

## Hogyan működik a csonthéjas gyümölcsök önmeddőségét meghatározó *S*-lókusz az öntermékeny őszibarackban?

Hegedűs Attila<sup>1\*</sup> - Halász Júlia<sup>2</sup> - Szabó Zoltán<sup>3</sup> - Nyéki József<sup>3</sup> - Pedryc Andrzej<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Budapesti Corvinus Egyetem, Alkalmazott Kémia Tanszék, Postafiók 53, Budapest, H-1518;

<sup>2</sup>Budapesti Corvinus Egyetem, Genetika és Növénynevelés Tanszék, Postafiók 53, Budapest, H-1518,

<sup>3</sup>Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum, Szaktanácsadási és Fejlesztési Intézet, Böszörményi út 138, Debrecen, H-4032

\*E-mail: hegedus.attila@uni-corvinus.hu

**Kulcsszavak:** konszenzus primer, nem egyensúlyi izoelektromos fókuszálás (NEpHGE), őszibarack, öntermékenyülés, *Prunus persica*, *S*-ribonukleáz

**Keywords:** consensus primer, NEpHGE, peach, self-fertility, *Prunus persica*, S-ribonuclease

### ÖSSZEFOGLALÁS

A csonthéjas gyümölcsfajok többsége önmeddő, mely tulajdonságot a bibében termelődő *S*-ribonukleáz enzimek és a pollentömlőben kifejeződő *F*-box fehérjék közti specifikus felismerési reakció határozza meg. Az öntermékenyülő *Prunus* fajok esetében e kétoldalú rendszer valamelyik komponense funkcióját veszítette. Az alsalád egyetlen öntermékenynek ismert gyümölcsfaja, az őszibarack (*Prunus persica* (L.) Batsch.) esetében e molekuláris működése mindeztig nem volt ismert. Izoelektromos fókuszálással és PCR-alapú technikával igazoltuk, hogy az öntermékenységet nem a bibében kifejeződő *S*-ribonukleázok funkcióvesztése okozza, hanem vagy a pollenkomponens valamilyen jellegű mutációja, vagy a ma még kevésbé ismert, ún. módosító gének hatása. A rendkívül különböző eredetű és változatos fenotípusú őszibarackfajták között mindössze két *S*-allélt sikerült azonosítani, szemben az önmeddő csonthéjas gyümölcsfajok esetében eddig leírt közel 17–30 alléllal. A legfontosabb áruajták azonos *S*-allélt hordoznak homozigóta állapotban, ami a közös eredet és az öntermékenyülési képesség következménye lehet. A szerzők tudomása szerint ez az első dolgozat, mely az *S*-lókuszhoz az őszibarack termékenyülésében betöltött szerepéről ad felvilágosítást.

### SUMMARY

The majority of stone fruit species are self-incompatible, a feature that is determined by a specific recognition mechanism between the *S*-ribonuclease enzymes residing in the pistils and the *F*-box proteins expressed in the pollen tubes. Failure in the function of any component of this bipartite system resulted in self-compatibility (SC) in many cultivars of *Prunus* species. Peach (*Prunus persica* (L.) Batsch.) is the only species in the Prunoideae subfamily that is traditionally known to be self-compatible, but its molecular background is completely unknown. Isoelectric focusing and *S*-gene specific PCR revealed that SC is not due to functional inability of pistil ribonucleases. We hypothesize that SC may be a consequence of a kind of pollen-part mutation or the action of one or more currently unknown modifier gene(s). Only two *S*-alleles were identified in a set of peach genotypes of various origin and phenotypes in contrast to the 17–30 alleles described in self-incompatible fruit trees. Most important commercial cultivars carry the same *S*-allele and are in a homozygote state. This indicates the common origin of these cultivars and also the consequence of self-fertilization. According to the available information, this is the first report to elucidate the role of *S*-locus in the fertilization process of peach.

### BEVEZETÉS, IRODALOM

#### A csonthéjas gyümölcsök termékenyülési viszonyainak genetikai háttere

A *Rosaceae* család *Prunoideae* alszaladjába tartozó csonthéjas gyümölcsfajok túlnyomó többségét az ún. gametofitikus önmeddőség jellemzi. Az ugyanarról a növényről származó pollenszemek a bibe felületén kicsíráznak, de pollentömlő növekedésük a bibeszál felső harmadában megtorpan, így nem okoznak termékenyülést. A *Prunus* fajok önmeddőségét egy multiallélikus lókusz, az ún. *S*-lókusz szabályozza (de Nettancourt, 1977). Ez a jelenség evolúciós léptékben előnyös az adott növényfaj számára, hiszen az öntermékenyülés hosszú távon a genetikai variabilitás csökkenéséhez, a sérült allélek populációs szintű felhalmozódásához, beltenyésztéshez vezethet. Az önmeddő, ún. inkompatibilis kapcsolat tehát akkor alakul ki, ha a haploid pollenszem *S*-alléle megegyezik a bibe két *S*-alléljének bármelyikével. Az *S*-lókusz a bibében kifejeződő ribonukleáz enzimet kódolja (*S*-RN-áz) (McClure és mts., 1989), illetve a pollentömlőben termelődő, nemrég azonosított *F*-box fehérjét (Entani és mts., 2003; Romero és mts., 2004). A saját-idegen felismerési reakció tehát e két molekula részvételével, az *S*-RN-áz és az *F*-box fehérjék között zajlik le (McCubbin és Kao, 2000).

Mind a kompatibilis (idegentermékenyülés), mind az inkompatibilis (öntermékenyülés) kapcsolat során a bibében termelődő *S*-ribonukleázok bejutnak a pollentömlőbe (Luu és mts., 2000). Az előbbi esetben a pollentömlőben, a 26S proteaszóma rendszer részvételével működő általános degradációs mechanizmus hatására az *S*-RN-áz enzimek lebomlanak, így a pollentömlő rRNS-e nem sérül, fejlődése nem gátlódik, a megtermékenyítés sikeres. Az inkompatibilis kapcsolatnál azonban az *S*-RN-ázok és a pollentömlőben lévő, azonos allél által termelt *F*-box fehérjék szoros kapcsolódása nem teszi lehetővé az enzimek lebontását, melyek

így képesek a pollentömlő rRNS-ét degradálni, annak fejlődését és így magát a termékenyülést is megakadályozni.

### A csonthéjas gyümölcsök öntermékenyülésének molekuláris okai

Az őszibarack (*Prunus persica* (L.) Batsch.) kivételével valamennyi csonthéjas gyümölcsfaj (cseresznye, mandula, meggy, szilva és kajsz) javarészt önmeddőnek tekinthető. A felsorolt fajok közül ez a termesztő számára odafigyelést igénylő, problémaként jelentkező tulajdonság leginkább a cseresznye és a mandula esetében volt régtől fogva ismert. A kajsz európai fajtáit ezzel szemben öntermékenynek ismertük, de az utóbbi években a különböző országokban folytatott nemesítési programokból származó hibridek túlnyomó többsége önmeddőnek bizonyult.

A termesztők azonban ugyanezen gyümölcsfajok esetében jó néhány öntermékeny fajtát is ismernek. Az első öntermékeny cseresznyefajtát, a Stellát 1956-ban állította elő Lapins, aki e munka során röntgensugárással végzett mutációs nemesítési programból származó növényvonalakat használt (Halász és mts., 2005a). Napjainkban, a részletes molekuláris biológiai vizsgálatok feltárták, hogy az öntermékenységet ez esetben a nagy energiájú sugárzás hatására, a pollenben kifejeződő F-box génben bekövetkezett, ún. frame-shift mutáció okozta (Ushijima és mts., 2004; Sonneveld és mts., 2005; Thurzó et al., 2005). Ugyanezen gén más típusú mutációja okozott öntermékenyülést a japán kajsznál (Ushijima és mts., 2004), továbbá Halász és mts. (2005b) eredményei alapján feltételezhetően az európai kajsz (*P. armeniaca*) esetében is. A mandulafaják öntermékenységét ezzel ellentétben nem a pollenkomponens funkciójának sérülése, hanem a bibében kifejeződő S-ribonukleázok aktivitásvesztése okozza (Bošković és mts., 1999).

### Az őszibarackfajták öntermékenyülési képessége

Az őszibarackfajták általában öntermékenynek tekinthetők (Cullinan, 1937; Fogle, 1977), ami a Magyarországon termesztett fajták esetében is igaz (Nyéki és mts., 1980; Nyéki és Szabó, 1996; Szabó és mts., 2000). Az őszibarack átfogó, széleskörű virágzásbiológiai vizsgálata során magyar szakemberek a termékenyüléssel összefüggésben álló tényezők szerepét is értékelték, például a nektártermelést, méhlátogatottságot stb. (Benedek és Nyéki, 1996; Nyéki és mts., 2000; Nyéki és mts., 2002). Az őszibarack virágzásbiológiai és termékenyülési jellemzőit összefoglaló review Szabó és Nyéki (2000) munkája.

Az őszibarackkal kapcsolatos terméskötődési problémát minden eddig dokumentált esetben a hímsterilitás jelensége okozta (Lagasse, 1926). Ez a tulajdonság nem a fentiekben ismertetett S-lókuszhoz kapcsolódik, és a tulajdonságot kódoló gén kizárólag a recesszív homozigóta egyedekben jelentkezik (Scott és Weinberger, 1944; Dirlwanger és mts., 1998). Először az 1920-as években írták le (Szabó és Nyéki, 2000) legtöbb esetben a nagy agronómiai értéket képviselő 'J.H. Hale' fajtában és utódaiban. Ez a kedvezőtlen tulajdonság így számos mai fajta esetében is előfordul (Dirlwanger és mts., 1998): pl. 'Hal-bertha', 'Alamar', 'Candoka', 'June Elberta', 'Mikado', 'Flaminia' stb.

### Őszibarackkal kapcsolatos molekuláris kutatások

Az őszibarack a molekuláris kutatások szempontjából különleges helyet foglal el a csonthéjas gyümölcsök között: a genetikailag leginkább jellemzett fajnak tekinthető (Jung és mts., 2004). Ennek oka, hogy diploid ( $2n=16$ ), és genommérete az alcsalád többi tagjához viszonyítva kicsi (0,61 pg/ diploid sejtmag) (Baird és mts., 1994). A különböző genotípusok elkülönítésére alkalmazott biokémiai markerek első generációjába tartozó izoenzim vizsgálatát (Arulsekar és mts., 1986; Stefanovits-Bányai és mts., 1999; Agarwal és mts., 2001) követően DNS-alapú markerek kidolgozása következett, így a RAPD (Chaparro és mts., 1994); RAMP (Cheng és mts., 2001); az AFLP (Dirlwanger és mts., 1998); RFLP (Aradhya és mts., 2004) és mikroszatellit technikák (Martínez-Gómez és mts., 2003a,b) használata. Ezen technikák használatával kezdődött meg az őszibarack térképezése (Dirlwanger és mts., 1998; Dettori és mts., 2001; Jung és mts., 2004). Napjainkban már funkcionális genomikai vizsgálatok zajlanak cDNS klónok expressziós markereivel (EST), melyek fontos alapot szolgáltatnak a folyamatosan bővülő *Rosaceae* család genomikus adatbázisához (Jung és mts., 2004).

Őszibarack esetében a többi csonthéjas faj önmeddőségét okozó S-lókuszt működéséről alig áll rendelkezésre információ. Roiz és Shoseyov (1995) SDS-PAGE technikával két ribonukleáz enzimet azonosított a 'Texas' nevű őszibarackfajta bibeszálaiban. Ezek közül a 21 kDa méretű enzim aktivitása a bibe fejlettségi állapotának megfelelően változott, aktivitásuk maximuma a portokok felnyílásának időszakára esett. Martínez-Gómez és mts. (2003c) S-gén-specifikus PCR-markert használva mindössze egy, 850 bp hosszúságú fragmentumot mutatott ki őszibarackban és egy mandula × őszibarack interspecifikus keresztezésből származó utódpopulációban.

Vizsgálataink során arra kerestünk választ, hogy a csonthéjas gyümölcsfajok önmeddőségét okozó *S*-lókusz jelen van-e az őszibarackban, s ha igen, az *S*-gént milyen mértékű allélváltozatosság jellemzi a család egyetlen őntermékenyülőnek ismert fájában.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

### Növényanyag

Huszzonegy különböző eredetű őszibarackfajtát vizsgáltunk (1. táblázat). Hét fajta Boldogkőváraljáról, négy Siófokról, öt Szatymazról és öt fajta Szigetcsépről származik.

### Mintaelőkészítés az izoelektromos fókuszáláshoz

A portokok felnyílását közvetlenül megelőzően 40 pollentől mentes bibeszálát gyűjtöttünk fajtánként. A kivonatok elkészítését a cseresznyére kidolgozott módszer alapján végeztük (Bošković és Tobutt, 1996). Az ülepítés Hettich Zentrifugen Micro 22 R centrifugában történt ( $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 35 perc, 13500 rpm). A felülúszót  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. Minden vizsgált fajtából készítettünk levélkivonatokat is.

### Nem egyensúlyi izoelektromos fókuszálás (NEPHGE)

A kivonatokat vertikális gélen futtattuk, amely 7,5 % poliakrilamidot, 10 % szacharózt és különféle amfolinokat tartalmazott az elválasztási paramétereknek megfelelően. A gélek készítése során 4 % Pharmalyte pH 5–8 és 1,2 % Ampholine pH 7–9 kombinációt használtunk (Halász és mts., 2005b). A 30 perces prefókuszálást (100 V) követően 40  $\mu\text{l}$  kivonatot vittünk fel mintánként a gél anód felé eső végére, a fókuszálás az alábbiak szerint történt: 1 óra 130 V, 2 óra 260 V, 1 óra 350 V, 1 óra 450 V. A katódoldat 0,1 M nátrium-hidroxid, az anódoldat 0,04 M DL-glutaminsav volt. A gél a futtatás során végig  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartottuk. A ribonukleázok aktivitásának detektálásához Wilson (1971) módszerét használtuk Bošković és Tobutt (1996) módosításainak megfelelően.

### DNS-kivonás

A genomikus DNS-t fiatal levelekből a DNeasy Plant Mini Kittel vontuk ki (Qiagen, Hilden). A DNS-koncentrációt GeneQuant II RNA/DNA spektrofotométerrel mértük (Pharmacia Biotech).

### S-PCR-analízis

A PCR során az első intron amplifikációjához a cseresznye *S*-RN-áz génjének szignál peptid régiójára kidolgozott PaConsl-F forward (Sonneveld és mts., 2003), illetve a *Prunus* *S*-allélok C1 konzervatív régiójára tervezett EM-PC1consRD reverse (Ortega és mts., 2005) konszenzus primereket alkalmaztunk. A második intron detektálásához a *Prunus* fajok C2 és C3 konzervatív régióira kidolgozott EM-PC2consFD és EM-PC3consRD primerpárt használtuk (Sutherland és mts., 2004) (2. táblázat). A PCR-hez kb. 20–80 ng DNS-t használtunk 25  $\mu\text{l}$  végtérfogatban. Az 1  $\times$  PCR puffer (Sigma, Budapest) végső koncentrációja 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl és 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM dNTP, 0,4  $\mu\text{M}$  az adott primerekből és 0,625 U *Taq* DNS-polimeráz (Sigma, Budapest). A PCR-t PTC 200 (MJ Research) típusú készülékben végeztük (Ortega és mts., 2005) nyomán. A PCR-termékeket 2 %-os TAE agaróz gélben választottuk szét (2 h 100 V) és etidium-bromidos festéssel tettük láthatóvá. A fragmentumok méretének megállapításához 1 kb DNS-markert (Promega, Madison, Wisconsin) használtunk.

2. táblázat:

A PCR-vizsgálatokhoz használt konszenzus primerek

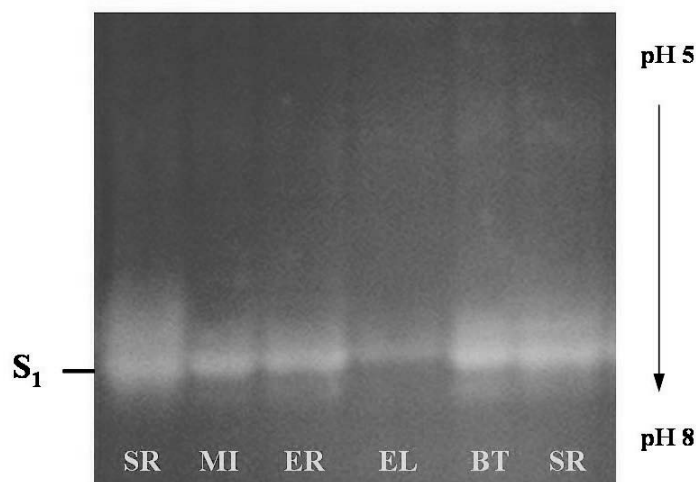
primer (1)	szekvencia (2)	forrás (3)
PaConsl-F	5'-(C/A)CT TGT TCT TG(C/G) TTT (T/C)GC TTT CTT C-3'	Sonneveld és mts., 2003
EM-PC1consRD	5'-GCC A(C/T)T GTT G(A/C)A CAA A(C/T)T GAA-3'	Ortega és mts., 2005
EM-PC2consFD	5'-TCA CMA TYC ATG GCC TAT GG-3'	Sutherland és mts., 2004
EM-PC3consRD	5'-AWS TRC CRT GYT TGT TCC ATT C-3'	Sutherland és mts., 2004

Table 2: Consensus primers used in the PCR examinations  
primer (1) sequence (2) reference (3)

## EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A diploid őszibarackfajták bibeszálaiból készített fehérjekivonatok nem egyensúlyi izoelektromos fókuszálással végzett vizsgálata során mindössze egy *S*-RN-áz izoenzimet tudtunk kimutatni valamennyi genotípusban (1. ábra). Ráadásul az összes őszibarackfajta izoenzimje ugyanabba a pozícióba fókuszálódott, tehát feltételezhetően minden fajtában ugyanaz az egy *S*-RN-áz izoenzim (*S*<sub>1</sub>) van jelen. A levélből készített

fehérjekivonatok a vizsgált pH-tartományban nem tartalmaztak ribonukleáz aktivitású enzimet, ami tovább igazolja, hogy a gélen látható ribonukleázok valóban a termékenyülési folyamatban szerepet játszó *S*-RN-áz enzimek.

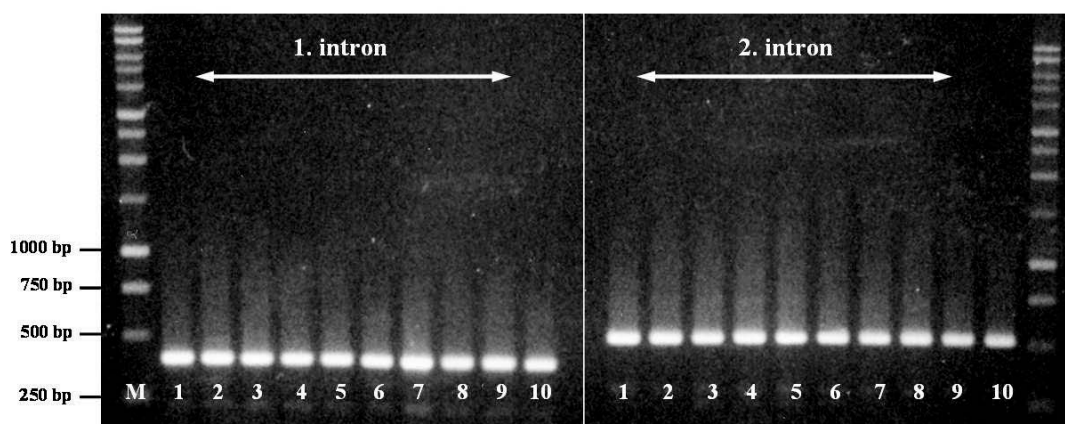


1. ábra. Őszibarackfajták nem egyensúlyi izoelektromos fókuszálással kapott *S*-RN-áz izoenzim-mintázata. A fajták balról: ‘Stark Redgold’, ‘Michelini’, ‘Early Redhaven’, ‘Bigtop’ és ‘Stark Redgold’.  
 Figure 1. *S*-RNase isoenzyme pattern of peach cultivars by NEpHGE. Cultivars from the left to the right: ‘Stark Redgold’, ‘Michelini’, ‘Early Redhaven’, ‘Bigtop’ and ‘Stark Redgold’.

A fehérjevizsgálatok eredményeinek alátámasztása érdekében DNS-szintű analízist is végeztünk. A *Prunus* *S*-RN-áz gén első intronrégióját amplifikáló konszenzus primerpárral (Sonneveld és mts., 2003; Ortega és mts., 2005); valamint a C2 és C3 konzervatív régiókra tervezett, a gén második intronrégióját felszaporító degenerált primerpárral (EM) (Sutherland és mts., 2004) végzett amplifikálás során szintén egyetlen DNS-fragmentumot kaptunk mindkét esetben.

Az első intront felszaporító primerek 350 bp hosszú fragmentumot amplifikáltak, míg a második intront közrefogó primerek 500 bp hosszú DNS-szakaszt szaporítottak fel (2. ábra). A fehérje- és DNS-alapú vizsgálatok alapján megállapíthatjuk, hogy az őszibarack öntermékenyülését nem az *S*-ribonukleázok funkcióvesztése okozza.

A monomorf mintázat valószínűleg a vizsgált fajták közeli rokonságára utal, a homozigóta jelleg pedig az őszibarack hosszú időn át tartó öntermékenyülésének következménye lehet. A beltenyésztés hatására az őszibarack heterozigótasága jóval kisebb mértékű, mint például az önmeddő manduláé (Martínez-Gómez és mts., 2003a). Az öntermékenységet így a pollen F-box régiójában bekövetkezett mutáció is kialakíthatta, mely gén később a könnyebb termékenyülésből származó előnyök hatására felhalmozódott az őszibarack populációiban.



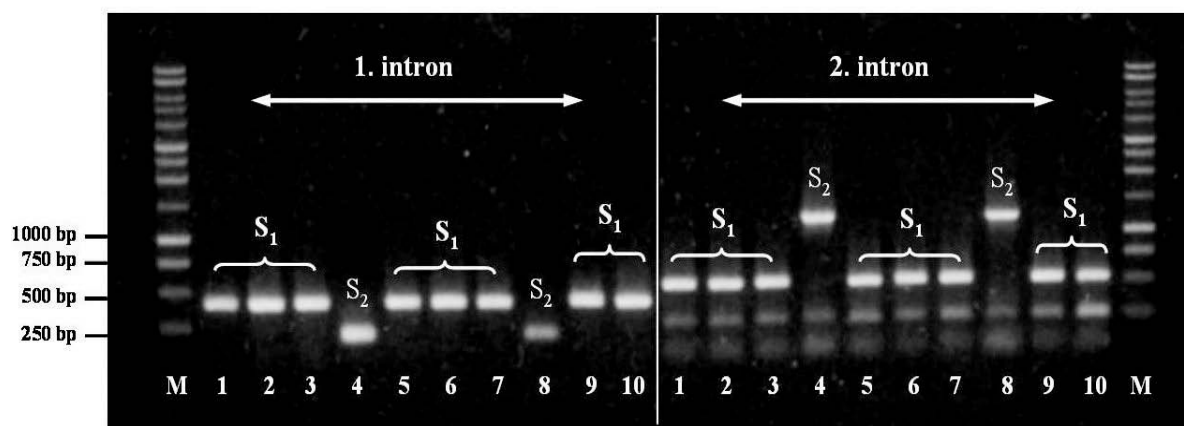
2. ábra. Őszibarackfajták, a *Prunus* *S*-RN-áz gén első és második intronrégióját amplifikáló, konszenzus primerekkel végzett PCR-vizsgálatának eredménye. A fajták balról sorrendben: 1. ‘Incrocio Pieri’, 2. ‘Meystar’,

3. 'Babygold 6', 4. 'Suncrest', 5. 'Symphony', 6. 'Early Redhaven', 7. 'Michellini', 8. 'Sensation', 9. 'Redcal', 10. 'Babygold 7'.

Figure 2. Results of the PCR examinations with consensus primers amplifying the first and second intron region of the *Prunus S-RN-ase* gene in peach cultivars. Cultivars from the left to the right: 1. 'Incrocio Pieri', 2. 'Meystar', 3. 'Babygold 6', 4. 'Suncrest', 5. 'Symphony', 6. 'Early Redhaven', 7. 'Michellini', 8. 'Sensation', 9. 'Redcal', 10. 'Babygold 7'.

A PCR-alapú vizsgálatokba ezért további fajtákat vontunk be, melyek közé különböző eredetű és tulajdonságú fajtákat válogattunk (3. ábra). A korábbi fajtasorozatban azonosított  $S_1$ -allélon kívül egy újabb,  $S_2$ -nek elnevezett allél jelenlétét sikerült kimutatnunk néhány fajtában, így a 'Piroskában' és a 'Flamekistben'. Az  $S_2$ -allél első intronja kisebb (~250 bp), mint az  $S_1$ -allélé, de második intronjuk (~1300 bp) jelentősen hosszabb. Továbbra is elmondható azonban, hogy a rendkívül különböző eredetű és tulajdonságú fajtákban igen kevés, mindössze két  $S$ -allél volt kimutatható, míg az önméddő *Prunus* fajokban, fajonként eltérő mennyiségű, mindezügy közel 17–30 különböző allélt azonosítottak (Halász és mts., 2005a). Továbbra sem zárható ki, amíg nem áll rendelkezésre funkcionális bizonyíték, hogy az öntermékenyülést őszibarack esetében e két gén pollenfunkciójában bekövetkezett funkcióvesztés idézte elő, de figyelembe véve, hogy az őszibarackhoz közeli rokon fajokat (pl. a *P. mirá*t vagy *P. davidianá*t) szintén öntermékenyülőknek ismerik (Martínez-Gómez és mts., 2005), ez a mutáció valamikor a külön fajjává válásukat megelőző időszakban kellett bekövetkezzen.

A másik lehetséges magyarázat szerint az  $S$ -lókuszhoz nem kötődő, ún. módosító gének hatására alakulhatott ki az őszibarack öntermékenyülése. Klasszikus és molekuláris genetikai módszerekkel a *Solanaceae* növény családban már fényt derítettek ilyen gének hatására (Kao és Tsukamoto, 2004). Az öntermékeny fajtákból származó  $S$ -RN-ázokat kifejező transzgenikus önméddő fajták esetében a transzgén által kódolt  $S$ -RN-áz is inkompatibilitást okozott, míg egy önméddő növényből izolált  $S$ -RN-áz gén öntermékeny növényben történő kifejeztetésével nem sikerült a gén által kódolt allélspecifikus inkompatibilitást kialakítani (Ai és mts., 1991; Kao és Tsukamoto, 2004). Mindez arra utal, hogy más gének terméke is részt vesz a termékenyülési viszonyok kialakításában. Ezek a módosító tényezők három csoportba sorolhatók (McClure és mts., 2000): az 1. csoportba tartozók az  $S$ -RN-ázok expresszióját gátolják, a 2. csoport tagjai nem befolyásolják az  $S$ -ribonukleázok transzkripcióját, de a saját pollen elutasítását idézik elő. McClure és mts. (1999) izoláltak egy 8,6 kDa tömegű fehérjét (HT), mely csak az önméddő *Nicotiana alata* bibéiben volt jelen, s melynek kifejeződését gátolva az önméddőség leküzdhető volt. A 3. csoport tagjainak nem csak a saját pollen elutasításában van szerepe, de más fiziológiai funkciókat is betölthetnek.



3. ábra. Őszibarackfajták, a *Prunus S-RN-áz* gén első és második intronrégióját amplifikáló, konszenzus primerekkel végzett PCR-vizsgálatának eredménye. A fajták balról sorrendben: 1. 'K8', 2. 'K10', 3. 'Mariska', 4. 'Piroska', 5. 'Snow Queen', 6. 'Stark Redgold', 7. 'Caldesi 2000', 8. 'Flamekist', 9. 'Padana', 10. 'Elberta'.

Figure 2. Results of the PCR examinations with consensus primers amplifying the first and second intron region of the *Prunus S-RN-ase* gene in peach cultivars. Cultivars from the left to the right: 1. 'K8', 2. 'K10', 3. 'Mariska', 4. 'Piroska', 5. 'Snow Queen', 6. 'Stark Redgold', 7. 'Caldesi 2000', 8. 'Flamekist', 9. 'Padana', 10. 'Elberta'.

A *Prunus* fajok esetében konkrét molekuláris biológiai bizonyíték nem áll rendelkezésre ilyenféle módosító gének hatásáról. Zuccherelli és mts. (2002) az európai körte kompatibilis kapcsolatainak eltérő termékenyülési mértékét ilyen hatásoknak tulajdonítja, ahogyan Socias i Company (2005) is erre a következtetésre jut az őszibarack és mandula interspecifikus utópopulációjának változatos öntermékenyülési képességét tekintve.

Wünsch és Hormaza (2004) egy spontán módon kialakult, öntermékeny spanyol cseresznyefajta, a 'Cristobalina' vizsgálata során arra a következtetésre jutottak, hogy a fajta mindkét allélja örökíti az öntermékenységet, és mindkét allél DNS-szekvenciája megegyezik az önmeddő fajtákban található hasonló allélokéval. A lehetséges magyarázatok között a *Solanaceae* fajoknál már azonosított módosító gének feltételezhető hatásától sem tekinthetünk el.

Vizsgálatainkat a fentiekben ismertetett nyitott kérdések megválaszolása érdekében tovább folytatjuk. A PCR-amplifikált fragmentumokat klónozzuk és megszekvenáljuk, hogy azonosságukat kétséget kizáró módon igazolni lehessen. Ezt követően a pollen F-box génszakasz vizsgálatát tervezzük PCR-alapú technikákkal. Kísérleteink a *Prunus* fajok és fajtáik termékenyülési viszonyai mögött rejlő molekuláris genetikai mechanizmusok tisztázása terén is értékes megfontolásokra vezethetnek.

#### IRODALOM

- Agarwal, S., Amarjit, K.N., Sharma, D.R. (2001): Characterisation of peach (*Prunus persica* L.) cultivars using isozymes as molecular markers. *Scientia Hort.*, 90: 227–242.
- Ai, Y., Kron, E., Kao, T.-h. (1991): *S*-alleles are retained and expressed in a self-compatible cultivar of *Petunia hybrida*. *Mol. Gen. Genet.*, 230: 353–358.
- Aradhya, M.K., Weeks, C., Simon, C.J. (2004): Molecular characterization of variability and relationships among seven cultivated and selected wild species of *Prunus* L. using amplified fragment length polymorphism. *Scientia Hort.*, 103: 131–144.
- Arulsekar, S., Parfitt, D.E., Kester, D.E. (1986): Comparison of isozyme variability in peach and almond cultivars. *J. Hered.*, 77: 272–274.
- Baird, W.V., Estager, A.S., Wells, J. (1994): Estimating nuclear DNA content in peach and related diploid species using laser flow cytometry and DNA hybridization. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 119: 1312–1316.
- Benedek, P., Nyéki, J. (1996): Studies on the bee pollination of peach and nectarine. *Acta Hort.*, 374: 169–176.
- Bošković, R., Tobutt, K.R. (1996): Correlation of stylar ribonuclease zymograms with incompatibility alleles in sweet cherry. *Euphytica*, 90: 245–250.
- Bošković, R., Tobutt, K.R., Duval, H., Batlle, I., Dicenta, F., Vargas, F.J. (1999): A stylar ribonuclease assay to detect self-compatible seedlings in almond progenies. *Theor. Appl. Genet.*, 99: 800–810.
- Chaparro, J.X., Werner, D.J., O'Malley, D., Sederoff, R.R. (1994): Targeted mapping and linkage analysis of morphological, isozyme, and RAPD markers in peach. *Theor. Appl. Genet.*, 87: 805–815.
- Cheng, H.-Y., Yang, W.-C., Hsiao, J.-Y. (2001): Genetic diversity and relationship among peach cultivars based on random amplified microsatellite polymorphism (RAMP). *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 42: 201–206.
- Cullinan, E.P. (1937): Improvement of stone fruits. U.S. Dept. Agr. Yearbook 1937: 665–748.
- Dettori, M.T., Quarta, R., Verde, I. (2001): A peach linkage map integrating RFLPs, SSRs, RAPDs, and morphological markers. *Genome*, 44: 783–790.
- Dirlewanger, E., Pronier, V., Parvery, C., Rothan, C., Guye, A., Monet, R. (1998): Genetic linkage map of peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] using morphological and molecular markers. *Theor. Appl. Genet.*, 97: 888–895.
- Fogle, H.W. (1977): Self-pollination and its implications in peach improvement. *Fruit Var. Journ.*, 31(4): 74–75.
- Gradziel, T.M., Martínez-Gómez, P., Dandekar, A.M. (2001): The use of *S*-allele specific PCR analysis to improve breeding efficiency for self-fertility in almond. *HortScience*, 36: 440–440.
- Halász J., Hegedűs A., Pedryc A.: (2005a): Önmeddő gyümölcsfák: evolúciós önvédelem? *Élet és Tudomány*, 10: 300–302.
- Halász J., Hegedűs A., Hermán R., Stefanovits-Bányai É., Pedryc A. (2005b): New self-incompatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) revealed by stylar ribonuclease assay and *S*-PCR analysis. *Euphytica*, 145(1-2): 57–66.
- Jung, S., Jesudurai, C., Staton, M., Du, Z., Ficklin, S., Cho, I., Abbott, A., Tomkins, J., Main, D. (2004): GDR (Genome Database for Rosaceae): integrated web resources for Rosaceae genomics and genetics research. *BMC Bioinformatics*, 5(130): 1–8.
- Kao, T.-h., Tsukamoto, T. (2004): The molecular and genetic bases of *S*-RNase-based self-incompatibility. *Plant Cell*, 16: S72–S83.
- Lagasse, F.S. (1926): The sterility and cross-pollination of the J.H. Hale peach. *Del. Agr. Expt. Sta. Bul.*, 147: 29.
- Martínez-Gómez, P., Arulsekar, S., Potter, D., Gradziel, T.M. (2003a): An extended interspecific gene pool available to peach and almond breeding as characterized using simple sequence repeat (SSR) markers. *Euphytica*, 131: 313–322.
- Martínez-Gómez, P., Arulsekar, S., Potter, D., Gradziel, T.M. (2003b): Relationships among peach, almond, and related species as detected by simple sequence repeat markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 128: 667–671.
- Martínez-Gómez, P., Sánchez-Pérez, R., Rubio, M., Dicenta, F., Gradziel, T.M., Sozzi, G.O. (2005): Application of recent biotechnologies to *Prunus* tree crop genetic improvement. *Cien. Inv. Agr.*, 32(2): 73–96.
- Martínez-Gómez, P., Sozzi, G.O., Sánchez-Pérez, R., Rubio, M., Gradziel, T.M. (2003c): New approaches to *Prunus* tree crop breeding. *Food, Agriculture & Environment*, 1: 52–63.
- McClure, B.A., Cruz-García, F., Beecher, B.S., Sulaman, W. (2000): Factors affecting inter- and intra-specific pollen rejection in *Nicotiana*. *Ann. Bot.*, 85: 113–123.
- McClure, B.A., Mou, B., Canevascini, S., Bernatzky, R. (1999): A small asparagine-rich protein required for *S*-allele-specific pollen rejection in *Nicotiana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96: 13548–13553.
- McCubbin, A.G., Kao, T.-h. (2000): Molecular recognition and response in pollen and pistil interactions. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 16: 333–364.
- Nettancourt, de D. (1997): Incompatibility in angiosperms. *Sex. Plant Reprod.*, 10: 185–199.
- Nyéki, J., Brózik, S., Ifjú, Z. (1980): Termékenyülési vizsgálatok eredményei az őszibaracknál. *Kertgazdaság*, 12(2): 37–50.
- Nyéki, J., Szabó, Z. (1996): Fruit set of self and open pollinated peach flowers under Hungarian ecological conditions. *Acta Hort.*, 374: 177–180.
- Nyéki, J., Szabó, Z., Benedek, P., Szalay, L. (2000): Nectar production and pollination in peach. *International Journal of Horticultural Science*, 6: 123–126.
- Nyéki, J., Szabó, Z., Benedek, P., Szalay, L. (2002): Nectar production, honeybee visitation and fruit set of peach flowers. *Acta Hort.*, 592: 537–541.
- Ortega, E., Sutherland, B. G., Dicenta, F., Boskovic, R., Tobutt, K. R. (2005): Determination of incompatibility genotypes in almond using first and second intron consensus primers: detection of new *S* alleles and correction of reported *S* genotypes. *Plant Breed*, 124: 188–196.
- Roiz, L., Shoseyov, O. (1995): Stigmatic RNase in self-compatible peach (*Prunus persica*). *Int. J. Plant. Sci.*, 156: 37–41.

- Scott, D.H., Weinberger, J.H. (1944): Inheritance of pollen sterility in some peach varieties. Proc. Am. Soc. Hortic. Sci., 9: 187-188.
- Socias i Company, R. (2005): The contribution of *Prunus webbii* to almond evolution. PGR Newsletter, 140: 9–13.
- Sonneveld, T., Tobutt, K.R., Robbins, T.P. (2003): Allele-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (S) alleles  $S_1$  to  $S_{16}$  using consensus and allele-specific primers. Theor. Appl. Genet., 107: 1059–1070.
- Sonneveld, T., Tobutt, K.R., Vaughan, S.P., Robbins, T.P. (2005): Loss of pollen-S function in two self-compatible selections of *Prunus avium* is associated with deletion/mutation of an S haplotype-specific F-box gene. Plant Cell, 17: 37-51.
- Stefanovits-Bányai, É., Boross, L., Bernáth, J., Kerepesi, I., Kiss, M., Lakatos, S. (1999): Identification of plant taxons by isoelectric focusing. International Journal of Horticultural Science, 5: 65-67.
- Sutherland, B.G., Robbins, T.P., Tobutt, K.R. (2004): Primers amplifying a range of *Prunus* S-alleles. Plant Breed., 123: 582-584.
- Szabó, Z., Nyéki, J. (2000): Floral biology and fertility in peaches (review article). International Journal of Horticultural Science, 6: 10-15.
- Szabó, Z., Nyéki, J., Szalay, L. (2000): Autofertility of peach varieties in a variety collection. Acta Hort., 538: 131–134.
- Thurzó, S.-Drén, G.-Racskó, J. (2005): Cseresznyefajták szabadtermékenyülésének és gyümölcsminőségének összehasonlító vizsgálata. Agrártudományi Közlemények – Különszám. 16:295-299.
- Ushijima, K., Yamane, H., Watari, A., Kakehi, E., Ikeda, K., Hauck, N.R., Jezzoni, A.F., Tao, R. (2004): The S haplotype-specific F-box protein gene, *SFB*, is defective in self-compatible haplotypes of *Prunus avium* and *P. mume*. Plant J., 39: 573-586.
- Wilson, C.M. (1971): Plant nucleases III. Polyacrylamide gel electrophoresis of corn ribonuclease isoenzymes. Plant Physiol., 48: 64-68.
- Wünsch, A., Hormaza, J.I. (2004): Genetic and molecular analysis in Cristobalina sweet cherry, a spontaneous self-compatible mutant. Sex. Plant Reprod., 17: 203–210.

### **KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

A szerzők köszönik Dani Máriának és Drén Gábornak a növényanyag begyűjtésében nyújtott segítséget és Dr. Szalay Lászlónak értékes szakmai tanácsait.

1. táblázat:

Fajta	Tulajdonság	A vizsgált őszibarackfajták főbb jellemzői, autogám terméskötésük mértéke és származása	
		Öntermékenyítés (%) <sup>1</sup>	Származás
Babygold 6	sárga húsú, konzervipari fajta	26,3	amerikai, szabad megporzású magonc
Babygold 7	sárga húsú, konzervipari fajta	47,7	amerikai, szabad megporzású magonc
Bigtop	sárga húsú, nektarin	–	amerikai, eredete ismeretlen
Caldesi 2000 (szin. Super Queen)	fehér húsú, nektarin	–	Olasz, Stark Redgold × Snow Queen
Early Redhaven	sárga húsú, frissfogyasztású	26,9	amerikai, Halehaven × Kalhaven
Elberta	sárga húsú, frissfogyasztású	28,8	valószínűleg a Chinese Cling fajta magonca
Flamekist	sárga húsú, frissfogyasztású	24,0	Gold King szabad beporzású magonca
Incrocio Pieri	fehér húsú, frissfogyasztású	–	Olasz, Elberta × Santa Anna
K10	fehér húsú, frissfogyasztású	–	Kínai, eredete ismeretlen
K8	fehér húsú, lapos gyümölcsű	–	Kínai, eredete ismeretlen
Mariska	fehér húsú	34,1	budai tájfajta
Meystar (szin. Mireille)	fehér húsú	25,7	francia, szabad megporzású magonc
Michelini	fehér húsú	26,2	Olasz, ismeretlen eredetű magonc
Padana	sárga húsú	–	Olasz, Fayette × Fairtime
Piroska	fehér húsú	–	ceglédi tájfajta
Redcal	sárga húsú	–	amerikai, 31-21 hibrid öntermékenyítése
Sensation	sárga húsú	–	amerikai, eredete ismeretlen
Snow Queen	fehér húsú, nektarin	–	amerikai, eredete ismeretlen
Stark Redgold (szin.: Andosa)	sárga húsú, nektarin	23,1	amerikai, a Sun Grand szabad megporzású magonca
Suncrest	sárga húsú	24,3	amerikai, Alamar × Gold Dust
Symphony	sárga húsú	–	amerikai, Early O'Henry szabad megporzású magonca

<sup>1</sup> Adatok forrása: Nyéki és mts. (1980); Nyéki és Szabó (1996); Szabó és mts. (2000).

Table 1. Main characteristics, degree of autogamous fruit set and origin of the examined peach cultivars cultivar (1) characteristics (2) self-fertilization (3) origin (4)