

## TARTALOMJEGYZÉK

<b>1. Bevezetés</b> .....	3
<b>2. Irodalmi áttekintés</b> .....	5
2.1. Az <i>in vitro</i> androgenezis felhasználása a búzanemesítésben.....	5
2.1.1. <i>Doubled haploidok előállítása</i> .....	5
2.1.2. <i>Doubled haploidok termőképessége</i> .....	6
2.1.3. <i>Doubled haploidok minősége</i> .....	7
2.1.4. <i>Doubled haploidok fajtafenntartási hasznosítása</i> .....	7
2.2. Portok kultúrás válaszok genetikája.....	10
2.3. <i>Doubled haploid törzsek kombinálódó-képessége</i> .....	11
<b>3. Anyag és módszer</b> .....	13
3.1. Az <i>in vitro</i> androgenezis felhasználása a búzanemesítésben.....	13
3.1.1. <i>Doubled haploidok előállítása</i> .....	13
3.1.2. <i>Doubled haploidok termőképessége</i> .....	14
3.1.3. <i>Doubled haploidok minősége</i> .....	14
3.1.4. <i>Doubled haploidok fajtafenntartási hasznosítása</i> .....	15
3.2. Portok kultúrás válaszok genetikája.....	17
3.3. <i>Doubled haploid törzsek kombinálódó-képessége</i> .....	20
<b>4. Eredmények</b> .....	25
4.1. Az <i>in vitro</i> androgenezis felhasználása a búzanemesítésben.....	25
4.1.1. <i>Doubled haploidok előállítása</i> .....	25
4.1.2. <i>Doubled haploidok termőképessége</i> .....	27
4.1.3. <i>Doubled haploidok minősége</i> .....	32
4.1.4. <i>Doubled haploidok fajtafenntartási hasznosítása</i> .....	42
4.2. Portok kultúrás válaszok genetikája.....	46
4.3. <i>Doubled haploid törzsek kombinálódó-képessége</i> .....	50
<b>4.4. Új tudományos eredmények</b> .....	55
<b>5. Következtetések és javaslatok</b> .....	57
<b>6. Összefoglalás</b> .....	63
<b>Summary</b> .....	64
<b>Mellékletek</b> .....	65

**M1. Irodalomjegyzék.....65**

**M2. DH törzsek kombinálódó képesség vizsgálata, alapadatok.**

**M3. DH törzsek kombinálódó képessége, statisztikák**

**Köszönetnyilvánítás**

## 1. BEVEZETÉS

Az öntermékenyülő növények nemesítése három alapvető, egymásra épülő folyamatból áll.

Először keresztezéssel, mutációval, vagy más módszerekkel – mint génebérszet – új változatokat, lehetőleg széles változatosságot hozunk létre, ahol feltehetően nagy gyakorisággal fordulnak elő a nemesítő számára értékes genotípusok.

Második lépésben az ideálisnak vélt típusokat kiválogatjuk, megvizsgáljuk agronómiai értéküket, felhasználási lehetőségeket, piaci értéküket, majd a törzseket megfelelő nemesítési eljárással homozigóta állapotba hozzuk.

A harmadik lépés a törzsek elszaporítása, eredeti morfológiai és agronómiai tulajdonságainak megőrzése.

Jelen kutatásaink általános célja az, hogy megvizsgáljuk vajon a portok tenyésztéssel létrehozott doubled haploid (továbbiakban DH) változatok felhasználhatók-e és milyen hatékonysággal, a fent felvázolt nemesítési procedúra valamelyik szakaszában, lépcsőjében.

Az öntermékenyülő szántóföldi növények szelekciója során legtöbbször a sorozatos öntermékenyülés nyomán a szelektált tulajdonságok alléljai fokozatosan homozigótává válnak, a fajta az adott bélyegre kiegyenlített lesz. Az egyszerűen öröklődő morfológiai bélyegek esetében (levél színe, hamvassága, kalász alakja, szálkázottság) ez a homozigótaság könnyen és gyorsan elérhető. A poligén rendszerek által irányított bélyegek, mint a termés, termés komponensek, betegségekkel és stresszhatásokkal szembeni ellenállóság, valamint a beltartalmi tulajdonságok esetében, ez a homozigóta állapot (az allél gyakoriságok fixálása) csak hosszú szelekció nyomán érhető el, és legtöbbször ezekre a bélyegekre a fajta elismerése után, a fajta fenntartása és szaporítása során is kiválogatást kell folytatni. Vannak bélyegek, amelyekre a nemesítő nem is végez szelekciót, ezekre nézve a populációk heterogének maradhatnak.

A kettőzött haploidok előállítása révén a homozigótaság egy lépcsőben elérhető, így minden tulajdonságra nézve homozigóta növények, illetve teljesen kiegyenlített törzsek hozhatók létre egyik generációról a másikra. A hagyományos szelekció hosszú és bonyolult munkája így jelentősen, három-öt évvel lerövidíthető.

Máig sem, egyértelműen és megbízhatóan tisztázott a különböző módszerekkel létrehozott doubled haploid változatok, törzsek, fajták agrobotanikai, agronómiai és nemesítési értéke a hagyományos fajtákhoz képest.

A doubled haploidok agronómiai teljesítményeiről pozitív és negatív eredmények egyaránt születtek. Szélsőséges publikációk, illetve vélemények láttak napvilágot az utóbbi 15 évben. A genetikusok és nemesítők egy része a kettőzött haploid törzsek termőképességét és agronómiai értékét tragikusan gyengének találta, miközben Ázsiában és Európában (így Magyarországon is) értékes doubled haploid elismert, sőt szabadalmaztatott fajtákat hoztak létre, amelyeket jelentős területen sikeresen termesztenek ma is. Tehát a doubled haploid változatok értékét továbbra is érdemes vizsgálni.

Nagyon kevés információ van arról, hogyan viselkednek a DH vonalak (mint totális homozigóták) keresztezéseikben, hibrid kombinációikban, milyen heterózist adnak és milyen a kombinálódó-képességük, tenyésztésük az általuk létre hozott utódpopulációk agronómiai bélyegei vonatkozásában. Különösen fontos és nem eléggé kutatott kérdés: lehet-e az *in vitro* válaszok javítására nemesíteni? Ehhez feltétlen tisztázni kell az *in vitro* reakciók genetikai kontrollját.

A doubled haploid formák speciális felhasználási területeként jelentkezik a fajtafenntartás és vetőmag-szaporítás. E folyamatokban a homogenitás, homozigótáság megtartása a cél. Ez, kettőzött haploid fajta-elemek (törzsek, alvonalak) felhasználásával a hagyományoshoz képest egyszerűbben és tökéletesebben oldható meg.

Kutatásaink alapvető céljai a következők:

- \* *Az in vitro androgenezis felhasználása a búzanemesítésben*
- \* *Doubled haploidok előállítás*
- \* *Doubled haploidok termőképességének vizsgálata*
- \* *Doubled haploidok minőség tesztelése*
- \* *Doubled haploidok felhasználása fajtafenntartásban*
- \* *Portok kultúrás válaszok genetikájának elemzése*
- \* *Doubled haploid törzsek kombinálódó-képesség vizsgálata*
- \* *Tradicionális és haploid nemesítés összehasonlító értékelése*

Valójában, a portok kultúrából származó kettőzött haploidok sokoldalú vizsgálata alapján választ kívánunk kapni a napjainkra kifejlesztett nemesítési módszer használhatóságára, értékére a búza nemesítésében és termesztésében.

A célkitűzéseink megvalósításához két intézményben (Gabonatermesztési Kutató Közhasznú Társaság, Szeged és a Szent István Egyetem, Gödöllő) csaknem egy évtizedet felölelő laboratóriumi és szántóföldi kísérletezés eredményeinek felhasználása révén jutottunk.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. Az *in vitro* androgenézis felhasználása a búzanemesítésben

#### 2.1.1. Doubled haploidok előállítása

A haploid formák előállításának *in vivo* módszerei között a legegyszerűbb példa a spontán haploidok azonosítása. Ez a lehetőség csupán néhány növényfajra korlátozódik, és repcében alkalmazható igazán sikerrel. Szóba jöhet még a parthenogenezis, de ez is főleg a burgonyára alkalmazható, az apomixis, ami néhány fű-, főleg *Poa* fajban látszik használható haploid előállítási módszernek. Chase (1952) publikálta elsőnek kukoricában a markergénes, keresztezéssel indukált haploidiát, ami a nemesítőknek akkoriban a nagy ígéretet jelentette.

Az árpanemesítésben a „*Bulbosum technika*” széleskörűen használható, de sajnos a módszer csak a *Hordeum* nemzetségre korlátozott. Búzában a kukorica pollennel való megporzást alkalmazzák haploid formák létrehozására sikerrel, ami az előzőhöz hasonlóan, szintén kromoszóma-elimináción alapszik. Jelen munkában csupán a portok kultúrával előállított haploidok vizsgálatával foglalkozunk, így az egyéb eljárások értékelése nem célunk.

A pollen- és portoktenyésztési eljárások már nagy utat tettek a nemesítés során. Búzában és számos más növényben sikeresen, széleskörűen használják ezt az eljárást.

Az öntermékenyülő növények nemesítése két meghatározó lépésből áll. Először keresztezéssel, mutációval, vagy más módszerekkel széles változatosságot hozunk létre, amelyben nagy gyakorisággal fordulnak elő a nemesítő számára értékes genotípusok. A továbbiakban, az ideális típusokat kiválogatjuk, homozigóta állapotba hozzuk, majd felszaporítjuk. A doubled haploidia tipikusan olyan módszer, amellyel a homozigótaság egy lépcsőben elérhető, így homozigóta, illetve homogén törzsek hozhatók létre egyik generációról a másikra. A szelekció hosszú és bonyolult munkája így jelentősen, három-öt évvel lerövidíthető (De Buyser et al. 1987; Pauk et al. 1988; Kertész et al. 1992 és Pauk et al. 1995).

Búzában az androgenetikus haploidok *in vitro* előállítását két kínai kutató (Ouyang et al. 1973 és Wang et al. 1973) publikálta elsőként a világon. Ezt követte egy francia kutatócsoport (Picard és De Buyser, 1973), majdnem azonos időben. Magyarországon, a Gabonatermesztési Kutató Intézetben 1984-től alkalmazzák a módszert széleskörűen, homozigóta búzatörzsek

előállítására. Az első eredmények már megszülettek (Pauk et al. 1988 és Kertész et al. 1992). Az első magyar DH (doubled haploid) búzafajtát is itt nemesítették, és GK Délibáb néven került minősítésre 1992-ben (Pauk et al., 1995). Az elsőtől kívül, Magyarországon még négy DH búzafajtát állítottak elő, A GK Szindbád 1995-ben, GK Tündér 2001-ben került minősítésre, a GKKht nemesítői műhelyeiből (Kertész et al. 2001), miközben Martonvásáron is megszületett két DH búzafajta, (1994, 1996) az Mv Sigma és Mv Madrigál (Barnabás et al. 2001).

A búza *in vitro* androgenezise felfedezésétől napjainkig eltelt időt 3 jelentős korszakra oszthatjuk (Pauk, 1992). Az első időszak 1973-tól 1978-ig tartott, amikor a pekingi szimpóziumot rendezték. Ekkor, még kevés sikeres androgenézis indukciót valósítottak meg, de már egy magyar kutató csoport is büszkélkedhetett ezzel (Heszky és Mesch, 1976) Az első korszakban még nem ismertük a búza számára kedvező táptalajokat, ami nagymértékben korlátozta a további fejlődést. A pekingi szimpóziumon viszont nyilvánosságra került a burgonyakivonatos (Chuang et al., 1978) és az N<sub>6</sub> (Chu, 1978) táptalajok összetétele. Ez jelentette a búza számára a nagy fordulatot.

Igazából a második korszak innen kezdődik. Nagymértékű munka indult a különböző táptalajok elkészítéséhez (Liang et al., 1987; Marburger et al., 1987; Feng és Ouyang, 1988). Részletes vizsgálatok folytak a mikroszóra fejlettségéről és annak szerepéről az androgenézisben (He és Ouyang, 1984). A hidegkezelés jelentősége s a tenyésztési körülmények optimalizálásán alapuló (Ouyang et al., 1987) kísérletek, a módszer tökéletesítésére irányuló előrehaladást jelentette. Tehát, a második korszakban intenzív kutatások folytak. Korlátok viszont voltak: a túl sok albínó növény és kedvezőtlen genotípus-táptalaj kölcsönhatás (Bjornstad et al., 1988; Tuvešson et al., 1989; Karsai, 1992).

A harmadik korszak a '90-es évek fordulóján kezdődött. Napjainkban a Ficoll (Zhou és Konzak, 1989), maltóz (Finnie et al., 1989) vagy a gametocid készítmények (Picard et al., 1990) használata egyszerűsítette a problémákat. Innen már a nemesítésben való felhasználhatóság reményei és lehetőségei jönnek számításba.

### **2.1.2. Doubled haploidok termőképessége**

Ma sem teljesen tisztázott a doubled haploid változatok, törzsek, fajták agronómiai értéke a hagyományos fajtákhoz képest. A haploidok nemesítési felhasználásának lehetőségeiről számos szerző szolgáltatott értékes adatokat (Baenziger et al. 1984; Snape et al. 1988; Wernsman et al. 1989; Pauk et al. 1992; Pepó, 2001; 1992; Bjornstad et al. 1993; Courtois, 1993; Kertész et al. 1997; Lőkös et al. 1997; Kertész et al. 1998). A portok kultúrából származó

doubled haploid törzsek és hagyományos módszerrel előállított törzsek összehasonlító értékelését adja meg Winzeller et al. (1987). Csupán jelentéktelen különbségeket talált a különböző módszerekkel előállított törzsek között. A búzában és a különböző gabonafajokban viszont a nemesítők és genetikusok egy része tragikusan gyengének találta a doubled haploidok teljesítményét (Snape, 1988). Néhány évvel ezelőtt megjelent olyan vélemény is, miszerint a portok tenyésztéssel előállított DH változatok nem egészen normális mikrospórák selejtes termékei. Néhány európai nemesítő azt is tapasztalta, hogy a DH búzatörzsek egy része hasadást mutat, a populáció szétesik (Flore, 1996 - személyes közlés).

A fenti kételyeknek mond ellent Pauk et al. (1988), Kertész et al. (1992), De Buyser et al. (1987), Pauk et al. (1995), Pauk et al. (1999) közlése és eredménye, amely szerint a portok kultúra módszereivel értékes fajták és törzsek állíthatók elő.

### **2.1.3. Doubled haploidok minősége**

A doubled haploidok termőképességével, adaptálódó-képességével kapcsolatban viszonylag sok információ áll ma már rendelkezésre (Baenziger et al. 1984; Snape et al. 1988; Wernsman et al. 1989; Pauk et al. 1992; Powell et al. 1992; Bjornstad et al. 1993; Courtois, 1993; Kertész et al. 1997; Lökös et al. 1997; Kertész et al. 1998). A doubled haploidok minőségéről viszont kevesen publikáltak, különösen olyan vonatkozásban, hogy a hagyományos fajták doubled haploid analógjai különböznek-e az eredeti genotípusok minőségétől. Bingham (1983), Graybosch et al. (1990), Javornic et al. (1991), Bedő et al. (1992) már érintik a téma különböző aspektusait, de nem kifejezetten az összehasonlító elemzés a céljuk. Bedő et al. (1996) részletesen megvizsgálta a Martonvásáron előállított DH változatok fehérjetartalmát, tészta és sütőipari minőségét. Kísérleteikben a DH törzsek gyakran még jobb minőségűek voltak, mint a hagyományos törzsek. Kertész et al. (1998, 1999) négy búzafajta DH analógjain vizsgálta a minőségi paramétereket. A búzafajták DH analógjainak minőségét hasonlónak találta.

### **2.1.4. Doubled haploidok fajtafenntartási hasznosítása**

A klasszikus növénynemesítés szerint a jó adaptálódó-képességet a populáció heterogenitása biztosítja, ami lehetővé teszi, hogy a fajta eltérő feltételekhez is képes legyen alkalmazkodni. A heterozigótaság termésbiztonságra irányuló hatását elsősorban a búzánál vizsgálták (Bhullar et al., 1977; Jatasra és Paroda, 1981; Chaudhary et al., 1978; Borghi és Perenzin, 1990). Azt tapasztalták, hogy az öntermékenyülő növények hibridjei kisebb stabilitással rendelkeznek,

mint a szülők. Ez azt jelenti, hogy az öntermékenyülő növényeknél a fajta egyéni stabilitása egy jellegzetes genotípusos tulajdonságnak tulajdonítható, ami a heterozigótasággal nem kapcsolatos (Léon, 1994).

Öntermékenyülő tiszta vonalak és azok keverékeinek vizsgálata során többen is megállapították, hogy a heterogenitás általában fokozza a termés stabilitást (Schutz és Brim 1971; Walker és Fehr 1978; Pfahler és Linskens 1979; Bowen és Schapaugh 1989). Az öntermékenyülő növényeknél úgy látszik, hogy a termés stabilitást a heterogenitás és az egyedi genotípus határozza meg és nincs szoros, pozitív korrelációban a növekvő heterozigótasági szinttel (Léon 1994).

Az öntermékenyülő növények fenntartása során az alapvető cél a fajták elismeréskori genetikai állapotának megőrzése úgy, hogy a fajta évről-évre, homogén formában újra reprodukálható legyen.

A fajtafenntartás Jánossy (1968) szerint „olyan, tudományosan elismert módszerekkel végzett nemesítői tevékenység, amelynek célja a fajta szaporító anyagának kívánt mértékű felszaporítása, oly módon, hogy a fajta öröklődő tulajdonságai az elszaporított utódnemzedékben ne változzanak.”

Sváb (1971) a populációgenetika nézőpontjából így fogalmaz: „A magára hagyott cultivar (fajta) a természetes szelekció miatt genetikailag leromlik, mármint az ember gazdasági nézőpontjából, és új egyensúlyi helyzetbe kerül, amely a fajtának az adott környezetben a lejobban megfelel. A fajtafenntartás célja a természetes szelekció miatti genetikai változás ellensúlyozása, hogy az új generáció szerkezete, középértéke és fenotípusos összetétele megegyezzen az előző generációéval, vagyis a fajta, mint élő populáció, azonos gazdasági paraméter-értékekkel folyamatosan reprodukálható legyen.”

A meghatározás jelzi, hogy a fajtafenntartás során milyen legyen a szelekció jellege. A progresszív szelekció új fajta előállításához vezetne, ha a fajtán belül elég nagy a genetikai variabilitás. Diszruptív szelekcióval pedig a fajtát szétrombolnánk. Tehát, elméletileg Bálint (1969) szerint a fajtafenntartás módszere stabilizáló szelekció kell, hogy legyen.

Az öntermékenyülő gabonafajok fajtafenntartására két rendszert alkalmaznak leggyakrabban. Ezek a pedigré technika és a tömegszelekciós fenntartási mód. Ezen eljárások összehasonlító értékelését Barabás (1987) adta meg. E szerint a pedigré módszer többlépcsős, lassúbb, komplikáltabb, genetikailag szűkebb törzsbázisra (5-10) épül, de jó kiegyenlítetttségű törzskeveréket ad. A tömegszelekciós módszer egylépcsős, gyors, genetikailag szélesebb

törzsbázisra (500-1000) épül, viszont gyengébb kiegyenlítettségű törzskeveréket eredményez.

Jellemző példát ad Jensen (1965) a kalász kiválogatáson alapuló tömegszelekcióra búzán. Kiválaszt 1000 tipikus kalászt, és ezek utódait vizsgálja. Az elütő sorokat kinyűvi, majd a maradékot egybearatja. Ez maga a törzskeverék, amelynek utóda a szuperelit.

Love (1943) a Cornell 595 búzafajta fenntartása során képtelen volt homogén populációt létrehozni. Variációt talált a kalász, szár és szem színében, kalász típusban és a növénymagasságban. Az idegen típusok aránya elérte a 0,5 %-ot. A problémát még többszöri kalászkiválogatással sem sikerült megoldani. Végül az okot abban találták meg, hogy a vizsgált fajta pedigréjében egy Dawson's Golden Chaff nevű fajta szerepelt, amely reprodukív rendszerében instabil volt és ezt örökölte utódaiban.

A másik veszélyeztető ok az aneuploidia. Watanabe (1954) a Norin 10 fajta származékaiban 4-6 %-os gyakorisággal a növénymagasságban eltérő típust talált. Többségük aneuploidnak bizonyult. Riley és Kimber (1961) 4 búzafajta szuperelit szaporítását vizsgálta citológiai nézőpontból. A pollenanyasejtek 6 %-a mutatott valamilyen abnormitást, ami 1,08 %-os aneuploiditást eredményezett. Worland és Law (1985) megerősítették az aneuploidia jelenlétét és azt is bizonyították, hogy a *4 A* és a *4 D* monoszóm egyedek voltak magasabbak, mivel az *Rht 1* és az *Rht 2* törpeség gént kisebb arányban tartalmazták.

A hasadás gondot okozhat még  $F_{10}$ -ben is. Attól függ, hogy a fenntartás során milyen eljárásokat alkalmaztak. A populációk egyszerű idegenelése esetén ez 20 évig is probléma lehet.

Az immigráció az eredeti keresztezésből eredő hasadáshoz hasonló gondot okoz. Ellene a védekezés, azonos az előbbivel. A fajtát elemeire kell bontani és szigorú pedigré szelekciót kell végezni, amíg a homogenitást el nem érjük.

A fajtafenntartás alapvető követelménye, hogy a fajtaelemek morfológiailag azonosak legyenek, de a törzsek között, főleg rezisztenciában maradjon variabilitás. Ezért a búza fejlődésének minden fázisában megfigyeléseket és szelekciókat kell végeznünk.

Magyarországon – az öntermékenyülő növényeknél – három fajtafenntartási módszer ismert. A kétféle egyedszelekción alapuló, és a tömegszelekciós

eljárás. A nemesítők azonban kialakult gyakorlatuk és „ízlésük” szerint, természetesen a három közül csak egyféle módszert használnak.

A kettőzött haploidok fajtafenntartási felhasználásáról szinte csak a szegedi búza kutatócsoport publikált részletes, kísérleten alapuló eredményeket (Kertész et al. 1996; 1998; 2000). Jelen munkában többéves, még nem publikált eredményekről lesz szó, így e témakör irodalmi áttekintésétől eltekintünk.

## 2.2. Portok kultúrás válaszok genetikája

Ahhoz, hogy a DH produkció rutin munkává válhasson, nagyon sok problémát meg kell oldani (Schaeffer et al., 1979; Lazar et al., 1984; Orshinsky et al., 1990; Kertész et al., 1991). Az androgenezis kapacitása három dologtól függ: kallusz indukció, növényregenerálás és zöld növény indukció (Karsai et al., 1991). Kevés információ van birtokunkban az *in vitro* válaszok genetikájáról (Shimada et al., 1975; Bullock et al., 1982; Charmet és Bernard, 1984; Lazar et al., 1984; Pauk és Kertész, 1997) és a DH változatok kombinálódóképességéről a keresztezésekben (Cseuz et al., 1990). Karsai (1992) szerint az *in vitro* androgenezis gyakoriságát genetikailag lehet növelni. Egy kísérletben Agache et al. (1988) azt tapasztalta, hogy a különböző genotípusok keresztezéséből származó hibridek kallusz indukció gyakorisága közel volt a két szülőéhez. Egy másik kísérletben Picard és de Buyser (1977) azt tapasztalták, hogy az eredeti vonalaknál a mikrospóra eredetű homozigóta vonalak, és az abból származó F<sub>1</sub> hibridek *in vitro* pollen embriogenezise 2 – 10-szeresét produkálta. Szerintük az antéra kultúrának pozitív szelektív hatása volt. Ezzel ellentétben más kutatók azt tapasztalták, hogy a DH vonalak pollen embriogenezise az eredeti vonalakéval azonos, vagy annál rosszabb volt (Lazar et al. 1984, Agache et al., 1988).

A búza portok kultúrás válasza genetikai és környezeti tényezők által determinált (Fadel és Wenzel, 1990). A környezeti faktorok, mint táptalaj-, hőmérséklet-, szénhidrát forrás és hormonhatásról sokan már beszámoltak (De Buyser és Henry, 1980; Simmonds, 1989; Hassawi és Liang, 1990; Ball et al. 1993; Navarro-Alvarea et al., 1994; Otari és Shimada, 1995; Moieni és Sarrafí, 1996). Az androgenetikai válaszokra a növény genotípusok játszanak a legnagyobb szerepet (Henry és De Buyser, 1984, 1985; Orshinsky és Sadasivaiah, 1994; Balatero et al., 1995; Szakács et al., 1988). Nagyon érdekes szomatikus kalluszok és az androgenetikai válaszok közötti morfogenetikai kapcsolat. Agache et al. (1988, 1989) nem talált korrelációt a portok kultúrás és a szomatikus kalluszos vonalak között. Monoszómás vizsgálatok során Zhang és Li (1984) azt tapasztalták, hogy néhány kromoszóma, mint pl. 2A és 2D a

legfontosabb géneket hordozza, míg 5A, 5B és 2B kromoszómák olyan géneket hordozzák, amelyek gátolják az embrió produkció gyakoriságát. De Buyser et al. (1992) szignifikáns genotípus hatást tapasztaltak a búza portok kultúrák válaszként tekintetében. Szubsztitúciós és transzlokációs aneuploidias vonalakat vizsgálva azt tapasztalta, hogy a Chinese Spring 1B és 5B kromoszómának a hosszú karján lévő gének növelik az embrió produkció gyakoriságát. Az albinó produkciót növelő gének pedig az 5B kromoszómán lokalizáltak.

Több olyan vizsgálat van, ami szerint az *in vitro* androgenezis gyakoriságát genetikailag lehet növelni (Lazar et al., 1984; Agache et al., 1989). Schaeffer et al. (1982) tapasztalta, hogy az *in vitro* androgenetikai képesség transzformálható egy jó androgenetikai képességű fajtából az F<sub>1</sub> hibridjébe.

Sok kutató (Lazar et al., 1984; Charmet et al., 1984; Jones és Petolino, 1987) tapasztalatai szerint a genotípus hatás korrelációban van genotípus-környezet kölcsönhatással. Ouyang et al. (1983) különböző fajtákon, azok hibridjein és néhány vonalon vizsgálta a portok kultúrák választ a hőmérséklet változására. Azt tapasztalták, hogy a búza portok kultúrák válasza a tenyésztési hőmérsékletre nagyon rugalmas. Abd El-Maksoud és Bedő (1993) erős genotípus hatást tapasztaltak a hőmérsékletet illetően. Nagyon sokan írtak már a genotípus-táptalaj kölcsönhatásról (Liang et al., 1987; Lazar et al., 1990; Ghaemi et al., 1995; Otani és Shimada, 1994, 1995). Tapasztalatai szerint táptalajok összetétele modifikálásával növelni lehet mind az embrió produkciót, mind pedig a zöld növényregenerálást is.

### **2.3. Doubled haploid törzsek kombinálódó-képessége**

A doubled haploidok agronómiai teljesítményeiről pozitív és negatív eredmények egyaránt születtek. (Baenziger et al. 1984, Snape et al. 1988, Wernsman et al. 1989, Pauk et al. 1992, Powell et al. 1992, Bjornstad et al. 1993, Courtois, 1993, Kertész et al. 1997, Lökös et al. 1997, Kertész et al. 1998). Kevés információ van viszont arról, hogyan viselkednek a DH vonalak, mint szülők hibrid kombinációikban, milyen heterózist adnak, és milyen a kombinálódó-képességük (Cseuz et al. 1990). A közlemény szerint három eredeti fajtát - mint tesztet - és azok DH analógiáit apaként használva az F<sub>1</sub>-ek teljesítménye alapján 6 kvantitatív bélyeget figyelembe véve nem találtak különbséget a hagyományos és a DH változatok kombinálódó-képességei között. A következtetésük az volt, hogy a komplett homozigótáság önmagában nem jelent sem előnyt, sem hátrányt, amikor ezeket a vonalakat keresztezésbe vonjuk.

Bullock et al. (1982) az androgenetikai válaszként tekintetében öt egymástól eltérő búzafajta és ezek három keresztezési kombinációját, valamint

reciprokjukat vizsgálta, ahol az  $F_1$ -ek a jobbik szülőhöz közelálló teljesítményt nyújtottak és nem találtak különbségeket a reciprok-keresztezések között.

Lazar et al. (1984) öt fajta diallél keresztezését vizsgálta az  $F_1$  nemzedékben, ahol néhány kombinációban heterózist tapasztalt a kallusz produkcióban és a növényregeneráció %-ában. Nem talált összefüggést a két vizsgált *in vitro* bélyeg között. A diallél analízisben mindkét tulajdonság tekintetében az általános és speciális kombinálódó-képesség varianciát szignifikánsnak találta. Mind az additív, mind a nem additív génhatások szerepet játszottak az említett bélyegek kialakításában.

Charmet és Bernard (1984) tritikále diallél keresztezésének  $F_1$  nemzedékét vizsgálva azt tapasztalta, hogy az embrió produkcióban főleg az additív génhatásoknak van szerepe. A zöld növényregenerálás sokkal bonyolultabb genetikai kontroll alatt áll. Itt az additív és nem additív génhatások egyaránt szerepet játszanak a tulajdonságok kialakításában. Az embrió formációban gyakran találtak heterózist, a zöld növényregenerálásban viszont nem.

Tehát a fentiekből egybehangzóan kitűnik, hogy az embrió formációt főleg additív génhatások irányítják, a zöld növényregeneráció genetikai kontrollja ennél bonyolultabb.

Az agronómiai tulajdonságok vonatkozásában, a fellelhető irodalmi források szerint, a DH változatok nem gyengébb szülők, mint a hagyományos törzsek. Így bátran használhatók keresztezési partnerként.

### 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

#### 3.1. Az *in vitro* androgenezis felhasználása a búzanemesítésben

##### 3.1.1. Doubled haploidok előállítása

Négy, morfológiai és agronómiai, valamint homogenitás szempontjából eltérő búzafajta 12 – 12 törzséből portok kultúra módszerével doubled haploid törzseket állítottunk elő. A kísérletbe vont fajták származása és jellemzése a következő:

1. táblázat: A kísérletekbe vont fajták származása és jellemzése

Fajta	Származás	Jellemző adatai
<i>GK Góbé</i>	Mini Manó / Kincső	Hagyományos módszerrel előállított homogén búzafajta
<i>GK Délibáb</i>	DH Mini Manó // Jubilajnaja 50 / Sadovo 1 /3/ Mini Manó / Mv 12	Doubled haploid búzafajta
<i>GK Élet</i>	Öthalom // Ságvári / Bounty // Mv 4 / Baranjka	Hagyományos módszerrel előállított új fajta
<i>GK Véka</i>	Lovrin 24 / Mini Manó // Góbé	Hagyományos módszerrel előállított homogén új fajta

Részleteiben a kísérleteket a következő séma szerint végeztük:

1994-ben előállítottuk a DH R<sub>0</sub> generációt. Ezt követte 1995-ben az R<sub>1</sub> törzsek felnevelése. Majd az első tesztek következtek az R<sub>2</sub> törzseken. Végül egy széleskörű agronómiai értékelés történt meg két termőhelyen.

A portok tenyésztéses munkához törzsenként 1000 antérát, összesen 96000 portokot izoláltunk. Az indukció után az embriogén kalluszokat 190-2 és réztartalmú (Cu) táptalajon regeneráltuk. A haploid növényeket kolchicin kezeléssel rediploidizáltuk, majd hidegkamrában vernalizáltuk 45 napig. A DH növényeket üvegházban neveltük fel, majd az utód R<sub>1</sub> generációt szántóföldön vetettük el. Négy fajtaból jelentős számú DH törzset sikerült előállítani.

Az izolált 96000 portokból 27675 embrioidot, 2794 zöld növényt, 2336 kiültetett növényt kaptunk, amelyekből 726 volt fertilis doubled haploid.

### 3.1.2. Doubled haploidok termőképessége

A doubled haploidok agronómiai értékelése érdekében az alábbi kísérleteket végeztük el:

1996: szűrőkísérlet, 5m<sup>2</sup>-es parcellák, 550 csira/m<sup>2</sup>, ismétlés nélkül, 1 termőhelyen (Szeged).

1997: teljesítmény kísérlet, 5m<sup>2</sup>-es parcellák, 550 csira/m<sup>2</sup>, 2 – 4 ismétlés, 2 termőhelyen (Szeged, Gödöllő).

1998: teljesítmény kísérlet, 5m<sup>2</sup>-es parcellák, 550 csira/m<sup>2</sup>, 2 – 4 ismétlés, 2 termőhelyen (Szeged, Gödöllő).

A vizsgált bélyegek: szemtermés, kalászolási idő, termés komponensek, rezisztencia volt.

### 3.1.3. Doubled haploidok minősége

A doubled haploidok agronómiai értékének meghatározására végzett kísérletek teljes anyagát minőség vizsgálat alá vetettük 1997-ben és 1998-ban. A kísérletekből származó szemtermés három sorozatából végeztük a vizsgálatokat a statisztikai értékelhetőség érdekében. Az alábbi minőségi paramétereket vizsgáltuk: liszthozam, nedves sikértartalom, siker területénység, vízfellevő képesség és farinográfus értékszám. Jelen munkában két fontos minőségi mutató értékelését adjuk meg. Ezek pontos módszere, az érvényben lévő szabvány szerint a következő:

#### Nedves-siker tartalom:

A nedvessiker meghatározásának egyik módszere a csapvizes kimosás (MSZ 6367 – 12). Ez úgy végezhető, hogy 12 ml csapvíz hozzáadásával 24 g lisztből tésztát készítünk, és gömb formájúra alakítjuk. 30 perc szobahőmérsékleten történő pihentetés után a tészta 30 g-jából a keményítőt és a vízdoldható alkotórészeket 20°C hőmérsékletű csapvízzel kimossuk, míg a lecsurgó mosóvíz jóddal ellenőrizve keményítőmentes lesz. Ezután a kimosott nedvessiker súlyát megmérjük és a súlyt 100 g lisztre vonatkoztatjuk.

#### Farinográfus vízfellevő képesség és minőségi értékszám

A farinográfus vizsgálat egyidejűleg alkalmas a tészta-kialakulás idejének, a siker minőségének és a siker ellágyulásának a meghatározására.

A vizsgálat során (MSZ 6369 – 6:1988) a búzát 15,5 – 16 %-ra nedvesítjük és 24 órán át pihentetjük. Ezután kerül sor a kiörlésre. A mérést az így kapott 60 – 65 %-os kiörlésű max. 250 mm szemcseméretű liszt felhasználásával 30°C-on végezzük.

Elővizsgálatot követően (50g lisztből készült, 500-as FE-konzisztenciájú tésztához szükséges vízmennyiség meghatározása) a végleges vízfellevő

képesség (%) meghatározásához újból bemérünk 50 g lisztet, majd a már meghatározott vízmennyiséget 18 – 22 sec alatt engedjük a lisztbe.

A víz hozzáadásától számított 15 percig tovább folytatjuk a dagasztást a minőségi értékszám meghatározása céljából. Ez idő alatt a farinográf készülék diagramot rajzol, amelyről a következők olvashatók le:

- az adott mennyiségű vízzel készített tészta konzisztenciája
- a tészta kialakulásának időtartama percekben
- a tészta stabilitása
- a diagram szélessége a tészta kialakulásának időpontjában
- a tészta ellágyulása
- a diagram leszálló ágának és az 500-as konzisztenciavonal közötti terület  $\text{cm}^2$ -ben, mely a sütőipari érték meghatározásához kell.

A terület nagysága alapján meghatározható a sütőipari értékszám:

Értékszám	Minőségi csoport	
100 – 85	A <sub>1</sub>	javító
84,9 – 70	A <sub>2</sub>	
69,9 – 55	B <sub>1</sub>	feldolgozható
54,9 – 45	B <sub>2</sub>	
44,9 – 30	C <sub>1</sub>	javítandó
29,9 – 0	C <sub>2</sub>	

#### 3.1.4. Doubled haploidok fajtafenntartási hasznosítása

A DH változatok fajtafenntartásban való felhasználásához és termés stabilitásuk vizsgálatához speciális kísérleteket kezdtünk. Négy búzafajta 12 fajtafenntartási törzsét, ezek DH változatait – kiegészítve a hagyományos és DH törzskeverékkel – állítottuk 4 sorozatos teljesítmény kísérletekbe 4 kontrasztosan eltérő termőhelyen.

1998 – 99-ben négy termőhelyen, Szegeden, Szarvason, Gödöllőn és Táplánszentkereszten állítottunk be 4 sorozatos kísérleteket az ott szokásos tenyészkerti technológia szerint. A kísérletekbe 4 fajta hagyományos törzseit, az azokból előállított DH legnagyobb és legkisebb termésű DH analógjait, a fajták hagyományos módon előállított és fenntartott törzsekből készített törzskeveréket, a DH analógok legjobb törzseiből készített törzskeveréket és a DH analógok leggyengébb törzséből készített keveréket, összesen 48 törzset, illetve törzskeveréket állítottunk kísérletbe. A kísérletek terméseredményeit variancia analízissel értékeltük. Tulajdonképpen a szokásos módszerek felhasználásával megpróbáltuk értékelni a törzsek és törzskeverékek értékét a fajtafenntartás nézőpontjából. Végsősoron, ez a kísérletsor szolgált a DH vonalak fajtafenntartási felhasználhatóságának vizsgálatára. A kísérleti sémát a 2. táblázatban mutatjuk be.



A kísérletekben az agronómiai bélyegeket és a szemtermést vizsgáltuk. A fajták jellemzésére elsősorban a különböző helyeken mért terméseredményt használtuk. A 4 termőhely és a 2 év adatait felhasználva megpróbáltuk becsülni a doubled haploidok alkalmazkodó-képességét is, de megfelelő statisztikai bizonyítás hiányában erre itt nem vállalkozunk. Ezek az előzetes kísérletek csupán bevezető információkat adnak ahhoz a későbbi, precíz munkához, amelyek keretében a DH változatok termés stabilitását, általános és speciális alkalmazkodó képességét megbízhatóan vizsgálni fogjuk.

### 3.2. Portok kultúrás válaszok genetikája

Munkánk növényanyagául öt anya és négy apa szülőfajta, valamint azok 20 F<sub>1</sub> és F<sub>2</sub> keresztezési populációja szolgált.

3. táblázat: A portok kultúrás kísérletekhez felhasznált fajták és rövidítésük

Genotípus	Rövidítés
<b>Anyák</b>	
Élet	Él
Pinka	Pin
Garaboly	Galy
Favorit	Fav
Mura	Mu
<b>Apák</b>	
Kalász	Kal
Öthalom	Öth
Zugoly	Zu
Mérő	Mé

Az indukcióra felhasznált növényeket üvegházban neveltük fel 1999 őszétől, a búza számára optimálisnak ítélt nevelési programmal. A donor kalászok begyűjtését a portokban található korai egy-sejtmagvas mikrospóra állapotban végeztük. A donorhajtásokat a 2. internódiumban ollóval vágtuk le és azonnal csapvízzel telt 100 ml-es Erlenmayer lombikba helyeztük. Genotípusonként 20 növényt szedtünk. Ezt követően a begyűjtött hajtásokat PVC zacskóval takartuk, és gumigyűrűvel zártuk le a lombik nyakánál. A begyűjtött donor kalászokat átlagosan két hétig, 4°C-on, 100 lux erősségű, folyamatos mesterséges (Tungsram F-7) fényben hidegkezeltek.

A kéthetes hideg-előkezelést követően a donor kalászokat tartalmazó növényi részt Tween 80-at és 2%-os NaOCl-ot tartalmazó sterilizáló oldatban fertőtleníttük 20 percig, majd bő steril desztillált vízzel öblítettük le. A kalászokat úgy izoláltuk, hogy a bal kézben lévő csipesszel fogtuk a kalászokat, míg a jobb kézben lévő csipesszel a kalász- és kaláspelyvékat eltávolítottuk. Ezt követően, a szabaddá vált portokokat hármassával a táptalaj felületére szórtuk. Kezelésenként 4 sorozatban, sorozatonként 120 db portokot izoláltunk.

A tenyészetek három napig 32°C-os melegkezelést kaptak sötét termosztátban (Ouyang et al., 1987). A termosztátban 80% páratartalmat biztosítottunk, hogy a tápoldat párolgását a minimumra csökkentsük. Ezt követően a tenyészeteket 28°C-on sötét termosztátban tartottuk az embrioidok megjelenéséig. Az embrioidokat már a 3. héten regeneráló táptalajra lehetett átrakni. A növényregenerálásra alkalmas embrioidokat hetente kétszer gyűjtöttük össze az indukciós tenyészetekről.

A regeneráló táptalajra helyezett embrioidokat tenyésztőszobában 28°C-os, 16/8 fény/sötét fotoperiodikus körülmények között neveltük.

Indukciós táptalajnak a kínai kutatók (301 R.G. 1976) által leírt burgonya kivonatos táptalajnak (P-4) a módosított változatát (P-4mf) használtuk. Itt a szacharózt 8% maltózzal és az agart 10% Ficoll helyettesítette (4. táblázat).

4. táblázat: A portok kultúrák kísérletekhez felhasznált P-4m táptalaj + Ficoll (P-4mf): indukciós táptalaj és összetétele

<b>Összetétel</b>	<b>1 l/mg</b>
KNO <sub>3</sub>	1150,00
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	100,00
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> X 2 H <sub>2</sub> O	80,32
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	200,00
KCl	35,00
Fe-Na-EDTA	5,00 (l/ml)
Thiamin – HCL	1,00
Maltóz	80,00
Burgonya kivonat	100,00
2,4 – D	1,50
Kinetin	0,50
Ficoll	100,00
PH	5,80

### **Burgonya kivonat Bintje szerint:**

Az alaposan megmosott burgonya 100 grammját héjastól apróra vágva 100 ml desztillált vízben 30 percig lassú forralással főztük. Négyszeres gézen átszűrtük a főzetet, majd a burgonyára 80 ml desztillált vízben öntve újabb 30 percig főztük. Szűrés után kb. 120 ml burgonya kivonatot nyertünk. Ülepítettük, s a felülúszót használtuk fel.

Növényregeneráláshoz a 190-2 (Zhuang és Jia, 1983) illetve réz tartalmú táptalajt használtuk (5. táblázat).

5. táblázat: A portok kultúrák kísérletekhez felhasznált 190-2Cu regeneráló táptalaj és összetétele

<b>Összetétel</b>	<b>1 l/mg</b>
KNO <sub>3</sub>	1000,00
(NH <sub>4</sub> )SO <sub>4</sub>	200,00
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> X 4 H <sub>2</sub> O	100,00
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	300,00
MgSO <sub>4</sub> X 7 H <sub>2</sub> O	200,00
KCl	40,00
MnSO <sub>4</sub> X 4 H <sub>2</sub> O	8,00
ZnSO <sub>4</sub> X 7 H <sub>2</sub> O	3,00
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3,00
KI	0,50
Glicin	2,00
Thiamin HCL	1,00
Pyridoxin HCL	0,50
Nicotinsav	0,50
Fe-Na-EDTA	5 (ml/l)
CuSO <sub>4</sub> X 5H <sub>2</sub> O	10,00
Meso-inositol	100,00
Szacharóz	30,00
NAA	0,50
Kinetin	0,50
pH	5,80

Négy portok kultúrák reakcióval kapcsolatos bélyeget vizsgáltunk: embrió termelését a lerakott portokok százalékában, zöld növény, albinó növény és össztermelését a keletkezett embriók százalékában.

A szülők saját teljesítményének értékelése során a különbségek szignifikanciáját a Dunchan teszttel adjuk meg, a faktoriális párosítási  $F_1$  kombinációkat Comstock-Robinson II. módszer szerint (Comstock-Robinson, 1952) és Sváb (1967, 1971) kiegészítése alapján értékeltük.

### 3.3. Doubled haploid törzsek kombinálódó-képessége

A doubled haploidok kombinálódó-képességének vizsgálatához faktoriális párosítás szerint keresztezési sort állítottunk elő. A keresztezésekhez négy, Magyarországon jól adaptálódott termesztett fajtát használtunk. Ezek a GK Pinka, GK Öthalom, GK Csörnök és a GK Kalász. A fajtákat az adaptálódó-képesség vizsgálatához már leírt, hagyományos és DH analógjaikkal kereszteztük úgy, hogy a keresztezést az eredeti vonallal, a pozitív és a negatív DH analógjaikkal is elvégeztük. Célunk az volt, hogy megvizsgáljuk az eredeti vonalaknak, a termésre pozitív és negatív irányban szelektált DH analógok hatását az utódok teljesítményében. A párosítási modellt a 6. táblázatban adjuk meg.

A keresztezéseket a GK Kht. Búzanemesítési és Genetikai Osztályán kifejlesztett módszerrel végeztük.

Ez a következő: a kasztráláshoz olyan kalászt választunk ki, amelynek alsó része még a levélhüvelyben van. A gyenge fejlettségű kalászkákat letépjük a kalász tetejéről és az aljáról, a maradék fejlett kalászkák középső virágait eltávolítjuk, majd felső harmadánál levágjuk, hogy ne sérüljenek a portokok és a bibe. Felülről kezdve minden virágból kiszedjük mindhárom zöld portokot, amelyről meg is győződünk. A celofán, izoláló zacskót az alsó 5 cm-nél kötjük meg, hogy ne menjen alá pollen, és még legyen hely a kalász növekedéséhez, hiszen a kalász még fejlődik.

Három-négy nappal a kasztrálás után ellenőrizzük azt, hogy a bibe várja-e a pollent. Az apákat kipreparáljuk, vagyis a kalászkákat a felső harmadánál visszavágjuk, beleszúrjuk az anya földjébe, vagy vízbe helyezük, hogy virítson, melyet az üvegházi lámpa melege is beindít. Amikor 1-2 portok kijön a virágból, felrepedésre készen, akkor az apa-kalász pörgetésével beporozzuk az anyanövényt.

Az  $F_1$  generációt a szülőkkal (anyákkal és apákkal együtt) szántóföldi kísérletben teszteltük. A kísérlet parcellái egy sorosak voltak 20 cm-es sortávolsággal és 10 cm-es tőtávolsággal. A parcellák végeihez puffer sorokat vetettünk annak érdekében, hogy sem szegélyhatás, sem véghatás ne zavarja a kísérlet pontosságát. A kísérlet sémáját a 1. ábrán adjuk meg.





A kísérlet minden parcellájáról 10 kalászt szedtünk a termés elemek vizsgálatához. Az alábbi bélyegeket vizsgáltuk: kaláshosszúság, szem db/kalász, szemsúly/kalász, és ezerszemtömeg. Az adatokat Comstock – Robinson, 1952-es módszerével értékeltük, Sváb (1971) és Sváb (1967) kiegészítései alapján. Az általános kombinálódó-képesség varianciákat, a speciális kombinálódó-képesség varianciákat, valamint a szülők, illetve csoportok általános kombinálódó-képesség hatásait számoltuk ki.

A teljes kísérlet anyagát a következő,  $F_2$  generációban, illetve évben szabályos sűrű térállásos teljesítmény kísérletben értékeltük. A parcellák  $2 \text{ m}^2$ -esek voltak  $500 \text{ csira/m}^2$  térállásban, 4 sorozatos, egy termőhelyes kísérletben. Ebből a kísérletből a szemtermés eredményeit adjuk meg, az  $F_1$  teszt során használt statisztikával értékelve.



## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. Az *in vitro* androgenezis felhasználása a búzanemesítésben

#### 4.1.1. Doubled haploidok előállítása

Jelenleg az antéra kultúrát széles körben használják a világon haploid formák előállításához. Az így előállított DH vonalak felhasználhatók a nemesítésben, klasszikus genetikai és kvantitatív genetikai vizsgálatokban. Az antéra kultúra rutin módszerré válásához nagyon sokrétű és nehéz kutatások vezettek. A GK Kht.-ben az 1980-as évek elejétől végeznek ilyen kísérleteket búzában. A kutatások során sikerült az indukció és a regenerálás folyamatát irányíthatóvá tenni, és olyan mértékben lecsökkenteni a genotípus függőséget, hogy a '90-es évek elejére kísérletezésre is alkalmas módszerré váljon.

A fenti feltételek birtokában nagyszabású kísérletekbe kezdtünk annak tisztázására, hogy az *in vitro* androgenezissel előállított kettőzött haploid (DH) törzsek agronómiai értékét meghatározzuk a hagyományos fajtákhoz képest.

Így, speciális programot indítottunk őszi búzafajták fajtafenntartási altörzseinek bevonásával, azok DH analógjainak előállítására. Azt kívántuk megvizsgálni, hogy van-e különbség a hagyományos módszerekkel nemesített és fenntartott, valamint ezzel párhuzamosan a haploid nemesítéssel előállított homozigóta DH változatok morfológiai, agronómiai és minőségi bélyegei között. Négy búzafajta 6 – 6 törzséből portok kultúra segítségével DH törzseket állítottunk elő (7. táblázat, 2. ábra).

7. táblázat: Hagományos és doubled haploid (TvsDH) kísérletek 1994-2000

1994	Haploid indukció és növény regenerálás és R <sub>0</sub> generáció felnevelése Lerakott portok: 96 000 Embrioid: 27 675 Zöld növény: 2 794 Fertilis DH növény: 726
1995	R <sub>1</sub> törzsek felnevelése kalász utódsorban
1996	Szűrőkísérletek az eredeti hagyományos- és az R <sub>2</sub> DH törzsek bevonásával, ezerszemtömeg értékelése
1997	TvsDH vonalak teljesítmény kísérlete két termőhelyen
1998	TvsDH vonalak teljesítmény kísérlete két termőhelyen
1999	Szelektált DH vonalak és törzskeverékek termő- és alkalmazkodó képességének vizsgálata 4 termőhelyen, teljesítmény kísérletekben
2000	Szelektált DH vonalak és törzskeverékek termő- és alkalmazkodó képességének vizsgálata 4 termőhelyen, teljesítmény kísérletekben



A vizsgálatba vont 4 fajta 17 törzséből nagy számú DH vonalat sikerült előállítani. Az izolált 96000 portokból 27675 embrioidot, 2794 zöld növényt, 2336 kiültetett növényt kaptunk, amelyekből 726 fertilis DH analóg növény volt. A 726 törzset kalász utódsorokban neveltük fel az eredeti törzsekkel együtt. A törzsekből morfológiailag egy sem mutatott szignifikáns eltérést a kiindulási formáktól. Jelen kísérletünk alapján a búzában nem találtunk gametoklonális variabilitást. Ezt későbbi és egyéb kísérleteink is megerősítették.

A kalász utódsorok aratása után, a 4 fajta mindösszesen 17 törzsét és törzsenként 4 – 4 DH analógiát állítottuk szűrőkísérletbe, illetve szaporítottuk fel további precíz teljesítmény kísérlethez. A szűrőkísérletek nem voltak alkalmasak terméseszt céljára. Így ezekben csupán az ezerszemtömeg bélyeget vizsgáltuk (8. táblázat). Az adatok alapján azt az előzetes következtetést vontuk le, hogy a DH változatok ugyanolyan értékesek lehetnek agronómiai nézőpontból, mint a hagyományosan szelektált fajták.

#### **4.1.2. Doubled haploidok termőképessége**

A doubled haploid törzsek termőképességének vizsgálatához szabályos 4 sorozatos teljesítmény kísérleteket állítottunk be 2 termőhelyen, Szegeden és Gödöllőn 2 egymás utáni évben, 1997-ben és 1998-ban. A 2 éven át 2 termőhelyen végzett kísérletek összevont adatai azt mutatják, hogy a hagyományos törzsek és DH analógiáik termőképessége között nincs szignifikáns különbség (3. ábra). A hagyományos törzsek 2 termőhely és 2 egymás utáni év átlagában 6.58 t/ha termést adtak, míg a DH változatok termése 6.63 t/ha volt.

Általánosságban levonhatjuk azt a következtetést, hogy a DH változatok alapvető agronómiai értéke (termőképessége) hasonló a hagyományos fajtákéhoz.

A fenti állítás a 2 vizsgált évben és a 2 termőhelyen külön-külön is igaznak bizonyult.

Szegeden intenzív termőhely viszonyok között teszteltük a hagyományos és a DH törzseket. Az 1997-es eredmények azt mutatták (4. ábra), hogy 7 tonna feletti termés szinten a DH analógok árnyalatnyi előnyt mutattak a hagyományos törzsekhez képest. Az előny természetesen nem volt szignifikáns, ezt nem is vártuk az első kísérletek áttekintése nyomán. A kísérleteket 1998-ban megismételve, az előzőhöz hasonló tendenciát tapasztaltunk (5. ábra).









Kontrasztosan eltérő, jóval szerényebb termőhelyi körülmények között, Gödöllőn, homoktalajon, 4 tonna körüli termést produkálva a hagyományos és DH analógok teljesítménye alig különbözött (6. ábra). A doubled haploid törzsek itt is versenyképesnek mutatkoztak a tradicionális módon nemesítettekkel szemben.

A 4 fajta átlagában és fajtánként külön-külön is statisztikailag bizonyítható a doubled haploid és a tradicionális vonalak azonos, vagy csaknem azonos termőképessége. Ezt a Szegeden, 1997-ben végzett kísérletek eredményeivel mutatjuk be (7. ábra). Természetesen a fajták között jelentős különbségek adódtak a genetikai képességeik miatt. Ez a különbség akár 1 t/ha is lehet, amint a GK Élet és a GK Délibáb vonatkozásában ez elő is fordult. Azonban mind a 4 vizsgált fajta esetében külön-külön is kísérletesen bizonyítottuk, hogy az eredeti törzsek és DH analógjaik termőképessége, a statisztikai hibán belül azonosak.

A teljes mélységű vizsgálat akkor ad eredményt, „a teljes igazsághoz akkor jutunk el”, ha egy fajtán belül a vizsgált eredeti törzsek és DH analógjaik között, és a fajtán belül sem kapunk különbséget az eredeti és DH analógok között. A GK Góbé 1997-es példáján mutatjuk be, hogy állításunk ilyen szinten is igaznak bizonyult (8. ábra). A vizsgálatba vont 7 törzs közül csupán egy esetben tapasztaltunk a megbízhatósági szinthez közeli különbséget a két csoport között.

1998-ban a termés elemeket is megvizsgáltuk. A kalász hosszúság, az ezerszemtömeg, a szem db/kalász és az egy kalász szemsúlya alapján a terméshez hasonló tendenciák láthatók (9. 10. ábra, 9. táblázat, 11. és 12. ábra).

#### **4.1.3. Doubled haploidok minősége**

A szántóföldi összehasonlító kísérletek eredményei szerint a vizsgált búzafajták eredeti törzsei és DH analógjai közel azonos termőképességűek. A több éves vizsgálat során nem találtunk szignifikáns különbséget a legfontosabb agronómiai bélyegekből (növény magasság, kalászolási idő, érési idő, ezerszemtömeg) sem. Nagyon fontos lehet még az, hogy megváltozott-e a DH analógok beltartalmi minősége, vagy sem.

Az 1997-es és 1998-as évek terméséből részletes minőségi vizsgálatokat végeztünk. A vizsgálat eredményeiből a két legfontosabb minőségi mutató a nedvessikér-tartalom és a farinográf értékszám összehasonlító eredményeit mutatjuk be, a következő ábrán (13. ábra).



















Az általános tendencia szerint a 4 fajta átlagában a hagyományos törzsek nedvessikér-tartalma 29,3 %, a DH analógoké 29,8 %. A statisztikai próba nem mutatott ki szignifikáns különbséget a 2 csoport között. A másik nagyon fontos minőségi mérőszám a farinográf érték. Itt a 2 csoport között egy egységnyi különbség mutatkozott, ami szintén nem szignifikáns. Tehát, az eredményeket úgy értelmezhetjük, hogy a DH változatok minősége is azonos értékű a tradicionálisan nemesített törzsekével.

#### **4.1.4. Doubled haploidok fajtafenntartási hasznosítása**

A DH változatok fajtafenntartásban való felhasználásához, speciális kísérleteket kezdtünk. Négy búzafajta, 12 fajtafenntartási törzsének pozitív és negatív variáns DH változatait – kiegészítve a hagyományos és DH analógok keverékével – 4 sorozatos teljesítmény kísérletekbe, 4 kontrasztosan eltérő termőhelyen vetettük el.

1998, 1999-ben, Szegeden, Szarvason, Gödöllőn és Táplánszentkereszten állítottunk be 4 sorozatos kísérleteket az ott szokásos tenyészkerti technológia szerint. A kísérletekbe vont 4 fajta hagyományos törzseit, az azokból előállított legnagyobb és legkisebb termésű DH analógjait, a fajták hagyományos módon előállított és fenntartott törzseiből készített törzskeveréket, a DH analógok legjobb és leggyengébb törzseiből készített keveréket, összesen 48 törzset, illetve törzskeveréket állítottunk kísérletbe. A kísérletek terméseredményeit varianciaanalízissel értékeltük. A törzsek és törzskeverékek teljesítményét a fajtafenntartás nézőpontjából értékeltük (10. táblázat, 14. – 15. ábra).

A kísérletek összesített adataiból megállapítható, hogy a fajták átlagához viszonyítva, a pozitív irányban szelektált DH analógok 106 %-ot, a negatív DH analógok 95 %-ot, a jobb DH törzsek keveréke 110 %-ot, a gyengébb DH analógok keveréke 94 %-ot teljesített. A hagyományos törzsek keveréke nem tért el a törzsek átlagának teljesítményétől. A hagyományos módon szelektált törzsekhez képest, a belőlük előállított pozitív DH variánsok általában termőhelyről-termőhelyre termőképesség tekintetében stabilabbak voltak, míg a negatív DH variánsok nagyobb környezeti érzékenységet mutattak.

Az eredményekből megállapítható, hogy a DH törzsek agronómiai értéke és termés stabilitása egyenértékű, esetenként jobb is, mint a hagyományos úton nemesített és fenntartott búza törzseké.







A több termőhelyes kísérletek azt bizonyítják, hogy a pozitív irányban szelektált DH vonalak termőképessége még jobbnak bizonyult, mint a hagyományos törzseké.

A fajtafenntartás során a DH analógokból képzett törzskeverékek versenyképesnek mutatkoztak a hagyományos törzskeverékkel, így sikeresen használhatók a fajtafenntartásban a homogén fajták elérése érdekében.

## **4.2. Portok kultúras válaszok genetikája**

Viszonylag kevés olyan publikáció van, amely a portok kultúras válaszok genetikai hátterét próbálja meg tisztázni. Az eredményeket összegezve elmondható, hogy mind az additív, mind a nem additív génhatásoknak, szerepe van az eddig vizsgált *in vitro* bélyegekben (reszponzív antérák, embrió produkció, zöld növényprodukció, albinó növény- és össznövény produkció). A rezponzív antérák és embrió produkció főleg additív génkontroll alatt áll, míg a zöld növény és albinó növény genetikai háttere nem eléggé tisztázott. A kísérleteinkben 9 magyar búzafajta (5 anya és 4 apa), illetve azok 20 F<sub>1</sub> hibridjét vizsgáltuk portok kultúras reakcióik tekintetében. Négy *in vitro* tulajdonságot vizsgáltunk:

1. embrió produkció, a 120 lerakott portok alapján db
2. zöld növény, a 120 lerakott portok százalékában
3. albinó növény, a 120 lerakott portok százalékában
4. összes növény, a 120 lerakott portok százalékában

A 20 hibrid gametocides hímsterilitás felhasználásával készült. A hibrideket a szülőkkel együtt szántóföldi teljesítmény kísérletekben három termőhelyen teszteltük. Speciális célunk a jelenlegi munkában, hogy összehasonlítsuk a szülők és a hibridek agronómiai teljesítményét és az *in vitro* viselkedésüket.

A 11. táblázatban a keresztezésbe vont szülők és a hibridek saját teljesítményét mutatjuk be az *in vitro* válaszok és az agronómiai teljesítmény alapján. Az embrió produkció tekintetében legjobb szülőnek a GK Kalász és a GK Zugoly bizonyult. Jó saját teljesítményt mutatott még az Élet és a Pinka. Az embrió indukció tekintetében leggyengébb fajta a Garaboly és a Mérő volt.

Az *in vitro* válaszok közül legfontosabb a zöld növényprodukció. Ebben a tekintetben a három legjobb saját teljesítményt mutató fajta a Favorit, Pinka és az Élet volt. Csupán a Garaboly esetében fordult elő, hogy egyetlen zöld növényt sem sikerült felnevelni.

11. táblázat: A keresztezésbe vont 9 szülő saját teljesítménye 4 *in vitro* válasz és szemtermés tekintetében.

Genotípus	Embrió produkción (db)	Zöld növ. produkción (%)	Albinó növ. produkción (%)	Össznöv. produkción (%)	Szemtermés (t/ha)
<b>Anya</b>					
Élet	63,8	4,4	10,2	14,6	5,14
Pinka	61,8	6,0	1,9	7,9	4,92
Garaboly	1,5	0,0	0,0	0,0	5,67
Favorit	13	6,3	0,0	6,3	5,05
Mura	20	0,4	0,0	0,4	5,44
<b>Apa</b>					
Kalász	134	2,1	37,1	39,3	5,00
Öthalom	7,3	2,7	0,8	3,5	4,48
Zugoly	120,3	1,7	39,4	41,1	5,37
Mérő	1,3	0,6	0,0	0,6	5,00

Az albinó növények előfordulása a regeneránsok között kedvezőtlen, de a portok kultúrák rendszerben gyakran előfordul és megszokott dolog. A legnagyobb arányú albinó növényt a Zugoly, a Kalász és az Élet esetén kaptuk. A többi fajta ilyen vonatkozásban jó reakciót mutatott.

Az összes növény produkció tekintetében legjobban reagált a Zugoly, a Kalász, az Élet, a Pinka, valamint a Favorit.

Az *in vitro* reakció tekintetében általában a Garaboly bizonyult a legrosszabbnak.

Ha az *in vitro* reakciókkal szembe állítjuk a fajták termőképességét, nem látunk korrelációt az *in vitro* viselkedés és a termőképesség között. Így a szülők saját teljesítménye alapján az agronómiai teljesítmény és az *in vitro* teljesítmény nem mutat áttekinthető, tiszta kapcsolatot.

Az 5 anya és 4 apa bevonásával felállított párosítási modell lehetőséget ad a hibridek teljesítménye alapján a szülők kombinálódó-képesség tényezéértékének a meghatározására. Becsülhető, hogy milyen a fajták hatása az utódokra és ezek kölcsönhatása a hibridekben. A szülők általános kombinálódó-képesség hatásait a 12. táblázatban adjuk meg.

Az embrió produkció tekintetében, az utódait javító szülőnek bizonyult a Kalász, Zugoly és a Mura. Legjelentősebb pozitív hatása a GK Kalásznak volt, átlagosan 42,3 darabbal növelte a hibridjének az embrió produkciós képességét. A leggyengébb szülők a Mérő és az Öthalom voltak. Ezek jelentősen rontották utódaik teljesítményét a vizsgált bélyeg vonatkozásában.

A legfontosabb bélyeg, a zöld növényprodukciónak tekintetében a legjobb eredményt mutató Mérő, furcsa mód, az embrió termelésben a leggyengébb volt.

Az albinó termelés tekintetében a negatív kombinálódó-képességet mutató szülők előnyösek, hiszen nem cél a nagyarányú albinó növények nyerése az antéra kultúrák rendszerében. Így ebben a vonatkozásban jó szülő a Mérő, a Pinka és a Favorit.

12. táblázat: A keresztezésbe vont 9 szülő általános kombinálódó-képessége 4 *in vitro* válasz és szemtermés tekintetében

Genotípus	Embrió termelés (db)	Zöld növ. Termelés (%)	Albinó növ. termelés (%)	Össznöv. termelés (%)	Szemtermés (t/ha)
<b>Anya</b>					
Élet	-7,69	4,31	-0,56	4,61	-0,17
Pinka	-3,31	9,13	-5,39	3,28	-0,49
Garaboly	-15,71	-4,72	8,47	-13,02	-0,17
Favorit	1,29	-11,22	-3,76	-1,40	0,27
Mura	25,42	2,51	1,24	6,53	0,55
<b>Apa</b>					
Kalász	42,3	-17,7	21,4	26,6	0,32
Öthalom	-32,8	0,3	-1,5	-16,4	-0,59
Zugoly	34,4	-7,1	10,8	8,9	0,33
Mérő	-43,9	24,5	-30,7	-19,1	-0,07

Az összes növénytermelés tekintetében megismétlődik az a tendencia, ami az embrió termelés kombinálódó-képessége során mutatkozott. Vagyis a legjobb, javító szülőnek a GK Kalász, a GK Zugoly és a GK Mura mutatkozott.

A szemtermés vonatkozásában ugyanez a sorrend olvasható le a táblázatból. Eddigi kutatási eredményeink és tapasztalataink alapján nem tudjuk pontosan megmagyarázni ezt a nem logikus összefüggést. Ezt további kutatás célja lehetne.

Az *in vitro* válaszok és az agronómiai teljesítmény összefüggésének elemzéséhez a 13. táblázatban megadjuk a párosítási rendszerben a hibridek teljesítményét, a heterózishatás mértékét, valamint a szülők általános kombinálódó-képesség hatásait az embrió termelés és szemtermés tekintetében.

Az embrió termelés tekintetében legnagyobb heterózist és a legnagyobb teljesítményt a Mura / Zugoly hibrid adta. Nagyon jó kombinációnak bizonyult még az Élet / Kalász, Pinka / Kalász, Favorit / Kalász és a Zugoly / Favorit. A



heterózist és a kombinálódó-képességet is figyelembe véve a keresztezési rendszerben a legjobb szülők a Kalász, a Zugoly, a Favorit és a Mura voltak. A szemtermést, mint agronómiai bélyeget elemezve, nagyon hasonló tendenciát látunk a 13. táblázatban. Legjobb hibridnek termőképességben is a Mura / Zugoly mutatkozott és szinte ugyanazok a hibridek adták a legnagyobb heterózishatást a termőképességben, mint a reszponzív antérák esetében.

A szülők általános kombinálódó-képességbeli sorrendje is csaknem azonos a két rendszerben. Termőképesség vonatkozásában a legjobb általános kombinálódó-képességű szülők a Mura, a Zugoly, a Kalász és a Favorit voltak.

Általános következtetésként azt vonhatjuk le, hogy a termőképességben jó kombinálódó-képességet mutató, utódaikat javító szülőformák egy részében az in vitro bélyegekben javító szülők is gyakran előfordulnak. A nemesítők és a genetikusok feladata a jövőben az agronómiai bélyegek és az in vitro válaszok tekintetében egyaránt kiemelkedő búzaformák nemesítése. Kísérleteinkben bizonyítottuk, hogy a két bélyeg-csoport egybe építhető, egyre tökéletesebb búzafajtákban.

### **4.3. Doubled haploid törzsek kombinálódó-képessége**

Nagyon fontos lenne tudni, hogy doubled haploid törzsek, mint totális homozigóták (idegentermékenyülő növények esetében ezt beltenyésztett törzsnek nevezik), hogyan viselkednek, mint keresztezési partnerek, javítják-e, vagy rontják-e utódaik tulajdonságait.

A kombinálódó-képesség vizsgálatához 4, Magyarországon jól adaptálódott termesztett fajtát használva teszterként, kereszteztük 12 hagyományos törzsszel, illetve ezek, termőképesség tekintetében legjobb és legrosszabb DH analógjával. A párosítási sémát a 3.3 fejezet 6. táblázatában adtuk meg. Példaként a 14. táblázatban a szemt db/kalász bélyeg alapadatait mutatjuk be.

Az  $F_1$  generációban, 2000-ben, 4 kvantitatív bélyeget vizsgáltunk: kalázhossz, szemszám db/kalász, ezerszemtömeg, szemtömeg/kalász. Az  $F_2$  generációval (2001-ben) a teljes kísérletet megismételtük szabályos 4 sorozatos teljesítmény kísérletben.

A kalázhosszúság a hagyományos törzseknél 4 fajta átlagában 8,6 cm volt. A pozitív irányban szelektált DH törzsek átlaga 8,5 cm, a negatív irányban szelektáltaké pedig 8,2 cm (15. táblázat). A tendenciából látható, hogy a hagyományos, a pozitív és a negatív irányban szelektált DH analógokkal végzett keresztezések  $F_1$  utódainak kalázhosszúsága csaknem azonos volt.





A szemszám db/kalász, ezerszemtömeg és a szemtömeg/kalász bélyegeken is csupán jelentéktelen különbségek adódtak a csoportok között. Így a 4 bélyeg együttes adatait figyelembe véve megállapíthatjuk, hogy a pozitív, illetve negatív irányban szelektált DH törzsek hasonló módon örökítik át a bélyegeket utódaikba, mint a hagyományos törzsek. Az  $F_2$  generációban lehetőségünk volt precíz kísérletekben a szemtermést is megvizsgálni. A 15. táblázatban feltüntetett adatok megerősítik az  $F_1$  kísérletekben tapasztaltakat.

A kísérlet lehetőséget nyújtott arra, hogy megvizsgáljuk a törzsek, illetve a csoportok átlagos hatását (általános kombinálódó-képesség hatásait) az utódaikra (16. táblázat). Az értékek azt mutatják, hogy bélyegenként változóan, a hagyományos törzsek kismértékben jobbak a kombinálódó-képesség tekintetében, mint a doubled haploidok.

Az idegentermékenyülő növények esetében a beltenyésztett vonalak kombinálódó-képessége általában jobb, mint a kevésbé beltenyésztett vonalaké. Tehát, elméletileg azt lehetne várni, hogy a DH törzsek kombinálódó-képessége jobb lesz. Jelen kísérletsorban, ami nagyszámú és különböző törzsek átlagos jellemzésére törekedett, az bizonyosodott be, hogy a DH törzsek kombinálódó-képessége sem nem jobb, sem nem rosszabb, mint a hagyományos változataiké.

Általános törvényszerűségeként megállapíthatjuk, hogy a doubled haploidok tenyészértéke hasonló a hagyományos búzafajtákéhoz, így veszély nélkül és sikeresen használható keresztezési programokban értékes szülőpartnerként.



#### 4.4. Új tudományos eredmények

A disszertációban megfogalmazott kutatási eredmények közül az alábbiakat tartom újaknak és fontosaknak:

1. *A korábban megkezdett teljesítmény vizsgálatok és jelen vizsgálataink alapján a doubled haploid változatok termőképesség és egyéb fontos agronómiai tulajdonságok nézőpontjából ugyanolyan értékesek, mint a hagyományosan szelektált fajták.*
2. *A doubled haploid analógok minősége is csaknem azonos a hagyományosan szelektált fajtákéval.*
3. *A homozigóta törzsek sikerrel használhatók a fajtafenntartásban, az ilyen törzsekből készített törzskeverékek még jobb teljesítményre képesek, mint a hagyományos törzskeverékek.*
4. *Az in vitro válaszok tekintetében a búzafajták nagymértékben különböznek egymástól. Az embrió produkció feltehetően additív génhatások kontrollja alatt áll, keresztezéssel és szelekcióval a bélyeg javítására nemesítést folytathatunk. A zöld- és albinó növényprodukció genekiai kontrollja ennél bonyolultabb.*
5. *Általános következtetésként azt vonhatjuk le, hogy a termőképességben jó kombinálódó-képességet mutató utódaikat javító szülő formák egy részében az in vitro bélyegekben javító szülők is gyakran előfordulnak. A nemesítők és genetikusok feladata a jövőben az agronómiai bélyegek és az in vitro válaszok tekintetében egyaránt kiemelkedő búzaformák nemesítése. Kísérleteinkben bizonyítottuk, hogy a két bélyeg csoport egybe építhető, egyre tökéletesebb búzafajtákban.*
6. *A doubled haploid analógok keresztezéseiből származó hibridek azonos teljesítményűek a hagyományos fajták hibridjeivel. Nagyszámú és kontrasztosan különböző fajta bevonásával végzett keresztezések nyomán bizonyítottuk, hogy a doubled haploid analógok kombinálódó-képessége sem nem jobb, sem nem rosszabb, mint a hagyományos változataiké. Általános törvényszerűségként megállapíthatjuk, hogy a doubled haploidok tenyésztése hasonló a hagyományos búzafajtákéhoz, így veszély nélkül és sikeresen használhatók különböző keresztezési programokban értékes szülőpartnerként.*



## 5. EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA, KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

Az öntermékenyülő növények nemesítése három alapvető, egymásra épülő folyamatból áll.

1. Első lépésben keresztezéssel, mutációval, vagy más módszerekkel – mint génebesztet – új változatokat, lehetőleg széles változatosságot hozunk létre, amelyekkel feltehetően nagy gyakorisággal fordulnak elő a nemesítő számára értékes genotípusok.
2. Második lépésben az ideálisnak vélt típusokat kiválogatjuk, megvizsgáljuk az agronómiai értéküket, felhasználási lehetőségüket, piaci értéküket, majd a törzseket megfelelő nemesítési eljárással homozigóta állapotba hozzuk.
3. A harmadik lépés: a törzsek elszaporítása és eredeti morfológiai és agronómiai tulajdonságainak megőrzése.

A fajtafenntartás során a fajta eredeti bélyegeinek, így homogenitásának megtartása a cél. Stabilizáló szelekcióval a feladat megoldható.

A búza - mint tipikusan öntermékenyülő növény - nemesítése, fajtafenntartása és vetőmag szaporítása során, a homogenitás elérése és fenntartása alapvető feladat. A fajta-előállítás szelekciós fázisában a sorozatos öntermékenyítés közben végzett kiválogatás nyomán, a szelektált tulajdonságokért felelős gének fokozatosan homozigótává válnak, a fajta, az adott bélyegekre nézve kiegyenlített lesz. A poligén rendszerek által irányított bélyegek esetén ez az állél gyakoriságok fixálásával érhető el.

A téma kutatása kapcsán alaposan és sokrétűen megvizsgáltuk a doubled haploidok felhasználási lehetőségeit a nemesítés, a genetikai kutatások és a fajtafenntartás területén. *In vitro* androgenezissel haploidokat, majd doubled haploidokat hoztunk létre a különböző fajtákból. A tiszta származék utódokat a hagyományos eljárással létrehozott törzsekkel hasonlítottuk össze. Vizsgáltuk az agronómiai értéküket (termőképesség, terméskomponensek, koraiság, tészta- és sütőipari minőség), valamint felhasználási lehetőségeiket a nemesítésben, fajtafenntartásban, genetikai vizsgálatokban és más kutatási területeken.

A céloknak megfelelően két alapvető területen folytattunk széleskörű munkát.

1. A doubled haploidok, mint tökéletes homozigóta, homogén növényanyag értékelése.
  - a. agronómiai értékük meghatározása
    - termőképesség
    - minőség
  - b. felhasználási lehetőségeik vizsgálata

- nemesítési programokban (kombinálódó-képesség elemzése)
- fajtafenntartásban (DH törzskeverékek értékelése)

### Doubled haploidok előállítása és értékelése

A doubled haploidok agronómiai értékelése érdekében az alábbi kísérleteket végeztük el:

1994	Haploid indukció és növény regenerálás és R <sub>0</sub> generáció felnevelése Lerakott portok: 96 000 Embrioid: 27 675 Zöld növény: 2 794 Fertilis DH növény: 726
1995	R <sub>1</sub> törzsek felnevelése kalász utódsorban
1996	Szűrőkísérletek az eredeti hagyományos- és az R <sub>2</sub> DH törzsek bevonásával, ezerszemtömeg értékelése
1997	TvsDH vonalak teljesítmény kísérlete két termőhelyen
1998	TvsDH vonalak teljesítmény kísérlete két termőhelyen
1999	Szelektált DH vonalak és törzskeverékek termő- és alkalmazkodó képességének vizsgálata 4 termőhelyen, teljesítmény kísérletekben
2000	Szelektált DH vonalak és törzskeverékek termő- és alkalmazkodó képességének vizsgálata 4 termőhelyen, teljesítmény kísérletekben

### Doubled haploidok termőképessége, agronómiai értéke

Ma sem teljesen tisztázott a doubled haploid változatok, törzsek, fajták agronómiai értéke a hagyományos fajtákhoz képest. A búzában és a különböző gabonafajokban a nemesítők és genetikusok egy része tragikusan gyengének találta a doubled haploidok teljesítményét. Sőt, néhány évvel ezelőtt megjelent olyan vélemény is, miszerint a portok tenyésztéssel előállított DH változatok nem egészen normális mikroszporák selejtes termékei. Néhány európai nemesítő azt is tapasztalta, hogy a DH búzatörzsek egy része hasadást mutat, a populáció szétesik.

Négy búzafajta (GK Élet, GK Góbé, GK Délibáb és GK Véka) 6 – 12 fajtafenntartási törzséből portok kultúra segítségével doubled haploid analógokat állítottunk elő. A portok tenyésztéses munkához törzsenként 10000 antérát, összesen 96000 portokot izoláltunk. Az indukció után az embriogén kalluszokat 190-2 és réztartalmú (Cu) táptalajon regeneráltuk. A haploid növényeket kolhicin kezeléssel rediploidizáltuk, majd hidegkamrában vernalizáltuk 45 napig. A DH növényeket üvegházban neveltük fel, majd az utód R<sub>1</sub> generációt szántóföldön vetettük el. A vizsgálatba vont 4 fajta

fajtafenntartási törzseiből nagyszámú DH analógot sikerült előállítani. Az izolált 96000 portokból 27675 embrioidot, 2794 zöld növényt, 2336 kiültetett növényt kaptunk, amelyekből 726 volt fertilis doubled haploid.

Az  $R_1$  generációt szántóföldön neveltük fel sűrű állományú kalász-utódsoros rendszerben a kiindulási formákkal együtt. A 726 DH törzsből morfológiailag egyetlen egy sem tért el a kiindulási fajtától. Tehát, egyáltalán nem találtunk portok kultúrás *in vitro* rendszer által okozott variabilitást. Ezt későbbi és egyéb kísérleteink is megerősítették.

A DH analógok szántóföldi felszaporítása után – a két rendszer értékelése céljából – 1995 őszén a hagyományosan fenntartott eredeti törzseket és a DH változatokat összehasonlító kísérletbe vetettük el. A 4 fajta mindösszesen 17 törzsét és törzsenként azok 4 – 4 DH analógját állítottuk szűrőkísérletbe, illetve szaporítottuk fel további teljesítménykísérletekhez.

A kísérlet beállottsága nem volt tökéletes, így a szemtermés különbséget a hagyományos és a DH vonalak között nem tudtuk vizsgálni. Az ezerszemtömeget viszont jól tudtuk mérni. Két fajtánál nem volt szignifikáns különbség a tradicionális szelekcióval létrehozott és a DH analóg vonalaik között. Egy esetben a DH változatok, egy esetben pedig a hagyományos törzsek voltak jobbak az ezerszemtömeg bélyeg tekintetében. Első eredményeink alapján megkockáztattuk azt az előzetes következtetést, hogy a DH változatok ugyanolyan értékesek, mint a hagyományosan szelektált törzsek.

Természetesen a fenti állítást további tulajdonságok vizsgálatával is megtudtuk erősíteni. Erre szolgáltak az 1997-ben és 1998-ban lefolytatott újabb kísérletek, melyekben 4 fajta 17 törzsét és ezek 4 – 4 DH analógját vizsgáltuk 2 termőhelyen, Szegeden és Gödöllőn, 4, illetve 2 sorozatos kísérletekben.

A széleskörű, szántóföldi összehasonlító kísérletek eredményei szerint termésben nincs szignifikáns különbség a fajták eredeti törzsei és azok DH változatai között.

A 4 fajta átlagában és fajtánként külön-külön is igaznak bizonyult ez az állítás, hiszen mind a 4 fajta alvonalai és azok DH változatai nem különböztek szignifikánsan egymástól.

Feltételezésünk – két, kontrasztosan eltérő termőhelyen is – bebizonyosodott: mind a négy fajta és DH analógjai azonos módon viselkedtek.

Ha fajtánként a hagyományos törzseket és a hozzájuk tartozó DH analógokat párba rendezve vizsgáltuk meg a termést, az eredmény ugyanaz. Nincs szignifikáns különbség a fajta eredeti törzsei és azok DH változatai között. Ezt a megállapítást a GK Góbé példáján mutattuk be.

### **Doubled haploidok minősége**

A szántóföldi összehasonlító kísérletek eredményei szerint, a fajták eredeti törzsei és azok DH változatai között nincs szignifikáns különbség a termésben, az ezerszemtömegben, a növénymagasságban, a kalászolási és érési időben.

Az 1997-es és az 1998-as kísérletek terméséből, részletes minőségvizsgálatokat végeztünk. A liszthozam, nedvessikér-tartalom, sikerterületkenység és farinográf értékszám tekintetében sem találtunk szignifikáns különbséget a fajtafenntartások eredeti törzsei és azok DH változatai között.

*Eddigi eredményeink alapján azt a következtetést vontuk le, hogy a DH változatok ugyanolyan értékesek a minőségi tulajdonságok tekintetében is, mint a hagyományosan szelektált törzsek. Kísérletünkben bizonyítottuk, hogy a haploid módszerrel reprodukálható és a tradicionális úton nemesített fajta agronómiai értéke szignifikánsan nem különbözik. Kísérletesen bizonyítottuk, hogy a haploid módszer hatékony nemesítési eljárás lehet. A doubled haploid vonalak felhasználhatók a nemesítésben. Nem kell tartanunk genetikai hibáktól, amelyek az in vitro androgenézisből adódhatnak.*

### **Homozigóta törzsek fajtafenntartási hasznosítása**

A DH változatok fajtafenntartásban való felhasználásához speciális kísérleteket végeztünk. Négy búzafajta, 12 fajtafenntartási törzsének, a szemtermés alapján pozitív és negatív variáns DH változatait – kiegészítve a hagyományos és DH törzskeverékekkel – állítottuk 4 sorozatos teljesítmény kísérletekbe 4 kontrasztosan eltérő termőhelyen.

A korábbi kutatási programunkban azt vizsgáltuk, vajon van-e különbség a hagyományos módszerekkel nemesített és fenntartott, valamint a haploid nemesítéssel előállított „homozigóta” doubled haploid változatok morfológiai, agronómiai és minőségi tulajdonságaiban.

A kísérleti eredmények azt mutatták, hogy a DH változatok ugyanolyan értékesek, mint a hagyományosan szelektált törzsek. Nincs szignifikáns különbség a termésben, az ezerszemtömegben, a növénymagasságban, a

kalászolási és érési időben. A minőségi tulajdonságokban sem találtunk szignifikáns különbséget (liszthozam, nedvessikér-tartalom, sikkér területékenység, farinográf értékszám).

1998-1999-ben négy termőhelyen, Szegeden, Szarvason, Gödöllőn és Táplánszentkereszten állítottunk be 4 sorozatos kísérleteket az ott szokásos tenyészkerti technológia szerint. Négy fajta hagyományos törzseit, az azokból előállított legnagyobb és legkisebb termésű DH analógjait, a fajták hagyományos módon előállított és fenntartott törzsekből készített törzskeveréket, a DH analógok legjobb törzseiből készített törzskeveréket és a DH analógok leggyengébb törzseiből készített keveréket, összesen 48 törzset, illetve törzskeveréket állítottuk kísérletbe. A terméseredményeket variancia analízissel értékeltük. A szokásos módszerek felhasználásával megpróbáltuk becsülni a törzsek és törzskeverékek értékét.

*A kísérletek összesített adataiból megállapítható, hogy a fajták átlagához viszonyítva a pozitív irányban szelektált DH törzsek 106 %-ot, a negatív DH törzsek 95 %-ot, a jobb DH törzsek keveréke 110 %-ot, a gyengébb DH törzsek keveréke 94 %-ot teljesített. A hagyományos törzsek keveréke nem tért el a törzsek átlagának teljesítményétől. A hagyományos módon szelektált törzsekhez képest a belőlük előállított pozitív DH variánsok általában stabilabbak voltak, míg a negatív DH variánsok nagyobb környezeti érzékenységet mutattak.*

*Az eredményekből megállapítható, hogy a DH törzsek agronómiai értéke egyenértékű, esetenként jobb is, mint a hagyományos úton nemesített és fenntartott búza törzseké.*

*A fajtafenntartás során a DH törzsekből képzett törzskeverékek versenyképesnek mutatkoztak a hagyományos törzskeverékkel, így sikeresen használhatók a fajtafenntartásban a homogén fajták elérése érdekében.*

### **Doubled haploidok nemesítési értéke**

Egy búzatörzs nemesítési felhasználhatóságát az határozza meg, hogy keresztezésekben javítja-e az utódgenerációk bélyegeit, vagy rontja. A DH változatok nemesítési értékének meghatározása különösen fontos. Kevés, igazán megbízható információ van arról: vajon hogyan viselkednek keresztezésekben a tökéletes homozigóták. Van-e előnyük, vagy hátrányuk az utódok tulajdonságainak kialakításában, összehasonlítva a hagyományos fajták képességeivel.

Négy, Magyarországon jól adaptálódott fajta (mint teszter) felhasználásával tervezett faktoriális párosítási modellben, 12 tradicionális törzset és azok 12

pozitív, illetve 12 negatív DH analógját kereszteztük a 4 teszterrel. A párosításokból származó  $F_1$  nemzedéket szabályos, 4 sorozatos kísérletbe állítottuk be. Ismétlésenként 10-10 kalász mintájából egyenként mértük, illetve számítottuk a kaláshosszúságot, szemszámot, kalásonkénti szemtömeget és az ezerszemtömeget. A törzsek kombinálódó-képességét Comstock – Robinson (1952) modellje alapján becsültük. A kísérletet az  $F_2$  generációban megismételtük. A teljes kísérlet anyagát a következő évben szabályos sűrű térállásos teljesítmény kísérletben értékeltük. A parcellák  $2\text{m}^2$ -esek voltak, 500 csira/ $\text{m}^2$  térállásban, 4 sorozatos egy termőhelyes kísérletben. Ebből a kísérletből a szemtermés eredményeit értékeltük, az  $F_1$  teszt során használt statisztikát használva.

*A kísérletek eredményei alapján megállapítható, hogy csaknem minden bélyegben a DH törzsek keresztezéseiből származó hibrdek nagyjából azonos teljesítményűek a tradicionálisokéval. Ez megerősíteni látszik azt az elméletet, miszerint a búzában az  $F_1$ -ek fölényét elsősorban az additív génhatások okozzák, nem maga a heterozigóta állapot.*

*Jelen kísérletsorban, ami nagyszámú és kontrasztosan különböző fajta, törzs általános jellemzésére törekedett, az bizonyosodott be, hogy a DH törzsek kombinálódó-képessége sem nem jobb, sem nem rosszabb, mint a hagyományos változataiké.*

*Általános törvényszerűségként megállapíthatjuk, hogy a doubled haploidok tenyészértéke hasonló a hagyományos búzafajtákéhoz, így veszély nélkül és sikeresen használhatók keresztezési programokban értékes szülőpartnerként.*

## 6. ÖSSZEFOGLALÁS

A búza, mint tipikusan öntermékenyülő növény nemesítése, fajtafenntartása és vetőmag szaporítása során a homogenitás elérése és fenntartása alapvető feladat. A fajtaelőállítás szelekciós fázisában a sorozatos öntermékenyítés közben végzett kiválogatás nyomán a szelektált tulajdonságokért felelős gének fokozatosan homozigótává válnak, a fajta az adott bélyegekre nézve kiegyenlített lesz. A poligén rendszerek által irányított bélyegek esetén ez az allélgyakoriságok fixálásával érhető el.

A fajtafenntartás során a fajta eredeti bélyegeinek, így homogenitásának megtartása a cél. Stabilizáló szelekcióval a feladat megoldható.

A téma kutatása kapcsán alaposan és sokrétűen megvizsgáltuk a doubled haploidok felhasználási lehetőségeit a nemesítés, a genetikai kutatások és a fajtafenntartás területén. *In vitro* androgenezissel haploidokat, majd doubled haploidokat hoztunk létre a különböző fajtákból. A tiszta származék utódokat a hagyományos eljárással létrehozott törzsekkel hasonlítottuk össze. Vizsgáltuk agronómiai értéküket (termőképesség, terméskomponensek, koraiság, betegségekkel szembeni ellenállóság, tészta és sütőipari minőség illetve alkalmazkodó-képesség, valamint felhasználási lehetőségeiket a nemesítésben, a fajtafenntartásban, genetikai vizsgálatokban és más kutatási területeken.

Négy búzafajta 17 törzsét felhasználva, portok kultúra módszerével 726 doubled haploid (DH) törzset állítottunk elő. A hagyományos és DH törzsek termőképességét, minőségét és fontosabb agronómiai bélyegeit, több termőhelyes és több éves szabályos szántóföldi teljesítmény kísérletek alapján csaknem azonosnak találtuk. Megállapítottuk, hogy a DH vonalak agronómiai szempontból ugyanolyan értékesek, mint a hagyományosan szelektált fajták. Több termőhelyes kísérletek bizonyították, hogy a DH törzsek, és a DH törzsekből képzett törzskeverékek teljesítménye még jobb, mint a hagyományos törzseké. Így sikeresen használhatók a fajtafenntartásban, homogén fajták elérése érdekében.

A DH változatok nemesítési értékét vizsgálva, faktoriális párosítási modellben, 4 teszter, 12 hagyományos törzs és 24 DH változat keresztezéséből származó  $F_1$  és  $F_2$  nemzedék analízise alapján bizonyítottuk, hogy a DH vonalak kombinálódó képessége, tenyésztértéke a hagyományos törzsekével azonos.

A doubled haploid törzsek sikeresen használhatók a nemesítésben és a fajtafenntartásban egyaránt.

## 6. SUMMARY

Morphological homogeneity is essential in self-pollinating crops when we want to introduce them as a variety and during variety maintenance or even in seed production. In the selection process, by selfing, the selected lines will be homozygous for the selected traits in concern and at the same time they will be uniform in phenotype. As for poligenically controlled traits and during variety maintenance this can be achieved by fixing the gene frequencies at the background.

During the variety maintenance the main aim is to keep the original characteristics and homogeneity of the variety. It can be solved by a stabilizing selection process.

In the frame of these studies the possible utilization of the doubled haploid lines in the breeding, genetic studies and variety maintenance have been accurately examined. By *in vitro* androgenesis doubled haploid plants and lines have been produced from different wheat cultivars. These homozygote progenies were compared to the traditional original varieties. Agronomic traits (yielding ability, yield components, earliness, technological quality and their utilization in the variety maintenance) have been studied.

For these studies, using 17 sublimes of 4 cultivars 726 doubled haploid lines have been produced by anther cultures. In an accurate series of replicated yield trials over 4 years and 2-4 locations, the yielding ability, adaptability and quality of the DH lined proved to be similar, or slightly better than that of the traditionally selected lines coming from.

Special information that seed stocks coming from the mixtures of positively selected DH lines, proved to be more valuable than breeders' seed, achieved by conventional strains. It can be declared that DH lines can be successfully used in seed production as well.

Examining the breeding value of the DH lines, in a factorial mating with 4 testers, 12 traditional and 24 DH lines were tested for yield and yield components in F<sub>1</sub> trials. The combining ability of the DH lines were comparable to that of the traditional lines.

## MELLÉKLETEK

## M1. IRODALOMJEGYZÉK

- Abd El-Maksoud M. M., Bedő Z. (1993):** Genotype and genotype-medium interaction effects on androgenic haploid production in wheat (*Triticum aestivum*). Cereal Res. Commun., 21: 7- 24.
- Agache S., Basheller B., De Buyser J., Henry J., Snape J. (1989):** Genetic control of anther culture response of wheat using aneuploid chromosome substitution and translocation lines. Theor. Appl. Genet., 77: 7 – 11.
- Agache S., de Buyser J., Henry Y., Snape J. W. (1988):** Studies of the genetic relationship between anther culture and somatic tissue culture abilities in wheat. Plant Breeding, 100: 26-33.
- Baenziger P. S., Kudirka D. T., Schaeffer G. W. and Lazar M. D. (1984):** The significance of doubled haploid variation. In: Gustafson J. P. (ed.), Gene Manipulation in Plant Improvement. New York: Plenum Press, p. 385-414.
- Balatero C. H., Dervey N. L., Luckert D. J. (1995):** Genetic analysis of anther culture response in 6x Triticale. TAG, 90: 272 – 284.
- Ball S. T., Zhou H., Konzak F. (1993):** Influence of 2,4 D, IAA and duration of callus induction in anther cultures of spring wheat. Plant Science, 90: 195 – 200.
- Barabás, Z. (1987):** Fajtafenntartás és vetőmagtermesztés. 251-257. (in: Barabás, Z.: 1987. A búzatermesztés kézikönyve. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest.)
- Barnabás B., Szakács É., Karsai I., Bedő Z. (2001):** *In vitro* androgenesis of wheat: from fundamentals to practical application. Euphytica, 119: 211 – 216.
- Bálint, A. (1969):** A fajtafenntartás genetikai alapjai. MTA Agrártud. Közl. Budapest. 28. 3-4 : 271-286.
- Bedő Z., Karsai I., Láng L., Vida Gy. (1996):** Breadmaking quality of doubled haploid lines of wheat. In: S. M. Jain, S. K. Sopory and R. E. Veilleux (eds.). *In vitro* Haploid Production in Higher Plants, Kluwer Academic Publishers, 2: 93-109.
- Bedő Z., Karsai I., Vida Gy., Láng L. (1992):** Breadmaking quality of doubled haploid lines derived from wheat anther culture. J. Genet. Breed, 46: 263-268.
- Bhullar G.S., Gill K. S., Khehra A. S. (1977):** Stability analysis over various filial generations in bread wheat. Theor. Appl. Genet., 51: 41-44.

- Bingham J. (1983):** Genetic constraints on progress in wheat breeding. Proc. of the „Yield of Cereals”. In: D.W. Wright (Ed.), Intl. Symp. of Royal Agricultural Society of England, pp. 5-11.
- Bjornstad A., Opsahl H. G., Aasmo M. (1988):** Effects of donor plant environment and light during incubation on anther cultures of some spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 17: 27-38.
- Bjornstad. A., Skinnes H., Thoresen K. (1993):** Comparisons between doubled haploid lines produced by anther culture. The *Hordeum Bubolsum* -method and lines produced by single seed descent in barley crosses. *Euphytica*, 66: 135-144.
- Borghini B., Perenzin M. (1990):** Yield and yield stability of conventional varieties and F<sub>1</sub> bread wheat hybrids. *J. Genet and Breed*, 44: 307-310.
- Bowen C. R., Schapaugh W. T. (1989):** Relationships among charcoal rot infection, yield and stability estimates in soybean blends. *Crop Science*, 29: 42-46.
- Bullock W. P., Baenziger P. S., Schaeffer G. W., Bottino P. J. (1982):** Anther culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) F<sub>1</sub>'s and their reciprocal crosses. *Theor. Appl. Genet.*, 62: 155-159.
- Charmet G., Bernard S. (1984):** Diallel analysis of androgenetic plant production in hexaploid triticale (*X. triticacole wittmack*). *Theor. Appl. Genet.*, 69: 55-61.
- Chase S. S. (1952):** Monoploids in maize. In: *Heterosis*. Ed. J.W./ Gowen Iowa State College Press, Ames
- Chaudhary B. S., Paroda R. S., Singh V. P. (1978):** Stability and genetic architecture of harvest index in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Z. Pflanzenzüchtung*, 81: 312-318.
- Chu C. C. (1978):** The N<sub>6</sub> Medium and Its Application to Anther Culture of Cereal Crops. In *Proc. Symp. Plant Tissue culture*. Science Press, Peking, p. 43-50.
- Chuang C. C., Ouayang T. W., Chia H., Chou S. M. m., Ching C. K. (1978):** A set of potato media for wheat anther culture. In: *Proc. Symp. Plant Tissue Culture*, 51-56. Science Press, Peking.
- Comstock R. E., Robinson H. F. (1952):** Estimation of average dominance of genes. In: *Heterosis* (J. W. Coven, ed.). Iowa State Collage Press, Ames: 491-516.
- Courtois B. (1993):** Comparison of single seed descent and anther culture-derived lines of three single cross of rice. *Theor. Appl. Genet.*, 85: 625-631.
- Cseuz L., Kertész Z., Pauk J. (1990):** Combining ability of doubled haploid wheat lines. *Cereal Research Communications*, 18: 45-50.

- De Buyser J, Henry Y. (1980):** Comparison differents milieux utiliseen culture d'antheres *in vitro* chez le ble tendre. Can. J. Bot., 58: 997 – 1000.
- De Buyser J., Henry Y., Lonnet P., Hertzog R., Hespel A. (1987):** 'Florin': A doubled haploid wheat variety developed by the anther culture method. Plant Breeding, 98: 53-56.
- De Buyser J., Marcotte J-L, Henry Y. (1992):** Genetic analysis of *in vitro* wheat somatic embryogenesis. Euphytica, 63: 265 – 270.
- Fadel F., Wenzel G. (1990):** Medium-genotype interaction on androgenic haploid production in wheat. Plant Breeding, 105: 278 – 282.
- Feng G. H., Ouyang J. W. (1988):** The effect of KNO<sub>3</sub> concentration in callus induction medium for wheat anther culture. Plant Cell Tissue & Org. Culture, 12: 3-12.
- Finnie S. J., Powel W., Dyer A. F. (1989):** The effect of carbohydrate composition and concentration on anther culture response in barley (*Hordeum vulgare* L.). Plant Breeding, 103: 110-118.
- Ghaemi M., Sarrafi A., Alibert G. (1995):** Influence of genotype, media composition, cold treatment and their interaction on androgenesis in durum wheat (*Triticum aestivum*). Cereal Res. Commun., 23: 215 – 222.
- Graybosch R. A., Peterson C. J., Hansen L. E., Mattern P. J. (1990):** Relationship between protein solubility characteristics, 1BL.1RS, high molecular weight glutenin composition and end-use quality in winter wheat germplasm. Cereal Chem., 67: 342-349.
- Hassawi D. S., Liang G. H. (1990):** Effect of cultivar, incubation temperature and stage of microspore development on anther culture in wheat triticales. Plant Breeding, 105: 332 – 336.
- He D. G., Ouyang J. W. (1984):** Callus and plantlet information from cultured wheat anthers different developmental stages. Plant Science Letters, 33: 71-79.
- Henry Y., De Buyser J. (1985):** Effect of the 1B/1R translocation on anther culture ability in wheat, *Triticum aestivum* (L). Plant Cell Report, 4: 307 – 310.
- Henry Y., De Buyser J., Guenegou T., Ory C. (1984):** Wheat microspore embryogenesis during *in vitro* anther culture. Theor. Appl. Genet., 67: 439 – 442.
- Heszky L., Mesch J. (1976):** Anther culture investigation in cereal gene bank collection. Z. Pflaenzzüchtg., 77: 187-197.
- Jatasra D. S., Paroda R. S. (1981):** Genotype-environment interaction in segregating generations of wheat. Indian J. Genetics and Plant Breeding, 41: 12-17.
- Javornic B., Sinkovic T., Vapa L., Koebner R. M. D., Rogers W. J. (1991):** A comparison of methods for identifying and surveying the presence of 1BL.1RS translocations in bread wheat. Euphytica, 54: 45-53.

- Jánossy, A. (1968):** Nemesített növényfajták fenntartásának módszerei. Tápiószele (in. Litt.). (Jánossy A.: 1968. Cit. Bálint A.: 1969).
- Jensen, N. F. (1965):** Population Variability in Small Grains. *Agron. J.* 57: 153-162.
- Jones A. M., Petolino J. F. (1987):** Effects of donor plants genotype and growth environment on anther culture of soft-red winter wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 8: 215 – 223.
- Karsai I. (1992):** A portok kultúra felhasználásának lehetőségei és korlátai a búzanemesítésben. Kandidátusi értekezés, Martonvásár, 1992.
- Karsai I., Bedó Z., Balla L. (1991):** The effect of repeated anther on *in vitro* androgenesis of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Research Communications*, Vol. 19. No.4: 424-430.
- Kertész Z. (1996):** Novel methods in wheat breeding at the Cereal Research Institute, Szeged. Second Seminar on Soil-Plant-Environment Relationships. December 9-11, Debrecen, Hungary.
- Kertész Z., Kertész Cs., Matuz J., Pauk J., Cseuz L., Mesterházy Á., Papp M., Csősz L.-né, Purnhauser L., Fónad P., Beke B., Szbellédy L.-né, Bánhidy J., Ács E. (2001):** A szegedi fajtafenntartási kutatások eredményei és hatásuk a magyar búzatermesztésre. VII. Növény-nemesítési Tudományos napok. Összefoglalók, p. 33.
- Kertész Z., Kertész Cs., Pauk J. (1998):** Positive evidences about the yield and quality of doubled haploids in wheat. XV. EUCARPIA Congress, p. 67.
- Kertész Z., Kertész Cs., Pauk J. (1999):** Hátrányt jelent-e az androgenézis indukciója búzanemesítési szempontból? Magyar Genetikai Kongresszus, Siófok.
- Kertész Z., Kertész Cs., Pauk J., Felusi J., Törjék O., Kiss E., Mázik K., Hasan S., Heszky L. (2000):** Utilization of the anther culture in wheat breeding and seed production. 6<sup>th</sup> International Wheat Conference, Budapest. P. 527-530.
- Kertész Z., Kertész Cs., Pauk J., Matuz J., Heszky L. (1999):** Búzafajták doubled haploid analógjaik tézta- és sütőipari minősége. Növény-nemesítési. Tud. Napok, p. 19.
- Kertész Z., Kertész Cs., Pauk J., Matuz J., Kiss E., Tőkei K., Heszky L. (1998):** Búzafajták és doubled haploid analógjaik agronómiai teljesítménye. Növény-nemesítési. Tud. Napok, p. 27.
- Kertész Z., Matuz J., Pauk J., Kertész Cs. (1997):** Evaluation of some aspects of variety maintenance in wheat. *Wheat Newslett.*, p. 116.
- Kertész Z., Pauk J., Barabás Z. (1991):** Production and utilization of doubled haploid wheat mutants in hybrid and conventional breeding. Proc. FAO/IAEA Meeting. Katowice (M. Maluszynski, Z. Barabas, eds.). *Cereal Research Communications*, 19(1-2): 109-117.

- Kertész Z., Pauk J., Kertész Cs., Heszky L. (1998):** Positive evidence on the agronomic value of doubled haploids in wheat. *Int. Wheat*, p. 250-252.
- Kertész Z., Pauk J., Matuz J. (1992):** Practical results of the *in vitro* androgenesis in wheat. Book of Poster Abstracts XIII<sup>th</sup> EUCARPIA Congress, Angers, France, p. 173-174.
- Lazar M. D., Baenziger P. S., Schaeffer G. W. (1984):** Cultivar and cultivar x environment effects on the development of callus and polyhaploid plants from anther cultures of wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 67: 273-277.
- Lazar M. D., Schaeffer G. W., Baenziger P. S. (1990):** The effects of interactions of culture environment with genotype on wheat (*Triticum aestivum*) anther response. *Plant Cell Reports*, 8: 525 – 529.
- Léon J. (1994):** Mating system and the effect of heterogeneity and heterozygosity on phenotypic stability. Proc. of the 9<sup>th</sup> Meeting of the EUCARPIA Section Biometrics in Plant Breeding, Wageningen, the Netherlands.
- Liang G. H., Xu A., Hoang-Tang (1987):** Direct generation of wheat haploids via anther culture. *Crop Science*, 27: 336 – 339.
- Love, R. M. (1943):** A cytogenetic study of off-types in winter wheat, Dawson's Golden Chaff, including a white chaff mutant. *Can. J. Res.* 21 : 257-264.
- Lőkös Tóth, K., Mázik Tókei, K., Kertész Z., Pauk J., Heszky L. (1997):** Agronomic performance of doubled haploid wheat varieties. *Cereal Research Communications*, 25: 155-162.
- Marburger J. E., Sammons D. J., Schaeffer G. W. (1987):** Effect of a modified potato medium on anther culture of wheat. *Crop Science*, 27: 351-354.
- Moieni A., Sarrafi A. (1996):** The effects of gibberelic acid, phenylethylamine, 2,4 D and genotype on androgenesis in hexaploid wheat (*Triticum aestivum*). *Cereal Res. Commun.*, 24: 139 – 145.
- MSZ 6367-12 (1987):** Élelmezési, takarmányozási, ipari magvak és hántolt termékek vizsgálata. Nedvessikér tartalom meghatározása. Budapest, Magyar Szabványügyi Testület.
- MSZ 6369-6 (1988):** Liszvizsgálati módszerek. A vízfelvevő képesség és a sütőipari érték vizsgálata. Budapest, Magyar Szabványügyi Testület.
- Navarro-Alvarez W., Baenziger P. S., Eskridge K. M., Shelton D. R., Gustafson V. D. (1994):** Effects of sugar in wheat anther culture media. *Plant Breeding*, 112: 53 – 62.
- Orshinsky B., Sadasivaih R. (1994):** Effects of media on embryoid induction and plant regeneration from cultured anthers of soft white spring wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Science*, 102: 99 – 107.
- Orshinsky B. R., McGregor L. J., Johnson G. I. E., Hucl P. and Kartha K.**

- K. (1990):** Improved embryoid induction and green shoot regeneration from wheat anthers cultured in medium with maltose. *Plant Cell Reports*, 9: 365-369.
- Otani M., Shimada T. (1994):** Pollen embryo formation and plant regeneration from cultured anthers of tetraploid wheat. *Journal of Genetics and Breeding*, 48: 103 – 106.
- Otani M., Shimada T. (1995):** Effects of synthetic medium on microspore-derived embryoid formation of tetraploid wheat species. *Cereal Res. Commun.*, 23: 345 – 350.
- Ouyang J. W., He D. G., Feng G. H., Jia S. E. (1987):** The response of anther cultures to culture medium temperature varies with growth conditions of anther-donor plants. *Plant Science*, 49: 145-148.
- Ouyang J. W., Hu H., Chuang C. C., Tseng C. C., (1973):** Induction of pollen plants from anthers of *Triticum aestivum* L. cultured *in vitro*. *Sci. Sinica*, 16:79-95.
- Ouyang J. W., Zhou S. M., Jia S. E. (1983):** The response of anther culture to culture temperature in *Triticum aestivum*. *Theor. Appl. Genet.*, 67: 101-109.
- Pauk J. (1992):** A búza (*Triticum aestivum* L.) protoplaszt- és portoktenyésztése. Kandidátusi értekezés. 1-98.
- Pauk J., Kertész Z. (1997):** Production and evaluation of doubled haploid wheat lines. *J. Appl. Genet.*, 38: 425-435.
- Pauk J., Kertész Z., Barabás Z. (1988):** Búza törzsek előállítása portoktenyésztésből és szereplésük teljesítmény-kísérletben. *Növénytermelés*, 37(3): 197-203.
- Pauk J., Kertész Z., Beke B., Bóna L., Csósz M., Matuz J. (1995):** New Winter Wheat Variety: “GK Délibáb” Developed via Combining Conventional Breeding and *in vitro* Androgenesis. *Cereal Research Communications*, 23: 252-256.
- Pauk J., Puolimalka M., Talli N., Mesterházy Á., Kertész Z. (1999):** Integration of *in vitro* induced doubled haploids in wheat breeding programs. *Gametic embryogenesis in monocots*. P. 53-57.
- Pepó Péter (2001):** A hazai nemesítés szerepe a búzatermesztés biológiai alapjainak fejlesztésében. VII. Növénytermelési Tudományos Napok. Összefoglalók.p. 34.
- Pfahler P. L., Linskens H. F. (1979):** Yield stability and population diversity in oats (*Avena sp.*). *Theor. Appl. Genet.*, 54: 1-5.
- Picard E., De Buyser J. (1973):** Obtention de plantes haploides de *Triticum aestivum* L. á partir de cultures d’antheres *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 277: 1463-1466.

- Picard E., de Buyser J. (1977):** High production of embryoids in anther culture of pollen derived homozygous spring wheats. *Ann. Améllor. Plantes*, 27: 483-488.
- Picard E., Rode A., Doussinault G., Rousset M., Rives M. (1990):** Wheat (*Triticum aestivum* L.): *In vitro* production and utilization of doubled haploids. In: Bajaj (ed): *Biotech. In Agric. And Forestry*, Vol. 12: 101-124.
- Powell W., Thomas W. T. B., Thompson D. M. (1992):** The agronomic performance of anther culture derived plants of barley produced via pollen embryogenesis. *Ann. Appl. Biol.*, 120: 137-150.
- Riley, R., Kimber, G. (1961):** Aneuploids, and the cytogenetic structure of wheat varietal populations. *Heredity*. 16: 275-290.
- Schaeffer G. W., Baenziger P. S. and Worley J (1979):** Haploid plant development from anthers and *in vitro* embryo culture of wheat. *Crop Science*, 19: 697-702.
- Schaeffer G. W., Bottino J., Bullock W. P., Baenzinger P. S. (1982):** Anther culture of *Triticum aestivum* (L) and their reciprocal crosses. *Theor. Appl. Genet.*, 62: 155 - 159.
- Schutz W. M., Brim C. A., (1971):** Inter-genotypic competition in soybeans. III. An evaluation of stability in multilines mixtures. *Crop Science*, 11: 684-689.
- Shimada T., Makino T. (1975):** *In vitro* culture of wheat, III. Anther culture of the A genom aneuploids in common wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 45: 407-410.
- Simmouds J. (1989):** Improved androgenesis of wheat cultivars of *Triticum aestivum* in response to low temperature treatment of donor plants. *Plant Science*, 65: 225 – 231.
- Snape W. J., Sitch L. A., Simpson E., Parker B. B. (1988):** Tests for the presence of gametoclonal variation in barley and wheat doubled haploids produced using the *Hordeum Bulbosum* system. *Theor. Appl. Genet.*, 75: 509-513.
- Sváb J. (1967):** Biometriai módszerek a mezőgazdasági kutatásban. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Sváb J. (1971):** A populációgenetika alapjai. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, p. 191.
- Szakács E., Kovács G., Pauk J., Barnabás B. (1988):** Substitution analysis of callus induction and plant regeneration from anther culturer in wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Cell Reports*, 7: 127 – 129.
- Turesson I. K. D., Pederson S., Anderson S. B. (1989):** Nuclear genes affecting albinism in wheat (*Triticum Aestivum* L.) anther culture. *Theor. Appl. Genet.*, 78: 879-883.

- Walker A. K., Fehr W. R. (1978):** Yield stability of soybean mixtures and multiple pure stands. *Crop Science*, 18: 719-723.
- Wang C. C., Chu C. C., Sun C. S., Wu S. H. m., Yin K. C., Hsü C. (1973):** The androgenesis in wheat (*Triticum aestivum*) anthers cultured *in vitro*. *Act. Gen. Sinica*, 16: 218-222.
- Watanabe, E. Y. (1954):** Studies on the cytological instabilities of common wheat. I. The meiotic abnormalities of dwarf wheat, Norin No. 10, with special reference to the appearance of tall plants. *Jap. Breed.* 4: 67-77.
- Wernsman E. A., Matzinger D. F., Rufty R. C. (1989):** Androgenic vs. gynogenetic doubled haploids of tobacco. *Crop Science*, 29: 1151-1155.
- Winzeller H., Schmid J., Fried P. M. (1987):** Field performance of androgenic doubled haploid spring wheat lines in comparison with lines selected by the pedigree system. *Plant Breeding*, 99: 41-48.
- Worland, A. J., Law, C. N. (1985):** Aneuploidy in Semi dwarf wheat varieties. *Euphytica*, 34: 317-327.
- Zhang Y. L., Li D. S., (1984):** Anther culture of monosomics in *T. aestivum* (L). *Hereditas*, 6: 7 – 10.
- Zhou H. P., Konzak C. F. (1989):** Improvement of anther culture methods for haploid production in wheat. *Crop Science*, 29: 817-821.
- Zhuang J. J., Jia X. (1983):** Increasing differentiation frequencies in wheat pollen callus. In: *Cell and tissue culture techniques for cereal crop improvement. Proceeding of a workshop cosponsored by the Institute of Genetics, Academia Sinica and The IRRI, Science Press, Beijing*, 431-432.

M2. DH törzsek kombinálódóképesség vizsgálata, alapadatok

M3. DH törzsek kombinálódóképesség vizsgálata, statisztikák

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet szeretnék mondani Dr. Heszky Lászlónak, PhD programvezetőmnek éveken át nyújtott megtisztelő támogatásáért, szakmai segítségéért.

Hálás köszönet illeti témavezetőmet, Dr. Kertész Zoltánt, akinek meg nem szűnő segítése és megértése nélkül ez a disszertáció nem készülhetett volna el.

Szeretném megköszönni Dr. Matuz Jánosnak, hogy a Gabona Kutató Kht-ben elvégezhettem témám kidolgozását.

Szintén köszönettel tartozom Kertész Csillának és Bánhidy Juditnak a napról napra áldozatkész munkájukért.

Hálásan köszönöm Dr. Pauk Jánosnak, hogy átadta szakmai tudását, és biztosította a laboratóriumi munka feltételeit. Egyben az ott dolgozó munkatársaknak is köszönöm.

Munkámhoz folyamatos segítséget nyújtottak a Gabona Kutató Kht Ságvári telep dolgozói, melyet ezúton is köszönök.

Hálával gondolok Ljupco Jankuloskyra a labor munkában való segítségéért.

Külön köszönetet mondok Petróczy Istvánnak, Falusi Jánosnak, Gyuris Kálmánnak a nagyon értékes hibrid búza kísérletek lefolytatásáért, és az adatok rendelkezésemre bocsátásáért.

**DOUBLED HAPLOIDOK FELHASZNÁLÁSA A  
BÚZANEMESÍTÉSBEN ÉS FAJTAFENNTARTÁSBAN**

*Doktori értekezés*

*Mohammad Mehfuz Hasan Saikat*

*Gödöllő*

2001.

**Doktori iskola:** Növénytudományi Doktori Iskola

**Vezetője:** Dr. Virányi Ferenc  
egyetemi tanár, MTA doktora  
SZIE, Növényvédelem Tanszék

**Tudományága:** Növénytermesztési és kertészeti tudományok

- Program:** Növénynevelés Genetikai és Biotechnológiai  
Módszerekkel
- Programvezető:** Dr. Heszky László  
tanszékvezető egyetemi tanár, MTA levelező tagja  
SZIE, Genetika és Növénynevelés Tanszék
- Vezetője:** Dr. Kertész Zoltán  
Búzanemesítési és Genetikai Osztály vezetője, MTA  
doktora Gabonatermesztési Kutató Kht.  
Szeged.

.....  
Dr. Heszky László  
programvezető

.....  
Dr. Kertész Zoltán  
témavezető

## Rövid összefoglalás

A búza, mint tipikusan öntermékenyülő növény nemesítése, fajtafenntartása és vetőmag szaporítása során a homogenitás elérése és fenntartása alapvető feladat. A fajtaelőállítás szelekciós fázisában a sorozatos öntermékenyítés közben végzett kiválogatás nyomán a szelektált tulajdonságokért felelős gének fokozatosan homozigótává válnak, a fajta az adott bélyegekre nézve kiegyenlített lesz. A poligén rendszerek által irányított bélyegek esetén ez az allélgyakorosságok fixálásával érhető el.

A fajtafenntartás során a fajta eredeti bélyegeinek, így homogenitásának megtartása a cél. Stabilizáló szelekcióval a feladat megoldható.

A téma kutatása kapcsán alaposan és sokrétűen megvizsgáltuk a doubled haploidok felhasználási lehetőségeit a nemesítés, a genetikai kutatások és a fajtafenntartás területén. *In vitro* androgenezissel haploidokat, majd doubled haploidokat hoztunk létre a különböző fajtákból. A tiszta származék utódokat a hagyományos eljárással létrehozott törzsekkel hasonlítottuk össze. Vizsgáltuk agronómiai értéküket (termőképesség, terméskomponensek, koraiság, betegségekkel szembeni ellenállóság, tészta és sütőipari minőség illetve alkalmazkodó-képesség, valamint felhasználási lehetőségeiket a nemesítésben, a fajtafenntartásban, genetikai vizsgálatokban és más kutatási területeken.

Négy búzafajta 17 törzsét felhasználva, portok kultúra módszerével 726 doubled haploid (DH) törzset állítottunk elő. A hagyományos és DH törzsek termőképességét, minőségét és fontosabb agronómiai bélyegeit, több termőhelyes és több éves szabályos szántóföldi teljesítmény kísérletek alapján csaknem azonosnak találtuk. Megállapítottuk, hogy a DH vonalak agronómiai szempontból ugyanolyan értékesek, mint a hagyományosan szelektált fajták. Több termőhelyes kísérletek bizonyították, hogy a DH törzsek, és a DH törzsekből képzett törzskeverékek teljesítménye még jobb, mint a hagyományos törzseké. Így sikeresen használhatók a fajtafenntartásban, homogén fajták elérése érdekében. A DH változatok nemesítési értékét vizsgálva, faktoriális párosítási modellben, 5 teszter, 12 hagyományos törzs és 24 DH változat keresztezéséből származó  $F_1$  és  $F_2$  nemzedék analízise alapján bizonyítottuk, hogy a DH vonalak kombinálódó képessége, tenyésztéke a hagyományos törzsekével azonos.

A doubled haploid törzsek sikeresen használhatók a nemesítésben és a fajtafenntartásban egyaránt.

## 6. SUMMARY

Morphological homogeneity is essential in self-pollinating crops when we want to introduce them as a variety and during variety maintenance or even in seed production. In the selection process, by selfing, the selected lines will be homozygous for the selected traits in concern and at the same time they will be uniform in phenotype. As for polygenically controlled traits and during variety maintenance, this can be achieved by fixing the gene frequencies at the background.

Working out this project we have concentrated to study and make a wide range of examinations on the possible utilization of doubled haploid lines in the plant breeding, genetics and in the variety maintenance.

For these studies, using 17 sublines of 4 cultivars 726 doubled haploid lines have been produced by anther cultures. In an accurate series of replicated yield trials over 4 years and 2-4 locations, the yielding ability, adaptability and quality of the DH lined proved to be similar, or slightly better than that of the traditionally selected lines coming from.

Special information that seed stocks coming from the mixtures of positively selected DH lines, proved to be more valuable than breeders' seed, achieved by conventional strains. It can be declared that DH lines can be successfully used in seed production as well.

Examining the breeding value of the DH lines, in a factorial mating with 4 testers, 12 traditional and 24 DH lines were tested for yield and yield components in  $F_1$  trials. The combining ability of the DH lines were comparable to that of the traditional lines.

In a selection study, including 5 crosses and several thousand lines, it was found that the crossing parents had strong affect to the possible homogeneity of their advanced line progenies. For the Hungarian homogeneity standards repeated or multiple selection are necessary, and adequate.