

OPPONENSI VÉLEMÉNY

Lantos Csaba

„Az *in vitro* androgenézis kutatási eredményei *Triticum* fajok nemesítésében”

című MTA doktora értekezéséről

A *Triticum* fajok gazdasági jelentősége világviszonylatban kiemelkedő, a közönséges búza (*Triticum aestivum* L.) a legnagyobb területen, mintegy 250 millió ha-on, termesztett gabonanövényünk. Az extrém klímájú területeken kívül (sivatagok, sarkvidék) gyakorlatilag mindenütt termesztésbe vonták. A tönkölybúza (*T. spelta* L.) termesztés az utóbbi évtizedekben hazánkban reneszánszát éli. Az egyik, legkorábban termesztett búza az alakor (*T. monococcum* L.), a mai búzák őse, ma peremvidékeken termesztik. Az ökológiai gazdálkodás előtérbe kerülésével, illetve funkcionális élelmiszerként betöltött szerepük miatt utóbbi két faj jelentősége növekvő. A tönkölybúzának és egyes alakor genotípusoknak a kenyérbúza rezisztencia nemesítésben is jelentős szerepe van. Kis genommérete miatt az alakor jó modellnövény a búza genomkutatásokban. A kenyérbúza nemesítése során az *in vitro* androgenézis (főként *in vitro* portoktenyészet) alkalmazása kiemelkedő szerepet játszik világviszonylatban; a közönséges búzából a regisztrált DH fajták száma 300-at közelíti. A másik két fajban azonban az *in vitro* androgenézis kutatása gyerekcipőben jár, alakor esetében az *in vitro* androgenézis megoldatlan, így folyamatos kutatást és fejlesztést kíván.

Mindezek alapján a választott téma aktualitása, illetve tudományos és gyakorlati jelentősége vitathatatlan.

Az akadémiai doktori értekezésben, és a tézisfüzetben, a Jelölt bemutatja az három *Triticum* faj *in vitro* androgenézisének kutatása során – a PhD fokozat megszerzését követően - elért kutatási eredményeit, valamint azok gyakorlati, fajtaelőállító nemesítésben való felhasználását is.

A benyújtott akadémiai doktori értekezést opponensi véleményemben 3 fő szempontból, alaki, szerkezeti és tartalmi szempontból értékelem.

Értekezés értékelése alaki szempontból:

A benyújtott értekezés kivitelezése igényes, 131 számozott oldalból áll, melyből az értekezés tartalmi része 103 oldal. Ezt egészíti ki a köszönetnyilvánítás és a 26 oldal terjedelmű irodalomjegyzék. A benyújtott dolgozat alkalmas az önálló tudományos teljesítmény, ill. annak eredetisége megállapítására. A dolgozat elején a tartalomjegyzék jól tagolt, áttekinthető. Ezt követi a rövidítések jegyzéke, mely nagyon hasznos, megadja a rövidítések angol eredeti

meghatározását, illetve a magyar szaknyelvi megfelelőjét. A kétoldalas bevezetést követően a 7 fejezet (Kutatási célkitűzések - 2 oldal, Irodalmi áttekintés – 21 oldal, Anyagok és módszerek – 15 oldal, Eredmények – 39 oldal, Eredmények megvitatása – 12 oldal, Összefoglalás – 3 oldal, Új tudományos eredmények – 2 oldal) terjedelme arányos.

Az értekezés nyelvezete érthető, stílusa olvasmányos, súlyos alaki hiányosságot nem tartalmaz. A szakkifejezések használata pontos, szakszerű. Az anyag és módszerbe csúszott be zsargon. Pl. a „nem kuktáztuk” helyett a „nem hőkezeltük” használata lett volna a helyes. Az értekezés 30 táblázatot és az 16 ábrát tartalmaz, melyek a tartalmat jól illusztrálják, ill. kiegészítik, a szövegbe gondosan szerkesztettek.

Az irodalomjegyzék az előírásoknak megfelelően készült, betűrendben sorolja fel a felhasznált irodalmat. Jól használható, a forrásmunkák jól beazonosíthatóak.

Az akadémiai doktori értekezés tézisei 24 számozott oldalból áll. Rövid bevezetést követően tartalmazza a célkitűzéseket, az felhasznált anyagokat és az alkalmazott módszereket, az eredményeket és megvitatásukat, az új tudományos eredményeket, a felhasznált irodalmat, a Jelöltnek az értekezés alapjául szolgáló publikációi jegyzékét, valamint külön fejezetekben a Jelöltnek az értekezés témájához kapcsolódó 18, illetve a további 20, referált folyóiratban megjelent publikációi jegyzékét. A tézisfüzet a köszönetnyilvánítással zárul.

Az értekezés alapjául 7, impakt faktoros szakcikk, 1 könyvfejezet, mely mindegyikében a Jelölt első szerző, és egy szabadalmi oltalom szolgált. Az értekezés témájához kapcsolódó 18 referált folyóiratban megjelent szakcikkből a Jelölt 8 szakcikkből első, vagy levelező szerző. Itt szeretném megjegyezni, hogy a bemutatott publikációs teljesítmény – különösen növénynevelés területén - kiemelkedő.

Értekezés értékelése szerkezeti szempontból:

Az értekezés felépítése szerkezeti szempontból megfelelő, jól áttekinthető, nagyrészt a szokásoknak megfelelő. Az „Eredmények megvitatása” helyett talán alkalmasabb lett volna az 5. fejezetnek az „Eredmények megvitatása és következtetések” címet adni, hiszen a fejezet ezt tartalmazza. Továbbá szerencsésebb lett volna az „Új tudományos eredmények” fejezet után helyezni az „Összefoglalás” fejezetet. Mivel nincsenek erre szigorú követelmények az Agrártudományi Osztály részéről, ez nem hiba, csak talán logikailag megfelelőbb lett volna, ha fenti sorrendet alkalmazza a Jelölt.

A kutatásokat és azok eredményeit is fajonkénti bontásban tárgyalja a Jelölt, ami helyes, és lehetővé teszi, hogy a nemzetközileg is eltérő előrehaladást egyes fajok kutatásában a dolgozat kidomborítsa.

Teljes összhangban vannak a fejezetek, és az alfejezetek címük és a tartalmuk tekintetében. Az értekezés szerkezeti aránya is megfelelő, az irodalmi áttekintés a dolgozat 20%-át, az anyag és módszer rész a 14,5 %-át, a saját eredmények és megvitatásuk a dolgozat mintegy 49 %-át teszik ki.

Értekezés értékelése tartalmi szempontból:

A részletes tartalmi értékelés előtt szeretném előre bocsájtani, hogy a dolgozatban bemutatott kutató munka és eredményei hiteles és megbízható adatokat tartalmaznak, melyeket a gyakorlatban való felhasználhatóságuk, illetve felhasználtságuk is messzemenően bizonyít. Mindezek miatt szeretném előljáróban is kifejezni őszinte elismerésemet Lantos Csaba munkáját illetően; külön kiemelő, hogy mindezt a munkát értekezésében olvasmányosan, és élvezetesen mutatta be.

A Bevezetésben a Jelölt röviden, de jól összefoglalóan ismertette az *in vitro* androgenezis alkalmazásának előnyeit (homozigóta előállítás egy generáción belül, kombinálhatóság más biotechnológiai és molekuláris biológiai módszerekkel) a fajtaelőállításban, illetve a technika jelen állását nemzetközi szinten mindhárom faj esetében mind kutatás-fejlesztési, mind gyakorlati szempontból. Kiemelte az *in vitro* androgenezis szűk keresztmetszeteit kenyérbúzában, illetve a kutatás hiányait a másik két *Triticum* fajban, mellyel jól felvezette az értekezésben a következő fejezetben részletezett kutatási célkitűzéseket is.

A kutatási célkitűzéseit Jelölt a bevezetést követő külön fejezetben, jól áttekinthetően fogalmazta meg, 5 fő pontban az egyes altémák, illetve *Triticum* fajok nemzetközi kutatási helyzetének megfelelően. (1) Az *in vitro* portoktenyésztés vizsgálata közönséges búza keresztezési kombinációiban; (2) *In vitro* portoktenyésztés felhasználása közönséges búza nemesítésében, a szelektált DH törzsek vizsgálata NÉBIH kísérletben; (3) *In vitro* androgenezis indukciója tönkölybúzában – AC-ben (portoktenyésztés) és IMC-ben (izolált mikroszpora tenyésztés); (4) *In vitro* portoktenyésztés alkalmazása tönkölybúza nemesítésben teljes diallél populációval és F1 keresztezési kombinációkkal, DH törzsek jellemzése, és (5) Androgenezis indukciója alakor fajban AC-ben.

Az irodalmi áttekintés kellően részletes. A haploidkutatás rövid történeti áttekintését követően naprakészen bemutatja az előrehaladást, illetve a felmerülő problémákat az egyes androgenezis módszerek esetén (alacsony növényregenerációs képesség, gyakori albinizmus, erős genotípus függés). A fejezetet az *in vitro* androgenezisnek a kenyérbúza nemesítési alkalmazási területeinek részletes bemutatásával zárja. A másik két vizsgált *Triticum* fajról - szakirodalom hiányában – az irodalmi áttekintés elmarad. A dolgozatban bemutatott kutatások jelentőségét ez is kiemeli.

Az anyag és módszer fejezetben Jelölt felsorolja a vizsgált növényi genotípusokat, bemutatja a donor növényanyag nevelési körülményeit, begyűjtését, előkezelését, *in vitro* tenyésztését, majd a regenerált *in vitro* növénykéek akklimatizálását és tenyészkeri vizsgálati körülményeit, valamint a kromoszómaszám vizsgálatának módját. Részletesen leírja az alkalmazott statisztikai elemzéseket. A 2. táblázat nagymértékben segíti az *in vitro* androgenézis szempontjából kulcsfontosságú stressz előkezeléseinek az áttekintését alakorban; ezt esetleg hasznos lett volna a tézisekbe is beépíteni. Ezzel kapcsolatban kérdés, hogy ***a tönkölybúzában alkalmazott portok előkezelési módszer mi alapján lett kiválasztva?*** Célszerű lett volna itt közölni az akklimatizációra kerülő növénykéek körülbelüli korát is, azaz, hogy ***a gyökeresítés után kb. mennyi idő múlva, illetve milyen méretekkel (hajtás, gyökér) kerültek akklimatizálásra***, vagyis mit jelent a „jól fejlett zöld növényke”.

Az eredmények fejezet és az eredmények megvitatása fejezet különálló, mely helyeselhető. A fejezeteket Jelölt az elvárásoknak megfelelően készítette el. Az eredmények megvitatása fejezet tartalmazza a következtetéseket is. Maga a megoldás, hogy egy fejezeten belül vitatja meg az eredményeket és írja le a következtetéseket jól áttekinthetővé és olvasmányossá teszi az értekezést, de hasznos lett volna e fejezet címének bővítése a „következtetések”-kel.

Kenyérbúza esetén cél volt a genotípus és a tápközeg hatásának vizsgálata az *in vitro* androgenézis hatékonyságára. Mind a tíz F1 keresztezési kombinációból sikeres *in vitro* androgenézis volt kimutatható, sikeres növényregenerálással együtt. Fertilis spontán DH növények (átlagosan 33 %) is minden kombinációból azonosíthatóak voltak, sikeresen előállítottak 267 DH törzset. A W14mf tápközegen majdnem dupla annyi zöld növénykét tudtak regenerálni, mint a P4mf tápközegen. A módszer gyakorlati alkalmazhatóságát 93 nyugat-európai F1 kombináció bevonásával igazolták, két éves kísérletben. Ezek öt különböző nemesítési programból származtak, így széles genotípus skála bevonását tették lehetővé. Az eredmények a genotípus, mint fő faktor szerepét bizonyították, az évjárat hatása jelentéktelenebb volt.

Teljesen unresponsive genotípust nem lehetett megfigyelni.

A módszerrel jelentős előrelépést értek el, a hozam 5,3 zöld növény/100 portok, jelentősen felülmúlja az irodalomban publikált 0,4-2,1 zöld növény/100 portok hozamot.

Külön érdeme a dolgozatban bemutatott kutatásoknak, hogy Jelölt által bemutatott *in vitro* androgenézissel sikeresen előállított DH törzseket a hazai búza nemesítési program (évi 500-8000 *in vitro* növény) mellett külföldi nemesítési programok részére is átadtak.

Négy tönkölybúza genotípusnál indukált sikeresen *in vitro* androgenézist, mind AC-vel, mind IMC-vel. *In vitro* androgenézis sikeresen indukálta a négy tesztelt genotípusból létrehozott

teljes diallél populációban is, ezeket az AC eredetű DH növényeket sikeresen bevonták nemesítési programba. A diallél elemzés eredményeképpen megállapította, hogy a válaszadó képesség főként additív genetikai tulajdonságok által meghatározott (GCA hatás).

Az IMC-vel indukált *in vitro* androgenezist nemzetközileg elsőként írta le a Jelölt, bár az albínók túl nagy aránya jelenleg korlátozza az IMC nemesítési programokban való alkalmazását tönkölyben.

Alakor fajban előzetes fajspecifikus kutatási eredmények hiányában a rokon fajok, elsősorban a kenyérbúza *in vitro* androgenezise során elért eredményekre támaszkodhatott a Jelölt. Sikerült is elsőként indukálnia növényfejlődést AC-n keresztül két vizsgált alakor genotípus esetében. A dolgozatból nem derül ki, de érdekes lehet, hogy ***alakornál volt-e próbálkozás in vitro androgenezis kiváltására IMC-vel?***

Jelölt értekezésben bemutatott eredményei egyértelműen igazolták az *in vitro* androgenezis széleskörű alkalmazhatóságát kenyérbúzában, felhasználhatóságát tönkölybúzában, illetve - még nyilvánvalóan további fejlesztéseket és kutatásokat követően - létjogosultságát az alakor nemesítésébe való bevezetésében.

Összefoglalás fejezet jól összefoglalja az elvégzett kutatómunkát és annak eredményeit.

Az új tudományos eredmények közül az 1-3. pontban megfogalmazottakat változtatás nélkül elfogadom. A 4., 5., 6. és 7. pontokban megfogalmazottakat javaslom módosítani az alábbiak szerint:

„Elsőként írtuk le az *in vitro* izolált mikrospóra tenyésztés módszerét tönkölybúzában. Kimutattuk az ováriumos dajkatenyésztés kulcsszerepét a mikrospóra eredetű ELS-k fejlődése során.”

„Hatékony *in vitro* portoktenyésztési dolgoztunk ki tönkölybúzában, bizonyítottuk a hideg stressz kulcsszerepét az ELS-k, regenerált zöld növénykéek számának növelésében. A kidolgozott módszerrel a nemesítési és az alkalmazott kutatási programok számára nagy mennyiségű DH törzset állítottunk elő.”

„A teljes diallél analízis eredményei alapján bizonyítottuk, hogy a tönkölybúza esetén a GCA hatása sokkal meghatározóbb *in vitro* portoktenyésztésben, mint az SCA hatása, a válaszadó képesség főként additív genetikai tulajdonságok által volt meghatározott”

„Elsőként írtuk le az *in vitro* androgenezis indukcióját, növénykéek regenerációját alakor (*Triticum monococcum* L.) genotípusok portoktenyésztésében.”

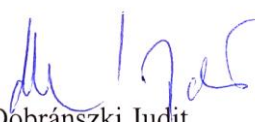
Kérdések:

1. Van-e szakirodalmi információ arról, hogy az *in vitro* androgenézis hatékonyságát milyen mértékben befolyásolják epigenetikai tényezők? Azonosítottak-e epiQTL-eket? Áttörhetőek-e, és ha igen, hogyan azok az esetleges epigenetikai módosulások, amik szerepet játszhatnak az alacsony hatékonyságú AC-ben, vagy IMC-ben, illetve a recalcitranciában egyes genotípusoknál, illetve különböző *Triticum* fajokban?
2. Milyen táptalajkülönbségek okozhatták, hogy noha átlagban 1,74-szer több ELS fejlődött a P4mf táptalajon, mint a W14mf-en, később az ezekből fejlődő növények között átlagosan 1,71-szer több albínó növény regenerálódott, valamint a W14mf táptalajon szignifikánsan nagyobb százalékban (átlagosan 16,9% szemben a P4mf-en átlagosan mért 9,6%-kal) lehetett zöld növényeket regenerálni az ELS-ekből?
3. A diploid (AA) alakor fajban milyen irányú fejlesztéseket javasol az *in vitro* androgenézis hatékonyságának növelésére a jövőben, tekintettel arra, hogy az eddigi vizsgálatok szerint mely QTL-eknek - köztük számos B és D genomban előfordulónak - van befolyásoló szerepe az ELS-ek, albínók és zöld növények fejlődésében?

Összefoglalva, megállapítható, hogy az értekezésben bemutatott munka értékes, eredményei mind az alkalmazott kutatás, mind a nemesítés számára felhasználhatóak. Utóbbi sem bizonyít jobban, mint a módszer felhasználásával előállított államilag elismert és növényfajtaoltalomban részesült 'GK Déva', illetve az állami elismerésbe bejelentett kenyérbúza DH törzsek. Külön kiemelendő a tönköly és alakor *in vitro* androgenézis kutatása kapcsán végzett úttörő munka. Kérdéseim és megjegyzéseim az értekezésben bemutatott munka értékéből semmit sem vonnak le.

Az akadémiai doktori értekezésben bemutatott tudományos eredményeket az MTA doktori cím megszerzéséhez elegendőnek tartom, és a nyilvános vita kitűzését, sikeres védelem esetén az MTA doktora cím odaítélését javaslom.

Nyíregyháza, 2024. szeptember 25.


Dr. Dobránszki Judit
az MTA doktora