

Nagy Emese:

Polimorfizmus és rokonsági körök vizsgálata kukoricában (*Zea mays*)

Témavezetők:

Cs. L. Marton

G Gyulai

BEVEZETÉS

A molekuláris biológiai és genetikai módszerek gyors fejlődése egyre inkább tért hódít a növénynemesítés különböző területein, így a kukoricánemesítésben is. A növényi fenotípusos jellemzők és az erre épülő DUS-bélyegek (UPOV) mellett a molekuláris markerek alkalmazása lehetővé teszi a nemesítési alapanyagok közötti polimorfizmus vizsgálatán keresztül a genetikai állomány felmérését, a genetikai változatosság, változékonyság és távolság mértékének meghatározását, valamint a fajtaazonosítási és fajtaoltalmi célú fajtaleírásokat (*Smith és Senior, 1999*).

A kukoricafajták rokonság szerinti csoportosítása igen fontos szerepet játszik a nemesítési munkában, mivel a heterózis alapfeltétele a szülőtörzsek közötti genetikai távolság. A kukoricatörzsek rokonsági körökbe sorolása, csoportosítása annál eredményesebb, minél pontosabb a fajták jellemzése, a közöttük fennálló finomabb különbségek kimutatása. Ezek meghatározásához nélkülözhetetlen segítséget nyújtanak azok a molekuláris szintű eljárások, amelyek közvetve vagy közvetlenül az egyedek genetikai hátterét térképezik fel (*Pejic et al. 1998*).

CÉLKITŰZÉS

Munkánk során az alábbi célokat tűztük ki:

1. 46 martonvásári nemesítésű, és egyéb, a martonvásári hibridek szülőtörzsként felhasznált kukorica beltenyésztett törzs polimorfizmus vizsgálatát morfológiai leírás, izoenzim-mintázat és DNS alapú módszerek – RAPD és génkapcsolt mikroszatellita (SSR) markerek – elemzése alapján.
2. A 46 kukorica beltenyésztett törzs pedigre analízisének elkészítését, melyben minden beltenyésztett törzs eredetét az előállításában szereplő kiindulási populációkig vezetjük vissza.
3. 294, a martonvásári nemesítésű hibridekhez szülőtörzsként felhasznált kukorica beltenyésztett törzs, valamint 119 egyéb, nemzetközi kooperációban kapott kukorica beltenyésztett törzs izoenzim lokuszai allélgyakoriságának meghatározását, összehasonlítva szakirodalmi adatokkal.
4. Egy olyan rendszer kidolgozását, amely szerint a morfológiai leírás adatai összevethetővé tehető a genetikai markerek polimorfizmus vizsgálatára kidolgozott ún. PIC (polymorphic index content) értékekkel.
5. A kukorica beltenyésztett törzsek rokonság szerinti csoportosítását a morfológiai, biokémiai és genetikai adatok szerint a polimorfizmus vizsgálatok során nyert adatok alapján.
6. A pedigre adatok, valamint a morfológiai, biokémiai és genetikai markerek közötti összefüggés vizsgálatát lineáris regresszió analízis módszerével.
7. A főbb rokonsági körökhöz nem sorolható törzsek dendrogramon történő elhelyezkedésének meghatározását, összevetve a nemesítési tapasztalatokkal.
8. Végző célunk egy olyan rendszer kidolgozása volt, amelyben a morfológiai leírás mellett meghatározzuk azt az optimális biokémiai és genetikai markerszámot, illetve markerkombinációt, amelyek reális, a pedigre adatoknak megfelelő képet mutatnak a beltenyésztett törzsek rokonsági viszonyairól. Ennek segítségével lehetővé válik az ismeretlen származású beltenyésztett törzsek rokonsági csoportba sorolása, így a rendszer a nemesítési munkában a keresztezési programok tervezésének alapjául szolgálhat.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Növényi anyag

Munkánk során 46, ismert genetikai háttérű kukorica beltenyésztett törzset használtunk. A beltenyésztett törzseket a következő főbb rokonsági körökből válogattuk: Lancaster, Iodent, Iowa Stiff Stalk Synthetic (ISSS), Mindszentpusztai Sárga Lófogú (MPS) és OP Lacaune. Munkánkhoz felhasználtunk ezeken kívül néhány olyan beltenyésztett törzset, amelyek a fenti főbb rokonsági csoportba nem sorolhatók, de a származásuk pontosan meghatározható: argentin flintek, korai kanadai törzsek, *W 117*-rokon törzsek, valamint *Co 125* származékok.

A pedigré analízishez az *International Crop Information System* (ICIS) által forgalmazott szoftvert használtuk. Első lépésként a beltenyésztett törzsek származását vezettük vissza a kiindulási populációig, melyet *Gerdes et al.* (1994) szerint végeztünk el. Ezután a beltenyésztett törzsek páronkénti összehasonlításával a program szerint kiszámítottuk a rokonsági koefficienseket.

Polimorfizmus vizsgálatok

A polimorfizmus és a rokonsági kapcsolatokat morfológiai leírás, izoenzim-mintázat, valamint DNS alapú vizsgálatok – RAPD és génkapcsolt mikroszatellita (SSR) markerek – alapján határoztuk meg.

Az izoenzim-mintázat alapján 294 martonvásári nemesítésű, és 119 egyéb, külföldi kooperációban kapott kukorica beltenyésztett törzs enzimlókuszáinak allélgyakoriságát is meghatároztuk. A kapott eredményt összevetettük *Goodman és Stuber* (1983) szakirodalmi adataival, akik 250, dél-amerikai, mint őshonos beltenyésztett kukoricavonal izoenzim lókuszáinak allélgyakoriságát vizsgálták.

A morfológiai leírásban felvételezett tulajdonságok

A beltenyésztett törzseket kétéves, négyismétléses kisparcellás kísérletekben, soronként, véletlen blokk elrendezésben vetettük el az országban két helyen, Martonvásáron és Mezőkövesden. A felvételezett tulajdonságokat parcellánként 10 növény átlagából határoztuk meg az UPOV TG 2/6 (1994) és *Smith és Smith* (1989a,b) alapján.

A beltenyésztett törzsek közötti genetikai távolságot a törzsek páronkénti összehasonlításával végeztük az *International Crop Information System (ICIS) V1.0* genetikai adatelemző szoftverével. A beltenyésztett törzsek származását a kiindulási populációkig vezettük vissza *Gerdes et al.* (1994) szerint.

Izoenzim vizsgálatok

Az izoenzimek meghatározása keményítő gélelektroforézissel történt *Goodman és Stuber* (1983) és *Stuber et al.* (1988) módszere szerint.

Kukorica beltenyésztett törzsenként 5 magot vizsgáltunk az UPOV által a TG 2/6-ban előírt izoenzimek alapján, melyek a következők voltak: almasav-dehidrogenáz, 6 lókuszt, izocitrát-dehidrogenáz, 2 lókuszt, 6-foszfoglükonát-dehidrogenáz, 2 lókuszt, foszfoglükomutáz, 2 lókuszt, foszfoglükóz-izomeráz, 1 lókuszt, savas-foszfátáz, 1 lókuszt, alkohol-dehidrogenáz, 1 lókuszt.

DNS markerekkel végzett vizsgálatok

A genetikai vizsgálatok során a 46 kukorica beltenyésztett törzset két fő primer-csoportba (RAPD, SSR) tartozó 40 primerrel vizsgáltuk. A random polimorfizmusok elemzésére a 10 bp hosszúságú, Operon Sci. (USA) gyártmányú OP/AB készletet (1-20), az ismétlődő DNS szekvenciákban előforduló genetikai polimorfizmusok elemzésére a 16-18 bp hosszúságú SSR-primerpárokat alkalmaztuk (*Weining and Langridge* 1991).

Az elemzések kiértékeléséhez alkalmazott statisztikai módszerek

A morfológiai leírás esetében a mért morfológiai adatokat kéttényezős variancia analízissel értékeltük. A polimorfizmus vizsgálatokhoz a beltenyésztett törzsek közötti különbözőség becslését az UPOV TG 2/6 bejelentőív útmutatója alapján végeztük el, amely során a mért adatokat bonitált adatokká konvertáltuk, és a bejelentőívben előírt szabályokat alkalmaztuk.

A polimorfizmus vizsgálatokhoz kiszámítottuk a Dice hasonlósági indexeket a beltenyésztett törzsek páronkénti összehasonlításával, valamint meghatároztuk az ún. PIC (polymorphic index content) értékeket, amelyek egy adott lókuszt diszkrimináló képességét fejezik ki.

A rokonsági viszonyokat hierarchikus cluster-analízissel elemeztük.

A lineáris regresszió analízis céljából a pedigre analízis szerint a beltenyésztett törzsek páronkénti összehasonlításával, az ICIS program által számított rokonsági koefficienseket, mint független (x) változót vizsgáltuk a függő változók (y) viszonyításában. A genetikai markerek esetében a függő változókat szintén a törzsek páronkénti összehasonlításával számítottuk az ún. Dice korrelációs hasonlósági indexek alapján. A morfológiai leírás esetében az SPSS matematikai statisztikai program által, a mért adatok standardizált értékei szerint, négyzetes euklidészi távolság alapján számított korrelációs koefficienseket viszonyítottuk a független változókhoz.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

Kukorica beltenyésztett törzsek pedigree analízise a törzsek származása alapján

A rokonsági kapcsolatokat modellező cluster-analízis szerint elkészített dendrogramon a beltenyésztett törzsek rokonság szerinti csoportosítása összhangban állt a genetikai háttérrel. Kivételt képezett az Mv L20 nevű beltenyésztett törzs, amely 50 %-os ISSS származása ellenére az Mv L17 nevű beltenyésztett törzshöz kapcsolódott. Tekintettel azonban arra hogy az *Mv L20* 50 %-ban tartalmazza az *Mv L17* törzs eredetének megfelelő, *W 117* x *B 37* keresztezést, így a rokonsági viszonyok ismeretében genetikailag kapcsolódhat az *Mv L17* törzshöz.

Polimorfizmus vizsgálatok

Polimorfizmus vizsgálatok a morfológiai leírás alapján

A variancia analízis eredménye szerint bizonyos tulajdonságokra, például a kaláskapelyva antociános színeződésére, a cső alakjára, a szemtípusra, a szemkorona színére, a szemsorszámra, valamint a csuta antociános színeződésére a környezeti hatás nem volt szignifikáns. A portok, a kaláskagyűrű és a bibe színének antociánossága, a cső termékenyülésének mértéke, valamint a szem szélessége függött ugyan az évjárattól, de csak kisebb mértékben (a szignifikanciaszint 10 %-os valószínűségi szinten volt mérhető). A szem színére a fentieknél erősebb környezeti hatás volt jellemző, az adatok 1%-os valószínűségi szinten mutattak szignifikáns különbséget. A többi tulajdonság alakulását a környezet jelentős mértékben befolyásolta ($p = 0,1\%$).

A polimorfizmus vizsgálatban az UPOV TG 2/6 (1994) bejelentőív alapján két beltenyésztett törzs, a Mo 17 Mv, és izogén származéka, a Mo 17 wx mutatott olyan erős hasonlóságot, amely alapján a bejelentőíven szereplő alaptulajdonságok szerint nem voltak megkülönböztethetők egymástól.

A polimorfizmus mértékét kifejező PIC értékek 0,48 és 0,82 közé estek, az átlagérték 0,59 volt. Legmagasabb PIC értékkel a csutka antociános színeződése (0,82), címervirágzás (0,81) és a nővirágzás (0,80) jellemezhető.

Polimorfizmus vizsgálatok az izoenzim mintázat alapján

Az izoenzim-mintázat esetében a vizsgált 15 enzimplókuszból 13 mutatott polimorfizmust, mely lokuszokban az összes lehetséges 35 allél közül a vizsgált beltenyésztett törzsekben 29 fordult elő, ami átlagosan 2,2 allél/lokusz értéknek felel meg.

A polimorfizmus meghatározásában az izoenzim-mintázat szerint a 46 beltenyésztett törzs összesen 29 eltérő gélelektroforézis csoportot alkotott, ami azt jelenti, hogy egyes törzsek nem különböztek egymástól. Ez az azonosság a törzsek nagy részénél összefügg a rokonsági kapcsolatokkal, és azonos genetikai származásra vezethető vissza. Bizonyos beltenyésztett törzsek esetében a megegyező izoenzim-mintázat azonban a pedigré alapján nem magyarázható.

Az izoenzim-mintázat szerint 18 beltenyésztett törzs mutatott egyedi gélelektroforézis mintázatot, amely alapvetően nem unikális allélok megjelenésében, hanem a polimorf lokuszok alléljainak egyedi kombinációjában nyilvánult meg.

Fenti eredményeknek megfelelő képet kapunk az ún. Dice hasonlósági indexek esetében is. A legnagyobb érték az azonos enzimmintázatot mutató beltenyésztett törzsek között volt (Dice-index = 1), ami a genetikai háttérrel legtöbb törzs esetében magyarázható. A legalacsonyabb értéket a *Mv L2* és az *F7* között kaptuk (0,38), ami megfelel a törzsek származásának, mivel nem állnak egymással rokonsági kapcsolatban.

A két Lancaster törzs, a *Mo 17 Mv* és izogén változata, a *Mo 17 wx* az izoenzim-mintázat alapján sem volt megkülönböztethető egymástól.

Az izoenzim allélok gyakoriságára vonatkozóan 294 martonvásári nemesítésű beltenyésztett törzs, 119 egyéb, külföldi kooperációban kapott beltenyésztett vonal

adatait vetettük össze *Goodman és Stuber* (1983) eredményeivel, amelyben 250 kukorica beltenyésztett törzs allélgyakoriságát vizsgálták.

Az eredmények szerint a martonvásári nemesítésű beltenyésztett törzsek allélgyakorisága bizonyos enzimek esetében eltérő képet mutat mind a külföldi, mind a szakirodalomban leírt törzsek adataihoz képest. Az *Mdh1* lókuszban kimutatható nulla allél például csak a martonvásári beltenyésztett törzsek között fordul elő. Az *Idh1* lókuszban előforduló nulla allél a külföldi törzsek között nem volt kimutatható, az irodalom 0,23 %-os gyakorisággal jellemzi. Szignifikáns különbség mutatható ki az *Mdh3* lókuszban 18-as, az *Idh1* lókuszban 6-os, az *Idh2* lókuszban 6-os, a *Pgd2* lókuszban 2.8-as, valamint a *Pgm2* lókuszban 1-es alléljainak előfordulásában, amelyek a szakirodalmi adatok szerint kisebb gyakorisággal jelennek meg, mint azt a martonvásári és egyéb beltenyésztett törzsek mutatják. Az *Mdh5* lókuszban 15-ös, az *Idh2* lókuszban 4-es, valamint a *Pgd1* lókuszban 2-es allélját ugyanakkor *Goodman és Stuber* (1983) megfigyelése szerint a szakirodalom jellemzi szignifikánsan nagyobb gyakorisággal.

A polimorfizmus mértékét kifejező ún. PIC (polymorphic index content) értékek az izoenzim-lókuszeket tekintve 0,04 és 0,55 közé estek, 0,27 átlagértékkel. A polimorf enzimplókuszek közül a legalacsonyabb értékeket az *Mdh3*, az *Mdh5* és a *Pgm1* lókuszek eredményezték (PIC = 0,04). A polimorfizmus kimutatásában a legtöbb információtartalommal a *Pgm2* és az *Acp1* lókuszek rendelkeztek, de nem haladták meg a 0,55 értéket. Az igen alacsony átlagérték, és a nem kiugróan magas legfelső érték alapján elmondhatjuk, hogy az izoenzim-vizsgálatok hatékonysága a polimorfizmus kimutatásában igen korlátozott mértékű.

Polimorfizmus vizsgálatok a PCR alapú markerekkel (RAPD, SSR)

RAPD és a génkapcsolt mikroszatellita primerpárokkal történő elemzés minden kukorica beltenyésztett törzs esetében alkalmas volt a polimorfizmus kimutatására.

A 20 vizsgált RAPD primer közül öt primer több ismétlés során sem adott egyértelműen értékelhető eredményt.

Három primer 100%-os monomorf mintázatot mutatott. További RAPD primerek kiemelkedően szelektív polimorfizmust mutattak a vizsgált beltenyésztett törzsek között. Végül 12 olyan RAPD primert találtunk, összesen 93 fragmentummal, amelyből 54 fragmentum (átlag 4,5 fragmentum/primer) megbízható, az ismétlésekben is megjelenő polimorf mintázatot mutatott.

Magas volt (0,8-0,9) a Dice hasonlósági index a következő több rokonsági csoport – pl. az ISSS, a Lancaster, a korai kanadai törzsek – tagjai között, mely eredmény magyarázható a törzsek származásával. A RAPD elemzés alapján számított legalacsonyabb Dice-indexeket kaptunk többek olyan törzsek között, mely adatok a genetikai háttér ismeretében magyarázhatók, miután a törzspárok között nincs rokonsági kapcsolat. Bizonyos beltenyésztett törzsek a köztük lévő genetikai rokonság ellenére alacsony Dice-indexszel jellemezhetők. A legnagyobb hasonlóságot mutató két törzs – a *CM 105* és a *CM 108*, (Dice hasonlósági koeficiens érték: 0,91) – polimorfizmusát három primer két-két fragmentumának különbözősége eredményezte.

A génkapcsolt mikroszatellita primerpárokkal történő elemzés alapján a 20 primerpár közül három nem adott értékelhető PCR-mintázatot, kettő 100 %-os, egy pedig közel 98 %- monomorf mintázatot mutatott.

Két primerpár mutatott ugyan polimorfizmust, de a fragmentumok közötti kicsi, mindössze néhány bázispárnyi különbségek miatt a mintázatot nem tudtuk meghatározni. Több bázispár kiemelkedően szelektív polimorfizmust mutatott az egyes beltenyésztett törzsek között. Az adatmárixot végül 11 primerpár összesen 71 polimorf fragmentuma alapján készítettük el, ami átlagosan 6,4 fragmentum/primer értéknek felel meg.

Az SSR markerekre jellemző szelektív polimorfizmusra utalnak a Dice-indexek, amelyek jóval alacsonyabb értékekkel jellemezhetők, mint az izoenzim-mintázat, vagy a RAPD elemzés esetében. A magasabb értékek is ritkábbak, és elmaradnak a fenti két módszer legmagasabb értékeitől. Ez arra utal, hogy az SSR markerek kiemelkedő szelektivitást mutatnak a polimorfizmus vizsgálatokban már alacsony primerszám mellett is. A legmnagyobb hasonlóságot az *Mv L8* és az *Mv L10* törzsek mutatták (Dice hasonlósági koeficiens érték: 0,85), a közöttük lévő polimorfizmust két mikroszatellita primerpár két-két fragmentuma határozta meg.

A genetikai markerek elemzése alapján minden beltenyésztett törzs esetében kimutatható volt a polimorfizmus, ami különösen figyelemreméltó az izogén vonalak (wx változat, fertilitást visszaállító, ún. restorer fertility (rf) változat) vizsgálatában.

Mind az SSR, mind a RAPD markerek elemzésével megkülönböztethető volt a két Lancaster törzs, a *Mo 17 Mv* és a *Mo 17 wx*, amelyek sem a morfológiai leírás, sem az izoenzim-mintázat szerint nem mutattak polimorfizmust.

Fenti adatoknak megfelelően alakultak a polimorfizmus mértékét kifejező ún. PIC (polymorphic index content) értékek.

A RAPD és az SSR markerek PIC értékei jóval magasabb értéktartományba estek: 0,2-0,91, átlag 0,61 (RAPD) illetve 0,54-0,90, átlag 0,73 (SSR). Ez azt jelenti, hogy a RAPD, ill. az SSR markerek még viszonylag alacsony primerszám mellett is hatékonyan alkalmazhatók a polimorfizmus vizsgálatokban.

Rokonsági viszonyok elemzése

A rokonsági viszonyok elemzése azt mutatta, hogy a 46 beltenyésztett törzs túl sok a csekély számú polimorfizmust mutató genetikai markerhez képest, ezért a törzsek számát 31-re csökkentettük. Az így elkészített dendrogramok még a genetikai markerek együttes elemzése ellenére is csak részben tükrözték a tényleges genetikai viszonyokat. Végül egy olyan szűkített törzsszortimentet hoztunk létre, amely rokonsági körönként két-két törzspárt tartalmazott, amelyek vagy egymásból, vagy egy közös őstől származtathatók. Az így elkészített dendrogramokon a morfológiai

leírás alapján négy (Mindszentpusztai Sárga Lófogú, W 117-rokon, Iodent, valamint a B 37 eredetre visszavezethető ISSS törzsek), az izoenzim-mintázat alapján szintén négy csoport alakult a pedigrének megfelelően (B 37 eredetre visszavezethető ISSS, Lancaster, B 14 eredetű ISSS, valamint az OP Lacaune törzsek). A RAPD mintázatot elemezve hat (B 14 és B 37 eredetű ISSS, korai kanadai, OP Lacaune, Co 125, valamint W 117 származékok) rokonsági csoport alakult a genetikai háttérnek megfelelően, a pedigré szerint.

Az SSR markerek alapján készített dendrogram ebben a szűkített formában is nagyon heterogén képet mutatott. Ennek oka feltehetően az, hogy az SSR markerek a genom hipervariábilis régióhoz kötődnek, így szelektív polimorfizmus kimutatására kiválóan alkalmasak, míg a rokonsági viszonyok meghatározása csak nagyszámú primer vizsgálatával lehetséges.

A genetikai markerek együttes elemzése alapján elvégzett cluster-analízis szerint azonban minden beltenyésztett törzs a genetikai háttérnek megfelelő rokonsági csoportba került.

Fenti elemzések után érdemes volt megvizsgálnunk, hogy a morfológiai leírás és a genetikai markerek milyen kombinációjában végezhető el a törzsek rokonság szerinti csoportosítása, illetve mennyi az a minimális markerszám, amely alapján az osztályozás még megbízhatóan elvégezhető.

A laboratóriumi vizsgálatok közül az enzimmintázat meghatározását, mint a leggyorsabban, legegyszerűbben és a legkisebb költség ráfordításával kivitelezhető módszert érdemes alapul venni. A mért és bonitált morfológiai adatokat, amelyeket a szántóföldi kísérletek során rutinszerűen meghatározhatunk, szintén érdemes felhasználni. E két kísérleti rendszert célszerű a továbbiakban kiegészíteni a különböző genetikai markerekkel, a primerszám lépésről-lépésre történő növelésével.

A morfológiai leírás és az enzimmintázat elemzése alapján a rokonsági csoportok Mindszentpusztai Sárga Lófogú fajtából származó törzsek kivételével a pedigrének megfelelően alakultak.

A tényleges rokonsági viszonyok kialakulásáig az elemzéseket lépésről-lépésre egészítettük ki a genetikai markerek vizsgálati eredményeivel. Ahhoz, hogy minden törzspár a pedigrének megfelelően önálló csoportként jelenjen meg a dendrogramon, szükséges volt még három, jól megválasztott, szelektív polimorfizmust mutató RAPD primer vizsgálata.

A biokémiai és a genetikai markerek (izoenzim, RAPD, SSR) együttes elemzésekor minden beltenyésztett törzs a származásának megfelelő csoportba került. Ez azt jelenti, hogy a genetikai markerek kisszámú törzset vizsgálva a morfológiai leírás nélkül önmagukban is alkalmasak a rokonsági viszonyok meghatározására.

A főbb rokonsági csoportokba nem sorolható beltenyésztett törzsek dendrogramon való elhelyezkedése megfelelt a nemesítői tapasztalatoknak, miután vagy a morfológiai jellegük, vagy a koraiságuk, vagy a kombinálódó képességükről szerzett ismeretek alapján a hozzájuk leginkább hasonló törzsekhez kapcsolódtak.

A pedigree adatok, és a morfológiai leírás, valamint a biokémiai és genetikai markerek közötti összefüggés vizsgálata lineáris regresszió analízissel

Vizsgálatainkban a lineáris regresszió analízishez a három fő rokonsági kör tagjait (Lancaster, ISSS, Iodent) emeltük.

A tényleges genetikai viszonyokat tükröző pedigré analízis által meghatározott távolság, valamint a beltenyésztett törzsek páronkénti összehasonlításával, az SPSS program szerint számított távolság közötti legszorosabb korrelációt a biokémiai és a genetikai markerek együttes értékelésével kaptuk. Ebben az esetben az r értéke 0,81 volt, ami szoros korrelációnak felel meg, szemben a morfológiai ($r = 0,48$), az izoenzim-mintázat ($r = 0,57$), a RAPD analízis ($r = 0,64$) és az SSR elemzés ($r = 0,46$) adatai alapján számított közepes korrelációs koefficiensekkel.

A három fő rokonsági kör minden tagja a pedigreenek megfelelő csoportba került az összevont adatok alapján a cluster analízis értékelése szerint is, ami arra utal, hogy a két módszer eredménye összhangban áll egymással.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. 46 martonvásári nemesítésű, és egyéb, a martonvásári hibridek szülőtörzsként felhasznált kukorica beltenyésztett törzs polimorfizmus vizsgálatát végeztük el morfológiai leírás, izoenzim-mintázat és DNS alapú módszerek – RAPD és génkapcsolt mikroszatellita (SSR) markerek – elemzése alapján. A magyarországi kukoricaneemesítésben ilyen átfogó elemzés még nem készült a polimorfizmus vizsgálatokban.
2. Elkészítettük a fent említett 46 kukorica beltenyésztett törzs pedigree analízisét, melyben minden beltenyésztett törzs eredetét az előállításában szereplő kiindulási populációkig vezettük vissza.
3. Átfogó jellemzést készítettünk a Kutatóintézet által az évek során nemesített és felhasznált beltenyésztett törzsek izoenzim alléljainak előfordulási gyakoriságáról. Meghatároztuk 294, a martonvásári nemesítésű hibridekhez szülőtörzsként felhasznált kukorica beltenyésztett vonal és 119 egyéb, nemzetközi kooperációban kapott kukorica beltenyésztett törzs izoenzim lókuszaire vonatkozó allélgyakoriságát, összehasonlítva dél-amerikai, mint őshonos törzsek szakirodalmi adataival.
4. Kidolgoztunk egy olyan rendszert, amely szerint a morfológiai leírás adatai összevethetővé váltak a genetikai markerek polimorfizmus vizsgálatában szereplő ún. PIC (polymorphic index content) értékekkel. Ennek ismeretében meghatároztuk, hogy mely morfológiai tulajdonságok játszanak nagyobb szerepet a kukoricafajták közötti különbözőség kimutatásában.
5. Cluster analízissel egy szűkített törzsszortiment létrehozásával, azonos genetikai háttérrel rendelkező rokon törzspárok alapján felállítottunk egy olyan rendszert, amelyben meghatároztuk, hogy a morfológiai leírás és a genetikai markerek milyen kombinációjában mutathatók ki a tényleges, pedigree szerinti rokonsági kapcsolatok. Megállapítottuk, hogy amennyiben a morfológiai leírást, és az izoenzim-mintázatot – mint rutinszerűen vizsgált tulajdonságokat – vesszük

alapul, elegendő még három, jól megválasztott, szelektív polimorfizmust mutató RAPD primer vizsgálata a genetikai háttér pedigreenek megfelelő elemzéséhez.

6. A rokonsági csoportok szűkítésével a három fő rokonsági kör (Reid Yellow Dent, Iodent, Lancaster) minden tagja a pedigreenek megfelelő csoportba került az összevont adatok értékelése alapján.
7. A morfológiai leírás nélkül a genetikai és biokémiai (izoenzim) markerek együttes elemzése is alkalmas a rokonsági kapcsolatok pontos feltárására.
8. A lineáris regresszió analízis eredménye is a fenti következtetéseket igazolja, amely szerint a genetikai markerek együttes feldolgozása alapján becsült, valamint a pedigree analízis szerint meghatározott rokonsági koefficiensok között szorosabb korreláció figyelhető meg, mint ha azt az egyes módszerekkel külön-külön becsülnénk.
9. Megvizsgáltuk, hogy a főbb rokonsági körökhöz nem sorolható beltenyésztett törzsek a szűkített törzsszortimentet feldolgozó dendrogramon mely rokonsági csoporthoz kapcsolódnak. Az így kapott eredmények mind az öt törzs esetében megfeleltek a nemesítési tapasztalatoknak, miután vagy a morfológiai jellegük, vagy a koraiságuk, vagy az egyéb törzsekkel való kombinálódóképességükről szerzett ismeretek alapján a hozzájuk leginkább hasonló törzsekhez kapcsolódtak.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBŐL KÉSZÜLT PUBLIKÁCIÓK

Referált cikkek

E. Nagy, G. Gyulai, Z. Szabó, Z. Hegyi and L. C. Marton (2003): Application of morphological descriptions and genetic markers to analyse polymorphism and genetic relationships in maize (*Zea mays* L.) *Acta Agronomica Hungarica* 51 (3), 257-265.

S. Záborszki, **E. Nagy**, C. Szőke (2002): Effect of seed treatment on the emergence of inbred lines of maize (*Zea Mays* L.) *Acta Agronomica Hungarica*, 50 (3), 359-369.

Záborszky S., **Nagy E.**, Berzy T. és Pintér J. (2002): A vetőmagcsávázás és a vetésidő hatása a kukoricahibridek (*Zea mays* L.) kelésére és kezdeti fejlődésére. *Növényvédelem*, 38(12) 629-635.

Z. Gyenes-Hegyi, I. Pók, L. Kizmus, Z. Zsubori, **E. Nagy**, L.C. Marton (2002): Plant height and height of the main ear in maize (*Zea mays* L.) at different locations and different densities. *Acta Agronomica*, 50:75-84.

M. Pál and **E. Nagy** (2002): Chilling tolerance of maize. *Acta Agronomica Hungarica* 50(1), 95-106.

Marton L. Cs., Kizmus L., **Nagy E.** (2000): A fuzáriumos magfertőzés hatása a kukorica (*Zea mays* L.) keléskori hidegtűrésére. *Növénytermelés*, 3: 261-272.

Nagy E. Gyulai G., Marton L. Cs. (2000): Kukorica beltenyésztett törzsek jellemzése genetikai markerekkel. *Növénytermelés*, 49. 6: 587-597.

Marton L. Cs., Szundy T., **Nagy E.** (1997): A kukorica (*Zea mays* L.) fiatalkori hidegtűrésének értékelése hőmérsékleti gradiens kamrában. *Növénytermelés*, 46: 549-557.

Konferencia kötetek / Proceeding

Nagy E., Gyulai G., Marton L. Cs. (1999): Genetikai markerek felhasználása a kukoricanevelésben. Ötven éves a Magyar Tudományos Akadémia Mezőgazdasági Kutatóintézete. Kiadó: A Magyar Tudományos Akadémia Kutatóintézete, 131-135.

E. Nagy, G. Gyulai and L. C. Marton (1999): Use of genetic markers in maize breeding. 50TH Anniversary of the Agricultural Research Institute of the Hungarian academy of Sciences. Kiadó: A Magyar Tudományos Akadémia Kutatóintézete, 135-139.

Marton L. Cs., Hadi G., Pintér J., **Nagy E.** (2003): A tőszám hatása a Mindszentpusztai Sárga Lófogú fajta szárszilárdságára. 50 éves a magyar hibridkukorica. Kiadó: A Magyar Tudományos Akadémia Kutatóintézete, 209-216.

Nagy E., Hegyi Zs., Marton L. Cs. (2003): Genetikai markerek a kukorica polimorfizmus és rokonsági vizsgálatokban. 50 éves a magyar hibridkukorica. Kiadó: A Magyar Tudományos Akadémia Kutatóintézete, 223-228.

Absztraktok

Gyenesné, Hegyi Zs., Kizmus, L., **Nagy, E.**, Marton, L. Cs. (2001): A kukorica címerágak számának és az egyedi produkciónak a vizsgálata eltérő ökológiai körülmények között. II. Növénytermesztési Tudományos Napok, Budapest

Nagy E., Gyulai G., Gyenesné Hegyi Zs., Szabó Z., Marton L. Cs. (2002): Genetikai távolság becslése génkapcsolt mikroszatellita markerekkel kukoricában. VIII. Növénytermesztési Tudományos Napok, Budapest

Nagy E. és Pál M. (2002): Alkalmazható módszerek a kukorica hidegtűrése kutatásában. VIII. Növénytermesztési Tudományos Napok, Budapest

Gyenesné Hegyi, Zs., Pók, I., Zsubori, Zs., Kizmus, L., **Nagy, E.**, Marton, L. Cs. (2002): A kukorica (*Zea mays* L.) növénymagasságának és fűcső eredési magasságának alakulása eltérő termőhelyeken. VIII. Növénytermesztési Tudományos Napok, Budapest

Előadások

Nagy E., Marton L. Cs., Szundy T. (1998): Genetikai markerek a kukoricanemesítésben: martonvásári kukoricafajták genetikai távolságának meghatározása morfológiai tulajdonságok és izoenzim mintázat alapján IV. Növénytermesztési Tudományos Napok, Budapest

Nagy E., Gyulai G., Marton L. Cs. (1999): Genetikai markerek felhasználása a kukoricanemesítésben Ötven éves a Magyar Tudományos Akadémia Mezőgazdasági Kutatóintézete