

## Válasz Dr Simonné Sarkadi Livia opponensi véleményére

Mindenek előtt, szeretném megköszönni bírálóm értékelését a kutatási téma jelentőségével kapcsolatban, valamint értékes észrevételeit a dolgozat formai- és szakmai- tartalmát illetően.

A formai észrevételek mindenképp hasznosak és jövőbeli munkáim során igyekszem azokat figyelembe venni.

Bírálóm megjegyezte, hogy

- a betűméret a dolgozatban nem egységes és hogy néhány helyen nehezen olvashatók az ábrafeliratok. Az irodalomjegyzék a dolgozatban, terjedelme miatt kapott kisebb betűméretet, az ábrák feliratai pedig reményeim szerint kinagyítással jobban láthatóvá tehetőek majd az online verzióban.
- A 2-6. ábrák, melyek molekulaszervezeteket és folyamatábrákat tartalmaznak, hosszabb megfontolás után, végül szándékosan maradtak az eredeti, angol nyelvű formában az irodalmi áttekintésben. Ehhez a kiadók engedélyét megkértem.
- Valóban nagy segítség lehet az olvasónak és több oldalas táblázatoknál törekedni fogok arra, hogy valamennyi oldalon megjelenjen a táblázat címe.
- Számos hazai és nemzetközi kiadású könyvet átnéztem annak eldöntésére, hogy az ábrák és táblázatok címe után kell-e pontot tenni vagy sem. Mivel azonban egy könyvön, sőt fejezetben belül is vegyesen fordult elő a pont használata vagy hiánya, ezért végül a pont használata mellett döntöttem.
- Köszönettel egyetértek a rövidítések magyar megfelelőjének pontosításával.
- A dolgozat szerkezetét igyekeztem minél egységesebbé és egyszerűbbé tenni, a lehető legkevesebb szintet létrehozni a tagolásnál, ezért fordulhat elő, hogy kissé összetettnek tűnnek egyes fejezetek. Egyetértek azonban azzal, hogy sokat segített volna a fejezetek címének pontosabb és konkrétabb megfogalmazása.
- A dolgozat bevezetése kissé formabontó, mivel számos irodalmi hivatkozást tartalmaz, melyek közül csupán a legfontosabb forrásokat igyekeztem megjelölni. Az irodalmak nagy száma miatt a kísérletekben használt sztenderd módszerek kerültek csupán az irodalmi hivatkozások közé. A 8. táblázat 'A búza tartalékfehérje génjeinek kromoszomális elhelyezkedése'-ét foglalja össze táblázatos formában, de nem konkrét irodalomból átemelt táblázatról van szó. A 9 és 10. táblázatok pedig már a saját kísérleteink természetési és időjárási körülményeit írják le, melyek kifejezetten a dolgozathoz készültek, ezért nincs hivatkozás az ábra alatt.
- A bírálóm által feltüntetett 5 publikáció közül 4 valóban nem szerepel a szövegközben, az ICC 166-os számú szabvány azonban igen.
- A PCA és a GGEBIplot ábrákon valóban kis betűméret lett beállítva az szövegátfedések elkerülése céljából. Reményeim szerint az online verzióban ezek az ábrák is jobban láthatóvá tehetőek (13-14, 19 ábra)
- A korreláció analízis eredményeit tartalmazó ábrákon a piros, narancs és citromsárga színek az összefüggések erősségére utalnak, azaz sorban a 0,01, a 0,1 és a 0,5 valószínűségi szinten szignifikáns összefüggéseket emelik ki (16-18, 21-22, 24 táblázatok)
- A Tukey HSD ("honest significant difference" vagy "őszintén szignifikáns különbség") teszt egy statisztikai eszköz, amellyel megállapítható, hogy a két adathalmaz közötti kapcsolat statisztikailag szignifikáns-e. Más szavakkal, a Tukey-teszt egy kísérleti hipotézis tesztelésének módja.

A **Bevezetés** kapcsán bírálóm kifogásolta, hogy az adatokkal bemutatott állításokhoz tartozó szakirodalmi hivatkozások hiányoznak. Mivel a bevezetésnek nem célja a szakirodalmi háttér bemutatása, igyekeztem csupán a legfontosabb irodalmi forrásokra hivatkozni, azon összefoglaló írásokra, melyek tartalmazzák ezeket az információkat. Ezzel az áttekintéssel csupán az lett volna a célom, hogy bemutassam a kísérleteim mögött álló motivációs tényezőket.

Az **Irodalmi áttekintés** kapcsán egyetértek bírálómmal, hogy egy szűkebb terület kritikai értékelése tömörebbé tette volna a dolgozatot és kevesebb lett volna az irodalmi hivatkozások száma. A nemesítés folyamatában azonban egy adott komponensre történő szelekció csupán egy plusz tényező amit

figyelembe kell venni a jó agronómiai tulajdonságok, a nagy termés és a jó sütőipari minőség mellett. Ezeket a tulajdonságokat számos tényező befolyásolja, amelyeket nem lehet figyelmen kívül hagyni. Ezért tartottam fontosnak, hogy átfogó képet adjak mindazokról a tényezőkről, amelyek eredményeimet befolyásolhatják a dolgozatban ismertetett kísérleteimben.

Az **Anyagok és módszerek** fejezetben megjelenő 9. és 10. táblázatok a dolgozathoz készültek, a saját kísérletek termesztési és időjárási körülményeit foglalják össze, ezért nem tartamaznak irodalmi hivatkozást. A kísérletek GPS koordinátái valóban különböznek a szövegben és a 9. táblázatban, mely annak köszönhető, hogy az intézet több kísérleti területtel is rendelkezik és a kísérletek nem mindig ugyanazon a területen kerültek elvetésre a különböző években, már csak a vetésforgó miatt sem.

Az **Eredmények** fejezet valóban tartalmaz néhány megjegyzést és gondolatot, mely inkább a Megvitatás részét képezné. Ezekre igyekszem a jövőben jobban figyelni. A beltartalmi komponensek mennyiségét minden esetben szárazanyagra vonatkoztatva értettem. Remélem ez a legtöbb esetben egyértelmű volt.

Az aminosav tartalom vizsgálata nem képezte dolgozatom részét és nincs információom arról, hogy a vizsgált törzsekben és fajtákban a fehérje tartalom mennyiségi arányának változása, hogyan befolyásolja az aminosav összetételt. Mivel azonban egy keresztezés esetén csak a két szülői genotípus fehérjeallél összetétele kombinálódhat az utódokban, jelentős különbség nem várható az utódvonalak aminosav összetétele között fajon belül. Idegenfajú keresztezések esetén, ahol a két faj fehérjeallél összetétele, és így aminosav összetétele is jelentősen különbözhet, lehet olyan különbség az utódok aminosav összetételében, melynek egészségügyi hatása is talán kimutatható. Búzában a tartalékfehérjék (HMW és LMW gluteninek, gliadinok) tulajdonságai jól ismertek, de hogy a különböző fehérjeallél kombinációk milyen mértékben változtatják meg az aminosav összetételt és hogy annak mi a hatása a feldolgozóipari tulajdonságokra vagy akár az egészségre, nem találtam irodalmat, de mindenképp érdekes és megfontolandó tárgya lehet egy jövőbeli kutatásnak. Köszönöm a felvetést.

Az amilóz tartalom növelésének vannak korlátai. Tapasztalataink alapján a búzakeményítő amilóz tartalmának 25%-ról 40%-ra emelése is már olyan drasztikus változásokat okoz a keményítő tulajdonságaiban (mennyiség, összetétel, viszkozitás), mely a gabonaszem feldolgozóipari hasznosíthatóságát hiúsítja meg. Eredményeként a szem keményítő tartalma és ezerszem tömege ugyanis drasztikusan lecsökken. Az ausztrál CSIRO munkatársai transzformációs módszerekkel 70-80% amilóz tartalmat is elértek, az általa okozott egyéb gabonaszemet érintő tulajdonságbeli negatív változásokról azonban nem számoltak be. Gyakorlati hasznosítás feltehetőleg csak a részlegesen mutáns (nem mindhárom allélre) búza genotípusok esetén valósulhat meg, hasonlóképp a waxy genotípusokhoz. Az általunk használt SGP mutáns vonalak ezen túl előnytelen agronómiai tulajdonságokkal is rendelkeznek, mivel nagyon korai érésűek és a helyi környezeti körülményekhez nem jól adaptálódnak. Kísérleteinkben fontos volt ezért a többszöri visszakeresztezés és az agronómiai tulajdonságokra történő szelekció is.

Köszönöm bírálóm **Megvitatásra, Összefoglalásra és Új tudományos eredményekre** tett pozitív észrevételeit és pontosításait, melyekkel nagyrészt egyetértek és amelyeket elfogadok, további pontosításokkal:

- 2. pontban az SGP-1 egy keményítőhöz kötött keményítő szintáz enzimfehérje
- 3. pontban a búza, mint faj megnevezése szintén hiányzik
- 4. pontban az utolsó 100 nap hőségnapjainak száma csökkent, míg a lehullott csapadék növeli az amilóz és/vagy AX tartalmat Yumai-34 és SGP-1 mutánsok felhasználásával létrehozott, jellemzően korai érésű törzsekben
- 6. pontban az 5U és 7M kromoszómák addíciója szignifikánsan növeli a búza rostanyag tartalmát.

Bírálóm által feltett kérdésekre válaszaim a következők:

## ***1. Van-e irodalmi adat a gabonafélék amilóz és rostanyag-mennyiségének genetikai transzformációval vagy génszerkesztéssel történő módosítására?***

A keményítő és a rostanyagok mennyiségét és összetételét számos gén határozza meg a gabonafélékben. Ezek közül a gének közül sok gén tényleges funkciója és hatásának módja és mértéke ismeretlen. Ennélfogva, a búza transzformációs kísérleteket a keményítő és a rostanyagok vonatkozásában a bioszintézisben részt vevő gének funkcionális vizsgálatára használták. Erre a célra mind a genetikai transzformációt (a vonatkozó gének csendesítésére vagy túltermelésére), mind pedig a génszerkesztést (az adott gének kiütésére, teljes inaktiválására) egyaránt sikerrel alkalmazták, és egyre szélesebb körben használják.

### **A keményítő tulajdonságainak módosítása genetikai transzformációval**

Élettani hatás szempontjából a keményítő amilóztartalom növelésének gyakorlati jelentősége van, hiszen a nagyobb amilóztartalom nagyobb mennyiségű ún. „rezisztens” keményítőt eredményez a gabonaszemben. Az amilóz tartalom és a keményítő bioszintézisében résztvevő enzimek működése közti összefüggéseket számos kutató összefoglalta már (Bird és Regina, 2018; Nakamura, 2018; Regina és mtsai, 2015; Tetlow, 2011; Wang és mtsai, 2017), amelyek szerint az amilóztartalom abszolút v. relatív növelésének eddig alapvetően három módja ismert:

1. a keményítőhöz kötött keményítő-szintáz (GBSS) enzim aktivitásának növelése,
2. az SS (Starch Synthase) enzimek működésének gátlása, ami csökkenti az amilopektin relatív mennyiségét, és
3. az SBE (Starch Branching Enzyme) enzim működésének gátlása, ami csökkenti az amilopektin-molekula elágazásainak számát.

A keményítőmolekulák szerkezetét is próbálták különböző módszerekkel módosítani annak érdekében, hogy a kívánt keményítőtulajdonságokat érjék el a fent említett enzimek működésének módosításával (Li és mtsai, 2019).

A GBSS az amilóz szintézisében kulcsfontosságú enzim. A GBSS1 enzimaktivitás és az amilózsintézis kapcsolatát az enzim génjének RNS-csendesítésével állapították meg (Li és mtsai., 2005). A GBSS működésének gátlása csökkent amilóztartalmú, „waxy” keményítőt eredményezett (Yoo és Jane, 2002). A GBSS gén expressziójának növelése ugyanakkor nem okozott további szignifikáns növekedést az amilóztartalomban (Flipse és mtsai, 1996). A GBSS-fehérje mennyisége feltehetőleg nem kulcsfontosságú az amilóztartalom növelésében, ha a szintézist más faktorok gátolják, például a fizikai hely hiánya az amilopektin-mátrixon belül vagy az ADP-glükóz és a malto-oligo-szacharidok jelenléte (Sestili és mtsai, 2012).

Az SS enzimek öt osztályba sorolhatók konzervált, elsődleges aminosav-szekvenciájuk alapján. Az egyik osztályba tartoznak a keményítőhöz kötött keményítő-szintázok (GBSS, ld. fent), amelyek kizárólag a szemcséken belül, kötött formában található meg. A másik négy SS osztály (SSI, SSII, SSIII, SSIV), amelyek oldható szintázokként is ismertek, vagy az amiloplaszt támasztószövetében található meg oldott formában, vagy részlegesen oldva a szemcsékkel asszociálnak (Zeeman és mtsai, 2010). Az oldható SS-ek elsősorban az amilopektin szintézisében vesznek részt, vagy az amilopektin lánchosszabbításában töltenek be kulcsfontosságú szerepet. Az SSI, SSII és SSIII osztályok sorrendben a rövid, a közepes és a hosszú láncok lánchosszabbításában vesznek részt (Tomlinson és Denyer, 2003). Megállapították, hogy az SSI a DP6-7 (degree of polymerization) hosszú láncokból DP8-12 hosszú láncokat képez rizsben (Fujita és mtsai, 2006). Az SSII ugyanakkor búzában DP6-10 hosszú láncokból hozott létre DP11-25 hosszú láncokat (Yamamori és mtsai, 2000). Megállapították továbbá, hogy az SS gátlása az SBE gátlásához képest kevésbé változtatja meg az amilopektin elágazásainak szerkezetét, ugyanakkor növeli a lineáris láncok arányát (amilóz) az amilopektin-szintézisének gátlásával (Jobling és mtsai, 1999; Morell és mtsai, 2003).

Az SBE enzimeknek két fő típusa ismert, az SBEI és az SBEII. Gabonafélékben az SBEII szignifikáns hatását azonosították az amilóztartalomra, míg az SBEI mutációi csak kismértékű fenotípusos változást eredményeztek (Blauth és mtsai, 2002; Regina és mtsai, 2004; Satoh és mtsai, 2003). Az SBEII-nek két

izoformája létezik (a IIa és a IIb), amelyeknek szekvenciája és molekulatömege is hasonló. Megállapították, hogy az SBEIIb-nek megfelelő amilóz-extender (*ae*) gén mutációja nagyobb amilóztartalmat és hosszabb amilopektinlanc-elágazásokat hozott létre kukoricában és rizsben (Jane és mtsai, 1999; Nishi és mtsai, 2001). Búza és árpa esetében az SBEIIa ugyanakkor sokkal fontosabb szerepet tölt be az amilóztartalom és a glükán láncok elágazásának kialakításában, mint az SBEIIb (Regina és mtsai 2006, 2010). Összességében a két SBE izoforma (a IIa és a IIb) együttes inaktiválása nagyobb növekedést eredményezett az amilóztartalomban (>70%), mint amikor külön-külön inaktívták őket (Regina és mtsai, 2010; Zhu és mtsai, 2012; Carciofi és mtsai, 2012). Az SBEII izoformái inkább az amilopektinre hatottak, és rövidebb elágazásokat hoztak létre (SBEIIa DP6-15, SBEIIb DP6-7), míg az SBEI az amilózt használta szubsztrátként, és így hosszabb láncokat képezett (DP10-13, de DP30-ig) (Tetlow és mtsai, 2004b; Tetlow és Emes, 2014; Nakamura, 2010, 2018). Az SBEII mutánsokban 55–80% amilóztartalmat mértek módszertől függően. Ezeknek a törzseknek a keményítőtartalma és az ezerszemtömege nagymértékben csökkent a normál búzáéhoz képest (Regina és mtsai, 2015; Schönhofen és mtsai, 2016; Slade és mtsai, 2012), de nem olyan mértékben, mint az SSIIa null mutánsokban (Botticella és mtsai 2018; Hogg és Giroux, 2019; Hogg és mtsai, 2017; Konik-Rose és mtsai, 2007). A megnövekedett amilóztartalom az SBEII null törzsekben a rezisztenskeményítő-tartalom szignifikáns növekedését is eredményezte (Botticella és mtsai, 2018; Regina és mtsai, 2015; Schönhofen és mtsai, 2017; Slade és mtsai, 2012), nem úgy mint az SSIIa null törzsekben, ahol csak mérsékelt növekedést tapasztaltak.

Az eredmények azt is mutatják, hogy az SSIIa mutáció sokkal drasztikusabb, negatív változásokat okoz a feldolgozóipari minőségben, mint az SBEII enzim működésének hiánya. Így nem véletlen, hogy az első, gyakorlatban is hasznosuló eredményeket az utóbbi, SBEII géneknek az inaktiválásával érték el 2020-ban. A Limagrain, az ausztrál CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation) kutatóintézet és a GRDC (Grain Research and Development Corporation) együttműködésével hozta létre első egészséges, nagy rezisztens keményítő-tartalmú búzafajtáját (Viallis és Berbezy, 2020), amelyet LifyWheat-nek neveztek el. Ez az új fajta 40%-ban tartalmaz rostanyagot, amiből 30% rezisztens keményítő. Ez igen magas kihozatal a normál búza 13%, illetve 5%-os értékeihez képest.

## **A rostanyagok tulajdonságainak módosítása genetikai transzformációval**

A sejtfal poliszacharidjai, nevezetesen az arabinoxilán (AX) és a  $\beta$ -glükán, a búza élelmi rosttartalmának két fő összetevője.

Jelenleg is komoly erőfeszítéseket tesznek a kutatók annak érdekében, hogy azonosítsák azokat a géneket, amelyek az AX bioszintézisét kontrollálják búzában, és számos térképező populációt hoztak létre azért, hogy az AX-tartalommal összefüggő géneket, QTL-eket azonosítsák. A fő QTL-t az 1B kromoszómán azonosították (Martinant és mtsai, 1999), amely a vízdoldható arabinoxilán-tartalom (WE-AX) és a viszkozitás fenotípusos varianciájának 59%-át magyarázta (Charmet és mtsai, 2009). Quraishi és mtsai (2011) hét lókuszt azonosítottak (az 1B, 3A, 3D, 5B, 6B, 7A és 7B kromoszómákon) asszociációs genetikai elemzéssel, amelyek közül három (1B, 3D és 6B kromoszóma) megegyezik egy hét populáción alapuló konszenzusos meta-QTL elemzés eredményeivel. Ugyanezen szerzők egyedi géneket is azonosítottak a szem rostanyagtartalmának jövőbeli javítására. Mitchell és mtsai (2007) bioinformatikai módszerekkel azonosították az AX szintéziséért felelős géneket a glikozil-transzferáz (GT) családból (43, 47 és 61), míg Zeng és mtsai (2010) a GT75 gént azonosították proteomikai és transzkriptomikai módszerek kombinálásával. Búzában a legtöbb GT gén összetett formában jelenik meg, minden formából három homeoallél van jelen az A, a B és a D genomban (Mitchell és mtsai, 2007; Pellny és mtsai, 2012; Wan és mtsai, 2008). Ezen gének kifejeződésének RNSi szupressziójával kimutatták, hogy a *GT43* és *GT47* gének kódolják a  $\beta$ -1,4-xilán-szintáz alegységeit, és hogy a *GT61* kódolja az  $\alpha$ -(1,3)-arabinoxil-transzferázt (Anders és mtsai, 2012; Lovegrove és mtsai, 2013). Mind a *TaGT43*, mind a *TaGT47* gének csendesítése 40–50%-os csökkenést eredményezett a teljes AX-tartalomban, de közben nőtt az Araf ( $\alpha$ -L-arabinofuranozil egységek) szubsztitúció mértéke, 50%-kal csökkentve ezzel a sejtfal vastagságát (Lovegrove és mtsai, 2013). Hasonlóképpen a *GT61* csendesítése (új nevén *TaXATI*) 70–80%-os csökkenést eredményezett az  $\alpha$ -(1,3) kötással kötött Araf mennyiségében az érett endospermiumban található AX-ban (Anders és mtsai, 2012). Valamennyi

transzgenikus vonal extraktumának viszkozitásában csökkenést tapasztaltak, de a hatás nagyobb volt egyes *TaGT43* és *TaGT47* RNSi vonalban (amelyek a búza 4ABD és 3ABD kromoszómáin helyezkednek el), mint a *TaXAT1* RNSi vonalakban (Freeman és mtsai, 2016). Ez a hatás a WE-AX mennyiségének és lánchosszának csökkenésével magyarázható.

Az arabinoxilán mellett kisebb mennyiségben  $\beta$ -glükán is megtalálható a búzaszemben. A szintéziséért felelős géneket azonban elsősorban árpában vizsgálták, mivel az árpa domináns rostalkotó komponense a  $\beta$ -glükán. Legnagyobb valószínűséggel a cellulóz-szintázszerű (*Csl*) gének kódolják a különböző, nem cellulóz alapú sejtfalalkotó poliszacharidok szintézisében résztvevő enzimeket (Doblin és mtsai, 2009). Ezek a gének kilenc géncsaládba sorolhatók, amelyeket *CslA*-tól *CslJ*-ig neveztek el, és amelyek közül a *CslF*, a *CslH* és a *CslJ* családok kifejezetten gabonafélékben találhatók meg (Doblin és mtsai, 2010). Transzgenikus *Arabidopsis thaliana* L. növényekben kimutatták, hogy az árpa *CslF* és *CslH* családok feltehetőleg részt vesznek a  $\beta$ -glükán szintézisében (Burton és mtsai, 2006; Doblin és mtsai, 2009). Összehasonlító genomikai tanulmányok kimutatták, hogy a *CslF* géncsaládnak tíz tagja van árpában, melyek közül a *HvCslF3*, *HvCslF4*, *HvCslF8*, *HvCslF10*, *HvCslF12* és *HvCslF13* gének a 2H kromoszómán csoportosulnak, a *HvCslF9* az 1H-n helyezkedik el, a *HvCslF7* az 5H-n míg a *HvCslF6* és *HvCslF11* gének a 7H kromoszómán lokalizáltak (Burton és mtsai, 2008; Schreiber és mtsai, 2014). Az árpa *HvCslF* génjei közül a *HvCslF6* és *HvCslF9* gének mRNS transzkripciója a legintenzívebb a fejlődő árpa endospermében (Burton és mtsai, 2008). Ezek a 7H és 1H kromoszómák centroméraihoz közel eső lokuszra térképeződnek és az árpa  $\beta$ -glükán-tartalmának QTL-éhez (quantitative trait loci) is közel esnek (Burton és mtsai, 2008; Igartua és mtsai, 2002; Molina-Cano és mtsai, 2007). Taketa és mtsai (2012)  $\beta$ -glükánt nem tartalmazó árpa mutánsokat vizsgálva kimutatták, hogy a  $\beta$ -glükán bioszintézisének fő meghatározója a *HvCslF6*. Eközben Németh és mtsai (2010) a *CslF6* gén  $\beta$ -glükán szintézisben betöltött szerepét transzgenikus búza növényekben is bizonyították RNSi szupresszióval.

### A táplálkozási összetétel javítása a CRISPR-Cas9 technológiával

A CRISPR-Cas9 technológia hatékony módot biztosít a gabonafélék táplálkozási összetételének javítására (Zhu és mtsai, 2020). Az *SBE* gének, köztük az *SBEIIb* CRISPR-Cas9 technológiával történő módosítása olyan rizsnövényeket eredményezett, amelyekben megváltozott a keményítő szerkezete és a táplálkozási tulajdonsága (Baysal és mtsai., 2020; S. Biswas és mtsai., 2022; Guo és mtsai, 2020; Sun és mtsai., 2017). A technikát ezen túl alacsony gluténtartalmú búza előállítására is alkalmazták (Sánchez-León és mtsai., 2018). Az  $\alpha$ -gliadin gén 33 (-mer) tagú peptidjének két 'single-guide' RNS-sel történő módosítása 21 olyan búza mutáns eredményezett, amelyekben már szignifikánsan kisebb volt az indokolatlan gliadin mutációk száma. Ezekből a cöliákia kiváltására csökkent immunreaktivással rendelkező, nem transzgenikus vonalakat választottak ki növénynevelési programokba való hasznosításra (Sánchez-León és mtsai, 2018).

A gabonaszemek táplálkozási minőségének javítására szolgáló alternatív megközelítések közé tartozik a hasznos kulcsgének közvetlen expresszállása a gabonaszemekben, az úgynevezett biofortifikációs folyamat során, vagy pedig a főbb antinutritív anyagok, például a fitinsav mennyiségének csökkentése. Az előbbi alkalmazáshoz Dong és mtsai (2020) egy CRISPR-Cas9-alapú módszert alkalmaztak a 'Golden Rice' karotinoid kazettájának célzott beillesztésére a rizs genomjába, ami végül megnövelt karotinoid tartalmú transzgen-mentes növényeket eredményezett. Az antinutritív anyagok csökkentését illetően a CRISPR-Cas9 technikát használták a foszfolipáz D gén (*OsPLDd1*) mutációk metabolitokra gyakorolt hatásainak vizsgálatára rizsben (Khan és mtsai, 2019). Két *ospld1* mutánszt azonosítottak, amelyekben a foszfatidsav-termelés csökkenését valamint a citidin-difoszfát-diacil-glicerol és a foszfatidil-inozitol alacsonyabb felhalmozódását mutatták ki. Emellett a mutánsok fitinsavtartalma is szignifikánsan csökkent a vad típushoz képest, a fitinsav bioszintézis útvonalában részt vevő kulcsgének expressziós mintázata pedig megváltozott (Khan és mtsai, 2019).

### Irodalomjegyzék

- Anders N., Wilkinson M.D., Lovegrove A., Freeman G., Tryfona T., Pellny T.K. et al. (2012). Glycosyl transferases in family 61 mediate arabinofuranosyl transfer onto xylan in grasses. PNAS, 109, 989-993.
- Baysal C., He W., Drapal M., Villorbina G., Medina V., Capell T., ... Christou P. (2020). Inactivation of rice starch branching enzyme IIb triggers broad and unexpected changes in metabolism by transcriptional reprogramming. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 117, 26503–26512.

- Bird A. R., Regina A. (2018). High amylose wheat: A platform for delivering human health benefits. *Journal of Cereal Science*, 82, 99–105.
- Biswas S., Ibarra O., Shaphek M., Molina-Risco M., Faion-Molina M., Thomson M.M.J., & Septiningsih E.M.E. (2022). Increasing the level of resistant starch in the rice cultivar Presidio through multiplex CRISPR-Cas9 gene editing of starch branching enzyme genes. *Plant Genome*2, In press.
- Blauth S. L., Kim K.-N., Klucinec J., Shannon J. C., Thompson D., Guiltinan M. (2002). Identification of Mutator insertional mutants of starch-branching enzyme 1 (*sbe1*) in *Zea mays* L. *Plant Molecular Biology*, 48, 287–297.
- Botticella E., Sestili F., Sparla F., Moscatello S., Marri L., Cuesta-Seijo J.A. et al. (2018). Combining mutations at genes encoding key enzymes involved in starch synthesis affects the amylose content, carbohydrate allocation and hardness in the wheat grain. *Plant Biotechnology Journal*, 16, 1723–1734.
- Burton R.A., Jobling S.A., Harvey A.J., Shirley N.J., Mather D.E., Bacic A. et al (2008). The genetics and transcriptional profiles of the cellulose synthase-like HvCslF gene family in barley. *Plant Physiology*, 146, 1821–1833.
- Burton R.A., Wilson S.M., Hrmova M., Harvey A.J., Shirley N.J., Medhurst A. et al. (2006). Cellulose synthase-like CslF genes mediate the synthesis of cell wall (1,3;1,4)-beta-D-glucans. *Science*, 311, 1940-1942.
- Carciofi M., Blennow A., Jensen S.L., Shaik S.S., Henriksen A., Buléon A. et al. (2012). Concerted suppression of all starch branching enzyme genes in barley produces amylose-only starch granules. *BMC Plant Biology*, 12, 223.
- Charmet G., Masood-Quraishi U., Ravel C., Romeuf I., Rakszegi M., Guillon F. et al. (2009). Genetics of dietary fibre in bread wheat. *Euphytica*, 170, 155–168.
- Doblin M.S., Pettolino F., Bacic A. (2010). Plant cell walls: the skeleton of the plant world. *Functional Plant Biology*, 37, 357–381.
- Doblin M.S., Pettolino F.A., Wilson S.M., Campbell R., Burton R.A., Fincher G.B. et al. (2009). A barley cellulose synthase-like CSLH gene mediates (1,3;1,4)-beta-D-glucan synthesis in transgenic *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,
- Dong O.X., Yu S., Jain R., Zhang N., Duong P. Q., Butler C., ... Ronald P. C. (2020). Marker-free carotenoid-enriched rice generated through targeted gene insertion using CRISPR-Cas9. *Nature Communications*, 11(1), 1178.
- Flipse E., Keetels C., Jacobsen E., Visser R. (1996). The dosage effect of the wildtype GBSS allele is linear for GBSS activity but not for amylose content: Absence of amylose has a distinct influence on the physico-chemical properties of starch. *International Journal of Plant Breeding Research*, 92, 121–127.
- Freeman J., Lovegrove A., Wilkinson M.D., Saulnier L., Shewry P.R., Mitchell R.A.C. (2016). Effect of suppression of arabinoxylan synthetic genes in wheat endosperm on chain length of arabinoxylan and extract viscosity. *Plant Biotechnology Journal*, 14, 109-116.
- Fujita N., Yoshida M., Asakura N., Ohdan T., Miyao A., Hirochika H. et al. (2006). Function and characterization of starch synthase I using mutants in rice. *Plant Physiology*, 140, 1070–1084.
- Guo D., Ling X., Zhou X., Li X., Wang J., Qiu S., ... Zhang B. (2020). Evaluation of the Quality of a High-Resistant Starch and Low-Glutelin Rice (*Oryza sativa* L.) Generated through CRISPR/Cas9-Mediated Targeted Mutagenesis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(36), 9733–9742.
- Hogg A.C., Giroux M.J. (2019). Milling and baking quality of hexaploid spring wheat starch synthase IIa (*ssIIa*) mutants with elevated amylose content. *Cereal Chemistry*, 96, 532-544.
- Hogg A.C., Martin J.M., Giroux M.J. (2017). Novel *ssIIa* alleles produce specific seed amylose levels in hexaploid wheat. *Cereal Chemistry*, 94, 1008–1015.
- Igartua E., Hayes P.M., Thomas W.T.B., Meyer R., Mather D.E. (2002). Genetic control of quantitative grain and malt quality traits in barley. *Journal of Crop Production*, 5, 131–164.
- Jane J.-L., Chen Y. Y., Lee L.F., McPherson A.E., Wong K.S., Radosavljevic M., Kasemsuwan T. (1999). Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. *Cereal Chemistry*, 76, 629–637.
- Jobling S.A., Schwall G.P., Westcott R.J., Sidebottom C.M., Debet M., Gidley M.J. et al. (1999). A minor form of starch branching enzyme in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers has a major effect on starch structure: Cloning and characterisation of multiple forms of SBE A. *Plant Journal*, 18, 163–171.
- Khan M.S.S., Basnet R., Islam S.A., & Shu Q. (2019). Mutational Analysis of *OsPLDα1* Reveals Its Involvement in Phytic Acid Biosynthesis in Rice Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(41), 11436–11443.
- Konik-Rose C., Thistleton J., Chanvrier H., Tan I., Halley P., Gidley M et al. (2007). Effects of starch synthase IIa gene dosage on grain, protein and starch in endosperm of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 115, 1053-1065.
- Li H., Gidley M.J., Dhital S. (2019). High-Amylose Starches to Bridge the “Fiber Gap”: Development, Structure, and Nutritional Functionality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18, 362-379.
- Li J.R., Zhao W., Li Q.Z., Ye X.G., An B.Y., Li X., Zhang X.S. (2005). RNA silencing of *Waxy* gene results in low levels of amylose in the seeds of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.). *Yi Chuan Xue Bao.*, 32, 846-54.
- Lovegrove A., Wilkinson M.D., Freeman J., Pellny T.K., Tosi P., Saulnier L., et al. (2013). RNA interference suppression of genes in glycosyl transferase families 43 and 47 in wheat starchy endosperm causes large decreases in arabinoxylan content. *Plant Physiology*, 163, 95-107.
- Martinant J.P., Billot A., Bouguennec A., Charmet G., Saulnier L., Branlard G. (1999). Genetic and environmental variations in water-extractable arabinoxylans content and flour extract viscosity. *Journal of Cereal Science*, 30, 45-48.
- Mitchell R.A.C., Dupree P., Shewry P.R. (2007). A novel bioinformatics approach identifies candidate genes for the synthesis and feruloylation of arabinoxylan. *Plant Physiology*, 144, 43-53.
- Molina-Cano J.L., Moralejo M., Elia M., Munoz P., Russell J.R., Perez-Vendrell A.M. et al. (2007). QTL analysis of a cross between European and North American malting barleys reveals a putative candidate gene for beta-glucan content on chromosome 1H. *Molecular Breeding*, 19, 275–284.

- Morell, M. K., Kosar-Hashemi, B., Cmiel, M., Samuel, M. S., Chandler, P., Rahman, S. et al. (2003). Barley sex6 mutants lack starch synthase IIa activity and contain a starch with novel properties. *Plant Journal*, 34, 173–185.
- Nakamura Y. (2018). Rice starch biotechnology: Rice endosperm as a model of cereal endosperms. *Starch-Starke*, 70, 1600375.
- Nakamura Y. (2018). Rice starch biotechnology: Rice endosperm as a model of cereal endosperms. *Starch-Starke*, 70, 1600375.
- Nakamura, Y., Utsumi, Y., Sawada, T., Aihara, S., Utsumi, C., Yoshida, M. et al. (2010). Characterization of the reactions of starch branching enzymes from rice endosperm. *Plant and Cell Physiology*, 51, 776–794.
- Németh C., Freeman J., Jones H.D., Sparks C., Pellny T.K., Wilkinson M.D. et al. (2010). Downregulation of the CSLF6 gene results in decreased (1,3;1,4)- $\beta$ -D-glucan in endosperm of wheat. *Plant Physiology*, 152, 1209–1218.
- Nishi, A., Nakamura, Y., Tanaka, N., Satoh, H. (2001). Biochemical and genetic analysis of the effects of amylose-extender mutation in rice endosperm. *Plant Physiology*, 127, 459–472.
- Pellny T.K., Lovegrove A., Freeman J., Tosi P., Love C.G., Knox J.P. et al. (2012). Cell walls of developing wheat starchy endosperm: comparison of composition and RNA-Seq transcriptome. *Plant Physiology*, 158, 612–627.
- Quraishi U.M., Murat F., Abrouk M., Pont C., Confolent C., Oury F.X. et al. (2011). Combined meta-genomics analyses unravel candidate genes for the grain dietary fiber content in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Functional Integrative Genomics*, 11, 71–83.
- Regina A., Berbezy P., Kosar-Hashemi B., Li S., Cmiel M., Larroque O. et al. (2015). A genetic strategy generating wheat with very high amylose content. *Plant Biotechnology Journal*, 13, 1276–1286.
- Regina A., Bird A., Topping D., Bowden S., Freeman J., Barsby T. et al. (2006). High-amylose wheat generated by RNA interference improves indices of large-bowel health in rats. *PNAS USA*, 103, 3546–3551.
- Regina A., Kosar-Hashemi B., Li Z., Rampling L., Cmiel M., Gianibelli M.C. et al. (2004). Multiple isoforms of starch branching enzyme-I in wheat: Lack of the major SBE-I isoform does not alter starch phenotype. *Functional Plant Biology*, 31, 591–601.
- Regina A., Kosar-Hashemi B., Ling S., Li Z., Rahman S., Morell, M. (2010). Control of starch branching in barley defined through differential RNAi suppression of starch branching enzyme IIa and IIb. *Journal of Experimental Botany*, 61, 1469–1482.
- Sánchez-León S., Gil-Humanes J., Ozuna C.V., Giménez M.J., Sousa C., Voytas D.F., & Barro F. (2018). Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnology Journal*, 16(4), 902–910.
- Satoh H., Nishi A., Yamashita K., Takemoto Y. (2003). Starch-branching enzyme I-deficient mutation specifically affects the structure and properties of starch in rice endosperm. *Plant Physiology*, 133, 1111–1121.
- Schönhofen A., Hazard B., Zhang X., Dubcovsky J. (2016). Registration of common wheat germplasm with mutations in SBEII genes conferring increased grain amylose and resistant starch content. *Journal of Plant Registration*, 10, 200–205.
- Schönhofen A., Zhang X., Dubcovsky J. (2017). Combined mutations in five wheat Starch Branching Enzyme II genes improve resistant starch but affect grain yield and bread-making quality. *Journal of Cereal Science*, 75, 165–174.
- Schreiber M., Wright F., MacKenzie K., Hedley P.E., Schwerdt J.G., Little A. et al. (2014). The barley genome sequence assembly reveals three additional members of the *CsIF* (1,3;1,4)- $\beta$ -Glucan Synthase gene family. *PLoS ONE* 9(3): e90888.
- Sestili F., Botticella E., Proietti G., Janni M., D'Ovidio R., Lafiandra D. (2012). Amylose content is not affected by overexpression of the *Wx-B1* gene in durum wheat. *Plant Breeding*, 131, 700–706.
- Slade A.J., McGuire C., Loeffler D., Mullenberg J., Skinner W., Fazio G. et al. (2012). Development of high amylose wheat through TILLING. *BMC Plant Biology*, 12, 69.
- Sun Y., Jiao G., Liu Z., Zhang X., Li J., Guo X., ... Xia L. (2017). Generation of High-Amylose Rice through CRISPR/Cas9-Mediated Targeted Mutagenesis of Starch Branching Enzymes. *Frontiers in Plant Science*, 8, 298.
- Taketa S., Yuo T., Tonooka T., Tsumuraya Y., Inagaki Y., Haruyama N. et al. (2012). Functional characterization of barley betaglucanless mutants demonstrates a unique role for CsIF6 in (1,3;1,4)- $\beta$ -D-glucan biosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 63, 381–392.
- Tetlow I.J. (2011). Starch biosynthesis in developing seeds. *Seed Science Research*, 21(1), 5–32.
- Tetlow I.J., Emes M.J. (2014). A review of starch-branching enzymes and their role in amylopectin biosynthesis. *IUBMB Life*, 66, 546–558.
- Tetlow I.J., Wait R., Lu Z.X., Akkasaeng R., Bowsher C.G., Esposito S. et al. (2004b). Protein phosphorylation in amyloplasts regulates starch branching enzyme activity and protein-protein interactions. *Plant Cell*, 16, 694–708.
- Tomlinson K., Denyer K. (2003). Starch synthesis in cereal grains. *Advances in Botanical Research*, 40, 1–61.
- Viallis B., Berbezy P. (2020) Breeding Approaches for Nutritional Quality traits in wheat. *Cereal Foods World*, 65, 3.
- Wan Y., Poole R.L., Huttly A.K., Toscano-Underwood C., Feeney K., Welham S. et al. (2008). Transcriptome analysis of grain development in hexaploid wheat. *BMC Genomics* 9, 121.
- Wang J., Hu P., Chen Z., Liu Q., Wei C. (2017). Progress in high-amylose cereal crops through inactivation of starch branching enzymes. *Frontiers in Plant Science*, 8, 469.
- Yamamori M., Fujita S., Hayakawa K., Matsuki J., Yasui T. (2000). Genetic elimination of starch granule protein, SGP-1, of wheat generates and altered starch with apparent high amylose. *Theoretical and Applied Genetics*, 101, 21–29.
- Yoo S.-H., Jane J.-L. (2002). Structural and physical characteristics of waxy and other wheat starches. *Carbohydrate Polymers*, 49(3), 297–305.
- Zeeman S.C., Kossmann J., Smith A.M. (2010). Starch: Its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 209–234
- Zeng W., Jiang N., Nadella R., Killen T.L., Nadella V., Faik A.A. (2010). Glucurono(arabino)xylan Synthase Complex from Wheat Contains Members of the GT43, GT47, and GT75 Families and Functions Cooperatively. *Plant Physiology*, 154, 78–97.
- Zhu H., Li C., & Gao C. (2020). Applications of CRISPR–Cas in agriculture and plant biotechnology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(11), 661–677.

## **2. Mikorra várható olyan búzafajták előállítása, melyek az *Aegilops*-ból átvitt amilóz- és rostanyag-mennyiséget meghatározó géneket tartalmazzák?**

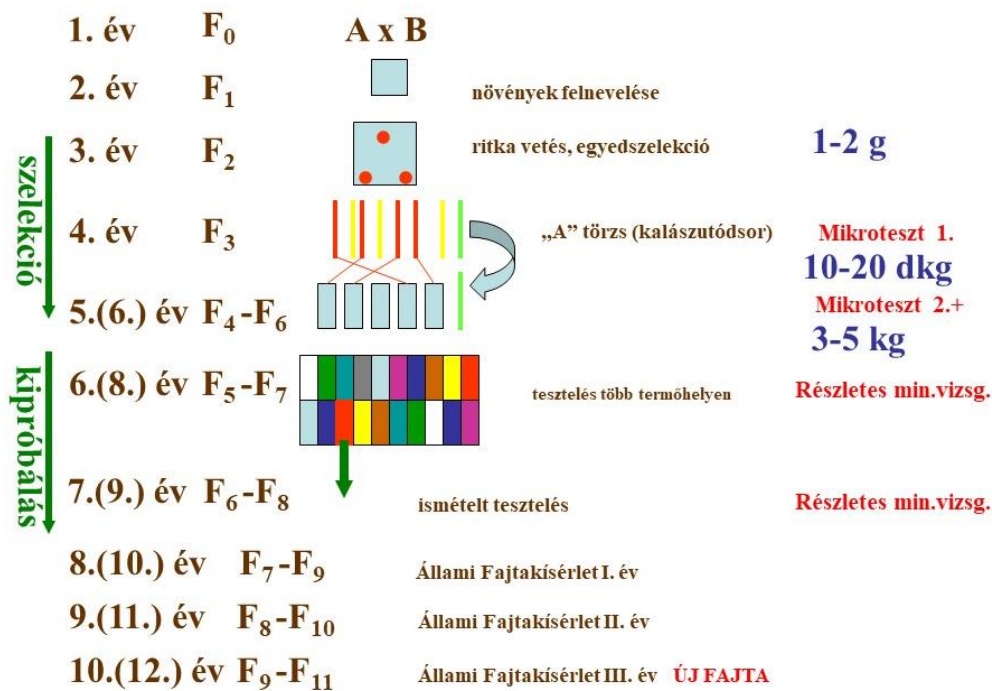
Az eredményeink arra utalnak, hogy a hexaploid búza genomjához addicionált 5-ös (5U és 5M) és 7-es (7U és 7M) homeológ csoportokhoz tartozó *Aegilops* kromoszómák szignifikánsan növelhetik a búza szemtermésének néhány minőségi paraméterét (pl. a  $\beta$ -glükán tartalmát). Az az időtartam, ami ahhoz szükséges, hogy e tulajdonságokat meghatározó *Aegilops* gének megjelenjenek a martonvásári búzafajtákban két fő innovációs folyamattól függ. Az első egy előnemesítési, ún. prebreeding folyamat, ami ahhoz szükséges, hogy a rendelkezésre álló addíciós vonalokból olyan transzlokációs vonalakat hozzunk létre, melyek lehetőség szerint minél kisebb *Aegilops* kromoszómaszegmentum formájában hordozzák a minőségi paramétereket befolyásoló géneket. E búza –*Aegilops* transzlokációs vonalokban ugyanakkor a kieső búza géneket kompenzálnia kell az *Aegilops* géneknek, amire nagy esély van akkor, ha homeológ rekombinációt próbálunk indukálni a búza és az idegen kromoszómák közt. Ennek érdekében, olyan búza vonallal keresztezik az addíciós vonalakat, amelyekben egy deléción következtében hiányzik az a Ph1 lókuszt az 5B kromoszóma hosszú karjáról, ami biztosítja a normál kariotípussal rendelkező búzában, hogy csak a homológ kromoszómák párosodjanak és rekombináldjanak a meiózis során, a homeológ búza-*Aegilops* kromoszómák pedig szinte sohasem. E keresztezések 2. és 3. utódnemzedékében számíthatunk búza-*Aegilops* homeológ rekombinációk kialakulására. A későbbiekben szükséges a kialakult rekombináns kromoszómák homozigóta formába hozása és a ph1b mutáns 5B kromoszómák eltávolítása a genomból, ami további keresztezési lépéseket és szigorú citogenetikai kontrollt igényel. Az 5-6 évre becsült folyamat, az *Aegilops* kromoszómára, valamint az 5B kromoszóma deléción szakaszára specifikus molekuláris markerekkel gyorsítható.

Az előnemesítési eredményeként létrehozott, jó minőségi mutatókkal rendelkező transzlokációs vonalak kerülnek a második folyamatba, mely a fajtaelőállító nemesítést célozza.

A fajtaelőállító búzanemesítés folyamata (1. ábra) átlagosan 10 évet vesz igénybe. Ennek során nagy termés hozamú, jó agronómiai tulajdonságokkal és/vagy jó sütőipari minőséggel rendelkező fajtákat keresztezünk a speciális *Aegilops* genomot tartalmazó előnemesítésből származó vonalakkal üvegházi vagy szántóföldi körülmények között. A így létrejött F1 hibridek felnevelése és aratása után az F2 szegregáló generációban történik meg az egyedszelekció. Ennek során változatos morfológiai tulajdonságokkal rendelkező, de egészséges kalászkok kerülnek begyűjtésre, amelyeket kalászutódsoros formában vetünk el az F3 generációban. A kalászutódsorokból szelektált törzseket az F4 generációban már parcellákban vetjük el. Az egyöntetű parcellák a következő években több parcellás, majd több ismétléses, végül több termőhelyes kísérletekbe kerülnek évről-évre. A törzsek minőség vizsgálata az F4 generációban kezdődik, míg a termésösszehasonlítás és értékelés a többismétléses kísérletekben indul. A szelektált törzsek az F7-F9 generációban kerülnek először állami fajtakísérletekbe, ahol három évi sikeres tesztelés után engedélyezik a fajtaoltalom megadását. A szelekció során fontos lehet a nemesítés célját képező kémiai komponens mennyiségének mérése és/vagy genetikai háttérének igazolása molekuláris markerekkel. A tulajdonság stabilitásának igazolására, fontos ezeket az analíziseket generációról generációra ismételni.

Összefoglalva tehát kb. 15 évet vesz igénybe az, hogy a kedvező minőségi mutatókért felelős *Aegilops* gének megjelenjenek a martonvásári búzafajtákban is.





1.ábra A búzanemesítés folyamata

3. Táplálkozási szempontból fontos xilo-oligoszacharidok (XOS) új élelmiszerként való használatának engedélyezése az Európai Unióban nem régen megtörtént. Hogyan látja az Ön által vizsgált búzafajták felhasználhatóságát és annak gazdasági vonzerejét?

**A funkcionális élelmiszer fogalma**

Az ember életében az egyik legfontosabb dolog az egészség megőrzése. E cél elérésére különféle eszközök állnak rendelkezésre, amelyek közül az egyik legfontosabb a megfelelő táplálkozás. Nemcsak az egyének, de az élelmiszeripar is próbál felkészülni ezen igény kielégítésére egészségesebb élelmiszerek előállításával. Ennek fontos előfeltétele volt a funkcionális élelmiszer definíciójának a megszületése. A funkcionális élelmiszer fogalmát 1980-tól Japánban használták először. Európában az Európai Élelmiszer-információs Bizottság (EUFIC) 2006-ban határozta meg a funkcionális élelmiszer definícióját.

Egy összesített, általános megfogalmazás szerint 'a funkcionális élelmiszer, olyan természetes vagy feldolgozott élelmiszer, amely ismert biológiailag aktív vegyületeket (ásványi anyag, antioxidáns, rost, probiotikum) tartalmaz, illetve ha meghatározott mennyiségben és minőségben adagoljuk, klinikailag bizonyított és dokumentált egészségügyi hatása kimutatható' (Herdon és Nábrádi, 2014). A funkcionális élelmiszerek egészségvédő hatásukkal megelőzik, lassítják a civilizációs betegségek terjedését.

A funkcionális élelmiszerek csoportosítását 4 évvel később dolgozták ki az EU-ban (EC2010:7).

**A XOS mint funkcionális élelmiszer adalék**

Számos, prebiotikus tulajdonságokkal rendelkező funkcionális terméket, például xilo-oligoszacharidokat (XOS), frukto-oligoszacharidokat (FOS), galakto-oligoszacharidokat (GOS), kito-oligoszacharidokat (COS), alginát-oligoszacharidokat (AOS) használnak széles körben élelmiszer és takarmány adalékként. Ezen prebiotikumok közül a xilo-oligoszacharidok (XOS) nagyon ígéretesnek tekinthetők. Az XOS a xilán lebomlott terméke, amelyet mezőgazdasági termékek vagy maradványok kémiai, fizikai vagy enzimatis lebonntásával állítanak elő. A XOS nemcsak hogy specifikus fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkezik, mint például a kiváló vízoldhatóság vagy a hőállóság, de számos funkcionális biológiai aktivitása is van, beleértve a gyulladásgátló, antioxidáns, daganatellenes, antimikrobiális tulajdonságokat. Chen és mtsai 2021-es összefoglaló cikkében részletesen ismerteti a XOS komponensek valamint azok előállításának előnyeit és hátrányait (2-4. ábra). Véleményük szerint

a XOS előkészítésében és alkalmazásában számos szűk keresztmetszet van. Így a szabványosított előállítási módszerek hiánya miatt nehéz nagy méretű, nagy tisztaságú XOS-termékeket beszerezni, és a különböző polimerizációs fokú XOS-sorozatok minősége nem egységes. A piacon lévő XOS termékek főként keverékek, nem monomerek. Előállításhoz használt módszerek költségesek, alacsony a kihatásuk és/vagy környezetszennyezőek (3. ábra). Technológiákat kell fejleszteni ezért a nagy tisztaságú XOS monomerek alacsony költséggel történő előállítására. Emellett újabb vizsgálatokra van szükség, hogy jobban megismerjük a XOS működésének molekuláris mechanizmusát. További információra van szükség a XOS felszívódásának módjáról a gazdaszervezetben, valamint a XOS célsejtekbe történő szállításáért felelős receptorokról. E területeken elért eredmények elősegíthetik a XOS értékének növekedését az emberi betegségek megelőzésében és kezelésében, valamint az állattenyésztésben.

### **A funkcionális élelmiszerek piaca**

Mint ahogy azt a "Különböző gabona alapú, rostanyagban dúsított élelmiszerek fogyasztói elfogadottsága" című szakdolgozatomban kifejtettem (Rakszegi, 2021): annak ellenére, hogy a funkcionális élelmiszer fogalmát már szinte világszerte meghatározták mégis nehéz e termékek piacát megbecsülni (Kotilainen és mtsai, 2006). Ez feltehetőleg annak köszönhető, hogy mind a kutatások száma, mind az élelmiszeripar érdeklődése intenzíven nő a funkcionális élelmiszerek kapcsán, amely egy nehezen követhető, intenzív fejlődést eredményez. Az Euromonitor felmérése szerint a funkcionális élelmiszerek legjelentősebb piaca Japán, majd ezt követi az Amerikai Egyesült Államok. Ehhez képest Európában a funkcionális élelmiszerek piaca kevésbé jelentős mértékű. E három régió együtt adja azonban a funkcionális élelmiszerek teljes értékesítésének 90%-át (Benkouider, 2005).

Japánban 1988 és 1998 között több mint 1700 funkcionális terméket dobtak piacra (Hilliam, 2000). Az európai tanulmányok (Bech-Larsen és Scholderer 2007, Makinen-Aakula, 2006) nagy regionális heterogenitást mutatnak a funkcionális élelmiszerek elfogadottságában és felhasználásában. Közép- és észak-európai országokban a fogyasztók érdeklődése a funkcionális élelmiszerek iránt nagyobb, mint a mediterrán országokban (Van Trijp 2007). A piacvezetők az Egyesült Királyság, Németország, Franciaország és Olaszország. Újonnan feltörekvő piacoknak tekinthetők Magyarország és Lengyelország.

A élelmiszeripar különböző ágazatai közül, funkcionális élelmiszereket elsősorban a tej-, a cukrász-, az üdítő-, a sütő- és a bébiétel- piacán fejlesztettek ki a különböző iparágak (Kotilainen és mtsai 2006, Menrad 2003).

A funkcionális élelmiszerek célja alapján alternatív osztályozást is bevezettek (Makinen-Aaakula, 2006), mely alapján a funkcionális élelmiszereket három csoportba sorolták:

- az ételek, melyek jó minőségű ételt adnak és javítják az életminőséget (pl. pre- és probiotikumok)
- ételek, melyek csökkentik a fennálló egészségügyi problémák kockázatát (pl. magas koleszterinszint v. vérnyomás)
- ételek, melyek megkönnyítik az életet (pl. laktóz vagy gluténmentes termékek)

Más megközelítésben megkülönböztetnek gyerek ételeket, hipoallergén ételeket és fogyókúrás ételeket (Hasler és mtsai, 2009).

Európában és Japánban a funkcionális élelmiszerek piacát a probiotikumok uralják. Egy év alatt, 2005-ben világszerte több mint 370 új terméket vezettek be (Ouwehand, 2007). A probiotikumok közül leginkább a tejsav- és a bifido-baktériumok terjedtek el (Kociubinski és Salminen, 2006). Fő piacai Skandinávia, Hollandia, Svájc, Horvátország, Észtország valamint Görögország, Franciaország és Spanyolország (Makinen-Aakula, 2006). A termékek sikere köszönhető egyrészt a pozitív fogyasztói hozzáállásnak (Szakály és mtsai, 2007) illetve a tejtermékek terén végzett intenzív kutatás-fejlesztési tevékenységnek, melynek eredményeként számos probiotikus ivójoghurt született (pl. Actimel, Activia, Hellus) (Siró és mtsai 2008, Szakály 2007).

A probiotikus kultúrák növekedését és túlélését fokozza a prebiotikumok jelenléte, ezért a prebiotikumokat leginkább a probiotikumokkal együtt dúsítják élelmiszerekben. A prebiotikumok olyan szénhidrátok, amelyek szelektíven táplálják a vastagbél jótékony baktériumait (bifidobaktériumok, Lactobacillusok). A prebiotikumok iránti globális kereslet 167000 tonna és 390 millió euró körüli. Közülük a fő prebiotikus komponensek a frukto-oligosaccharidok (FOS), az inulin, az izomalto-

oligosaccharid (IMO), a polidextróz, a laktulóz és a rezisztens keményítő (RS). Japánban elsősorban szója-, galakto-, és xilo-oligosaccharidokat forgalmazznak (SOS, GOS, XOS) (Ouweland, 2007).

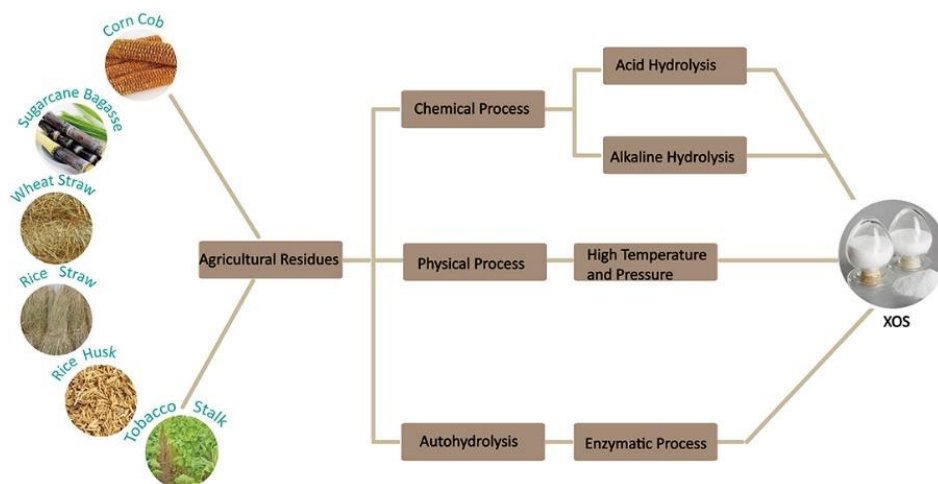
A gabonafélék közül, elsősorban árpa és zab fajtákat használnak előszeretettel természetes prebiotikum forrásként. Ezek vízben oldódó rostokat például  $\beta$ -glükánt és arabinoxilánt (AX) valamint GOS, FOS és RS komponenseket tartalmaznak. A gabonakeményítőt prebiotikum kapszulák készítésére használják (Brennan és Cleary, 2005, Charalampopoulos és mtsai 2002). A  $\beta$ -glükánt, a sütő- és tej-iparban hasznosítják (Siro és mtsai, 2008), például, alacsony zsírtartalmú fagyaltok és joghurtok gyártásánál a gombócformáló képesség és az érzékszervi tulajdonságok megőrzése céljából.

### Gabonafélék piaca

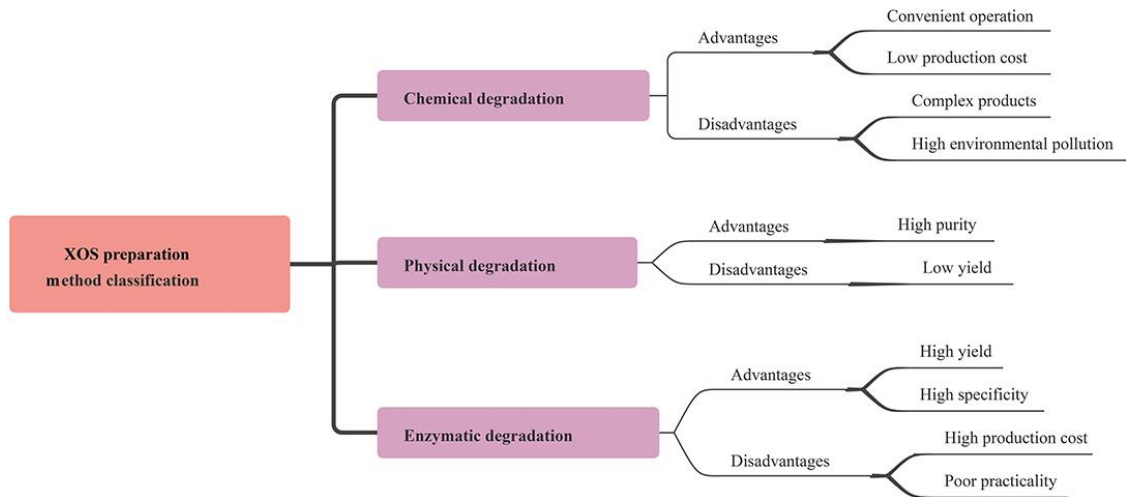
A prebiotikumok fentiekben felvázolt élelmiszerpiaci hasznosítása elsősorban növényi alapanyagokból kivont és dúsított termékek adalékanyagként történő felhasználását foglalja össze. A fentiekből kiderült azonban, hogy a prebiotikus komponensek kinyerésére használt fizikai-kémiai módszereknek számos hátránya van. Ezen túl a fogyasztók is kevésbé fogadják el az élelmiszer adalékanyagokat, mint a természetes eredetű alapanyagokat. Az új, rostban gazdag fajták előállításának ezért különös jelentősége van.

Az első, gyakorlatban is hasznosuló eredményeket a rostban dús gabonafélék terén az SBEII működésének inaktíválásával érték el 2020-ban. A Limagrain az ausztrál CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation) kutatóintézet és a GRDC (Grain Research and Development Corporation) együttműködésével hozta létre első egészséges, nagy rezisztenskeményítő-tartalmú búzafajtáját (Viallis és Berbezy, 2020), melyet LifyWheat-nek neveztek el. Ez az új fajta 40%-ban tartalmaz rostanyagot, melyből 30% rezisztens keményítő. Ez igen magas arány a normál búza 13 és 5%-os értékeihez képest.

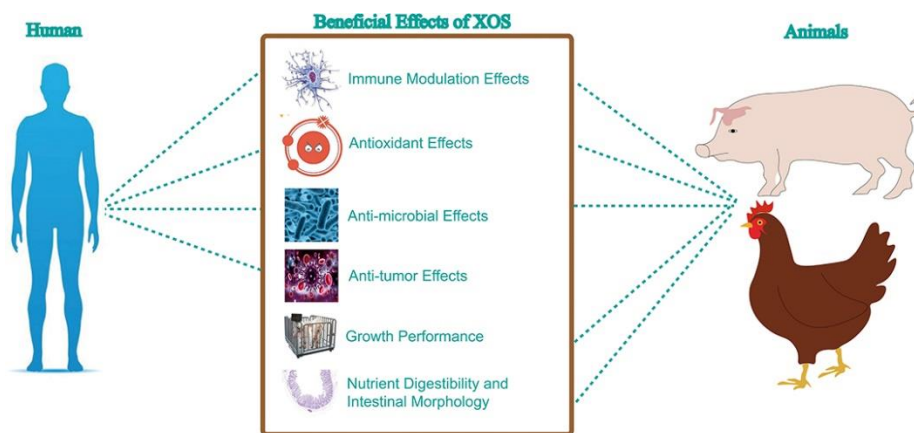
Ezen túl egyéb gabonaféléket és termékeket is kifejlesztettek, amelyek piaci értékesítését elsősorban spin-off cégek létrehozásával valósították meg elsősorban az ázsiai piacon. Mindez azt sugallja, hogy az egészséges gabonafélék piaca egy viszonylag szűk, specifikus igényeket kielégítő piac, vagyis céltermeléssel és célzott feldolgozóipari céllal hasznosítható. Arra vonatkozóan azonban nem találtam információt, hogy ezeknek a speciális vetőmagoknak, örleményeknek és egyéb termékeknek milyen a piaci részesedése.



2.ábra A XOS előállítására használatos mezőgazdasági maradványok (Chen et al. 2021)



3.ábra A XOS előállítására használt módszerek jellemzői (Chen és mtsai , 2021)



4.ábra A XOS egészségügyi előnyei (Chen és mtsai, 2021)

#### Irodalomjegyzék

- Bech-Larsen T., Scholderer J. (2007). Functional foods in Europe: consumer research, market experiences and regulatory aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 231-234.
- Benkouider C. (2005). The world's emerging markets. *Functional Foods and Nutraceuticals*. Available at: <http://www.ffnmag.com/NH/ASP/strArticleID/770/strSite/FFNSite/articleDisplay.asp> Accessed 09.10.12.
- Brennan C.S., Cleary, L.J. (2005). The potential use of cereal (1/3, 1/4)-b-D-glucans as functional food ingredients. *Journal of Cereal Science*, 42, 1-13.
- Charalampopoulos D., Wang R., Pandiella S., Webb C. (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 79, 131-141.
- Chen Y., Xie Y., Ajuwon K.M., Zhong R., Li T., Chen L., Zhang H., Beckers Y., Everaert N. (2021). Xylo-Oligosaccharides, Preparation and Application to Human and Animal Health: A Review. *Frontiers in Nutrition*, Volume 8, Article 731930.
- Hasler C. M., Brown A. C., American Dietetic Association. (2009). Position of the American Dietetic Association: functional foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 109, 735-746.
- Herdon I., Nádrádi A. (2014). A piacra jutás lehetőségei a funkcionális élelmiszerek területén. *Táplálkozásmarketing*, 1, (1-2) 55-56.
- Hilliam M. (2000). Fortified juice trends. *The World of Food Ingredients*, 12, 17-19.
- Kociubinski G., Salminen S. (2006). Probiotics: basis, state of the art and future perspectives. In *Functional food network general meeting*.
- Kotilainen L., Rajalahti R., Ragasa C., Pehu E. (2006). Health enhancing foods: Opportunities for strengthening the sector in developing countries. Discussion Paper, 30. Washington, DC: World Bank.
- Makinen-Aakula M. (2006). Trends in functional foods dairy market. In *Proceedings of the third functional food net meeting*.
- Menrad K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56, 181-188.
- Ouwehand A. (2007). Success in applying pro- and prebiotics in dairy products. In *Proceedings of the fourth international FFNet meeting on functional foods*.

- Rakszegi M. (2021). Különböző gabona alapú, rostanyagban dúsított élelmiszerek fogyasztói elfogadottsága. Budapesti Corvinus Egyetem, Marketing Intézet, Mérnök-közgazdász szakirányú továbbképzés. Szakdolgozat.
- Siró I., Kápolna E., Kápolna B., Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - a review. *Appetite*, 51, 456-467.
- Szakály Z, Szigeti O., Máthé, A., Sente V. (2007). Nutrmarketing in the service of functional foods. *In International developments in science & health claims, ILSI international symposium on functional foods in Europe*.
- Van Trijp H. (2007). Consumer understanding and nutritional communication. *In International developments in science & health claims, ILSI international symposium on functional foods in Europe*.

Köszönöm, hogy bírálóm időt szánt dolgozatom alapos átnézésére és véleményezésére és hogy hasznos észrevételeivel gazdagította jövőbeli munkám.

Martonvásár, 2022. 08. 12

Aláírás:



.....  
Dr. Rakszegi Marianna Györgyi