



**KÉT ÚJ SZŐLŐLISZTHARMAT-REZISZTENCIALÓKUSZ
AZONOSÍTÁSA EGY VAD ÁZSIAI SZŐLŐFAJBÓL,
A *VITIS PIASEZKII*-BÓL**

DOKTORI (PhD) értekezés tézise

PAP DÁNIEL

TÉMAVEZETŐK: DR. M. ANDREW WALKER

DR. HALÁSZ JÚLIA

BUDAPEST

2016

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

Tudományága: Kertészeti biológia

Vezetője: Zámboriné dr. Németh Éva
egyetemi tanár, DSc
tanszékvezető, Gyógy- és Aromanövények Tanszék
Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar

Témavezető: Dr. Halász Júlia
habilitált egyetemi docens
Genetika és Növénynevelés Tanszék,
Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar

Társ-témavezető: Prof. Dr. Andrew M. Walker
Department Viticulture and Enology
University of California Davis

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

.....
Zámboriné dr. Németh Éva
Iskolavezető

.....
Dr. Halász Júlia
Témavezető

1. BEVEZETÉS

A hosszútávon fenntartható mezőgazdaság szükséges feltétele a betegség-ellenálló és más értékes agronómiai tulajdonságokkal rendelkező vad rokon növényfajok nemesítésbe vonása.

A termesztett szőlő Észak-Amerikában és Ázsiában fellelhető vad rokonfajai jó lehetőséget kínálnak a betegségek és kártevők elleni nemesítésben. Az elmúlt évtizedben a figyelem középpontjába kerültek a kínai *Vitis* fajok az erős lisztharmat rezisztencia és a gyümölcs minőségét nem befolyásoló tulajdonságai miatt, szemben az amerikai rezisztens fajokkal, melyek rontják a szőlő minőségét.

A szőlő lisztharmat (*Erysiphe necator*) a termesztett szőlő fő gombás betegsége, minden szőlőtermesztő területen problémát okoz a világon. Az lisztharmat-rezisztens fajtákkal elkerülhetjük a gombaölő szerek kiterjedt alkalmazását, ami költséges és munkaigényes, valamint káros hatással van a környezetre. Továbbá több, rezisztenciát biztosító allél ötvözése egy fajtában is szükséges a nemesítés során, mert a gyorsan evolválódó kórokozó könnyen áttörheti egyetlen rezisztencialókuszt védelmi vonalát. Az újabb genetikai módszerek lehetővé teszik, hogy az új rezisztenciaforrásokat hatékonyan és gyorsan feltárjuk és alkalmazzuk a nemesítésben. Térképező populáció előállítás, illetve rezisztencialókuszok azonosítása genetikai térkép segítségével egy nagyon hatékony molekuláris eszköz a nemesítők kezében. A genetikai térképezés során a molekuláris munka szinte félautomata módon megoldható és általános elterjedt, a fenotipizálási-rendszerek azonban növény- és betegség-specifikusak. Alapvető fontosságú, hogy hatékonyan és pontosan értékeljük fenotipusosan a populációt.

Ebben a dolgozatban több lisztharmat-rezisztenciával rendelkező kínai *Vitis piasezkii* egyedeket vizsgáltunk, amik az 1980-as kínai-amerikai botanikai expedíció gyűjtéséből származnak, a nyugati Hubei tartományból.

2. CÉLKITŰZÉSEK

- *Vitis piasezkii* DVIT2027 F1 populáció lisztharmat tüneteinek felvételezése szabadföldön, a rezisztencia genetikai jellegének meghatározásához
- Az F1 populáció lisztharmatfertőzésre adott fenotípusának értékelése szabályozott környezetben: üvegházban vizuálisan és mikroszkóp alatt *in vitro* vizsgálatok során
- Egy nem vizuális, kvalitatív módszer alkalmazása a lisztharmatfertőzés mértékének pontos meghatározásához, így megerősítve a vizuális szubjektív eredményeket
- Mikroszatellit markerek segítségével a *V. piasezkii* DVIT2027 limitált genetikai térképének megszerkesztése
- QTL térképezés: a rezisztenciáért felelős genetikai régiók azonosítása. A genotípusos és fenotípusos adatok együttes elemzése
- A térképezett rezisztencialókus vizsgálatára több különböző eredetű lisztharmatizolátummal, megbizonyosodva arról, hogy a rezisztencia széleskörű és stabil
- Rekombináns genotípusok azonosítása a kiterjesztett térképező populáción és a következő generációk keresztezéseiben. A genetikai régió szűkítése során új SSR markerek fejlesztése
- A további rendelkezésre álló *V. piasezkii* egyedek fertőzése szőlő lisztharmattal
- Megvizsgálni a nemhez kötött molekuláris markerek és virágzástípus együttes szegregációját ebben az ázsiai *Vitis* fajban

3. ANYAG ÉS MÓDSZERTAN

3.1. Növényanyag

A 11-373 névvel jelzett térképező populáció a liztharmatra fogékony *V. vinifera* F2-35 ('Carignane' × 'Cabernet Sauvignon') és az ellenálló *V. piasezkii* DVIT2027 keresztezésének eredménye.

3.2. Liztharmatfertőzés értékelése

A 11-373 populáció liztharmattüneteinek értékelése több környezetben: két egymást követő évben természetes és mesterséges fertőzéssel szabadföldön, üvegházban négy ismétlésben, és *in vitro* fenntartott leveleken laboratóriumi körülmények között. A liztharmat levélhez viszonyított tömegét molekulárisan qPCR reakciókból kapott eredmények alapján számoltuk. A fertőzés mértékét szabadföldön a hajtáson, illetve vesszőn és a leveleken értékeltük. Az alap térképező populáció 277 magoncából 253-at illetve 261-et értékeltünk 2013-ban és 2014-ben. Összesen 258 magonc liztharmat-fogékonyságát vizsgáltuk négy ismétlésben üvegházban. Szintén 258 magoncot értékeltünk négy ismétlésben mikroszkóp alatt (Leica EZ4 D) laboratóriumi körülmények között *in vitro* fenntartott leveleken. A vizuális értékeléseket minden esetben két ember végezte egymástól függetlenül. Végül qPCR-rel értékeltük 247 magonc liztharmat fertőzöttségének mértékét az *in vitro* vizsgálatokból származó leveleken.

3.3. Genotipizálás és a genetikai térkép elkészítése

A DNS-kivonás friss, fiatal levélszövetből történt CTAB protokoll alapján (Riaz et al., 2011). Összesen 277 magonc (11-373 populáció) szolgálta az alap térképezőpopulációt a genetika térkép létrehozásához. Ötszázhusz korábban már publikált mikroszatellit markert teszteltünk egy nyolcmintás rész-populáción, szülői és magonc DNS-mintákkal.

Azért, hogy tovább telítsük a kilences és tizenkilences kromoszóma megfelelő régióit, tizennégy új SSR-markert terveztünk (PN9 és PN19 sorozat) a PN40024 12x genomszekvencia segítségével (Jaillon et al., 2007).

A PCR-termékeket az ABI 3500 kapilláris elektroforézis rendszerben futtattuk. Az allélméreteket a GeneMapper 4.1 szoftver (Applied Biosystem Co., Ltd., USA) segítségével állapítottuk meg.

3.4. QTL analízis

A QTL (quantitative trait locus) analízist minden egyes fenotípusadattal két különböző módszerrel végeztük a MapQTL 6.0 szoftverrel konszenzus és szülői térképeken is (Van Ooijen, 2009 and 2011). Először intervallum térképezéssel, regressziós algoritmussal vizsgáltuk az adatokat, majd minden lehetséges QTL megismeréséért többszörös QTL térképező módszert (MQM) alkalmaztunk kofaktorok kijelölése után.

3.5. Rekombinások azonosítása

További keresztezésekből származó négy populációt vizsgáltunk (pseudo-backcross - pBC1), amelyekben *Ren6* vagy *Ren7* vagy mindkettő lókuszt megtalálható volt. Mind a négy populáció esetében egy liztharmatrezisztens 11-373 magonc, a fogékony *V. vinifera* 'Malaga Rosada'-val volt keresztezve. A 13-350 és 13-351 populációk (szegregálódnak *Ren6*-re), 13-352 (*Ren6*, *Ren7*), és 14-353 (*Ren7*), 396, 125, 133 és 256 magoncot tartalmaznak. További 259 magoncot vizsgáltunk az F1 11-373 populációból, illetve minden pBC1 magoncot, hogy a potenciális rekombinánsokat megtaláljuk. A liztharmat-fogékonyságot több ismétlésben vizsgáltuk minden rekombináns jelölt növényen, és részpopulációkon üvegházban, valamint *in vitro* levélteszteken. A fertőzéseket és értékeléseket a fentebb már leírtak szerint végeztük.

4. EREDMÉNYEK

4.1 A lisztharmat tünetek értékelése

Az F1 11-373 magoncpopulációt különböző kísérletes módszerekkel értékeltük. A szabadföldi értékeléseket két egymást követő évben végeztük (2013-2014), továbbá üvegházban, *in vitro* tesztekben és molekulárisan qPCR-rel mértük fel a magoncok rezisztenciáját. Az eredményeket az 1. és 2. táblázatokban foglaltuk össze.

1. táblázat A 11-373 populáció lisztharmat-rezisztencia QTL térképezéséhez felhasznált fenotípusos adatsorok összefoglaló statisztikája.

Fenotípus	Magoncok száma	Átlag	Variancia	Min	Medián	Max
Levél 2013	253	0.51	0.55	0	0.33	3.83
Vessző 2013	253	0.23	0.29	0	0	3.5
Levél 2014	261	1.29	3.09	0	0.5	5
Vessző 2014	261	0.88	2.41	0	0	5
Üvegház	258	1.36	1.36	0	0.43	4
<i>in vitro</i>	258	1.55	2.57	0	0.97	4
qPCR	247	6.62	9.63	0.25	6.87	12.67

^a A lisztharmat tüneteket két egymáskövető évben értékeltük szabadföldön. Üvegház, *in vitro*, és qPCR-alapú molekuláris kísérleteket három- négy biológiai ismétlésben végeztük 2014-ben.

2. táblázat A QTL térképezéshez felhasznált adatsorok páronkénti korrelációja a 11-373 alap térképezőpopulációban.

	Levél 2013	Vessző 2013	Levél 2014	Vessző 2014	Üvegház	<i>in vitro</i>	qPCR
Levél 2013	1.0	-	-	-	-	-	-
Vessző 2013	0.632 ^a	1.0	-	-	-	-	-
Levél 2014	0.591	0.465	1.0	-	-	-	-
Vessző 2014	0.633	0.59	0.827	1.0	-	-	-
Üvegház	0.499	0.374	0.842	0.664	1.0	-	-
<i>in vitro</i>	0.409	0.283	0.786	0.617	0.91	1.0	-
qPCR ^b	-0.365	-0.245	-0.697	-0.546	-0.767	-0.818	1.0

^aMinden R^2 érték szignifikáns ($p < 0.001$).

^bA qPCR tesztekől származó fertőzési koefficiens természetes logaritmussal volt normalizálva. A korreláció inverz a többi vizuális értékeléshez képest.

4.2 QTL analízis

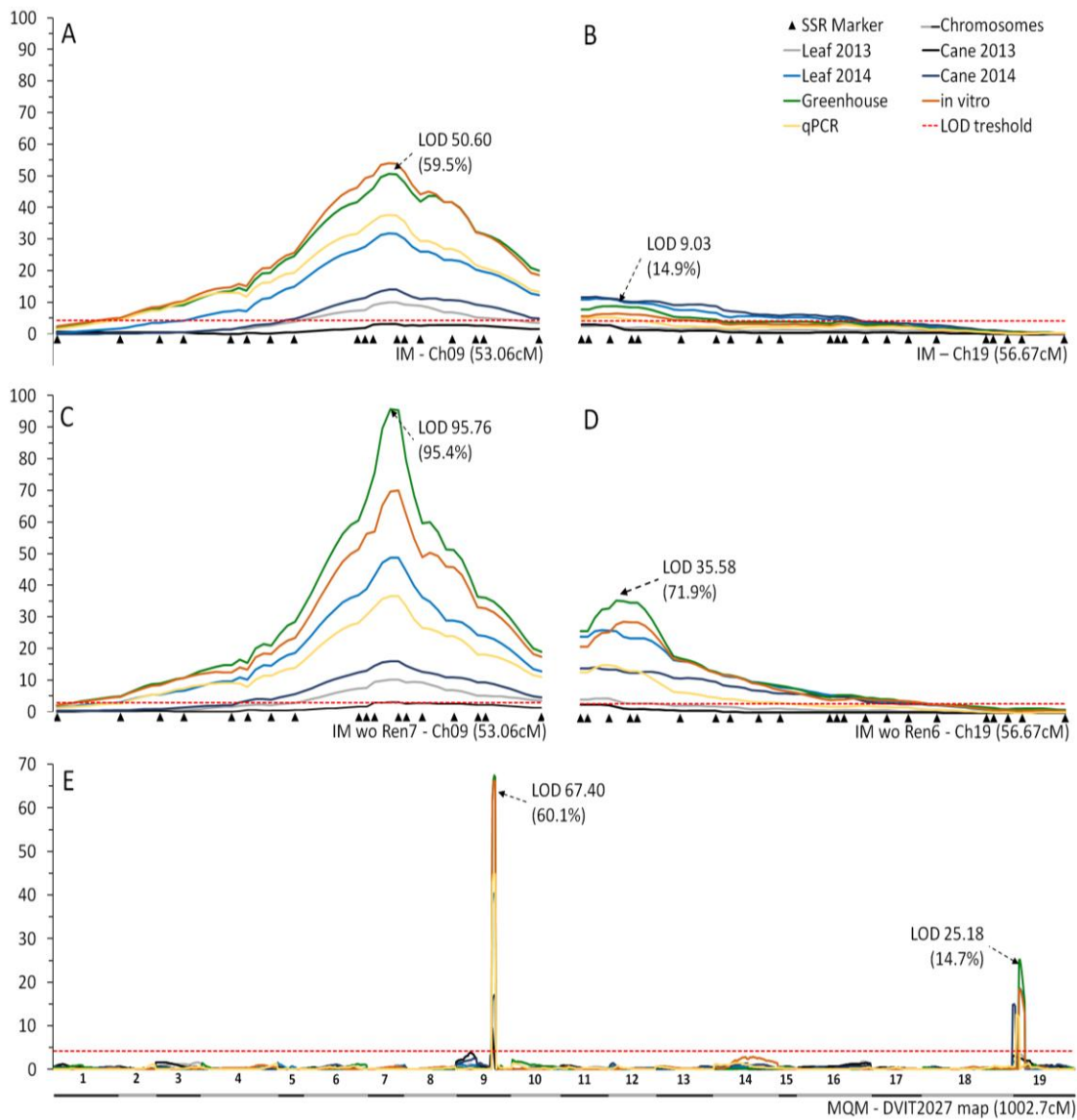
A QTL analízis intervallum térképező (IM) és többszörös-QTL térképező módszert alkalmaztuk mind a szülői és a konszenzus térképeken. Szignifikáns QTL-eket csak a DVIT2027 szülői térképen találtunk, ezért az ezen találtakat közöljük, hiszen a rezisztencia a *V. piasezkii* DVIT2027-ből származik.

Az intervallum térképezés két rezisztencialókuszt azonosított, a kilences kromoszómán (*Ren6*) és a tizenkilences kromoszómán (*Ren7*). A PN9-057 és a PN9-068 SSR markerek határolják a legmagasabb LOD értéket a kilences kromoszómán. A *Ren6* lókuszt pozíciója nem változott a különböző fenotipikus adatsorok alkalmazása során, de a statisztikusan megmagyarázható fenotipikus variancia különbözött a fenotipizálási módszerek között. A maximum 67,9% volt, 54,3 LOD értékkel az *in vitro* levéletesztekkel történt vizsgálat során. A fent említett két markert használtuk minden következő F1 és pBC1 populációkban rekombinánsok keresésére. Az IM analízis során a VVIp17.1 és VMC9a2.1 markereket azonosítottuk, mint a *Ren7* lókuszt legszorosabban határolókat a szabadföldi 2013-as és 2014-es levél és vesszőről származó adatokkal. Az üvegház, az *in vitro* és a qPCR vizsgálatokból származó adatokkal a legmagasabb LOD értéket határoló markerek a VMC9a2.1 és a VMC5h11. A *Ren7* lókuszt maximum 19% fenotipikus varianciát magyarázott meg, 11,92 LOD értékkel a 2014-es vessző adatok analízise során. Mind a három említett markert (VVIp17.1, VMC9a2.1 és VMC5h11) használtuk a rekombinánsok azonosítására a további F1 és a pBC1-es populációkban.

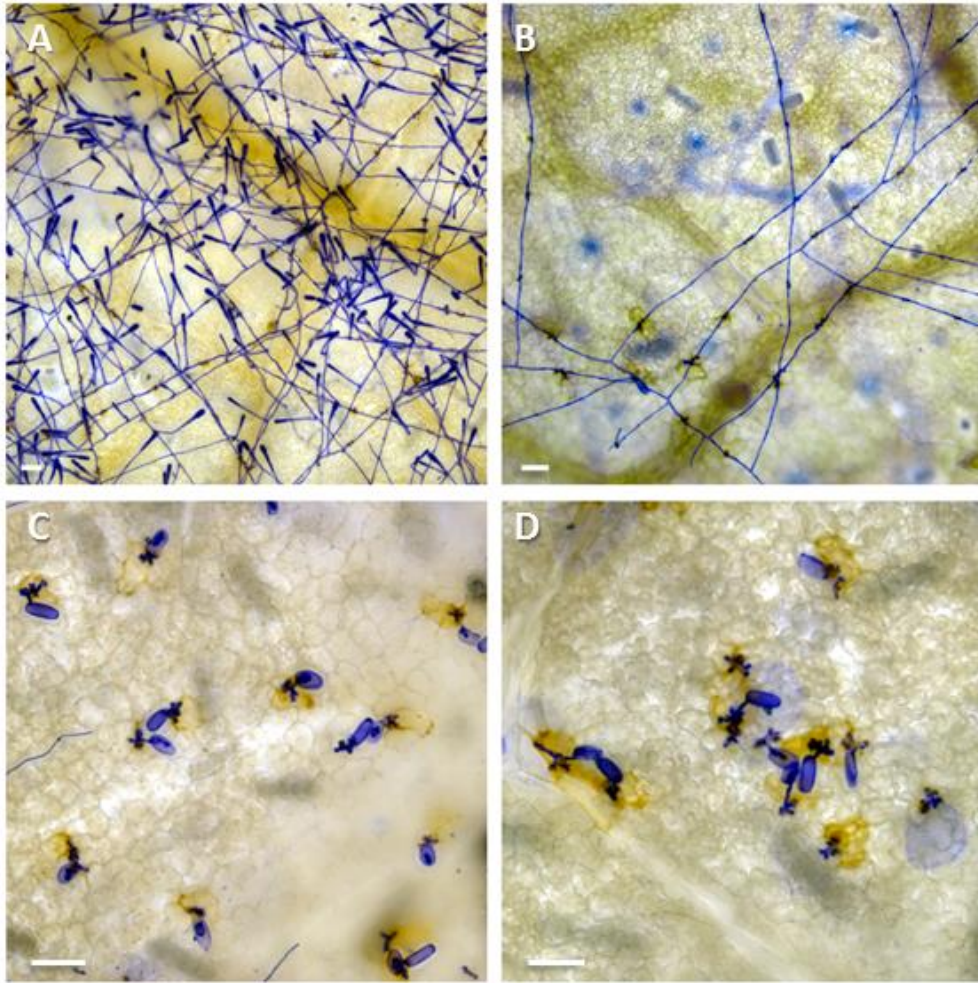
A többszörös QTL-analízis (MQM) megerősítette az intervallumtérképezés során megismert lókusztokat (1E. ábra). Az automatikus kofaktor szelekció azonosította a PN9-068 SSR markert, mint kofaktort a *Ren6* lókusztalhoz. Ez elmondható minden fenotipikus adatsorra, kivéve a gyengébb 2013-as szabadföldi értékeléseket. A PN9-068 kofaktortal történő analízis során a *Ren6* lókusztal által megmagyarázott fenotípusvariancia változó volt a különböző fenotipikus adatokkal. A legmagasabb fenotipikus variancia 62% volt az *in vitro* adatokkal, ami mögött 66,28 LOD érték állt. A *Ren7* lókusztal esetében a VVIu09 marker volt a választott kofaktor a üvegház és az *in vitro* adatsorokkal és VMC5h11 a qPCR analízissel. Ez a két marker kapcsolt, és 0,9 cM távolságra van egymástól a térképen. A legmagasabb megmagyarázott variancia így 18,1% volt a 2014 vessző adatsorokkal, ami mögött 14,55 LOD érték áll.

Azért, hogy jobban megismerjük a két lókuszt sajátosságait, az F1 egyes magoncpopulációt két részre osztottuk a *Ren6* és a *Ren7* haplotípusok jelenléte alapján. Minden genotípust, ami hordozta a *Ren6*-tal kapcsolt allélt (PN9-068, 174bp), kizártunk az analízisből, és IM analízist alkalmaztunk a megmaradt részadat-halmzon, ami elméletileg csak a *Ren7* lókusztal szegregál. Az analízis *Ren6* hiányában megemelte a *Ren7* jelentőséget, és a lókusztal 71,9% fenotipikus varianciát magyaráz meg

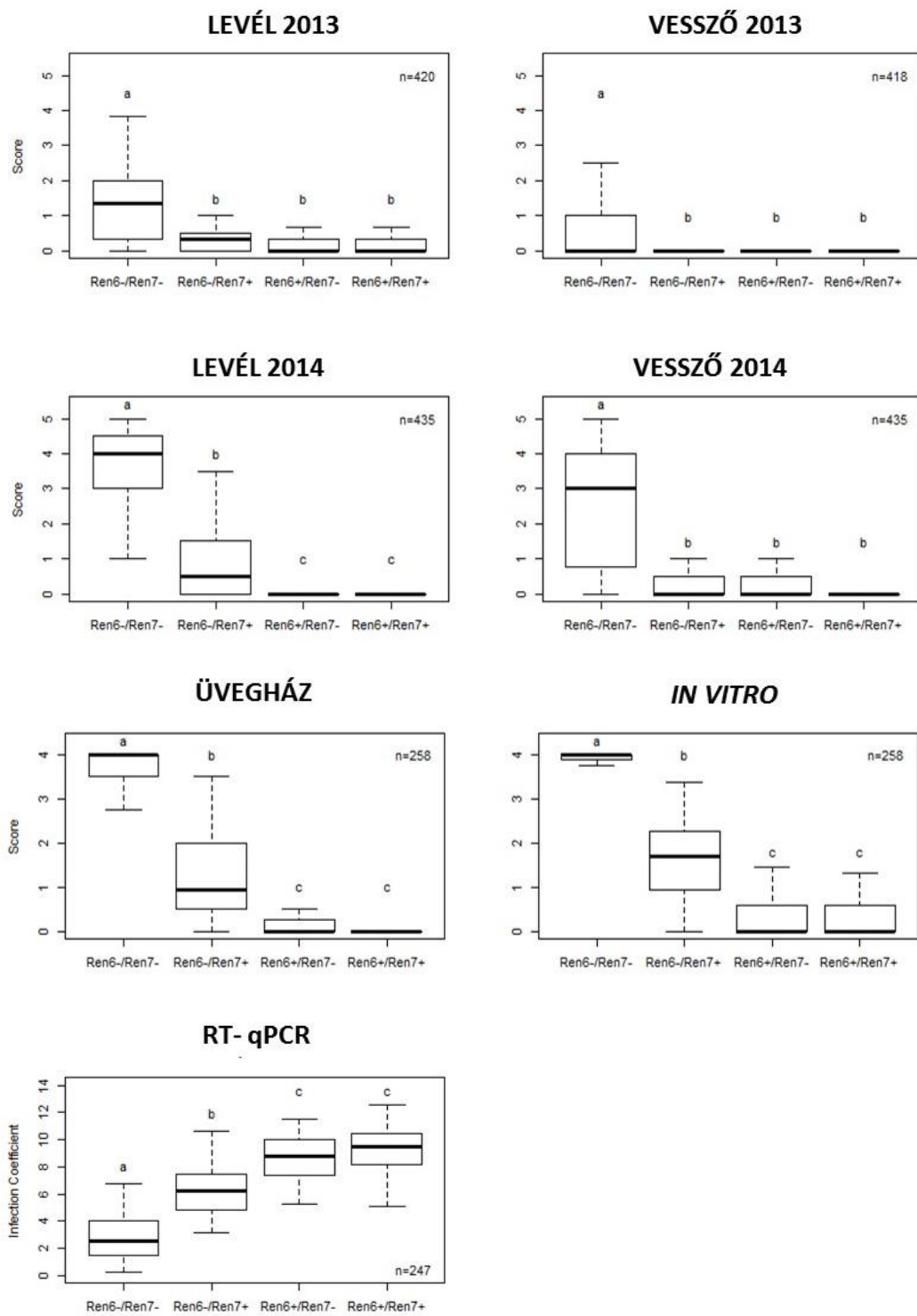
35,58 LOD értékkel az üvegházból származó adatsorokkal. Ezt az IM analízist fordítottan is elvégeztük, az összes genotípust, mely tartalmazta a *Ren7* kapcsolt markert (VMC9a2.1, 163bp) kizártuk az adatsorokból. Így a *Ren6* lókuszt 95,4% fenotipikus varianciát magyarázott meg 95,76 LOD értékkel (1C-D ábra). Azért, hogy megerősítsük, hogy semmilyen más genetikai komponens nem játszik szerepet a rezisztencia kialakításában, megvizsgáltuk az adatokat mindkét lókuszt kizárásával. Intervallum térképezés ezen részadatokon nem adott semmilyen szignifikáns QTL-t.



1. ábra A *Ren6* és a *Ren7* lókuszt azonosítását intervallum és többszörös QTL térképezéssel. (A, B) Intervallumtérképezés eredménye a teljes populáción talált szignifikáns QTL-ekkel: a kilences és tizenkilences kromoszómákon. (C, D) Intervallum térképezés rész adatsorokon, amik a *Ren6* és *Ren7* lokális haplotípusa alapján voltak kiválasztva. (E) A többszörös QTL térképezés eredménye (MQM) mind a tizenkilenc kromoszómán (DVIT2027). Levél 2013, Levél 2014 és Vessző 2013, Vessző 2014 fenotipikus adatok szabadföldön felvételezett lisztharmat tünetek, míg az üvegház és az *in vitro* vizsgálatok kontrollált körülmények között történtek. Minden ábrán, a nyíl a legmagasabb LOD értéket és a hozzá tartozó megmagyarázott fenotipikus varianciát mutatja százalékban az üvegházból származó adatokkal. A piros szaggatott vonal a LOD küszöbértéket mutatja.



2. ábra Összehasonlító ábra a lisztharmat fejlődéséről *in vitro* levelekről különböző rezisztencialókuszokkal. A levelek légülepítő toronnyal voltak fertőzve, és öt nappal a fertőzés után megfestve Coomassie Brilliant kék festékkel, így láthatóvá váltak a gomba képletei a levél felületén (A) $Ren6^-/Ren7^-$, (B) $Ren6^-/Ren7^+$, (C) $Ren6^+/Ren7^-$, és (D) $Ren6^+/Ren7^+$. A barnás-sárga sejtek az appreszória alatt a rezisztencialókusz által indukált hiperszenzítív reakció részei. A fehér méret referenciavonal a bal sarokban 50 μ m-et jelent.



3. ábra Lisztharmat-fogékonyság a négy genotípus osztályba sorolt F1 populáción. Tukey-teszttel észlelt szignifikáns eltéréseket illusztrálnak a különböző betűk (a, b, c.). Az 'n' az ebben az analízisben felhasznált genotípusok számát jelenti. A leveleken fejlődött lisztharmat relatív tömegét qPCR-rel állapítottuk meg. Az ábrázolt fertőzési koefficiens a $2^{-\Delta CT}$ természetes logaritmus. A magasabb értékek kevesebb lisztharmattömeget jelentenek a levél felületén.

4.3 A *Ren6* és a *Ren7* lókuszok sajátosságai

Egyértelműen látható a 2. ábrán a hiperszenzítív reakció (HR) eredménye azokon a genotípusokon, melyek tartalmazzák a *Ren7* (2B. ábra) vagy a *Ren6* (2C. ábra) lókuszt. A *Ren7* esetében HR látható a másodlagos hifából fejlődő appresszóriáknál is, míg a *Ren6* esetében a kicsírázott konídiából származó appresszórímok körüli HR látható egyedül. A HR reakció legvalószínűbb magyarázata a programozott sejthalál (programmed cell death – PCD) miután a növény felismerte specifikus lisztharmat effektorokat (Qui et al., 2015). Evvel szemben a PCD sebessége és hatékonysága különbözőnek tűnik a két lókusz esetében.

4.4 További rekombinánsok azonosítása

További genotípusok genetikai vizsgálata során, az F1 11-373 és a négy leszármazott pBC1 populációkból, a *Ren6* és a *Ren7* lókuszokat határoló markerekkel azonosítottuk a rekombinánsokat.

A 2,2 cM genetikai távolságban *Ren6* lókuszban (PN9-057 és PN9-068 között) tizenhárom rekombináns magoncot azonosítottunk 1,169 magonc vizsgálata során. A *Ren7* lókusz esetében a 2,3 cM genetikai távolság szűkítése érdekében 917 magoncot teszteltünk a lókuszt határoló markerekkel. Kilenc rekombinánst találtunk az F1 populációban (n=536), ebből öt nem tartalmazza a *Ren6*-os lókuszt. További két pBC1 populációt vizsgáltunk (n=386) távolabbi határoló markerekkel, a VMC9a2.1 homozigotitása miatt a rezisztens szülőben. Ezekben a pBC1 populációkban tizenhárom rekombinánst azonosítottunk, és tizenkettő nem tartalmazta a *Ren6* lókuszt.

A genetikai térképre helyezve rekombinánsoknál alkalmazott markereket, a *Ren6* lókusz a PN9-066.1 és a PN9-067 markerek közé esik. A fizikai távolság a két marker között 22 kb az PN20024 genomszekvencia alapján. A *Ren7* lókusz esetében a térképhez két új mikroszatellit markert adhattunk (PN19 sorozat). A *Ren7* lókusz a PN19-022 és a VMC5h11 markerek között helyezkedik el és az ennek megfelelő fizikai távolság a PN20024 genomszekvencián 330 kb.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

5.1. A *Vitis piasezkii*-ban kettő egyedi lókuszt határozza meg a rezisztenciát lisztharmat ellen

A dolgozatban összegzett munkában (i) lisztharmatrezisztenciát találtunk tíz különböző kínai *V. piasezkii* szőlőben, (ii) létrehoztunk F1 és pBC1 nemesítési populációkat az egyik rezisztens *V. piasezkii*-vel, (iii) azonosítottunk két rezisztencialókuszt, névleg a *Ren6*-t és *Ren7*-t, melyek két különböző, a kilences és a tizenkilences kromoszómákon található. Lisztharmatrezisztenciát nem azonosítottak még ezeken a kromoszómákon a korábban publikált tanulmányok szerint (Dalbó et al, 2001, Hoffmann et al, 2008, Welter et al, 2007, Coleman et al, 2009, Riaz et al, 2011, Ramming et al, 2012, Blanc et al, 2012, Feechan et al, 2015). A *Ren6* és *Ren7* lókusztok jelentőségét kiemeli, hogy a térképezés során több különböző módszerrel és környezetben azonosítottuk. A szabadföldi értékelésként leveleken és vesszőn látható tünetek leírását két egymást követő évben végeztük, majd ezen adatok értékeit megerősítettük üvegházban, *in vitro* tesztekben és molekuláris kísérletekkel. Általánosságban elmondható, hogy a szabadföldi értékelés változhat évről évre, az időjárástól függően, nem beszélve a lisztharmatpopuláció biológiájáról, és annak dinamikájáról a szőlőültetvényben (Montarry et al., 2008). A korábbi tanulmányokkal egyetértésben észleltük, hogy a növény fejlődése is szerepet játszik a fertőzés mértékében (Barba et al., 2015). A két év fertőzési mértéke között jelentős különbséget a térképezés során kapott eredmények is mutatják (1. ábra). Mindazonáltal a két új lókuszt ugyanabban a genomi pozícióban azonosíthattuk függetlenül attól, hogy melyik év, vagy módszer fenotipikus adatait használtuk.

5.2. A lisztharmat rezisztencia jelenléte Közép Ázsiában és Kínában

A *V. piasezkii* a második kínai szőlőfaj, amiben erős szőlő lisztharmatrezisztencia fedezhető fel és amiben rezisztencialókuszt azonosíthattunk. Lisztharmatrezisztencia korábban már térképezésre került a *V. romanetii*-ből (*Ren4*, Riaz et al., 2011, Ramming et al., 2012). Sok közép-ázsiai termesztett és vad szőlőben (*V. vinifera* spp. *sylvestris*), a termesztett szőlő (*V. vinifera* spp. *sativa*) őséiben is azonosítottak részleges rezisztenciát (Hoffmann et al., 2008, Coleman et al., 2009, Riaz et al., 2013a, Amrine et al., 2015). Az erős lisztharmatrezisztencia jelenléte látszólag ellentmond az elfogadott elméletnek, miszerint az *E. necator* a vad észak-amerikai szőlőfajokkal együtt evolválódott, majd a tizenkilencedik század közepén került Európába és onnan terjedt el a világ többi részére (Brewer and Milgroom, 2010). Ez az elmúlt több mint másfél évszázad, evolúciós szempontból kevés időnek tűnhet, hogy az ázsiai szőlőben új és elterjedt rezisztencia alakuljon ki (Riaz et al., 2013b).

Két lisztharmatrezisztencia-lókuszt jelenléte egy sor további kérdést vethet fel. Lehet, hogy ezek a lókusztok egymástól függetlenül fejlődtek, vagy egyik a másiktól származik? A lehetséges válasz ezekre a kérdésekre a genetikai régiók összehasonlító szekvencia analízisével adható csak meg. Nem találtunk jelentős rezisztenciagéneket a *Ren6* 22 kb méretű és a kiterjesztett 60 kb régiójában, valamint a *Ren7* 330 kb méretű lókusztban a *V. vinifera* PN40024 (12X.1) referenciagenomban.

A további *V. piasezkii* növények, amik a Shennongjia Erdészeti Kerületből származnak, tartalmazzák vagy az egyik vagy mindkettő lókuszt, azt mutatva, hogy a lisztharmatrezisztencia elterjedt lehet. Nagyon érdekes lenne további vadszőlőket, főleg *V. piasezkii*-t gyűjteni annak természetes élőhelyén, Északkelet- és Nyugat-Kínában, hogy összehasonlító elemzésben felderítsük, hogy azok azonos vagy különböző lisztharmatrezisztenciát hordoznak. Egy ilyen munka, a legnagyobb genetikai diverzitást átölelve, segíthetné feltérképezni a lisztharmatrezisztencia evolúcióját a területen. Az is valószínű, hogy a két lókuszt egymástól függetlenül öröklődött és később került természetes hibridizáció útján egy vonalba.

5.2. Fenntartható rezisztencia nemesítése

A szőlő lisztharmat egy gyorsan evolválódó patogén, a többféle szaporodási stratégiának és az erős szelekciós nyomásnak – pl. a kiterjedt szintetikus fungicidek alkalmazásának – köszönhetően minden szőlőtermesztő régióban a világon (Jones et al., 2014). Rezisztencialókusztokat lisztharmat ellen azonosítottak már több észak-amerikai, közép-ázsiai és kínai fajban (Hoffmann et al., 2008, Riaz et al., 2013a, Riaz et al., 2011, Ramming et al., 2012, Feechan et al., 2015). Általános, hogy egy gén erős és megbízható rezisztenciát kölcsönöz egyes patogénrasszok ellen változékony környezeti feltételek mellett. Az ilyen monogénes rezisztencia is tud erős szelekciós nyomást gyakorolni a patogénre, ami olyan vonalak evolválódását teszi lehetővé, amelyek áttörik ezt a rezisztenciavonalat (Peressotti et al., 2010, McDonald and Linde, 2002). Fenntarthatóan erős lisztharmatrezisztencia kialakítása világszerte cél a szőlő nemesítési központokban. Elterjedt módszer a nemesítők között, hogy olyan stratégiát alkalmazzanak, ami segíti csökkenteni a szelekciós nyomást, úgy, hogy több különböző R gént keresztezzenek, különböző háttérű genetikai háttérrel és így csökkentik a virulens vonalak evolúcióját elérve egy fenntarthatóbb rezisztenciát a monokultúras ültetvényekben. Az itt közölt két lisztharmat lókuszt azonosítása, ami egymástól függetlenül öröklődik, nagy segítség ebben a munkában. Eddig, lisztharmat rezisztencialókusztokat azonosított és térképeztek a 12, 13, 14, 15 és 18 kromoszómákon különböző Észak Amerikából, Közép Ázsiából és Kínából származó vad szőlőkből (Dalbó et al., 2001, Welter et al., 2007, Hoffmann et al., 2008, Coleman et al., 2009, Riaz et al., 2011, Ramming et al., 2011, Blanc et al., 2012, Riaz et al., 2013a, Feechan et al., 2015, Feechan et al., 2013). A gén(ek) jelenléte egy új kromoszómán nagy segítség abban hogy ezeket a már ismert

lókuszokat kombinálják, és markerekre alapozott szelekcióval hatékonyan szelektálják (Eibach et al., 2007). Jelenleg a nemesítők figyelme arra is kiterjed, hogy különböző *Vitis* fajokból keresztezenek össze lókuszokat, azzal a feltételezéssel, hogy ezek különböző liztharmatot felismerő molekuláris mintázattal rendelkeznek (Feechan et al., 2015). Ez biztosíthatja, hogy egy mutáció a kulcs effektor molekulák közül, ne eredményezze minden a növényben összekeresztezett rezisztencia fehérjetermék párhuzamos felismerését és ezáltal a rezisztencia kikerülését. Jelenleg nagyon kevés információ áll rendelkezésre az ismert *R* lókuszok rassz-specifitásáról. Nemrég egy tanulmányban Feechan és munkatársai (2015) bemutatták, hogy a *Run1* és a *Run2.1* lókuszok, melyek különböző *M. rotundifolia* nemesítési vonalból származnak, egyértelműen különböző választ adnak a *Run1*-es lókusz védelmét áttörő Musc4 liztharmatvonallal szemben, vagyis bemutatták a két lókusz együttes alkalmazásának szükségességét. Hasonlóan, előzetes adatok azt mutatják, hogy a *Ren6* és *Ren7* lókuszok nincsenek veszélyeztetve a Musc4 vonallal szemben. Így feltételezhető, hogy a *Ren6* és *Ren7* lókuszok, amik rezisztenciát biztosítanak észak-amerikai és ausztráliai liztharmatvonallal szemben, valószínűek Kínában fejlődtek az ott található liztharmatvonalak ellen (Wan et al., 2007, Wang et al., 2008b). Ezáltal ezek a lókuszok nagyon értékes források a liztharmatrezisztencia-nemesítésben. A *Vitis piasezkii* neutrális gyümölcs íze és könnyen keresztezhetősége a *V. vinifera* fajokkal, egy nagyon kényelmes és gyors megoldást jelenthet magas minőségű és liztharmatrezisztens vonalak kialakításra. A szorosan kapcsolt marker segítségével lehetőség van ezeket a vonalakat bevonni előrehaladt nemesítési vonalakba, amelyek már rendelkeznek más *R* lókusz genetikai háttérrel, és így létrehozhatóak olyan szőlőfajta-vonalak, amelyek fenntartható rezisztenciával rendelkeznek ez ellen a fontos patogén ellen.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A szőlő lisztharmatbetegséget az obligát biotróf patogén, aszkosporás gombák közé tartozó *Erysiphe necator* okozza. Minden termesztett szőlőfajta erősen fogékony erre a betegségre. A gomba megfertőzhet minden zöld élő szövetet, és nagy mértékben csökkentheti a produkciót, ha nincs kontrollálva. Egy szezonban akár tizenöt permetezés is szükséges lehet, hogy a lisztharmat fertőzést visszafogják. A permetezett vegyszerek káros hatással vannak a környezetre és ártalmasak az emberi szervezetre. Hatékony módja lehet a lisztharmat elleni védekezésnek, ha a nemesítés során vad fajokból vezetünk be rezisztenciaallélokat az új fajtákba.

Az elmúlt években az ázsiai vadszőlők több szempontból fontos eszközzé váltak a nemesítők kezében. Ezek a fajok könnyen keresztezhetők más *Vitis* fajokkal és a keresztezésből származó magoncok általában jobb minőségű gyümölcsöt adnak, mint a vad észak-amerikai fajokkal történő keresztezésből származóak.

Dolgozatomban bemutatjuk a kínai *Vitis piasezkii* SSR-alapú molekuláris térképét. A genetikai térkép 277 magonc genotipizálásával készült, melyek egy F1 populáció részei: a fogékony *Vitis vinifera* F2-35 és a rezisztens *V. piasezkii* DVIT2027 keresztezéséből.

A magoncokat értékeltük lisztharmat ellen szabadföldön, üvegházban és *in vitro* tesztekben, hogy számszerűvé tegyük a rezisztencia mértékét. Bemutatjuk a genetikai térképen azokat a genomi régiókat, amelyek felelősek a rezisztenciáért a lisztharmatfertőzéssel szemben. QTL-analízis során azonosítottunk két jelentős lisztharmatrezisztencia lókuszt, a kilences kromoszómán (*Ren6*) és a tizenkilences kromoszómán (*Ren7*), amelyek 74,8% kumulatív fenotipikus varianciát magyaráznak meg. A két lókuszt külön QTL-analízise a másik jelenléte nélkül rendre 95,4% és 71,9% fenotipikus varianciát magyaráz meg. További F1 populációból származó 259 magoncot és 910 magoncot még négy utódpopulációból megvizsgáltunk, és SSR-markerekkel a *Ren6* és a *Ren7* lókuszt fizikai távolságát 22 kb-ra és 330 kb-ra szűkítettük a *V. vinifera* PN40024 (12X.1) genomszekvenciához hasonlítva

Elsőként számolunk be arról, hogy lisztharmat-rezisztenciát térképeztünk a *V. piasezkii*-ben, egy kínai vadszőlő fajban. A két különböző lisztharmat rezisztenciát lókuszt azonosítottuk több más *V. piasezkii* egyedben is. A lókusztok olyan kromoszómákon helyezkednek el, amiken eddig még nem találtak lisztharmat-rezisztenciát. Ezek olyan potenciális értékkel rendelkeznek, amely megkönnyíti a lisztharmat elleni nemesítési munkát, hogy hosszan fenntartható, erős rezisztenciával rendelkező fajtákat lehessen nemesíteni a gyorsan evolválódó gomba patogén ellen.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Jól korrelál, így alátámasztja egymást a 11-373 térképező populáció lisztharmat-fogékonyságának értékelése fenotipizálási rendszerekben: különböző környezetben, fertőzési módszerrel és növényi fejlődési fázisban
2. Először alkalmaztuk sikeresen a qPCR-technikát mint fenotipizálási eszközt szőlő lisztharmat-rezisztencianemesítés során
3. Megszerkesztettük a *V. piasezkii* DVIT2027 első genetikai térképét, 19 kromoszómán a 208 mikroszatellit marker megfelel a már korábban ismert szőlő referenciatérképeknek
4. Két új rezisztencialókuszt térképeztünk egy *V. piasezkii* növényben. A két genetikai régió a 9 és a 19-es kromoszómákon található. Ezek eddig még nem ismert rezisztenciarégiók a szőlőnemesítésben. Differenciál QTL vizsgálatok során a két lókuszt analitikusan megerősítettük, mindkettő önmagában megfelelő rezisztenciát biztosít
5. A lókuszek aspecifikusságát több lisztharmatvonallal szemben bizonyítottuk
6. A rezisztenciáért felelős genetikai régiókat telítettük markerekkel, az azonosított rekombináns magoncokkal finomítottuk a térképezést. Új SSR-markereket terveztünk a genetikai régió szűkítésére
7. Megerősítettük a virágzási fenotípus és a *Sex* lókuszt ko-szegregációját egy ázsiai szőlőben, a *V. piasezkii* fajban
8. Azonosítottunk más *V. piasezkii* egyedeket, amik valószínűleg hordozzák a *Ren6* és/vagy a *Ren7* lókuszt

8. IRODALOM

- Amrine, K. C., Blanco-Ulate, B., Riaz, S., Pap, D., Jones, L., Figueroa-Balderas, R., Walker, M. A. & Cantu, D. (2015). Comparative transcriptomics of Central Asian *Vitis vinifera* accessions reveals distinct defense strategies against powdery mildew. *Horticulture Res*, **2**, 15037.
- Barba, P., Cadle-Davidson, L., Galarneau, E. & Reisch, B. (2015). *Vitis rupestris* B38 confers isolate-specific quantitative resistance to penetration by *Erysiphe necator*. *Phytopathology*, **105**, 1097-103.
- Brewer, M. & Milgroom, M. (2010). Phylogeography and population structure of the grape powdery mildew fungus, *Erysiphe necator*, from diverse *Vitis* species. *BMC Evol Bio*, **10**, 268.
- Coleman, C., Copetti, D., Cipriani, G., Hoffmann, S., Kozma, P., Kovács, L., Morgante M, Testolin R, & Di Gaspero, G. (2009). The powdery mildew resistance gene REN1 co-segregates with an NBS-LRR gene cluster in two Central Asian grapevines. *BMC Genetics*, **10**(1), 89.
- Dalbó, M., Ye, G., Weeden, N., Wilcox, W. & Reisch, B. (2001). Marker-assisted selection for powdery mildew resistance in grapes. *J Am Soc Hortic Sci*, **126**, 83-89.
- Eibach, R., Zyprian, E., Welter, L., & Topfer, R. (2007). The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. *Vitis*, **46**, 120–124.
- Feechan, A., Anderson, C., Torregrosa, L., Jermakow, A., Mestre, P., Wiedemann-Merdinoglu, S., Merdinoglu, D., Walker, A. R., Cadle-Davidson, L., Reisch, B., Aubourg, S., Bentahar, N., Shrestha, B., Bouquet, A., Adam-Blondon, A. F., Thomas, M. R. & Dry, I. B. (2013). Genetic dissection of a TIR-NB-LRR locus from the wild North American grapevine species *Muscadinia rotundifolia* identifies paralogous genes conferring resistance to major fungal and oomycete pathogens in cultivated grapevine. *Plant J*, **76**, 661-74.
- Feechan, A., Kocsis, M., Riaz, S., Zhang, W., Gadoury, D., Walker, A. M., Dry, I. B., Reisch, B. I. & Cadle-Davidson, L. (2015). Strategies for RUN1 deployment using RUN2 and REN2 to manage grapevine powdery mildew informed by studies of race-specificity. *Phytopathology*, **105**, 1104-1113.
- Hoffmann, S., Di Gaspero, G., Kovács, L., Howard, S., Kiss, E., Galbács, Z., Testolin, R. & Kozma, P. (2008). Resistance to *Erysiphe necator* in the grapevine ‘Kishmish vatkana’ is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth. *Theor Appl Genet*, **116**, 427-438.
- Jaillon, O., Aury, J. M., Noel, B., Policriti, A., Clepet, C., Casagrande, A., Choisne, N., Aubourg, S., Vitulo, N., Jubin, C., Vezzi, A., Legeai, F., Huguene, P., Dasilva, C., Horner, D., Mica, E., Jublot, D., Poulain, J., Bruyere, C., Billault, A., Segurens, B., Gouyvenoux, M., Ugarte, E., Cattonaro, F., Anthouard, V., Vico, V., Del Fabbro, C., Alaux, M., Di Gaspero, G., Dumas, V., Felice, N., Paillard, S., Juman, I., Moroldo, M., Scalabrin, S., Canaguier, A., Le Clainche, I., Malacrida, G., Durand, E., Pesole, G., Laucou, V., Chatelet, P., Merdinoglu, D., Delledonne, M., Pezzotti, M., Lecharny, A., Scarpelli, C., Artiguenave, F., Pe, M.E., Valle, G., Morgante, M., Caboche, M., Adam-Blondon, A-F., Weissenbach, J., Quetier, F., & Wincker, P. (2007). The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature*, **449**, 463–467.
- Jones, L., Riaz, S., Morales-Cruz, A., Amrine, K. C., Mcguire, B., Gubler, W. D., Walker, M. A. & Cantu, D. (2014). Adaptive genomic structural variation in the grape powdery mildew pathogen, *Erysiphe necator*. *BMC Genomics*, **15**, 1081.
- Mcdonald, B. A. & Linde, C. (2002). Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu Rev Phytophatol*, **40**, 349-379.
- Peressotti, E., Wiedemann-Merdinoglu, S., Delmotte, F., Bellin, D., Di Gaspero, G., Testolin, R., Merdinoglu, D. & Mestre, P. (2010). Breakdown of resistance to grapevine downy mildew upon limited deployment of a resistant variety. *BMC Plant Biol*, **10**(1), 147.
- Qiu, W., Feechan, A. & Dry, I. (2015). Current understanding of grapevine defense mechanisms against the biotrophic fungus (*Erysiphe necator*), the causal agent of powdery mildew disease. *Horticulture Res*, **2**, 15020.

- Ramming, D. W., Gabler, F., Smilanick, J. L., Margosan, D. A., Cadle-Davidson, M., Barba, P., Mahanil, S., Frenkel, O., Milgroom, M. G. & Cadle-Davidson, L. (2012). Identification of race-specific resistance in North American *Vitis* spp. limiting *Erysiphe necator* hyphal growth. *Phytopathology*, **102**, 83-93.
- Ramming, D. W., Gabler, F., Smilanick, J., Cadle-Davidson, M., Barba, P., Mahanil, S. & Cadle-Davidson, L. (2011). A single dominant locus, Ren4, confers rapid non-race-specific resistance to grapevine powdery mildew. *Phytopathology*, **101**, 502-508.
- Reisch, B. I., Owens, L. C., & Cousins, S. P. (2012). Grape (Chapter 7 in; Badenes ML, Byrne DH (eds.), Fruit Breeding, Handbook of Plant Breeding 8, Springer Science Business Media, LLC 2012).
- Riaz, S., Boursiquot, J.-M., Dangl, G. S., Lacombe, T., Laucou, V., Tenschler, A. C. & Walker, M. A. (2013b). Identification of mildew resistance in wild and cultivated Central Asian grape germplasm. *BMC Plant Biol*, **13**, 149.
- Riaz, S., Lejkina, I., Gubler, W. & Walker, M. (2013a). Report of a new grape powdery mildew morphotype with branched conidiophores. *Plant Pathol Quar*, **3**, 19-27.
- Riaz, S., Tenschler, A. C., Ramming, D. W. & Walker, M. A. (2011). Using a limited mapping strategy to identify major QTLs for resistance to grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*) and their use in marker-assisted breeding. *Theor Appl Genet*, **122**, 1059-73.
- Riaz, S., Tenschler, A. C., Ramming, D. W. & Walker, M. A. (2011). Using a limited mapping strategy to identify major QTLs for resistance to grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*) and their use in marker-assisted breeding. *Theor Appl Genet*, **122**, 1059-73.
- Van Ooijen, J. (2009). MapQTL 6.0: Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations of diploid species. Wageningen, Netherlands: Kyazma B. V.
- Van Ooijen, J. (2011). Multipoint maximum likelihood mapping in a full-sib family of an outbreeding species. *Genetics Res*, **93**, 343-349.
- Wan, Y., Schwaninger, H., He, P. & Wang, Y. (2007). Comparison of resistance to powdery mildew and downy mildew in Chinese wild grapes. *Vitis*, **46**, 132.
- Wan, Y., Wang, Y., Li, D. & He, P. (2008b). Evaluation of agronomic traits in Chinese wild grapes and screening superior accessions for use in a breeding program. *Vitis*, **47**, 153.
- Welter, L. J., Göktürk-Baydar, N., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Töpfer, R., & Zyprian, E. M. (2007). Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Molecular Breeding*, **20**, 359-374.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Impakt faktoros folyóiratcikkek

Pap D., Riaz, S., Dry I.B., Jermakow A., Tenschler A.C., Cantu D., Oláh R., Walker, M.A., 2016 Identification of two novel powdery mildew resistance loci, *Ren6* and *Ren7*, from the wild Chinese grape species *Vitis piasezkii*. *BMC Plant Biology*. **IF 3.813 (2015)**

Amrine, K.C., Blanco-Ulate, B., Riaz, S., **Pap, D.**, Jones, L., Figueroa-Balderas, R., Walker, M.A. Cantu, D., 2015. Comparative transcriptomics of Central Asian *Vitis vinifera* accessions reveals distinct defense strategies against powdery mildew. *Horticulture Research*, 2, p.15037. **(IF due in 2017)**

Lektorált folyóiratban megjelent közlemények

Pap D., Riaz S., Halász J., Tenschler A.C., Walker M.A., 2016 Szőlő lisztharmat (*Erysiphe necator* Schwein.) fenotipizálási rendszerek alkalmazott összehasonlítása rezisztenciaterképezéshez. *Kertgazdaság* (Kertgazdaság 48 (3): 62-69)

Konferencia összefoglalók ("abstract")

Pap D., Riaz S., Tenscher A.C., Walker M.A.: Evaluation of different methods to determine powdery mildew resistance in grape breeding program. 67th American Society for Enology and Viticulture National Conference, Monterey, California USA. June 27-30, 2016

Riaz S., **Pap D.**, Tenscher A.C., Hu R., Walker M.A.: Molecular Strategies to stack powdery mildew from multiple backgrounds in grape breeding program. 67th American Society for Enology and Viticulture National Conference, Monterey, California USA. June 27-30, 2016

Pap D., Riaz S., Tenscher A.C., Hu R., Walker MA.: Genetic mapping of powdery mildew resistance in wild Chinese species, *Vitis piasezkii*. Recent Advances in Viticulture & Enology. UC Davis, Davis, California. May 15 2015 http://wineserver.ucdavis.edu/education/venextention/rave/RAVE_2015_Agenda.pdf

Pap D., Riaz S., Tenscher A.C., Hu R., Walker MA.: Genetic mapping of powdery mildew resistance in wild Chinese species, *Vitis piasezkii*. 65th American Society for Enology and Viticulture National Conference, Austin, Texas. June 23-27, 2014 Book of Conference, page 9. <http://www.asev.org/sites/main/files/file-attachments/2014registrationguide.pdf>

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ NEM, VAGY KÖZVETLENUL NEM KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Impakt faktoros folyóiratcikkek

Bearch S., Kovens M., Hubbert L., Honesty S., Guo Q., **Pap D.**, Dai R., Kovacs L. Qiu, W., Genetic and phenotypic characterization of Grapevine vein clearing virus isolates of wild *Vitis rupestris* Scheele. Phytopathology, DOI: 10.1094/PHYTO-04-16-0173-R

Pap, D., Miller, A.J., Londo, J.P. and Kovács, L.G., 2015. Population structure of *Vitis rupestris*, an important resource for viticulture. American Journal of Enology and Viticulture, pp.ajev-2015. **IF 1.388 (2014)**

Konferencia összefoglalók ("abstract")

Campbell C., Conover J., **Pap D.**, Riaz R., Coleman C., Kovács L.G., Walker M.A.: Phenotyping *Vitis piasezkii* X *Vitis vinifera* hybrid population for resistance to *Plasmopara viticola*. Plant Phenomics: From Pixels to Traits - Plant Science Symposium, Lincoln, Nebraska, Nebraska Innovation Campus Conference Center November 15-16 2015, <http://www.unl.edu/psi/2015-plant-science-symposium>

Conover J., Campbell C., **Pap D.**, Riaz S., Coleman C., Kovács L.G.: Phenotyping a segregant mapping population of *Vitis piasezkii* X *Vitis vinifera* hybrids for quantitative trait loci analysis for resistance to *Plasmopara Viticola*. 4th Annual Grape and Wine Research Symposium, Columbia, Missouri on May 8 2015. http://www.cafnralumni.com/s/1002/gid12_cafnr/index.aspx?sid=1002&pgid=5200&gid=12&cid=9696&ecid=9696&post_id=0

Conover J., Campbell C., **Pap D.**, Riaz S., Coleman C., Kovács L.G.: Phenotyping a segregant mapping population of *Vitis piasezkii* X *Vitis vinifera* hybrids for quantitative trait loci analysis for resistance to *Plasmopara viticola*. Missouri State University, College of Natural and Applied Sciences, Undergraduate Research Symposium, Springfield, Missouri on April 24 2015. Book of Abstracts, page 4. <https://science.missouristate.edu/assets/science/Abstracts2015.pdf>

Conover J., **Pap D.**, Riaz S., Coleman C., Kovács L.G.: Differential host series analysis of *Plasmopara viticola* on select varieties of *Vitis vinifera*. Undergraduate Research Symposium, Springfield, Missouri on April. 2014. Book of Abstracts, page 4. <https://science.missouristate.edu/assets/science/CNASAbstractsURD2014.pdf>

Klein L., **Pap D.**, Kovács L.G., Hyma K., Londo J., Miller A.: Population genetics of native *Vitis riparia* and *V. rupestris* in sympatry and allopatry. 60th annual systematics symposium of the Missouri Botanical Garden, St. Louis, Missouri. October 11-12. 2013 <http://www.missouribotanicalgarden.org/plant-science/plant-science/resources/conferences-and-seminars/annual-systematics-symposium.aspx?questionid=833&afmid=9849>

Klein L., **Pap D.**, Kovács L.G., Hyma K., Londo J., Miller A.: Population genetics of native *Vitis riparia* and *V. rupestris* in sympatry and allopatry. Third Annual Saint Louis Ecology, Evolution, and Conservation retreat, St. Louis, Missouri. September 28 2013. <http://wubio.wustl.edu/events/992>

Klein L., **Pap D.**, Kovács L.G., Hyma K., Londo J., Miller A.: Population genetics of native *Vitis riparia* and *V. rupestris* in sympatry and allopatry. Fifth conference of the Grape Research Coordination Network (GRCN), Davis, California. July 11 2013. <http://www.vitaceae.org/index.php/Meetings>

Pap D., Klein L., Coleman C., Peccoux A., Kovács L. G., Londo J., Miller A.: The genetic structure of rock grape populations on the Ozark plateau. Fifth conference of the Grape Research Coordination Network Davis, California. July 11 2013. <http://www.vitaceae.org/index.php/Meetings>

Whitehead D., **Pap D.**, Kalapos B., Erwin A., Kovács L.G.: An investigation of the role of Sirtuin proteins in plants. Missouri State University Interdisciplinary Forum Springfield, Missouri. April, 2013. Book of Abstracts page 1. <http://science.missouristate.edu/assets/science/CNASAbstractsURD2013.pdf>

Pap D., Coleman C., Erwin A., Glasson J., Li C., Kovács L.G.: Exploring rock grapes in Missouri. Missouri State University Interdisciplinary Forum Springfield, Missouri. April 14. 2012. Book of abstracts, page 5. <http://science.missouristate.edu/assets/science/CNASAbstractsURD2012.pdf>

Kovács G.L., Li C., Erwin A., **Pap D.**, Coleman C., Selection for Run1-Ren1 Dihybrid Grapevines Using Microsatellite Markers. 2nd Grape and Wine Research Symposium. University of Missouri, Columbia, Missouri, December 7, 2012. http://www.cafnr.alumni.com/s/1002/gid12cafnr/index.aspx?sid=1002&pgid=3754&gid=12&cid=6425&ecid=6425&post_id=0