



SZENT ISTVÁN EGYETEM

***AZ IN VITRO ANDROGENEZIS INDUKCIÓJA BÚZÁBAN (*TRITICUM AESTIVUM* L.),
TRITIKÁLÉBAN (*X TRITICOSECALE* WITTMACK), FŰSZERPAPRIKÁBAN (*CAPSICUM*
ANNUUM L.) ÉS AZ EREDMÉNYEK FELHASZNÁLÁSA A NEMESÍTÉSBEN***

Doktori értekezés tézisei

LANTOS CSABA

Gödöllő

2009.

Doktori iskola: Növénytudományi Doktori Iskola

Vezetője: Dr. Heszky László, MTA rendes tagja
igazgató, egyetemi tanár
SZIE, Genetika és Biotechnológia Intézet

Tudományága: Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok

Program: Növénynevelés Genetikai és Biotechnológiai Módszerekkel

Programvezető: Dr. Heszky László, MTA rendes tagja
igazgató, egyetemi tanár
SZIE, Genetika és Biotechnológia Intézet

Témavezető: Dr. Pauk János
tudományos tanácsadó, az MTA doktora

.....
Dr. Heszky László
programvezető

.....
Dr. Pauk János
témavezető

.....
Dr. Heszky László
iskolavezető

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI ÉS A KITŰZÖTT CÉLOK

A doubled haploid (DH) növények előállítása több évtizedes múltra tekint vissza, és a mai napig szorosan kapcsolódik a kutatáshoz és nemesítéshez. A célzott sejt(ek) típusa alapján éretlen pollenből (portoktenyésztés, úsztatott portoktenyésztés és izolált mikrospóra tenyésztés) és petesejtből (ováriumtenyésztés, ovulumtenyésztés, petesejttenyésztés és távoli fajkeresztezés) lehet DH növényeket előállítani.

Az első sikereket követően a távoli fajkeresztezés (kukorica pollennel történő megtermékenyítés) módszerét alkalmazza a búzanemesítés, azonban tritikálé esetében nem épült be e módszer a nemesítésbe. A ginogenezis az alap kutatás részévé vált (ginogenezis sejtszintű vizsgálata, *in vitro* termékenyítés és mikroinjektálás).

Az androgenikus haploid technikákat alkalmazzák a mikrospóra embriogenezis tanulmányozására, térképezési populációk elkészítésére, genetikai transzformációra, *in vitro* szelekcióra vagy mutáns szelekcióra. A búza portoktenyésztés számos hazai és külföldi intézet nemesítési programjába is beépült. A portoktenyésztés eredetű tritikálé DH növény előállítás hatékonysága elmarad a búzához képest, azonban a nemesítési hasznosítására már vannak példák. Paprika esetében főként a nemesítés részéről fellépő igény szorgalmazza a DH növények előállítási módszereinek fejlesztését.

A mikrospóra tenyésztés egy alternatív lehetőséget kínál a DH növények előállítására. Előnyei között lehet megemlíteni, szemben a portoktenyésztéssel: (1) Izolált mikrospóra tenyészetben szomatikus sejtek és szövetek nélkül indukálódnak a mikrospórák. (2) A mikrospóra tenyésztés (mikrospóra embriogenezis) egész folyamata könnyebben tanulmányozható izolált sejtek tenyészetében, mint portoktenyészetben. (3) Az izolált mikrospóra tenyészetben végzett sejtszintű megfigyelések segítik a tenyésztési körülmények további fejlesztését.

Az első igazi izolált mikrospóra tenyészet eredetű **búza** növények előállításáról szóló közleményeket két kutatócsoport publikálta (Mejza és mtsai 1993, Tuvešson és Öhlund 1993). A legtöbb publikált eredmény esetében stresszort alkalmaztak az androgenézis indukációjához (Hu és Kasha 1999). Mejza és mtsai (1993) alkalmazta először a búza ovárium dajkatenyésztést búza izolált mikrospóra tenyészetben. A dajkatenyésztés jelentősen emelte a tenyészetekben az embrioidok számát, és javította a növényregenerációt. Letarte és mtsai. (2006) arabinogalaktánokkal (Larcoll) és arabinogalaktán fehérjékkel (gumiarábikum) részlegesen helyettesíteni tudta az ováriumok hatását. A mikrospóra eredetű struktúrák regeneráló képessége is megfelelő, azonban a gyakorlati felhasználás fő korlátozó tényezője az albínó növények nagy gyakorisága. Az első izolált mikrospóra tenyészet eredetű **tritikálé** növényről laboratóriumunk

számolt be (Pauk és mtsai 2000). Oleszczuk és mtsai (2004) egy hatékony tenyésztési módszert publikáltak a 'Bogo' tritikálé fajtával. Eudes és Amundsen (2005) a Ficoll® (ozmotikus ágens) alkalmazásával tritikálé izolált mikroszpóra tenyészetben megnövelték az embrioid számot és növényregenerációt. Zur és mtsai (2008) eltérő válaszadó képességű genotípusok izolált mikroszpóra tenyészetében az antioxidáns enzimeinek változását és az endogén abszcizinsav koncentrációt tanulmányozták. Tritikálé izolált mikroszpóra tenyészetekben is a növényregeneráció javítása (genotípus függőség és albinizmus csökkentése) szükséges a rutinszerű alkalmazáshoz.

Az első **paprika** portoktenyésztet eredetű növényekről szóló eredményeket három kutatócsoport publikálta (George és Narayanaswamy 1973, Kuo és mtsai 1973, Wang és mtsai 1973). Azóta a portoktenyésztés nemcsak nemesítési programokba épült be, hanem genetikai térképezéshez is felhasználták. A sikeres alkalmazás ellenére még néhány faktor (genotípus függőség, regeneráció hatékonysága és nagy munkaerő igény) korlátozza a nemesítés igényeinek kielégítését.

Supena és mtsai (2006) írták le a szóródásos mikroszpóra tenyésztés módszerét, és megemlítették az izolált mikroszpóra tenyésztés módszerének sikeres alkalmazását a részletes tenyésztési rendszer leírása nélkül. Kim és mtsai (2008) publikáltak elsőként részletes izolált mikroszpóra tenyésztési protokollt, rendszerüket a 'Milyang-jare' genotípussal dolgozták ki. Más genotípusok válaszadó képességét izolált mikroszpóra tenyészetben nem ismertették.

A kutatás iránya világviszonylatban is az izolált sejtenyésztési rendszerek kidolgozása felé fordult. Kísérleteinkben **célul tűztük ki** három faj (búza, tritikálé és fűszerpaprika) mikroszpóra tenyésztésének fejlesztését:

- I. **Termesztési szempontból fontos növényfajok – búza, tritikálé és fűszerpaprika – *in vitro* androgenézis indukciójának fejlesztése, hogy az érintett fajok nemesítése és kutatása számára új módszereket és alapanyagokat hozzunk létre.**
- II. **A búza izolált mikroszpóra tenyésztés továbbfejlesztése az alaptáplódatok és a genotípus hatását elemző kísérletekben.**
- III. **A tritikálé izolált mikroszpóra tenyésztés módszertani kidolgozása a dajkatenyésztés és a genotípus hatás elemzésével, és az előállított DH törzsek nemesítésbe történő integrálása.**
- IV. **A fűszerpaprika mikroszpóra embriogenezis indukciója izolált mikroszpóra tenyészetben. A mikroszpóra fejlettségi állapot, a dajkatenyésztés, az exogén hormonok és a genotípus hatása az androgenézis folyamatára.**

2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

2. 1. A kísérletek növényanyaga

Búza (*Triticum aestivum* L.) izolált mikrspóra tenyésztési kísérleteinkben egy tavaszi genotípus ('CY-45') és kilenc hazai őszi búzafajta ('GK Mini Manó', 'GK Garaboly', 'GK Hargita', 'GK Csongrád', 'GK Délibáb', 'GK Élet', 'GK Kata', 'GK Bán' és 'Mv Palotás') donor hajtásait használtuk fel. Hat hexaploid tavaszi tritikálé (*X Triticosecale* Wittmack) genotípus ('Kargo', 'GK Gabo', 'Rex', 'AT314', 'AT322' és 'EMBR17/S2001') donor növényeit használtuk tritikálé mikrspóra tenyésztési kísérleteinkben. A paprika (*Capsicum annuum* L.) izolált mikrspóra tenyésztés rendszerének kidolgozásához és fejlesztéséhez három magyar ('Szegeci 80', 'Szegeci 178' és 'Remény') és három spanyol ('Jeromin', 'Jariza' és 'Jaranda') fűszerpaprika fajtát alkalmaztunk.

2. 2. A növényi alapanyag előállítása és begyűjtése

Izolált mikrspóra tenyésztési kísérleteinkhez üvegházban neveltük fel a donor növényeket. Kivételt csak az őszi búzafajták képezték, melyeket a Gabonakutató Kft. Kecskés telepi tenyészertjéből gyűjtöttük be. A növényeket természetes megvilágítás mellett neveltük fel. Az üvegházban a paprika növények számára 20-28 °C nappali és 15-19 °C éjszakai hőmérsékletet biztosítottunk, míg kalászosok esetében a nappali hőmérsékletet 20 °C, az éjszakai hőmérsékletet 16 °C alatt tartottuk. A donor növények tápanyag utánpótlására Volldünger® műtrágyát használtunk, melyet kéthetente vízben feloldva (0,2 g/l) adagoltunk.

A búza és tritikálé hajtások begyűjtését a mikrspórák középső és kései egysejtmagvas vakuólumos állapotában végeztük el. A donor hajtásokat két hétig 3-4 °C-on hideg kezeltük. A paprika bimbókat fejlettségük alapján csoportosítottuk, hogy teszteljük a mikrspórák fejlettségi állapotának az androgenézis indukciójára gyakorolt hatását.

2. 4. A donor portokok előkezelése és a mikrspórák izolálása

Az izolált portokokat 3 napig 32 °C-on 0,3 M mannit oldatban, sötétben előtenyésztettük. Búza és tritikálé esetében ez a kezelés 3 napig tartott, míg a paprika portokokat 7 napig tenyésztettük elő.

A mikrspórákat macerálással izoláltuk, a kapott szuszpenziót szénhidrát grádiens centrifugálással tisztítottuk. Az izoláláskor lényeges különbség volt, hogy 21% maltóz (Sigma) oldat helyett 30% maltóz oldatot használtunk a paprika mikrspórák elválasztására. A mikrspóra szuszpenzió sűrűségét 30 000-35 000 mikrspóra/ml-re állítottuk be.

2. 5. Az izolált mikrospórák tenyésztése

Két mikrospóra tenyésztő tápoldat (A2 és CHB) és két módosított portoktenyésztő tápoldat (W14-mi és P4-m) hatását hasonlítottuk össze búza mikrospóra tenyészetben. A búza mikrospórákat ováriumokkal közösen 28 °C-on tenyésztettük (10 ovárium/Petri csésze). A tritikálé mikrospórákat 190-2 tápoldatban tenyésztettük (Pauk és mtsai 2000). A dajkatenyésztés hatását a tavaszi tritikálé genotípusokkal is tanulmányoztuk, hét ováriumot tettünk minden tenyészetbe. A paprika mikrospórákat W14mi tápoldatban tenyésztettük. A dajkatenyésztés és idegen fajú dajkatenyésztés (FSOC módszer) hatásának teszteléséhez 7-7 paprika illetve búza ováriumot ('CY-45') tettünk minden tenyészetbe.

2. 6. Növényregenerálás

A búza és tritikálé mikrospóra eredetű szövetstruktúrákat 190-2Cu regeneráló táptalajra helyeztük. A zöld növénykéket regeneráló táptalajt tartalmazó üvegcsőbe tettük. A jól gyökeresedett növényeket kiültettük üvegházba, ahol akklimatizálódtak. A paprika mikrospóra eredetű embrioidokat R1 táptalajra helyeztük. A regenerált növénykéket hormonmentes MS táptalajt tartalmazó csövekbe helyeztük. A jól gyökeresedett növénykéek ploidia fokát áramlási citometriával határoztuk meg. A diploid és a kolchicin kezelt haploid növényeket üvegházba ültettük ki. A mikrospóra eredetű struktúrák regenerálását fényszobában (16 órás megvilágítás, 50 $\mu\text{mol}\times\text{m}^{-2}\times\text{s}^{-1}$ fényerősség és 24 °C) végeztük el.

2. 7. Citológiai és szövettani vizsgálatok

Az izolált mikrospórák életképességét fluoreszcein-diacetát (FDA) festéssel ellenőriztük az MTA Szegedi Biológiai Központ Növénybiológiai Intézetében Dr. Fehér Attila és Dr. Ötvös Krisztina segítségével. A mikrospóra tenyészet eredetű embrioidok szövettani elemzését az Eötvös Lóránd Tudományegyetem Növény szerkezettani Tanszékén Dr. Kristóf Zoltán és Dr. Vági Pál végezték el.

2.8. Tritikálé DH törzsek variabilitásának vizsgálata

Öt tavaszi tritikálé genotípus nyolc-nyolc DH törzse hat tulajdonságát (növény magasság, kalász hossz, ezerszemtömeg, szemkeménység, fehérje tartalom, és hamutartalom) tanulmányoztuk részletesen.

2. 9. Statisztikai analízis

A kísérleteket legalább 3 ismétlésben végeztük el. A statisztikai elemzések (kétmintás t-próba, egytényezős variancia analízis) a Microsoft® Excel 2002 szoftver segítségével készültek el.

3. EREDMÉNYEK

3. 1. 1. Búza izolált mikrospórák tenyésztése

A búza mikrospóra tenyésztés legkritikusabb lépéseit a 'CY-45' tavaszi búza genotípus tenyésztésével követtük nyomon. A mikrospórák ideális fejlettségi állapota az első fontos lépés az androgenezis indukciójában. A donor hajtások középső és kései egysejtmagvas vakuólumos állapotú mikrospórákat tartalmaztak a kalászok középső részén. Hideg kezelés, az ozmotikus stressz és éheztetés megemelte az életképes izolált mikrospórák mennyiségét. A sikeres izolálást követően, a mikrospóra tenyésztés első napján a mikrospórák kései egysejtmagvas és korai kétsejtmagvas állapotban voltak.

Az első sejtosztódásokat a tenyésztés harmadik, negyedik napján figyeltük meg. Izolált mikrospóra tenyészetben az ovárium dajkatenyésztés kulcsfontosságú volt, amely megvédte a fejlődő struktúrákat a pusztulástól. Egy hónapos együtt tenyésztést követően a mikrospóra eredetű embrioidokat szilárd regeneráló táptalajra helyeztük, ahol két héten belül zöld és albínó növénykéket regenerálódtak. A meggyökeresedett növénykéket üvegházba kiültettük, és az akklimatizáció után érésig neveltük.

3. 1. 2. Az alaptápanyag hatása a búza mikrospórák tenyésztésére

Négy különböző alaptápanyagot (A2, CHB3, W14mi és P4-m) hasonlítottunk össze a 'CY-45' genotípus mikrospóra tenyésztéseiben. Az embrioidok, az albínó és a zöld növények száma alapján szignifikáns különbségeket mutattunk ki a tápanyagok hatása között.

A tenyészetekben fejlődött embrioidok és a zöld növénykéket száma alapján a legjobb eredményeket a W14mi és A2 tápanyagokkal értük el. A két tápanyag között nem volt szignifikáns különbség. A további kísérletek során a W14mi tápanyagot alkalmaztuk, amellyel a legmagasabb embrioid számot és zöld növényke számot értük el.

A meggyökeresedett növénykéket üvegházba kiültettük, ahol jól akklimatizálódtak. Kolchicin kezelést nem alkalmaztunk, a spontán rediploidizáció mértékét magfogással ellenőriztük. A kiültetett 120 növény 78,3%-áról (94 DH törzs) tudtunk érett szemeket betakarítani.

3. 1. 3. Izolált búza mikrospórák tenyésztése hazai búzafajtákkal

A fent ismertetett mikrospóra tenyésztési rendszer hatékonyságát tíz búza genotípussal ellenőriztük. Minden genotípus esetében sikeresen indukáltuk az androgenezist izolált búza mikrospórák ovárium dajkatenyésztésében. A mikrospórák intenzíven fejlődtek és fajtánként eltérő mennyiségű embrioid (31,75 - 413,5 embrioid/Petri csésze) fejlődött a tenyészetekben. A legjobb eredményeket a 'CY-45' (413,5 embrioid/Petri csésze), 'GK Élet' (289,25 embrioid/Petri csésze),

'GK Csongrád' (224 embrioid/Petri csésze) és 'GK Mini Manó' (176,75 embrioid/Petri csésze) genotípusokkal értük el.

Hét genotípusból regeneráltunk zöld növénykéket (0,25 – 17,75 zöld növényke/Petri csésze), míg három fajta ('GK Kata', 'GK Bán', 'Mv Palotás') csak albínó növénykéket adott. A 'CY-45' (17,75 zöld növényke/Petri csésze) és a 'GK Délibáb' (12 zöld növényke/Petri csésze) genotípus esetében volt a legnagyobb a regenerált zöld növénykéek száma tenyészetenként.

A portoktenyészet eredetű 'GK Délibáb' és 'GK Bán' fajta tenyészeteiben az embrioidok száma szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a 'CY-45' genotípus vagy több klasszikus nemesítésű fajta ('GK Élet', 'GK Csongrád' és 'GK Mini Manó') tenyészetében. A 'GK Délibáb' fajta esetében magas volt a zöld növények aránya, míg a 'GK Bán' genotípusból csak albínó növénykéket tudunk regenerálni. Tehát a portoktenyészetből származó genotípusok válaszadó képessége között szignifikáns különbségek voltak, és válaszadó képességük nem emelkedett ki a hagyományos módszerrel nemesített fajták közül.

3. 2. 1. Az ováriumos dajkatenyésztés hatása tritikálé izolált mikrospóra tenyészetben

Az ovárium dajkatenyésztés hatását tanulmányoztuk hat genotípus izolált mikrospóra tenyészetében. A mikrospórák izolálás után kései egysejtmagvas és korai kétsejtmagvas állapotban voltak. Az első sejtosztódásokat minden genotípus esetében a tenyésztés negyedik-ötödik napján figyeltük meg.

Az ovárium dajkatenyésztés javította a mikrospóra eredetű struktúrák minőségét, és növelte az embrioidok számát a tenyészetekben. A tenyészetenkénti legnagyobb embrioid számot az 'AT314' (347 embrioid/Petri csésze) és 'AT322' (344 embrioid/Petri csésze) genotípusok tenyészeteivel értük el. A hat genotípus átlagában az embrioidok száma 224,7 volt Petri csészénként.

A legnagyobb zöld növényregenerálási arányt az 'AT314' genotípus mikrospóra tenyészetével értük el (14 zöld növényke/Petri csésze), míg a 'Rex' fajta embrioidjaiból csak 0,7 zöld növényke regenerálódott Petri csészénként.

A jól gyökeresedett növénykéket üvegházba kiültettük, ahol akklimatizálódtak. A spontán diploidok aránya genotípustól függően (41,46% - 82,14%) változott. Összesen 103 izolált mikrospóra tenyészet eredetű DH törzset neveltünk fel. Az előállított DH törzsek közül a legtöbb szemtermést hozó 8-8 törzset választottuk ki genotípusonként a DH törzsek hat tulajdonságának szántóföldi körülmények között történő ellenőrzéséhez.

3. 2. 2. Tritikálé DH vonalak variabilitásának vizsgálata

Két tavaszi tritikálé fajta ('GK Gabo', 'Kargo') és három populáció ('AT314', 'AT322', 'EMBR17/S2001') nyolc-nyolc DH eredetű törzsének és kontrolljaiknak (szuperelit) hat tulajdonságát (növénymagasság, kalászhossz, ezerszemtömeg, szemkeménység, fehérjetartalom és hamutartalom) hasonlítottuk össze. Szignifikáns különbségeket találtunk a genotípusok között mind a hat tulajdonság alapján, és a DH törzsek között is az egyes genotípusokon belül.

3. 3. 1. A mikrospórák fejlettségi állapotának hatása fűszerpaprika izolált mikrospóra tenyésztésben

Két fűszerpaprika fajta ('Remény' és 'Szegedi 80') üvegházból begyűjtött donor bimbóit négy különböző csoportba osztottuk fejlettségi állapotuk alapján. A bimbók mérete, a portokok mérete és színe alkalmas megkülönböztető jegye a mikrospórák fejlettségi állapotának. A négy alkotott csoport: 1. A donor bimbók sárga portokjaiban tetrádokat figyeltünk meg. 2. Kései egysejtmagvas mikrospórákat tartalmaztak azok a portokok, amelyek optimális állapotúak portoktenyésztésre. Kevesebb, mint 1/4 része volt antociános a portokoknak. 3. A begyűjtött bimbók 2/3-4/5 részben antociános portokjaiban a mikrospórák 80%-a kései egysejtmagvas és 20%-a korai kétsejtmagvas állapotban voltak. 4. Pollen szemeket tartalmaztak a teljesen antociános portokok.

A donor bimbók előkezelése után, a második és harmadik csoport portokjaiból tudtunk élő mikrospórákat izolálni. Izolálás után, az előkezelt portokokban lévő mikrospórák fejlettségi állapotát FDA festéssel ellenőriztük. A második csoport mikrospóráinak 90%-a egysejtmagvas és 10%-a kétsejtmagvas állapotú volt. A harmadik csoport előkezelt portokjaiból 50%-ban egysejtmagvas és 50 %-ban kétsejtmagvas állapotú mikrospórákat izoláltunk.

Az izolált mikrospórákat búza ováriumok jelenlétében W14mi tápoldatban tenyésztettük. A harmadik csoport esetében, az izolált mikrospórák tenyésztésében a sejtosztódások aránya magasabb volt és több embrioid fejlődött, mint a második csoportból izolált tenyészteteiben.

3. 3. 2. Különböző fajú ováriumok hatása fűszerpaprikafajták androgenezisére izolált mikrospóra tenyésztésben

Három alternatív utat választottunk a dajkatenyésztés hatásának tesztelésére: (1) ováriumok nélkül, (2) paprika ováriumokkal és (3) búza ováriumokkal. Kettő fűszerpaprika fajtát ('Remény' és 'Szegedi 80') használtunk a különböző fajú ováriumok hatásának tesztelésére. Az első sejtosztódások már az első hét végén mindhárom kezelésben megfigyelhetőek voltak. Az osztódó mikrospórák soksejtes struktúrákká fejlődtek a tenyésztés második hetében. A soksejtes struktúrák a

mikrospórák falától szabaddá váltak az ováriumok jelenlétében, de a fejlődés megállt az ovárium nélküli tenyészetekben. Paprika ovárium dajkatenyészetben ez a fejlődés a harmadik hétig folytatódott és a mikrospórákból proembrioidok fejlődtek, embrioidok nem. Búza ovárium dajkatenyésztés alkalmazásával a struktúrák fejlődése fenntartható volt, és a tenyésztés ötödik - hatodik hetére szabad szemmel is jól láthatóak voltak a mikrospóra tenyészet eredetű embrioidok. Mind a hat fűszerpaprika fajta mikrospóra tenyészetében megfigyeltük az androgenézis indukcióját. Az izolált mikrospórákból búza ováriumok jelenlétében embrioidok fejlődtek (genotípustól függően 3,75 - 65,7 embrioid/Petri csésze). A mikrospóra tenyészetben kapott embrioidok száma alapján az egyes genotípusok között szignifikáns különbségeket mutattunk ki.

3. 3. 3. A mikrospóra eredetű embrioidok szövettani tanulmányozása és a fűszerpaprika növények regenerálása

A mikrospóra eredetű *in vitro* embrioidokat R1 regeneráló táptalajra helyeztük. A kissé megnyúlt embrioidok hosszmetesze kettő határozottan elkülönülő pólust mutatott. Megfigyelhető volt a gyökérkezdemény, a központi henger és a hajtás kezdemény is. Az embrioid szemközti pólusán kettő egyenlően fejlett szikleveél kezdemény volt látható. Az embrioidokat szőrös epidermisz borította be. Az embrioidok növényregenerálása kritikus lépésnek bizonyult fűszerpaprikában. Néhány struktúra normális *in vitro* hajtásokat regenerált. A hajtások többsége amorf volt rozettás levelekkel, vagy nem hozott hajtást. A három-négy leveles növénykéek ploidia fokát ellenőriztük. A haploid növénykéek ploidia fokát sikeresen dupláztuk meg a kolchicin kezeléssel. A spontán diploid növénykéeket és a kolchicin kezelt növénykéeket üvegházba kiültettük. Három 'Jaranda', három 'Jariza' és egy 'Szegedi 80' diploid növény akklimatizálódott, és fejlődött fertilis növényé.

A DH vonalakat a hazai nemesítés számára átadtuk. A fűszerpaprika hibrid nemesítési programokban a 'Déliab' fűszerpaprika hibrid előállításához felhasználták a vonalakat.

4. MEGVITATÁS (KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK)

4. 1. A búza izolált mikospórák tenyésztése

A búza izolált mikospóra tenyésztés jellemző lépéseit a 'CY-45' modell genotípussal vizsgáltuk. Eredményeink a korábbi búza mikospórák eredményekkel összhangban vannak (Mejza és mtsai 1993, Hu és Kasha 1999). A donor alapanyagok stressz kezelése, és az optimális fejlettségi állapot nagyon fontos a sikeres tenyésztéshez (Mejza és mtsai 1993, Hu és Kasha 1999). Az ováriummal történő közös dajkatenyésztés szükséges volt a nagyszámú embrioid fejlődéséhez (Mejza és mtsai 1993). A tenyészetekben az indukciót követő 5. héten jelentős számú embrioid (413,5 embrioid/Petri csésze) fejlődött, azonban a zöld növény regeneráció aránya (17,75 zöld növényke/Petri csésze) alacsony volt.

Négy alaptápanyagot hasonlítottunk össze a 'CY-45' genotípus izolált mikospóra tenyészetben. A szakirodalomból ismert CHB (Chu és mtsai 1990) és A2 (Indrianto és mtsai 1999) mikospóra tenyésztő alaptápanyag mellett két portoktenyésztő tápanyag, a W14 (Ouyang és mtsai 1989) és a P4 (Ouyang és mtsai 1983) mikospóra tenyésztő változatát (W14mi, P4-m) készítettük el. Az embrioidok és regenerált növények száma alapján az A2 és W14mi tápanyag volt szignifikánsan a legjobb. A későbbiekben a legjobb eredményeket adó W14mi tápanyagot alkalmaztuk a kísérletekhez.

Az androgenézist sikeresen indukáltuk a vizsgált búzafajták izolált mikospóra tenyészetében. A genotípus szignifikánsan befolyásolta a tenyészetenkénti embrioidok számát és a növényregenerációt (Agache és mtsai 1988). A portoktenyésztés eredetű genotípusok ('GK Bán' és 'GK Délibáb') válaszadó képessége nem volt jobb, mint a klasszikus nemesítésű genotípusoké, ami a tulajdonság additív öröklődésével magyarázható.

A mikospóra tenyésztés eredetű búza növénykéik egy jelentős része albínó volt (genotípustól függően 60,33% - 100%), ami a gabonafélék mikospóra tenyésztésében ismert jelenség (Trop és Andersen 2009). Az albinizmus mértékét több tényező befolyásolja, ennek csökkentésére kell törekednie a további kísérletek során. A portoktenyésztéshez hasonlóan ez az eljárás is hatékony módszerré válhat a tenyésztési feltételek fejlesztését követően.

4. 2. A tritikálé izolált mikospórák tenyésztése

Izolált mikospóra tenyésztésben a stressz kezelés fontos szerepet játszott az androgenézis indukációjában (Pauk és mtsai. 2000, Oleszczuk és mtsai. 2004, Eudes és Amundsen 2005, Zur és mtsai. 2008). Kísérleteinkben a donor hajtások hideg előkezelését kombináltuk három napos

éheztetéssel (0,3 M mannit oldat, 32 °C), ami a macerálás során az életképes mikrospórák izolálását segítette elő.

Eudes és Amundsen (2005) alkalmazta először az ovárium dajkatenyésztés módszerét tritikáléban, amely megemelte a mikrospóra eredetű embriók számát és minőségét. Hasonlóan, a mi kísérleteinkben is javította a dajkatenyésztés az androgenezis hatékonyságát. Továbbiakban a genotípusok összehasonlítására dajkatenyésztést alkalmaztunk.

A genotípus jelentős faktornak bizonyult, amely az androgenezis hatékonyságát mind portoktenyésztésben (Balatero és mtsai 1995), mind izolált mikrospóra tenyésztésben (Eudes és Amundsen 2005) befolyásolta. A hat tesztelt genotípus tenyésztésében az embrioidok száma és a zöld növények száma genotípustól függően változott. A mi kísérleteinkben is a genotípus volt az egyik legfontosabb tényező, amely befolyásolta a hatékonyságot.

A tesztelt genotípusok átlagában 224,7 embrioidot állítottunk elő tenyésztésenként, amelyekből átlagosan 7,79 zöld növénykét regeneráltunk. A regenerált növénykéek egy része a búzához hasonlóan albínó volt (Trop és Andersen 2009). A korábban publikált eredményekhez (Pauk és mtsai 2000, Eudes és Amundsen 2005, Zur és mtsai 2008) képest több embrioidot kaptunk tenyésztésenként, és javítottuk a növényregeneráció hatékonyságát. Kivételt képez a jó válaszadó képességű 'Bogo' fajtavál elért eredmény (Oleszczuk és mtsai 2004). A regenerált növények jól alkalmazkodtak az üvegházi körülményekhez.

Arzani és Darvey (2002) az F_1 és F_2 generációból előállított DH törzsek zöld tömege, szárazanyag tartalma, termése és teljes biomasszája között egy szélesebb variabilitást talált, mint amit szántóföldi szelekcióval el lehetett érni. Kísérleteinkben, az egyes genotípusok és DH törzsek között mind a hat vizsgált paraméter tekintetében szignifikáns különbségeket találtunk.

Összegezve, az izolált mikrospóra tenyésztés, hasonlóan más DH növény előállítási módszerekhez, alkalmas volt arra, hogy eltávolítsa a genetikai különbségeket az egyes genotípusokból és jobban kiegyenlítetté tegye a genotípusokat. A tritikalé mikrospóra tenyésztés egy alternatív eszköz lehet a nemesítők kezében, hogy kiegyenlítetté tegyék a genotípusokat nemcsak a korai (F_1 és F_2), hanem későbbi generációkban is (F_5).

4. 3. A paprika mikrospórák tenyésztése

A mikrospórák fejlettségi állapotának jelentős hatása van az androgenezis indukciójára és hatékonyságára. Az irodalomban talált eltérő adatok miatt célul tűztük ki a fejlettségi állapot hatásának tesztelését fűszerpaprika izolált mikrospóra tenyésztésben. Kísérleteinkben, a legjobb eredményeket azokkal az alapanyagokkal értük el, amelyekben a mikrospórák fejlettségi állapota begyűjtéskor 80%-ban kései egysejtmagvas és 20%-ban korai kétsejtmagvas vakuólumos állapotú volt, ez idősebb fejlettségi állapotnak felel meg, mint amit portok tenyésztésben alkalmaznak.

Az egy hetes előkezelés (0,3 M mannit oldat) fontos az izolálható mikospórák számának növeléséhez (Supena és mtsai 2006). Grádiens centrifugálással tisztíthatók és elválaszthatók az életképes mikospórák a sejt- és szövettörmelégektől. Kísérleteinkhez a mannit/maltóz grádiens centrifugálást választottuk, melyen a végrehajtott módosítás, lehetővé tette az eredményes szétválasztást.

Az izolált mikospóra tenyésztés módszerét idegen fajú dajkatenyésztéssel (FSOC módszer) fejlesztettük tovább. Különböző fajú (paprika és búza) ováriumok hatását ellenőriztük paprika mikospóra tenyészetben. Ováriumok hiányában a mikospórák osztódása a tenyésztés második hetében megállt. Paprika ováriumok jelenlétében proembrioidok indukálódtak a tenyészetekben, azonban nem tudták folytatni növekedésüket. Szabad szemmel látható struktúrákat a paprika mikospórák idegen fajú (búza ovárium) dajkatenyésztéseiben figyeltünk meg.

Az ovárium dajkatenyésztés ismert módszer egyszikű fajok izolált mikospóra tenyészetében (Mejza és mtsai 1993, Eudes és Amundsen 2005), de kétszikű fajokban eddig nem alkalmazott eljárás. Az FSOC módszert elsőként alkalmaztuk paprika izolált mikospóra tenyészetben. Módszerünket három magyar és három spanyol genotípussal teszteltük le. Mindegyik genotípusból állítottunk elő mikospóra eredetű embrioidokat, és elsőként mutattuk ki a paprika izolált mikospóra tenyésztés genotípus függőségét.

A növényregenerálás a fűszerpaprika mikospóra tenyésztés egyik kritikus lépése (Supena és mtsai 2006). Az embrioidok száma alapján az izolált mikospóra tenyésztés versenyképes más rendszerekkel, azonban a rutinszerű alkalmazáshoz a genotípus függőséget csökkenteni és a növényregeneráció hatékonyságát növelni szükséges.

Három fajtából állítottunk elő mikospóra eredetű fertilis növényeket ('Jariza', 'Jaranda' és 'Szegedi 80'). A mikospóra eredetű növényeket a magyar fűszerpaprika hibrid nemesítési programokba beépítettük. A fűszerpaprika DH vonalainkat felhasználták az államilag elismert 'Délbáb' fűszerpaprika hibrid nemesítése során.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Kísérleteink során három mezőgazdaságilag fontos növényfaj (búza, tritikálé és fűszerpaprika) izolált mikospóra tenyésztésével foglalkoztunk. Az androgenezis folyamatának tanulmányozásakor számos paramétert kellett figyelembe venni, amelyek befolyásolják a haploid indukció hatékonyságát. Mindhárom fajnál fontos volt a mikospórák fejlettségi állapota, ami alapvetően befolyásolta az androgenezis indukcióját. Kísérleteink során mindhárom faj esetében a dajkatenyésztés pozitív hatását tapasztaltuk. Az előállított DH növényeket a nemesítési programokba beépítettük. Kísérleteink során az alábbi új és újszerű eredményeket értük el:

1. A donor *alapanyagok genotípusa* alapvetően befolyásolta a mikospóra tenyésztés hatékonyságát. Egy tavaszi búza és kilenc őszi búza genotípus (elismert vagy regisztrált fajta) válaszadó képességét hasonlítottuk össze izolált mikospóra tenyésztésben. Tritikálé esetében nemesítési szempontjából értékes genotípusokkal dolgoztunk. Paprika mikospóra tenyésztésben szélesebb genetikai háttér (magyar és spanyol genotípusok) tesztelésére került sor, így elsőként számoltunk be a genotípus hatásáról paprika izolált mikospóra tenyésztésben.
2. A vizsgált fajokban a *mikospórák fejlettségi állapota* alapvetően befolyásolta az androgenezis indukcióját. A paprika esetében teszteltük az egyes fejlettségi állapotok indukcióra gyakorolt hatását. A nemzetközi szakirodalmat és saját eredményeinket összevetve a sikeres indukcióhoz mindhárom faj esetében idősebb fejlettségi állapot választását javasoljuk izolált mikospóra tenyésztésben, mint portoktenyésztésben.
3. A *dajkatenyésztés* javította a mikospóra tenyésztési rendszer hatékonyságát mindhárom vizsgált faj esetében. Búza és tritikálé mikospóra tenyésztésben az ovárium dajkatenyésztés megemelte a tenyészetenkénti embrioidok számát és a regenerálási szempontból fontos minőségét. Fűszerpaprika mikospóra tenyésztésben elsőként alkalmaztuk a dajkatenyésztést, nevezetesen az FSOC módszert, amely minden genotípus esetében lehetővé tette az embrioidok jobb indukcióját.
4. Tritikálé és paprika mikospóra tenyésztésben értékes DH törzseket és vonalakat hoztunk létre. A DH anyagok egy részét *nemesítési programjainkban* továbbhasználtuk és néhány fűszerpaprika vonalunkat már nemesítő partnereinkkel hibrid ('Déliab' fűszerpaprika hibrid) szülőpartnerként is felhasználtunk.

IRODALOMJEGYZÉK

- Arzani A. and N. L. Darvey, 2002: Comparison of doubled haploid lines and their mid-generation progenitors in forage and dual-purpose triticales under greenhouse hydroponic conditions. *Euphytica* 126, 219-225.
- Balatero C. H., Darvey N. L. and Luckett D. J. (1995): Genetic-analysis of anther-culture response in 6X triticales. *Theoretical and Applied Genetics* 90 (2): 279-284.
- Chu C. C., Hill R. D. and Brule-Babel A. L. (1990): High frequency of pollen embryoid formation and plant regeneration in *Triticum aestivum* L. on monosaccharide containing media. *Plant Science* 66: 255-262.
- Eudes F. and Amundsen E. (2005): Isolated microspore culture of Canadian 6x triticales cultivars. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 82 (3): 233-241.
- Gémes Juhász A., Venczel G., Sági Zs., Gajdos L., Kristóf Z., Vági P. and Zatykó L. (2006): Production of doubled haploid breeding lines in case of paprika, eggplant, cucumber, zucchini and onion. *Acta Horticulture* 725: 845-854.
- George L. and Narayanaswamy S. (1973): Haploid *Capsicum* through experimental androgenesis. *Protoplasma* 78: 467-470.
- Hu T. C. and Kasha K. J. (1999): A cytological study of pretreatments used to improve isolated microspore cultures of wheat (*Triticum aestivum* L.) cv. Chris. *Genome* 42 (3): 432-441.
- Indrianto A., Heberle-Bors E. and Touraev A. (1999): Assessment of various stresses and carbohydrates for their effect on the induction of embryogenesis in isolated wheat microspores. *Plant Science* 143 (1): 71-79.
- Kim M., Jang I. C., Kim J. A., Park E. J., Yoon M. and Lee Y. (2008): Embryogenesis and plant regeneration of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) through isolated microspore culture. *Plant Cell Reports* 27 (3): 425-434.
- Kuo J. S., Wang Z. Z., Chien N. F., Ku S. J., Kung M. L. and Hsu H. C. (1973): Investigations on the anther culture *in vitro* of *Nicotiana tabacum* L. and *Capsicum annuum* L. *Acta Botanica Sinica* 15: 43-47.
- Letarte J., Simion E., Miner M. and Kasha K. J. (2006): Arabinogalactans and arabinogalactan-proteins induce embryogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) microspore culture. *Plant Cell Reports* 24 (12): 691-698.
- Mejza S. J., Morgant V., DiBona D. E. and Wong J. R. (1993): Plant regeneration from isolated microspores of *Triticum aestivum*. *Plant Cell Reports* 12: 149-153.

- Oleszczuk S., Sowa S. and Zimny J. (2004): Direct embryogenesis and green plant regeneration from isolated microspores of hexaploid triticale (\times *Triticosecale* Wittmack) cv. Bogo. *Plant Cell Reports* 22: 885-893.
- Ouyang J. W., Zhou S. M. and Jia S. E. (1983): The response of anther culture to culture temperature in *Triticum aestivum* L. *Theoretical and Applied Genetics* 66: 101-109.
- Ouyang J. W., Jia S. E., Zhang C., Chen X. and Fen G. (1989): A new synthetic medium (W14) for wheat anther culture. *Annual Report, Institute of Genetics, Academia Sinica, Beijing*, pp. 91-92.
- Pauk J., Poulimatka M., Lökös Tóth K. and Monostori T. (2000): *In vitro* androgenesis of triticale in isolated microspore culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 61: 221-229
- Supena E. D. J., Suharsono S., Jacobsen E. and Custers J. B. M. (2006): Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in Indonesian hot pepper (*Capsicum annum* L.). *Plant Cell Reports* 25 (1): 1-10.
- Trop A. M. and Andersen S. B. (2009): Albinism in microspore culture, in: A Touraev, B. P. Forster and S. M. Jain (Eds.), *Advances in Haploid Production in Higher Plants*, Springer Science + Business Media B. V., pp 155-160.
- Turesson I. K. D. and Öhlund R. C. V. (1993): Plant regeneration through culture of isolated microspores *Triticum aestivum* L. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 34: 163-167.
- Wang Y. Y., Sun C. S., Wang C. C. and Chen N. F. (1973): The induction of pollen plantlets of Triticale and *Capsicum annum* from anther culture. *Scientia Sinica* 16: 147-151.
- Zur I., Dubas E., Golemic E., Szechynska-Hebda M., Janowiak F. and Wedzony M. (2008): Stress-induced changes important for effective androgenic induction in isolated microspore culture of triticale (\times *Triticosecale* Wittmack). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 94: 319-328.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁBAN MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK

Tudományos cikkek angol nyelven:

Lantos C., Gémes Juhász A., Somogyi Gy., Ötvös K., Vági P., Mihály R., Kristóf Z., Somogyi N., Pauk J. (2008): Improvement of isolated microspore culture of pepper (*Capsicum annuum* L.) via co-culture with ovary tissues of other plant species. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* (submitted).

Lantos C., S. Páricsi, A. Zofajova, J. Weyen, J. Pauk (2006): Isolated microspore culture of wheat with Hungarian cultivars. *Acta Biologica Szegediensis* 50 (1-2): 31-35

Lantos C., M. Jancsó, J. Pauk (2005): Microspore culture of small grain cereals. *Acta Physiologiae Plantarum* 27: 523-531.

Monostori T., **C. Lantos**, R. Mihály, J. Pauk (2003): Induction of embryogenesis without exogenous hormone-supplement in barley microspore culture. *Cereal Research Communications* 31: 297-300.

Tudományos cikkek magyar nyelven:

Lantos C., Gémesné Juhász A., Somogyi Gy., Mihály R., Somogyi N., Pauk J. (2008): *In vitro* androgenézis indukciója fűszerpaprika (*Capsicum annuum* L.) mikroszpóra tenyészetben. *Agrár és vidékfejlesztési szemle* 3 (2): 169-174.

Lantos C., Pauk J. (2003): Búza (*Triticum aestivum* L.) haploid növények előállítása mikroszpóra-tenyészetből. *Növénytermelés* 52 (3-4): 269-279.

Könyvrészlet angol nyelven:

Pauk J. , M. S. Hassan, M. Puolimatka, **C. Lantos**, R. Mihály, Á. Mesterházy, Z. Kertész, J. Matuz (2003): Microspore- and anther culture improvements for wheat breeding. In: A. Mujib, M.J. Cho, S. Predieri, S. Banerjee (Eds.), *In Vitro Application in Crop Improvement: Recent Progress*, pp. 131-151. Science Publishers Inc., Enfield, New Hampshire, USA.

Írásban megjelent előadás összefoglalók:

Majer Petra, **Lantos C.**, Cseuz L., Sass L., Vass I., Dudits D., Pauk J. (2007): Búza szárazságtűrésének komplex vizsgálata üvegházi stresszdiagnosztikai rendszerben. XIII. Növénynevelési Tudományos Napok, 2007. márc. 12., Budapest, MTA, 30.

Lantos C., R. Mihály, S. Páricsi, Z. Kertész, Á. Mesterházy, J. Matuz, J. Pauk (2006): Using of androgen-derived haploids in wheat breeding. XIX.th International Congress on Sexual

- Plant Reproduction, From gametes to genes, 11-15 July 2006., Budapest, Hungary pp. 91-92.
- Róbert Mihály, **C. Lantos**, Z. Kertész, Á. Mesterházy, J. Pauk (2006): Using of doubled haploids in wheat breeding. The International Conference „Haploids in Higher Plants III” 12-15 february 2006. Vienna-Austria p. 34.
- Páricsi S., **Lantos C.**, Sass L., Vass I., Farkas Cs., Dudits D., Pauk J. (2006): Komplex diagnosztikai rendszer kiépítése szárazságstressz detektálására. XII. Növénynevelési Tudományos Napok, előadás, 2006. március 7-8., Budapest, MTA, 56. o.
- Lantos C.**, Mihály Róbert, Bóna Lajos, Pauk János (2005): Embriógenézis indukciója tritikálé mikroszpóra tenyészetben. XI. Növénynevelési Tudományos Napok, előadás, március 3-4. Budapest, MTA 61 o.
- Cseuz L., Pauk J., Csiszár J., **Lantos C.**, Horváth V. G., Dudits D., Matuz J. (2005): Az őszi búza szárazságtűrő képességének növelése nemesítéssel. “AGRO-21” Füzetek, 41: 102-113.
- Jancsó M., **Lantos C.**, Simonné K. I., Kiss E., Pauk J. (2004): A rizs (*Oryza sativa* L.) mikroszpóra tenyésztés vizsgálata hazai fajtákkal. X. Növénynevelési Tudományos Napok, előadás, február 18-19. Budapest, MTA, 33. o.
- Lantos C.**, Pauk J. (2004): Táploldatok és előkezelő oldatok vizsgálata búza (*Triticum aestivum* L.) mikroszpóra tenyészetben. X. Növénynevelési Tudományos Napok, előadás, február 18-19. Budapest, MTA, 32. o.
- Pauk J., P. Acs, R. Mihály, **C. Lantos**, Z. Kertész, J. Matuz (2004): Technological and nutrition quality of transgenic wheat lines. International Wheat Quality Conference, From Molecular Improvement to Consumer Needs, May 29-31, Beijing, China, pp. 35-36.
- Janos Pauk, **C. Lantos**, Mihály Jancsó, R. Mihály (2004): Microspore culture of small grain cereals (wheat, triticale, rice) c). Workshop meeting of COST Action 851, lecture, november 11-13, Palermo, Italy, pp. 10-11.
- Jancsó M., **Lantos C.**, Simonné Kiss I., Kiss E., Pauk J. (2003): Rizs (*Oryza sativa* L.) androgenézis vizsgálata portok és izolált mikroszpóra tenyészetben. IX., Növénynevelési Tudományos Napok, előadás, MTA, Budapest, 40. o.
- Lantos C.**, Mihály R., Kiss E., Pauk J. (2003): Embriófejlődésre ható tényezők vizsgálata búza (*Triticum aestivum* L.) mikroszpóra tenyészetben, IX., Növénynevelési Tudományos Napok, előadás, MTA, Budapest, 25. o.
- Pauk J., **Lantos C.**, Mihály R. (2002): Cereal (wheat and triticale) microspore culture. Cost Action 851, Working Group 1, lecture, 10-11 May, Book of abstract p. 11.

Poszterek:

- Cseuz L., Pauk J., Fónad P., **Lantos C.**, Majer P., Kovács I. (2007): Új eszközök a búza szárazságtűrésre történő szelekciójában. XIII. Növénynevelési Napok, március 12. Budapest, MTA, 102. o.
- Lantos C.**, Mihály R., Gémesné Juhász A., Táborosiné Ábrahám Zs., Somogyi N., Somogyi Gy., Pauk J. (2007): Fűszer- és étkezési paprika mikrosporák izolálása és tenyésztése. XIII. Növénynevelési Napok, március 12., Budapest, MTA 110. o.
- Jancsó M., Sonkoly B., **Lantos C.**, Simon-Kiss I., Pauk J. (2007): Hungarian rice varieties for tissue cultures to promote biotech breeding approaches. pp. 250-251 In: Bocchi S., Ferrero A., Porro A., editors 2007. Fourth Temperate Rice Conference. Proceedings of the Fourth Temperate Rice Conference, 25-28 June 2007, Novara, Italy. 384 p.
- Jancsó M., Majer P., **Lantos C.**, Simon-Kiss I., Dudits D., Pauk J. (2007): Diagnostic system for detection of drought tolerant rice genotypes. pp. 330-331 In: Bocchi S., Ferrero A., Porro A., editors 2007. Fourth Temperate Rice Conference. Proceedings of the Fourth Temperate Rice Conference, 25-28 June 2007, Novara, Italy. 384 p.
- Gémes Juhász A., **C. Lantos**, J. Pauk, B. Vörösváry, Z. Kristóf (2006): First results on improved isolated microspore culture of paprika. XIX.th International Congress on Sexual Plant Reproduction, From gametes to genes, 11-15 July 2006., Budapest, Hungary pp. 146-147.
- Lantos C.**, L. Bóna, J. Pauk (2006): Isolated microspore culture in Triticale (\times *Triticosecale* Wittmack). The International Conference „Haploids in Higher Plants III” 12-15 February 2006. Vienna-Austria p. 44.
- Páricsi S., **Lantos C.**, Pauk J., Sass L., Vass I., Dudits D., Cseuz L., (2006): Modern módszerek alkalmazása szárazság toleráns őszi búza előállítására. VAHAVA Záró konferencia, Budapest MTA.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki Prof. Dr. Heszky László akadémikus úrnak – SZIE Genetika és Biotechnológia Intézet vezetőjének - és munkatársainak a sok éves oktatási tevékenységért, mellyel támogatták korábbi diploma dolgozatom és jelen doktori értekezésem elkészülését.

Köszönettel tartozom Dr. Pauk Jánosnak – Gabonakutató Kft. tudományos tanácsadójának – témavezetéséért, a munkafeltételek biztosításáért és hasznos tanácsaiért. Köszönöm Dr. Matuz János igazgató úrnak és a Gabonakutató Kft. többi dolgozójának tanulmányaim szakmai és erkölcsi támogatását! Külön köszönet közvetlen munkatársaimnak – Olasz Mária, Majer Petra, Fehérné Juhász Erzsébet, Kótai Éva, Mihály Róbert és Áy Zoltán - segítőkész és lelkiismeretes munkájukért.

Köszönöm dr. Bóna Lajosnak és dr. Ács Péternének a tritikálé mikrospóra tenyésztési kísérletekhez nyújtott segítségüket!

Köszönet illeti az együttműködő intézmények dolgozóit – Dr. Somogyi György és Táborosiné Ábrahám Zsuzsanna (Fűszerpaprika Kutató-Fejlesztő Kft. Szegedi Kutatási Osztály), Gémesné Dr. Juhász Anikó (Medimat Kft.), Dr. Fehér Attila és Dr. Ötvös Krisztina (SzBK), Dr. Kristóf Zoltán és Dr. Vági Pál (ELTE), Dr. Tanács Lajos (SZTE Mezőgazdasági Kar) - hatékony kooperációs munkájukért.

Köszönöm családom el nem múló türelmét és folytonos támogatását!

Köszönet az Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok anyagi támogatásáért (OTKA TS 40887).

„Én mindent készen kaptam
Áldott elődi kézből,
Éppen csak a szivárvány
Hiányzott még az égről.
Vén vasoszlopokra
Szivárványként feszültem,
Egemet ők tartották
Mohosan és derülten:
Nincs semmi érdemem.”

idézet Reményik Sándor (1936)

„Elődeim emberségéből” című verséből