Szent István Egyetem

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Almafajták és nemesítési génforrások betegség-ellenállóságának karakterizálása fenotipizálással és molekuláris markerezéssel

Papp Dávid

Gödöllő

2017

A doktori iskola

megnevezése:	**Kertészettudományi Doktori Iskola**
tudományága:	Növénytermesztési és kertészeti tudományok
vezetője:	**Dr. Zámboriné Németh Éva** egyetemi tanár, DSc Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Gyógy- és Aromanövények Tanszék
témavezető:	**Dr. Tóth Magdolna** egyetemi tanár, DSc Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Gyümölcstermő Növények Tanszék

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

.....	.....
Az iskolavezető jóváhagyása	A témavezető jóváhagyása

1. A munka előzményei, kitűzött célok

1.1. A nemzetközi és hazai alma rezisztencianemesítés egyes vonatkozásai

A nemes alma (*Malus* × *domestica* Borkh.) a legjelentősebb mérsékelt övi gyümölcsfaj. A termesztést kozmopolita fajták uralják világszerte, melyek jellemzően fogékonyak az alma fő betegségeivel szemben. A termesztés során alkalmazott növényvédelmi kezelések egyrészről nagy költséggel, másrészt komoly környezetterheléssel járnak világszerte. A megoldást kínáló rezisztens almafajták előállítása már a múlt században megkezdődött, és mára az almanemesítő műhelyek legfőbb célkitűzése a magas gyümölcsminőség garantálása mellett a betegség-ellenállóság elérése az új fajtákban (Laurens 1998; Sansavini et al. 2004).

Az alma három fő betegsége, a ventúriás varasodás (*Venturia inaequalis* Cke./Wint.), az ervíniás tűzelhalás (*Erwinia amylovora* Burrill), valamint az almafa lisztharmat (*Podosphaera leucotricha* Ell. et Ev./Salm.). A rezisztencianemesítés elsősorban a varasodásrezisztenciára összpontosított a kezdetektől, de a lisztharmat ellenállóság elérése is már a XX. század elején megjelent a célok közt. A tűzelhalás kórokozója csupán 1958-ban érte el Európát (Peil et al. 2009), azonban mára a rezisztencianemesítés középpontjába került, a rezisztens fajták hiánya, illetve a hatékony növényvédőszerek elérhetetlensége folytán.

Hazánkban a Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem Gyümölcstermesztési Tanszékén (jogutód: BCE, ill. SZIE Gyümölcstermő Növények Tanszéke), 1960-ban indult almanemesítési program, melynek kiemelt célja különböző érési idejű, jó gyümölcsminőségű, lisztharmattal szemben ellenálló fajták előállítása volt (Kovács, 1985). A több betegséggel szembeni ellenállóságot és a kiváló gyümölcsminőséget megcélzó újabb rezisztencianemesítési program az 1990-es évek elején kezdődött a tanszéken (Tóth et al. 1994). A munka eredményeképp négy multirezisztens (‘Artemisz’,

‘Cordelia’, ‘Hesztia’, ‘Rosmerta’) és két integrált termesztésre javasolt toleráns fajta (‘Rodonit’ és ‘Karneol’) nyert állami elismerést, (Tóth et al. 2012; Tóth, 2016).

1.2. Kárpát-medencei régi almafajták jelentősége

A rezisztencianemesítés alapját a génforrásként alkalmazható genotípusok felkutatása jelenti. A modern fajtákon túl egyrészről vad almafajok, másrészről a termesztésből mára már kiszorult régi almafajták jöhetnek szóba, mint nemesítési génforrások. Így a hazai nemesítési program keretén belül sor került a Kárpát-medence régi almafajtáinak begyűjtésére, illetve génbankban való megőrzésére Soroksáron (Tóth, 2005). A régi fajták megóvása, illetve nemesítésbe történő bevonása megfelel a nemzetközi irányelveknek, valamint hozzájárulhat a vidék biodiverzitásának és kulturális értékeinek megőrzéséhez.

Nemzetközi szinten is egyre nagyobb figyelem fordul a biológiai sokféleség (syn.: biológiai diverzitás, biodiverzitás) témaköre felé, mely közvetve kiterjed a termesztett gyümölcsfajok sokféleségének kérdéskörére is. A Földművelésügyi Minisztérium (2016) által kiadott aktuális program (Magyarország élelmiszergazdasági programja 2016-2050) jelenleg is magában hordozza az 1992-ben létrejött nemzetközi riói egyezmény alapvetéseit, és célul tűzi ki a biológiai sokféleség növelését hazánkban.

1.3. A betegség-ellenállóság genetikai háttere az almában

Általánosságban a gazda-patogén kapcsolatra jellemző, hogy az evolúció során a gazdában rezisztenciagének (*R* gén), a kórokozóban pedig effektorokat kódoló avirulencia gének (*Avr* gén) jönnek létre, melyek specifikus kapcsolatban állnak egymással. Az egyes *R* és *Avr* gének közti kapcsolatot Flor (1942) írta le, aki azt ”gene-for-gene” (gén a génnel szembeni - GFG) kapcsolatnak nevezte el. A GFG hipotézisből következik, hogy az *R* gének adta rezisztencia általában rasszspecifikus és vertikális rezisztenciáért felelős (Vanderplank, 1963). Úgy is

mondhatnánk tehát, hogy a modern felfogás szerint az *R* gének polimorf növényi gének, melyek GFG kapcsolaton alapuló betegség-ellenállóságot szabályoznak (Bent és Mackey, 2007).

A *Malus-Venturia* rendszerben az elsők közt igazolták a GFG kapcsolat jelenlétét (Williams és Shay, 1957), de a liszttharmat esetében is megfigyeltek monogénes öröklődésű qualitatív rezisztenciát (Krieghoff, 1995), melyet a különböző patogén rasszok képesek letörni. A tűzelhalás ellenállóságot komplex, poligenikus tulajdonságnak tekintette sokáig az irodalom. A legújabb kutatások szerint azonban a *Malus-Erwinia* kapcsolatra is jellemző az először Flor (1942) által megfogalmazott GFG kapcsolat; illetve a gazda rezisztenciáját esetenként csupán egyetlen rasszspecifikus fő gén (monogén) határozza meg (Vogt et al. 2014).

1.4. Az almatermesztést veszélyeztető patogén rasszok elterjedése

A rasszspecifikus ellenállóság mértéke tehát egyenesen következik az esetenként fertőzési nyomást kifejtő patogén törzsek virulenciájának összetételéből. A környező patogén rasszok felmérése egyrészről szükséges a szabadföldi ellenállóság szakszerű értékeléséhez, másrészt komoly epidemiológiai veszélyekre deríthet fényt.

Erre az almatermesztésben legszemléletesebb példa a *Vf* rezisztenciagént áttörni képes 6-os rassz megjelenése, mely alapjaiban megrengette a bizalmat a varasodásrezisztens almafajták iránt (Parisi et al. 1993). Míg a liszttharmat és tűzelhalás terén, a különböző rasszok elterjedésének nyomon követésével kevesebb munka foglalkozik, addig a varasodásrasszok monitorozása elsősorban Európában, de nemzetközi szinten is átfogó módon zajlik napjainkban (Bus et al. 2011).

1.5. A rezisztenciagének monitorozásának lehetőségei

A klasszikus nemesítés és a fajtaértékelés korábban kizárólag a fenotípus értékelése alapján zajlott. Sok tulajdonság esetében azonban a fenotipizálás nagy költséggel jár, vagy tetemes időt vesz igénybe. A rasszspecifikus ellenállóságot kódoló *R* gének jelenlétének fenotípus alapján történő megállapításához célzott patogén izolátumokkal történő mesterséges fertőzések szükségesek, mely bár egyes esetekben kivitelezhető (Bus et al. 2005), a nemesítés számára minden bizonnyal nem eléggé hatékony módszer.

A molekuláris vizsgálatok egyéb módon gyakorlatilag elérhetetlen minőségű információval szolgálhatnak a nemesítés és fajtaértékelés során (Collard és Mackill, 2008). Molekuláris markeranalízissel az egyes gének jelenléte gyorsan és hatékonyan monitorozható a genotípusokban. A markerekre alapozott nemesítés (MAB) érdekében számos tudományos publikáció foglalkozik a rezisztencia gének feltérképezésével, illetve az azok követésére alkalmas molekuláris markerek kidolgozásával.

1.6. Kitűzött célok

1. Régi fajták varasodással és lisztharmattal szembeni ellenállóságának szabadföldön történő fenotípusos értékelése.

2. A *Venturia inaequalis* kórokozó hazai biotípusainak azonosítása.

3. Régi almafajták, valamint a hazai nemesítésből származó új fajták és nemesítési génforrások varasodással, lisztharmattal és tűzelhalással szembeni ellenállóságának molekuláris markerezéssel történő karakterizálása.

4. Új nemesítési génforrások kiemelése és genetikai szempontok alapján történő értékelése.

2. Anyag és módszer

2.1. A vizsgálatok helyszíne

A szabadföldi felmérések helyszínéül a SZIE Gyümölcstermő Növények Tanszékének Soroksáron található kísérleti telepe szolgált. A történelmi fajtagyűjteményben található régi almafajták valamint kereskedelmi kontrollfajták fái integrált növényvédelemben részesültek, míg a rezisztens fajtagyűjtemény, valamint az almanemesítési projekt kertjében nem végeztek számottevő növényvédelmi kezelést.

A genetikai vizsgálatokat a SZIE Gyümölcstermő Növények Tanszékének molekuláris biológiai laboratóriumában végeztük. Egyes műveletek (fragmentumhossz-analízis, szekvenálás) megbízás révén, laboratóriumi szolgáltatással lettek teljesítve.

2.2. Vizsgált fajták

Kutatómunkánk során 15 *Venturia* rasszindikátor fajtát, 57 régi magyar fajtát, valamint 12 hazai nemesítésből származó genotípust vizsgáltunk. Ezeken túl az egyes mérésekhez/vizsgálatokhoz további referencia fajtákat is alkalmaztunk.

2.3. Szabadföldi felmérések

Hat éven keresztül 2011-től 2016-ig vizsgáltuk 57 Kárpát-medencei régi almafajta varasodás és lisztharmat ellenállóságát. Fajtánként két egyedet vizsgáltunk a varasodás és lisztharmat gyakorisági értékein alapuló bonitálási skála segítségével (1. táblázat). A *Venturia inaequalis* rasszok jelenlétének monitorozásához használt 15 indikátorfajtát nyolc éven keresztül vizsgáltuk (2009-től 2016-ig). Évi két alkalommal végeztünk felméréseket. Varasodás esetében kizárólag az aktív sporulációkat, míg lisztharmat esetében a fertőződött hajtásvégeket vettük alapul a betegség detektálásánál.

1. táblázat. A varasodás/lisztharmat ellenállóság mértékének meghatározására szolgáló skála (Király et al. 2015) alapján

Ellenállósági fokozat	Sporuláló varas levél (db)/100 levél (db)	Lisztharmatos hajtás (db)/50 hajtás (db)	Skála
Rezisztens	0	0	0
Mérsékelten rezisztens	1-2	1-2	1
Mérsékelten fogékony	3-10	3-5	2
Fogékony	10-100	5-50	3

Az időjárási paraméterek szabadföldi monitorozása a soroksári ültetvényen belül kihelyezett Agrárin Kft. (Szőlősgyörök, Magyarország) által forgalmazott iMETOS® rendszer segítségével történt. Az időjárási paraméterek alapján kiszámítottuk a varasodás fertőzés kockázatát kifejező Mills periódusok számát (Mills, 1944, MacHardy és Gadoury, 1989).

2.4. Molekuláris vizsgálatok

A soroksári kísérleti telepen gyűjtött hajtásrügyekből vagy fiatal levelekből a DNS-kivonást a QIAGEN DNeasy® Plant Mini kit (Hilden, Németország), vagy az E.Z.N.A.® Plant DNA kit (Norcross, Egyesült Államok) segítségével végeztük.

Összesen 20 különböző SSR és SCAR primert alkalmaztunk. A Kárpát-medencei régi fajtákat 15 varasodás, lisztharmat, valamint tűzelhalás ellenállósággal asszociált markerrel vizsgáltuk, míg a hazai nemesítésből származó fajtákat/genotípusokat egy eltérő 14 varasodás és tűzelhalás ellenállósághoz kapcsolt markerekből álló sorral teszteltük. A primereket a Sigma-Aldrich® Kft.-től (Budapest, Magyarország) rendeltük meg.

A DNS-szakaszok felszaporítását Applied Biosystems (Foster City, USA) Thermal Cycler 2720 típusú PCR készülék segítségével végeztük. A PCR-hez DreamTaq™ Green PCR Master Mix (2×) kitet (Fermentas, Waltham,

USA) használtunk. A PCR termék végtérfogata 16 µl volt. A PCR készülék programját az irodalom alapján kisebb módosításokkal állítottuk be.

A SCAR markerek PCR termékeinek analízisét agaróz gélelektroforézissel végeztük. A futás 120 V-on 20 vagy 40 percig tartott. A festés GR Safe® (Lab Supply Mall, Gaithersburg, Egyesült Államok) segítségével történt. A minták kiértékelését UV fény alatt GeneRuler™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Egyesült Államok) DNS létra (1 kb) segítségével végeztük.

A különböző fragmentumhosszok detektálását, illetve fragmentumok szekvenálását ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, Egyesült Államok) szekvenáló készülékkel a Biomi Kft. (Gödöllő, Magyarország) végezte el. A szoftveres kiértékelést SSR markerek esetében a Peak Scanner 2.0 szoftver (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Egyesült Államok) segítségével végeztük. A szekvencia olvasatok kiértékeléséhez a GeneStudio™ Professional 2.2 (www.genestudio.com) szoftvert használtuk.

2.5. Statisztikai értékelési módszerek

Az alapstatisztikai számításokat a PASW Statistics 18 (SPSS®), valamint a Microsoft Excel v. 14.0 (Microsoft®) programcsomagok segítségével végeztük.

3. Eredmények

3.1. Régi almafajták varasodás és lisztharmat ellenállósága

Szabadföldi felmérések alkalmával 57 régi almafajta varasodással és lisztharmattal szembeni ellenálló-képességét vizsgáltuk hat éven keresztül. A varasodás és lisztharmat fertőzöttség gyakorisági értékeit a megfelelő klimatikus paraméterek értékelésével egészítettük ki, illetve ellenőriztük az adatok statisztikai megbízhatóságát. A sokéves adatsokaság mindkét betegség esetében a növényvédelemben alkalmazott előrejelzési módszerek alapján várhatóak szerint változott az évek során. Szintén a vártaknak megfelelően, a kórokozók gyakoriság értékeinek exponenciális eloszlását tapasztaltuk mindkét kórokozó esetében, ami az adatok megbízhatóságát erősíti meg. A fajták mindhárom fő betegséggel szembeni ellenálló-képességének megállapításához adatainkat a tanszéken végzett *Erwinia*-val történő mesterséges fertőzések adataival egészítettük ki. Mindezek alapján tíz fajta bizonyult mindhárom betegséggel (varasodással, lisztharmattal és tűzelhalással) szemben ellenállónak: ‘Angyal Dezső’, ‘Batul’, ‘Damjanich’, ‘Dániel féle renet’, ‘Szemes alma’, ‘Pónyik’, ‘Sikulai alma’, ‘Szabadkai szercsika’, ‘Vilmos renet’.

3.2. *Venturia* rasszok elterjedésése

A *Venturia inaequalis* rasszok (1-7-es rasszok) hazai előfordulásának monitorozását 15 indikátor fajta fertőződésének nyolc éven keresztül tartó szabadföldi értékelésével végeztük (2. táblázat). Mivel a kórokozó rasszok elterjedése térben és időben nagy változékonyságot mutathat, a legfontosabb rasszok (6-os és 7-es rasszok) elterjedésének adatait gazdáktól gyűjtött információk és minták segítségével egészítettük ki. Ezek alapján az 1-es 3-as és 5-ös *Venturia* rasszok jelenléte hazánkban szabadföldi felmérésekkel is jól megállapítható. A 4-es rassz jelenlétére az évek során semmilyen jel sem mutatott, míg a 2-es, 6-os valamint 7-es *Venturia* biotípusok jelenléte kellő mennyiségű és minőségű adat hiányában továbbra is kérdéses.

2. táblázat. Varasodás tünetek gyakorisága (0-3) rasszindikátor genotípusokon (Soroksár, 2009-2016)

Fajta	*R* gén[1]	*R* gén (új)[2]	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Gala	-	-	3	3	3	3	3	3	3	3
Golden Delicious	*Vg*	*Rvi1*	3	3	3	3	3	3	3	3
Reka	*Vh2*	*Rvi2*	0	3	0	0	0	0	0	0
Malus 'Geneva'	*Vh3*	*Rvi3*	3	3	3	3	3	3	3	3
TSR18T13	*Vh4*	*Rvi4*	0	0	0	0	0	0	0	0
OR45T132	*Vm*	*Rvi5*	0	3	0	1	2	3	2	1
Freedom	*Vf, Vpoly*	*Rvi6*	0	0	0	0	0	0	0	0
Liberty	*Vf*	*Rvi6*	0	0	0	0	1	0	0	0
Reglindis	*Vf*	*Rvi6*	0	0	0	0	0	0	0	0
Remo	*Vf*	*Rvi6*	3	0	0	0	0	0	0	0
Topaz	*Vf*	*Rvi6*	0	0	0	0	0	2	0	0
Florina	*Vf, Vg*	*Rvi6, Rvi1*	0	0	0	0	0	0	0	0
Prima	*Vf, Vg*	*Rvi6, Rvi1*	0	0	0	0	0	0	0	0
Angold	*Vpoly*	-	3	3	1	1	2	1	1	1
Produkta	*Vpoly*	-	3	3	1	0	1	1	1	1

[1]Rezisztenciagén régi neve; [2]rezisztenciagén új neve a Bus et al. (2011) által javasolt GFG hipotézisen alapuló új nomenklatúra szerint

3.3. Hazai nemesítésből származó genotípusok és régi fajták betegség-ellenállóságának markeranalízise

Molekuláris markeranalízissel hazai nemesítésből származó genotípusok, valamint a szabadföldön is vizsgált 57 régi fajta varasodással és tűzelhalással szembeni rezisztenciagénjeit és QTL-eit monitoroztuk. Utóbbiak lisztharmat rezisztenciáért felelős génjeit is vizsgáltuk, azonban csupán egyetlen fajtában, a Búzával érő almában azonosítottunk a lisztharmattal szembeni rezisztencia génre (*Pl-2*) utaló marker allélt. Ezen adatot erősíti, hogy a fajta a szabadföldi megfigyelések alapján is ellenállónak bizonyult lisztharmattal szemben.

A markeranalízis számos esetben megerősítette a hazai nemesítésből származó genotípusok ellenállóságáért felelős fő rezisztenciagének fenotípus alapján

feltételezett öröklődését (3. táblázat). Erre jó példa, hogy a *Malus floribunda*-tól származó *Rvi6* (*Vf*) varasodás rezisztenciagén minden esetben jelen van az új hazai rezisztens fajtákban (‘Artemisz’, ‘Cordelia’, ‘Hesztia’ ‘Rosmerta’). Bebizonyosodott, hogy az ‘Artemisz’ tűzelhalás ellenállóságáért a ‘Florina’-ban, illetve *Malus floribunda*-ban azonosított rezisztencia QTL-ek (FLO5, FLO10, FB_MF) együttes jelenléte a felelős (4. táblázat.), mely szintén következik annak pedigréjéből. A markeranalízis eredményei számos esetben nem várt adatokkal támasztották alá az új fajták, illetve nemesítési anyagok ellenálló fenotípusát, úgy mint például a szabadbeporzású magoncként keletkezett ‘Hesztia’ esetében, mely három különböző kapcsoltsági csoporton is hordoz tűzelhalás rezisztenciához kapcsolt allélokat (LG5, LG7, LG10).

3. táblázat. Hazai nemesítésből származó genotípusokban varasodás *R* gének monitorozására alkalmas markerekkel detektált allélhosszok

Fajta	*Rvi6*	*Rvi4*	*Rvi2=Rvi8*
	AL07	AD13	OPL19
Artemisz	570*/820	1100	433*/1200
Cordelia	570*/820	1100	1200
Hesztia	570*/820	1100	433*/1200
Rosmerta	570*/820	1100	1200
MA-14	570*/820	950*/1100	1200
MR-16 (B-216)	570*/820	1100	1200
MR-17 (B-203)	570*/820	1100	433*/1200
MV-04 (GFV-04)	820	1100	1200
Rodonit (MT-01)	820	1100	1200
Karneol (MT-11)	820	1100	433*/1200
Prima	570*/820	-	-
Malus pumila 'niedzwetzkyana'	-	950*/1100	-
Reka	-	-	433*/1200

*Rezisztenciához kötött allélhossz

4. táblázat. Hazai nemesítésből származó genotípusokban az FBF7, FLO5, FLO10 és FB_MF QTL-ek monitorozására alkalmas markerekkel detektált allélhosszok

Fajta	FBF7		FLO5	FLO10			FB_MF	Fenotípus (%)[1]
	AE10-375	GE-8019	Ch05e06	Ch02b07	CH01f12	CH02a10	Hi07f01-F	
Artemisz	375*	400	132/147	107/126*	152*/161	141/175*	206/219*	R (14,3)[2]
Cordelia	0	400	221	103/126*	148/161	139/145	206	MR (36,5)[2]
Hesztia	375*	400	132/139*	103/126*	161	145	206/208	R (12,3)[2]
Rosmerta	375*	400	221	105/126*	142/161	141/153	208/219*	MR (35)[2]
MA-14	0	400	145	103/108	148/161	153	206/219*	MR (35)[2]
MR-16	375*	400	145	108	152*	145/153	206/208	MR (31,6)[2]
MR-17	0	700*	134/139*	103/126*	152*/161	147/175*	206	R (5,4)[2]
MV-04	0	400	137/139*	105	152*/172	147/175*	201/204	(MS) 67,6[2]
Rodonit	0	400	132/150	105/111	145/161	141/145	206/219*	MR (50,7)[2]
Karneol	0	400	145/158	103/111	148/161	145/153	206/208	R (12,5)[2]
James Grieve	375*	700*	-	-	-	-	-	-
Florina	-	-	139*/150	126*	148/152*	153/175*	-	-
Malus floribunda	-	-	-	-	-	-	206/219*	-
Prima	-	-	-	-	-	-	-	R (24,3)[2]
Idared	-	-	-	-	-	-	-	S (86,1)[2]

*Rezisztenciához kötött allélhossz; [1] *R* -rezisztens, MR - mérsékelten rezisztens, MS - mérsékelten fogékony, S - fogékony; [2] Mesterséges fertőzés hatására fertőződött hajtásvégek aránya (Tóth et al. 2012, Tóth et al. nem közölt adat)

A régi fajták betegség-ellenállóságának markeranalízise során a *Malus floribunda*-tól származó *Rvi6* (*Vf*) varasodás rezisztenciagént egyetlen fajtában sem sikerült kimutatni, azonban jellemző volt a *Malus pumila* R12740-7A szelekciójában azonosított *R* gének jelenléte, mely a közelebbi rokonságból fakadhat (5. táblázat). Az efemer varasodás rezisztenciagének jelenléte (*Rvi1*, *Rvi8*) szintén jellemző volt, mely azért is fontos adat, mert azok fenotípus alapján történő detektálása nem kivitelezhető. A legnagyobb számú varasodás rezisztenciához kötött allélt a ‘Batul’-ban találtuk. Adataink alapján legnagyobb valószínűséggel a fajta az *Rvi4*, *Rvi8*, és *Rvi1* varasodás *R* géneket hordozhatja.

5. táblázat. Kárpát-medencei régi almafajtákban detektált legfontosabb varasodás-rezisztencia allélok

Fajta	*Rvi4*		*Rvi2*		*Rvi8*	*Rvi1*	Fenotípus (0-3)[1]
	AD13	CH05e03	CH05e03	OPL19	OPB18	Ch01d03	
Batul	950*	164*	164	**433***/1200	628/799*	138/157*	R (0,45)
Bereczki Máté	950*/1100	162/164*	162/165	1200	628/799*	140/142	MR (0,54)
Budai Ignác	950*	164*/189	163/189	433*/1200	628	140/142	R (0,12)
Csíkos óriás halasi	1100/1300	161/172	161/172*	433*/1200	628/799*	136/142	R (0)
Izletes zöld	950*/1100	164*/189	164/189	433*/1200	628	142/157*	R (0)
Kis Ernő tábornok	1100	164*/184	164/184	433*/1200	628/799*	138/157*	MR (0,75)
Miskolci kormos	1100/1300	169/172	169/172*	433*/1200	0	136/157*	MR (1,04)
Pónyik	1100/1300	172/184	172*/184	433*/1200	628	136/142	R (0)
Sándor cár	1100/1300	161/172	161/172*	433*/1200	628/799*	136/144	R (0)
Vilmos renet	1100	162/172	162/172*	433*/1200	628	136	R (0,33)
Prima	-	-	-	-	-	-	-
Malus sieversii	950*/1100	159/164*	159/164	-	-	-	-
Reka	-	166/172	166/172*	433*/1200	628	-	-
Golden Delicious	-	-	-	-	-	154/157*	-

*Rezisztenciához kötött allélhossz; [1]R -rezisztens, MR - mérsékelten rezisztens

A tűzelhalás ellenállósággal asszociált QTL-ek régi fajtákban történő monitorozása során a *Malus* × ‘Evereste’ díszalmában leírt rezisztencia QTL-t egyetlen esetben sem sikerült azonosítanunk, azonban a ‘Fiesta’ fajtában azonosított FBF7 QTL sok fajta (pl. ‘Sikulai alma’) ellenálló fenotípusát magyarázta (6. táblázat). Érdekes módon a *Malus robusta*-tól származó FB_MR5 rezisztenciára utaló allélhosszt detektáltunk három régi fajtában (‘Batul’, ‘Kéresi muskotály’ és ‘Szabadkai szercsika’). Eredményünk nagy értéke, hogy ezáltal nemzetközi szinten is elsőként mutattuk ki kultúrfajtákban az FB_MR5 QTL-t, mely a legjelentősebb tűzelhalás rezisztencia faktor jelen tudásunk szerint.

6. táblázat. Kárpát-medencei régi almafajták tűzelhalás ellenállóság QTL-einek legfontosabb alléljai

Fajta	FBF7		FB_MR5		FB_E	Fenotípus (%)[1]
	AE10-375	GE-8019	FEM47	FEM19	ChFbE06	
Batul	0	220/700	191/193/209*/216	157	237	21.45
Cserepanya	375*	700/400*	191/193/216	134/157	237	55,5
Kéresi muskotály	0	220	191/192/209*/216	132/155	237	14,55
Pónyik	0	220	193/216	132/155	225/237	7,2
Sikulai alma	375*	220/400*	191/193/216	132/157	233/237	7,2
Simonffy piros	375*	220/400*	191/216	157/170	233/237	62,25
Szabadkai szercsika	375*	220	191/192/193/209*/216	132/157	233/237	6,5
Kisasszony	375*	220/700	191/193/216	132	237	86,5
Tafota	375*	220/400*	191/193/200/216	124/134	233/237	50,75
Vajki alma	375*	220/400*	191/193/200/216	124/134	233/237	41,2
James Grieve	375*	220/400*	-	-	-	-
Malus × robusta 5	-	-	193/209*/216	132/150*	-	-
Malus × 'Evereste'	-	-	-	-	273*[2]	-
Idared	-	-	-	-	-	89,7

*Rezisztenciához kötött allélhossz; [1]Mesterséges fertőzés hatására fertőződött hajtásvégek aránya Tóth et al. (2013) irodalmi adatai szerint; [2]irodalmi adat (Parravicini et al. 2011)

3.4. Az OPL19 amplikon szekvencia analízise

A markerenalízis eredményei szerint az OPL19 marker allélja túlzott gyakoriságot mutatott. Ezen probléma tisztázása a jövőbeni markerezések szempontjából is érdekes lehet. A ‘Batul’ OPL19 szekvenciájának génbanki szekvenciákkal való összevetése során arra a következtetésre jutottunk, hogy a fogékony fajták esetében egy hasonló hosszúságú, de szekvenciájukban eltérő amplikont látunk, mely így a markeranalízis során tévesen vezethet a kapcsolt rezisztenciagének jelenlétének feltételezéséhez. Eredményeink azonban megerősítették, hogy a ‘Batul’ fajta hordozza az Rvi8-as varasodás rezisztenciagént.

3.5. Új tudományos eredmények

1. Szabadföldi varasodás és lisztharmat felméréseim és korábbi tanszéki *Erwinia* kutatások eredményei alapján a régi almafajták közül öt újabb nemesítési génforrást emeltünk ki: ‘Angyal Dezső’, ‘Cigány alma’, ‘Damjanich’, ‘Dániel féle renet’, ‘Szemes alma’.

2. Varasodás rasszindikátor fajták fertőződésének nyolc éves szabadföldi értékelésével igazoltuk a *Venturia inaequalis* kórokozó hazai populációjának megváltozását. Ezek alapján az 1-es, 3-as és 5-ös rasszok előfordulása hazánkban szabadföldi felmérésekkel is jól megállapítható. A 4-es rassz nincs jelen, míg a 2-es, 6-os valamint 7-es *Venturia* biotípusok jelenléte kellő mennyiségű és minőségű adat hiányában továbbra is kérdéses.

3. Számos Kárpát-medencei régi almafajtában azonosítottuk a *Vr* rezisztencia génjeit (*Rvi2* és *Rvi4*), illetve az *Rvi1* és *Rvi8* efemer géneket.

4. Nemzetközileg elsőként mutattuk ki kultúrfajtákban az FB_MR5 QTL-t, mely a legjelentősebb tűzelhalás rezisztencia faktor jelen tudás szerint.

5. A Gyümölcstermő Növények Tanszéken nemesített hat új rezisztens almafajtában, illetve fajtajelöltben (‘Artemisz’, ‘Hesztia’, ‘Rosmerta’, MR-16, MR-17 és MA-14) markeranalízissel igazoltuk a sikeres génpiramidálást és génkombinálást a varasodással és tűzelhalással szembeni rezisztencia esetében.

4. Következtetések és javaslatok

Számos régi fajtát emeltünk ki, melyek mind a fenotípusos vizsgálatok, mind a markeranalízis eredményei alapján jó betegség-ellenállósággal jellemezhetők. Ezek egyrészről a nemesítésben tölthetnek be fontos szerepet, másrészről betegség-ellenállóságuk alapján kiváló fajtái lehetnek az ökológiai gyümölcsösöknek. Tekintettel azonban arra, hogy termesztési célú felhasználás esetében további fajtajellemzők is meghatározók lehetnek, érdemes volna ezen fajták termesztési értékét több éves szabadföldi kísérletek útján meghatározni. Egyes fajták esetében (pl. 'Batul') számos változata létezik az alapfajtának. Ilyen esetekben a különböző változatok begyűjtése további lehetőséget nyithat a nemesítők és termesztők számára, nem beszélve a problémakör kulturális és vidékfejlesztési vonatkozásairól.

A *Venturia inaequalis* rasszok hazai előfordulása alapján az *Rvi2*-es és *Rvi4*-es rezisztenciagént hordozó fajták szélesebb körű alkalmazása volna indokolt a rezisztencianemesítésben. Mindazonáltal az *Rvi2* esetében az OPL19 markernél pontosabb markerre volna szükség. Indokolt lenne a jövőben a további rasszok nyomon követése, illetve a nemzetközileg használatos indikátor fajtasorokat az ország több pontján is elhelyezni.

Eredményeink alapján több fő gén együttes jelenléte esetén erősebb és stabilabb rezisztenciát tapasztalunk. Ezért is fontos volna a nemesítés során a jövőben is törekedni a molekuláris markerek alkalmazására. Ezáltal jól és nagy bizonyossággal észlelhető, ha egy fajta több fő rezisztenciagént is hordoz. A markeranalízis számos esetben megerősítette a hazai nemesítésből származó genotípusok ellenállóságáért felelős fő rezisztenciagének fenotípus alapján feltételezett öröklődését. Az eredmények nem csak azt bizonyítják, hogy az új hazai nemesítésű fajtákban több rezisztenciagén piramidált jelenléte figyelhető meg, mely stabil ellenállóságot biztosít, de a markeranalízis nemesítésben való hatékonyságára is felhívják a figyelmet.

Irodalomjegyzék

1. Bent, F. A. és Mackey, D. (2007): Elicitors, effectors, and *R* genes: The new paradigm and a lifetime supply of questions. Annu. Rev. Phytopathol. 45:399-436.
2. Bus, V. G. M., Laurens, F. N. D., van de Weg, E., Rusholme, R. L., Rikkerink, E. H. A., Gardiner, S. E., Bassett, H. C. M., Kodde, L. P., Plummer, K. M. (2005): The Vh8 locus of a new gene-for-gene interaction between *Venturia inaequalis* and the wild apple *Malus sieversii* is closely linked to the *Vh2* locus in *Malus pumila* R12740-7A. New Phytologist. 166:1035-1049.
3. Bus, V. G. M., Rikkerink, E. H. A., Caffier, V., Durel, C.-E., Plummer, K. M. (2011): Revision of the nomenclature of the differential host-pathogen interactions of *Venturia inaequalis* and *Malus*. Annu. Rev. Phytopathol. 49:391–413.
4. Collard, B. C. Y. és Mackill, D. J. (2008): Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. Phil. Trans. R. Soc. B. 363:557-572. doi:10.1098/rstb.2007.2170
5. Flor, H. H. (1942): Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. Phytopathology 32:653-669.
6. Földművelésügyi Minisztérium (2016): Magyarország Élelmiszergazdasági programja 2016-2050. http://www.kormany.hu/download/6/30/d0000/Élelmiszergazdasági stratégia 2016-2050.pdf. Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: Magyarország élelmiszergazdasági. Lekérdezés időpontja: 2017.05.14.
7. Király, I., Szabó, T., Veres, Á., Tabakovic, A., Tóth, M. (2015): Régi magyar almafajták ökológiai termesztésre való alkalmasságának értékelése. Gradus. 2(2):275-282.
8. Kovács Sándor (1985): Breeding of new disease resistant apple varieties. Fruit Varieties Journal. 39:26-28.

9. Krieghoff, O. (1995): Entwicklung einer In-vitro-Selektionsmethode auf Resistenz von *Malus*-Genotypen gegenüber Podosphaera leucotricha (Ell. et Ev.) Salm. und In-vitro-Differenzierung von Virulenzunterschieden des Erregers. Doktori (PhD) értekezés. Berlin.
10. Laurens, F. (1998): Review of the current apple breeding programmes in the world: objectives for Scion cultivar improvements. Acta Hort. 484:163-170.
11. MacHardy, W. E., Gadoury, D. M. (1989): A revision of Mill's criteria for predicting apple scab infection periods. Phytopathology. 79(3):304-310.
12. Mills, W. D. (1944): Efficient use of sulfur dusts and sprays during rain to control apple scab. Cornell Ext. Bull. 630:4.
13. Parisi, L., Lespinasse, Y., Guillaumes, J., Krüger, J. (1993): A new race *Venturia inaequalis* virulent on apples resistant due to the *Vf* gene. Phytopathology. 83.
14. Parravicini, G., Gessler, C., Denance, C., Lasserre-Zuber, P., Vergne, E., Brisset, M. N., Patocchi, A., Durel, C. E., Broggini, G. A. L. (2011): Identification of serine/threonine kinase and nucleotide-bindingsite–leucine-rich repeat (NBS–LRR) genes in the fire blight resistance quantitative trait locus of apple cultivar ‘Evereste’. Mol. Plant Pathol. 12:493-505.
15. Peil, A., Bus, V. G. M., Grider, K., Richter, K., Flachowsky, H., Hanke, M.-V. (2009): Improvement of fire blight resistance in apple and pear. International Journal of Plant Breeding. 3(1):1-27.
16. Sansavini, S., Donati, F., Costa, F., Tartarini, S. (2004): Advances in apple breeding for enhanced fruit quality and resistance to biotic stresses: new varieties for the European market. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research. 12:13-52. Special ed.
17. Tóth Magdolna (2005): A Kárpát-medence régi almafajtáinak felderítése és megmentése. Kertgazdaság. 37(2):24-29.

18. Tóth, M., Rozsnyay, D. Zs., Quang, Q. (1994): Apple breeding for disease resistance in Hungary. in: Schmidt, H. and Kellerhals, M. (szerk.): Progress in Temperature Fruit Breeding. Dortrecht: Kluwer Academic. pp. 27-30.
19. Tóth, M., Ficzek, G., Király, I., Kovács, Sz., Hevesi, M., Halász, J., Szani, Zs. (2012): 'Artemisz', 'Cordelia', 'Hesztia' and 'Rosmerta', the new Hungarian multiresistant apple cultivars. HortScience. 42:1795-1800.
20. Tóth, M., Ficzek, G., Király, I., Honty, K., Hevesi, M. (2013): Evaluation of old Carpathian apple cultivars as genetic resources of resistance to fire blight (*Erwinia amylovora*). Trees - Struct. Funct. 27, 597-605.
21. Vanderplank, J. E. (1963): Plant diseases: epidemics and control. New York: Academic.
22. Vogt, I., Wohner, T., Richter, K., Flachowsky, H., Sundin, G. W., Wensing, A., Savory, E. A., Geider, K., Day, B., Hanke, M.-V., Peil, A. (2014): Gene-for-gene relationship in the host–pathogen system *Malus* × *robusta* 5-*Erwinia amylovora*. New Phytol. 197:1262-1273.
23. Williams, E. B. és Shay J. R. (1957): The relationship of genes for pathogenicity and certain other characters in *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. Genetics. 42:704-711.

A szerző értekezés témaköréhez kapcsolódó publikációi

1 Papp, D., Békefi, Zs., Balotai, B., Tóth, M. (2015): Identification of marker alleles linked to fire blight resistance QTLs in apple genotypes. Plant Breeding. doi:10.1111/pbr.12258 *(IF: 1,502; JCR rangsor: Agronomy and Crop Science – Q1)*

2 Papp, D., Király, I., Tóth, M. (2015): Suitability of old apple varieties in organic farming, based on their resistance against apple scab and powdery mildew. Organic Agriculture. DOI 10.1007/s13165-015-0126-2 *(JCR rangsor: Agricultural and Biological Sciences – Q2)*

3 Papp, D., Ficzek, G., Stégerné, M. M., Nótin, B., Király, I., Tóth, M. (2011): Kárpát-medencei régi almafajták beltartalmi értékei és perspektívái a XXI. század gyümölcsnemesítésében. Kertgazdaság. 43(1):23-27. *(Folyóirat helyzete: Agrártudományok Osztálya – A)*

4 Papp, D., Király, I., Tóth, M., (2012): Régi magyar almafajták előnyben. Biokultúra. 23(1):15-17.

5 Papp, D., Ficzek, G., Stégerné, M. M., Nótin, B., Tóth, M. (2010): Kárpát-medencei régi almafajták szerepe a hazai almanemesítésben. In: Veisz, O. (szerk.) XVI. Növénynemesítési Tudományos Napok, Összefoglalók. 2010.03.11. Budapest, Magyarország. p. 111.

6 Papp, D., Tóth, M., Kovács, Sz., Rozsnyay, Zs. (2012): Examinations for the purpose of identify the present races of *Venturia inaequalis* Cke./Wint. in Hungary. In: Mauget, J-C., Godet, S., Nguyen, A. (szerk.). Book of Abstracts, 2nd Symposium on Horticulturae in Europe. 2012.07.01-2012.07.05. Angers, Franciaország. p. 267.

7 Papp, D., Kovács, Sz., Tóth, M. (2013): Előzetes adatok a *Venturia inaequalis* hazai rassz-összetételéről. In: Hoffmann, B., Kollaricsné Horváth, M. (szerk.). XIX. Növénynemesítési Tudományos Nap, Összefoglalók. 2013.03.07. Keszthely, Magyarország. p. 125.

8 Papp, D., Tóth, M. (2013): Suitability of old apple varieties in ecological orchards, based on their resistance against apple scab and powdery mildew. International Conference on Organic Agriculture Sciences (ICOAS), Abstracts. 2013.09.9-13. Budapest, Eger. p. 39.

9 Tóth, M., Kovács, Sz., Szalay, L., Király, I., Halász, J., Kókai, Z., Petróné, P. I., Ficzek, G., Papp, D., Nagyistván, O., Radeczky, Zs., Hajnal, V., Simon, G. (2017): Két új hazai almafajta: Karneol és Rodonit. XXIII. Növénynemesítési Tudományos Nap, Összefoglalók. 2017.03.07. Keszthely, Magyarország. p. 154.

A szerző értekezés témaköréhez nem kapcsolódó publikációi

1 Barina Z. Benedek L. Boros L. Dima B. Folcz Á. Király G. Koszka A. Malatinszky Á. Papp D. Pifkó D. Papp V. (2015): Taxonomic and chorological notes 1 (1-19). Studia bot. hung. 46(2):1-18. DOI: 10.17110/StudBot.2015.46.2.1

2 Király I. Papp D. Palásthy G. Tóth. (2015): Evaluation of the field resistance of old and new Hungarian apple cultivars to apple scab and powdery mildew. In: XIV Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics: Abstract Book. 208 p. Konferencia helye, ideje: Bologna, Olaszország, 2015.06.14-2015.06.18. Bononia University Press, p. 74.

3 Papp D. Papp O. (2014): Effect of biostimulants containing seaweed extract and vermicompost on apple scab in organic orchards. In: Jan Wolf, Jana Nečasová, Tomáš Nečas (szerk.). Proceedings of the international conference “Horticulture in quality and culture of life”, Lednice, Csehország. pp. 699-795.

4 Papp D. Papp O. Tóth M. (2014): Effect of plant conditioners against apple scab in organic orchards. In: Tomáš Kiss (szerk.). Book of abstracts, Horticulture in quality and culture of life. 2014.09.23 -2014.09.26. Lednice, Csehország. p. 158.

5 Tóth M. Papp D. Ficzek G. Hevesi M. (2015): Evaluation of scab resistant apple cultivars from different countries for resistance to fire blight in Hungary. In: XIV Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics: Abstract Book. 208 p. Konferencia helye, ideje: Bologna, Olaszország, 2015.06.14-2015.06.18. Bononia University Press, p. 149.