ezek a markerek reprezentálhatják a genom véletlen szakaszát (pl. RFLP, RAPD, AFLP …) vagy specifikus részét (SSR, EST, ITS …). A legértékesebb információt természetesen a szekvencia- majd funkcionális szintű összehasonlítás jelenti, azonban a teljes genomszekvencia napjainkig csak néhány faj esetében készült el. A molekuláris markerek azonban sok esetben nem támasztják alá a morfológiai bélyegek alapján kialakított faji határokat. A génregulációs különbségek, melyek a DNS metiláltsági mintázatának az eredményei, a legtöbb esetben nagyobb fenotípusos eltéréseket eredményezhetnek, mint magának a genetikai anyagnak a megváltozása. Ezért azonos genetikai háttér mellett is elképzelhetők nagy fenotípusos különbségek. A *Festuca* nemzetség néhány fajának besorolása napjainkban is vitatott. *Kísérleteink célja ezért az volt, hogy a legvitatottabb fajok molekuláris összehasonlításával új adatokat szolgáltassunk a hagyományos taxonómia eddigi eredményeihez.* A kísérleteinkben szereplő fajok molekuáris analízisével eddig még nem foglalkoztak.

Vizsgálatainkat molekuláris marker- valamint szekvencia szinteken is elvégeztük.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

M26 alany- és Royal Gala nemesfajtákat transzformáltunk az etilénbioszintézisben kulcsszerepet játszó ACC-szintáz enzimet kódoló *MdACS*2 gén antiszensz változatával. Ehhez kidolgoztuk az *in vitro* tenyészet indítását, fenntartását, felszaporítását; levélszövetből történő regenerációt, a regenerált hajtások gyökereztetését és akklimatizációját. A transzgén jelenlétét PCR technikával és Southern hibridizációval bizonyítottuk.

A transzgénikus gyümölcsöket a Cornell Egyetem genevai kutatóintézetében (New York State Agricultural Experiment Station, Department of Food Science and Technology, Geneva NY, USA) vizsgáltuk. A több, mint 150 különböző transzformációs eseményből származó transzgénikus fa (98 db Royal Gala, 57 db McIntosh) gyümölcseit szobahőmérsékleten és hidegen tárolva (5 °C) különböző időpontokban mértük az etiléntermelésüket gázkromatográffal, keménységüket penetrométerrel, az oldható anyagok mennyiségét refraktométerrel. Az ACC-szintáz enzimaktivitás méréséhez összfehérjét izoláltunk. Az *MdACS*2 gén expresszióját Northern hibridizációval vizsgáltuk a gyümölcsfejlődés és érés különböző időpontjaiban. Az etiléntermelésben legjobban gátlódott transzgénikus fákban az integrálódott transzgén(ek) kópiaszámát Southern hibridizációval határoztuk meg.

A *Festuca* fajok molekuláris taxonómiai vizsgálataiban, a *Festuca Ovinae* csoportba tartozó, a Kárpát-medencében megtalálható és a besorolás szempontjából legvitatottabb 10 faj (*F. dalmatica, F. javorkae, F. pallens, F. pseudodalmatica, F. pseudovina, F. rupicola, F. stricta, F. vaginata, F. valesiaca, F. wagneri*) szerepelt. A különböző élőhelyekről több év alatt gyűjtött és fenntartott fajok töveiből 129-et vizsgáltunk. A bizonytalan besorolású fajok esetében a fajok *locus classicus*-áról gyűjtött példányokat illetve herbáriumi növényeket is bevontunk. A RAPD és AP-PCR vizsgálatokban a mintákból élőhelyenként pool-okat képeztünk és 47 RAPD és 19 AP-PCR primert teszteltünk. A 14 polimorf mintázatot eredményező primer 111 db fragmentumának bináris kódjai szerepeltek alapadatként a statisztikai kiértékelésben (SPSS 8.0). Egyezési koefficienseket számoltunk páronkénti összehasonlítással, majd klaszter és kétdimenziós analízist is végeztünk.

Szekvenciális összehasonlításra a teljes ITS (internal transcribed spacer) régiót felszaporítottuk és ABI Prism 310 készülékkel szekvenáltuk a vizsgált 10 faj 27 egyedéből. A kapott szekvenciákat a Chromas 1.4 program segítségével szerkesztettük és a BioEdit programban rendeztük össze. A teljes *Festuca* nemzetség filogenetikai analíziséhez saját szekvenciáinkat kiegészítettük az összes eddig publikált és az NCBI génbankban leközölt több mint 100 különböző *Festuca* fajból származó ITS szekvbenciával. A szekvenciák összerendezését a ClustalW program segítségével végeztük, majd manuálisan javítottuk. Az így összerendezett szekvenciákat a MEGA 2.1 programban a „legnagyobb takarékosság" (Maximum Parsimony) módszerével elemeztük. A kapott filogenetikai fa pontosságának tesztelésére bootstrap vizsgálatot (250 ismétlésben) végeztünk.

A vizsgálatokban szereplő *Festuca* fajok pontos ploidfokát PARTEC I típusú flow citométerrel határoztuk meg.

3. AZ EREDMÉNYEK

A dolgozat két - első pillanatban távolinak tűnő - kutatási területen elért eredményeket foglal össze. Molekuláris szinten azonban, mindkét esetben egyetlen molekulának, a genetikai örökítő anyagnak a vizsgálatáról van szó, annak megváltoztatásáról (genetikai transzformáció) illetve összehasonlító vizsgálatáról (molekuláris taxonómia).

Az *első témakörben* a hazai transzformációs kísérletek elkezdéséhez ki kellett alakítanunk egy egyszerű, gyors és hatékony levélszövetből történő hajtásregenerációt, a

hajtások gyökereztetését és akklimatizációját. Ezt követően M26 alany- és Royal Gala nemesfajtákat transzformáltunk, a transzgénikus növényeket üvegházban helyeztük el. A transzgénikus gyümölcsök vizsgálatára az Egyesült Államokbeli Cornell Egyetem genevai kutatóintézetének (New York State Agricultural Experiment Station, Department of Food Science and Technology, Geneva NY) transzgénikus ültetvényéből származó gyümölcsökön került sor. A vizsgálatokhoz már több mint 150 különböző transzformációs eseményből származó termőre fordult transzgénikus vonal állt rendelkezésünkre. E területen elért eredményeink az első adatokat jelentik az etilén bioszintézisben gátolt transzgénikus gyümölcsök post-harvest viselkedésére vonatkozóan.

Az egyes transzgénikus fák gyümölcseiben, az antiszensz génnel kiváltott etilén termelés gátlása nagy különbségeket mutatott. A legtöbb esetben nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést a kontrollhoz képest, néhány esetben pedig még a kontrollnál is nagyobb etilénszinteket mértünk. Azokban a transzgénikus vonalakban (az összes 2-3 %-a), amelyeknél az etiléntermelés antiszensz gátlása hatékonyan működött, a gyümölcsök etilén produkciója szobahőmérsékleten tárolva 1-4 hetes késést mutatott. A tárolás 1-4 hetét követően az autokatalitikus etiléntermelés ezekben a vonalakban is beindult, bár csökkent intenzitással. Ezek a gyümölcsök cukortartalom (Brix°) szempontjából alig különböztek a kontrolltól, míg a húsuk keménysége hosszabb ideig fennmaradt. Eredményeink bizonyították, hogy antiszensz ACC-szintáz gén bevitelével a gyümölcsök puhulása is gátolható.

Northern hibridizációval követtük az *MdACS*2 gén aktivitását a gyümölcskötődéstől a tárolási időszak második hónapjáig. Mivel a génaktivitás csak a betakarítást követő 2-3. napon nyilvánult meg, ezáltal bizonyítottá vált, hogy az MdACS2 génnek érés-specifikus az expressziója. Ezt követően az adott időpontban mért mRNS akkumuláció és az etilén szint változása között szoros korrelációt tapasztaltunk.

A hűtött tárolás eredményei alapján megállapítottuk, hogy a legjobb transzgénikus vonalak gyümölcsei 3-4 hónapos késéssel érték el etiléntermelésük csúcspontját.

A bemutatott eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy az antiszensz technikára alapozott génszupresszió alternatív lehetőséget jelenthet a jövőben az utóérő gyümölcsök tárolási problémáinak megoldásában.

A *második témakörben* a *Festuca Ovinae* csoportba tartozó, besorolás szempontjából legproblematikusabb fajainak molekuláris szintű összehasonlítását tűztük ki célul. A tesztelt 47 RAPD primer közül nyolc, míg a 19 AP-PCR primer közül 6 eredményezett polimorf mintázatot. A genetikai távolságok meghatározásához a 14 polimorf és értékelhető mintázatot eredményező primerek 111 db fragmentumának bináris kódjai szolgáltak alapadatként. A statisztikai elemzést követően a vizsgált fajokat három csoportba soroltuk.

Bizonyítottuk, hogy a *F. rupicola* egyedek - függetlenül az általunk levélméret alapján történő szétválasztástól - molekulárisan egységes fajt alkotnak.

A szubmediterrán tetraploid *F. pallens* (4x) molekuláris szempontból jelentősen eltért az alhavasi diploid *F. pallens* (2x) változattól, mely jelenlegi taxonómiai besorolását módosíthatja.

A *F. javorkae*, bár meglehetősen közel áll a *F. rupicola* egyedeihez, morfológiai sajátosságaiban is hasonló, de mégis molekulárisan elkülöníthető a PAL1 primerrel generált ≈800 bp méretű fragmentum alapján.

Figyelemreméltó, hogy a molekuláris besorolhatóság alapján a *F. wagneri* más csoportba került, mint a feltételezett szülőfajai (♀: *F. vaginata*, ♂: *F. valesiaca* vagy *F. pseudovina* vagy *F. rupicola*).

A PCR alapú vizsgálatokat követően elvégeztük a vizsgált fajok ITS (internal transcribed spacer) régiójának szekvenciaszintű összehasonlító elemzését. Az ITS régió

felszaporítását és szekvenálását a 10 faj összesen 27 egyedén végeztük el. A kapott szekvenciákat az NCBI génbankban helyeztük el, ahol a vizsgált fajok közül nyolcnak ez az első bejegyzése. A szekvenálás mindegyik faj esetében egy 596 bp méretű szakaszt eredményezett. Intraspecifikus ITS variációt csak a *F. rupicola* fajon belül találtunk. A többi 9 faj esetében a különböző egyedek között nem találtunk eltérést, még távoli előfordulási helyek között sem. Ezeknél a fajoknál a polimorfizmust csak intragenomikus különbségek jelentették ami az rDNS nagy kópiaszámával és a bennük lehetséges variációkkal magyarázható.

A teljes *Festuca* nemzetség filogenetikai revíziójához az általunk izolált ITS szekvenciákat kibővítettük az adatbankban található más *Festuca* fajokra leközölt ITS szekvenciákkal. A Maximum Parsimony analízissel kapott 1609 azonos értékű filogenetikai fa 629 bp hosszúságú volt, amelyekből a végső konszenzust fát bootstrap analízissel teszteltük. Eredményeink megerősítik a keskenylevelű és széleslevelű fajok korai különválását, azonban cáfolják egy harmadik, legősibb csoport meglétét. A széleslevelű *Festuca* fajok leszármazási sora és fejlődése pontosan nyomonkövethető, míg a keskenylevelű csoporton belül a fajok nagy homológiát mutatnak. A *Festuca rubra* alcsoport legősibb, monofiletikus eredete azonban általunk is megerősítést nyert.

3.1. Új tudományos eredmények

Az alma etilén bioszintézisének molekuláris gátlása

1. Bizonyítottuk az etilén bioszintézis molekuláris gátlását az antiszensz ACC-szintáz génnel (*MdACS*2) transzformált almafák termésében és az eltérést a gátlás mértékében az egyes transzgénikus fák között.

2. Bizonyítottuk, hogy az *MdACS*2 gén expressziója érés-specifikus, továbbá hogy a gén mRNS akkumulációja szoros korrelációt mutat a transzgénikus gyümölcsök etiléntermelésével.

3. Bizonyítottuk, hogy azokban a transzgénikus vonalakban, amelyeknél az antiszensz gátlás hatékonyan működött, a gyümölcsök – a nem transzformált kontrollhoz képest – 1-2 hónappal hosszabb ideig tárolhatók szobahőmérsékleten, minőségi romlás nélkül.

4. Bizonyítottuk, hogy az etilén szintézisben gátolt transzgénikus gyümölcsök hosszan tartó tárolásához – a jelenleg alkalmazott technológiákhoz képest – nincs szükség a hűtőtárolók oxigén-, széndioxid- és páratartalmának szabályozására.

5. Bizonyítottuk, hogy az etilén szintézis antiszensz gátlásával a gyümölcsök puhulása is mérséklődött.

Festuca fajok molekuláris taxonómiája

6. A *Festuca Ovinae* csoportba tartozó – taxonómiai szempontból legproblematikusabb – 10 fajt RAPD és AP-PCR technikákkal 3 csoportba soroltuk. Klaszter és MDS analízissel megbecsültük a köztük lévő genetikai távolságot. Bizonyítottuk, hogy a *F. rupicola* egyedek – függetlenül levélméret alapján történő szétválasztásuktól – egységes fajt alkotnak. A *F. javorkae*, bár meglehetősen közel áll a *F. rupicola* egyedeihez, a PAL1 primer 800 bp méretű fragmentuma alapján molekulárisan elkülöníthető.

7. Bizonyítottuk, hogy a Budai hegységben található *Festuca pallens* faj tetraploid. A RAPD és AP-PCR vizsgálatokban a diploid fajhoz képest mutatott nagyfokú genetikai különbözőség alapján különálló taxonnak tekinthető.

8. A tíz vizsgált faj közül nyolcnak elsőként írtuk le pontos ITS (internal transcribed spacer) szekvenciáját. Megállapítottuk, hogy ITS szekvenciájuk alapján faji határok nem különíthetők el, ezért feltehetően faj alatti taxonoknak tekinthetők.

9. *In silico* kutatás eredményeként – ITS szekvenciáik alapján – elkészítettük a *Festuca* nemzetség filogenetikai fáját, mellyel bizonyítottuk, hogy a keskenylevelű *Festuca* fajokon belül a *Festuca rubra* a legősibb csoport, és monofiletikus eredetű.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

4.1. Az alma etilén bioszintézisének molekuláris gátlása

Az ezen a területen elért eredményeink az első adatokat jelentik almában az etilén bioszintézisben gátolt gyümölcsök post-harvest viselkedésére vonatkozóan.

Az eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy az etilén bioszintézisének molekuláris gátlása megoldható az *MdACS*2 gén antiszensz orientációban történő genetikai transzformációjával. Nagyszámú, különböző transzformációs eseményből származó transzgénikus vonal közül kiválaszthatók olyanok, amelyek gyümölcsei megfelelő mértékű etiléntermelés csökkenést mutatnak. Mivel a sejtfalbontó enzimek is az etilén közvetlen kontrollja alatt állnak, ezért ezeknek az almáknak a puhulása is késleltethető. A gyümölcsök szobahőmérsékleten 1-2 hónappal hosszabb ideig tárolhatók minőségi romlás nélkül, ezáltal feltételezhetően a piacokon, boltok polcain is tovább tarthatók. Hidegen tárolva pedig az autokatalitikus etilénszintézis kezdete és csúcspontja 4-5 hónappal késleltethető. Ezeknél a gyümölcsöknél tehát nincs szükség a hűtőtárolókban az oxigén- széndioxid- és páratartalom szabályozására, amelyek a tárolási költségek jelentős növekedését idézik elő. A TG508-as „knock out" transzgénikus vonal, melyben feltehetően egy jó pozicionális hatás következtében az érés során bekövetkező autokatalitikus etiléntermelés nem képes beindulni, kiváló kísérleti objektumként szolgálhat a gyümölcsfejlődés és érés fiziológiájának és biokémiájának jobb megértéséhez és molekuláris tisztázásához. Gazdasági szempontok figyelembevételével mérlegelendő a jövőben a transzformációs vektorban szereplő konstitutív promóter gyümölcs- és/vagy érés-specifikus promóterrel történő cseréje.

4.2. Festuca fajok molekuláris taxonómiája

A vizsgált 10, hazánkban is előforduló *Festuca* faj molekuláris analízisével elsőként foglalkoztunk.

Az általunk használt RAPD és AP-PCR molekuláris módszerek alkalmasnak bizonyultak a *Festuca* nemzetség kísérletünkbe vont fajai és genotípusai megkülönböztethetőségének, illetve azonosságának előzetes vizsgálatára. Az ezt követő, ITS (internal transcribed spacer) régióban történő szekvencia szintű összehasonlítás – a fajok közötti eltérések kimutatására – nem vezetett eredményre. Evolúciós szempontból ezek a fajok feltehetően még a különválás kezdeti szakaszán állnak. A vizsgált fajok ploidszintje diploidtól oktoploidig terjed. Mivel ITS szekvenciájuk szinte minden esetben azonos volt és más genomból származtatható ITS szekvenciát nem találtunk, ezért a magasabb ploidfokú fajok autopoliploidoknak feltételezhetők.

Nagyobb polimorfizmust adó szekvenciák izolálását tervezzük a későbbiekben, nevezetesen kloroplaszt és mitokondrium eredetű gének és intronok szekvencia szintű összehasonlítását. Ezt az idegenmegporzás léte is indokolttá teszi. Tervezzük még nagyobb felbontást nyújtó molekuláris markerek bevonását is a taxonómiai problémák tisztázásához. *Festuca* fajokra specifikus mikroszatellit markereket még nem publikáltak, a *Lolium* nemzetségre leírtak pedig nem működtek megfelelően. Ezért AFLP vizsgálatok bevonását tervezzük kísérleteinkbe.

5. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

Tudományos publikációk:

E. Kiss, A. Veres, Á. Varga, **Z. Galli,** N. Nagy, L.E. Heszky, E. Tóth, G. Hrazdina (2000): Production of transgenic carnation with antisense ACS (1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase) gene. International Journal of Horticultural Science pp. 103-107

E. Kiss, A. Veres, Á. Varga, **Z. Galli,** N. Nagy, L.E. Heszky, E. Tóth, G. Hrazdina (2000): Transformation of Carnation: Agrobacterium-mediated Transformation of Carnation with Antisense 1-aminocyclopropane-1-carboxylate Synthase (ACS) Gene. In: Hrazdina G. (ed.): Use of Agriculturally Important Genes in Biotechnology, 91-97. IOS Press (NATO Science Series) Amsterdam, Berlin, Oxford, Tokyo, Washington D.C.

Galli Zs., Debreceni D., Kiss E., Heszky L.E. (2001): Az alma sikeres transzformációját befolyásoló tényezők. Kertgazdaság 33: 23-32

Galli Zs., Penksza K., Kiss E., Bucherna N., Heszky L.E. (2001): *Festuca* fajok molekuláris taxonómiai vizsgálata: a *Festuca ovina* csoport RAPD és AP-PCR analízise. Növénytermelés 50 (4): 375-384

A. Veres, E. Kiss, **Z. Galli**, N. Nagy, E. Tóth, Á. Varga, G. Hrazdina, L.E. Heszky (2002): Transgenic carnation harbouring antisense ACS (1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase) gene. Bulletin of the Szent István University 2001-2002 pp. 49-56

Z. Galli, E. Kiss, G. Hrazdina, L.E. Heszky (2003): The effects of *ACS* (1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase) gene down regulation on ethylene production and fruit softening in transgenic apple. International Journal of Horticultural Science 9 (2): 65-70

Proceedings:

E. Kiss, A. Veres, Á. Varga, **Z. Galli,** L.E. Heszky, E. Tóth, G. Hrazdina (1999): Genetic transformation of carnation to downregulate ethylene biosynthesis. In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant 35:174-175

Penksza K., **Galli Zs.,** Bauer L., Kiss E. (2001): Morfológiai és molekuláris biológiai vizsgálatok Kárpát-medencei *Festuca* fajokon. II. Kárpát-medencei Biológiai Szimpózium. 33-37. o

Galli Zs., Kiss E., G. Hrazdina, Heszky L.E. (2003): Az ACS (1-aminociklopropán-1-karboxilát szintáz) gén antiszensz gátlásának hatása transzgénikus alma tárolási paramétereire. EU Konform – Mezőgazdaság és Élelmiszerbiztonság. Nemzetközi Tudományos Konferenia SZIE, Gödöllő június 5-6. 85-91. oldal

Előadások:

Kiss E., **Galli Zs.,** Veres A., Varga Á., Tóth E., Hrazdina G., Heszky L.E. (1999): Szegfű és alma transzformációja az etilénbioszintézis módosítása céljából. IV. Magyar Genetikai Kongresszus Siófok, 1999 ápr. 11-14 Összefoglalók 88-89. oldal

E. Kiss, A Veres, Á. Varga, **Z. Galli,** N. Nagy, L.E. Heszky, E. Tóth, G. Hrazdina (1999): Transformation of carnation to modify ethylene production. Use of Agriculturally important genes in agricultural biotechnology. NATO Advanced Research Workshop, Szeged 1999 okt. 17-21 Abstracts book p. 7

E. Kiss, **Z. Galli,** E. Halász, K. Varga, G. Hrazdina, L.E. Heszky (2001): Apple transformation experiments with antisense ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase) gene. Meeting of International Federation of Fruit Juice Producers (IFU) Workshop on Food Safety, Budapest. Összefoglalók 4-5. o

Galli Zs. Debreceni D. Halász E. Varga K. Kiss E. (2001): Az alma in-vitro szaporítása és genetikai transzformációja. "Tavaszi Szél" 2000, 2001. Fiatal magyar tudományos kutatók

és doktoranduszok IV. és V. világtalálkozója. Utókiadvány 3-4. o

Galli Zs., Penksza K., Kiss E., Heszky L., Heszky L.E. (2001): A Kárpát-medencei *Festuca rupicola* alakkör fajainak molekuláris szintű genetikai vizsgálata. Magyar Biológiai Társaság: Botanikai szakosztályülés márc.19

Penksza K., **Galli Zs.,** Bauer L., Kiss E. (2001) Morfológiai és molekuláris biológiai vizsgálatok Kárpát-medencei *Festuca* fajokon. II. Kárpát-medencei Biológiai Szimpózium nov. 20-22 Botanika szekció

Penksza K., Bauer L., **Galli Zs.,** Engloner A., Kiss E., Bucherna N., Heszky L.E. (2002): Morfológiai és molekuláris taxonómiai vizsgálatok Kárpát-medencei *Festuca* fajokon. Aktuális flóra- és vegetációkutatások a Kárpát-medencében V. Pécs, márc. 8-10

Galli Zs., Kiss E., G. Hrazdina, Heszky L.E. (2003) Post-harvest érés késleltetése az etiléntermelés gátlásával almában. IX. Növénynemesítési Tudományos Napok MTA Bp. márc 5-6. Összefoglalók 53. o

Penksza K., **Galli Zs.,** Bauer L., Kiss E., Bucherna N., Illyés Z., Rudnóy Sz.,Bratek Z., Heszky L.E. (2003): A Kárpát-medence *Festuca ovina* csoportjának újabb taxonómiai eredményei. Magyar Biológiai Társaság: Botanikai szakosztályülés márc. 10

J. Dobránszky, I. Hudák, K. Magyar-Tábori, E. Jámbor-Benczúr, **Z. Galli,** E. Kiss (2003): Role of different cytokinins in the shoot regeneration of apple leaves. 5th. International Symposium in the series recent Advances in Plant Biotechnology. Book of abstracts: p. 7

Poszter összefoglalók:

Galli Zs., Á. Varga, A. Veres, E. Kiss (1997): Constructing vectors for plant transformation harbouring the aminocyclopropane carboxylate (ACC) synthase gene. VIII. European Congress on Biotechnology, Budapest August 18-22. Abstracts book p.: 48

Galli Zs., Boldizsár A., Varga Á., Veres A., Lendvai A., Hrazdina G., Kiss E., Heszky L.E. (1998): Növénytranszformációs vektorok előállítása az ACC-szintáz-gén felhasználásával. IV. Növénynemesítési Tudományos Napok MTA, 1998 jan. 28-29 Poszter szám: 14.

E. Kiss, A. Veres, Á. Varga, **Z. Galli,** L.E. Heszky, E. Tóth, G. Hrazdina (1998): Agrobacterium-mediated transformation of carnation with antisense 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase (ACS) gene. IX. International Congress on Plant Tissue and Cell Culture, Israel June 14-19, Abstracts book p.: 152

E. Kiss, A. Veres, Á. Varga, **Z. Galli,** L.E. Heszky, E. Tóth, G. Hrazdina (1998): Production of transgenic carnation to modify ethylene biosynthesis. XVII. International Congress of Genetics, China August 10-15. Abstracts book p.: 169

E. Kiss, A. Veres, Á. Varga, **Z. Galli,** L.E. Heszky, E.Tóth, G. Hrazdina (1998): Genetic transformation of carnation to down-regulate ethylene biosynthesis. Symposium zum Gedenken an die 100. Wiederkehr der Begründung der Gewebekultur durch Gottlieb Haberlandt, Wien Oktober 8-9. Abstracts book p.: 36

E. Kiss, A. Veres, Á. Varga, **Z. Galli,** N. Nagy, L.E. Heszky, E. Tóth, G. Hrazdina (1998): Transgenic carnation harbouring antisense *ACS* (1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase) gene. First European Symposium on Applied Genome Research, Belgium, Brussels, Nov. 26-27, Abstracts book p.: B13

Debreceni D., Petus M., **Galli Zs.,** Kiss E., Heszky L.E. (1999): Alma mikroszaporítása és molekuláris transzformációja. V. Növénynemesítési Tudományos Napok MTA, 1999 márc. 9. Összefoglalók: 63. o

Galli Zs. Debreceni D. Halász E. Varga K. Kiss E. Heszky L.E. (2001): Az alma in-vitro szaporítása és genetikai transzformációja. VII. Növénynemesítési Tudományos Napok MTA Bp. Összefoglalók 87. o

Galli Zs., Penksza K., Kiss E., Heszky L.E. (2001): *Festuca* fajok molekuláris taxonómiai vizsgálata. VII. Növénynemesítési Tudományos Napok MTA Bp. Összefoglalók 88. o

Galli Zs. Debreceni D. Halász E. Varga K. Kiss E. (2001): Az alma in-vitro szaporítása és genetikai transzformációja. "Tavaszi Szél" 2000, 2001 Fiatal magyar tudományos kutatók és doktoranduszok IV. és V. világtalálkozója. Utókiadvány 36-37. o

Z. Galli, G. Hrazdina, E. Kiss, C. Rosenfield, H.S. Aldwinckle, J.L. Norelli (2002): Down regulation of ethylene production in apples. Fulbright Challenges and Responses 10th Anniversary Conference MTA Bp. ápr. 24-25 Abstracts book p. 18

Galli Zs., Kiss E., G. Hrazdina, Heszky L.E. (2003): Az *ACS* (1-aminociklopropán-1-karboxil-szintáz) gén antiszensz gátlásának hatása az etiléntermelésre és a gyümölcsök puhulására almában. V. Magyar Genetikai Kongresszus Siófok ápr. 13-15 Összefoglalók 105. o

Z. Galli, K. Penksza, E. Kiss, N. Bucherna, L.E. Heszky (2003): Phylogenetic analysis in *Ovinae* section of *Festuca* genera (*Poaceae*) based on ITS rDNA sequences. VII. International Congress of Plant Molecular Biology, Barcelona June 23-28. Book of abstracts 253. o

5.1. Egyéb közlemények

Proceedings:

E. Kiss, A. Balogh, P. Kozma, T. Koncz, **Z. Galli,** L.E. Heszky (2003): Molecular analysis of Grapevine Cultivars Indigenous in the Carpathian Basin. Proceedings of the Eight International Conference on Grape genetics and Breeding. Acta Horticulturae 603: 95-102

P. Kozma, A. Balogh, E. Kiss, **Z. Galli,** T. Koncz, L.E. Heszky (2003): Study of Origin of Cultivar „Csaba Gyöngye" (Pearl of Csaba). Proceedings of the Eight International Conference on Grape genetics and Breeding. Acta Horticulturae 603: 585-592

Előadások:

E. Kiss, A. Balogh, P. Kozma, T. Koncz, **Z. Galli,** L.E. Heszky (2002): Molecular analysis of grape vine cultivars indigenous in the Carpathian Basin. VIII. International Conference on Grape Genetics and Breeding. Kecskemét 26-31 August. Abstracts book E10

Poszter összefoglalók:

Galli Zs. Halász E. Varga K. Kiss E. Heszky L.E. (2001): Erwinia amylovora elleni rezisztencia kialakítása almában géntechnológiai módszerrel 47. Növényvédelmi Tudományos Napok MTA Bp. febr 27-28. Összefoglalók 146. o

P. Kozma, A. Balogh, E. Kiss, T. Koncz, **Z. Galli,** L.E. Heszky (2002): Study on origin of cultivar „Csabagyöngye". VIII. International Conference on Grape Genetics and Breeding. Kecskemét August 26-31. Abstracts book P38

Balogh A., Kozma P., Kiss E., **Galli Zs.,** Koncz T., Kocsis M., Veres A., Heszky L.E. (2003): Kárpát-medencei szőlőfajták jellemzése mikroszatellit analízissel. IX. Növénynemesítési Tudományos Napok MTA Bp. Összefoglalók 76. o

Füle L., Bucherna N., **Galli Zs.,** Hódosné Kotvics G., Heszky L.E. (2003): A Perenne interspecifikus hibrid rozs molekuláris elemzése. V. Magyar Genetikai Kongresszus Siófok ápr. 13-15 Összefoglalók 85. o

Veres A., Balogh A., Kozma P., Kiss E., **Galli Zs.,** Koncz T., Kocsis M., Heszky L.E. (2003): SSR analízis alkalmazása Kárpát-medencei szőlőfajták jellemzésére. V. Magyar Genetikai Kongresszus Siófok ápr. 13-15 Összefoglalók 99. o

Kiss E., Balogh A., Veres A., **Galli Zs.,** Koncz T., Kocsis M., Heszky L.E., Kozma P. (2003): SSR analysis of grapevine varieties autochthonous in the Carpathian Basin. VII. International Congress of Plant Molecular Biology, Barcelona June 23-28. Book of abstracts 408. o