Szent István Egyetem
Gödöllő
Növénytudományi Doktori Iskola
Doktori Iskola vezetője: Dr. Heszky László

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Lisztharmat és peronoszpóra rezisztens szőlő genotípusok marker alapú szelekciója

MOLNÁR STELLA

Gödöllő
2011

Doktori iskola

Megnevezése: Növénytudományi Doktori Iskola

Vezetője:

Dr. Heszky László
egyetemi tanár, akadémikus
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság és Környezettudományi Kar, Genetika és Biotechnológia Intézet, Gödöllő

Témavezetők:

Dr. Kiss Erzsébet
egyetemi tanár, a mezőgazdasági tudomány kandidátusa
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság és Környezettudományi Kar, Genetika és Biotechnológia Intézet, Gödöllő

Dr. Kozma Pál
tudományos főmunkatárs, a mezőgazdasági tudomány kandidátusa
Pécsi Tudomány Egyetem Szőlészeti és Borászati Intézet, Pécs

…… ……..

Dr. Kiss Erzsébet
Témavezető

Dr. Kozma Pál
Témavezető

……..

Dr. Heszky László
A Doktori Iskola vezetője

A MUNKA ELŐZMÉNYEI, KITŰZÖTT CÉLOK

A világ szőlőültetvényeit sokféle patogén és kártevő veszélyezteti. Európában a XIX. század közepén jelentek meg azok a gombafajok, amelyek ma is nagy károkat okoznak az érzékeny *Vitis vinifera* ültetvényekben. A szőlő gombás betegségei közül a peronoszpóra (*Plasmopara viticola* Berk. et Curtis), a lisztharmat (*Erysiphe necator* Schwein.) a legjelentősebbek (Bényei *et al.* 1999). Mindkét kórokozó (lisztharmat, peronoszpóra) önmagában is 100%-os termésveszteséget okozhat a fogékony fajták esetében, ha nem alkalmazzuk a kémiai növényvédőszereket.

A rezisztencianemesítés Európában a lisztharmat- és peronoszpórafertőzéssel szemben már a XIX. században elkezdődött, amelyben a magyar szőlőnemesítők jelentős szerepet vállaltak. Az Európában évszázadokon keresztül termesztett *V. vinifera* fajták védtelenek voltak a kórokozókkal (*Erysiphe necator* Schwein. és *Plasmopara viticola* Berk. et Curtis) szemben, ezért amerikai és ázsiai *Vitis* fajokban kerestek rezisztencia géneket a nemesítési programok indításához.

Az észak-amerikai kontinensről, valamint Ázsiából származó fajok alkalmazkodtak a változatos környezeti viszonyokhoz és az adott területen őshonos, a szőlőt károsító kórokozókhoz. Így közülük több is felhasználható rezisztencia-forrásként (lisztharmat, peronoszpóra és filoxéra) a nemesítési programokban. A *V. riparia*, a *V. rupestris* és a *V. berlandieri* a filoxéra fertőzés megállításában kiemelkedő szerepet játszott az európai kontinensen. A lisztharmat és peronoszpóra rezisztencia-nemesítésben a *Muscadinia* vagy *Vitis rotundifolia, V. riparia,* a *V. rupestris,* a *V. berlandieri, V. labrusca, V. cinerea, V. lincecumii, a V. aestivalis* fajokat keresztezték egymás között, valamint *V. vinifera* fajtákkal (Galet, 1988).

Az értékes bor–és csemegeszőlő fajtákat ezekkel a génforrásokkal keresztezve, jó minőségű ellenálló fajtákat lehet előállítani. A minőség megőrzése több nemzedéken keresztül végzett visszakeresztezéseket és gondos szelekciót igényel. Ebben nagy segítséget jelent a molekuláris markerek nemesítési alkalmazása, a markerekre alapozott szelekció (MAS).

A különböző növények, sokféle patogénnel szembeni rezisztencia génjei nagyfokú szerkezeti konzervativizmust mutatnak. Nukleotid kötőhelyet (NBS: Nucleotide Binding Site), leucin gazdag ismétlődést (LRR: Leucin Reach Repeat), leucin cipzár régiót (LZ: Leucin Zipper) és receptorszerű kinázt (RLK: Receptor Like Kinase) tartalmaznak (Meyers *et al.* 1999).

A rezisztenciagén(eke)t hordozó utódok kiválogatását, az utódgeneráció méretének redukcióját teszi lehetővé a markerekre alapozott szelekció (MAS), amely a rezisztenciagénekkel szorosan kapcsolt DNS szekvenciakülönbségek detektálása alapján biztosítja az ellenálló és a fogékony genotípusok azonosítását. A DNS szintű azonosítás először RFLP módszerrel, majd a PCR technika kifejlesztését követően véletlen, génspecifikus és mikroszatellit primerek alkalmazásával történt. A rezisztencia gének konzervatív szekvenciáira tervezett specifikus primerek megfelelő markereknek bizonyultak más növényfajok mellett, a szőlőben is (Donald *et al.* 2002; DiGaspero és Cipriani, 2003). Az integrált térképek kifejlesztése, a genotipizálásra széleskörűen elterjedt mikroszatellit vagy SSR (Simple Sequence Repeats) és BAC klón eredetű markerek alkalmazására is lehetőséget biztosít (Adam-Blondon *et al.* 2004, Riaz *et al.* 2004; Barker *et al.* 2005, Doligez *et al.* 2006, DiGaspero *et al.* 2007). A fizikai és a mikroszatellit térképeknek köszönhetően sikerült azonosítani a *RUN1* és *RPV1* génhez kapcsolt DNS markereket (Merdinoglu *et al.* 2003; Barker *et al.* 2005; DiGaspero *et al.* 2007).

Az USA szubtrópusi területein termesztett *M. rotundifolia* immunitás szintű rezisztenciával rendelkezik lisztharmattal, peronoszpórával és filoxerával szemben is (Small, 1913, Bouquet, 1980). Ezek a tények már a szőlő rezisztencia nemesítés hajnalán ráirányították a figyelmet a *M. rotundifoliára*. A *V. viniferá*val történő keresztezését akadályozta azonban a *vinifera*étól (2n=38) eltérő 2n=40 kromoszómaszám. A kromoszómaszám különbség ellenére végül Jelenkovicnak és Olmonak sikerült 1968-ban részben fertilis utódokat kapniuk, amelyeket *V. vinifera*-val visszakeresztezve lehetővé vált a *M. rotundifolia* rezisztencia génjeinek introgressziója a *V. vinifera* genomba (Jelenkovic és Olmo, 1968; Bouquet, 1986; Pauquet *et al.* 2001). A klasszikus genetikai elemzés alapján kiderült, hogy a lisztharmat rezisztenciáért a *M. rotundifolia*-ból származó domináns gén, a *RUN1* (**R**esistance to ***U**ncinula **n**ecator*), míg a peronoszpóra rezisztenciáért az *RPV1* (**R**esistance to ***P**lasmopara **v**iticola*) gén a felelős.

A Bouquet által előállított *M. rotundifolia* x *V. vinifera* keresztezésével előállított nemesítési alapanyag felhasználásával 1999-2002 között olyan hibridcsaládokat állítottak elő Pécsett, amelyekben a *M. rotundifolia* x *V. vinifera* BC_4 –et a jó minőségű *V. vinifera* fajtákkal kombinálták. (Kozma és Dula, 2003). A hibrid populációk egyedeinek leveleit mesterséges és természetes fertőzések alapján tesztelték és értékelték. Ezek közül a BC_4 x Cardinal és a BC_4 x Kismis moldavszkij keresztezésből származó utódnemzedék molekuláris szelekciója a témája ennek az értekezésnek.

Ezekre az eredményekre alapozva kezdtük meg a PTE Szőlészeti és Borászati Intézetben előállított (*M rotundifolia* x *V. vinifera*) BC_4 x *V. vinifera* cv. Cardinal BC_5 molekuláris vizsgálatát a *Run1* és *Rpv1* lokusszal kapcsolt DNS markerekkel olyan növényegyedeken, amelyek egyrészt súlyos lisztharmat fertőzési tüneteket mutattak a leveleken, másrészt tünetmentesek voltak. A BC_4 × Cardinal hibridcsalád eredményei alapján genotipizáltuk a BC_4 x Kismis moldavszkij utódnemzedékét.

Célkitűzés

1. *RUN1+/RPV1+* genotípusok szelekciója a PTE Szőlészeti és Borászati Intézetben előállított két hibridcsalád – a BC_4 x Cardinal (02-02) és a BC_4 x Kismis moldavszkij (02-01) utódnemzedékekben a rezisztenciagénekkel kapcsolt 3 mikroszatellit, 2 BAC klón eredetű és 1 rezisztencia génanalóg (RGA) markerrel.

2. A *RUN1* és az *RPV1* rezisztencia génekkel kapcsolt mikroszatellit marker allélek pontos méretének meghatározása.

3. A vizsgálatba bevont markerek koszegregációjának alapján annak megállapítása, hogy az adott markerek milyen fokú megbízhatósággal alkalmazhatóak az adott hibridcsalád egyedein belül a rezisztens genotípusok kiválogatására.

4. Rutinvizsgálatra alkalmas gyors, egyszerű, agaróz gélelektroforézisen alapuló módszer kifejlesztése a *RUN1/RPV1* pozitív genotípusok szelekciójára.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatok növényanyaga

A PTE Szőlészeti és Borászati Intézetében előállított (*M. rotundifolia x V. vinifera*) BC_4 x *Cardinal* 02-2 hibridcsalád 150 lisztharmat tünetek alapján szelektált egyedét, valamint a (*M. rotudifolia x V. vinifera)* BC_4 x Kismis moldavszkij 02-01 hibridcsaládból származó 50 szelektálatlan magoncát vizsgáltuk a szülőkkel együtt.

A vizsgálatok módszere

DNS extrakció

A fiatal levelekből a genomi DNS-t a Qiagen DNeasy Plant Mini Kit DNS-izoláló rendszerrel vontuk ki a gyártó előírásait követve.

A vizsgálatokhoz használt molekuláris markerek

A BC_4 × Cardinal (02-02) hibridcsalád elemzésekor a GLP1-12P1 - GLP1-12P3 primerpárral PCR-RFLP, vagy más néven CAPS módszert alkalmaztuk (Donald *et al.* 2002).

A 02-02-es BC_5 nemzedékben a mikroszatellit analízis során alkalmazott fluoreszcensen jelölt primerek a következőek voltak: VMC8g9 és a VMC4f3.1 (Barker *et al.* 2005).

Ugyanezen a hibridcsaládon teszteltük a CB69.70-et és a CB137.138 (nem publikált, személyes kommunikáció alapján) BAC-klón eredetű domináns markereket alkalmazhatóságát.

A BC_4 × Kismis moldavszkij család genotipizálásához két SSR (VMC8g9, VMC1g3.2; Merdinoglu *et al.* 2003) és két BAC klónon azonosított lókuszt (CB69.70 és CB137.138) használtunk fel.

PCR, PCR-RFLP (CAPS), és SSR elemzés

A PCR vizsgálatokat Halász *et al.* (2005 a és b.) szerint hajtottuk végre. A reakciót Bio-Rad iCycler készülékben végeztük, a következő program alapján: 2 perc 95 ˚C, amit követett 35 cikluson keresztül 30 másodperc 95 ˚C, 30 másodperc 57-58 ˚C, 1 perc 30 másodperc 72˚C, az utolsó ciklus után 2 perc 72˚C. A GLP1-12P1 - GLP1-12P3 (Donald *et al.* 2002.) primerpárral a PCR-RFLP, vagy más néven a CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) módszert alkalmaztuk (Konieczny és Ausubel, 1994.). Ehhez a PCR-t követően az amplifikátumok

restrikciós emésztésére volt szükség. A PCR termék 10 µl-ét *EcoR*I restrikciós enzimmel hasítottuk, melyhez 0,5 (10 u/µl; Fermentas) enzimet, 3 µl vizet és 1,5 µl puffert (Fermentas, Tango ^{TM}) adtunk, majd az elegyet 1,5 – 2 órán át 37 ^{o}C-on tartottuk.

A mikroszatellit elemzésekhez a forward primereket CY-5 fluoreszcens festékkel jelöltettük (Metabion, Merck Kft., Budapest).

ALF – Automata Lézer Fluorométer elemzések

A PCR termékeket 8%-os denaturáló poliakrilamid gélen (Reprogel, GE Healthcare Bio Sciences, AP Hungary Kft., Budapest) választottuk el. Az allélméreteket ALF Express II. DNS analizátorral (Amersham Biosciences, AP Hungary Kft., Budapest) határoztuk meg ALFexpress^{TM} sizer molekulatömeg standard alkalmazásával.

EREDMÉNYEK

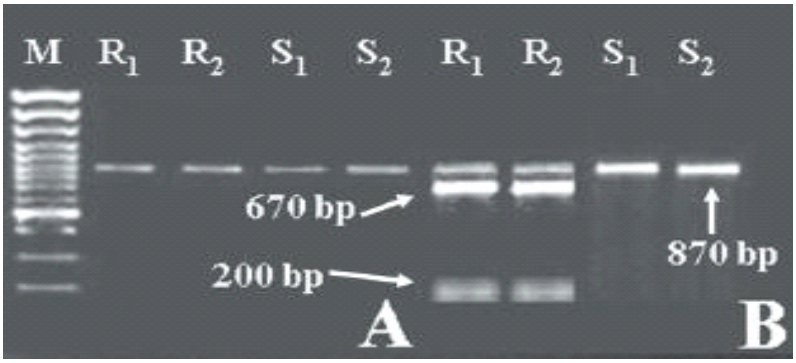
A *RUN1* lisztharmat rezisztencia génnel kapcsolt molekuláris markerek alkalmazása a BC_4 x Cardinal (02-02) hibridcsaládban

Először a 02-02 hibridcsalád 20 tünetmentes és 20 fertőzött egyedét vizsgáltuk a Donald és munkatársai által leírt GLP1-12P1 - GLP1-12P3 primerpárral (Donald *et al.* 2002).

A primerek alkalmazásakor mind a 40 egyed esetében felszaporodott a várt 870 bp méretű fragmentum, amely a GLP1-12P1 - GLP1-12P3 primerpár eredményes működését igazolta (1. ábra), de az így kapott monomorf mintázat nem volt alkalmas a lisztharmatfertőzést mutató, valamint a tünetmentes egyedek elkülönítésére.

A PCR termék *Eco*RI enzimmel való emésztése után (PCR-RFLP) a genotípusok egyértelműen megkülönböztethetőek voltak egymástól: míg a fogékony növények DNS-éből származó fragmentum nem emésztődött, addig a tünetmentes növények esetében a 870 bp mellett egy 670 és 200 bp méretű szakasz jelent meg az agaróz gélen (1. ábra). Ezzel, nemcsak a GLP1-12P1 - GLP1-12P3 primerpár *RUN1* markerként történő alkalmazhatóságát bizonyítottuk, hanem azt is, hogy a rezisztens egyedek heterozigóták a *Run1* lókuszra.

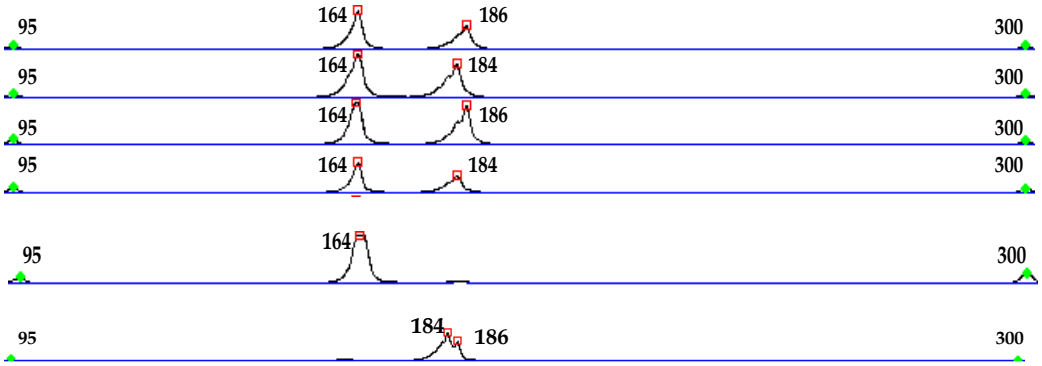
Ezt követően a (*M. rotundifolia x V. vinifera*) BC_4 x *Cardinal* 02-02 hibridcsalád többi egyedét, összesen 150 utódot is teszteltünk ugyanezzel a primerpárral. 66 tünetmentes utód esetében kaptunk az 1. ábra R1; R2 genotípusával azonos mintázatot a 870 bp méretű PCR fragmentum *Eco*RI emésztése után, és 63 utód S1; S2 genotípusú. Ez – egy kivétellel – megegyezett a fenotipizálási eredményekkel.



1. ábra: A 02-02 hibridcsalád egyedeinek vizsgálata GLP1-12P1 - GLP1-12P3 primerpárral

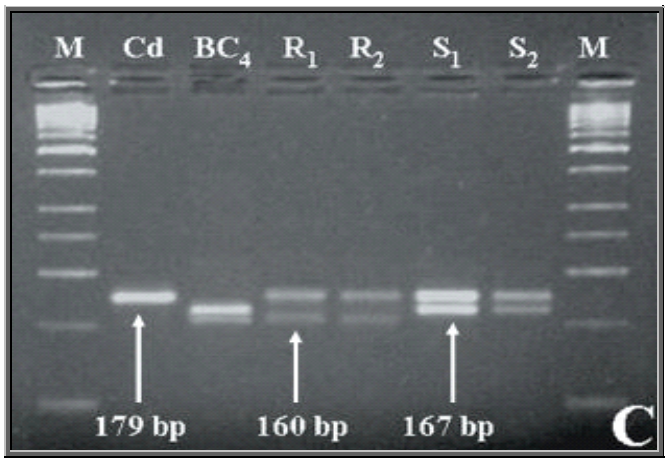
M: Molekula tömeg marker (Fermentas 100 bp ladder plus)
R1; R2 (A): a lisztharmat tünetektől mentes
S1; S2 (A): a fertőzött vonalak PCR fragmentumai a GLP1-12P1P3 primer párral
R1; R2 (B): tünetmentes (rezisztens) egyedek a PCR termék restrikciós emésztése után (*Eco*RI)
S1; S2 (B): fertőzött (fogékony) egyedek mintázata a PCR termék restrikciós emésztése után (*Eco*RI)

A GLP1-12P1 - GLP1-12P3 mellett két SSR primerpárt, a VMC4f3.1-et és a VMC8g9-et is bevontuk a vizsgálatokba. Mivel az irodalmi adatok csak arra utaltak, hogy a VMC4f3.1 és a VMC8g9 koszegregál a lisztharmat ellenállósággal, de nem adtak információt a rezisztenciagénnel kapcsolt marker-allélméretről. Célunk a *RUN1* génnel kapcsolt markerallél pontos méretének meghatározása. A VMC4f3.1 primerpárral kapott ALF-elemzés egy részletét mutatja be a 2. ábra. A rezisztens BC_4 szülő genotípusa 184:186, a szenzitív Cardinal-é 164:164 bp. A szegregáló BC_5 nemzedékben az ellenálló egyedek genotípusa a VMC4f3.1 markerrel 164:186 bp, míg a fogékonyaké 164:184 bp, tehát a rezisztenciát jelző markerallél mérete 186 bp.



2. ábra: A VMC4f3.1 mikroszatellit primerekkel kapott néhány genotípus ALF Express II. készülékkel készített elektroforetogramja

A rezisztens BC_4 genotípusa VMC8g9 primerrel 160:167 bp, a fogékony Cardinal-é 179:179 bp. A szegregáló BC_5 nemzedékben a rezisztens egyedek a VMC8g9 markerrel 160:179 bp, a fogékonyak 167:179 bp genotípusúak, azaz a 160 bp hosszúságú fragmentum kapcsolt a *RUN1* rezisztencia génnel. Mivel a fogékonyságot és a rezisztenciát jelentő markerallél között 7 bp méretű a különbség, a fragmentumokat 3,5%-os metaphor agaróz gélen is elválasztottuk egymástól, ezzel agaróz gél alapú, a primer fluoreszcens jelölését és DNS fragmentum analizátor alkalmazását nem igénylő egyszerű módszert dolgoztunk ki a *RUN1* genotípusok szelekciójára (Molnár *et al.* 2007). Az eredményeket a 3. ábra mutatja be.



Cd: Cardinal (szenzitív)
BC_4: az ellenálló (rezisztens) szülő (VRH 3082-1-42

R_1; R_2 (C): rezisztens minták
S_1; S_2 (C): fogékony egyedek

M: Molekula tömeg marker (Fermentas GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder)

3. ábra: A 02-02 hibridcsalád egyedeinek vizsgálata VMC8g9 primerrel – a fragmentumok elválasztása Metaphor gélen (3,5%)

A mikroszatellit elemzés arra is lehetőséget adott, hogy az idegen megporzásból származó allélméretek alapján kizárjuk azokat az egyedeket, amelyek nem felelnek meg a szülői kombinációknak, ezért az értékelést 129 egyedre végeztük el. A 129 növény esetében egyértelműen elkülöníthetőek az allélméretek, valamint a fragmentumok megléte illetve hiánya alapján, a fertőzött és a tünetmentes egyedek egymástól (1. táblázat). Mindhárom marker alkalmazása megbízható szűrést tesz lehetővé. A hasadási arányokat χ^2 próbával értékelve a fenotípusos és a marker genotípusok 1:1 aránya statisztikailag is igazolható.

1. táblázat: A liszthármat-fertőzési tünetek és a markerekkel kapott eredmények összehasonlítása (az árnyékolt számok a rezisztenciát jelző allélméreteket jelölik)

Fajta	Fenotípus		Molekuláris markerek					
	Tünet-mentes	Fertőzött	GLP1-12P1P3		VMC4f3.1 allélek (bp)		VMC8g9 allélek (bp)	
	R	S	R (a PCR fragmentum *Eco*RI-el emésztődött)	S (a PCR fragmentum *Eco*RI-el nem emésztődött)	R 186	S 184	R 160	S 167
Cardinal	-	+	-	+		164: 164		179: 179
BC_4	+	-	+	-	184: 186		160: 167	
BC_5 növények	67	62	66	63	164: 186	164: 184	160: 179	167: 179
					61	68	66	63
χ^2 próba	0,193		0,068		0,378		0,068	
χ^2 próba Yates korrekcióval	0,124		0,031		0,193		0,031	
χ^2 érték (P=0,5%)	3,84							
„Rekombináns" genotípusok aránya			1/129=0,007		13/129=0,100		5/129=0,038	

Az eddig ismertetett 3 marker mellett további két BAC klón eredetű domináns markert, a CB69.70-et és a CB137.138-at is bevontuk a 02-02 BC_5 hibridcsalád elemzésébe. A vizsgálat célja az volt, hogy igazoljuk a két BAC klón eredetű domináns marker működését a 02-02 BC_5 utódnemzedék egyedein, ami még egyszerűbb szűrést tesz lehetővé. A PCR reakciót követő agaróz gélelektroforézis bizonyította, hogy az ellenálló és fogékony egyedek elkülöníthetőek egymástól a két domináns markerrel. A rezisztens egyedeket a CB69.70 alkalmazásakor egy 157 bp méretű fragmentum felszaporodása jelezte, míg a szenzitív utódok esetében nem kaptunk PCR terméket. A CB137.138 markerrel végzett reakciót követően, a CB69.70-hez hasonlóan a DNS fragmentum megjelenése vagy hiánya volt tapasztalható. Az ellenálló egyedeknél egy 277 bp méretű fragmentum szaporodott fel.

RUN1 és az *RPV1* peronoszpóra rezisztencia génnel kapcsolt molekuláris markerek alkalmazása a BC_4 x Kismis moldavszkij hibridcsaládban

A BC_4 x Cardinal hibridcsalád eredményei alapján a vizsgálatainkat kiterjesztettük a *(M. rotundifolia* x *V. vinifera)* BC_4 x Kismis moldavszkij nemzedékéből származó 02-01-es hibridcsalád 50 szelektálatlan, szabadföldbe kiültetett magoncára is. Erről a hibridcsaládról mesterséges fertőzési adatok nem álltak rendelkezésünkre, csak egyszeri szabadföldi természetes peronoszpóra fertőzöttségi tünet-felvételezés történt.

Mivel a BC_4 x Cardinal családban a VMC8g9 megbízhatóan koszegregált a lisztharmat-ellenállósággal, a *RUN1+* genotípussal, ami irodalmi adatok szerint *RPV1+* genotípust is jelent és megfelelő egyezést mutatott a PCR-RFLP eredményekkel is, a BC_4 x Kismis moldavszkij család vizsgálatát a VMC8g9 markerrel kezdtük meg. Az eredmények alapján az elemzésekbe a CB69.70 és CB137.138 markereket és a VMC1g3.2 SSR lokuszt is bevontuk. A VMC1g3.2 markert a VMC4f3.1 helyett alkalmaztuk, mivel a BC_4 × Cardinal utódnemzedék vizsgálata során az érzékenységet, illetve ellenállóságot jelző markerallélek csak 2 bp különbséget mutattak, ami ALF Express II készülékkel is többszöri ismétlést igényelt. A szülők és a 02-01 BC_5 nemzedékben az utódok lehetséges VMC8g9 és VMC1g3.2 genotípusait a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat: A szülők genotípusa a 02-01 BC_5 hibridcsaládban

	VMC8g9	VMC1g3.2.
BC4	160 : 167	122 : 140
Kismis moldavszkij	160 : 174	128 : 142
RUN1+/RPV1+	160 : 160	122 : 128
Genotípusok	160 : 174	122 : 142
run1-/rpv1-	160 : 167	128 : 140
genotípusok	167 : 174	140 : 142

Mivel a VMC8g9 lokuszban a szenzitív Kismis moldavszkij szülő is tartalmaz egy 160-as - BC_4 x Cardinal családban a rezisztenciát jelző - markerallélt, az utódnemzedékben nem a 160 bp markerallél jelenléte, hanem a genotípus alapján lehet szelektálni (2. táblázat).

A CB69.70 és CB137.138 BAC klón eredetű domináns markerekkel végrehajtott PCR a CB69.70 primer esetében, ugyanúgy mint a 02-02 hibridcsaládon végzett vizsgálat során, az egyedek részénél egy 157 bp méretű fragmentumot, míg a CB137.138 primer esetében egy 277 bp méretű fragmentumot eredményezett a BC_4 x Kismis moldavszkij utódokban. A többi egyed estében a fragmentumok hiánya volt tapasztalható.

A peronoszpóra-fertőzési tünetek és a markerekkel kapott eredmények összehasonlítását, a pontos allélméreteket, valamint a fragmentumok meglétét illetve hiányát a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat: A peronoszpóra-fertőzési tünetek és a markerekkel kapott eredmények összehasonlítása

Minta sorszám	A szabadföldi peronoszpóra fertőzéses tünetek eredménye	CB69.70	CB137.138	VMC8g9	VMC1g3.2
BC4	Ø	+	+	160 : 167	122 : 140
Kismis moldavszkij	+	Ø	Ø	160 : 174	128 : 142
Cardinal	+	Ø	Ø	179 : 179	136 : 140
„Rezisztens” genotípusok				160 : 174 160 : 160	122 : 128 122 : 142
Szenzitív genotípusok				160 : 167 167 : 174	128 : 140 140 : 142
5	+	Ø	Ø	167 : 174	140 : 142
7	+	Ø	Ø	160 : 167	128 : 140
8	Ø	+	+	160 : 174	122 : 142
9	Ø	**Ø**	+	160 : 174	122 : 142
10	+	Ø	Ø	160 : 167	128 : 140
12	+	Ø	Ø	160 : 167	128 : 140
13	Ø	+	+	160 : 174	122 : 142
16	Ø	+	+	160 : 174	122 : 142
17	+	Ø	Ø	160 : 167	128 : 140
19	+	Ø	Ø	167 : 174	140 : 142
23	Ø	+	+	160 : 160	122 : 128
25	+	Ø	Ø	**160 : 160**	128 : 140
26	Ø	+	+	160 : 160	**128 : 140**
30	+	Ø	Ø	160 : 167	128 : 140
32	Ø	Ø	Ø	160 : 174	122 : 128
37	+	Ø	Ø	167 : 174	140 : 142

Minta sorszám	A szabadföldi peronoszpóra fertőzéses tünetek eredménye	CB69.70	CB137.138	VMC8g9	VMC1g3.2
41	Ø	+	Ø	160 : 160	122 : 128
44	Ø	+	+	160 : 160	122 : 128
46	+	Ø	Ø	160 : 167	**122 : 128**
49	+	Ø	Ø	167 : 174	140 : 142
53	Ø	+	+	160 : 160	122 : 128
54	Ø	+	+	160 : 174	122 : 142
55	Ø	**Ø**	**Ø**	160 : 160	122 : 128
64	Ø	+	+	160 : 160	122 : 128
68	Ø	+	+	160 : 160	122 : 128
69	Ø	+	+	160 : 174	122 : 128
70	Ø	+	+	160 : 160	122 : 128
73	+	Ø	Ø	160 : 167	128 : 140
76	Ø	+	+	160 : 174	122 : 142
81	Ø	+	+	160 : 174	122 : 142
85	Ø	+	+	160 : 160	122 : 128
87	Ø	+	+	160 : 174	122 : 142
90	Ø	+	+	160 : 174	122 : 142
95	Ø	+	+	160 : 160	122 : 128
100	+	Ø	Ø	160 : 167	128 : 140
101	+	Ø	Ø	160 : 167	128 : 140
104	Ø	+	+	160 : 174	122 : 142
108	+	**Ø**	**Ø**	**160 : 160**	**122 : 142**
113	+	Ø	Ø	167 : 174	128 : 140
115	+	Ø	Ø	167 : 174	140 : 142
119	Ø	+	+	160 : 160	122 : 128
122	Ø	+	+	160 : 160	122 : 128
128	+	Ø	Ø	167 : 174	140 : 142
133	+	Ø	Ø	160 : 167	128 : 140
140	Ø	**Ø**	+	160 : 174	122 : 142
148	Ø	+	+	160 : 174	122 : 142
152	Ø	**Ø**	+	160 : 174	122 : 142
153	+	Ø	Ø	167 : 174	140 : 142
163	Ø	**Ø**	+	160 : 174	122 : 142
167	Ø	+	+	160 : 174	122 : 142

* Az eltérések kék színnel jelölve.

A négy markerrel elvégzett kísérletek alapján 11 minta esetében tapasztaltunk diszkrepanciát, vagy a szabadföldi peronoszpórafertőzési tünetek, vagy pedig valamely marker által adott eredmény alapján. A markerekkel kapott hasadási arányokat a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat: A peronoszpóra felvételezés, a markerekkel kapott genotípusok összehasonlítása a BC_4 x Kismis moldavszkij családban

Fenotípus: Peronoszpóra tünetmentes	**Fenotípus: Peronoszpóra fertőzött**	**VMC8g9 rezisztens genotípus: *RUN1+/RPV1+* genotípus**	**VMC8g9 szenzitív genotípus**	**VMC1g3.2 rezisztens genotípus: *RUN1+/RPV1+* genotípus**	**VMC1g3.2 szenzitív genotípus**	**CB69.70 pozitív genotípus: *RUN1+/RPV1+* genotípus**	**CB69.70 szenzitív genotípus**	**CB137.138 pozitív genotípus: *RUN1+/RPV1+* genotípus**	**CB137.138 szenzitív genotípus**
30	20	32	18	31	19	24	26	27	23

A feltételezett „rekombinánsok” ellenére a VMC8g9 és VMC1g3.2 mellett a CB137.138, markerek is alkalmazhatóak lehetnek gyors szűrésre.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- Elsőként alkalmaztuk a *RUN1+/RPV1+* lisztharmat / peronoszpóra rezisztencia génekkel kapcsolt molekuláris markereket a BC_4 x Cardinal és a BC_4 x Kismis moldavszkij hibridcsaládok genotípus összetételének meghatározására.
- Bizonyítottuk, hogy a CAPS-ben (PCR-RFLP) alkalmazott GLP1-12P1-GLP1-12P3 primerek és a VMC4f3.1, VMC8g9 mikroszatellit alkalmasak szelekcióra a BC_4 x Cardinal hibridcsaládban.
- Meghatároztuk a VMC4f3.1 és a VMC8g9 mikroszatellit lókuszban a rezisztencia génnel kapcsolt allélek méretét.
- Igazoltuk a BC_4 x Cardinal hibridcsaládban a CB69.70 és a CB137.138 MAS-ra való alkalmazhatóságát.
- A BC_4 x Cardinal családban a VMC8g9 esetében agaróz gélelektroforézisen alapuló egyszerűsített genotipizálási módszert dolgoztunk ki.
- Bizonyítottuk, hogy a VMC8g9 a BC_4 x Kismis moldavszkij családban is alkalmas a MAS-ra, annak ellenére, hogy a szenzitív szülő közös allélt (160 bp) hordozza. A genotípus alapján azonban a szelekció megbízható.
- Meghatároztuk a VMC1g3.2 mikroszatellit lókuszban a rezisztencia génnel kapcsolt allél méretét.
- A VMC1g3.2 primer bevonásával megerősítettük a *RUN1*/*RPV1* szoros kapcsoltságát.
- Igazoltuk a CB 69.70 és a CB137.138 domináns markerek használhatóságát a BC_4 x Kismis moldavszkij hibridcsaládban.

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Eredményeinkkel sikerült bizonyítanunk, hogy a hasadó BC_4 x Cardinal (02-02) és a BC_4 x Kismis moldavszkij (02-01) hibridcsaládok különböző fenotípusú egyedei, a lisztharmat és peronoszpóra rezisztencia génnekkel kapcsolt molekuláris markerekkel elkülöníthetőek egymástól a korai pár lombleveles fejlődési szakaszban. Olyan rutinszerű szelekciós módszert dolgoztunk ki, mellyel költséghatékonyan válogathatjuk ki a hasadó hibridpopulációkból az értékes utódokat. Ennek révén a fenntartási, a fenotipusos szelekciós és bonitálási költségek is jelentősen csökkenthetők.

A VRH3082-1-42 BC_4 x Cardinal hibridcsalád 150 magoncának vizsgálata során bizonyítottuk, hogy a RGA eredetű GLP1-12P1 - GLP1-12P3 primerpár (Donald *et al*. 2002) kiválóan alkalmas a sikeres PCR, majd a termék *Eco*RI enzimmel való emésztése után a genotípusok egyértelmű elkülönítésére. Ezzel, nemcsak a GLP1-12P1 - GLP1-12P3 *RUN1* markerként történő alkalmazhatóságát bizonyítottuk, hanem azt is, hogy a rezisztens egyedek heterozigóták a *Run1* lókuszra. Az SSR analízisbe további két markert, a VMC8g9-et és a VMC4f3.1-et (Barker *et al*. 2005) vontuk be. Mind a két primer esetében meghatároztuk a *RUN1* génnel kapcsolt markerallél méretét. A legnagyobb rekombinációs százalékot a VMC4f.3.1 (10%), míg a legkisebbet a GLP1-12P1-GLP1-12P3 adta (0,7%). A VMC8g9 esetében a feltételezhetően rekombináns egyedek aránya 3,8% volt. A pontos allélméret elemzéshez ALF Express II DNS fragmentum analizátor és a primerek fluoreszcens jelölése szükséges. Ezért a VMC8g9 esetében az ellenálló és fogékony egyedek elkülönítésére egyszerűbb módszert dolgoztunk ki, az egymástól 7 bp-ban különböző szenzitív és rezisztens allélek elektroforetikus elválasztásával agaróz gélen.

Domináns BAC klón eredetű markereket (CB69.70 és B137.138) is bevontuk a szelekciós vizsgálatokba, azért, hogy minél egyszerűbb és gyorsabb kiválogatási módszert találjunk. A CB69.70 és a CB137.138 markerek alkalmazhatóságát is bizonyítani tudtuk a 02-02 hibridcsalád egyedein.

A 02-02 hibridcsaláddal kapott eredmények alapján vizsgáltuk a VRH3082-1-42 BC_4 x Kismis moldvszkij (02-01) család 50 szelektálatlan magoncát. Mivel a *RUN1/RPV1* szoros kapcsoltságát több szerző is leírta és megerősítette a VMC8g9,

CB69.70 és CB137.138 markerek mellett, a VMC1g3.2 SSR lókuszt is bevontuk a vizsgálatokba, mivel néhány kutató ezt az *RPV1+* genotípusok szelekciójára alkalmazta. Mind a négy marker segítségével elkülöníthetőek a lisztharmat és a peronoszpóra rezisztenciagéneket hordozó (*RUN1+/RPV1+*) és a nem hordozó (*run1-/rpv1-*) egyedek egymástól.

Eredményeink alapján javasoljuk a munkánk során felhasznált markerek (GLP1-12P1P3, VMC8g9, VMC4f.3.1, VMC1g3.2, CB69.70 és CB137.138) további szelekciós vizsgálatokba történő bevonását. Olyan hibridcsaládok vizsgálatára lehetnek alkalmasak, melyek egyik keresztezési partnere (rezisztens szülő) a VRH2082-1-42 BC_4, vagy bármely olyan visszakeresztezett nemzedékből származó ellenálló szülő (például: VRH3082-1-49, VRH3084-2-56, VRH3099-10-57), amelyben a peronoszpóra/lisztharmat rezisztencia forrása a *M. rotundifolia*. Olyan megbízható marker alapú rendszert dolgoztunk ki, amellyel a PCR-t és a poliakrilamid vagy agaróz gélelektrofotézist követően a *RUN1+/RPV1+* genotípusú egyedek kiválogathatóak. A VMC8g9, a VMC1g3.2, a CB69.70 és CB137.138 markerek alkalmasságát más, halmozott rezisztenciagéneket tartalmazó hibridcsaládokban (Kozma *et al.* 2006) is eredményesen alkalmazták (Katula-Debreczeni *et al*. 2010), ami megerősíti a disszertáció eredményeit.

IRODALOMJEGYZÉK

Adam-Blondon A-F., Roux C., Claux D., Butterlin G., Merdinoglu D., This P., (2004): Mapping 245 SSR markers on the Vitis vinifera genome: a tool for grape genetics. Theor. Appl. Genet. 5: 1017-27.

Barker C.L., Donald T., Pauquet J., Ratnaparkhe M.B., Bouquet A., Adam-Blondon A.-F., Thomas M.R., Dry, I. (2005): Genetic and physical mapping of the grapevine powdery mildew resistance gene, *RUN1*, using a bacterial artificial chromosome library. Theor. Appl. Genet. 111: 370-377.

Bouquet A. (1980): *Vitis* x *Muscadinia* hybridisation: a new way in grape breeding for disease resistance in France. Proc. 3th Int. Symp. Grape Genet. Breed., (Davis), 42-61 p.

Bouquet A. (1986): Introduction dans l'espéce *V. vinifera* L. d'un caractére de résistance á l'oidium (*Uncinula necator* Schw. Burr.) issu de l'espéce *M. rotundifolia* (Michx.) Small. Vignevini 12: 141-146.

Di Gaspero G., Cipriani G. (2003): Nucleotide binding site / leucine-rich repeats, Pto-like kinases related to disease resistance in grapevine. Mol. Gen. Genom. 269: 612-623.

Di Gaspero G., Cipriani G., Adam-Blondon A.-F. Testolin R. (2007): Linkage maps of grapevine displaying the chromosomal locations of 420 microsatellite markers and 82 markers for R-gene candidates. Theor. Appl. Genet. 114: 1249-1263.

Doligez A., Adam-Blondon A. F., Cipriani G., Di Gaspero G., Laucou V., Merdinoglu D., Meredith C. P., Riaz S., Roux C., This P. (2006): An integrated SSR map of grapevine based on five mapping populations. Theor. Appl. Genet. 113: 369–382.

Donald T.M., Pellerone F., Adam-Blondon A-F., Bouquet A., Thomas M.R., Dry I.B. (2002): Identification of resistance gene analogs linked to a powdery mildew resistance locus in grapevine. Theor. Appl. Genet. 104: 610-618.

Galet P. (1988): Cépages et vignobles de France. Tome 1., Les vignes américaines. Imprimerie Charles Dehan, Parc Euromedicine, Montpellier, France.

Halász G., Kozma P., Molnár S., Veres A., Hoffmann S., Galbács Zs., Kiss E., Heszky L. (2005.a): Szőlőhibridek elemzése rezisztenciagénekhez kapcsolt markerekkel. A fajtaválaszték fejlesztése a kertészetben (Szerk. G. Tóth M.). Kertgazdaság, különkiadás, 127-132.

Halász G., Veres A., Kozma P., Kiss E., Balogh A., Galli ZS., Szőke A., Hoffmann S., Heszky L. (2005.b): Microsatellite fingerprinting of grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties of the Carpathian Basin. Vitis 44: 173-180.

Jelenkovic G., Olmo H.P. (1968): Cytogenetics of *Vitis*. III. Partially fertile F1 diploid hybrids between *V. vinifera* L. and *V. rotundifolia* Michx. Vitis 7: 8-18.

Katula-Debreceni, D., Lencsés, A.K., Szőke, A., Veres, A., Hoffmann, S., Kozma, P., Kovács, L.G., Heszky, L. Kiss E. (2010): Marker-assisted selection for two dominant powdery mildew resistance genes introgressed into a hybrid grape family. Sci. Horticult. 126: 448-453

Konieczny A, Ausubel F.M. (1994): A procedure for mapping Arabidopsis mutations using co-dominant ecotypespecific PCR-based markers. Plant J. 4: 403-410.

Kozma P.jr. és Dula T. (2003): Inheritance of resistance to downy mildew and powdery mildew of hybrid family *Muscadinia* x *V. vinifera* x *V. amurensis* x Franco-American hybrid. Proc. 8th Int. Conf. Grapre Genet. and Breed. Acta Horticult. 603: 457-463.

Merdinoglu D., Wiedemann-Merdinoglu S., Coste P., Dumas V., Haetty S., Butterlin G., Greif C. (2003): Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia.* Proc. 8th. Int. Conf. Grape. Acta Horticult. 603: 451-456.

Meyers B.C., Dickerman A.W., Michelmore R.W., Sivaramakrishnan S., Sobral B.W., Young, N.D. (1999). Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. Plant J. 20: 317–332.

Molnár S., **Galbács Zs., Halász G., Hoffmann S., Kiss E., Kozma P., Veres A., Galli Zs., Szőke A., Heszky L.** (2007): Marker assisted selection (MAS) for powdery mildew resistance in a grapevine hybrid family. *Vitis* 46 (4): 212-213.

Pauquet J., Bouquet A., This P., Adam-Blondon A.-F. (2001): Estabilishment of a local map of AFLP markers around the powdery mildew resistance gene RUN1 in grapevine and assessment of their usefulness for marker assisted selection. Theor. Appl. Genet. 103: 1201-1210.

Riaz S., Dangl S.G., Edwards K.J., Meredith C.P. (2004): A microsatellite based framework linkage map of *Vitis vinifera* L. Theor. Appl. Genet. 108: 864-872.

Small J.K. (1913): Flora of the Southeastern United States. 2nd edition. 1394 p. New York.

I. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Tudományos cikkek (angol nyelvű):

1. **Stella Molnár**, Zsuzsanna Galbács, Gábor Halász, Sarolta Hoffmann, Erzsébet Kiss, Anikó Veres, Zsolt Galli, Antal Szőke, László Heszky (2007): Marker assisted selection (MAS) for powdery mildew resistance in a grapevine hybrid family. **Vitis 46** (4), 212-213.

2. Zsuzsanna Galbács, **Stella Molnár**, Gábor Halász, Sarolta Hoffmann, Erzsébet Kiss, Kozma Pál, László Kovács, Anikó Veres, Zsolt Galli, Antal Szőke and László (2008): Microsatellite based genotyping of grapevine varieties of the Carpathian Basin. **Vitis 48** (1): 17-24.

Tudományos cikkek (magyar nyelvű):

1. **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Szőke Antal, Galli Zsolt, Szádeczky-Kardoss Bence, Kozma Pál, Kiss Erzsébet, Heszky László (2007): Lisztharmat ellenálló és fogékony genotípusok szelekciója molekuláris markerekkel. **Debreceni Egyetem Agrártudományi Közlemények**, *Acta Agraria Debreceniensis* 2007/27. 100-104.

2. Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Tóth Zsófia, Pilinszky Katalin, Wichmann Barnabás, Kiss Erzsébet, Kozma Pál, Heszky László (2007): Mikroszatellit ujjlenyomat alkalmazása ”hungaricum” szőlőfajták pedigré elemzésére. Debreceni **Egyetem Agrártudományi Közlemények**, *Acta Agraria Debreceniensis* 2007/27. 71-77.

Konferencia kiadványok (Proceedings)

1. Kozma Pál, **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Heszky László, Kiss Erzsébet (2006): Markerekre aklapozott szelekció lisztharmat rezisztenciára szőlő back-cross nemezedékben. Agrárgazdaság, vidék, régiók, multifunkcionális feladatok lehetőségek”. **XLVIII. Georgikon Napok,** *48th Georgikon Scientific* Conference, Keszthely, 2006. szeptember 21-22. **CD:\Teljes anyagok**\Kozma et al.

2. Kozma Pál, Halász Gábor, Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Kiss Erzsébet, Heszky László (2009): Analysis of grapevine hybrid familiy with molecular markers linked to powdery mildew resistance gene. Grape Breeding 2006 - **International Symposium on Grape Genetics and Breeding**, July 2-7, 2006. Udine, Italy, ISHS **Acta Horticulturae** 827: 627-629.

Konferencia összefoglalók:

Angol nyelvű:

1. **Stella Molnár**, Zsuzsanna Galbács, Diána Debreceni-Katula, Antal Szőke, Anikó Veres, Sarolta Hoffmann, Pál Kozma, Zsolt Galli, Erzsébet Kiss, László Heszky (2008): Application of Molecular Markers Linked to *RUN1* Powdery Mildew Resistance Gene, **International Conference; Molecular Mapping and Marker Assisted Selection in Plants;** Abstract of Poster Presentation, p. 67.

2. Galbács Zsuzsanna**, Molnár Stella**, Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Kozma Pál, Kiss Erzsébet, Heszky László (2006): Application of molecular markers linked to fungal disease resistance genes in grapevine hybrid family. **11th IAPTC&B Congress; Biotechnology and Sustainable Agriculture 2006 and Beyond;** Beijing, China, August 13-18, 2006. Book of Absracts, p. 165. (P-1465).

3. Kozma Pál, Halász Gábor, Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Kiss Erzsébet, Heszky László (2006): Analysis of grapevine hybrid familiy with molecular markers linked to powdery mildew resistance gene. Grape Breeding 2006 - **International Symposium on Grape Genetics and Breeding**, July 2-7, 2006. Udine, Italy, Book of abstracts, p. 56.

Magyar nyelvű:

1. **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Katuláné Debreceni Diána, Kozma Pál, Kiss Erzsébet, Heszky László**:** *RUN1* génnel kapcsolt SSR markerek alkalmazása lisztharmattal szemben rezisztens szőlő genotipusok szelekciójára, **XIV. Növénynemesítési Tudományos Napok**, *XIV. Scientific Days of Plant Breeding* Budapest MTA 2008. március 12. Összefoglalók, p. 65.

2. **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Halász Gábor, Veres Anikó, Hoffmann Sarolta, Kozma Pál, Galli Zsolt, Kiss Erzsébet, Heszky László (2006): Szőlő lisztharmat rezisztencia gén molekuláris markerezése. **XII. Növénynemesítési Tudományos Napok**, *XII. Scientific Days of Plant Breeding* Budapest MTA 2006. március 7-8. Összefoglalók, p. 35.

3. **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Halász Gábor, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Hoffmann Sarolta, Wichmann Barnabás, Kiss Erzsébet, Heszky László, Kozma Pál (2007): A *Muscadinia rotundifolia* eredetű *RUN1* génnel kapcsolt DNS markerek alkalmazása lisztharmattal szemben rezisztens szőlő genotípusok szelekciójára, **VII. Magyar Genetikai Kongresszus, XIV. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok.** Balatonfüred 2007. április15-17 Összefoglalók, p.150.

4. **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna**,** Hoffmann Sarolta, Kozma Pál, Veres Anikó, Halász Gábor, Galli Zsolt, Szőke Antal, Heszky László, Kiss Erzsébet (2007): Markerekre alapozott szelekció a szőlő lisztharmat rezisztencia-nemesítésben.

Lippay János- Ormos Imre- Vas Károly Tudományos Ülésszak, Budapest, 2007. november 7-8. p. 234-235.

5. Kozma Pál, **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna**,** Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Heszky László, Kiss Erzsébet (2006): Markerekre aklapozott szelekció lisztharmat rezisztenciára szőlő back-cross nemezedékben. Agrárgazdaság, vidék, régiók, multifunkcionális feladatok lehetőségek". **XLVIII. Georgikon Napok,** *48th Georgikon Scientific Conference,* Keszthely, 2006. szeptember 21-22. p. 179.

Előadások:

1. Kozma Pál, Galbács Zsuzsanna**,** Halász Gábor, **Molnár Stella**, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Kiss Erzsébet, Heszky L (2006): Lisztharmat rezisztenciagénnel kapcsolt molekuláris markerek alkalmazása szőlő hibridek szelekciójára. **Molekuláris markerek felhasználása a növénygenetikai és nemesítési kutatásokban, MAE Genetikai Központi Szakosztály** ülése, Martonvásár, 2006. január 19.

Poszterek:

1. **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Szőke Antal, Galli Zsolt, Szádeczky-Kardoss Bence, Kozma Pál, Kiss Erzsébet, Heszky László (2006): Lisztharmat ellenálló és fogékony genotípusok szelekciója molekuláris markerekkel. Új típusú gazdasági kihívások és válaszok a bolognai folyamatban. **Debreceni Egyetem Mezőgazdaságtiudományi Kar, Szent István Egyetem Mezőgazdságtudományi Kar közös tudományos ülése**. Debrecen, 2006. december 7.

II. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KÖZVETLENÜL NEM KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Tudományos cikkek (angol nyelvű):

1. Erzsébet Kiss, Pál Kozma, Gábor Halász, Sarolta Hoffmann, Zsuzsanna Galbács, Zsolt Galli, **Stella Molnár**, Antal Szőke, Anikó Veres, László Heszky (2008): DNA Ampleography: Grapevine variety characterization using DNA barcodes. **Hungarian Agricultural Research** 2008. (1): 19-23.

Tudományos cikkek (magyar nyelvű):

1. Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Galli Zsolt, Szőke Antal, Veres Anikó, Heszky László, Kozma Pál, Kiss Erzsébet (2007): „DNS-ampelográfia": Szőlőfajták elemzése DNS vonalkóddal. **Agrár- és vidékfejlesztési szemle** 2007. vol. 2. (2) 93-99.

Konferencia kiadványok (Proceedings):

1. Halász Gábor, **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Kiss Erzsébet, Kozma Pál, Heszky László, (2006): Kárpát-medencében őshonos és mai szőlőfajták genotípusának és genetikai távolságának meghatározása mikroszatellitelemzéssel. **XLVIII. Georgikon Napok,** *48th Georgikon Scientific Conference,* Keszthely, 2006. szeptember 21-22. **CD:\Teljes anyagok**\Halász et al.

2. Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Halász Gábor, Heszky László, Kiss Erzsébet (2007): Szőlőfajták genotipizálása mikroszatellite markerekkel. Microsatellite based genotyping of grapevine cultivars autochthonous in the Carpathian Basin and bred in or introduced into Hungary. **Lippay János- Ormos Imre- Vas Károly Tudományos Ülésszak**, 2007. november 7-8. 232-233.

3. Lencsés Andrea Kitti, Katuláné Debreceni Diána, Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Szőke Antal, Heszky László, Kozma Pál, Kiss Erzsébet (2009): Molekuláris módszerek alkalmazása a kárpát-medencei szőlő génforrások megőrzésére. **Hagyomány és haladás a növénynemesítésben, XV. Növénynemesítési Tudományos Napok,** *XV. Scientific Days of Plant Breeding 2009.* 228-232.

4. Kiss Erzsébet, Kozma Pál, Halász Gábor, Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Heszky László (2009): Pedigree of Carpathian Basin and Hungarian grapevine cultivars based on microsatellite analysis. Grape Breeding 2006 - **International Symposium on Grape Genetics and Breeding**, July 2-7, 2006. Udine, ISHS **Acta Horticulturae** 827: 221-224.

Konferencia összefoglalók:

Angol nyelvű:

1. **Stella Molnár**, Zsuzsanna Galbács**,** Gábor Halász, Sarolta Hoffmann, Anikó Veres, Zsolt Galli, Antal Szőke, Pál Kozma, Erzsébet Kiss, László Heszky (2006): SSR based study of grapevine varieties of Carpathian Basin and Hungarian origin. **11th IAPTC&B Congress; Biotechnology and Sustainable Agriculture 2006 and Beyond;** Beijing, China, August 13-18, 2006. Book of Absracts, p. 166. p.1469.

2. Kiss Erzsébet, Kozma Pál, Halász Gábor, Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Heszky László (2006): Pedigree of Carpathian Basin and Hungarian grapevine cultivars based on microsatellite analysis. Grape Breeding 2006 - **International Symposium on Grape Genetics and Breeding**, July 2-7, 2006. Udine, Italy, Book of abstracts, p. 192.

3. Galbács Zsuzsanna**, Molnár Stella**, Lencsés Andrea Kitti, Szőke Antal, Veres Anikó, Hoffmann Sarolta, Kozma Pál, Galli Zsolt, Kiss Erzsébet, Heszky László (2008): SSR Based Genotyping of Grapevine varieties**, International Conference; Molecular Mapping and Marker Assisted Selection in Plants;** Abstract of Poster Presentation, p. 46.

4. Galli Zsolt, Wichmann Barnabás, **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Kiss Erzsébet, Szabó T., Heszky László (2008): Molecular Fingerprinting of Apple Sport Mutants, **International Conference; Molecular Mapping and Marker Assisted Selection in Plants;** Abstract of Poster Presentation, p. 52.

Magyar nyelvű:

1. Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Kiss Erzsébet, Kozma Pál,Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Heszky László (2008): Az EU Szőlő SSR Adatbázisának bővítése magyar fajták adataival, **XIV. Növénynemesítési Tudományos Napok**, *XIV. Scientific Days of Plant Breeding* Budapest MTA 2008. március 12. Összefoglalók, p. 64.

2. Galli Zsolt, Wichmann Barnabás, Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Kiss Erzsébet, Szabó Tibor, Heszky László: Jonathan rügymutánsok molekuláris elkülönítése S-SAP markerekkel, **XIV. Növénynemesítési Tudományos Napok**, *XIV. Scientific Days of Plant Breeding* Budapest MTA 2008. március 12. Összefoglalók, p. 62.

3. Wichmann Barnabás, Galli Zsolt, Balázs Dávid, **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Kiss Erzsébet, Szabó Tibor, Heszky László: Alma tájfajták elkülönítése mikroszatellit „ujjlenyomat" segítségével **XIV. Növénynemesítési Tudományos Napok**, *XIV. Scientific Days of Plant Breeding* Budapest MTA 2008. március 12. Összefoglalók, p. 63.

4. Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella,** Halász Gábor, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Koncz Tímea, Debreceni Diána, Wichmann Barnabás, Pilinszky Katalin, Tóth Zsófia, Szádeczky-Kardoss Bence, Kiss Erzsébet, Heszky László (2007): Szőlőfajták genotípusának meghatározása DNS markerekkel, **VII. Magyar Genetikai Kongresszus, XIV. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok** Balatonfüred 2007. április15-17 Összefoglalók, p.107.

5. Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Halász Gábor, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Koncz Tímea, Debreceni Diána, Wichmann Barnabás, Pilinszky Katalin, Tóth Zsófia, Szádeczky-Kardoss Bence, Kiss Erzsébet, Heszky László (2007): Szőlőfajták genotipizálása mikroszatellit, kloroplasztisz-specifikus, retrotranszpozon eredetű és génspecifikus markerekkel, **XIII. Növénynemesítési Tudományos Napok**, *XIII. Scientific Days of Plant Breeding* Budapest MTA 2007. március 12. Összefoglalók, p.89.

6. Galbács Zsuzsanna**, Molnár Stella**, Kozma Pál, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Halász Gábor, Heszky László, Kiss Erzsébet, (2007): Szőlőfajták genotipizálása mikroszatellit markerekkel. **Lippay János- Ormos Imre- Vas Károly Tudományos Ülésszak**, Budapest, 2007. november 7-8. p.232-233.

7. Halász Gábor, **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Veres Anikó, Hoffmann Sarolta, Kozma Pál, Galli Zsolt, Kiss Erzsébet, Heszky László (2006): Szőlőfajták pedigréjének elemzése mikroszatellit ujjlenyomat alapján. **XII. Növénynemesítési Tudományos Napok**, *XII. Scientific Days of Plant Breeding* Budapest MTA 2006. március 7-8. Összefoglalók, p. 34.

8. Halász Gábor, **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Kiss Erzsébet, Kozma Pál, Heszky László (2006): Kárpát-medencében őshonos és mai szőlőfajták genotípusának és genetikai távolságának meghatározása mikroszatellitelemzéssel. **XLVIII. Georgikon Napok,** *48th Georgikon Scientific Conference,* Keszthely, 2006. szeptember 21-22. p. 175.

9. Wichmann Barnabás, Galli Zsolt, Balázs Barnabás Dávid, Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Kiss Erzsébet, Szabó Tibor, Heszky László (2007): Rezisztenciagén analóg (RGA) markerek azonosítása almában, **XIII. Növénynemesítési Tudományos Napok**, *XIII. Scientific Days of Plant Breeding* Budapest MTA 2007. március 12. Összefoglalók, p. 86.

10. Wichmann Barnabás, Galli Zsolt, Balázs Barnabás Dávid, **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Kiss Erzsébet, Szabó Tibor., Heszky László (2007): Rezisztenciagén analóg markerek azonosítása almában. **Lippay János- Ormos Imre- Vas Károly Tudományos Ülésszak**, Budapest, 2007. november 7-8. p. 218-219.

Előadások:

1. Kiss Erzsébet, Kozma Pál, Veres Anikó, Galbács Zsuzsanna, Halász Gábor, **Molnár Stella**, Hoffmann Sarolta, Galli Zsolt, Szőke Antal, Heszky László (2006): Szőlő fajták pedigré elemzése mikroszatellit markerekkel. **Molekuláris markerek felhasználása a növénygenetikai és nemesítési kutatásokban, MAE Genetikai Központi Szakosztály** ülése, Martonvásár, 2006. január 19.

2. Lencsés Andrea Kitti, Katuláné Debreceni Diána, Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Szőke Antal, Heszky László, Kozma Pál, Kiss Erzsébet (2008): Molekuláris módszerek alkalmazása a kárpát-medencei szőlő génforrások megőrzésére. „Fiatal Kutatók az élhető Földért" – A Tudomány Ünnepe. FVM Budapest, 2008.11.24.

Poszterek:

2. Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Halász Gábor, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Tóth Zsófia, Pilinszky Katalin, Wichmann Barnabás, Kiss Erzsébet, Kozma Pál, Heszky László (2006): Mikroszatellit ujjlenyomat alkalmazása"hungaricum" stzőlőfajták pedigré elemzésére. Új típusú gazdasági kihívások és válaszok a bolognai folyamatban. **Debreceni Egyetem Mezőgazdaságtiudományi Kar, Szent István Egyetem Mezőgazdságtudományi Kar közös tudományos ülése**. Debrecen, 2006. december 7.

Konferencia kiadványok (Proceedings):

1. Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Halász Gábor, Heszky László, Kiss Erzsébet (2007): Szőlőfajták genotipizálása mikroszatellite markerekkel. Microsatellite based genotyping of grapevine cultivars autochthonous in the Carpathian Basin and bred in or introduced into Hungary. **Lippay János- Ormos Imre- Vas Károly Tudományos Ülésszak**, 2007. november 7-8. 232-233.o.

2. Halász Gábor, **Molnár Stella**, Galbács Zsuzsanna, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Kiss Erzsébet, Kozma Pál, Heszky László, (2006): Kárpát-medencében őshonos és mai szőlőfajták genotípusának és genetikai távolságának meghatározása mikroszatellitelemzéssel. **XLVIII. Georgikon Napok,** *48th Georgikon Scientific Conference,* Keszthely, 2006. szeptember 21-22. **CD:\Teljes anyagok**\Halász et al.

3. Kiss Erzsébet, Kozma Pál, Halász Gábor, Galbács Zsuzsanna, **Molnár Stella**, Hoffmann Sarolta, Veres Anikó, Galli Zsolt, Szőke Antal, Heszky László (2006): Pedigree of Carpathian Basin and Hungarian grapevine cultivars based on microsatellite analysis. Grape Breeding 2006 - **International Symposium on Grape Genetics and Breeding**, July 2-7, 2006. Udine, ISHS **Acta Horticulturae**.