

Bírálat

Lantos Csaba

Az *in vitro* androgenézis kutatás eredményei *Triticum* fajok nemesítésében
című Akadémiai Doktori értekezéséhez

Bíráló: Dr. Hegedűs Attila, DSc.

Lantos Csaba MTA doktori értekezése a szegedi Gabonakutató Nonprofit Kft. keretei között folytatott több, mint egy évtizedes munkájáról ad számot. A búza az emberiség egyik legfontosabb élelmiszernövénye, a fajta-előállító nemesítés támogatása ezért mindig aktuális feladat. Lantos Csaba munkájának legfőbb értéke a biotechnológia eszköztárának fejlesztése, a haploid/dihaploid vonalak előállítását kísérő problémák mérséklése a közönséges búza és néhány rokon faj (*T. spelta*, *T. monococcum*) esetében. Ilyen típusú kutatások elsődleges és közvetlen haszna a gyakorlatban érhető tetten, amit az is igazol, hogy a Jelölt munkája máris hozzájárult egy fajta ('GK Déva') megszületéséhez, de a szegedi gabonanemesítési program eddigi és további eredményeiben is jelentős szerepük van az értekezésben bemutatott fejlesztőmunka eredményeinek.

Az értekezés szerkezetére vonatkozó észrevételek

Az MTA doktori értekezés összesen 131 számozott oldalból áll, melyből 26 oldalt a 229 hivatkozott irodalmi forrást felölelő Irodalomjegyzék képvisel. Az értekezés szerkezeti szempontból a tudományos dolgozatok esetében megszokott fejezeteket tartalmazza, melyek egymáshoz viszonyított terjedelme arányos és megfelelő. Az eredmények kellően részletes bemutatását követően az eredmények megvitatása is megfelelő mélységű.

Az értekezés szakmai, tudományos értékére vonatkozó észrevételek

A Jelölt a Bevezetésben említi, hogy világszerte több mint 250 elismert dihaploid búzafajtáról tudunk, melyek mind a kutatásban, mind a nemesítés terén komoly értéket képviselnek. A biotechnológiai eszközök felhasználása egyre intenzívebb lesz a jövőben, hogy a nemesítés idő- és költségigénye mérsékelhető legyen, miközben kultúrnövényeinknek a változó környezeti feltételektől a népességszám növekedéséig egyre több kihívásnak kell megfelelniük. Ezért minden olyan kutatás, ami a biotechnológiai eszközök alkalmazhatóságát segíti elő, rendkívül aktuális és értékes. Jelen értekezésben az *in vitro* androgenézis módszereinek genotípusfüggősége, a növényregenerációs hatékonyság és az albínó növények gyakorisága került a figyelem középpontjába. A munka sikerét alátámasztja, hogy az eredményeket a gabonanemesítési program közvetlenül beépítette és alkalmazza a fajta-előállító nemesítési munkába.

Formai észrevételek

Az értekezés formai szempontból alapvetően megfelel a tudományos dolgozatokkal szemben támasztott feltételeknek, ugyanakkor számos hiba is fellelhető benne. Sajnos általánosságban elmondható, hogy az összetett szavak írásmódja (az egybe- és különírás szabályai) sok nehézséget támasztottak a Jelölt számára, és ezeket nem minden esetben sikerült helyesen feloldania. Ilyenkor igyekezett az összetétel minden tagját különírni (pl. kromoszóma készlet, burgonya kivonat, nemesítő ház, négy hetes, dajka tenyésztés stb). Ugyanakkor a legutóbbi összetett szó például már

a következő (25.) oldalon is szerepel, ott helyesen, egybeírva. Mindez arra utal, hogy sok esetben nem konzekvens hibákról van szó, mint inkább egyfajta gondatlanságról: minden bizonnyal elmaradt vagy kevésbé volt alapos a végső, tisztázó átolvasás és egységesítés.

Hasonló hiba, hogy a táblázatoknak címük van, aminek a végére nem kell pontot tenni.

Talán az angol low-high jelzők nem pontos fordításából ered, hogy a szövegben mindenfelé túlteng az alacsony-magas jelzők használata: pl. a regenerált növénykéek mennyisége alacsony volt (15. o.) helyett a „kevés regenerált növényt kaptunk” megfogalmazás sokkal szabatosabb lenne. A „kiemelkedően magas válaszódo képességgel rendelkező” (19. o.) leírás helyett a kitűnő válaszódo képességgel rendelkező egyszerűbb, pontosabb. A „zöld növénykéek mennyisége magas volt” (66. o.) helyett ezt javasolnám: a „zöld növénykéek száma nagyobb volt”. A 14. oldalon azt olvashatjuk, hogy: „Ezen beszámolóok elsősorban az erős genotípus függőséget (helyesen: genotípus-függőséget), alacsony növényregenerációt (helyesen: a kis mértékű növényregenerációt) és (az) albinizmust említik, ami korlátozza a módszer széleskörű nemesítési alkalmazását (Jauhar és mtsai. 2009, Islam és Tuteja 2012, Niu és mtsai. 2014, Canonge és mtsai. 2021, Zur és mtsai. 2021, Tang és mtsai. 2023).”

Magyar nyelvű dolgozatban a vegyületek nevét is magyarul kell leírni, különösen olyan esetekben, ahol ez nem okozhat semmilyen gondot (pl. benzyladenin, indole-3-acetic acid), ahogyan a kinetin és a 2,4-D neve is magyarul szerepel az értekezésben. További megjegyzés a vegyületek írásmódjára vonatkozóan, hogy nagy kezdőbetűkre nincs szükség (26. o).

Kisebb jelentőségű hibák jegyzéke

A MAS rövidítés feloldására a „marker támogatta szelekció” megfogalmazást használja. Szeretném felhívni a figyelmét, hogy Heszky professzor, akinek, mint egykori egyetemi tanárának, köszönetet is mond, van egy ettől sokkal pontosabb és szabatosabb javaslata, ami az általa írott könyvekben is szerepel: markerekkel támogatott szelekció.

14. o.

„A genotípus függőség mellett a módszer legfőbb hátrányának a nagy mértékű albinizmust említi meg több kutatócsoport (Canonge és mtsai. 2021, Zur és mtsai. 2021).”

Itt félreérthető a megfogalmazás: nem az albinizmus mértéke nagy, hanem az albínó növények gyakorisága.

16. o.

kicsi genom méretének ($2n = 14$)

A genom méret egy szó, de itt nem genom méretről van szó, hanem a diploid ploid szintről, a $2n = 14$ ezt jelenti, a genom méret pg DNS vagy Mb mértékegységben adható meg.

18. o.

A Sánchez-Díaz és mtsai. (2013) által azonosított *TaTPDI*-like, *TAA1b*, *GSTF2*, *GSTA2*, *TaNf-YA* stb. génekről azt írja, hogy hasznos információval járulhatnak hozzá a közönséges búza mikrospora embriogenezisének korai szakaszában lejátszódo események mélyebb megértéséhez. Tudom, hogy a Jelölt nem molekuláris biológus kutató, de a vizsgált jelenségek fiziológiai hátterének ismerete kiemelkedő lehet a jövőbeli módszerfejlesztések sikeressége szempontjából, ezért, ha ismertek ilyen adatok, azok pontosabb leírása indokolt lett volna. Mik ezek a gének, milyen biológiai funkció társul az általuk kódolt fehérjékhez, milyen molekuláris folyamatokban van tehát különbség a gyenge és jó válaszódo képességű fajták esetében?

19. o.

Sok helyen hiányoznak a névelők a címekből, pl. 2.3.1. Genotípus szerepe az *in vitro* androgenezis indukciójában helyett szerencsésebb lenne: A genotípus szerepe...

21 o

A legfontosabb célkitűzések között említi az „albinizmus mértékének mérséklése” feladatot. Véleményem szerint itt sem az albinizmus mértékét, hanem előfordulási gyakoriságát szeretne volna csökkenteni, a két megfogalmazás nem ugyanazt jelenti!

“A kontrollált fény- és hőmérsékleti viszonyok (üvegház, fitotron) jó lehetőséget kínálnak egész évben a donor növények felnevelésére (Ghaemi és mtsai. 1995, Torp és mtsai. 2001, Pauk és mtsai. 2003, Tuvešson és mtsai. 2000, 2003, Soriano és mtsai. 2007, 2008, Broughton 2008, 2011, Redha és Suleman 2011, Brew-Appiah és mtsai. 2013, Rubtsova és mtsai. 2013, Sánchez-Díaz és mtsai. 2013, Castillo és mtsai. 2015, Nielsen és mtsai. 2015, Seifert és mtsai. 2016, Barakat és mtsai. 2017, Sen 2017, Coelho és mtsai. 2018, Wang és mtsai. 2019, Orłowska és mtsai. 2020, Broughton és mtsai. 2020).”

Nem világos, hogy a nagyszámú (összesen 22 hivatkozott mű) felsorolása miért volt nélkülözhetetlen. Minden olyan kutatásról szóló közleményt felsorolt, amelyben kontrollált körülmények között nevelték a növényeket hasonló kísérletekben? A gondolat maga ui. nem túl eredeti: üvegházban bármikor nevelhetünk növényt, ezt a megállapítást még hivatkozás nélkül is el tudnám fogadni.

22. o.

ELS-k helyett ELS-ek

“...míg más kutatócsoportok korai és középső egysejtmagvas vakuólumos mikrospórákat tartalmazó alapanyagot használtak az androgenezis indukciója során (Datta és Wenzel 1987, Pauk és mtsai. 1991, 1995, Tuvešson és mtsai. 2000, 2003, Datta 2005, Lantos és mtsai. 2013, Lantos és Pauk 2016). Saját tapasztalataink és kísérleteink a második csoport kutatási eredményeit erősítették meg (Pauk és mtsai. 1991, Pauk és mtsai. 1995, Lantos és mtsai. 2013, Lantos és Pauk 2016, Kanbar és mtsai. 2020, Lantos és Pauk 2020).”

Ha így kell megfogalmazni, akkor a Pauk és mtsai. 1991, 1995, Lantos és mtsai. 2013, Lantos és Pauk 2016 közleményeket nem kell felsorolni az első mondatnál, hiszen a saját tapasztalatok ismertetését egy külön mondatba szerkesztette. A redundancia a tudományos közlés leginkább kerülendő hibája.

23. o.

„A mikrospórák *in vitro* androgenezise indukálható...” mondatban a hosszú és a rövid hidegkezelés paramétereinek megadásakor a hőfok és időtartam ugyanolyan sorrendben kellene szerepeljen a zárójel között. Érdekes megfigyelni, hogy a hosszú hidegkezelés hőmérséklete azonos vagy inkább alacsonyabb a rövid időtartamú hidegkezelés esetén alkalmazott hőmérsékletnél. Arra gondolnék, hogy egy hosszabb, kevésbé hideg kezeléshez hasonló hatást egy rövid, de hidegebb kezelés tud elérni. Mi lehet az oka, hogy nem így van?

„alkalmazával” helyett alkalmazásával

24. o.

A „Növekedés szabályozó” helyesen növekedés-szabályozó.

25-26. o.

A leggyakrabban alkalmazott növényregeneráló tápközegekről szóló mondat nem könnyen értelmezhető, hiszen ennek elején felsorolja a három leggyakrabban alkalmazott táptalajt irodalmi forrásokkal, melyek számos kutatócsoport közleményére mutatnak rá. Ezt követően megállapítja, hogy „az egyes kutatócsoportok más-más regeneráló tápközeget alkalmaztak vizsgálataik során”, ami nem tűnik igaznak, hiszen a fenti felsorolásban is vannak olyan csoportok, amelyek ugyanazt a táptalajt használták.

Az albinizmust előidéző tényezők között említi a „plastid DNS mutációja vagy deléciója” lehetőséget, ami így biztosan nem helyes, hiszen a deléció is a mutáció egyik formája.

Anyag és módszer fejezet

Botanikai tekintetben helyesebb lenne mag helyett szemtermést írni, ahogyan ez sok más helyen jól szerepel az értekezésben.

Az F₁ növények előállításához használt keresztezési kombinációk jelölésekor a szülő genotípusok között perjelet használ, ami nagyon különös. Genetikai munkákban a keresztezés jelölésére nem a perjelet, nem is a kis x-betűt használjuk, hanem a × szimbólumot.

A 33. oldalon sok esetben helyesen használja a fajtajelölő aposztrófokat ('GK Fehér'), de a következő mondatban már fordított irányú a kezdő aposztróf ('GK Fehér'). Az első változat a helyes, de az egységes használat is fontos lenne egy tudományos dolgozat esetében.

36. o. Kétszer is ugyanúgy szerepel a mikroszkóp leírása, amit elég lett volna egyszer, az első említésnél pontosan megadni. Itt azonban szükség lett volna az alkalmazott nagyítás megjelölésére és további, fontos paraméterek közlésére is.

36. o. helyesen: Petri-csésze

44. o.

„A kiválasztott DH törzseket... agronómiai bélyegek és termés tulajdonságok alapján értékeltük [kalászosási idő, növénymagasság, termés, hántolási kihozatal (%), kiőrlés (%), fehérje (%), nedves siker, szemkeménység, szemek szélessége, szemek hosszúsága, ezerszemtömeg - (TKW)].”

A zárójel között felsorolt agronómiai tulajdonságok között szerepel az is, hogy „termés”, nem világos, itt mire gondol a szerző. Ha meg akarta különböztetni az agronómiai bélyegeket és a termés tulajdonságokat jellemző paramétereket, jobb lett volna így szerkeszteni a mondatot: „A kiválasztott DH törzseket... agronómiai bélyegek (kalászosási idő és növénymagasság) valamint terméstulajdonságok [hántolási kihozatal (%), kiőrlés (%), fehérje (%), nedves siker, szemkeménység, szemek szélessége, szemek hosszúsága, ezerszemtömeg - (TKW)] alapján értékeltük.”

45. o.

PI oldat helyett propidium-jodid (hiányzik a rövidítés kifejtése), és a rövidítésjegyzékben sem szerepel.

3.10. Statisztikai elemzések

46. oldal:

„A teljes diallél populáció *in vitro* AC-ben mért adatait felhasználva meghatároztuk az általános kombinálódó képességet (GCA) és a speciális kombinálódó képességet (SCA), valamint tisztáztuk

a reciprok hatást és a sejtmagi kromoszómák (helyesen: kromoszómák) által meghatározott genetikai hatást tönkölybúza *in vitro* AC-ben.”

Fenti idézett mondat megfelelne az Összefoglalásban, de teljesen haszontalan az Anyag és módszer című fejezetben, amelynek nem az a célja, hogy elmesélje, mit csinált a Jelölt, sokkal inkább az, hogy amit csinált, azt hogyan csinálta, de a legutolsó, a megismétléshez nélkülözhetetlen összes részletig bezárólag. Kérem ezért, hogy legyen kedves pontosan megadni, milyen képlettel számolta ki a GCA-t, az SCA-t, és milyen számításokkal értékelte a reciprok hatást? Jelölt ugyan hivatkozik a statisztikai analízisnél az eredeti Griffing (1956) cikkre, de abban a közleményben több modellen keresztül számos módszert és képletet ismertet a szerző, így megjelölés nélkül lehetetlen azonosítani, pontosan mit használt az eredmények eléréséhez.

Véleményem szerint fölösleges volt ötször ugyanazt leírni („A statisztikai elemzések során a Microsoft Excel 2002 statisztikai szoftvert használtuk (Microsoft Ltd., Redmond, WA, USA).)”, összevontan kellett volna a legvégén felsorolni, mely elemzéseket végezték el az Excel és melyiket az SPSS programmal.

A 49. oldalon a 2. ábra aláírása és a 6. táblázat címe teljesen egybefüggő módon, sor kihagyása nélkül jelenik meg, ami meglehetősen kaotikus elrendezést eredményez.

A táblázatok többségében az oszlopok megjelölése nem kellően pontos. Ilyen jelölések olvashatók sok táblázatnál: „regenerált növénykék”, „zöld növénykék”, „albínók”. Természetesen az, aki az elejétől fogva folyamatosan végigolvasta a dolgozatot, érti, hogy itt a Jelölt e növények számára gondol, de a tudományos közlemények illusztrációinak elkészítésekor elemi szabály, hogy annak információtartalmát a dolgozat egyéb részeinek elolvasása nélkül is meg lehessen érteni. Az ilyen eseteknél azonban még a táblázat címében sincs arra utalás, hogy ténylegesen mit mért, milyen értékek állnak a táblázat celláiban.

Ugyanígy súlyú hiba, hogy pl. a 30. táblázatban szerepel az öt előkezelés, melyek mibenléte ismételtén csak az Anyag és módszer fejezetből tudható meg, ugyanakkor a táblázat címében említés szintjén sincs arról szó, milyen előkezelések zajlottak.

49. o.

Az AC rövidítést az ábraaláírásoknál is ki kellene írni az első említésnél.

80. o. A latin nevet kurzív betűvel írjuk.

102. o.: Őszi típusú helyett elegánsabb őszi vetésű búzáról beszélni

Új tudományos eredmények

A Jelölt által feltüntetett új tudományos eredmények túlnyomó részét elfogadom, két kivétellel: a tönkölybúza genotípusának a portoktenyésztés sikerére gyakorolt befolyásoló hatását nem tekintem új eredménynek, míg a tönkölybúza válaszadó képességének főként additív genetikai tulajdonságok általi meghatározottságát bár logikusnak tartom, az értekezésben erre nézve nem láttam döntő bizonyítékot. A többi esetben is szükségesnek tartanám a tézispontok lerövidítését, átszerkesztését, kiegészítését az alábbi javaslat szerint:

1. Széleskörű hazai és nyugat-európai őszi vetésű közönséges búza (*Triticum aestivum* L.) genetikai háttér felhasználásával igazoltuk, hogy az *in vitro* portoktenyésztés módszere hatékonyan alkalmazható a nemesítésben.
2. Az *in vitro* portoktenyésztés felhasználásával előállított DH növények közül több szelektált törzs állami bejelentésre került, és az egyik DH törzs ‘GK Déva’ néven állami elismerést kapott, és növényfajta-oltalomban részesült.

3. Az évjárat nem befolyásolta a zöld növénykék regenerálásának hatékonyságát közönséges búza (*Triticum aestivum* L.) *in vitro* portoktenyésztésben.
4. Elsőként írtuk le az *in vitro* izolált mikospóra-tenyésztés módszerét tönkölybúzában. Az ováriumos dajkatenyésztés kulcsszerepét igazoltuk a mikospóra eredetű ELS-ek fejlődése során. A 0,5 mg/l 2,4-D és 0,5 mg/l kinetin hatására fokozódott az izolált mikospóra-tenyésztés módszerének hatékonysága.

Megjegyzés: A tönkölybúza genotípusának befolyásoló hatását a portoktenyésztés sikerére korábban más kutatók is leírták, ezért véleményem szerint nem tekinthető új tudományos eredménynek. Ennek alátámasztására ide másolom a Jelölt mondatát a 94. oldalról: „A genotípus szignifikánsan befolyásolja a kenyérbúza (*Triticum aestivum* L.) *in vitro* AC hatékonyságát (Holme és mtsai. 1999, Tuvešson és mtsai. 2000, Yildirim és mtsai. 2008), és tönkölybúzában (helyesen tönkölybúzában) is igazolt az *in vitro* AC genotípus függősége (Schmid és mtsai. 1990, Lantos és mtsai. 2018, Castillo és mtsai. 2019).”

5. Kidolgoztuk a tönkölybúza hatékony *in vitro* portoktenyésztési eljárását, mellyel a nemesítési és az alkalmazott kutatási programok számára nagy mennyiségű DH törzset állítottunk elő. A hidegstressz-előkezelés emelte az ELS-ek, regenerált zöld növénykék számát.
6. Teljes diallél populáció felhasználásával vizsgáltuk a genotípus szerepét tönkölybúza *in vitro* portoktenyésztésben. A diallél analízis eredményei alapján az általános kombinálódó képesség (GCA) hatása sokkal meghatározóbb *in vitro* portoktenyésztésben, mint a speciális kombinálódó képesség (SCA) hatása.

Megjegyzés: Az additív genetikai háttér nagy valószínűséggel igaz lehet, mégsem tudom új tudományos eredményként elfogadni két ok miatt. Ilyen típusú genetikai vizsgálat eredményeiről nem számol be az értekezés, ezt a konklúziót irodalmi adatok (Lazar és mtsai. 1984, Yildirim és mtsai. 2008) alapján vonja le, és itt is meglehetősen áttételes módon: Lazar és mtsai. 1984 írták le az összefüggést közönséges búza esetében, a Jelölt által elvégzett tönkölybúza kísérletben a GCA meghatározó szerepét sikerült igazolni, ami valószínűsítheti a búzához hasonlóan az additív hatások döntő szerepét, de konkrét bizonyítékot nem ad erre. A kételyt tovább fokozza, hogy az Anyag és módszer fejezetben a GCA és SCA kiszámítására vonatkozóan sincs konkrét leírás.

7. Elsőként írtuk le az *in vitro* androgenezis indukcióját, zöld és albínó növénykék regenerációját alakor (*Triticum monococcum* L.) genotípusok portoktenyésztésében. A kéthetes hidegstressz bizonyult a leghatékonyabb előkezelésnek, és a genotípus szignifikáns hatását mutattuk ki alakor (*Triticum monococcum* L.) genotípusok *in vitro* portoktenyésztése során.

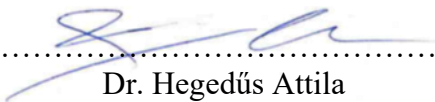
Nyilatkozat

Kritikám nagyobb részei formai, kisebb része szakmai kifogásokat tartalmaz, de ezek egyike sem érinti az értekezésben bemutatott kutatómunka eredményeinek lényegét. A doktori művet minden szempontból (a kutatás indokoltsága alapján, az elvégzett munka volumenét és újdonságtartalmát tekintve, valamint a tudomány és még inkább a nemesítési gyakorlat számára fontos eredményei okán) a nyilvános vitára alkalmasnak tartom, sikeres védelem esetén Jelöltnek az MTA doktora cím megítélését határozottan támogatom.

Kérdések

1. Az irodalmi áttekintésben említi, hogy a búza portoktenyésztése során az embriogenezis fokozásának érdekében bizonyították néhány vegyület (pl. n-butanol, antioxidánsok, antibiotikumok) pozitív hatását, ami új lehetőségeket adhat az *in vitro* androgenezisen alapuló módszerek fejlesztésekor. Ezekben a kísérletekben véletlenszerűen kiválasztott vegyületekről igazoltak pozitív hatást. Kérdésem, hogy a rendszerbiológiai alapú (omikai) vizsgálatok segíthetnek-e a fenti célra leghatékonyabban felhasználható vegyületek azonosításában?
2. A portoktenyésztésből származó embriószerű struktúrákból regenerált zöld növénykéek esetében jelentős mértékű genotípusfüggés volt kimutatható (8. táblázat, 3. ábra) különböző indukciós tápközegek (P4mf és W14mf) alkalmazása mellett. Végzett-e vizsgálatokat (pl. korrelációanalízist) arra vonatkozóan, hogy ha a fajtákat sorba állítjuk a regeneráció mértéke szerint, ez a sorrend a kétféle táptalajon milyen mértékben tér el egymástól? Mi lehet az eltérések fiziológiai háttere ebben az esetben?
3. Közönséges búza F_1 keresztezési kombinációk tesztelésekor több száz esetben a sterilitást a haploidia jeleként használta a fertilitás alapú szelekció során. Ennek figyelembevételével felmerül a kérdés, hogy az alakor esetében miért volt szükség a flow citométeres megerősítésre a portoktenyésztésből származó egyetlen növényke esetében? (ami amúgy igazolta a fenotípus alapú feltételezést)
4. Érdeklődéssel olvastam a 'GK Déva' fajta előállításának történetét, melynek lényege a pedigree nemesítési rendszer és a portoktenyésztés módszerének kombinálása volt. Feltételezem, nem a Jelölt felelős a fajta elnevezéséért, de nem tudom megállni, hogy ne kérdezzem meg: a magyar-szlovák együttműködés keretében létrehozott fajta nevének kiválasztásakor nem merült fel a GK Pozsony vagy GK Kassa elnevezés lehetősége? Miért ragaszkodtak Dévához?
5. Tud-e arról, hogy a közönséges búza "A genomját" adó *T. urartu* fajra vonatkozóan vannak-e portoktenyésztéssel kapcsolatos kutatások?

Budapest, 2024. december 13.


.....
Dr. Hegedűs Attila
egyetemi tanár, D.Sc.