

**Válasz Prof. Dr. Tóth Magdolnának, az MTA doktorának, Halász Júlia Csonthéjas
gyümölcsfajok termékenyülési viszonyainak genetikai háttere c. akadémiai doktori (DSc)
értekezéséről készített bírálatára**

Köszönöm Opponensemnek, Prof. Tóth Magdolnának, az MTA doktorának, hogy doktori értekezésem bírálatát elvállalta. Köszönöm kedvező, támogató értékelését, segítőkész útmutatásait és kérdéseit. Az Opponensem által megfogalmazott kritikai észrevételekre és feltett kérdésekre az alábbiakban, sorrendben szeretnék reagálni. Szeretném kiemelni, hogy azokra a felvetésekre, amelyekkel teljes mértékben egyetértek, nem térek ki külön. Azokat maradéktalanul, egészében elfogadom.

Az Irodalmi áttekintésben valóban szerepelnek olyan fajok (cseresznye, japánszilva, japánkajszi, őszibarack), amelyek vizsgálata nem képezte a dolgozat részét. Ugyanakkor ezen fajoknál nem az inkompatibilitással kapcsolatos kutatások jelenlegi helyzetének bemutatása volt a céltom, hanem kifejezetten annak áttekintése, milyen biológiai okok vezethetnek az öntermékenyülés kialakulásához. A dolgozat egyik legfontosabb új tudományos eredménye a kajszi öntermékenyülését kialakító *FaSt* transzpozon azonosítása, ezért fontosnak éreztem bemutatni az összes olyan ismert mutációs eseményt a nemzetségben, amely a termékenyülési fenotípus megváltozását eredményezte. Mivel az általam nem vizsgált fajoknál is történtek ilyen molekuláris változások, ezért illesztettem be ezeket az információkat a tárgyalásba.

Külön köszönöm Opponensem azon megjegyzését, miszerint a saját vagy átdolgozott ábrák jól alkalmazhatók az oktatásban. Magyar és angol nyelven is tárgyfelelősként oktatom a Mezőgazdasági biotechnológus MSc képzés „Növényi szaporodásbiológia és biotechnológia” című tantárgyát és célirányosan törekedtem arra, hogy olyan ábraanyagot és animációkat készítssek, amik nagymértékben segítik a sokszor bonyolult molekuláris mechanizmusok egymásra épülő lépéseinek megértését és a folyamatok következményeit.

A növényanyag esetében a házi szilvák vadon termő állományokból kerültek begyűjtésre a térképen jelölt településekről. Ezek eredetéről annyit tudunk, hogy magoncfák, melyek a környező területeken élő vadállatok (nyest, borz, nagyobb testű madarak) és a falvak lakossága által szétterített magvakból származnak. A pollentömlő-növekedési vizsgálatokat magyar kajszi fajták esetében végeztem, amely eredmények a PhD disszertációmban szerepelnek. A jelen dolgozatban ilyen vizsgálat a marokkói oázisokból származó kajszi egységdek esetében történt, amelynek segítségével azonosítottuk a *FaSt* transzpozont. A vizsgálatra azért volt szükség, hogy egyértelműen bizonyítani tudjuk, az általunk izolált,

fészkes elrendezésű transzpozonkópiák is kizárólag öntermékenyülő genotípusokban fordulnak elő. A pollentömlő-növekedés monitorozására évente egyszer, virágzási időben van lehetőség, az adott helyszínen. Mivel ezek a fák Marokkóban találhatóak, nem én, hanem a kutatásban résztvevő, társszerző kollégám, Prof. Ossama Kodad helyben végezte el a mikroszkópos vizsgálatokat. Ennek a fontos kísérletnek a részletes eredményei megtalálhatók a közös publikációnkban, de az Eredmények fejezetbe csak a végkövetkeztetését írtam le, és az Anyag és módszer fejezetben is ezért nem szerepel, hiszen azokat manuálisan nem én végeztem el. Míg a DNS-minták nálunk vannak a tanszéki laboratóriumban, és minden DNS-alapú molekuláris vizsgálat az izolálástól kezdve a bioinformatikai analízisig a tanszékünkön történt, a kiegészítő mikroszkópos vizsgálatokat a módszer lényegéből fakadóan csak Marokkóban lehetett elvégezni.

A 14. ábrán látható aminosav-illesztésben nem szerepel az S_{39} -allél, mert másik régióban (SP-C2) írtuk le a szekvenciát a többi *S*-RN-ázhoz képest (C2-C3), amit a 15. ábra szemléltet. A 6. táblázatban ismertetett inkompatibilitási csoportok közül a kérdéses csoport az eredetileg leírt számmal szerepel. Tekintettel arra, hogy több kutatócsoport szimultán módon írt le inkompatibilitási csoportokat ugyanazon számokkal jelölve, illetve a mások által leírt néhány inkompatibilitási csoport létezését nem sikerült a későbbi molekuláris vizsgálatokkal megerősíteni, az ismert táblázatot és a csoportok nevét alaposan át kellett alakítani. Egy spanyol kutatócsoport végezte el az adatok revízióját (Gómez és mts., 2019) és az Eredmények megvitatásánál már én is ezt az új nevezéktant használtam, míg az Eredmények bemutatásánál néhány esetben még az eredeti publikációkban közzétett, régi elnevezések szerepelnek.

A *FaSt* transzpozon azért csak a *Prunus* nemzetségben van jelen, mert az evolúció viszonylag kései szakaszán alakult ki, azt követően, hogy a nemzetség különvált a közös ősi leszármazási útvonalon (Halász és mts., 2014). Az almatermésű fajoktól való elkülönülés időpontja, illetve a fűrtvirágzatú és a többi (sátorvirágzatú vagy magányos virágú) *Prunus* fajok elkülönülése közti időintervallum jelenlegi ismereteink alapján 1-5 millió évet ölelhet fel, ez a legvalószínűbb kialakulási ideje a *FaSt* transzpozonnak, ami a Paleocén-Eocén földtörténeti korok határán, valamikor a 60-50 millió évvel ezelőtti Selandi-Thaneti-Ypresi korszakok folyamán következhetett be. Ez a kialakulási idő konzisztens a *FaSt* jelenlegi előfordulásával, vagyis, hogy *FaSt* kópiák kizárólag *Prunus* fajokban fordulnak elő, viszont azok közül mind a 19 napjainkig vizsgált fajban jelen vannak.

A meggy festőlevűségére vonatkozó állításom esetében egy összetett mondat végére került a hivatkozás, ami valóban ilyen módon félreérthetővé vált: „a gyümölcs antocianintartalmában jelentkező különbségekért mindössze néhány gén (pl. MYB

transzkripciós faktorok) felelős, melyek aktivitását számos más tényező is befolyásolhatja, a gén kifejeződését befolyásoló mutációk egymástól függetlenül, több alkalommal is bekövetkezhetnek az egyes fejlődési ágakon, így önmagában a festőlevőség nem elegendő morfológiai marker a rokonsági kapcsolatok meghatározásához (Yang és mts., 2021; Liu és mts., 2023).” A két idézett hivatkozás nem azt állapította meg, hogy a festőlevőség nem elegendő morfológiai marker a rokonsági kapcsolatok meghatározásához, hanem az antocianinbioszintézisben résztvevő gének kifejeződésével és azokat befolyásoló mutációs eseményekkel foglalkozik, nem tér ki a rokonsági kapcsolatokra. Így a két hivatkozást azt követően lett volna szerencsés elhelyezni, hogy a *MYB* génben bekövetkező mutációk hatással vannak a cseresznye (ezeket a kísérleteket a meggy egyik szülőnövényén, cseresznyén végezték el) antocianintartalmára, mert a záró tagmondat a meggyfajtákra vonatkozó saját konklúzió, nem pedig e két kutatócsoport megállapítása.

A szilvafaj esetében a vizsgálat természetesen a teljes növényanyagra vonatkozott, de a helyhiány miatt a gélkép egy reprezentatív bemutató 35 minta esetében. Ugyanezen okból nem szerepel az összes szekvenciaillesztés a babérmeggy esetében, mert nagyon megnövelte volna a terjedelmet, de a vonatkozó publikációban megtalálható a „Supplementary”, mellékletek részben (Halász és mts., 2021).

Opponensem megjegyzi, hogy a gyakorlati hasznosulást érintő összefoglalóm kissé visszafogott volt, mert „gazdasági szempontból is felmérhetetlen, hiszen az eredményeknek faiskolák, szaktanácsadók, fajtaértékelő kutatók közvetítésével vagy közvetlenül történő eljuttatása a termelőkhez nemcsak költségmegtakarítást, hanem árbevétel növekedést is eredményezhet”. Ez valóban így van, mert csak azokat az adatokat írtam le, amelyről konkrét, „kézzel fogható” visszajelzés és dokumentált eredmények vannak a birtokomban. Azon gazdasági hasznosulás, amely az eredményeknek köszönhetően költségmegtakarítást eredményezett, pontos adatok hiányában csak nagyon óvatosan becsülhető, de nagyon bízom abban, hogy eredményeinknek ilyen pozitív hatásai a jövőben is megnyilvánulnak.

Kérdésekre adott válaszok:

1. A genetikai vizsgálatok során a diploid fajoknál alapvetően igazolódtak a fajtaleírásokban közölt megállapítások, valamint a korábbi hazai kutatások során végzett szabadföldi vizsgálatok eredményei. Az említett meggyfajtáknál a nemesítő részben öntermékenyülőként jelölte meg a fajták termékenyülési típusát. Genetikai szempontból ilyen kategóriát nem ismerünk, az öntermékenyülés kvalitatív tulajdonság, amit egyéb tényezők

ritkán befolyásolhatnak, mint például a 'Mandulakajsi' esete. Itt is a leírások részlegesen öntermékenyülőként jellemezték, mert a gyümölcskötődési vizsgálatok geitonogámia esetén mindig kisebb értékeket adtak, mint más öntermékenyülő fajtáknál, ugyanakkor terméskötődésük meghaladta az önmeddő fajtákét. Eredményeink igazolták, hogy a 'Mandulakajsi' hordozza az öntermékenyülést biztosító *Sc*-haplotípust. A viszonylag rossz terméskötődést az abnormális virágfejlődés következtében kialakuló, fejletlen termőjű virágok okozhatják, amely egyes években 70 %-os mértékben fordult elő (Halász, 2007). A meggyre vonatkozó eredményeknél azonban igazolható volt, hogy az inkompatibilitási gát jelen van, így helyesebb ezeket a fajtákat önmeddőként kezelni.

2. A dolgozatom nem tárgyalja a cseresznyefajtákkal elért eredményeinket. Ennek az az oka, hogy az MTA doktori eljárás ügyrendje szerint új tudományos eredmény nem lehet olyan tézis, ami megegyezik a Pályázó végzett PhD hallgatójának új tudományos eredményeivel. Két folyóiratcikket publikáltunk cseresznyefajtákról, de a fenti ok miatt ez nem került bemutatásra:

Szikriszt, B., Doğan, A., Ercisli, S., Akcay, M. E., Hegedűs, A., Halász, J. (2012). Molecular typing of the self-incompatibility locus of Turkish sweet cherry genotypes reflects phylogenetic relationships among cherries and other *Prunus* species. *Tree Genetics & Genomes*, 9, 155-165.

Hegedűs, A., Taller, D., Papp, N., Szikriszt, B., Ercisli, S., Halász, J., Stefanovits-Bányai, É. (2013). Fruit antioxidant capacity and self-incompatibility genotype of Ukrainian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars highlight their breeding prospects. *Euphytica*, 191, 153-164.

A nemzetközi adatokhoz többek között az alábbi új eredményeinkkel járultunk hozzá: 47 török, valamint 14 ukrán cseresznyefajta és értékes nemesítési alapanyag *S*-allél-készletét határoztuk meg. Igazoltuk, hogy a cseresznye géncentrumban jellemző nagy genetikai változékonysághoz jelentős mértékben hozzájárul a vadcsesznyével és meggyel történő hibridizáció. Új specifikus PCR-primereket terveztünk több allél kimutatására, melyet azóta rendszeresen alkalmaznak és hivatkoznak a cseresznye *S*-genotipizálási munkákban. Mirko Schuster egy folyamatosan aktualizált, digitális adatbázist hozott létre a cseresznye inkompatibilitási csoportjainak nyilvántartására, amelynek az általunk leírt genotípusok, csoportok a kezdetektől a mai napig változatlanul a részét képezik.

3. A kajsi *S*-allél-rendszerének nemzetközi szintű harmonizálása régóta aktuális feladat. Több nemzetközi konferencián is részt vettem, ahol erre szerveződött csoport, de végül mind a mai napig nem került rá sor. A kialakult problémát főként az idézte elő, hogy a kínai kutatók nem vették figyelembe az európai kutatók által publikált és elfogadott allélnevezéktant.

Tovább nehezítette a helyzetet, hogy bizonyos genotípusokat a feltételezett *S*-allélok DNS-szekvenciájának meghatározása nélkül publikáltak, így a nemzetközi eredmények nem összevethetők. Azokban az esetekben azonban, ahol a közölt allélszekvenciák kezdetektől elérhetőek voltak, vagy időközben elérhetővé váltak, azok alapos áttekintésével a munka elvégezhető. Számos olyan hibát is azonosítottunk, amelyek rendezése ismételten sokat segíthet az *S*-genotípusok tisztázásában. Körte esetében elsőként volt sikeres egy ilyen kezdeményezés (Goldway és mts., 2009), amikor azonos nevek alatt publikált különböző allélok miatt újraszámolták a teljes *S*-allél-sorozatot S_{100} -tól indulva. Ezt a feladatot a közeljövőben prioritásnak tekintem, és szeretnék ebben vezető szerepet vállalni, ezért ez a feladat egy újonnan felvett PhD hallgatóm munkájának is kiemelt részét képezi.

Budapest, 2024. október 5.

Még egyszer köszönöm Opponensem véleményét, tisztelettel:



egyetemi tanár
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Genetika és Biotechnológia Intézet
Növénybiotechnológia Tanszék
Kertészeti Növénygenetika Csoport