

SZÉKFOGLALÓK A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIÁN

HESZKY LÁSZLÓ

MORFOGENEZIS HAPLOID
ÉS SZOMATIKUS
SEJTEKBŐL IN VITRO



1825

Szerkesztő
GLATZ FERENC

Olvasószerkesztő
Pótó János

ISBN 963 508 194 4
ISSN 1419-8959

Kiadja
a Magyar Tudományos Akadémia, 2000
Felelős kiadó: Szabó B. István
Kiadói szerkesztő: Burucs Kornélia
Nyomdai előkészítés: MTA Történettudományi Intézete kiadványcsoportja
Tördelő: Csányi Attila
Nyomdai munkálatok: AKAPRINT Nyomdaipari Kft.
Felelős vezető: Freier László ügyvezető igazgató

Heszky László

az MTA levelező tagja

Morfogenezis haploid és szomatikus sejtekből *in vitro*

Elhangzott 1998. november 12-én

A 20. század közepére bizonyítottá vált, hogy a magasabb rendű szervezetek minden egyes sejtje a teljes genetikai információkészlettel rendelkezik. Ez a tény a kutatók számára megadta az elvi lehetőségét annak, hogy egyetlen izolált sejtből egy intakt növényt neveljenek fel, laboratóriumi körülmények között. Az elméleti lehetőség tehát adott volt az 1960-as évek végén, amikor friss diplomásként elkezdtem dolgozni az Országos Agrobotanikai Intézetben, Jánossy Andor akadémikus mellett.

Végül is megkaptam a sorstól a lehetőséget, hogy részese legyek annak a csodálatos korszaknak, mely az 1960-as években a haploid és szomatikus növényi sejtek totipotenciája *in vitro* bizonyításával indult, majd a 70–80-as években, a növényi biotechnológiában folytatódott, és napjainkban, a növényi géntechnológiában teljeseedik ki. Az ezekben az évtizedekben feltárt új ismeretek alapjaiban módosították felfogásunkat és lehetőségünket az élővilággal, ezen belül a növényvilággal, a növényneveléssel és a növénytermesztéssel kapcsolatban.

Autotetraploid növények előállítása

Az első kutatási feladatomban a fű-faj- és fajtagyűjtemény fejlesztése, vizsgálata és megőrzése volt, melyet igyekeztem a legjobb tudásom szerint ellátni. Ezt az is bizonyítja, hogy kétéves kutatói múlttal a hátam mögött Máthé Imre akadémikus felkért egy közös könyv írására – az Akadémiai Kiadónál – a *Phleum pratense*

L.-ről, melyet később egy másik is követett *Az angolperje (Lolium perenne L.) és rokonai* címmel (1, 2). A leíró jellegű gébanki feladatok mellett azonban kerestem az igazi kihívást jelentő tudományos problémákat és kérdéseket. Ilyen volt a poliploidizáció, mely során – különböző kolchicinkezelési mód-szerekkel – hazánkban elsőként állítottam elő az angol perje (*Lolium perenne L.*), az olasz perje (*L. multiflorum Lam.*) és a hollandi perje (*L. multiflorum Lam. var. westerwoldicum Witm.*) autotetraploid alakjait.

A tetraploid növények testi sejtjei $2n = 4x = 28$ kromoszómát tartalmaztak. A poliploid egyedek a sztómahosszúság és a pollenátmérő alapján is azonosíthatók voltak. A virágzatuk, a caryopsisuk hosszúsága és szélessége, az embrióik mérete, valamint ezerszem-tömegük meghaladta a diploidokét. A növények magasabbak, száruk vastagabb, levelük sötétzöldebb és szélesebb. Erősebb gyökérzetük miatt télállóbbak, szárazságtűrőbbek és jobban sarjadznak, mint a diploidok. Zöldtermő képességük jobb, nyersfehérje- és szénhidráttartalmuk nagyobb.

Hibrid növények előállítása proembrió-tenyésztéssel

Bizonyítási vágyaimat azonban ez sem elégítette ki. Fiatalos hévvel valami olyat szerettem volna elérni, ami még senkinek sem sikerült. Ezért kezdtem el foglalkozni a faj- és nemzetség-hibridek előállításával.

Célom új faj- és nemzetség-, valamint valenciahibridek előállítása volt a *Lolium* nemzetségen belül, illetve a *Lolium* és *Festuca* nemzetségek között. Tudtam, hogy célomat csak akkor fogom elérni, ha az elődökhöz képest új megközelítést alkalmazok. Ezt az *in vitro* embrió-, illetve proembriókultúra jelentette. A hibrid proembriók mesterséges felnevelésével több keresztezési kombinációban sikerült az – inkompatibilitás miatt *in vivo* bekövetkező – embrióabortálást megelőznöm és megakadályoznom. Ezzel vált lehetővé számomra többek között, nemzetközi viszonylatban még ismeretlen, új nemzetség-hibrid, a *Festuca pratensis Huds. (2x) x Lolium temulentum L. (2x)* előállítása (3) (1. táblázat).

Gazdasági szempontból a *L. westerwoldicum (2x) x F. arundinacea (6x)* bizonyult különösen értékesnek. Ez a nemzetség-hibrid az apához hasonlóan télálló volt, az anyától pedig a szársarjú fejlődés képességét örökölte. Szára felálló (120–130 cm), virágzata buga, levele a szülőfajokhoz képest hosszabb, szélesebb és vastagabb volt. Zöldtermő képessége mind a két szülőét felülmúlta.

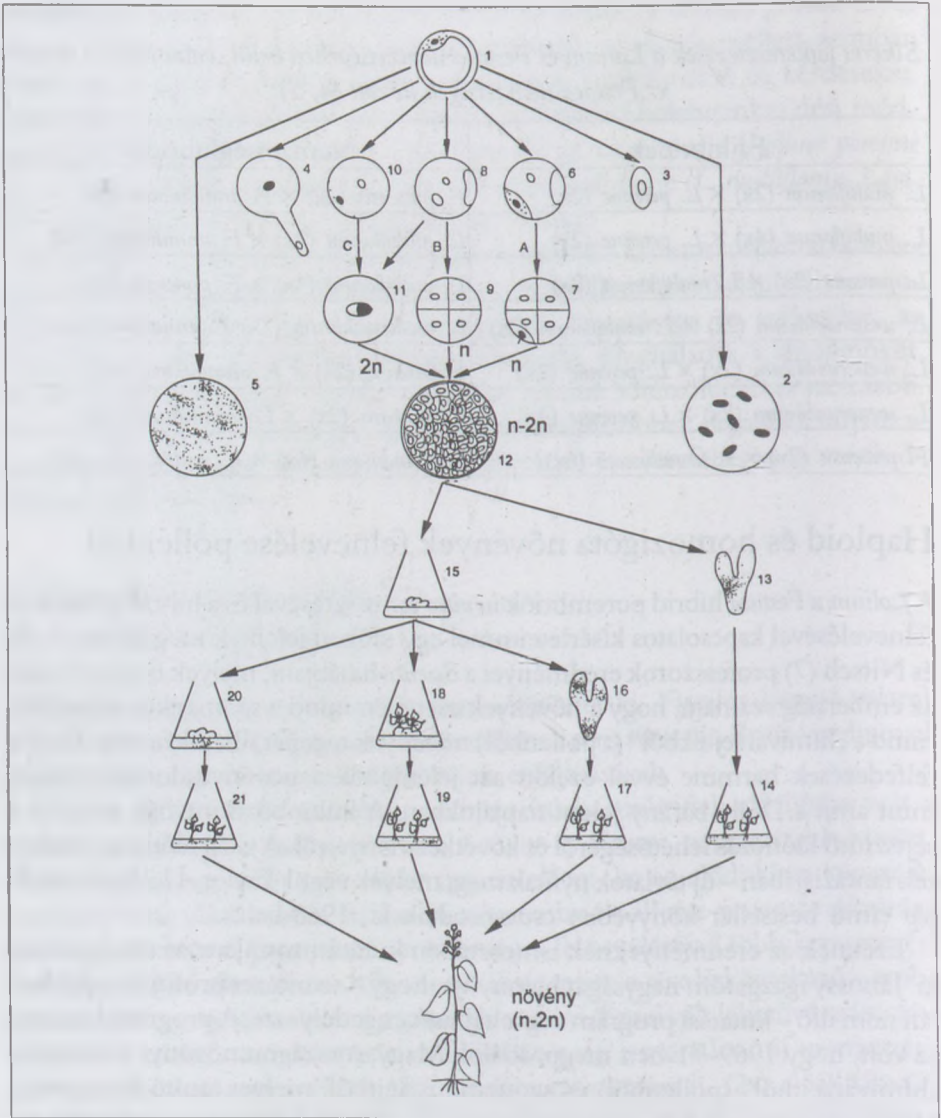
Sikeres fajkereszteszések a *Lolium* és *Festuca* nemzetségeken belül, valamint a *Lolium* és *Festuca* nemzetségek között (4, 5):

Fajhibridek	Nemzetséghibridek
<i>L. multiflorum</i> (2x) × <i>L. perenne</i> (2x)	<i>F. pratensis</i> (2x) × <i>F. arundinacea</i> (6x)
<i>L. multiflorum</i> (4x) × <i>L. perenne</i> (2x)	<i>L. multiflorum</i> (2x) × <i>F. arundinacea</i> (6x)
<i>L. perenne</i> (2x) × <i>L. multiflorum</i> (2x)	<i>L. multiflorum</i> (4x) × <i>F. pratensis</i> (2x)
<i>L. westerwoldicum</i> (2x) × <i>L. multiflorum</i> (2x)	<i>L. westerwoldicum</i> (2x) × <i>F. arundinacea</i> (6x)
<i>L. westerwoldicum</i> (2x) × <i>L. perenne</i> (2x)	<i>L. perenne</i> (2x) × <i>F. arundinacea</i> (6x)
<i>L. westerwoldicum</i> (2x) × <i>L. perenne</i> (4x)	<i>F. pratensis</i> (2x) × <i>L. temulentum</i> (2x)
<i>F. pratensis</i> (2x) × <i>F. arundinacea</i> (6x)	<i>F. arundinacea</i> (6x) × <i>L. multiflorum</i> (4x)

Haploid és homozigóta növények felnevelése pollenből

A *Lolium* × *Festuca* hibrid porembriók *in vitro* tenyésztésével és a hibrid növények felnevelésével kapcsolatos kísérleteimmal egy időben jelentek meg Steward (6) és Nitsch (7) professzorok eredményei a *Science* hasábjain, melyek bizonyították az emberiség számára, hogy a növények esetében mind a szomatikus sejtekből, mind a „hímivarsejtekből” (a pollenből) növények regenerálhatók *in vitro*. Ezek a felfedezések harminc évvel ezelőtt azt jelentették a növénytudományokban, mint amit a Dolly bárány jelent napjainkban. A különböző médiák zengtek a sejtszintű klónozás lehetőségéről és következményeiről. A világ előtt – az emberek fantáziájában – új távlatok nyíltak meg, melyek végül Taylor *A biológiai pokolgép* című bestseller könyvében csúcspontot értek el, 1968-ban.

Ezeknek az eredményeknek ismeretében kutatási munkatervet dolgoztam ki. Jánossy igazgatóm nagyságát bizonyítja, hogy – az intézet profiljába egyáltalán nem illő – kutatási program végrehajtását engedélyezte. A program lényege az volt, hogy 1969–71-ben megpróbáljak Magyarországon növényt felnevelni „hímivarsejtből” (pollenből) és szomatikus sejtéből, melyet tanító mesterem, Mátyás professzor is lehetetlennek tartott. Ez először a dohányportok kultúrában sikerült (8). A pollenhaploid növények még a tenyészetben növekedtek, amikor már azon törtem a fejem, vajon mivel is tudnám megmagyarázni ezt a jelenséget. A kérdés, amelyre a választ kerestem, úgy szólt: milyen folyamatok játszódnak le a portokban az androgenezis indukcióját követően, melyek végül a haploid növények kialakulását eredményezik? E munkám során tisztáztam a mikroszpóra sejtek indeterminált fejlődési fázisát, a sporofitafejlődés determi-



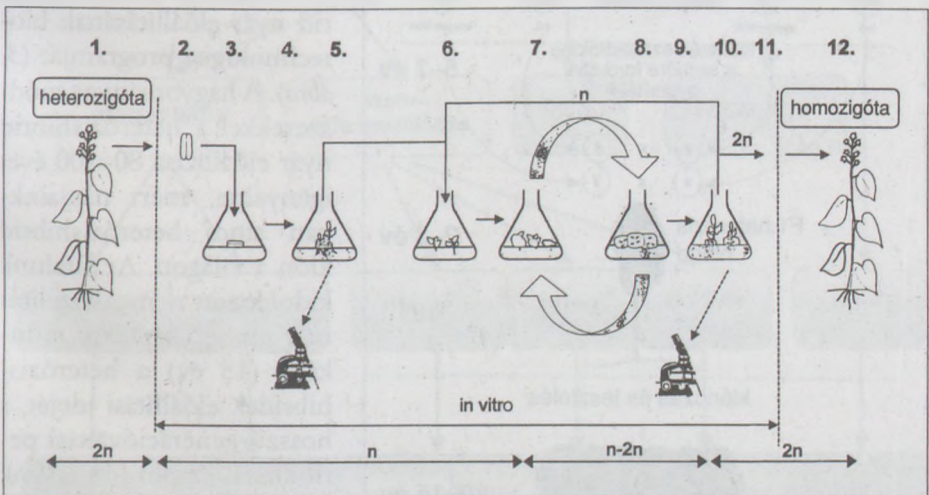
1. ábra. Haploid és DH növények felnevelésének alternatív útjai a portokkultúrában. A táptalajra izolált egymagvas vakuólumos sporofita fejlődésének alternatív útjai (1-7, 1-9, 1-11) során soksejtes pollenszem alakul ki. Az abortív utakat, a tömlőt hajtó (4) az összezsugorodott (3), a sokmagvas (2) és a hipertrófiás (5) pollen kialakulása jelentik. A soksejtes pollenből közvetlenül pollenembriogenezissel (12-14) vagy közvetve kalluszfázison keresztül organogenezissel (15-21) regenerálhatók a növények

nációját kiváltó *in vitro* feltételeket, majd az azokat követő citológiai és anatómiai folyamatokat (9, 10).

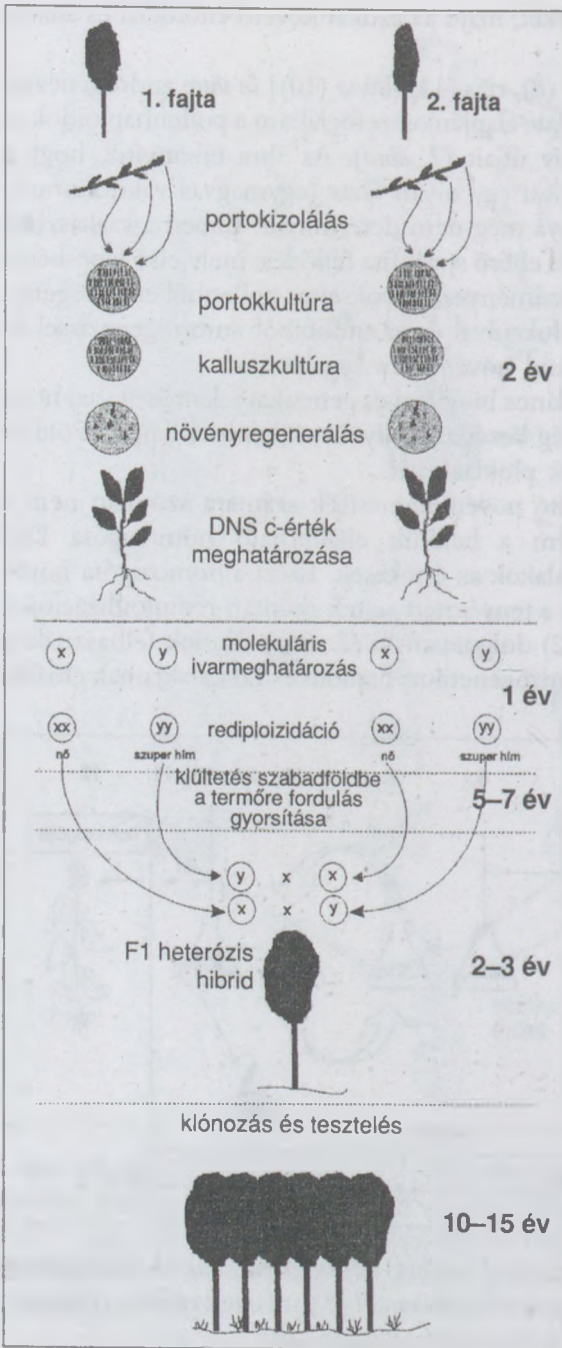
A különböző fajok [dohány (8), rizs (11), búza (10)] *in vitro* androgenezise folyamatainak citológiai vizsgálata alapján összefoglaltam a pollenhaploidok *in vitro* ontogenezisének alternatív útjait (1. ábra). Az ábra bizonyítja, hogy a mikrospóra ontogenezisében van egy olyan fázis (egymagvas vakuólumos), melyben a továbbfejlődés iránya még nem determinált. Ebben a szakaszban indukálható a gametogenezistől eltérő sporofita fejlődés, mely első lépésben a soksejtes pollen kialakulását eredményezi. A soksejtes pollenből embriogenezissel, illetve pollenkallusz-indukcióval és ez utóbbiból embriogenezissel és organogenezissel lehet a haploid növényeket regenerálni.

Az *in vitro* androgenézis általános biológiai és genetikai jelentősége az, hogy olyan módszert ad az emberiség kezébe, mellyel csökkenteni lehet a Földön élő magasabb rendű növények ploidszintjét.

Az új növényfajtákat előállító növénynemesítők számára azonban nem a haploid (n) növények, hanem a belőlük előállítható homozigóta DH (dihaploid, doubled haploid) alakok az értékesek. Ezért a homozigóta növények folyamatos előállítására – a tenyésztett sejtek spontán rediploidizációján alapuló – *in vitro* rendszert (12) dolgoztam ki (2. ábra). Ennek felhasználása különösen sikeres volt a rizs androgenetikus haploid és DH alakjainak előállí-



2. ábra. Homozigóta (dihaploid, doubled haploid) növények folyamatos előállításának módszere *in vitro* androgenézissel portokkultúrában (1–5), valamint embrió- és organogenezissel, kallusztenyésztésben (6–10)



3. ábra.

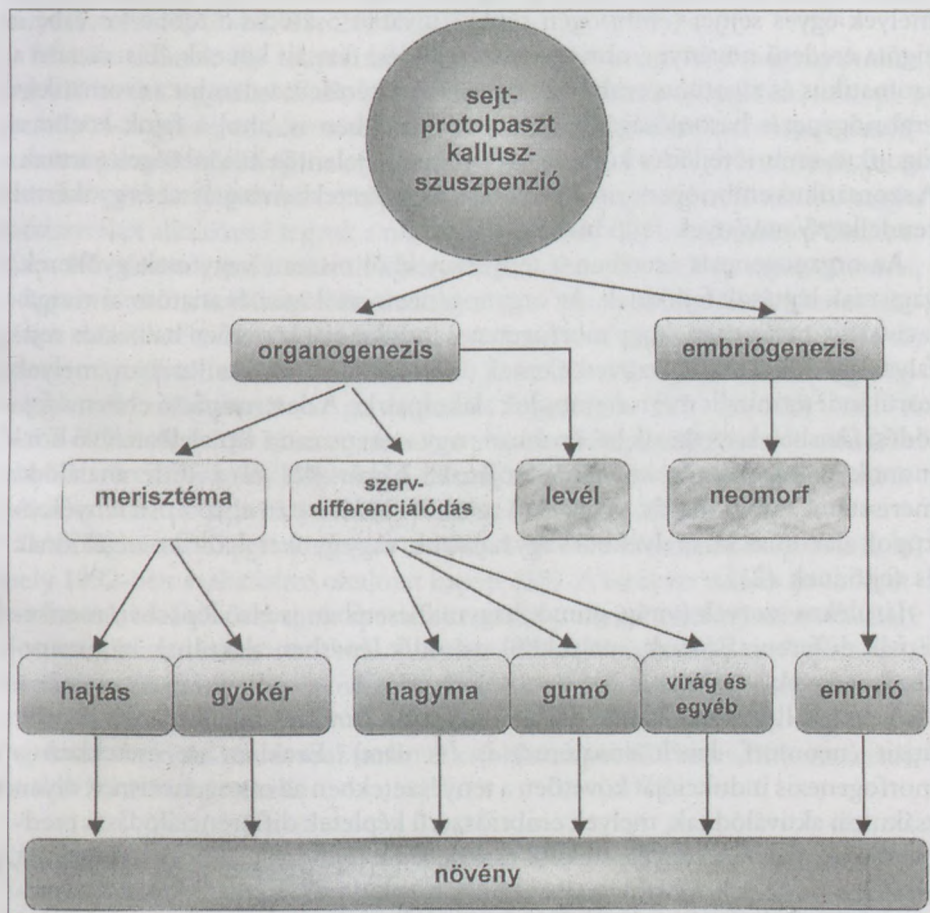
A heterózis hibrid nyár előállítására biotechnológiai módszerekkel (in vitro androgenezis, molekuláris ivar-determináció, hormonkezelés)

tása során, mely 15 évvel később az első biotechnológiai eredetű magyar növényfajta, a 'DAMA' állami elismeréséhez vezetett (13, 14, 15).

Az utóbbi évtizedben az erdei fajok közül a nyárnál is sikerült pollenhaploid növényeket előállítanunk (16). Ez adta meg számunkra annak lehetőségét, hogy felvazoljuk a heterózishibrid nyár előállításának biotechnológiai programját (3. ábra). A hagyományos módszerekkel a heterózishibrid nyár előállítása 80-100 évet igényelne, ezért napjainkban sincs heterózishibrid klón a világon. Az általunk kidolgozott megközelítés már emberi léptékre redukálja (15 év) a heterózishibridek előállításának idejét, a hosszú generációváltási periódussal szaporodó fajok esetében is. Jelenleg munkatársaimmal együtt dolgozunk ennek a programnak a megvalósításán (17).

Növények felnevelése szomatikus sejtekből

A növény-biotechnológia legnagyobb előnyét és lehetőségét az állati és humán sejt- és szövettenyésztési kutatásokkal szemben a kifejlett szervezet (növény) regenerálásának lehetősége jelenti a tenyésztett szomatikus sejtekből. A növény-regenerálás az *in vitro* ontogenezist jelenti, mely folyamat egyik végén a tenyésztett dedifferenciálódott szomatikus sejt, a másik végén pedig az intakt növény van. Skoog professzor klasszikus növényregenerációs kísérletét (18) követően az 1960-as évek végéig a tudományos közvélemény a növényregenerálásnak csak



4. ábra. Morfogenezis lehetséges útjai a magasabbrendű növények sejt- és szövettenyésztéseiben

egyetlen útját tartotta lehetségesnek, az organogenezist. A szomatikus embriogenezis – Steward (6) és Reinert (19) professzorok munkásságát követően – az 1960-as évek végén vált vitathatatlannal bizonyítottá és általánosan elfogadottá.

Az *in vitro* androgenezishez hasonlóan az 1960-as évek végén, az 1970-es évek elején – az *in vitro* morfogenezis esetében is – az a kérdés foglalkoztatott, hogy milyen folyamatokat kell indukálni és fenntartani a tenyészetekben akkor, amikor azokból növényeket akarunk felnevelni (4. ábra). Sárgarépa-sejtszuszpenzióban sikerült tisztáznom az embriogenezis korai fázisára jellemző folyamatokat, melyek általában stresszhatással indukálhatók. Az indukciót követően merisztematikus központok alakulnak ki a tenyészetekben, melyek egyes sejtjei (embriogén sejtek) további osztódásai többé-kevésbé a zigóta eredetű növényi embriogenezis fejlődési fázisait követik. Tisztáztam a szomatikus és zigitikus embriófejlődés főbb eltéréseit, valamint a szomatikus embriogenezis hasonlóságát azokban az esetekben is, ahol a fajok között a zigitikus embriófejlődés korai fázisában *in vivo* jelentős különbségek vannak. A szomatikus embriogenezist követően a tenyészetekben hajtással és gyökérrel rendelkező növények fejlődnek (20, 21).

Az organogenezis esetében a tenyészetekből viszont vagy csak gyökerek, vagy csak hajtások fejlődnek. Az organogenezis citológiai és anatómiai vizsgálatával bizonyítottam, hogy morfogenezis indukcióját követően hálózatos sejt-falvastagodással szállítószöveti elemek differenciálódnak a kalluszban, melyek körül indeterminált merisztemoidek alakulnak ki. A determináció ebben a fejlődési fázisban következik be, és abban nagy szerepe van a táptalajban lévő hormonok arányának és koncentrációjának. Ekkor dől el a differenciálódó merisztéma típusa (hajtás, gyökér). A továbbfejlődés során egypólusú tenyésző-kúpok alakulnak ki, melyekből vagy hajtások, vagy gyökerek differenciálódnak és fejlődnek (21).

Járulékos szervek (virág, gumó, hagyma) esetében is első lépésben merisztémák differenciálódnak, melyekből második lépésben alakulnak ki a szervezdemények.

A szójakalluszban sikerült tisztázni az *in vitro* morfogenezisnek abortív útjait (neomorf, levélmerisztéma) is (4. ábra). Ezekben az esetekben a morfogenezis indukcióját követően a tenyészetekben az ontogenezisnek olyan zsákutcái aktiválódnak, melyek embriószerű képletek differenciálódását eredményezik, illetve a tenyészetekből csak levelek fejlődnek (22). A neomorfok esetében – melyek morfológiailag szinte megkülönböztethetetlenek a torpedóstádiumú szomatikus embrióktól – bizonyítottuk, hogy azokban nem alakul ki a polaritás, és az annak megfelelő gyökér-, illetve hajtásmerisztéma-kezdemények sem differenciálódnak.

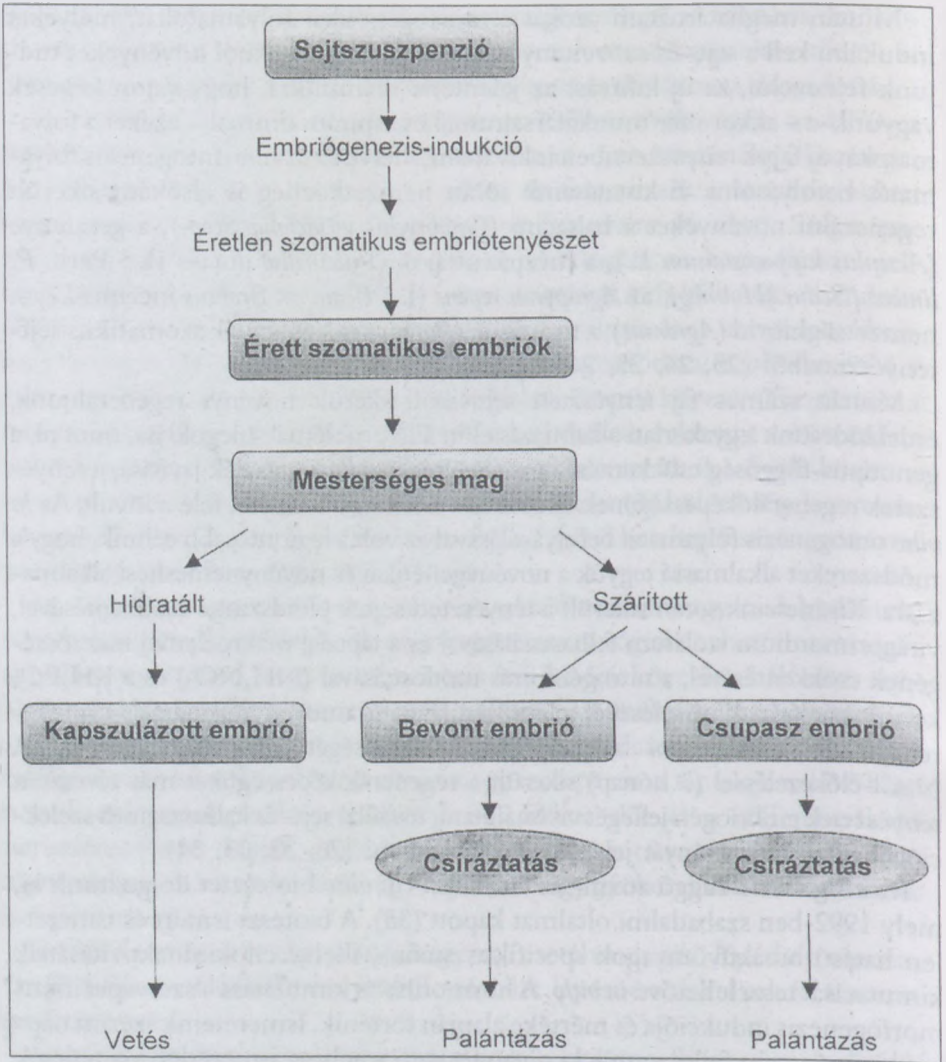
Miután meghatároztam azokat a morfogenetikai folyamatokat, melyeket indukálni kell a sejt- és szövettenyészetekben, hogy azokból növényeket tudjunk felnevelni, az új kihívást az jelentette számunkra, hogy vajon képesek vagyunk-e – akkor már munkatársaimmal és aspiránsaimmal – ezeket a folyamatokat új fajok tenyésztésében is kiváltani, illetve az *in vitro* ontogenezis folyamatát befolyásolni. E kutatásaink során nemzetközileg is elsőként sikerült regenerálni növényeket a baltacim (*Onobrychis viciaefolia* Scop.), a gesztenye (*Aesculus hippocastanum* L.), a mézpzásitfajok (*Puccinellia distans* [L.] Parl., *P. limosa* [Schur.] Holmbg), az *Agropyron repens* (L.) Beauv. x *Bromus inermis* Leyss. nemzetséghibrid (*Agromus*), a nyárfajok (*Populus* sp.) és -fajták szomatikus sejttenyésztéséből (23, 24, 25, 26, 27, 28).

Miután számos faj tenyésztett sejtjeiből sikerült növényt regenerálnunk, érdeklődésünk a gyakorlati alkalmazás előtt álló problémák megoldása, mint pl. a genotípus-függőség csökkentése, a növényregenerálási százalék javítása, a tenyészetek regenerálóképességének fenntartása és visszaállítása stb. felé irányult. Az *in vitro* ontogenezis folyamatai befolyásolásával az volt a legfontosabb célunk, hogy a módszereket alkalmassá tegyük a növénygenetikai és növénynemesítési alkalmazásra. Kísérleteink során sikerült a tenyésztett sejtek ploidszintje csökkentésével, virágprimordium izolátum felhasználásával és a táptalaj makroelemei ionerősségének csökkentésével, a nitrogénforrás módosításával (NH_4NO_3) és a KH_2PO_4 koncentrációjának növelésével jelentősen javítani a növényregenerálás nagyságrendjét és csökkenteni a genotípusos függőségét (27, 29, 30, 31). A NaCl-előkezeléssel (3 hónap) sikerült a regenerálóképességüket már elvesztett tenyészetek embriogén jellegét visszaállítani, továbbá sejt- és kalluszsztintű szelekcióval az albinók arányát jelentősen csökkenteni (26, 32, 33, 34).

Morfogenezis-függő auxin- és citokinin- *in vitro* biotesztet dolgoztunk ki, mely 1992-ben szabadalmi oltalmat kapott (35). A bioteszt ismert és ismeretlen hatású bioaktív anyagok specifikus auxin-, illetve citokininaktivitásának kimutatását teszi lehetővé *in vitro*. A hormonhatás kimutatása a szervspecifikus morfogenezis indukciója és mértéke alapján történik. Ismereteink szerint napjainkig még nem fejlesztettek ki olyan tesztet, amely az ismeretlen vegyületek regulátor aktivitását *in vitro*, az auxin és citokinin speciális szervdifferenciációit kiváltó hatásával értékeli.

Növények mesterséges magból

A gesztenye járulékos embriogenezisével kapcsolatos eredményeink (24, 36) alapot adtak a mesterséges maggal kapcsolatos kutatások indítására (5. ábra). E célból a szomatikus embriókat Na-alginátba kapszuláztuk. A mesterséges



5. ábra. A szomatikus embriók és a mesterséges mag előállításának főbb lépései és felhasználásának alternatív lehetőségei

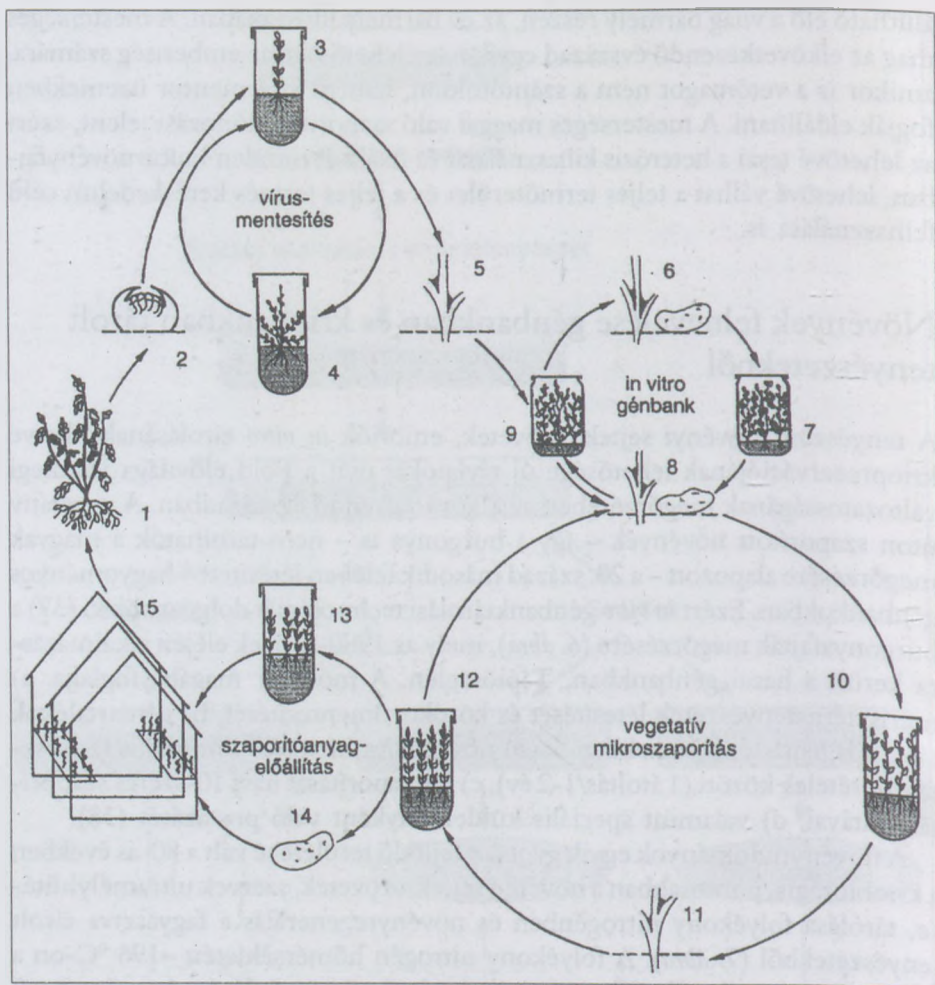
mag tulajdonképpen szomatikus embriót jelent, melyet mesterséges endospermiummal és mesterséges maghéjjal burkolnak (vonnak) be. De használható szintetikus vagy szomatikus magként a szárított, csupasz embrió is. A növényi sejtszuspenziókban elvileg korlátlan számú szomatikus embrió

állítható elő a világ bármely részén, az év bármely időszakában. A mesterséges mag az elkövetkezendő évszázad egyik nagy lehetősége az emberiség számára, amikor is a vetőmagot nem a szántóföldön, hanem a fermentor üzemekben fogják előállítani. A mesterséges maggal való szaporítás klónozást jelent, ezért az lehetővé teszi a heterózis kihasználását és fixálását minden kultúrnövényfajban, lehetővé válhat a teljes termőterület és a teljes termés kereskedelmi célú felhasználása is.

Növények felnevelése génbankban és kriobankban tárolt tenyészetekből

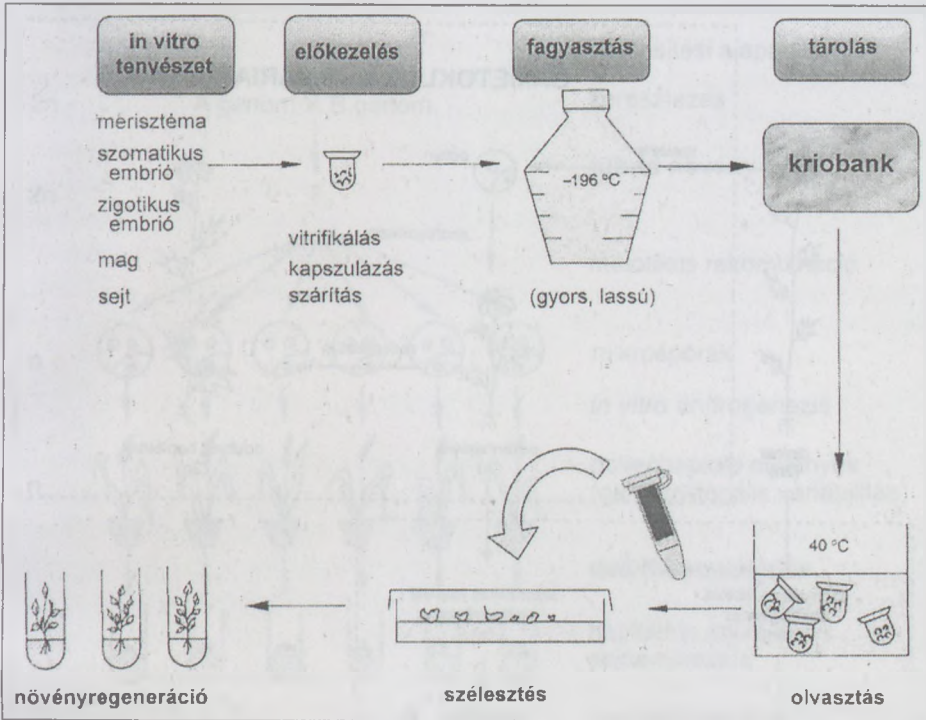
A tenyésztett növényi sejtek, szövetek, embriók *in vitro* tárolásának, illetve krioprezervációjának lehetősége új távlatokat nyit a Föld élővilága jelenlegi változatosságának megőrzésében az elkövetkezendő évszázadban. A vegetatív úton szaporított növények – így a burgonya is – nem tárolhatók a magvak megőrzésére alapozott – a 20. század második felében létesített – hagyományos génbankokban. Ezért *in vitro* génbanktárolási technológiát dolgoztunk ki (37) a burgonyafajták megőrzésére (6. ábra), mely az 1980-as évek elején alkalmazásra került a hazai génbankban, Tápiószelén. A módszer magába foglalja: a) merisztématenyészetek létesítését és kórokozómentesítését, b) géntartalékok tárolását hajtástenyészetekben, lassú növekedést biztosító minimális tenyésztési feltételek között (1 átváltás/1-2 év), c) felszaporítását havi 10-szeres szaporítási rátával, d) valamint speciális küldeményként való postázását (38).

A növénytudományok egyik gyorsan fejlődő területévé vált a 80-as években a kriobiológia, pontosabban a növényi sejtek, szövetek, szervek ultramélyhűtése, tárolása folyékony nitrogénben és növényregenerálás a fagyasztva tárolt tenyészetekből (7. ábra). A folyékony nitrogén hőmérsékletén $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on a sejtek anyagcseréje, életfolyamatai gyakorlatilag szünetelnek. A széles körű alkalmazás legnagyobb akadálya, hogy a túlélés a legtöbb fajnál még nem éri el azt a szintet, mely a gyakorlati bevezetés feltétele. A növényi tenyészetek krioprezervációt követő túlélésének javítása érdekében végzett kísérleteink során bizonyítottuk, hogy a krioprotektánsok, különböző előkezelések, holding time, programozott fagyasztás, szárítás, kapszulázás és vitrifikálás kombinációival jelentős túlélést (20–60%) lehet elérni különböző fajok (fűfajok, lucerna, kivi, gesztenye, rizs, kukorica stb.) tenyésztett szomatikus sejtjei, embriói, merisztémái $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra való hűtését és folyékony nitrogénben való tárolását követően. Sikertült továbbá növényeket is regenerálnunk a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolt szomatikus tenyészetekből (36, 39, 40, 41).



6. ábra. A burgonya genetikai tartalékainak megőrzése in vitro génbankban: merisztéma-izolálás és vírusmentesítés (1-4), in vitro génbank (5-9), vegetatív mikroszaporítás (8-12), szaporítóanyag-előállítás (12-15)

Morfogenezis haploid és szomatikus sejtekből *in vitro*

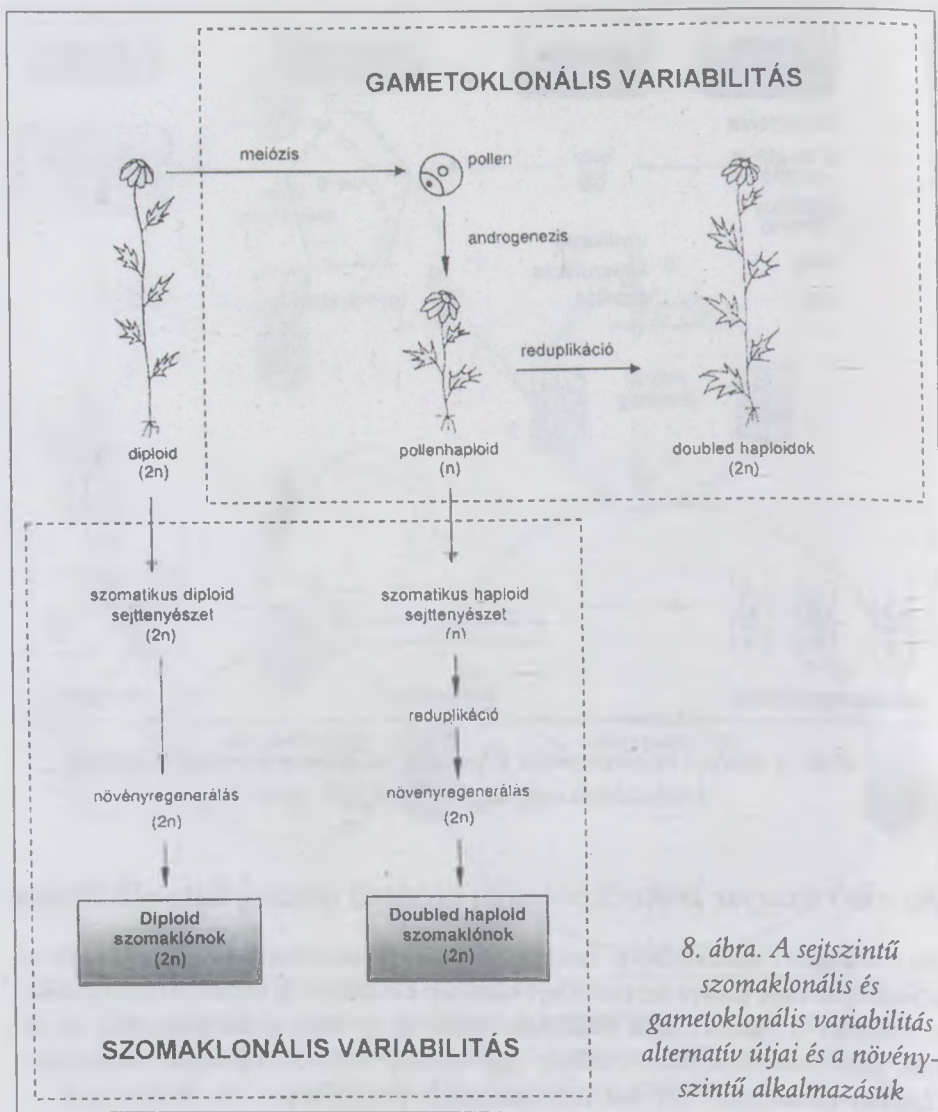


7. ábra. A növényi krioprezerváció folyamata, valamint a genetikai tartalékok kriobankban való megőrzésének főbb lépései

Az első magyar biotechnológiai eredetű növényfajta előállítása

Az Országos Fajta-minősítő Tanács 1992-ben állami elismerésben részesítette a Simonné Kiss Ibolya nemesítővel közösen előállított új biotech-rizsfajtánkat, a 'DAMA'-t (42). A fajta előállítása során az *in vitro* androgenézissel kiváltott ploidszintcsökkentés mellett egy másik 1981-es biológiai felfedezést (Larkin–Scowcroft, 43) – a szomaklonális variabilitást – is alkalmaztuk.

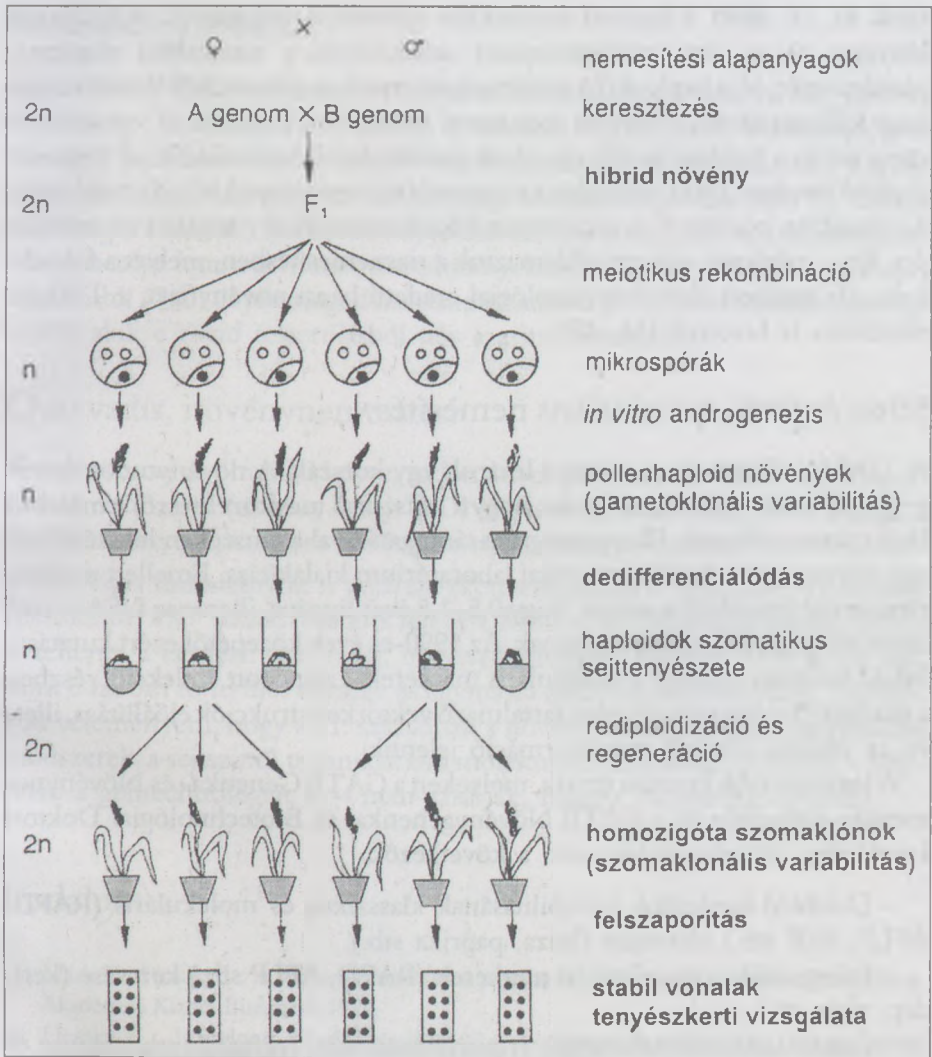
Az *in vitro* tenyészetekből regenerált növények – a tenyésztett sejtek genetikai instabilitása miatt – eltérhetnek egymástól. A tenyésztett sejtekben bekövetkező genetikai változások (mutáció, szomatikus rekombináció, génamplifikáció, transzpozon mutagenézis, kromoszomális átrendeződések stb.) a variabilitás növelésének egy új forrását jelentik az emberiség számára. Ez azonban – a magasabb rendű szervezetek közül – még csak a növények esetében realizálható, mert csak a tenyésztett növényi sejtekből vagyunk képesek növ-



nyeket felnevelni, azaz a sejszintű variabilitást az intakt szervezetek szintjére emelni.

Kísérleteink célja e lehetőség továbbfejlesztése és felhasználása volt, azáltal, hogy növeljük a tenyésztett sejtek polimorfizmusát, és ezzel fokozzuk a sejtekből regenerált szomaklónok variabilitását. Kutatásaink során bizonyítottuk a ploidfüggő szomaklonális variabilitás létezését (8. ábra), nevezetesen azt, hogy

Morfogenezis haploid és szomatikus sejtekből *in vitro*



9. ábra. A haploid szomaklón nemesítési módszer főbb lépései

a variabilitás mértéke függ a tenyésztett sejtek ploidszintjétől (44). Ennek növénynemesítési jelentőségét az adja, hogy a szomaklónok variabilitása növelhető a tenyésztett sejtek ploidszintjének csökkentésével (45).

A ploidszint csökkentésére az *in vitro* androgenézis adott lehetőséget. Végeredményben a szomaklonális variabilitásra és az *in vitro* androgenézisre alapozva az 1980-as évek elején nemzetközileg is új nemesítési eljárást dolgoz-

tunk ki, (9. ábra) a haploid szomaklón nemesítés módszerét (42). Ennek lényege: a) *in vitro* androgenézissel csökkentjük a nemesítési alapanyag ploidszintjét; b) a haploid (n) növények szomatikus szöveiteiből létesített sejt- vagy kalluszkultúra többszöri átoltásával indukáljuk a sejt szintű variabilitást, mely során a haploid sejtek egy része spontán rediploidizálódik; c) többezer diploid növény (DH szomaklón) regenerálása a tenyészetekből; d) majd végül a szomaklón növények és utódnemzedékeik szántóföldi vizsgálata és szelekciója. Ezt a módszert sikerrel alkalmaztuk a rizsnemesítésben, melyet a fentiekben már említett első biotechnológiai eredetű hazai növényfajta, a 'DAMA' előállítására is bizonyít (15, 42).

Jelen és jövő, molekuláris nemesítés

A 'DAMA' állami elismerésével lezárult egy korszak. A növénytudományok gyors fejlődése szükségessé tette, hogy a sejt szintű megközelítésről a molekuláris szintre váltsunk. Phare-program támogatásával a tanszéken lehetővé vált egy növényi molekuláris genetikai laboratórium kialakítása. Emellett munkatársaimnak lehetőséget adtam, hogy 0,5–1,5 évet Európa, illetve az USA vezető laboratóriumaiban dolgozhassanak. Az 1990-es évek közepétől ezért kutatásaink fő területét részben a molekuláris markerekre alapozott szelekció, részben a gazdaságilag hasznos géneket tartalmazó vektorkonstrukciók előállítása, illetve az azokkal történő transzformáció jelentik.

A legfontosabb kutatási témák, melyeken a GATE Genetika- és Növénynevelés-tanszéken és a GATE Növénygenetikai és Biotechnológiai Doktori Iskolájában jelenleg dolgozunk, a következők:

- Doubled haploidok variabilitásának klasszikus és molekuláris (RAPD, AFLP, SSR stb.) elemzése (búza, paprika stb.).
- Ivarspecifikus molekuláris markerek (RAPD, AFLP stb.) keresése (kenyér, nyár stb.).
- Gazdaságilag jelentős gének (rovarrezisztencia, érés gátlás stb.) szensz és antiszensz változatainak bevitele kultúrnövényekbe (kukorica, szegfű, alma stb.).
- Gazdaságilag jelentős tulajdonságok molekuláris (RAPD, SSR) markerezése (búza, paprika stb.).
- Molekuláris taxonómia (RAPD, SSR) *Agrostis* és *Festuca* nemzetségekben.

Munkatársaim és doktoranduszaim tehetségét és tapasztalatait ismerve, remélhető, hogy ezeken a területen is éppen olyan eredményesek leszünk, mint azokon, melyekről az előzőekben beszámoltam.

Köszönetnyilvánítás

Végül szeretném köszönetemet kifejezni mestereimnek, Maróti M., Jánossy A., Mándy Gy., Boross Á., Vinczeffly I., Sárkány S., Frenyó V., Maheswari S. és Skoog F. professzoroknak, akiktől mind szakmailag, mind emberileg nagyon sokat tanultam, valamint volt és jelenlegi munkatársaimnak, Kiss E., Gyulai G., Kiss J., Tókei K., Bucherna N., Jekkel Zs. és Pauk J., akiknek közreműködése lehetővé tette a bemutatott eredmények elérését, elnézést kérve volt aspiránsaimtól (7 fő) és jelenlegi doktoranduszaimtól (3 fő), továbbá munkatársaimtól, akik e rövid felsorolásból név szerint kimaradtak.

Quo vadis, növénynemesítés?

Visszatekintve az elmúlt 35 évre, tudományos pályám során a kísérleti objektumok változásai (növény → sejt → DNS) lényegében megfelelnek annak a fejlődési iránynak, melyet a növénygenetika, növénynemesítés és növény-biotechnológia tudományok is bejártak (konvencionális → sejtszintű → molekuláris szintű) a 20. század második felében. Most az ezredforduló küszöbén ideje feltenni a kérdést: quo vadis, növénynemesítés? A válasz nem lehet más, mint e három fő terület egysége és egymásra épülő együttműködése. Határozott véleményem, hogy a 21. században a növény szintű klasszikus nemesítési módszerek, a sejtszintű technikák és a molekuláris nemesítési eljárások – beleértve a géntechnológiát is – nem kizárják, hanem kiegészítik egymást.

Irodalom

1. Máthé I., Heszky L.: *A réti komócsin (Phleum pratense L.)*. Magyarország Kultúrflórája IX/3. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1972.
2. Heszky, L., Jeanplong, J.: *Az angolperje (Lolium perenne L.) és rokonai*. Magyarország Kultúrflórája VIII/10. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1980.
3. Heszky, L. E.: A new artificial hybrid of species from the genera Festuca and Lolium (Festuca pratensis Huds. x Lolium temulentum L.). *Acta Agronomica*, 1972, 22, 363–368.
4. Heszky L.: Fajkeresztezők a Lolium és Festuca nemzetségeken belül és a nemzetségek között. I. A keresztezők módszerei és eredményei. *Agrobotanika*, 1970, XII, 71–86.
5. Heszky L.: Fajkeresztezők a Lolium és Festuca nemzetségeken belül és a nemzetségek között. II. A nemzetséghibridek vizsgálata. *Agrobotanika*, 1971, XIII, 69–77.
6. Steward, F. C., Mapes, M. O., Kent, A. E., Holsten, R. D.: Growth and development of cultured plant cells. *Science*, 1964, 143, 120–127.
7. Nitsch, J. P., Nitch, C.: Haploid plants from pollen grains. *Science*, 1969, 163, 85–87.

8. Heszky L., Paál H.: Haploid növények felnevelése pollenből a *Nicotiana tabacum* L. portok kultúrájában. *Botanikai Közlemények*, 1972, 59, 125–127.
9. Heszky L. E.: Types of inducing haploid embryoids and plants from in vitro anther culture. *Acta Agronomica*, 1973, 22, 235–241.
10. Heszky, L. E., Mesch, J.: Anther culture investigations in cereal gene bank collection. *J. Plan. Breeding*, 1976, 77, 187–197.
11. Heszky, L. E., Pauk, J.: Induction of haploid rice plants of different origin in anther culture. *Il Riso*, 1975, XXIV, 197–204.
12. Heszky, L. E.: Continuous in vitro method of producing autodiploids. *Botanikai Közlemények*, 1980, 67, 93–95.
13. Heszky, L. E.: Types of homozygous diploid production from anther culture and from pollen-derived haploids of higher plants. *Acta Agronomica*, 1976, 25, 431–437.
14. Li Su, Nam, Heszky, L., Simon-Kiss, I., Horváth, Zs.: Production and applicability of doubled haploid somaclones in rice. *Oryza*, 1986, 23, 229–234.
15. Heszky, L. E., Simon-Kiss, I.: 'DAMA' the first plant variety of biotechnology origin in Hungary, registered in 1992. *Hungarian Agricultural Research*, 1992, 1, 30–32.
16. Jafari, A. M., Kiss, J., Tőkei, K. M., Gergácz, J. and Heszky, L. E.: High efficiency callus induction and haploid plant regeneration in anther culture of two poplar species. *Silvae Genetica*, 1995, 44, 141–145.
17. Kiss, J., Kondrák, M., Gergácz, J. Heszky, L. E.: Towards a heterosis hybrid poplar. *Hungarian Agricultural Research*, 1997, 6, 18–21.
18. Skoog, F., Miller, C. O.: Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Proc. Symp. Soc. Exp. Biol. Univ.*, Cambridge, 1957, 11, 118–130.
19. Reinert, J.: Morphogenese in gewebe und ellkulturen. *Naturwissenschaften*, 1968, 55, 170–175.
20. Heszky, L. E.: Investigation at the early stage of embryogenesis into the development of the adventive embryo organized from a cell of the callus tissue in *Daucus carota* L. *Acta Botanica*, 1973, 18, 303–305.
21. Heszky, L.: Possible ways of morphogenesis in higher plants' tissue cultures. *Acta Agronomica*, 1975, 24, 123–141.
22. Kiss, E., Heszky, L. E., Gyulai, G., Horváth, Zs., Csillag, A.: Neomorph and leaf differentiation as alternative morphogenetic pathways in soybean tissue culture. *Acta Biologica*, 1991, 42, 313–321.
23. Heszky, L. E.: Production of sainfoin (*Onobrychis viciaefolia* Scop.) callus and plant regeneration from tissue culture. *Botanikai Közlemények*, 1975, 62, 85–88.
24. Kiss, J., Heszky, L. E., Kiss, E., Gyulai, G.: High efficiency adventive embryogenesis on somatic embryos of anther, filament and immature proembryo origin in horse-chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) tissue culture. *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 1992, 30, 59–64.
25. Do, Q. B., Heszky, L. E., Gyulai, G., Kiss, E., Csillag, A.: Plant regeneration from callus of *Puccinellia distans* (L.) Parl. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 1989, 18, 195–200.
26. Heszky, L. E., Do, Q. B., Kiss, E., Gyulai, G.: Increase of green plant regeneration efficiency by callus selection in *Puccinellia limosa* (Schur.) Holmbg. *Plant Cell Reports*, 1989, 8, 174–177.

27. Gyulai, G., Janovszky, J, Kiss, E., Lelik, L., Csillag, A, Heszky, L. E.: Callus initiation and plant regeneration from inflorescence primordia of intergeneric hybrid *Agropyron repens* L. Beauv. x *Bromus inermis* Leyss. cv. nanus on a modified nutritive medium. *Plant Cell Reports*, 1992, 11, 266–269.
28. Kiss J., Kondrák M., Gergác J., Heszky L.: A protoplaszt-növény rendszer kidolgozása hazai nyár klónokra. *Erdészeti kutatások*, 1997, 86–87, 143–153.
29. Li, Su Nam, Heszky, L. E.: Rice tissue culture and application to breeding. I. Induction of high totipotent haploid and diploid callus from the different genotypes of rice (*Oryza sativa* L.). *Cereal Research Communications*, 1986, 14, 197–203.
30. Heszky, L. E., Li, Su Nam, Horváth, Zs.: Rice tissue culture and application to breeding. II. Factors affecting the plant regeneration during subculture of diploid and haploid callus. *Cereal Research Communications*, 1986, 14, 289–296.
31. Do, Q. Binh, Heszky, L. E., Simon-Kiss, I.: Increased plant regeneration in immature inflorescence tissue culture of different rice hybrids by NaCl used in callus induction. *Oryza*, 1990, 27, 409–414.
32. Heszky, L. E., Li, Su Nam, Kiss, E., Simon-Kiss, I., Lőkös, K., Do, Q. B.: In vitro production of rice in Hungary. In Y. P. S. Bajaj (ed.): *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol. 14. (Rice). 619–641. Springer Verlag, Berlin–Heidelberg–New York, 1991.
33. Do, Q. Binh, Heszky, L. E.: Restoration of regeneration potential of long-term cell culture in rice (*Oryza sativa* L.) by salt pretreatment. *J. Plant Physiology*, 1990, 136, 336–340.
34. Do, Q. Binh, Heszky, L. E., Gyulai, G., Csillag A.: Plant regeneration of NaCl selected embryogenic cells from long-term suspension culture of rice (*Oryza sativa* L.) in high saline conditions. *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 1992, 29, 75–82.
35. Gyulai, G., Kiss, J., Jekkel, Zs., Kiss, E., Heszky, L. E: A selective auxin and cytokinin bioassay based on root and shoot formation in vitro. *J. Plant Physiology*, 1994, 145, 379–382.
36. Jekkel, Zs., Gyulai, G., Kiss, J., Kiss, E., Heszky, L. E.: Cryopreservation of horse-chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) somatic embryos using three different freezing methods. *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 1998, 52, 193–197.
37. Heszky, L. E., Enyingi, K., Szabó, I.: Tissue culture technology for long-term storage and propagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasm. In S. K. Sen, K. L. Giles (eds.): *Plant Cell Culture in Crop Improvement*, 9–16. Plenum Press, New York–London, 1983.
38. Heszky, L. E., Nagy, M.: In vitro conservation of potato germplasm in Hungary. In Y. P. S. Bajaj (ed.): *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol. 3, (Potato), 441–452. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1987.
39. Jekkel, Zs., Gyulai, G. and Heszky, L., E.: Cryopreservation of some halophyte grasses (*Puccinellia* sp.). In Y. P. S. Bajaj (ed.): *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol. 32. Cryopreservation of Plant Germplasm I. 245–255.40. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1995.
40. Heszky, L. E., Jekkel, Zs., Abdel Hamid, Ali: Effect of cooling rate, cryoprotectant and holding time at different transfer temperatures on the survival of cryopreserved cell suspension culture (*Puccinellia distans* (L.) Parl.). *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 1990, 21, 217–226.
41. Jekkel, Zs. and Heszky, L. E.: Towards a plant cryobank in Hungary. *Hungarian Agricultural Research*, 1994, 3, 12–17.

42. Heszky, L. E., Simon-Kiss, I. and Do, Q. Binh: Release of rice variety 'DAMA' developed through haploid somaclone breeding. In Y. P. S. Bajaj (ed.): *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol. 36. (Somaclonal variation in Crop Improvement II.), 46–54. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1996.
43. Larkin, P. J., Scowcroft, W. R.: Somaclonal variation a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theoretical & Applied Genetics*, 1981, 60, 197–214.
44. Heszky, L. E., Li, Su Nam, Simon-Kiss, I., Lőkös, K., Gyulai, G., Kiss, E.: Pollenhaploid somaclone – a method for increasing somaclonal variation in rice (*Oryza sativa* L.). *Genome*, 1988, 30, 437.
45. Heszky, L. E., Li, Su Nam, Simon-Kiss, I., Lőkös, K., Gyulai, G., Kiss, E.: Organ specific and ploidy dependent somaclonal variation a new tool in breeding. *Acta Biologica*, 1990, 40, 383–394.

SZÉKFOGLALÓK

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIAÁN 1995–1998 I–II. KÖTET

- Bartók Mihály: Térkémi tényezők szerepe a fémkatalízisben
- Bárdossy György: A radioaktív hulladék hazai elhelyezésének földtudományi alapjai
- Farkas Tibor: Membránfoszfolipidek molekuláris összetétele és a testhőmérséklet
- Ferge Zsuzsa: A civilizációs folyamat fenyegetettsége
- Freund Tamás: Agykérgi neuronhálózatok szerkezete és működése
- Görög Sándor: A gyógyszeranalitika szépségei
- Hanák Péter: Modernizáció és antikapitalizmus Magyarországon
- Horváth József: Növényvírusok *in vivo*
- Ihász Mihály: A pepticus fekélyek korszerű sebészi kezelése
- Kákósy László: Théba a Ptolemaiosz- és a római korban
- Kálmán Alajos: Barangolások kristályrácsokban
- Kulcsár Szabó Ernő: Költészet és dialógus
- Kúnos György: Opio-melanokortin peptidok szerepe a vérkeringés agyi szabályozásában
- Lipták András: Fehérje-szénhidrát kölcsönhatások
- Makkai Mihály: A kategóriaelmélet szerepe a matematika megalapozásában
- Marosi Sándor: A földrajzi táj kutatások összetettsége és alkalmazhatósága
- Meskó Attila: Környezettudomány, környezeti geofizika
- Méhes Károly: Régi és új módszerek az orvosi genetikában
- Palánkai Tibor: Az integráció mérésének néhány elméleti-stratégiai kérdése
- Palinkás Gábor: Molekuláris oldatkémia
- Palkovits Miklós: Agy pályák – idegi hálózatok
- Reményi Károly: Paradoxonok a tüzeléstechnikában
- Rézler Gyula: Az arbitráls szociológiája
- Róna-Tas András: Honfoglalás és népalakulás a középkori Euráziában
- Sajó András: A jogosultságok lehetősége
- Sárközy András: Hibrid problémák a számelméletben
- Solymos Rezső: Az erdészeti, fatermési és erdőnevelési kutatások eredményei és alkalmazásuk az erdőgazdasági gyakorlatban (1958–1998)
- Somfai László: Kottakép és műalkotás
- Szabadváry Ferenc: Magyar tudománytörténeti tabló, előtérben a kémia
- Szakály Ferenc: Török kori történelmünk kritikus kérdései
- Teplán István: Antitumor aktívítású peptidok
- Terplán Zénó: A gépszervezetről
- Tőke László: Szupramolekuláris kémia; koronaéterek
- Uenetianer Pál: A génebézés műszerei: a restrikciós-modifikációs enzimek
- Uékaj Lajos: A szerződési szabadság alkotmányos korlátai
- Uicsek Tamás: A természet geometriája
- Zimányi József: A maganyagtól a kvarkanyagig a nehézion-fizikában

SZÉKFOGLALÓK 1995–1998, III–V. kötet

- Árkaai Péter: A regionális metamorfózis és jelentősége a Kárpát-medence kéregfejlődésében
Bauer Győző: Az oxidatív stressz és az antioxidánsok hatása a simaizomszövetekre
Bérces Tibor: II. gyökreakciók sokszínű világa: a reakciók kinetikája és termokémiája
Brassai Zoltán: Üregtagkeringési zavarok új kezelési lehetőségei
Csányi Vilmos: Viselkedés, környezet, gének – etológiai tanulmányok
Dohy János: Biotechnológia és állatnemesítés – új eredmények, kihívások, kilátások
Fonyó Zsolt: Integrált vegyipari rendszerek folyamatszintézise
Friedrich Péter: Fehérjék, enzimek, emlékezet
Gáspár Zsolt: A számítógépek hatása a tartószerkezetek mechanikájára
Géczy Barnabás: Kontinuitás, krízis, katasztrófa az ammoniteszek törzsfejlődésében
Grätzer György: Hálóelméleti függetlenségi tételek
Harmathy Attila: A magyar polgári jogról 1999-ben
Haszpra Ottó: Néhány hidraulikai probléma a vízepítésben
Katuani László: Differenciálegyenletek megoldásainak stabilitási tulajdonságai
Heszky László: Morfogenezis haploid és szomatikus sejtekből in vitro
Kollósi Miklós: Kiroptikai spektroszkópia: változatok egy témára
Honti László: Az uráli/finnugor „ösnnyelű”-ről
Horváth János: Disztribúciók és topológikus vektorterek
Kiss Lajos: Az új európai víznévkutatás
Kosa László: A magyar néprajz 1945 után
Kristó Gyula: Előd
Lámfalussy Sándor: Szerkezeti változások az európai pénzü piacon
Lőrincz Lajos: Összehasonlítás a közgazdaság kutatásában
Major György: Napsugárzás a légkörben és a felszínen
Nagy Béla: II. háziállatok enterális colibacillosisai
Nagy Elemér: II. klasszikus fizikától az anyagtudományig
Nagy István: Változó struktúrájú nemlineáris rendszerek
Nagy-Tóth Ferenc: Fényhatásvizsgálat egysejtű zöldmoszatokon
Náray Szabó Gábor: Elektrosztatikus katalízis
Németh Judit: A nehézion fizika és asztrofizikai alkalmazásai
Orban Miklós: Kémiai periodicitás időben és térben
Pápay József: Föld alatti gáztárolás porózus kőzetekben
Papp László: A legyek ritkaságáról
Péter Mihály: Néhány gomba- és baktériumfaj viselkedése a létfeltételek alsó határán
Petrányi Győző: A szuppresszív immunreguláció alkalmazása a transzplantáció és a reprodukció immunológia klinikai gyakorlatában
Pleh Csaba: A relativizmus kérdései és a mai pszicholingvisztika
Salamon Miklós: Kőzetmechanika fejlődése – egyéni szemszögből
Sítkei György: A talaj-kerek kapcsolat néhány elméleti kérdése
Spat András: II. kalcium jel és a mitokondrium működése
Szabad György: II. parlamentáris kormányzati rendszer megteremtése, védelmezése és kockázata Magyarországon (1848–1867)
Szabó András: Alkotmány és büntetőjog
Szabó Miklós: Tumultus Gallicus
Szegedy-Maszák Mihály: II. Nyugat és a világirodalom
Szentés Tamás: Fejlődés, rendszerváltás és versenyképesség a globalizálódás korában
Tóth Klára: Szelektív érzékelők jelentősége a kémiai analízisben
Uray Zoltán: Sugársérülések mérésük kémiai és biológiai anyagokkal
Urállay György: Talajfolyamatok szabályozásának tudományos megalapozása
Varga János: Földeskü
Vaskovics László: Társadalmi modernizáció és a szülői szerepváltozás összefüggései
Vértés Attila: Fullerénvegyületek Mössbauer-spektroszkópiája
Vizkelety András: A Leuveni Kódex magyar scriptorai
Zalai Ernő, Neumann János: klasszikus vagy neoklasszikus?