

# DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

## **Genetikai transzformációt lehetővé tevő szövettenyésztési rendszerek kialakítása kabakos növényeknél**

**Kissné Bába Erzsébet**



**GENETIKA ÉS NÖVÉNYNEMESÍTÉS TANSZÉK**

**Budapest**

**2009**

**A doktori iskola**

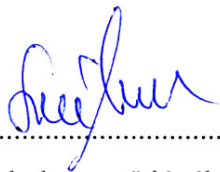
**megnevezése:** **Kertészettudományi Doktori Iskola**

**tudományága:** Növénytermesztési és kertészeti tudományok

**vezetője:** Dr. Tóth Magdolna  
egyetemi tanár, DSc  
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,  
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

**Témavezető:** Dr. Bisztray György Dénes  
egyetemi docens, PhD  
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,  
Szőlészeti Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés védési eljárásra bocsátható.



.....  
Az iskolavezető jóváhagyása



.....  
A témavezető jóváhagyása

## BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A kabakos zöldségnövények vadon vagy természetesen változatban öt földrészen elterjedtek. Termesztésbeli jelentőségüket kiváló étrendi hatásuknak, sokrétű felhasználási lehetőségüknek köszönhetik. A termesztők és fogyasztók igényeinek kielégítéséhez, a folyamatosan változó termesztési technológiák lehetőségeinek kiaknázásához egyre újabb fajtákra van szükség, ugyanakkor cél a kiváló minőség és a táplálkozási érték emelése. Az igényesebb és minőségi táplálkozás fejlődésével az egészségvédő hatások és a minőségi tulajdonságok fokozatosan felértékelődnek. A sárgadinnye nemesítése hazánkban évszázados múltra tekint vissza. A magyar fajták – régi tájfajták, nemesített konstans- és hibrid fajták – értékes génállománnyal, jó minőségi tulajdonságokkal rendelkeznek.

A gyakorlati céllal végzett genetikai transzformációs kísérletek többsége rezisztencia tulajdonságok kialakítására irányul. Ellenállóságot alakíthatunk ki a legfontosabb növényi kártevőkkel és kórokozókkal (patogén vírusok, baktériumok, gombák, rovarok), környezeti stressz tényezőkkel (szárazság- és só, hideg, nehézfém és általános stressz), illetve gyomirtó szerekkel szemben. A sárgadinnye esetében már előállítottak uborkamozaik vírussal- és cukkini sárga mozaik vírussal szemben ellenálló fajtákat, melyek a vírusok köpenyfehérjéit termelik. Fontos nemesítési cél a sárgadinnye és más kabakosok esetében is a minőség, a pultállóság, a cukortartalom, javítása továbbá az egészségvédő antioxidáns kapacitás emelése, valamint a só és szárazságtűrés fokozása. A pultállóság fokozásáról (az etilénszintézis sikeres gátlásán keresztül), valamint a só- és a szárazságtűrés fokozásáról is jelent meg közlemény. További cél lehet még a növényi anyagcsere termékek megváltoztatása, mely során élelmiszer-, illetve gyógyszeripari célból termeltethetünk a növényekkel számos alapanyagot (például: esszenciális aminosavak, növényi olajok, szénhidrátok, vakcinák)

A génbeviteli eljárások általában egy hatékony *in vitro* növényregenerációs rendszerre épülnek. A sárgadinnye esetében eddig több esetben is beszámoltak mind direkt, mind kalluszon keresztül történő organogenezis vagy embriogenezis útján történő növényregenerációról és transzformációról, illetve transzgénikus növények előállításáról is, elsősorban külföldi fajták esetében (Fang és Grumet, 1990, Bordas et al., 1997, Curuk et al., 2005). Ezek a módszerek azonban nem elég hatékonyak (Atares et al., 2004). Az eddigi eredmények egyértelműen a genotípus- és környezet-függőséget bizonyítják, vagyis, hogy egy sikeres módszer egy másik genotípus esetében, vagy egy másik laboratóriumban nem ad kielégítő eredményt (Curuk et al., 2005). Ezért a genotípusok *in vitro* válaszadó képességének tesztelése valamennyi genotípus esetében felértékelődött.

Munkánk során elsődleges célunk volt, a magyar és hazánkban termesztett külföldi sárgadinnye fajták, valamint néhány más kabakos (cukkíni, patisszon, sütőtök) fajta *in vitro* regenerációs válaszadó képességének tesztelése, illetve a kiválasztott genotípusokra megfelelő *in vitro* regenerációs módszer kidolgozása. Cél volt az is, hogy megfelelő alapot nyújtson egy transzformációs protokoll kidolgozásához, amellyel hasznos géneket juttathatunk be a jól regenerálódó fajtákba.

A fenti célok érdekében a következő feladatokat kellett elvégeznünk:

1. Ki kellett kidolgozni a megfelelő magfertőtlenítési eljárást.
2. A kilenc sárgadinnye fajta és három tökféle válaszadó képességét tesztelve különböző szilárd táptalajokon kívántuk kiválasztani az alkalmas válaszadó fajtákat további kísérletekhez. Folyadékkultúrában egy ismert táptalajon kívántuk a fajtákat válaszadó képesség szerint rangsorolni.
3. A rendszerünkben legjobb válaszadónak mutakozó fajták felhasználásával meg kellett határozni az egyes növényi részek (sziklevel, levél, hipokotil, dekapitált hipokotil) válaszadó képességét szilárd táptalajon.
4. A megfelelő válaszadó fajták és növényi rész kiválasztása után részletesen kívántuk elemezni a növekedésszabályozó anyagok hatását a regenerációra, és egy optimalizációs kísérlet révén megtalálni egy megfelelő auxin-citokinin arányt, az explantátumokból történő organogenezis vagy embriogenezis indukálására szilárd, valamint folyékony táptalajon.
5. Meg kívántuk határozni az indukció idejének szükséges hosszát szilárd táptalajon és folyadékkultúrában
6. Elemezni kívántuk a szilárdító közegek (agar és phytagel) hatását a regenerációra valamint a regenerált és felnevelt hajtások számára.
7. Folyadékkultúrában meg akartuk határozni a tenyésztés különböző paramétereinek – így a különböző alkalmazott vitaminoknak, a szénforrásoknak (szacharóz, glükóz, maltóz), a pH-nak a hatását az embriogenezis indukcióra.
8. A folyadékkultúras tenyészetek esetében a tenyészetek indításához felhasznált magok (fiatal és régebben tárolt magok felhasználásával) életkorának hatását megállapítani a szomatikus embriogenezisre.
9. A tenyésztés során alkalmazott indukciós táptalajok és a szilárd továbbtenyésztő táptalajok, passzálások összetételének és a tenyésztés idejének meghatározását a hajtások felnevelése érdekében.

10. Végző feladatunk volt hatékony indukciós és növényregenerációs rendszerek és protokollok felállítása mind szilárd táptalajon, mind folyadékkultúrában.

Mivel ismert, hogy a regenerációs rendszerek hatékonysága a transzformációs eljárások során jelentősen csökken – számos faktor, elsősorban az *Agrobacteriumos* fertőzés és az alkalmazott szelekciós ágensek miatt – egy megfelelő regenerációs rendszer birtokában meg akartuk állapítani a kidolgozott rendszer hatékonyságát a transzformációs rendszerben, és lehetőleg kiszűrni a kedvezőtlen hatásokat.

Ezekhez a célokhoz a következő feladatokat elvégzését láttuk szükségesnek:

1. Megvizsgálni az infekció és az együtt tenyésztés idejének együttes hatását a regenerációra, valamint a baktérium eliminálásának hatékonyságára.
2. A megfelelő antibiotikum koncentrációk megtalálása, mely egyrészt biztosítja a fertőzéshez használt baktérium mentesítést, másrészt a transzformánsok hatékony szelekcióját.
3. Tesztelni a táptalajt szilárdító agar, illetve phytigel hatását a folyamatra. A rendszer hatékonyságát a meggyökereztetett hajtások és felnevelt növények száma alapján értékelni, vagyis a gyakorlatban hasznosítható növényeket adó rendszert kidolgozni.

## **ANYAG ÉS MÓDSZER**

### **Sárgadinnye regeneráció szilárd táptalajról indítva**

Többféle fertőtlenítési módszer hatékonyságát vizsgáltuk. Muskotály, Ezüstananász, Javított Zentai, Topáz, Hógolyó, Tétényi csereshéjú, Magyar kincs, Fortuna, Hale's Best fajták regenerációs képességének vizsgálata 10 különböző táptalajon történt. Többféle táptalajt és többféle növekedésszabályozó anyag kombinációt teszteltünk, alaptáptalajként minden esetben Murashige és Skoog (1962) táptalajt (MS) alkalmazva. A kísérletekben a 2, 4, 8, 14 napos csíranövények sziklevelét, hipokotilját (három részre darabolva), illetve a 14 napos csíranövény esetében az első lomblevelet használtuk fel a regeneráció kiindulási anyagaként (Hógolyó és Hale's Best). A további kísérletek során a Hógolyó és a Hale's Best fajták 4 napos szikleveleit két részre vágva vizsgáltuk 25 különböző táptalaj kombináción. A regenerációs táptalajban benziladenint és indolecetsavat alkalmaztunk 0 és 1.2 mg/l közötti koncentrációban azonos abszcizinsav (0.26 mg/l) hozzáadása mellett. A Hógolyó sárgadinnye

fajta esetében összehasonlító kísérletet végeztünk arra nézve, hogy a regeneráció hatékonyságát befolyásolja-e a táptalajt szilárdító agar (8 g/l) vagy phytagel (2.5 g/l) regenerációs táptalajon. A megfelelően differenciálódott leveles "hajtáscsokrokat" hajtásokra osztva gyökereztető táptalajra helyeztük (növekedésszabályozó anyag mentes MS táptalaj). A megfelelő mértékű gyökérbővülést követően steril tőzeg-föld (1:1) keverékébe ültettük át a növényeket. A megerősödött palántákat edzés után üvegházba ültettük ki.

### **A sárgadinnye regeneráció folyékony táptalajról indítva**

A szomatikus embriogenezishez kétféle táptalajt alkalmaztunk: egy folyékony indukciós táptalajt, amely az embriók kialakulását váltotta ki a növényanyagból, aztán pedig egy növekedést serkentő szilárd táptalajt az embriók továbbfejlődéséhez. A folyékony táptalajon végzett regenerációs kísérletekben először 0.1 mg/l benziladenin, 2 mg/l 2,4-D tartalmú MS táptalajon teszteltük a hat magyar sárgadinnye fajta válaszókéességét.

Az előkísérleteket követően az alaptáptalaj növekedésszabályozó anyag összetételét több kombinációban vizsgáltuk, továbbá megváltoztattuk a folyékony táptalaj pH értékét, vitamin tartalmát illetve szénforrását. Indukciós táptalajok esetében két különböző pH értéket vizsgáltunk (pH 5.4 és 4.6). Vitaminok esetében az MS vitaminok mennyiségét változtattuk (normál, illetve kétszeres mennyiségben alkalmazva), illetve kipróbálásra került a B5 vitamin (pantoténsav) is. A táptalajokban szénforrásként glükózt, szacharózt és maltózt használtunk. Szilárd táptalajként minden esetben növekedésszabályozó anyag mentes MS táptalajt használtunk, 30 g/l szacharóz szénforrással. Szilárdító anyagként agart használtunk háromféle koncentrációban (0.5; 1 és 2%).

Növekedésszabályozó anyagokkal optimalizációs kísérletet végeztünk a Muskotály fajttal. A kísérlet során a 2,4-D (0, 2, 5 és 10 mg/l) és a benziladenin (0, 0.1, 0.5 és 1 mg/l) különböző kombinációit alkalmaztuk folyékony normál MS táptalajon. A lombik teljes tartalmát különböző indukciós idők után (7, 14, 28, 34 nap) passzáltuk szilárd táptalajra. Muskotály sárgadinnye fajtánál érett sárgadinnyéből kiszedett friss magok és a kereskedelmi forgalomban kapható, egy éves tárolt vetőmag regenerációs képességét hasonlítottuk össze.

### **A tök regeneráció**

Óvári fehér, Black Beauty, Nagydobosi tökfélék regenerációs képességét hét féle MS alapú regenerációs táptalajon vizsgáltuk (2,4-diklórfenoxiecetsav, kinetin, benziladenin, indolecetsav) majd mindhárom fajtánál elvégeztünk egy több ismétléses növekedésszabályozó anyag optimalizációs kísérletet melyben indolecetsavat 0-0.9 mg/l és benziladenint 0-1.2 mg/l

koncentrációban alkalmaztunk. A 7-10 napos növények szikleveleit teljes bezöldüléskor, közvetlenül szétnyílás után vagy néhány nappal később, legfeljebb 1-2 lombleveles állapotban használtuk fel. A sziklevel szegmenseken képződött hajtásokat gyökereztető táptalajra helyeztük, majd a gyökeres növényeket steril tőzeg-föld (1:1) keverékbe ültetve inkubáltuk. Az inkubálás 100% relatív páratartalom mellett, 25 °C-on történt. A megerősödött növényeket edzés után üvegházba ültettük ki.

### **A sárgadinnye és tök transzformáció**

A transzformációs kísérletek megkezdése előtt teszteket végeztünk a Hógolyó és Hale's Best sárgadinnye fajták, továbbá a Nagydobosi sütőtök fajta antibiotikumokkal (kanamycin, augmentin, cefotaxim, carbenicillin) szembeni érzékenységnak megállapítására. A fertőzések során a sárgadinnye csíranövény négy napos körülvágott, majd darabolt sziklevel szegmenseit *Agrobacterium tumefaciens* szuszpenzióba helyeztük különböző időtartamokra. Az együtt-tenyésztés (kokultiváció) során a fertőzött sziklevel darabokat a fényszobába helyeztük. A kokultiváció után szelekciós táptalajra helyeztük a sziklevel darabokat. A szelekció során az az LBA4404-es törzssel (pGA482 plazmid) fertőzött sziklevel darabokat kanamycint tartalmazó szelekciós, regenerációs táptalajra helyeztük. A baktérium előlése augmentint, cefotaximot, vagy carbenicillint alkalmaztunk. A sütőtök transzformációs kísérletek során ugyanúgy vágtuk fel a szikleveleket, mint a regenerációs kísérletekben. A fertőzés során 24 órája leoltott baktérium törzseket (LBA4404) használtunk fel. A sárgadinnye és sütőtök sziklevel szegmenseket különböző időtartamokra a baktérium-suszpenzióba helyeztük, majd a sziklevel darabokat steril papíron megszáritottuk, és antibiotikum mentes regenerációs táptalajra helyeztük. A néhány napig tartó kokultiváció után az *Agrobacterium* előlésehez újabb táptalajra tettük a levélszegmenseket, amely a regenerációhoz szükséges növekedésszabályozó anyagok mellett kanamycint és cefotaximot tartalmazott. A megjelenő regeneráns növényeket gyökereztető táptalajra helyeztük. A szelektált regeneráns növényekről 1-2 levelet leszedtünk és a mintákat folyékony nitrogénben, dörzsmozsárban eldörzszöltük, majd külön-külön Eppendorf csövekbe helyeztük. A DNS-t a Qiagen cég DNeasy Plant System Mini Kit DNS-kivonó rendszer felhasználásával vontuk ki a gyártó által meghatározott módszert alkalmazva (QIAGEN, 2000). PCR-technikával az Uborka mozaik vírus és Cukkíni sárga mozaik vírus köpenyfehérje géneire specifikus primerek segítségével ellenőriztük a bejuttatni kívánt génkonstrukció jelenlétét. A PCR reakció során felszaporított DNS szakaszokat a továbbiakban agaróz gélelektroforézissel vizsgáltuk.

## EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

Amikor célul tűztük ki magyar fajták *in vitro* regenerációját és transzformációját, az irodalmi ismeretek alapján világossá vált, hogy megfelelő protokoll nem áll rendelkezésre és ennek megtalálásáig számos kérdést kell megválaszolni. Bár viszonylag sok publikáció jelent meg a kabakosok és ezen belül *Cucumis* nemzetség, főleg az uborka (*C. sativus*), és sárgadinnye (*C. melo*) regenerációjáról és transzformációjáról, azonban már jóval kevesebb a tökfélékről. A publikált eredmények nem mutattak fel egy olyan módszert sem, mely a kabakosokra általánosan alkalmazható lett volna. A fő cél általában, csak úgy, mint a mi esetünkben is, egy hatékony *in vitro* regenerációs rendszer felállítása és erre alapozva transzformánsok létrehozása volt. Ezen cél érdekében végzett kísérletek azonban még elég alapvető kérdéseket boncoltak, többek között, hogy mely növényi rész legyen a kiindulási anyag, milyen legyen a táptalaj összetétele és a nevelési körülmények (Moreno et al., 1985; Kathal et al., 1988; Niedz et al., 1989; Gray et al., 1993). Nunez-Paleniuss és munkatársai szerint (2008) a legfontosabb tényező, amely a regeneráció sikerességét meghatározza a genotípus megválasztása. Ennek oka többek között a sárgadinnye fajták nagy morfológiai és genetikai változatossága. A kereskedelemben lévő fajták regenerációs képessége azonos körülmények között, ugyanazt a regenerációs módszert alkalmazva eléggé különböző (Gray et al., 1993; Ficcadenti és Rotino, 1995; Molina és Nuez, 1995a; Kintzios és Taravira, 1997; Galperin et al., 2003a). De néhány szerző szerint a regeneráció módja is genotípus függő. Oridate és munkatársai (1992), valamint Gray és munkatársai (1993) megállapították, hogy a *reticulatus* fajta típusba tartozó sárgadinnye fajták esetében gyakoribb volt a szomatikus embriogenezis, mint az *inodorus* fajta típusúak között. Ezen felül Oridate és munkatársai (1992) szignifikáns különbséget mutattak ki 18 megvizsgált kereskedelemben lévő fajta regenerációs képessége között. Gray és munkatársai (1993) pedig egy fajtára kidolgozott regenerációs módszert 51 kereskedelemben megtalálható fajtán tesztelték. A fajták válaszadó képessége sziklevel darabonként 5-100% (0.1-20.2 embrió/sziklevél darab) között változott. Ficcadenti és Rotino (1995) összesen 11 sárgadinnye fajtát (*reticulatus*, *inodorus*) vizsgáltak. Az organogenezis útján regenerálódó hajtáskezdemények száma sziklevel darabonként 6.0 és 17.3 között változott a *reticulatus* fajta típusba tartozó fajták esetében, míg az *inodorus* fajta típusok regenerációs képessége 12.2 és 14.2 (hajtáskezdemény/sziklevél darab) közötti eredményt hozott. A publikált eredmények ismételtetősége más laboratóriumokban, még a sikeres rendszereknél is bizonytalan. Ennek okai: a regenerációs képesség erős genotípus-



függése a fajták között és a magtétéleken belül is, továbbá a hiányos értékelési mérési módszerek, a megfelelő statisztikai feldolgozások hiánya és így a következtetések pontatlansága (Molina és Nuez, 1995b). A szerzők többsége egyetért abban, hogy a sziklevelekből a legkönnyebb regenerálni (Gaba et al., 1996; Liborio-Stipp et al., 2001; Galperin et al., 2003a; Gaba et al., 2004; Nagesha et al., 2007). Az újabb kutatások bizonyították, hogy a hipokotil (Curuk et al., 2003) megbízhatóbb a diploid regeneránsok előállításánál a sziklevelel szemben, ahol gyakori a poliploidok előfordulása (Ezura et al., 1992; Adelberg et al., 1994). Általánosan alkalmazott a benziladenin organogenezis indukálására (Debeaujon és Branchard, 1993; Adelberg et al., 1994). Az embriogén kultúrák indításánál bevált a 2,4 D szintetikus auxin használata (Tabei et al., 1991; Debeaujon és Branchard, 1993; Gray, 1996; Guis et al., 1997; Ezura és Akasaka-Kennedy, 2004).

### **Sárgadinnye szilárd táptalajon**

Kísérleteinkben maghéjuktól megfosztott magokat használtunk, hasonlóan a nemzetközi gyakorlathoz, mivel a sárgadinnye magok gyakran maghéjon belül is fertőztek. A magfertőtlenítés protokollhoz több módszert is kipróbáltunk, melyek közül a mi esetünkben a 15 %-os Clorox használata vált be, mely összhangban van más szerzők eredményeivel (Yadav et al., 1996; Liborio-Stipp et al., 2001; Yalcin-Mendi et al., 2004).

Kezdetben a négy fajta (Magyar kincs, Javított Zentai, Hógolyó, Tétényi csereshéjú) regenerációs képességét vizsgáltuk három-féle táptalajon. A Moreno és munkatársai (1985) által sikeresen használt indolecetsav és kinetin (MD1) tartalmú táptalaj a négy magyar fajta esetében sziklevelekből kiindulva nem volt hatékony. A Branchard és Chateau (1988) által Cantaloup charentais fajtára kidolgozott 2,4 D és benziladenin tartalmú (MD2) táptalajon, melyen embriót és növényt tudtak regenerálni, csak fehér kalluszt képeztek. A naftilecetsav és benziladenin (MD3) tartalmú táptalajon (Roustan et al., 1992) a Magyar kincs fajta sziklevelein zöld kallusz képződött, a többi fajta pedig fehér kalluszt hozott. Az MD4 táptalajon, melyen a Hale's Best fajta sziklevelekből már sikeresen regeneráltak növényt (Niedz et al., 1989; Fang és Grumet, 1990), valamint az MD5 táptalajon (Bársony et al., 1999) – mely hasonló növekedésszabályozó anyag-összetételű – direkt organogén hajtásindukciót figyeltünk meg a sziklevel darabok szélén a Hógolyó és a Hale's Best fajta esetében.

A kilenc fajta válaszdó képességét tesztelve az öt különböző szilárd táptalajon (MD6, MD7, MD8, MD9, MD10) megállapítottuk, hogy a Hógolyó, a Magyar kincs, a Javított Zentai és a Hale's Best fajták jó, míg a Tétényi csereshéjú fajta gyenge válaszdó képességgel

rendelkezik. Az eredmények a fajták közötti nagyon eltérő válaszdó képességre és növekedésszabályozó anyag igényre utalnak, melyet a korábbi eredmények is alátámasztanak (Debeaujon és Branchard, 1993; Molina és Nuez, 1995a). Valamennyi táptalaj tartalmazott benziladenint, mivel a benziladenin különböző fajták esetében önmagában is elegendőnek bizonyult regeneráció indukálására (Kathal et al., 1988; Gaba et al., 1996, Liborio-Stipp et al., 2001). Kísérletünkben az 1 mg/l benziladenin (MD10) és a 0.5 mg/l benziladenin (MD9) tartalmú táptalajon a legtöbb fajta regenerációt mutatott. Az indukció után azonban a fejlődés több esetben is leállt. Auxin hozzáadása csak néhány fajtánál segítette az organogenezist, míg másoknál elnyomta. A 2,4 D-t tartalmazó táptalajon egyáltalán nem kaptunk regeneránsokat. Ficcadenti és Rotino (1995) benziladenin (0.6 mg/l) és abszcizinsav (0.26 mg/l) hozzáadásával eredményesen regenerált növényt, míg abszcizinsav nélkül, szignifikánsan kevesebb hajtást kapott. Ez ellentmond annak a megállapításnak (Kathal et al., 1988; Gaba et al., 1996, Liborio-Stipp et al., 2001), hogy a benziladenin önmagában is elegendő az organogén hajtásindukcióhoz. Ezért ezeket az eredményeket kombináltuk Niedz és munkatársai (1989) eredményével. Megemeltük a táptalajhoz hozzáadott indolecetsav mennyiségét, és meghagytuk az abszcizinsavat (MD6 táptalaj). Ez volt az a táptalaj, melyen az összes vizsgált közegek közül a legtöbb növényt tudtuk regenerálni, a Hale's Best és a Hógolyó sárgadinnye fajtáknál. A Hale's Best regeneráló képességét más eredményekhez hasonlóan mi is bizonyítottuk (Trulson és Shahin, 1986; Niedz, et al., 1989; Yadav et al., 1996).

A megfelelő növényi rész kiválasztására irányuló kísérleteinkben megállapítottuk, hogy a sziklevel a leghatékonyabb kiindulási anyag regeneráció szempontjából, mind a Hógolyó (0.89 hajtás/sziklevél darab), mind a Hale's Best (1.03 hajtás/sziklevél darab) fajta esetében. Az eredmény megerősíti a sziklevel alkalmazását a regenerációra, mint ahogy azt már több szerző leírta (Gaba et al., 1996; Liborio-Stipp et al., 2001; Galperin et al., 2003a; Gaba et al., 2004; Nagesha et al., 2007). A kiindulási növényanyag korát tekintve, azt tapasztaltuk – hasonlóan más szerzők eredményeihez (Niedz et al., 1989; Ficcadenti és Rotino 1995; Gaba et al., 1996; Ben Amor et al. 1998; Curuk et al., 2003) –, hogy a négy-öt napos csíranövények leválasztott szikleveleiből nyerhető a legtöbb regeneráns növény. Sokan nem is vizsgálják, hogy az explantátumok korának van-e hatása a regenerációra, hanem más tanulmányok eredményeire támaszkodva megállapítanak egy ideális csíranövény életkort vagy csak egy időintervallumot adnak meg és szövegesen magyarázzák milyen állapotú az a növényi rész, amelyet végül felhasználtak. Ezek a tanulmányok más változókat hasonlítanak össze kísérleteinkben, mint például Ficcadenti és Rotino (1995) szintén 4-5 napos szikleveleket

használnak kísérleteik során, de vizsgálták az alaptáptalaj, különböző genotípusok, három különböző növekedésszabályozó anyag és a szilárdító közeg (agar vagy phytigel) hatását a regeneráció hatékonyságára. Szakirodalmi adatokkal megegyezik az az eredményünk, hogy a hipokotil szintén alkalmas kiindulási anyagnak, de hatékonysága kisebb a sziklevelhez viszonyítva. Hipokotil sziklevelhez közeli részéből kiindulva Hale's Best (0.33 hajtás/hipokotil darab) és Hógolyó (0.13 hajtás/hipokotil darab) fajtákból sikeresen regeneráltunk növényeket, csak úgy mint Kathal és munkatársai (1986). Lomblevéből kiindulva a vizsgált Hógolyó és Hale's Best fajtáknál nem tudtunk hajtást regenerálni, szemben az irodalomban szereplő fajtákkal (Kathal et al., 1988; Tabei et al., 1991).

Elsőként próbáltuk ki a tojásgyümölcsnél leírt hipokotil dekapitációs módszert (Fári et al., 1995) a Hógolyó (0.31 hajtás/hipokotil) és Hale's Best (0.45 hajtás/hipokotil) sárgadinnye fajtáknál. Elsőként tudtunk a hipokotil vágási felületén hajtásokat regenerálni sárgadinnye esetében, átlagosan minden második magból kiindulva növényt kaptunk. Ez az eredmény azonban gyengébb a sziklevelnél tapasztaltnal szemben.

A két kiválasztott fajta esetében benziladenin és indolecetsav 25 különböző kombinációból álló növekedésszabályozó anyag optimalizációs kísérletet végeztünk. A legtöbb szerző csak egyszerű növekedésszabályozó anyag sorokon vizsgálta az adott fajtákat (Liborio-Stipp et al. 2001), vagy csak egy növekedésszabályozó anyag-összetételt teszteltek (Molina és Nuez, 1995a), komplex növekedésszabályozó anyag optimalizációs vizsgálatokat csak kevesen végeztek (Moreno et al., 1985; Roustan et al., 1992). Az optimalizációs kísérlet eredményeképpen a Hógolyó esetében a legszebb, átültetésre alkalmas hajtáskezdemények a 0.9 mg/l benziladenin, 0.6 mg/l indolecetsav és 0.26 mg/l abszcizinsav összetételű táptalajon fejlődtek (MDOP1).

Hale's Best esetében a növekedésszabályozó anyag optimalizációs kísérlet a 0.6 mg/l benziladenin, 0.9 mg/l indolecetsav és 0.26 mg/l abszcizinsav összetételű táptalajon mutatta a leghatékonyabb hajtásregenerációt. Itt akár két-három hajtáskezdemény is megjelent egy sziklevel darabon, azonban ebből végül legfeljebb egy-két teljes értékű hajtást tudtunk regenerálni sziklevel darabonként (MDOP2).

A Hógolyó fajta esetében a szilárdító közegek összehasonlításakor a phytigel bizonyult hatékonyabbnak az agarral szemben, mert a regeneráció gyorsabb volt az előbbi használata esetén. A regenerált és felnevelt hajtások száma között nem volt szignifikáns különbség a sziklevel darabonként, ellentétben Ficcadenti és Rotino (1995) eredményeivel, ahol agar tartalmú MS táptalajon szignifikánsan több hajtást tudtak indukálni sziklevelenként, ugyan olyan növekedésszabályozó anyag összetétel mellett. Yadav és munkatársai (1996)

ezzel szemben szignifikánsan több növényt tudtak felnevelni a phytigel tartalmú táptalajon. A fent említett szerzők csak a felnevelhető regeneránsok számát vették a viszonyítás alapjául, de egyikük sem foglalkozott azzal, hogy összehasonlítsa a növények felneveléséhez szükséges idő alapján az agar illetve phytigel szilárdító közegű táptalajokat. A phytigel kedvező hatását a nevelési időre elsőként állapítottuk meg Hógolyó sárgadinnye fajta esetében.

Kísérleteink során a Hógolyó fajtából összesen 6272 sziklevel darabot transzformáltunk, ebből 206 gyökeres regeneráns növényt szelektáltunk, a transzformáció utáni regeneráció hatékonysága a szelektív táptalajon sziklevel darabra nézve 0.032 volt. A Hale's Best fajtából összesen 12000 sziklevel darabot transzformáltunk, ebből 230 gyökeres regeneráns növényt szelektáltunk, egy sziklevel darabon átlagosan 0.02 gyökeres regeneránst tudtunk felnevelni. Ez az eredmény az irodalmi adatokhoz hasonló hatékonyságot mutat (1.9-3.2%-os transzformációs hatékonyság).

A transzformációs kísérletek eredményei alapján arra következtetünk, hogy a regenerációt erősen gátolja az *Agrobacterium*mal végzett transzformáció, valamint kis mértékben az alkalmazott antibiotikumok is. A felnevelhető vélhetően transzformáns egyedek számának csökkenést minden egyes fejlődési fázisban megfigyeltük. Ez a csökkenés egyértelműen magának a transzformációs eljárásnak a hatása, ami egyrészt az *Agrobacterium* fertőzés okozta stressz, másrészt az alkalmazott antibiotikumok és egyéb szelekciós ágensek hatása. A későbbi lépésekben a fázisok közötti csökkenést már egyértelműen a szelekciós rendszer hatékonyságának kell tulajdonítani, mivel azok a hajtáskezdemények, melyek nem transzformáns sejtekből indultak, nem tudtak tovább fejlődni. Ezzel a szelekció célja valósult meg, azaz hogy csak a transzformáns sejtekből, ill. hajtáskezdeményekből kapjunk növényeket. A szelekció hatékonyságát jól szemléltette az a kísérlet ahol az azonos korú kontroll növény a szelekción átjutott vélhetően transzformáns növények mellé helyezve látható.

Az eredményeink szerint a transzformációs rendszer az irodalommal megegyező mértékben csökkentette a regeneráció hatékonyságát. Az egyes fajták és különböző szelekciós ágensek használata természetesen okoz különbségeket.

### **Sárgadinnye folyékony táptalajon**

Több szerző is beszámolt sikeres regenerációról folyadékkultúrában szomatikus embriogenezis útján (Oridate és Oosawa 1986; Akasaka-Kennedy et al., 2004; Ezura és Akasaka-Kennedy 2004). A sárgadinnye fajták válaszadó képességének tesztelése során legjobban a Muskotály (10.5 növény/mag) és a Hógolyó (8.5 növény/mag) fajta reagált a

kezelésekre, ezért a kísérletek során ezeket a fajtákat választottuk ki a legrészletesebb vizsgálatok céljából. Jó válaszadó képessége miatt az Ezüstananász (4.5 növény/mag) fajtát is terveztük bevontuk bevonni a későbbi regenerációs kísérletekbe.

A növekedésszabályozó anyag optimalizációs kísérlet során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy nagy mennyiségű 2,4-D hozzáadásával fokozható-e a szomatikus embriogenezis hatékonysága, ezen kívül a benziladenin mennyiségének mekkora a szerepe az indukció során, illetve az inkubációs idő hossza hogyan befolyásolja a tenyészetek fejlődését. A 2,4-D és a benziladenin hatását, miszerint szomatikus embriogenezis kiváltására alkalmas, korábban már bizonyították (Oridate és Oosawa, 1986; Trulson és Shahin, 1986; Branchard és Chateau, 1988; Debeaujon és Branchard, 1988; Kintzios és Taravira, 1997). Kísérleteink során arra a következtetésre jutottunk, hogy a növényregeneráció szempontjából a 2 mg/l 2,4D tartalmú táptalajok a legmegfelelőbbek. Ezeknél mind a 21, mind a 34 napos rázatás jó eredményt hozott, ez utóbbiból került ki a legtöbb növény. Emiatt a későbbiekben hosszabb rázatos időt is kipróbáltunk, a hatékonyság növelésére. Magasabb benziladenin koncentráció mellett a magdarabok színe élénkebb zöld volt, valamint a méretük is nagyobb volt. Ennek ellenére a továbbiakban mégsem alkalmaztunk 0.1 mg/l-nél magasabb benziladenin koncentrációt, mivel a magas citokinin szint is felelős lehet a minták vitrifikálódásáért, ami mindenképp kiküszöbölendő folyamat (Jámborné Benczúr, 2005).

A magok életkorának jelentőségét a regeneráció során, valamint a magok életkorának és a szomatikus embriogenezis hatékonyságának kapcsolatát is vizsgáltuk. A frissen szedett érett sárgadinnye magvaiból indított tenyészetek jobban regeneráltak a kezelésre a tárolt magokból indítottakkal szemben. Ugyanakkor a friss magok esetében nagyobb volt a vitrifikációra való hajlam is. Tehát a regenerált növények számát emeli ugyan a friss magok alkalmazása, de a regenerált növények minőségét tekintve a száraz magok jobbnak bizonyultak. A tárolt magból kiinduló tenyészeteken 1%-os agar tartalmú táptalajon átlagosan 22.25 darab növény fejlődött ki magonként, friss mag esetén ez a szám 14.75 darab volt. A 2 % agart tartalmazó táptalajokon tárolt magokból kiindulva átlagosan 19 darab növény/mag keletkezett, míg friss magok esetében átlagosan 46.25 darab.

A vizsgálat során felhasznált 6 különböző táptalaj összevetése alapján megállapítható, hogy a különböző vitaminok hozzáadása nem váltotta be a hozzájuk fűzött reményeket. Az emelt szintű MS-vitamin tartalmú MD11 táptalaj és a normál vitamin tartalmú MD12 táptalaj összehasonlításakor sem a Muskotály, sem a Hógolyó fajta esetén nem volt jelentős eltérés a regeneráció hatékonyságában. A normál vitamin tartalmú MD14 és a B5 vitamint

(pantoténsav) tartalmazó MD16 táptalajok között sem mutatható ki szignifikáns különbség a regenerált növények számát tekintve.

A kísérletet a szénforrás megválasztásának tekintetében értékelve megállapíthatjuk, hogy a szacharózt tartalmazó táptalajok (MD11, MD12, MD13) előnyösebbek a sárgadinnye embriogenezisének indukálása során a csak glükózt (MD14, MD15) tartalmazókkal szemben, illetve a vegyes szénforrást tartalmazó táptalajjal (MD16) szemben. Ez a megállapítás mind a Muskotály, mind a Hógolyó fajtákra érvényes. A három szénforrás közül leggyengébben a glükóz szerepelt, ezt bizonyítja, hogy az MD14 és MD15 táptalajokon regenerált a legkevesebb növény. Az MD16 táptalaj alkalmazásakor jobb eredményt értünk el, de még ez is alatta maradt a csak szacharózt tartalmazó táptalajok eredményeinek.

A szénhidrátok típusa és koncentrációja erősen befolyásolja a szomatikus embriogenezist sárgadinnye esetében (Oridate és Yasawa, 1990; Debeaujon és Branchard, 1992; Gray et al., 1993; Guis et al., 1997). Gray és munkatársai (1993) megállapították, hogy az indukciós és a növekedési táptalaj cukor koncentrációja egyértelműen meghatározza a szomatikus embriogenezis hatékonyságát. Végül megállapították, hogy a szacharóz ideális mennyisége az indukciós és növekedési táptalajban 3 %. Ha ennél magasabb vagy alacsonyabb koncentrációt alkalmaztak lecsökkent a regenerálható embriók száma.

Guis és munkatársai (1997) szomatikus embriogenezis útján sziklevelekből nyertek növényeket, szilárd táptalajon. Arról számoltak be, hogy a szacharóz, glükóz és maltóz szénforrások alkalmazása szignifikáns különbséget mutat a felnevelt növények számában. Az általunk elért eredményekkel szemben náluk a glükóz tartalmú táptalaj jobban szerepelt a szacharóz tartalmúnál, a maltóz viszont önmagában gátolta a szomatikus embriogenezist.

A kísérlet során továbbá megfigyeltük az indukciós idő hosszának szerepét is a különböző táptalajokon és fajtákon. Ennek érdekében nem egyszeri passzálást végeztünk, hanem a folyékony táptalajból folyamatosan, szabályos időközönként tettük szilárd táptalajra a kifejlődött embriókat. A Hógolyó és a Muskotály fajtáknál (elsősorban az MD13 mintákon) figyelhető meg az, hogy a viszonylag nagy növényhozamot eredményező 28 napos inkubációs idő után a 35 napos időszakban visszaesik az új növények száma, majd ezt követően a 43 napos rázatás után újra megemelkedik. Erre az lehet a magyarázat, hogy az embriók nem egy bizonyos pillanatban keletkeznek, hanem folyamatosan, több lépcsőben. Az 50. nap után az esetek nagy részében nem tapasztaltunk magas növényszámot, ez után az indukciós idő után már nem érdemes fenntartani a tenyészeteket. Az Ezüstanász fajta a rázatási idő szempontjából kissé eltérő módon viselkedik a másik két fajtához képest. Itt ugyanis a 35 nap körül tapasztaltuk a legmagasabb növényszámot, a 43 napos indukciós idő után már kevesebb,

az 50 napos indukció esetében pedig elhanyagolható volt az újonnan regenerálódó növények száma. Erre a magyarázat talán a fajták eltérő tenyészidejében keresendő: míg a Hógolyó és a Muskotály fajták középhosszú, hosszú tenyészidejűek, addig az Ezüstananász rövid tenyészidejű (Balázs, 1994).

A pH beállításakor, más növényeken folyadékkultúrában elért, illetve fermentoros sejttenyésztési eredményekre alapozva, az volt a hipotézisünk, hogy a folyékony táptalaj alacsony pH értékre való állításával optimálisabb környezetet tudunk teremteni a sejtszaporodáshoz és az embrió indukcióhoz. Ezt követően pedig szilárd táptalajon, annak magasabb pH értéke elősegíti az embrióképződését és az embriók intakt növényé differenciálódását. Az MD13 táptalaj pH értékét már a főzés során 4.6-ra állítottuk be, szemben az MD11 5.4 pH értékével, ami előnyös volt a magdarabok számára, mert a magok azonnal a számukra megfelelő környezetbe kerültek. Az eredmények összhangban vannak más növényeken elért eredményekkel (Martin és Rose 1975; Skirvin et al. 1986; Kovács et al. 1995) és arra mutatnak, hogy az alacsony pH (pH 4.5-4.6) a sárgadinnye esetében is a sejtszaporodásnak kedvez, de gátolja a differenciálódást, míg a magasabb pH (pH 4.8-5.2) segíti az embriófejlődést. Mivel a tenyészetek pH-ja kezdetben automatikusan pH 4.5-4,6-ra áll be, ezért célszerű a tenyésztést alacsony pH értéken indítani.

Ha a fajtákat a regenerált növényszám tekintetében hasonlítjuk össze, akkor kitűnik, hogy a Muskotály fajta áll az első helyen (összesen a kísérlet során 1222 db növényt sikerült regenerálni belőle). Összességében a Hógolyó és az Ezüstananász fajták is alkalmasnak bizonyultak szomatikus embriogenezis kiváltására, tehát mindhárom fajtával érdemes foglalkozni a továbbiakban. A táptalajok közül egyértelműen az MD13 bizonyult legjobbnak, melyen már érdemes lehet elkezdni transzformációs kísérleteket, akár mindegyik fajta esetében.

## **Tökfélék**

A regenerációs kísérletek során kapott eredményeink általánosságban megegyeznek a szakirodalomból ismert eredményekkel, amennyiben a sziklevelek jó kiindulási anyagok (Jelaska, 1972; Katavic et al., 1991; Chee, 1992; Gonsalves et al., 1995; Abrie és van Staden, 2001; Lee et al., 2003; Urbanek et al. 2004; Zang et al., 2008) a kabakosok esetében a regenerációhoz és a félbevágott sziklevel hipokotilhoz közeli része a legjobb válaszadó (Lee et al., 2003).

A növekedésszabályozó anyagok vonatkozásában kísérleteinkben a 2,4-D több kipróbált koncentrációja sem volt hatásos, ellentétben Gonsalves és munkatársai (1995)

eredményeivel. A benziladenint önmagában vagy indolecetsavval kiegészítve is hatásosnak találtuk regeneráció szempontjából. A benziladenint önmagában 1 mg/l koncentrációban más szerzők is sikeresen alkalmazták több fajta esetében is (Ananthakrishnan et al., 2003; Lee et al., 2003; Kathiravan et al., 2006; Ananthakrishnan et al., 2007; Amutha et al., 2009). Zang és munkatársai (2008) azonban nem tudtak szignifikáns különbséget kimutatni a 0.5, 1, illetve 2 mg/l benziladenin tartalmú regenerációs táptalajon regenerált hajtások számában sziklevel darabonként. Kísérleteink során a sütőtök esetében a legjobb hatást benziladenin és indolecetsav kombinációjával érték el. Urbanek és munkatársai (2004) olajtök esetében citokinint és auxint együttesen alkalmaztak hét napos szikleveleket felhasználva, azonban kísérleteik során naftilecetsavat alkalmaztak és embriogenezis útján jutottak regeneráns növényekhez. Ananthakrishnan és munkatársai (2003) hozzánk hasonlóan organogenezis útján regeneráltak növényeket. Kathiravan és munkatársai (2006) 15 különböző tök fajtát vizsgálva 1.2 - 3.9 hajtás/sziklevél darab közötti eredményt értek el.

Általánosságban ismert, hogy a válaszadó képesség erősen genotípus függő, így eredményeink újaknak és korábbi kísérleteket megalapozónak tekinthetők a vizsgált fajták vonatkozásában. A létrejött hajtásokon a gyökeresedés nehezen ment végbe kivéve a cukkínt, ahol viszont gyakran gyökereztető táptalaj nélkül járulékos hajtásképződés ment végbe. A gyökeresedés után a növények inkubációja már nem jelentett problémát, ezért különösen fontos, hogy egy hatásosabb gyökereztetési módot találjunk, például a növekedésszabályozó anyag koncentráció megváltoztatásával vagy más növekedésszabályozó anyagok alkalmazásával.

A transzformáció esetében problémásnak találtuk az optimális kokultivációs idő megtalálását mivel a rövid együtt tenyésztés túlságosan lecsökkenti a transzformációs gyakoriságot, hosszabb kokultivációs idő viszont nagyon megnehezíti az *Agrobacterium* előlését.



## ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

### Sárgadinnye esetében elért eredmények

1. Elsőként sikerült a Javított Zentai, Muskotály, Tétényi csereshéjú és a Magyar kincs esetében növényt regenerálnunk *in vitro* körülmények között szikleveleiből kiindulva szilárd táptalajon.
2. Különböző növényi részek regenerációs képességét vizsgálva elsőként regeneráltunk növényt a Hógolyó és a Hale's Best fajták esetében hipokotilból és dekapitált hipokotilból szilárd táptalajon.
3. A növekedésszabályozó anyag optimalizációs kísérletek során a Hógolyó sárgadinnye fajta esetében a legtöbb átültetésre alkalmas hajtás a 0.9 mg/l benziladenin és 0.6 mg/l indolecetsav összetételű szilárd táptalajon (MDOP1), míg a Hale's Best sárgadinnye fajta esetében a 0.6 mg/l benziladenin és 0.9 mg/l indolecetsav összetételű szilárd táptalajon (MDOP2) fejlődött.
4. A magyar sárgadinnye fajták válaszadó képességét tesztelve folyadékkultúrában elsőként sikerült a Muskotály, a Hógolyó és az Ezüstananász fajták magjából szomatikus embriogenezis útján növényeket regenerálni.
5. Muskotály fajtával végzett növekedésszabályozó anyag optimalizációs kísérlet segítségével kiválasztottuk a megfelelő koncentrációt folyékony táptalajon (0.1 mg/l benziladenin és 2 mg/l 2,4-D).
6. A vizsgálat során felhasznált hatféle folyékony táptalaj összevetése alapján megállapítottuk, hogy a különböző alkalmazott vitaminok hozzáadása nem befolyásolta az embriogenezis indukcióját, a Muskotály, Hógolyó és Ezüstananász fajtáknál.
7. A folyékony táptalajokban alkalmazott különböző szénforrások hatását vizsgálva megállapítottuk, hogy a szacharózt tartalmazó táptalajok előnyösebbek a sárgadinnye embriogenezisének indukálása során (Muskotály és Hógolyó fajták).
8. Elsőként állapítottuk meg, hogy a sárgadinnye esetében az alacsony pH kedvezően befolyásolja a szomatikus embriogenezis indukálását, a magasabb pH pedig a növényé differenciálódást (Muskotály, Hógolyó és Ezüstananász fajták).
9. Muskotály fajtánál a magok életkorának hatását vizsgálva a szomatikus embriogenezisre megállapítottuk, hogy a fiatal magvakból indított tenyészetekből több növény nyerhető folyadékkultúrában.

10. A szelekciós táptalajon sikeresen felneveltünk növényeket, melyek mellé téve a kontroll növények bizonyítottan elpusztultak. A vélhetően transzformáns növényeket sikeresen meggyökerezettük szelekciós táptalajon (Hógolyó és a Hale's Best fajták). A kiültetett növények az üvegházban virágot hoztak.

### **A tök esetében elért eredmények**

1. Elsőként sikerült a Nagydobosi sütőtök és az Óvári fehér patisszon esetében növényt regenerálnunk *in vitro* körülmények között sziklevelekből kiindulva.
2. A transzformációs kísérletek során sikerült regeneráns Nagydobosi sütőtök növényeket felnevelni a szelekciós táptalajon. A feltételezhetően transzformáns növényeket sikeresen meggyökerezettük szelekciós táptalajon, majd a kiültetett növények virágot is hoztak.

## Az értekezés témakörében megjelent publikációk

### Nemzetközi folyóiratcikkek

IF-os folyóiratcikk

**Kiss-Bába E.**, Pánczél S., Velich I., Bisztray G. D. (2010) Influence of genotype and explant source on the *in vitro* regeneration ability of different melon varieties. Acta Biologica Hungarica (in press)  
IF: 0.619 (2008)

NEM IF-os folyóiratcikk

**Kiss-Bába E.**, Pánczél S., Simonyi K., Bisztray Gy. D. (2010) Investigations on the regeneration ability of squash cultivars. Acta Agronomica Hungarica (in press)

Bársony Cs., Bisztray Gy., **Bába E.** and Velich I. (1999) Shoot induction and plant regeneration from cotyledon segments of the muskmelon variety „Hógolyó”. International Journal of Horticultural Science 5, (1-2): 61-64 p.

**Bába E.**, Zarka V., Deák T., Pedryc A., Velich I., Bisztray Gy. D. (2002) Molecular diversity of Hungarian melon varieties revealed by RAPD markers. International Journal of Horticultural Science 8, (3-4): 11-13 p.

### Könyvrészlet

**Kissné Bába E.** Bisztray Gy. D. (2005) Sárgadinnye, In: Jámborné Benczúr E., Dobránszki J. (szerk.): Kertészeti növények mikroszaporítása. Mezőgazda Kiadó. 147-149 p.

Bisztray Gy. D. **Kissné Bába E.** Zarka V. (2005) Tök, In: Jámborné Benczúr E., Dobránszki J. (szerk.): Kertészeti növények mikroszaporítása. Mezőgazda Kiadó. 149-153 p.

Kissimon J., **Kissné Bába E.** (2005) Foszintetikus sajátosságok változtatása a mikroszaporítás során, In: Jámborné Benczúr E., Dobránszki J. (szerk.): Kertészeti növények mikroszaporítása. Mezőgazda Kiadó. 87-95 p.

### Konferencia kiadványok

#### Nemzetközi konferencia (full paper)

**Bába E.**, Zarka V., Pedryc A., Velich I., Bisztray Gy. D. (2003) The Use of RAPD markers for distinction of Hungarian melon and watermelon cultivars. 4<sup>th</sup> International Conference of PhD students in Miskolc Agriculture section 175-180 p.

**Kiss-Bába E.**, Pánczél S., Zarka V., Bisztray Gy. D., Velich I. (2004) Regeneration ability of some Hungarian melon varieties, In: A. Lebeda and H.S. Paris (Eds.) Progress in Cucurbit Genetics and Breeding Research. Proceedings of Cucurbitaceae 2004 8th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding. (July 12-17, Olomouc, Czech Republic) 437-439 p

Deák T., Seregély Zs., Kaffka K.J., **Bába E.**, Zarka V., Bisztray Gy.D. (2004) Distinction of melon genotypes using NIR spectroscopy. In (Daevis and Garrido-Varo ed.): Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 11th International Conference. NIR Publications, Charlton Mill, UK. 385-388. p

**Kiss-Bába E.**, K. Simonyi, V. Zarka, I. Tóbiás., I. Velich, Gy. D. Bisztray (2006) Experiments on transformation and *in vitro* regeneration of squash varieties. 5th In Vitro Culture and Horticultural Breeding Symposium, (12-17. September 2004., Debrecen, Hungary) ISHS Acta Horticulturae 725 Vol. 2. 791-794 p.

### **Magyar nyelvű (abstract)**

**Bába E.**, Velich I., Bisztray Gy. (2000) A sárgadinnye *in vitro* regenerációja szikleveleiből. Lippay János & Vas Károly Tudományos Ülésszak, Élettani és Genetikai Kutatások Kertészeti alkalmazása Szekció, (2000. november 6-7, Budapest). Összefoglalók 136-137 p.

Bisztray Gy., Bársony Cs., **Bába E.**, Borókai R., Zarka V., Szabados A., Velich I. (2000) A görög és sárgadinnye *in vitro* regenerációja. VI. Növénynevelési Tudományos napok (2000. március 8-9. Budapest) Összefoglalók 33 p

**Bába E.**, Bisztray Gy., Velich I. (2001) A sárgadinnye *in vitro* regenerációja szikleveleiből. VII. Növénynevelési Tudományos napok (2001. január 23-24. Budapest) Összefoglalók 70 p.

**Bába E.**, Zarka V., Bisztray Gy. D., Velich I. Tóbiás I. (2003) Transzformációs kísérletek a vírusrezisztencia kialakítására sárgadinnyénél. IX. Növénynevelési Tudományos napok (2003. március 5-6. Budapest) Összefoglalók 75 p.

**Kissné Bába E.** Zarka V., Bisztray Gy. D., Velich I., Tóbiás I. Transzformációs kísérletek sárgadinnyénél. (2003) „Lippay János - Ormos Imre - Vas Károly” Tudományos Ülésszak, Biotechnológiai, alkalmazott genetikai és növényélettani Szekció, (2003. november 6-7. Budapest). Összefoglalók: 100-101 p.

Simonyi K, **Kissné Bába E.**, Bisztray Gy., Velich I. (2004) Kabakosok *in vitro* regenerációja szikleveleiből. X. Növénynevelési Tudományos Napok (2004. február 18-19. Budapest) Összefoglalók 148 p.

**Kissné Bába E.**, Simonyi K. Pánczél S., Tóbiás I., Velich I., Bisztray Gy. D. (2005) Transzformációs kísérletek kabakosoknál. XI. Növénynevelési Tudományos Napok (2005. március 3-4. Budapest) Összefoglalók 101 p.

Bisztray Gy. D. **Kissné Bába E.**, Sz. Nagy L., Bodor P., Simonyi K. Deák T., Pánczél S., Bacsó R. Zarka V., Oláh R. Tóbiás I., Balog I., Velich I. (2005) Molekuláris növénynevelési módszerek alkalmazása kabakosoknál és szőlőnél. XI. Növénynevelési Tudományos Napok (2005. március 3-4. Budapest) Összefoglalók 19 p.

**Kissné Bába E.**, Gyurcsáné Mille Á., Pánczél S., Velich I., Bisztray Gy. D. (2006) A regeneráció hatékonysága embriogenezis és organogenezis útján sárgadinnyénél. XII. Növénynevelési Tudományos Napok (2006. március 7-8. Budapest) Összefoglalók 136 p.

Pánczél S., **Kissné Bába E.**, Bisztray Gy. D. (2007) Magyar sárgadinnye fajták *in vitro* regenerációja szomatikus embriogenezis útján XIII. Növénynevelési Tudományos Napok (2007. március 12. Budapest) Összefoglalók 115 p.

Pánczél S., **Kissné Bába E.**, Gell Gy., Balázs E. (2008) A hipokotil *in vitro* regenerációs képességének vizsgálata sárgadinnye és olajtök csíranövényeken. XIV. Növénynevelési Tudományos Napok (2008. március, Budapest) Összefoglalók 77 p.