

BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM
KERTÉSZETTUDOMÁNYI KAR
GYÓGY- ÉS AROMANÖVÉNYEK TANSZÉK

**A MÁK (*PAPAVER SOMNIFERUM L.*) FAGYTŰRÉSÉBEN SZEREPET
JÁTSZÓ TÉNYEZŐK**

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

PAPPNÉ JÁSZBERÉNYI CSILLA

TÉMAVEZETŐ: **ZÁMBORINÉ DR. NÉMETH ÉVA**
A MEZŐGAZDASÁGI TUDOMÁNYOK DOKTORA

BUDAPEST
2014

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:	Zámboriné Dr. Németh Éva egyetemi tanár, DSc Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Gyógy- és Aromanövények 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, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Dr. Tóth Magdolna
iskolavezető jóváhagyása

.....
Zámboriné Dr. Németh Éva
témavezető jóváhagyása

A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanácsának 2013. december 3-i határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke: Höhn Mária, CSc, BCE

Tagjai: Halász Krisztián, PhD
Fehér Mariann, PhD

Opponensek: Janda Tibor, DSc
Máthé Imre, DSc

Titkár: Geösel András, PhD

3.2.5.1. A kísérlet ideje, növényanyaga, mintavétel.....	40
3.2.5.2. Laboratóriumi vizsgálat	40
3.2.6. Alkaloidtartalomra vonatkozó vizsgálat	42
3.2.6.1. A kísérlet ideje, növényanyaga, mintavétel.....	42
3.2.6.2. Laboratóriumi vizsgálatok.....	43
3.2.7. Zsírosolaj-tartalomra vonatkozó vizsgálat	43
3.2.7.1. A kísérlet ideje, növényanyaga, mintavétel.....	43
3.2.7.2. Minta-előkészítés	43
3.2.7.3. Laboratóriumi vizsgálatok.....	43
3.2.8. Csírázásbiológiai vizsgálatok	44
3.2.9. A kísérleti terület időjárási jellemzői	44
3.3. STATISZTIKAI ADATFELDOLGOZÁS.....	47
4. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK	48
4.1. A FAJTÁK FAGYTŰRÉSÉNEK STABILITÁSA	48
4.2. AZ ÁTTELELŐ ÉS A TAVASZI TÍPUSOK NÉHÁNY JELLEMZŐ SAJÁTOSSÁGA.....	49
4.2.1. A levelek szövettani jellemzői.....	49
4.2.2. A szövetek víztartalma	53
4.2.3. A magvak zsírosolaj-tartalma.....	54
4.2.4. A fajták csírázási hőmérséklete	56
4.3. KRIOPROTEKTÁNSOK FELHALMOZÓDÁSA	58
4.3.1. A cukortartalom alakulása	58
4.3.1.1. Cukortartalom hidegindukció nélkül	58
4.3.1.1.1. Standard fajták.....	58
4.3.1.1.2. Hibridek.....	59
4.3.1.2. Cukor akkumuláció a tél folyamán.....	60
4.3.1.2.1. Standard fajták.....	60
4.3.1.2.2. Hibridek.....	63
4.3.1.3. Szénhidrát-komponensek felhalmozódása	65
4.3.1.3.1. Standard fajták.....	65
4.3.1.3.2. Hibridek.....	68
4.3.2. A prolintartalom alakulása	69
4.3.2.1. Prolintartalom hidegindukció nélkül	69
4.3.2.1.1. Standard fajták.....	69
4.3.2.1.2. Hibridek.....	70
4.3.2.2. Prolin akkumuláció a tél folyamán.....	71
4.3.2.3. A prolintartalom dinamikájának ellenőrzése kontrollált környezetben.....	74

4.3.2.3.1. <i>In vitro</i> fagyteszt.....	74
4.3.2.3.2. A prolintartalom dinamikája kontrollált környezetben	77
4.4. A TÉLTŰRÉS ÉS AZ ALKALOIDTARTALOM ÖSSZEFÜGGÉSEI.....	80
4.4.1. Hibridek áttelelése alapján, szabadföldön	80
4.4.2. Tavaszi és őszi vetésű populációk összehasonlítása alapján	82
4.5. A MÁK LEVELE, MINT HATÓANYAGMARKER	86
4.6. NEMESÍTÉSI EREDMÉNYEK	89
4.7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÉS GYAKORLATI VONATKOZÁSAIK.....	93
5. ÖSSZEFOGLALÁS	95
SUMMARY.....	100
ÁBRÁK JEGYZÉKE	105
TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE	108
IRODALOMJEGYZÉK	110

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

A mák (*Papaver somniferum* L.) egyike a legnagyobb jelentőségű gyógynövény-fajainknak, mind a gyógyászatban, mind pedig az élelmiszeriparban betöltött szerepénél fogva. Kettős hasznosítású növényként toktermését és magját is hasznosítjuk. Előbbi speciális anyagokat, a gyógyszeripar számára nélkülözhetetlen alkaloidokat tartalmaz, míg utóbbi Európa szerte kedvelt, számos jótékony hatása mellett tradicionálisan fogyasztott élelmiszer. A mákkal kapcsolatos kutatások volumene világszerte egyre bővül, ami egyrészt az alkaloidok iránti igény fokozódására, másrészt pedig az illegális termelés és kábítószer-használat elleni harcra vezethető vissza (BERNÁTH, 1998c).

Magyarországon a máknak kétféle ökotípusát termesztik, az áttelelő, őszi ökotípust, illetve a tavaszt. Napjainkban az őszi vetésű (őszi-tavaszi vegetációs ciklusú) fajták termesztése előtérbe került, ugyanis magasabb tok-, illetve maghozamot biztosítanak a tavaszi vetésű fajtákénál. Természetszerűleg az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú fajták magasabb fagytoleranciával rendelkeznek, tölevélrózsás állapotban képesek áttelelni, jól bírják a téli fagyokat, szemben a tavaszi vetésűekkel (FÖLDESI, 1995). Ugyanakkor a fajtaválasztékukat tekintve megállapítható, hogy az őszi fajtaspektrum hazánkban mindössze hat fajtára korlátozódik, ellentétben a tavaszi fajtasortimenttel, mely tizenhat alacsony és magas hatóanyag-tartalmú fajtával is képviselteti magát (Nemzeti Fajtajegyzék, 2013). Bár az őszi fajták iránti kereslet a termelők részéről az utóbbi években markánsan nő, - hiszen a nagyobb hozam, korábbi értékesítési lehetőség pluszjövedelmet biztosíthat -, e fajtakörben a választék igen csekély. Így a mák nemesítésének további perspektivikus célja a hatóanyag-tartalmának módosításán túl, a hideg- és fagyűrő képességének fokozása.

A hideg időszak átvészelését, illetve az áttelelés sikerességét számos tényező befolyásolja. A környezeti tényezők közül egyik legfontosabb a téli időjárás, vagyis a hőmérséklet és a lehullott csapadék mennyisége, valamint annak formája. Ezen túl természetesen a növény fejlettsége, valamint genetikai adottságai is meghatározónak bizonyulnak. A növény megfelelő fejlettségi fázisában a genetikailag öröklött védőmechanizmusai fenotípusosan is megnyilvánulnak. Az edződés során a növény számos biokémiai és élettani folyamattal készül fel a fagy által okozott stressz elviselésére. A fagy károsító hatása a sejtekben jégkristályok képződésében nyilvánul meg (SZIGETI, 2007), mely folyamatot a növény a sejt közötti járataiban krioprotektáns anyagok, vagyis védővegyületek felhalmozásával próbál megakadályozni. Másrészt stressz hatására általánosan indukálódó mechanizmus a különböző ozmolitikumok képződése, melyek segítségével a növény a hidegre rendkívül érzékeny citoplazmát sűríti be, csökkentve a sejt fagyáspontját, illetve a

szövetek víztartalmát (KAZUO és KAZUKO, 1996; TAKAGI, 2008; SMIRNOFF, 1998; DELAUNEY és VERMA, 1993). A mák esetében mindezen folyamatok kevésbé kutatottak, a mák téltűrésére vonatkozó információk sporadikusak, alapvető ismereteink leginkább csak a gyakorlatból származnak, csupán termesztési tapasztalatokkal alátámasztottak. A máknemesítés hosszadalmas folyamatát felgyorsíthatná olyan markermolekulák (pl. oldható cukor, prolin) vagy morfológiai, szövettani bélyegek azonosítása, melyek a szakirodalom közlései alapján számos más növényfaj esetében kapcsolatban állnak a fagyűréssel.

A fentiekből kiindulva kutatásaink során ezért az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú mák genotípusok teljesebb megismerését kívántuk elérni, feltárni a mák fagyűréssel összefüggő biokémiai, fiziológiai jellemzőket, továbbá a fagyűtolerancia és a fontosabb egyéb növényi tulajdonságok esetleges összefüggéseit. Ennek érdekében tehát munkánk célkitűzéseiként részletesebben az alábbiakat fogalmaztuk meg.

Tudományos, elméleti ismeretek bővítése:

- A mák téltűrésében szerepet játszó biokémiai és fiziológiai mechanizmusok minél teljesebb megismerése, és a fajspecifikus elemek kiemelése;
- Az őszi fajtaspektrum szelekcióval történő bővítési lehetőségeinek feltárása, a meglévő törzsanyagokra alapozva, a genetikai variabilitás szélesebb körű megismerése;
- A téltűrés és a mák morfológiai, illetve produkciós sajátosságai közötti összefüggések feltárása, marker-bélyegek keresése;
- A téltűrés és az alkaloidfelhalmozódás kapcsolatának megismerése.

Gyakorlati jelentőségű kérdések és feladatok megoldása:

- A tanszéki génbanki gyűjtemény és nemesítői törzsanyag bővítése különböző fagyűtoleráns genotípusokkal;
- Fajspecifikus *in vitro* szkűrín módszer kidolgozása különböző genotípusok téltűrésének teszteléséhez;
- Az EU elvárásoknak megfelelő termesztés-szabályozási formákkal konform, őszi-tavaszi ciklusú új mákfajtajelöltek előállítása.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A MÁK (*PAPAVER SOMNIFERUM* L.)

2.1.1. A mák rendszertani besorolása, származása, elterjedése

A mák (*Papaver soniferum* L.) speciális anyagokat termelő, egyik legjelentősebb gyógynövény fajunk (1. ábra). Magyar nevei: kerti mák, francia mák, álmhozó mák. A *Papaver* név ismeretlen eredetű, valószínűleg ezen szóösszetétel a kelta „pappa” és a latin „verum” szavakból eredeztethető, vagyis magyarul igazi gyermekaltatót jelöl, amely arra utal, hogy a növény tokjából készített teát kezdetben a síró gyermekek altatására használták. A „*somnifer*” álmhozót jelent (AUGUSTIN et al., 1948; BERNÁTH és NÉMETH, 2010). A mák kettős célú termesztésre való alkalmassága révén számottevő jelentőséggel bír mind hazánkban, mind világszerte. Tokja fontos és értékes gyógyászati alapanyagként szolgál, míg a benne található mag Európa szerte tradicionálisan fogyasztott élelmiszer (HORNOK, 1978; UNK és FÖLDESI, 1978; BERNÁTH és NÉMETH, 2010).



1. ábra: Mák (*Papaver somniferum* L.) ültetvény, Kostelec na Hané, Csehország

(Fotó: Jászberényi Cs., 2011)

Rendszertanilag a *Ranunculales* rendbe, a *Papaveraceae* családba és azon belül a *Papaveroideae* alcsaládba tartozik (UDVARDY, 2008; TÉTÉNYI, 2001). A mák lágyszárú, egyéves (therofiton) faj. Főgyökere karószerű, 18-20 cm hosszú, melyből kevés oldalgyökér ered. Ezek közül a talajfelszín közelében lévők megvastagodnak, és támasztógyökérként funkcionálnak. Szára felálló, magassága fajtától függő, 50-160 cm (DÁNOS, 2006). Tőlevelei

hosszúkásak, ülők, szárlevelei szórt állásúak, hosszúkás tojásdad alakúak. Mind a főhajtások, mind az oldalhajtások magányosan álló virágokban záródnak. A termesztett mákfajták szíromlevele változatos, a tavaszi fajták többsége viszont fehér színű, az alapi részen lila folttal. Termése üreges, többrekeszű tok, melynek alakja, színe és mérete fajtafüggő tulajdonság. Magja általában legömbölyített vese alakú, színe a fehértől a feketéig változik (FÖLDESI, 1994; 2000; HÖRÖMPÖLI, 2004).

A mák az egyik legősibb kultúrnövényünk (FÖLDESI, 1997; HORNOK, 1978). Korábban úgy tartották, hogy a mediterráneum térségéből származik, de az írásos emlékek alapján a nyugat-ázsiai régió lehetett az őshazája. A barlangi ásatások során talált leletek bizonyítják, hogy Kr. e. 4-5 ezer éve már ismerték a kezdetleges kultúrák e növény valamely elődjét (BERNÁTH és NÉMETH, 2010; SZABÓ et al., 2006). Egyiptomi előfordulását az Ebers-féle papirusztekercs (Kr. e. 1500) tanúsítja. A mákot ismerték a sumérok, az asszírok és a babilóniaiak is. Az első írásos emlékek a növényről és annak felhasználásáról a görögöktől származnak. Valószínűsíthető, hogy a Mekone (jelentése: „mákváros”) névvel jelölt korinthuszi helység volt a mák első termesztési központja. Felhasználásának elterjedése a Római Birodalom időszakára és az azt követő évszázadokra tehető. Ekkor a provinciákban már folyt a termesztése is, és idővel a mák egyre nagyobb jelentőségűvé vált. Felhasználásáról tudományos igényvel, elsőként Hippokratész írt (BERNÁTH és NÉMETH, 2010; NORN et al., 2005, FÖLDESI, 1997). Már abban az időben ismerték a mák erős hatású anyagait, a tokból nyerhető folyékony ital hatását. Mindemellett tudatában voltak a mákmag jelentős táplálkozási értékének is. Dioszkoridész már elkülönítette az ún. termesztett vagy kerti mákot, melyet élelmezési célra használtak, illetve a vad mákot, mely a mai pipaccsal lehetett azonos (BERNÁTH és NÉMETH, 2010).

A mákot kezdetben kiskertekben termesztették. Magjának jelentősége az évszázadok során egyre nőtt, míg a 18. század végén, a 19. század elején megkezdődött a mák nagyobb léptékű termesztése. Jelenleg a világon a mákot legálisan ipari és étkezési célra 150-200 ezer hektáron termesztik. A legjelentősebb termelők közé tartozik Franciaország, Spanyolország, Törökország, Portugália, Csehország, Románia, Lengyelország, Szlovákia, Ausztrália és Magyarország (BERNÁTH és NÉMETH, 2010; SZABÓ et al., 2006; NÉMETH, 1998; BERNÁTH, 2001). Elterjedésének oka jelentős ökológiai flexibilitásában rejlik. Rendkívül diverz területeken fordul elő, így a Távol-Keleten, Nyugat-Európában és Amerika trópusi területein is (NÉMETH, 2002; BERNÁTH, 1998a). Hazánkban az ország egész területén nagy- és kisüzemekben egyaránt termesztik, megközelítőleg 10 ezer hektáron. A máktermesztés körülményeit Magyarországon a kormány a jelenleg érvényes 62/2010. III. 18. számú rendelet alapján szabályozza, melynek értelmében külön kell választani az ipari és az étkezési célú

máktermesztést. A világon kizárólag Kína, Japán és India állít elő legálisan ópiumot (BERNÁTH és NÉMETH, 2010). Az illegális máktermesztés hozzávetőlegesen kétszer akkora területen valósul meg, mint a szabályozott és ellenőrzött körülmények között folytatott termesztés. Az illegális ópiumtermelés három fő körzetre koncentrálódik, az ún. „arany háromszög”, azaz Burma, Laosz, Vietnám és Thaiföld több körzetére, az „arany félhold” országaira úgy, mint Afganisztán, Pakisztán és Közép-Ázsia területe, valamint Közép-Amerika államaira (BERNÁTH és NÉMETH, 2010; BERNÁTH, 2001).

2.1.2. Drogja, hatóanyaga és felhasználása

A VIII. Magyar Gyógyszerkönyv alapján a mák hivatalos drogjai a standardizált ópiumpor (*Opii pulvis normatus*), illetve a nyers ópium (*Opium crudum*) (2. ábra).



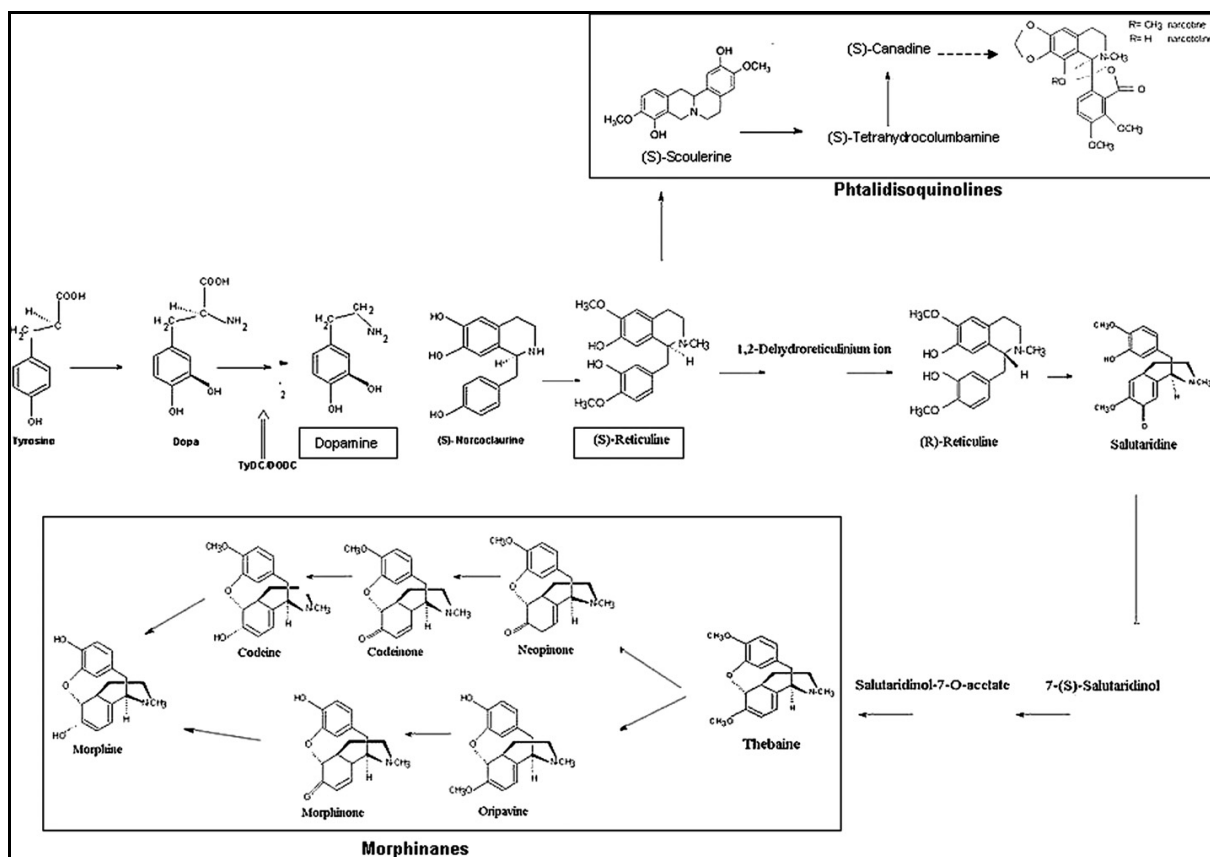
2. ábra: Nyers ópium

(http://hu.wikipedia.org/w/index.php?title=F%C3%A1jl:Raw_opium.jpg&filetimestamp=20051226172447)

Az ópium az éretlen, zöld máktokból karcolás útján kifolyt, összegyűjtött és napon szárított latex (Ph. Hg. VIII; ZELENYÁK, 1908; VÁRADI, 1974; VERZÁRNÉ, 1982; HALMAI és NOVÁK, 1963). Bár a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben nem szerepel hivatalos drokként, az érett, száraz máktokot (*Papaveris caput maturis*) értékes gyógyászati alapanyagként tartjuk számon (BERNÁTH, 2001), ugyanis Kabay János magyar gyógyszerész 1932-es szabadalma nyomán lehetővé vált az alkaloidok kivonása az addig értéktelen mákszalmából és máktokból. További előnye az ópiumból történő alkaloid kivonáshoz képest, hogy a folyamat egy szigorúan ellenőrzött és zárt rendszerben történik, így minimalizálhatóvá válnak az ópiumcélú termesztéshez kapcsolódó kábítószer visszaélések is (BERNÁTH és SÁRKÁNY, 2001; RÁPÓTI és ROMVÁRY, 1977). Kabay munkássága nyomán alakult meg Tiszavasváron az Alkaloida Vegyészeti Gyár (SZABÓ, 2005), ahol az alkaloidkivonást végzik Magyarországon.

A tok gyógyászati értékét a benne felhalmozódó alkaloidok adják, melyek közül a legfontosabbak a morfinán-, benzilizokinolin- és ftalidizokinolin vázzal rendelkező alkaloidok, a morfin, kodein, tebain, narkotin és papaverin (FACCHINI et al., 2007; HALMAI és NOVÁK, 1963). Elsőként 1806-ban, Sertürner Frigyes izolálta a morfint az ópiumból (KLOCKGETHER-RADKE, 2002; HAMILTON és BASKETT, 2000; HANZLIK, 1929). A vegyület nevét Morpheusról, az álom ókori istenéről kapta (HALMAI és NOVÁK, 1963). Azóta 60 különböző alkaloid jelenlétét sikerült kimutatni (HOSZTAFI, 2001a). Az ópium morfintartalma 4-21 %, narkotintartalma 4-12 %, míg a többi fontosabb alkaloid mennyisége 2,5 % alatt van. Az alkaloidok az ópiumban mekonsavas sók formájában fordulnak elő (HOSZTAFI, 2001a; HALMAI és NOVÁK, 1963).

A más fő alkaloidjainak bioszintézis útját a 3. ábra illusztrálja. A tebain, kodein, morfin bioszintézisének közös prekuzora a fenilalanin (tirozin) (FACCHINI és DE LUCA, 1994).



3. ábra: A más fő alkaloidjainak bioszintézis útja (NÉMETH et al., 2011)

A két molekula tirozin közül az egyik tiraminná, a másik aldehiddé alakul, melyet a molekulák norkoclaurinná történő kondenzációja követ. Ezután egy intermedier alkaloid, retikulin keletkezik, mely egy belső híd kialakulásával szalutaridinné alakul. A tebain, a

szalutaridin ketocsoportjának oxigénhíddá váló alakulásával keletkezik. Ezt követően a fokozatos metilvesztéssel kodein és morfin alkaloidok jönnek létre. A ftalidizokinolin vázas narkotin (noszkapin) képződése a morfinán vázas alkaloidokétól a retikulín kialakulása után válik ketté, és külön úton folytatva jön létre narkotin. A papaverin másik bioszintézis úton jön létre norkoklaurinból (VERZÁRNÉ, 1982; HOSZTAFI, 2001a; 2001b; PSENAK, 1998; FACCHINI és BIRD, 1998; ZIEGLER et al.; 2009).

A mák farmakológiai hatásáról az emberiség igen korán tudomást szerzett. Már i.sz. 77-ben Dioscorides említést tett az ópium szájon át történő alkalmazásának, illetve a pipafüst belégzésének eufórikus, illetve szedatív hatásáról. A mák nedvére történő legkorábbi írásos utalás az i.e. III. századból, Theophrastustól származik (FÜRST és HOSZTAFI, 2001), aki még mekonium néven említi (HALMAI és NOVÁK, 1963).

A mák alkaloidjainak számos hatása, indikációs területe ismert. Míg a morfin erős fájdalomcsillapító és euforizáló, nyugtató hatású (YANG et al., 2010; PACE és BURKE, 2008; BEHAR et al., 1979), a papaverint simaizom görcsoldóként (spazmolitikumként) alkalmazzák (BRYANT, 1987; SZABÓ, 2005) totálszintézissel állítva elő (RÁCZ et al., 1992). Utóbbi erekció előidézésére, impotencia kezelésére is eredményesen használják (BELLA és BROCK, 2004; TÖRÖK et al., 1987; BUVAT et al., 1987). A kodein köhögés- (antitussivum) (BANNER, 1986; HOMSI et al., 2001) és enyhe fájdalomcsillapító (WANG et al., 2005; SMITH et al., 2001). Annak ellenére, hogy a görcsös rohamokat képes megszüntetni, és használata széles körben elterjedt, HERMANN-CLAUSEN (2009) és FERREIÓS munkatársaikkal (2009) a nem megfelelő dozírozás veszélyére hívja fel a figyelmet. Az egyéb mákalkaloidok, úgy mint a narkotin, tebain görcsoldó és köhögéscsillapító, félszintetikus úton kialakított gyógyszerek alapanyagai (FÜRST és HOSZTAFI, 2001). A narkotin (noszkapin) rák ellenes hatásáról több szerző is beszámol (WINZER et al., 2012; FACCHINI et al., 2007). Az alkaloidok közül a gyökérben felhalmozódó sanguinarin (FACCHINI és BIRD, 1998) antimikrobiális tulajdonságát is kimutatták (DZINK és SOCRANSKY, 1985). Habár a XX. században újabb és újabb fájdalomcsillapító hatású vegyületeket fedeztek fel, a morfin semmit sem veszített jelentőségéből (HAMILTON és BASKETT, 2000). Oldat formájában, kizárólag orvosi rendelvényre alkalmazható, olyan súlyos betegségek kezelésekor, mint például a rák, AIDS és súlyos gerincbetegség, a betegek közérzetének javítása céljából (BERNÁTH és NÉMETH, 2010). Már rövid idejű, folyamatos alkalmazása esetén is pszichés és fizikális dependencia alakul ki (VÁRADI, 1974). A jellegzetes szagú, keserű, csípős ízű ópiumot (AUGUSTIN et al., 1948) Galenusi készítményekben és homeopátiás szerekben, alkohollal hígított formában (1:100 000) is megtalálhatjuk, amely kanyaró, influenza, székrekedés és depresszió esetén is hatásos lehet (BERNÁTH és NÉMETH, 2010; KIRÁLY, 1965). Az ópium az alkaloidokon kívül tartalmaz

még cukrot, nyálkát, gyantát, keményítőt és cseszavot (AUGUSTIN et al., 1948). Az ópiumot Iránban, Indiában, Kínában élvezeti szerként, főként pipázás útján fogyasztva használják. Az ópiumszendélyt a tengerészek terjesztették el Európában (KIRÁLY, 1965), mely mára igen komoly méreteket öltött. Emellett sajnos jelentős szerephez jutott a heroinizmus is (OKIE, 2010; KULSUDJARIT, 2006). A mákfejekből készített főzetet régen fejfájásra, a halánték bedörzsölésére és lábvíznek is használták, mert álmoságot idézett elő. Ezen hatását kihasználva, alkalmazták még síró gyermekek megnyugtatására, altatásának elősegítésére (ZELENYÁK, 1908).

Az ópiát alkaloidok, köztük a morfin gyógyászati felhasználása folyamatosan bővülni látszik (BERNÁTH és NÉMETH, 2005), mint ahogy hasonló tendenciát mutat a száraz tok ipari feldolgozása, így a mákkal bevetett természetfölület mérete is (BERNÁTH, 1998c). Az INCB (International Narcotics Control Board) adatai alapján a morfin felhasználása 1978 és 1983 közötti 2,2 tonnáról az 1990-es évekre elérte a 30 tonnát. A gyógyszeripari termelés évi 300 tonna morfin alapanyagot igényel (BERNÁTH és NÉMETH, 2005).

Magja igen értékes, étkezésre alkalmas zsírosolajat (40-55 %) és fehérjét tartalmaz; alkaloidoktól gyakorlatilag mentes (RÁCZ et al., 1992; FÖLDESI, 2000). Esszenciális zsírsavakat (90 %), kétszeresen telítetlen linolsavat (70 %) és kisebb mennyiségben, egyszeresen telítetlen olajsavat tartalmaz, amely csökkenti a koleszterinszintet (IMAZUMI et al., 2000; BEARE-ROGERS et al., 1979), és támogatja az egészséges vérkeringést, valamint az érrendszert (BERNÁTH és NÉMETH, 2010; FÖLDESI, 1997). A telített zsírsavak közül a palmitin és sztearinsav képviselteti magát, de mindössze 8 illetve 1,5 %-ban (SZABÓ et al., 2006). Kedvező zsírsavösszetételét számos kutató bizonyította (SINGH et al., 1990; NERGIZ és ÖTLES, 1994; VERMA et al., 1997; BOZAN és TEMELLI, 2008; AZCAN et al., 2004), ami indokoltá tenné, hogy fogyasztása újra előtérbe kerüljön (HÖRÖMPÖLI, 1995). A mákmag nemcsak finom, hanem az egyik legjobb természetes forrás az ásványi anyagok pótlására (SCHAMSCHULA et al., 1988), mivel a fontosabbakat (kalcium, magnézium, vas) nagy mennyiségben tartalmazza. Emellett szénhidrátot, vitaminokat (B1 és E), nyomelemeket (szelén, réz), valamint rost-, íz- és illatanyagokat is találunk benne (BERNÁTH és NÉMETH, 2010). Illékony vegyületeiről KRIST és munkatársai 2005-ös munkájukban tesznek említést. Az étkezési célra alkalmas mákolajat hidegprezéssel vonják ki a magból, amelynek világossárga színe, kellemes íze és illata van. A meleg vagy utóprezéssel előállított olajat csak ipari célokra használják (RÁCZ et al., 1992; HÖRÖMPÖLI, 1995). THEN és munkatársai (1996) gyógyászati és kozmetikai felhasználásra egyaránt javasolják a szuperkritikus kivonással előállított olajat. A hexános extrakció előnyeként említik az oxidáció gátlásában fontos szerepet játszó tokoferol bőséges jelenlétét (THEN et al., 2000). Az ásványi anyagok és

vitaminok révén a mákolaj növeli a szellemi teljesítőképességet, illetve a vérrendszerünk egészséges fenntartásában is fontos szerepet játszik (BERNÁTH és NÉMETH, 2010). Az élelmiszeriparban ipari termékek, péksütemények díszítésére, vagy cukrászipari termékek töltőanyagának készítésére használják. CEVIK-DEMIRKAN et al. (2012) kutatásai szerint a mákmag olaja javíthatja az antioxidáns védelmet a patkányok hippocampuszában iszkémiás-reperfúziós agyi károsodás utáni állapotban. A kozmetikai ipar szappangyártáshoz, kozmetikai termékekbe használja fel. Emellett a kisajtott olaja festékipari termékek alapanyagául is szolgál gyors száradóképessége miatt (SZABÓ et al., 2006). A mag nem megfelelő tárolása azonban nagymértékben hozzájárul az avasodás elősegítéséhez (KOSÁRY és CSALÁRI, 1998). A mákolajgyártás melléktermékének számító olajpogácsa magas emészthető fehérjetartalma miatt kitűnő takarmány lehet (FÖLDESI, 1997).

2.1.3. Éghajlati és környezeti igénye, ökotípusai

A mák igen széles ökológiai tűrőképességű, jól alkalmazkodó faj. A trópusitól a kontinentális területekig, számos övben megtalálható (BERNÁTH, 1998a; NÉMETH, 2002). Magyarországon is mindenütt termesztendő (HORNOK, 1978; Unk és FÖLDESI, 1978), a tájak közti éghajlati különbségek a termesztetőségét alapvetően nem befolyásolják. Mégis legbiztonságosabban és legnagyobb hozamokkal a Dunántúlon, az ország hűvösebb, kedvezőbb csapadékeloszlású területein termesztendő (FÖLDESI, 2000).

A mák környezeti igénye fenofázisonként változik. Magja 2-3 °C-on csírázásnak indul a vetést követő 10-14. napon belül. Az optimális csírázáshoz azonban 7-10 °C szükséges (MÓRÁSZ, 1979). A mák tölevélrózsás állapotban a 12-14 °C-ot és a mérsékelt csapadékos időjárást kedveli (FÖLDESI, 2000; RÁCZ et al., 1992). A reproduktív szervek jó szerveződése akkor biztosított, ha a növény nagy és fejlett tölevélrózsát tud nevelni (FÖLDESI, 2000). Mindemellett a fejlett tölevélrózsa az őszi mákfajták áttelelésének is alapvető követelménye. Az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú fajták ebben a 4-6 leveles, törózsás állapotban képesek elviselni a téli fagyokat, és többnyire károsodás nélkül vészlik át a hideg időszakot (HORNOK, 1978). A mák szártag növekedési fázisában az intenzív fejlődéshez kedvező, 16-18 °C mellett mérsékelt vízellátás szükséges. Ekkor a leggyorsabb a növény víz- és tápanyagfelvétele. A virágzás időszakában azonban a száraz, meleg (18-20 °C) időjárás a legkedvezőbb (BERNÁTH és NÉMETH, 2010; SÁRKÁNY et al., 2001; HORNOK, 1978). A szirmhullástól a teljes toknagyság kifejlődéséig a csapadékosabb, meleg időjárás optimális, ezt követően, a tok és magérés szakaszban viszont ismét a meleg (20 °C feletti), száraz, csapadékmentes időjárás a kedvező (RÁCZ et al., 1992). Nagy mennyiségű csapadék esetén

számolni kell a gombás betegségek megjelenésével, illetve a tok hatóanyagainak kimosódásával (HOFMAN és MENARY, 1984; LAUGHLIN, 1985; THOMS, 1924).

Hazánkban és a környező országokban, elsősorban Ausztriában a máknak is mindkét ökotípusát, az őszi és a tavaszi is termesztik (RÁCZ et al., 1992; FÖLDESI, 1995; 2000). Magyarországon a termesztésük összesen körülbelül tízezer hektáron valósul meg évente (BERNÁTH és NÉMETH, 2010). A tavaszi ökotípusú mákfajták fagyérzékenyek, a tél során a növények károsodnak vagy éppen teljesen ki is fagyhatnak (FÖLDESI, 1995), ezért csak tavasszal érdemes elvetni. Ezzel ellentétben az őszi vetett, áttelelő termesztésre alkalmas fajták fagytoleránsak, tölevélrózsás állapotban jól bírják a téli fagyokat (JÁSZBERÉNYI et al., 2012a). Mindemellett a hosszabb vegetációs ciklusból következően legfőbb előnyük a tavasziakkal szemben, hogy 30-50 %-kal nagyobb a tok- és maghozamuk (FÖLDESI, 2001; SZABÓ et al., 2006). További kedvező tulajdonságai, hogy a kártevők, főképp a máktokbarkó, kevésbé károsítja, illetve a hosszabb tenyészideje (220-230 nap) ellenére, a tavaszi ökotípusú fajtákhoz képest egy hónappal hamarabb virágzik és érik be. Termesztése során előnyt jelent az is, hogy a vegyszeres preemergens gyomirtás el is hagyható (HORNOK, 1978). Ezek, továbbá a vetésre kritikus szélsőséges tavaszi időjárás miatt napjainkban fokozott figyelmet kap az őszi ökotípusú mákfajták termesztése hasonlóképpen, mint más növényfajok esetében (MUÑOZ-AMATRIAIN et al., 2010; LINK et al., 2010). Ugyanakkor a fajtaválasztékukat tekintve megállapítható, hogy az őszi fajtaspektrum mindössze hat fajtára korlátozódik ('Kozmosz', 'Leila', 'Zeno Plus', 'Zeno V56', 'Morvital', 'Morwin'), ellentétben a tavaszi fajtaszortimenttel, mely tizenhat alacsony és magas hatóanyag-tartalmú fajtaival is képviselteti magát (Nemzeti Fajtajegyzék, 2013). Bár az őszi fajták iránti kereslet a termelők részéről az utóbbi években markánsan nő, - hiszen a nagyobb hozam, korábbi értékesítési lehetőség pluszjövedelmet biztosíthat -, e fajtakörben a választék igen csekély. Így a mák nemesítésének további perspektivikus célja a hatóanyag-tartalmának módosításán túl, a hideg- és fagyűrő képességének fokozása.

Éppen ezért indokolt és aktuális, hogy a nemesítők nagyhozamú, fagyűrő és megfelelően alacsony (étkezési célra termelhető) vagy éppen magas (ipari felhasználásra alkalmas) hatóanyag-tartalmú mákfajták előállításával segítsék a termesztést.

2.2. A MÁK NEMESÍTÉSE

2.2.1. A mák termékenyülési jellemzői, nemesítésének irányai

A mák (*Papaver somniferum* L.) diploid faj, kromoszóma száma $2n=22$. Poliploidizálásával számos kutató foglalkozott, azonban bizonyítást nyert, hogy a növények

vitalitása, pollenfertilitása, maghozama alul maradt a diploidokétól (KISKÉRINÉ et al., 1977; BERNÁTH és NÉMETH, 2009). A mák fakultatív idegentermékenyülő növény, vagyis lehetőség van az idegenmegporzásra is, de a megtermékenyülés legtöbbször még a zárt bimbóban megtörténik, mivel a bimbó fogékonyvá válása és a pollen érése rendszerint megelőzi a virágok kinyílását (ZÁMBORINÉ, 2001; MILLER et al., 2005). Ennek ellenére a megbízható öntermékenyüléshez a bimbókat szigetelni kell a nemesítés során. GHIORGHITA et al. (1990) kutatásai szerint azonban a beltenyésztett növények tokmérete, magtömege és morfintartalma az öntermékenyítés hatására lecsökken.

Korábban a hazai máknemesítés célja a nagy termőképesség, a növényenkénti nagy tokszám, nagy és zárt tokok és a magas olajtartalom volt. Bár a termőképesség, mint elsődleges cél máig is megmaradt, a II. világháborút követően a gyógyszeripar fokozódó igénye miatt a morfintartalom növelése jelent meg további célkitűzésként (MÓRÁSZ, 1979). A gyógyászat fejlődésével, a későbbi évtizedek során már a speciális alkaloidok (narkotin, kodein, tebain) is ugyanúgy keresettek lettek. Később, az egyre fokozódó kábítószer célú visszaélések miatt Európában gyökeres változást teremtve, szükségessé vált, hogy a szélesebb termelői és fogyasztói rétegek számára is elérhető étkezési fajták alkaloidtartalma minél alacsonyabb legyen s ily módon a szaporítás minden szakaszában elkülönüljön az ipari fajtáktól (NÉMETH, 2000; MÓRÁSZ, 1979). Így vált a nemesítés másik párhuzamos irányává az alacsony hatóanyag-tartalmú (<0,01 %) fajták előállításra (NÉMETH et al., 2002). A mákmag beltartalmi összetevőinek módosítása, optimalizálása viszonylag ritkább törekvésnek számít. BAJPAI et al. (1999) munkájukban beszámolnak a mákmagot érintő tulajdonságok szelektív nemesítésének lehetőségeiről. Indiában az ópium széleskörű exportja miatt viszont töretlenül a magas morfin-, illetve latexhozam növelése említhető meg fő célként, illetve minden olyan közvetetten befolyásoló élettani vagy morfológiai tulajdonságra való nemesítés, amely kihat az ópiumhozam fokozására (LEVY és MILO, 1998; ZÁMBORINÉ, 2001; BERNÁTH és NÉMETH, 2009). A kórokozók elleni rezisztencia nemesítés nálunk nem igazán jelentős, azonban Indiában nagy károkat okoz a *Peronospora arborescens*, ami miatt a nemesítők is fokozott figyelmet fordítanak a betegség rezisztencia nemesítésre (DUBEY et al., 2009). Speciális céllal került előállításra hazánkban a fehér magvú, étkezési célú 'KP *Albakomp*' fajta, illetve a dísznövényként, impozáns tokjáról ismert, a virágkötészetben használatos 'Kék Óriás'. A nagy hozamok elérése erős szárszilárdságú, rezisztens fajtákkal lehetséges, továbbá nemesítési célként teret kap a fejlődési dinamika, ahol értékesebbek általában a késői érésű fajták.

Az utóbbi időben, főként a Közép-Európai térségben figyelhető meg, hogy az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú mákfajták termesztése újra az érdeklődés előterébe került, gazdasági jelentőségük és egyéb előnyös tulajdonságaik révén (BERNÁTH és NÉMETH, 2009).

2.2.2. Az őszi mák nemesítése, módszerei

A mák őszi vetésének lehetősége régóta foglalkoztatta az embereket hazánkban. Ez a kérdés legkorábban az elmúlt század elején vetődött fel. Az ősszel vetett tavaszi mák fokozott fagyérzékenységéből adódó kezdetleges kudarcokat követően, Legány Ödön 1943-as művében következtetésként vonta le, hogy a tavaszi mák is elvethető az őszi folyamán, de áttelelésének sikere a téli időjárás függvénye. A szakemberek viszont egyértelműen tudták, hogy az ősszel vetett mák egyik nagy előnye a tavaszival szemben, hogy magasabb hozamok érhetők el vele (FÖLDESI, 1995). Az őszi mák termesztése az enyhébb telű Bulgáriában terjedt el igazán, a fagytoleránsabb bolgár fajták, többek között a P-360-as és az Sz 11-es vetésével (UNK és FÖLDESI, 1978). Pár évvel később, az 50-es évek elején, Unk János ezen genotípusokat bevonva kezdte meg hazánkban az őszi mák kísérleteit (FÖLDESI, 1995). Ezek a fajták nálunk is jól bírták a fagyos teleket, viszont hátrányukként említhető, hogy morfintartalmuk 0,2-0,3 % volt (UNK és FÖLDESI, 1978). Először az őszi mák csupán az ország néhány délebbi fekvésű körzetében (Hódmezővásárhely, Tótkomlós, Makó) terjedt el egy olyan genotípussal, mely valószínűsíthetően a behozott bolgár fajta meghonosodott utóda volt (HORNOK, 1978). Mivel évről évre eredményesnek bizonyult az áttelelése, nemcsak az ország déli fekvésű területein, hanem a középső, északi részén is (Kompolton és Budakalászon), a fokozódó érdeklődésre való tekintettel, az 1970-es években Lőrincz Gyuláné vezetésével megindult az őszi mák nemesítése a Gyógynövény Kutató Intézetben. Ezen törekvéseknek köszönhetően született meg 1983-ban, hazánkban az első, őszi-tavaszi vegetációs ciklusú mákfajta, amely a 'Kozmosz' nevet kapta (FÖLDESI, 2005).

A mák nemesítésében a legrégebben és legtöbbször alkalmazott módszer, mely sokak számára elavultnak tűnt (KISKÉRINÉ et al., 1977), a szelekció. Hatékonyságát a kiinduló populáció variabilitása határozza meg. Eredendően, hogy a mák egy igen széles körben elterjedt, nagyfokú alkalmazkodó képességgel rendelkező faj, még napjainkban is találunk kellő variabilitással rendelkező populációkat a kiválogatáshoz (ZÁMBORINÉ, 2001). Azonban fontos megemlíteni, hogy a hatékonyság indukált szelekciós nyomással is növelhető, amint arról számos publikáció tanúskodik (BERNÁTH és TÉTÉNYI, 1981; BERNÁTH, 1986; BERNÁTH és TÉTÉNYI, 1979; DACHLER, 1990; BERNÁTH, 2002). A tömegszelekció a legősibb fajtajavító eljárások közé tartozik, melynek helyét mára már -a fokozódó gazdasági és piaci igények miatt- átvette egy szigorúbb válogatást követelő módszer, az egyedszelekció. Ebben az

esetben az egyedek kiválogatása úgy történik, hogy a tenyészidőszak folyamán számos fontos tulajdonságot alapul véve felméri a populációt, és a nemesítési célnak leginkább megfelelőt szelektálják ki, amit később tovább szaporítanak. Az öntermékenyítés során a szigetelés az allogámia eshetősége miatt kulcsfontosságú (BERNÁTH és NÉMETH, 2009). A szelekció, mint módszer eredményességét jelzi, hogy a 2013-as évi Nemzeti Fajtajegyzékben hivatalosan regisztrált, több őszi fajta is ezen eljárás alkalmazásával született ('Kozmosz', 'Leila', 'Zeno Plus', 'Zeno V56'). Hazánkban az első őszi-tavaszi vegetációs ciklusú, áttelelésre alkalmas fajtát, a 'Kozmosz'-t, hibridpopulációból, egyedkiválasztással és családtenyésztéssel szelektálták ki (FÖLDESI, 1995). Dobos Georg Ausztriában, 2002-ben nemesítette tájfajták szelekciójával a nagy, 1450 kg/ha maghozamú 'Zeno Wintermohn' nevű őszi mákfajtát, amelynek produkciója messze felülmúlja a hagyományos fajtákét (ZÁMBORINÉ, 2001; BERNÁTH és NÉMETH, 2009). Ebből a genotípusból, további kiválogatás eredményeként született a 'Zeno Plus' és a 'Zeno V56'. Hazánkban a 'Leila' fajtát a Gyógy- és Aromanövények Tanszéken folyó mákkutatás keretein belül Zámbooriné Németh Éva és Bernáth Jenő hozták létre, a tápiószeli génbankból származó, több mint 30 őszi ökotípusú mákpopuláció szelektálásával (NÉMETH és BERNÁTH, 2009; PETHEŐ et al., 2002). Több hazai, tavaszi mákfajta is egyedszelekció eredményeként jött létre ('Kék Gemoná', 'Monaco'), szintén a Budapesti Corvinus Egyetem égisze alatt.

A máknemesítés másik számottevő és elterjedt módszere a kombinációs nemesítés, ami inter- és intraspecifikusan szinten is eredményes lehet (ZÁMBORINÉ, 2001). Az eljárás lényege, hogy az anyanövények öntermékenyítést megelőző kasztrálása után, a pollenadó fajta pollenkeverékével történik a megtermékenyítés, melyet a növények szigetelése követ, az idegenmegporzás megakadályozása céljából. A keresztezésből származó további nemzedékeket öntermékenyítéssel hozzák létre, melyet hasonlóképpen egyedi izolációval biztosítanak, és egyedkiválogatással szelektálnak tovább (MÓRÁSZ, 1979). A Pedigree módszer alkalmazása a tulajdonságok kombinálásában és fixálásában jelentős (LEVY és MILO, 1988). A keresztezéses nemesítés eredménye hazánkban többek között az 'Ametiszt' (NÉMETH és BERNÁTH, 2009) és a 'Korona' fajták (NÉMETH et al., 2009a).

A mák poliploidizálásának lehetőségét és előnyeit számosan kutatták, feltételezve, hogy a nagyobb kromoszómaszám a beltartalmi anyagok emelkedett szintjével párosul. Néhány esetben ez a technika sikeresnek bizonyult, de hazánkban az eredmények nem váltották be a hozzájuk fűzött reményeket (KISKÉRINÉ et al., 1977). A mutációs nemesítést kémiai mutagénekkel vagy besugárással érik el (SHARMA et al., 1999; PRAJAPATI et al., 2001), amely Magyarországon ugyancsak nem elterjedt eljárás a máknemesítésben. A géntranszformáció alapvetően a nagy gyógyszerészeti konszernek kutatólaboratóriumaiiban

fordul elő (FRICK et al., 2004; CHITTY et al., 2003), és eddig tényleges gyakorlati eredménye nem ismeretes (ZÁMBORINÉ, 2001).

2.2.3. Fajtahasználat

A máknak jelenleg hazánkban huszonnégy államilag elismert fajtája van (Nemzeti Fajtajegyzék, 2013). Ezeket a fajtákat főként ökotípus és hatóanyag-tartalom szerint csoportosíthatjuk. A termesztési és felhasználási lehetőségeket a fajtákban felhalmozódó alkaloidtartalom határozza meg. Ez alapján elkülöníthetjük az ipari, vagyis magas-, illetve az étkezési, azaz alacsony hatóanyag-tartalmú fajtákat. Ipari máknak minősül az a mákfajta, melynek a légszáraz állapotú, kifejlett máktokjában felhalmozódó összes hatóanyag koncentráció átlagosan 0,7 % feletti. Ezzel ellentétben az étkezési mákfajták tokjában lévő alkaloidtartalom 0,7 % vagy az alatti (62/2010. III. 18. számú rendelet).

Hazánkban a tavaszi ökotípusú, ipari mákfajták közül az Alkaloida Vegyészeti Gyár Zrt. (az ipari fajták termeltetésére hazánkban kizárólag e gyár jogosult) a '*Botond*' és a '*Tebona*' fajtákat termelteti. A '*Botond*' (2006) magas morfintartalmú (2,5 %), erős növekedésű, hosszú tenyészidejű fajta. Sziromlevele fehér, alapján telt, lila sziromfolttal, tokja nagy, hengeres. A legkésőbbi fajta, érése július közepe-végére tehető. Legnagyobb területen termesztett ipari célú mákfajta. A '*Tebona*' (2000) magas morfin- (0,7-1,0 %), kodein- (0,4-0,6 %) és tebaintartalmú (0,3-0,6 %) fajta. Jó szárszilárdságú, 80-110 cm magas. Sziromlevele fehér, alapján telt, lila sziromfolttal. A '*Botond*' fajtánál 10-14 nappal korábban érik be (ANONYMUS, 2011). Ismert tavaszi vetésű, ipari mákfajták ezen kívül a '*Kék Gemoná*', a '*Minoán*', a '*Medea*', a '*Monaco*' és a '*Korona*'. A '*Kék Gemoná*' (1995) kiemelkedően magas összes alkaloidtartalommal (2,5 % feletti) bír, fő alkaloidja a narkotin (1,2-1,4 %), melyen kívül a morfin és kodein felhalmozódási szintje is jelentős. Közepes tenyészidejű és növekedésű. Sziromlevele fehér, alapján telt, lila sziromfolttal. Gömb alakú tokja erősen viaszos, magja sötétkék színű. Betegségekkel szemben megfelelően ellenálló (FÖLDESI, 2000; BERNÁTH és NÉMETH, 2010). A '*Minoán*' (2005) fajta morfintartalma kiemelkedő, kedvező körülmények között a 2,5 %-os felhalmozódási szintet is eléri. Rövid tenyészidejű, alacsony növekedésű, a tok alatti szára jellegzetesen, erősen szőrözött. Sziromlevele fehér, lila színű alapi sziromfolttal. Ovális tokjában szürkés-kék magok fejlődnek. A '*Medea*' (2005) gömbölyded, körte alakú tokjában a morfintartalom 1,6-1,8 %, míg tebaintartalma 0,6-0,8 % körüli. Középmagas, középhosszú tenyészidejű, jó szárszilárdságú fajta, melynek sziromlevele fehér színű, lila alapi sziromfolttal. A magja szürkés-kék színű. A '*Monaco*' (1998) magas kodein tartalmú (0,5-0,6 %) mákfajta, mely középkorai érésű, alacsony növekedésű, magja sötétkék színű. A hagyományos fajtáknál rövidebb tenyészidejű, bőtermő,

betegségekkel szemben ellenálló. A 'Korona' (2008) fajtának tokja nagy mennyiségben halmoz fel narkotint (2,0 %). Erőteljes a növekedése, közép magas, hosszú tenyészidejű. Sziromlevele fehér, alapján telt, lila sziromfolttal. Nagy, körte alakú tokja kék színű magokat rejt (BERNÁTH és NÉMETH, 2010). Terméshozama nagy, betegségeknek ellenálló fajta. Szintén tavaszi ökotípusú fajta a 'Kék Duna' (1973), amely a legrégebben termesztett, de még ma is népszerű hazai étkezési fajta. A nemesítés során a *Papaver somniferum* és a *Papaver orientale* szülőfajok keresztezésének eredményeképpen jött létre (LÓRINCZNÉ és TÉTÉNYI, 1970). Jó magtermő képességű, sziromlevele fehér, lila alapi folttal. Magja élénk kék színű. További alacsony hatóanyag-tartalmú, étkezési céllal termesztett tavaszi fajta a 'KP Albakomp' (1998), amelynek sziromszíne rózsaszín, közepesen viaszos, lapított toktermésében található magvak jellegzetesen világos drapp színűek. Fehérmagvú fajtaként is említik (FÖLDESI, 2000). Az 'Ametiszt' (2003) a hazai és az európai élelmiszercélú máktermesztésben is egyedülálló fajta. Hosszú tenyészidejű, erőteljes növekedésű. Sziromlevele jellegzetes, pirosas-rózsaszínű. Tokja nagy, körte alakú, magja szürkés-kék (NÉMETH és BERNÁTH, 2003).

Az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú, áttelelő fajták kis számban képviseltetik magukat. A 'Kozmosz' (1983) sziromlevele halványlila színű, lila lapi folttal. Gömb alakú magjában kékeszürke színű magok fejlődnek. Jó termőképességű, tekintve, hogy őszi ökotípusú fajta. A tavaszi fajtákhoz képest 40-60 %-kal magasabb a tok- és a maghozama. Habár étkezési célú fajta, de közepes hatóanyag-tartalma (0,4-0,7 %) miatt, nem felel meg igazán sem a magas sem az alacsony fajtákkal szemben támasztott szigorú kritériumoknak (BERNÁTH és NÉMETH, 2010). Az étkezési fajtaként ismert 'Zeno' (2002) Ausztriában nemesített, őszi ökotípusú fajta. Magas növekedés jellemzi. Virágszíne sötétlila, majdnem fekete alapi sziromfolttal. Porzószállai antociánosak. A körte alakú tokjában lévő magok sötétkék színűek. Ezen kívül ismert étkezési mákfajták még a lengyel 'Przemko', illetve az indiai 'Sujata' fajták.

Az őszi fajtákra tehát jellemző a hosszabb (250-270 nap) tenyészidő, és a hosszabb vegetatív fejlődési időszak következtében nagyobb és biztonságosabb hozam (FÖLDESI, 2000). Ezek a jellemzők azonban alapvetően nem a genetikai potenciált tükrözik, hanem éppen az áttelelő technológia folytán nyilvánulnak meg. Így elsődlegesen fontos, megkülönböztető tulajdonságként a tavaszi és őszi vetésű fajták között mindenképp az utóbbiak nagyobb fagytoleranciáját tekinthetjük, ami indokolja, hogy ennek fiziológiai hátterét, marker bélyegeit jobban megismerjük.

2.2.4. A mák tulajdonságainak öröklődése

Gyógynövényfajaink közül elsőként a mákra dolgozták ki az UPOV DUS fajtavizsgálati metodikát. A magyar máktermesztés és nemesítés jelentőségét mutatja, hogy ebben alapvetően magyar szakemberek működtek közre (KÖCK et al., 2001), valamint, hogy a mák fajtaértékelésben a hazai NÉBIH a kijelölt illetékes európai hatóság. Mint ismeretes, e fajtaértékelési rendszer azokat a legfontosabb tulajdonságokat tartalmazza, amelyek alapján az ismert intraspecifikus taxonok a leggyakrabban és legmarkánsabban különböznek, és amelyek feltehetően stabil, genetikailag rögzített tulajdonságok. A mák esetében a DUS szempontrendszer 37 tulajdonság különböző fokozatait tartalmazza, ezek közül 33 külső (morfológiai, élettani, fenológiai) és 4 belső (hatóanyagra vonatkozó) tulajdonság (ZÁMBORINÉ, 2001).

A tulajdonságok variabilitásának, öröklődésének, a fenotípusos megjelenésük törvényszerűségeinek ismerete nagyban lerövidítheti a nemesítői munkát, segítheti a fajtafenntartást. A mák kémiai tulajdonságainak, alkaloidjainak öröklődése évtizedek óta kutatott téma, amit keresztezésekkel, diallél tesztekkel, és a ma egyre fontosabbá váló molekuláris genetikai módszerekkel vizsgálják (DÁNOS, 1965; FACCHINI et al., 2007; KRENN et al., 1998; BHANDARI, 1989). Ezzel szemben a mák egyéb tulajdonságaira vonatkozóan igen kevés a tudományosan elemzett adat. A morfo-fenológiai sajátosságok variabilitásának leírása, értékelése publikációkban nagyon ritkán jelenik meg, ahogyan a mák téltűrésében szerepet játszó biokémiai, élettani ismeretek is rendkívül sporadikusak. Ez utóbbi témakörben idáig csak nagyon kevés -zömében saját- tudományos publikáció született (DOBOS et al., 2011; JÁSZBERÉNYI et al., 2012a; JÁSZBERÉNYI és NÉMETH, 2012). A téltűrésre vonatkozó tudományos adatok lényegében nem találhatóak a szakirodalomban.

A gazdaság igényeinek kielégítésére irányuló új genotípusok előállításában azonban igen hosszadalmas folyamat. A nemesítői munka könnyítése és felgyorsítása érdekében az adott faj, jelen esetben a mák téltűrésében meghatározó élettani, biokémiai és genetikai védőmechanizmus tisztázása, illetve különböző markerbélyegek ismerete nagymértékben lerövidíthetné a nemesítés folyamatát.

2.3. FAGYTOLERANCIA, A TÉLTŰRÉST MEGHATÁROZÓ TÉNYEZŐK

Az alacsony hőmérséklet nemcsak a természetes növénytársulások elterjedésének egyik meghatározója, hanem a mezőgazdasági növények termeszthetőségét is nagymértékben limitálja (SZALAI, 2006; SZIGETI, 2007; HEINO és PALVA, 2003). Bizonyos intervallumok

között a növények azonban habitusukkal, organelumaikkal, valamint anyagcsere-folyamataikkal képesek alkalmazkodni a megváltozott kedvezőtlen feltételekhez, amennyiben rezisztencia-potenciáljuk ezt lehetővé teszik, sőt, ezáltal edzettebbé is válhatnak. Az akklimatizáció mechanizmusát a gabonákban tárták fel eddig legrészletesebben. Megállapították, hogy ezt a rendkívül komplex folyamatot transzkripciós faktorok által stimulált gének expressziója irányítja, mely proteinek és egyéb metabolitok produkcióját indukálja, amely végső soron a sejt struktúráját védi a fagytól és a dehidratációtól (HEINO és PALVA, 2003).

A fagyűrő növények csoportjába azon növényfajok tartoznak, melyek a fagyponthoz alatti hőmérséklet károsító hatását is elviselik rövidebb vagy hosszabb távon, szemben a hidegszenzitív és hidegtűrő növényekkel. Bár e tulajdonság genetikailag determinált, az ellenálló képesség mégis csak megfelelő feltételek mellett jut fenotípusosan érvényre (PETHŐ, 1993). Az évelő és áttelelő növények életében tehát fontos szerephez jut az ontogenetikai hőadaptáció. Az őszi mákhoz hasonlóan az őszi gabonafélék (búza, árpa, rozs) is a télre való felkészülés során, a hőmérséklet és a fényintenzitás fokozatos csökkenésével, edzéssel érik el a genetikailag kódolt fagyűrésük maximumát (PETHŐ, 1998), mely a fagyűrő genotípusokban hamarabb és magasabb hőfokon indul meg. Búza esetében az őszi vagy tavaszi jellege a vernalizációra való érzékenységgel is összefüggésben áll (GALIBA et al., 2009).

Az edzettség azonban nemcsak a hőmérséklet csökkenésével, hanem egyéb tényezők módosításával is kiváltható. A rövidnappalos körülmény például hosszú hullámhosszú vörös megvilágítással párosulva *Populus tremula*, *Pinus sylvestris* és *Triticum aestivum* fajok fagytoleranciájának jelentős emelkedését idézte elő (ZHANG et al., 2007; BECK et al., 2004; LIMIN és FOWLER, 2006). STAVANG és munkatársai (2008) vizsgálatai alapján azonban a nappali, rövid időtartamú hőmérséklet csökkenések nem fokozzák a hidegtoleranciát *Arabidopsis thaliana*, *Pisum sativum* és *Brassica oleracea* var. *capitata* var. *alba* esetében. HINCHA (1994) sókezelés hatására spenótban (*Spinacia oleracea*) emelkedett fagytoleranciáról számolt be, BURBULIS et al. (2008) pedig a táptalajba adagolt exogén szacharóz fagyűrést fokozó hatásáról közölt adatokat. Az abszcizinsavas kiegészítő kezelés fagyvédelemben betöltött szerepe is bizonyított (ABROMEIT et al., 1992). Speciálisabbnak tekinthető az arbuskuláris mikorrhiza kapcsolat toleranciát fokozó tulajdonsága, amit kukorica és a *Glomus etunicatum* nevű gomba esetében mutattak ki (ZHU et al., 2009).

A növény optimális fejlettségi fázisa kardinális jelentőségű a fagyűrés kialakulásában. ANDERGASSEN és BAUER (2002) vizsgálatai szerint a juvenilis fázisban lévő borostyán (*Hedera helix* L.) levél alacsonyabb fagyűréssel bír az idősebbnél, bár a gyorsabb

regenerálódás mégis hozzásegíti a túléléshez. Generatív fázisban a növény sokkal érzékenyebb az öt erő hőmérsékleti változásra, mint vegetatív fázisban (JACOBSEN et al., 2005). Búzában meghatározó szerepe van a vernalizációs igényt döntően meghatározó *vrn1* génnek, mely biztosítja, hogy a növény vegetatív fázisban maradjon a tél folyamán. A fényperiódus hosszabbodásával, tavasszal aktiválódik a gén, és megtörténik a hajtáscsúcs generatív átalakulása (GALIBA et al., 2009). Az egyedfejlődés során a növények szövettani és morfológiai változásai révén is felkészíthetik magukat a kedvezőtlen körülmények elviselésére.

A védelmi rendszert kialakító mechanizmus kulcsfontosságú pontja sok esetben az ozmoprotektánsok felhalmozódása a sejtekben. Számos növényfajban a biokémiai és fiziológiai folyamatok eredményeképpen fokozott hidegtűrés figyelhető meg (PALVA et al., 2001; SYSOEVA et al., 1999, 2005; RÜTTEN and SANTARIUS, 1992; LINK et al., 2010; BRAVO et al., 1998). JANDA et al. (2003) gabonaféléken végzett vizsgálatai felhívják a figyelmet az antioxidáns enzimek aktivitásának fagytürést befolyásoló hatására és ennek jelentőségére. A kísérletek tanúsága szerint az antioxidáns enzimek mennyiségi változását egyes szignálként szolgáló vegyületek is előidézhetik, mint például a hidroponikus közegbe jutott szalicilsav (JANDA et al., 1999).

A növények sikeres áttelelését természetesen a külső környezeti faktorok is alapvetően determinálják. A téli periódus során a hőingás, vagyis a lehülési és felmelegedési ciklusok szerepe jelentős. Lassú lehülés esetén az intercellulárisokban képződnek a jégkristályok, ami kevésbé okoz károsodást a sejtekben (SZALAI, 1974; HARASZTY, 1998). Égővünkön a hótakaró jelenléte ugyancsak fontos szerepet tölt be a növény védelmében (PETHŐ, 1993; HARASZTY, 1998; FINETTO, 2008).

2.3.1. Morfológiai, szövettani, szaporodásbiológiai jellemzők

Jól ismert tény, hogy az alacsony hőmérsékleten nevelkedett növényekben fiziológiai és morfológiai változások mennek végbe (BOESE és HUNER, 1990). SVENNING et al. (1997) a fagyérzékeny fehér here (*Trifolium repens*) esetében vékonyabb szárat, hosszabb ízközt és nagyobb leveleket figyelt meg, szemben a rezisztens növényekénél. Az őszi ökotípusú, alacsony hőmérsékletnek kitett *Triticum aestivum* EQUIZA et al. (2001) szerint viszonylag kisebb gyökérrendszerrel, alacsonyabb sztóma frekvenciával és nagyobb epidermisz sejtfal vastagsággal bír, mint a tavaszi ökotípusú fajta. Lednek (*Lathyrus ochrus*) esetén a cukortartalom mellett a gyökér-szár arányból következtetni lehet a hidegtűrő képességre (RATINAM et al., 1994). STEFANOWSKA et al. (1999, 2002) ugyancsak változást észlelt a hideg

akklimatizáció során az őszi ökotípusú *Brassica napus* mezofillum sejtjeinek méretében, illetve a levél sejtjeinek falvastagságában. GRIFFITH et al. (1985) őszi rozs (*Secale cereale*) levelében alacsony hőmérsékleti kezelés hatására nagyobb epidermisz sejteket és vastagabb kutikula réteget tapasztalt. GIANOLI et al. (2004) kutatásai során bizonyította, hogy a markánsan különböző területről gyűjtött, kétféle populációból származó felemásvirágú szegfű (*Colobanthus quitensis*) növények különbözőséget mutatnak mind morfológia tulajdonságaikat, mind hideg rezisztenciájukat tekintve. A kevésbé fagyűrő populációból származó növény hosszabb és keskenyebb levelekkel rendelkezik, mint a fagytoleránsabb. Ezért annak ellenére, hogy genetikailag egyezést mutatnak, a gyakorlatban különböző ökotípusba különíthetőek el.

A mák hidegstresszhez való alkalmazkodásának szövettani háttere alig ismert, csupán a rokon fajokra vonatkozó adatokat találunk. DAI et al. (2004) a *Papaver croceum* levelének fő anatómiai és felszíni tulajdonságainak analizálásával megállapította, hogy az eltérő tengerszint feletti magasságban élő (3600 és 2500 m), hideg körülményekhez szokott egyedek levelei különböző vastagságúak, eltérőek az epidermisz sejtjeik alakja, a sztómáik mérete, valamint azok sűrűsége. A vad mák fajok morfológiai és anatómiai variabilitását vizsgálta RAHMATPOUR et al. (2010), amelynek eredményeképp megállapította, hogy az epidermisz és kutikula-vastagságukat tekintve szignifikáns különbségek mutathatók ki.

A *Papaver somniferum* ökotípusainak (őszi és tavaszi) szövettani sajátosságai gyakorlatilag egyáltalán nem ismertek. Az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú mákfajták morfológiailag is adaptálódott genotípusok, melyekben a levelek szürkés színe, tőlevelek vízszintesen elfekvő habitusa, pártájuk lila színe, valamint rövidebb vegetációs ciklusuk akár markerként is szolgálhat (DOBOS, Szóbeli közlés 2010). Ugyanakkor nyilvánvaló, hogy ezen tulajdonságoknak a mák fagyűrésében betöltött tényleges szerepe korántsem bizonyított.

Dobos és Bernáth (1985) vizsgálatai szintén az adaptáció tényét támasztják alá, miszerint az eltérő ökotípusú mákfajták csírázásának hőmérséklet-tartományában differenciálódás tapasztalható. Eredményeik szerint a tavaszi és az őszi fajták csírázásában a hőmérsékleti optimum markánsan szétválik, ugyanis a tavaszi ökotípust képviselő fajták csírázása az alacsonyabb hőmérsékleti tartományba tolódik, szemben az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú fajtákkal, amelyeknél a 30-35 °C sem fejt ki gátló hatást. Ez a magasabb hőmérsékleti optimum ökológiai előnyként magyarázható, hiszen lehetővé válik, hogy a korai őszi vetéstől kezdődően 5-7 lomblevelés, fokozott fagyűréssel rendelkező növények fejlődhessenek ki.

A mák magjának beltartalmi értékeivel szerte a világon, számos kutatócsoport foglalkozott. FÖLDESI (1997) szerint a mák magjából átlagosan 30-50 % zsírosolaj nyerhető

ki, fajtára jellemzően. Pakisztánban és Indiában közel hasonló olajtartalmat (47-53 % és 40,6-49,1 %) mértek a kutatók (RAIE, 1985; SINGH et al., 1990). Törökországban ennél alacsonyabb értékeket (32,43-45,52 %) jegyezték fel hét mákfajta vizsgálata során (ÖZCAN és ATALAY, 2006). BAJPAI et al. (1999) a magok olajtartalmának vonatkozásában 26 és 52 % közötti adatokat regisztrált.

BAJPAI és munkatársai (1999) pozitív korrelációt állapítottak meg a maghozam és az olajtartalom között, amit SETHI et al. (1990) és SINGH et al. (1995) kutatásai is alátámasztottak.

Több ízben sikerült összefüggést találni a mag színe és olajtartalma között. EKLUND és ARGEN (1975) magasabb zsírosolajat mutatott ki a fehér magvú fajták esetében (40 %), mint a kékmagvúakban (33 %). Hasonló eredmény született egy törökországi vizsgálat során, melyben a fehér magvú fajták szintén magasabb olajtartalommal (36,8 %) képviseltették magukat, szemben a kék magvúakkal (33,6 %) (AZCAN et al., 2004). Az irodalomban nem találtunk azonban közlést a hidegtűrő képesség és a magolaj tartalom kapcsolatáról a fagytoleráns, illetve érzékeny fajták összehasonlításáról ilyen szempontból.

2.3.2. Biokémiai, élettani védőmechanizmusok

A fagy károsító hatásának elsődleges célpontjai a sejtmembránok (UEMURA et al., 2006; PETHŐ, 1998). Fagy hatására szemipermeabilitásuk megszűnik, az aktív iontranszportáló képességüket elveszítik, a foszfolipidek degradálódnak, a membránfehérjék eloszlásai megváltoznak és fázisátmenet történik (SZALAI, 2007). Fagyűrő növények esetében azonban a foszfolipid/szteroid részaránya növekedik, vagyis a foszfolipidek mennyiségének és a telítetlen zsírsavak arányának emelkedése figyelhető meg, amelynek eredményeként csökken a membránok fázisváltozását előidéző hőmérséklet (PETHŐ, 1993, 1998; MURELLI et al., 1995).

A sejten belüli jégkristályok képződése azonban sokszor ennél is nagyobb veszélyt jelenthet, azáltal, hogy mechanikai károsodást idéz elő a sejtekben és a szövetekben. A fagy eltűrésének egyik mechanizmusa, ha a jégképződés nem intra-, hanem extracellulárisan, az apoplastban jelentkezik (SZIGETI, 2007; PETHŐ, 1998). Az extracelluláris jégképződés a sejten kívüli vízpotenciált csökkenti, mely a szimplasztból való víz kiáramlásához, a sejt dehidratációjához (HEINO és PALVA, 2003), és a sejtnedv koncentrációjához vezet. A fagypon alatti hőmérséklet elviselésének másik módja a lágyszárú növények esetében, a kikerülés egyik mechanizmusa, a túlhűlés (SZIGETI, 2007). Ebben az esetben a citoplazma fagyáspontjának csökkenése a sejten lévő oldott anyagok (oldható cukrok, szerves savak,

poliamonok, prolin) akkumulációja révén érhető el (KAZUO és KAZUKO, 1996; TAKAGI, 2008; SMIRNOFF, 1998; DELAUNEY és VERMA, 1993). A cukroknak, főként a szacharóznak nagy szerepe van a membránok fagykárosodásának csökkentésében, illetve az aminosavakkal együtt a membránok periferiális fehérjéinek disszociációját is mérséklük (PETHŐ, 1998). A prolin felhalmozódását elsőként hervadt növényekben, KEMBLE és MACPHERSON 1954-es munkájuk során mutatták ki rozs növényben. Azóta a felhalmozódását különböző stressztípusokra adott válaszként sokan dokumentálták, így például alacsony hőmérséklet, tápanyaghiány, nehézfém szennyezettség, magas savtartalom hatására. A prolin a legszélesebb körben elterjedt ozmolitikum, mely stressz feltételek hatására halmozódik fel nem csak növényekben, hanem baktériumban, protozoában, tengeri gerinctelen állatokban és algákban is (DELAUNEY és VERMA, 1993). Az ozmoprotektáns anyagok bioszintézisét különböző szignáltranszdukciós útvonalakon keresztül, komplex genetikai mechanizmus irányítja (MAHAJAN és TUTEJA, 2005; YADAV, 2011).

Számosan kutatták már a növények biokémiai válaszreakcióit az alacsony hőmérséklet, illetve a fagystressz hatására (*l. táblázat*). Az oldható cukrok mennyisége és a prolin koncentrációja változást mutat a növényfajokban hideg vagy fagy hatásának eredményeként. Bizonyítást nyert, hogy a krioprotektáns anyagok a hideg akklimatizáció során mennyiségi változáson mennek keresztül, és stressz hatására emelkedett szintet jeleznek (BURBULIS et al., 2011; KLOTKE et al., 2004; CASTONGUAY et al., 2011), ahogyan az Néhány esetben azonban ettől eltérő tendencia mutatkozik (BANDURSKA et al., 2009; JAIN et al., 2007). Számos növényfaj esetében a fagytolerancia és az oldható cukrok mennyisége között szoros összefüggés áll fenn (BOURION et al., 2003; JACOBSEN et al., 2005, ZHANG et al., 2006; SHAHBA et al., 2003; JÁSZBERÉNYI et al., 2012a), feltételezhetően azért, mert közvetlen kapcsolatban állnak a fotoszintézissel, a transzlokációval és a légzéssel (VÁGÚJFALVI et al., 1999; KING et al., 1988). KING et al. (1988) megfigyelte, hogy a fénynek kitett paradicsom (*Lycopersicon esculentum*) az erőteljesebb cukorképzés következtében ellenállóbb, mint sötétben, hiszen a növény szénhidrát készlete is csökken fénymentes periódusban. A cukrok közül egyes esetben elsősorban a szacharóznak (PALONEN et al., 2000), más esetben a trehalóznak (MOLLO et al., 2011), vagy éppen az oligoszacharidoknak, köztük a raffinóznak (PETER és KELLER, 2009) tulajdonítják a fagyvédő szerepet. A cukrok átalakulásával összefüggésben, kísérletekben igazolt, hogy a magas keményítő-tartalom hátrányosan befolyásolja a fagyűrést (PATTON et al., 2007; PALONEN et al., 2000; CAI et al., 2004; MOLLO et al., 2011). BANDURSKA et al. (2009) tapasztalatai alapján, a prolintartalom és a membrán károsodását mérő index között negatív korreláció mutatható ki, amely szintén jelzi a prolin krioprotektánsként betöltött szerepét. A prolintartalom és a fagytolerancia közti pozitív

korreláció (CAI et al., 2004; PATTON et al., 2007; BURBULIS et al., 2011) azonban néhány esetben vitatott. JACOBSEN et al. (2005) kísérletének tanúsága szerint, habár a prolintartalom emelkedésnek indult a fagyhatásnak kitett, fagytoleráns és érzékenyebb quinoa (*Chenopodium quinoa*) fajták esetében is. Mivel az utóbbiban detektáltak emelkedettebb szintet, így szoros kapcsolatot nem tudtak kimutatni a fagyűrés és a prolintartalom között. Fás növények esetében GLEESON et al. (2004) eredményei ugyanakkor felvetik a prolin túltermeléssel elérhető magasabb fagytolerancia lehetőségét.

1. táblázat: Ozmoprotektáns anyagok alacsony hőmérsékletre vagy fagyhatásra bekövetkező változásai növényekben

Növényfajok	Ozmoprotektánsok változása hideg vagy fagystressz esetén		Referenciák
	oldható cukrok	prolin	
<i>Alcantarea imperialis</i>	↑	-	Mollo et al. (2011)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	↑	↑	Klotke et al. (2004); Wanner és Juntilla (1999)
<i>Brassica napus</i>	↑	↑	Burbulis et al. (2011)
<i>Chenopodium quinoa</i>	↑	↑	Jacobsen et al. (2005)
<i>Citrus sinensis</i>	↑	-	Yelenosky és Guy (1989)
<i>Colobanthus quitensis</i>	↑	-	Gianoli et al. (2004)
<i>Cucumis melo</i>	↑	-	Mitchell és Madore (1992)
<i>Cynodon dactylon</i>	↑	↑	Zhang et al. (2006)
<i>Eremochloa ophiuroides</i>	↑	↑	Cai et al. (2004)
<i>Hedera helix</i>	↓	↑	Bandurska et al. (2009)
<i>Malus pumila</i>	↑	↑	Pasquali et al. (2008)
<i>Medicago sativa</i>	↑	↑	Castonguay et al. (2011)
<i>Olea europea</i>	↑	-	Rejšková et al. (2007)
<i>Papaver somniferum</i>	↑	↑	Jászberényi et al. (2012a), Jászberényi és Németh, (2011b)
<i>Pisum sativum</i>	↑	-	Bourion et al. (2003)
<i>Prasiola crispa</i>	-	↑	Jackson és Seppelt (1995)
<i>Prunus laurocerasus</i>	↑	↑	Bandurska et al. (2009)
<i>Rubus idaeus</i>	↑	-	Palonen et al. (2000)
<i>Saccharum spp. hybrid</i>	↓	↑	Jain et al. (2007)
<i>Spinacia oleracea</i>	↑	-	Guy et al. (1992)
<i>Triticum sativum</i>	↑	↑	Dörffling et al. (2009)
<i>Triticum aestivum</i>	↑	-	Vágújfalvi et al. (1999); Yoshida et al. (1998)
	↑	↑	Naghavi et al. (2010) Kamata és Uemura (2004)
	-	↑	Naidu et al. (1991)
<i>Vitis vinifera</i>	↑	-	Lin et al. (2004)
<i>Zoysia spp.</i>	↑	↑	Patton et al. (2007)
<i>Trifolium repens</i>	↑	↑	Svenning et al. (1997)

↑: emelkedés, ↓: csökkenés; -: nem vizsgált paraméter

Nemcsak az egyes fajok fagyűrése, de a fajon belül az egyes fajták fagyérzékenysége is különböző lehet (HARASZTY, 1998; MURELLI et al., 1995; JÁSZBERÉNYI et al., 2012a). A szezonális hőadaptációs képesség genetikailag determinált, egy adott fajta fagyűrése a télre készülés időszakának környezeti feltételeitől függően is jelentősen változik. Mindezt befolyásolja a vetés ideje, mélysége, a talaj víz- és tápanyag-ellátottsága. VEISZ et al. (1996) búzán végzett kísérlet eredményeképp a talaj nedvesség-tartalmának növelését károsnak ítéli, a csökkenő túlélési esélyek lévén.

A fagyűrő növények membránjaiban nemcsak fiziko-kémiai változások következnek be, hanem csökken a víztartalom, aminek következtében koncentrálnak a protoplazmában az oldott anyagok (PETHŐ, 1998; BERNÁTH et al., 1982). Ennél fogva megállapítható, hogy a fagyűrőképesség szorosan kapcsolódik a szárazságtűréshez (HEINO és PALVA, 2003; CLOUTIER és SIMINOVITCH, 1982). Számos kutatás irányult a relatív víztartalom (RWC) és a vízmegvonás közti kapcsolat tisztázására. A szárazságot tűró növények nagyobb mértékben képesek megőrizni víztartalmukat, ami szelekciós szempontból fontos marker lehet a nemesítés során (MORGAN, 1987). SWAAIJ et al. (1985) különböző burgonya genotípusokban detektált alacsony hőmérsékleti kezelés hatására csökkenő víztartalmat, míg GUINCHARD et al. (1997) más megközelítésből, a hideg akklimatizációt éppen a szövetek hidratációját fenntartó tulajdonságánál fogva tartja előnyösnek, ami hozzájárul a faj fagytoleranciájához. A fagyűrő piros lucfenyő (*Picea rubens*) is megőrizte a tél során a lombzatának magas víztartalmát, így védve magát a hideg okozta károsodástól (PERKINS et al., 1993). GIANOLI et al. (2004) kutatásai során megállapította, hogy a kétféle ökotípusú felemásvirágú szegfű (*Colobanthus quitensis*) növény közül hideg hatására a fagyűrőbb szárának víztartalma magasabb szintet jelez, mint a kevésbé toleránsé. A mák vonatkozásában ilyen jellegű vizsgálatokat ezidáig nem végeztek.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. A KÍSÉRLETEK ÁLTALÁNOS KÖRÜLMÉNYEI

Szabadföldi kísérleteinket a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Karának Kísérleti Üzem és Tangazdaságában, a Gyógy- és Aromanövények Tanszék telepén, Soroksáron végeztük 2008-2012 években.

A kísérleti terület a Pesti síkságon, Budapest délkeleti részén található. A terület tengerszint feletti magassága 100-150 m. Talaja enyhén lúgos kémhatású, az Arany-féle kötöttségi szám 30 alatti. Gyenge tápanyagellátottságú, könnyű homok; szervesanyag-tartalma igen alacsony (0,2-0,4%), humusztartalma 1,5% (ANTAL, 1999).

A vetőmagokat tavasszal minden évben március végén, illetve ősszel, szeptember végén vetettük el kézzel, 50 cm-es sortávolságokra, 10 m²-es parcellaméretet alkalmazva, három ismétlésben. A magok csírázását követően a növények egyelésére került sor. Ennek eredményeképpen a sorok sűrűsége 30-35 db növény volt méterenként. A csírázást, illetve a növények későbbi vízellátását csepegtető öntözéssel biztosítottuk. A gyomirtás preemergensen, növényvédő szerek alkalmazásával, valamint mechanikai úton, kapálással történt.

A nemesítési munkák kezdetekor reciprok keresztezéseket is végeztünk, melyekből származó magok felszaporításával nyertük a későbbi évek vizsgálatainak alapanyagát. Az anyanövény bimbójáról eltávolítottuk a csésze, illetve szíromleveleket, majd a megtermékenyítésre érett bibekorongot a keresztezéshez kiválasztott apai növények 5 egyedéről begyűjtött pollenkeverékkel beporoztuk. A kasztrálást és beporzást egyaránt egyedileg és kézzel végeztük. A kasztrált és beporzott növényeket molinózacskóval szigeteltük. Mindkét fajtaból öntermékenyített, kontroll vonalakat is előállítottunk. Ez utóbbi esetben közvetlenül a virágnylás előtt távolítottuk el a csészét és a szíromleveleket, majd a porzókat meghagyva végeztük el a virágok egyedi szigetelését. A molinózacskót a tokok normális fejlődésének elősegítése céljából az öntermékenyítést követő 2-3 hét után eltávolítottuk. A teljesen kifejlett, érett, zörgős tok stádiumban lévő máktokokat kézzel, illetve 5-6 cm-es szárrészt meghagyva takarítottuk be. Ez az időpont az őszi vetésű parcellák esetén június közepére-végére, míg a tavasziak esetében július elejére-közepére tehető, de ez a fajták fenofázisától függően kismértékben eltolódhat.

In vitro kísérleteinket a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészettudományi Karán, a Gyógy- és Aromanövények Tanszék Laboratóriumában folytattuk.

A csíráztatáshoz és a növények előneveléshez Sanyo MLR-351H klímakamra volt a segítségünkre, az edzést és a fagyűrési teszteket pedig RUMED 1000 típusú, programozható fénytermosztátban folytattuk (4. ábra).

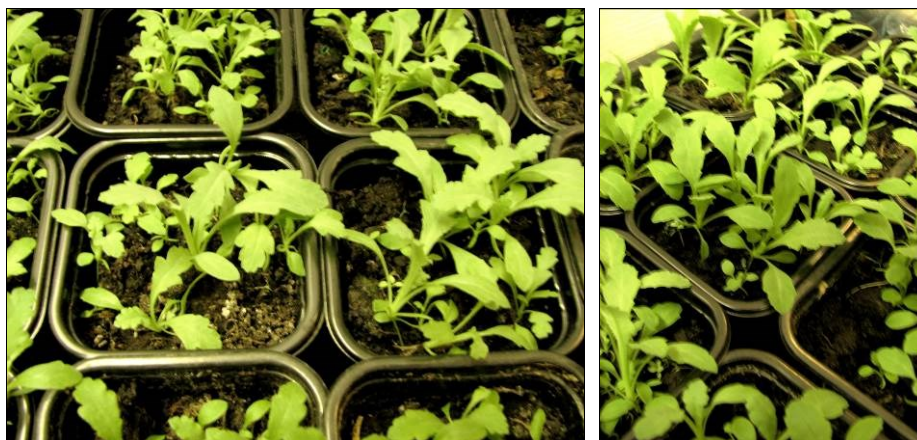


4. ábra: A növények nevelése és fagyűrésük tesztelése során alkalmazott berendezések (Fotó: Jászberényi Cs., 2010)

A magvakat 7x7 cm-es műanyag edényekbe töltött Blüh-Fix szaporítóföldbe vetettük és tálcák segítségével helyeztük a növénynevelő berendezésbe. Minden ciklus során az alábbi kondíciókat alkalmaztuk: 15/10 °C (nappali/éjszakai hőmérséklet), 14000 lux fényerősség (nappal), 70 %-os relatív páratartalom. A növényeket minden harmadik napon öntöttük, csírázást követően pedig a vegetatív fejlődésüket hetente egy alkalommal 1-2 %-os Wuxal tápoldattal segítettük. A kicsi csíranövények egészséges növekedése rendszeres ritkítás mellett volt elérhető. A növényeket egészen 4-6 lombleveles állapotukig neveltük, mely időszak átlagosan, megközelítőleg 1,5-2 hónapot vett igénybe. Ez az a legkorábbi fejlettségi fázis, amely már lehetővé teszi a máknövények fagyűrésének vizsgálatát kontrollált környezetben. Genotípusonként átlagosan mintegy 50 egyedet neveltünk fel (5. ábra).

A három év során végzett kísérletek több projekt részét képezték (OTKA K 62732, ipari megbízások 2008 és 2011 között), a vizsgálatok különböző időszakokban és parcellákon folytak, melyekben számos mákfajta, törzs és hibrid (*Papaver somniferum* L.) szerepelt. A vizsgálatok során felhasznált mákfajták vetőmagjai a Gyógy- és Aromanövények Tanszék génbankjából származnak. A hibrid törzsek a 2008-ban, 9 szülői fajta/fajtajelölt reciprok keresztezéséből, Pedigré módszerrel előállított F2 és F3 nemzedékeket foglalt magában (2.

táblázat). A keresztezésekhez olyan fajták illetve szelektált törzsek között történtek, amelyek ismert életsiklusuknál és stabil alkaloidtartalmuknál fogva várhatóan jó alapot nyújtottak a vizsgálatokhoz.



5. ábra: 4-6 lombszevelésű máknövények a fagyűrészvizsgálatot megelőzően

(Fotó: Jászberényi Cs., 2011)

A jelen értekezésben felsorolt eredmények tehát széleskörű munkafolyamatokhoz illeszkedően, változatos populációkban és több kísérleti ciklusban születtek. Ezért az alábbiakban az egyes témakörökhöz kapcsolódóan külön adjuk meg a vizsgálatba vont genotípusokat és az adott mérések részleteit.

2. táblázat: A kísérletekben előforduló *Papaver somniferum* L. fajták és taxonok (részletesen lásd az egyes kísérleteknél)

Államilag elismert fajták, fajtajelöltek		Tanszéki szelekcióból származó, szelektált törzsek	Keresztezésből származó hibridnemzedékek	
tavaszi	ősz		F2	F3
'AI'	'Leila'	„67” (2002)	'Ametiszt' x 'Leila'	'Ametiszt' x 'Leila'
'Ametiszt'	'Kozmosz'		'Kozmosz' x 'Korona'	'Kozmosz' x 'Korona'
Bence (fajtajelölt)	Monte (fajtajelölt)		'Kozmosz' x 'Minoán'	'Kozmosz' x 'Minoán'
'Botond'	'Zeno'		'Kozmosz' x 'Medea'	'Kozmosz' x 'Medea'
'Korona'			'Kozmosz' x 'Przemko'	'Kozmosz' x 'Przemko'
'Medea'			'Korona' x 'Kozmosz'	'Korona' x 'Kozmosz'
'Minoán'			'Korona' x 67	'Korona' x 67
'Óriás kék'			'Leila' x 'Przemko'	'Leila' x 'Przemko'
'Przemko'			'Leila' x 1/172	'Leila' x 1/172
'Tebona'			'Leila' x 'Ametiszt'	'Leila' x 'Ametiszt'
			'Medea' x 'Kozmosz'	'Medea' x 'Kozmosz'
			'Medea' x 67	'Medea' x 67
			'Minoán' x 'Kozmosz'	'Minoán' x 'Kozmosz'
			67 x 'Korona'	'Przemko' x 'Kozmosz'
			67 x 'Minoán'	67 x 'Korona'
			67 x 'Medea'	67 x 'Minoán'
			1/172 x 'Leila'	67 x 'Medea'

3.2. A KÍSÉRLETEK ANYAG ÉS MÓDSZERE

3.2.1. Fagyűrészvizsgálat ideje, növényanyaga és módszere

Mivel a hazai államilag elismert fajták fagytoleranciájáról kísérleti adatok egyáltalán nem állnak rendelkezésre, szükségesnek tartottuk ezek minél szélesebb körének, több évjáratban, azonos körülmények közötti összehasonlító tesztelését.

A szabadföldi kísérleteink alapjául szolgáló növényanyagok vetésére 2008., 2009. és 2010. szeptember végén került sor. A vizsgálatba 3 őszi ökotípusúként regisztrált mákfajtát ('Kozmosz', 'Leila', 'Zeno'), valamint 3 tavaszi ökotípusúként elismert fajtát ('Ametiszt', 'Korona', 'Medea') vontunk be. Mindemellett kísérletünk tárgyát képezte még a különböző F2 és F3 nemzedékbe tartozó, keresztezéssel előállított hibridnemzedékek fagytoleranciájának vizsgálata is: 'Kozmosz' x 'Korona', 'Kozmosz' x 'Minoán', 'Kozmosz' x 'Medea', 'Kozmosz' x 'Przemko', 'Leila' x 'Przemko', 'Leila' x 'Ametiszt', 'Leila' x 1/172, 67 x 'Medea', 67 x 'Korona', 67 x 'Minoán'.

Az őszi kelések egyöntetű és sűrű sorokat eredményeztek. A növényállomány fagyűrészére vonatkozó felmérését 2009, 2010 és 2011 tavaszán végeztük (6. ábra). A bonitálás során szemrevételezéssel állapítottuk meg a sorok beállottságát, sűrűségét, öt kategóriába sorolva azokat (ritka: 20 %, ritka-közepes: 40 %, közepes: 60 %, közepes-sűrű: 80 % és sűrű: 100 %), összesen 6 ismétlésben (2 parcella, vagyis 2x3 sor). Ezek alapján meghatároztuk a fajták és a hibridek áttelelési százalékát.



6. ábra: Az áttelelt növények, Soroksár (Fotó: Jászberényi Cs., 2009)

3.2.2. Cukortartalomra vonatkozó vizsgálatok

3.2.2.1. A kísérletek ideje, növényanyaga, mintavétel

Az oldható cukor-tartalom mint a fagyűrés egyik lehetséges markerének mérését különböző fajtákban szabadföldön vizsgáltuk mind tavaszi, mind pedig őszi, áttelelő vetésben, többszöri mintavételt alkalmazva.

A kísérleti parcellák létesítése, a helybevetés 2009 tavaszán történt, melyhez az alábbi őszi ('Kozmosz', 'Leila') és tavaszi ökotípusú fajtákat ('Ametiszt', 'Korona', 'Medea', 'Minoán', 'Przemko'), valamint az F3 nemzedékbe tartozó hibrideket használtuk fel: 'Kozmosz' x 'Medea', 'Kozmosz' x 'Minoán', 'Kozmosz' x 'Korona', 'Kozmosz' x 'Przemko', 'Leila' x 'Przemko', 'Leila' x 1/172, 'Leila' x 'Ametiszt', 67 x 'Medea', 67 x 'Korona', 67 x 'Minoán'. Abból a célból, hogy a különböző mák genotípusokban a stresszindukció nélkül jelen lévő oldható cukor-tartalom mennyiségét meghatározzuk, a mintaszedést 2009 májusában végeztük. Ekkor a növények fejlett tölevélrózsás állapotban voltak, szárbaindulás előtt.

A tél során a fagystressz által feltételezhetően indukált cukortartalom, valamint a felhalmozódás dinamikájának meghatározásához a mák magok vetését 2009 szeptemberében végeztük. A növényanyagot őszi és tavaszi ökotípusú fajták képezték. Az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú fajták közül 'Zeno', 'Leila', 'Kozmosz' és 67-es törzs, a tavaszi ökotípusú fajtákból pedig az 'Ametiszt' és a 'Korona' cukortartalmát határoztuk meg. Vizsgálatainkba továbbá F2 és F3 nemzedékbe tartozó hibrideket is bevontuk: 'Kozmosz' x 'Minoán', 'Kozmosz' x 'Korona' és 'Leila' x 'Ametiszt'. A cukortartalom vizsgálatához szükséges növényanyag begyűjtése a máknövények tölevélrózsás állapotában, három különböző időpontban történt. A fagyok bekövetkezte előtt, amikor az átlaghőmérséklet még nem süllyedt 0°C alá (2009. december 1-jén), a fagyok beállta után, amikor az átlaghőmérséklet már legalább egy héten keresztül fagyponthoz volt (2009. december 17-én) (7. ábra), valamint a következő tavaszon a fagyok elmúltával, mikor a növények már láthatóan regenerálódtak (2010. április 1-jén).



7. *ábra*: Hótakaróval borított kísérleti parcella a december 17.-i mintavételkor.

(Fotó: Jászberényi Cs., 2009)

3.2.2.2. Minta-előkészítés

A begyűjtött növényi anyagot hűtőtáskában (+4 °C) szállítottuk be az Egyetem laboratóriumába. A kísérleti anyag tisztítását és aprítását követően, mely a növény minden szervét (gyökér, szár, levél) tartalmazta, fajtánként, illetve kombinációnként 3 g-ot mértünk le, háromszori ismétléssel. A kimért anyagokat dörzsmozsárba helyeztük, ezután kvarchomok segítségével eldörzsöltük és 15 ml desztillált víz hozzáadásával elegyítettük. Az így keletkezett növényi homogenizátumot áttöltöttük egy csavaros fedelű műanyag mintatartó pohárba, felcímkéztük és egy egész napra hűtőbe helyeztük a növényanyagból történő oldhatócukor-tartalom kioldódását elősegítve. Ezt követően mélyhűtőben (-25 °C) tároltuk a cukortartalom meghatározásának időpontjáig.

3.2.2.3. Laboratóriumi vizsgálatok

A mélyhűtőből kivett kísérleti anyagot szobahőmérsékleten való kiolvadását követően műanyag centrifugacsőbe töltöttük és 5500-as fordulatszámon, 20 percen keresztül centrifugáltuk egy Biofuge PRIMO típusú laboratóriumi centrifuga segítségével. E folyamatot követően már csak a felülúszóval dolgoztunk tovább, melyet 0,2 µm lyukátmérőjű, regenerált cellulóz mikroszűrőn átszűrve egy mintatartó üvegcsébe fecskendeztünk.

A fruktóz-, glükóz-, szacharóztartalom meghatározása HPLC-s (nagy hatékonyságú folyadékkromatográfia) módszerrel, validálás után történt. A rendszer egy Waters 1525 bináris HPLC pumpából, Waters 717 mintaadagolóból, Waters 2414 Refraktív index detektorból, valamint Jetstream 2 plus oszloptermostátból tevődött össze. Az elválasztáshoz BST Hypersil

5APS oszlopot (250 x 4mm) és Waters Millipore, mBondapak™ NH₂, Guard-Pak™ típusú előtétoszlopot használtunk. Az izokratikus mobil fázis acetonitril és víz 85:15 arányú keveréke volt, az áramlási sebesség 0,3 ml percenként. Az injektor-, az oszlop és a detektor hőmérséklete 40°C volt, az injektált mennyiség pedig 10µl. A mérés lefuttatása és az adatok értékelése Empower software segítségével történt.

3.2.3. Prolintartalomra vonatkozó vizsgálatok

3.2.3.1. A kísérletek ideje, növényanyaga, mintavétel

3.2.3.1.1. Klímaszékben végzett kísérlet helye, ideje, növényanyaga, mintavétel

Az 5-6 lomblevéllel rendelkező máknövények prolintartalmát *in vitro* körülmények között, 2009 nyarán határoztuk meg. Kísérleteink első felét a Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszék munkatársaival történő együttműködésben, a Tanszék laboratóriumában végeztük. A növényanyagot a Gyógy- és Aromanövények Tanszék növénynevelő, illetve fénytérmosztát berendezéseiben állítottuk elő (a kísérlet általános körülményei: lásd *3.1-es fejezet*). Ehhez két jellemzően fagytoleránsnak ismert őszi ökotípusú ('Leila' és 'Zeno'), illetve két, jellemzően szenzitív tavaszi ökotípusú ('Al' és 'Korona') fajtát választottunk.

Vizsgálatunkhoz 6 időpontban, a nevelési program 6 különböző hőmérsékletű szakaszában gyűjtöttünk mintát a kezelt növényekből: 15/10 °C-on (aug. 6-án), +2 °C-on (aug. 10-én), 0 °C-on (aug. 14.), -2 °C-on (aug. 17.), -3 °C-on (aug. 21-én) és ismételten 10/15 °C-on (aug. 24-én).

3.2.3.1.2. Szabadföldön végzett kísérlet ideje, növényanyaga, mintavétel

A prolin mérését az oldható cukor-tartalomhoz hasonlóan különböző fajtákban szabadföldi körülmények között is elvégeztük, mind tavaszi, mind áttelelő vetésben.

A kísérleti parcellák létesítése 2009 tavaszán történt, melyhez az alábbi őszi és tavaszi ökotípusú fajtákat használtuk fel: 'Kozmosz', 'Leila', valamint 'Ametiszt', 'Korona', 'Medea', 'Minoán', 'Przemko', illetve az F3 nemzedékbe tartozó hibrideket használtuk fel: 'Kozmosz' x 'Medea', 'Kozmosz' x 'Minoán', 'Kozmosz' x 'Korona', 'Kozmosz' x 'Przemko', 'Leila' x 'Ametiszt', 'Leila' x 'Przemko', 'Leila' x 1/172, 67 x 'Minoán', 67 x 'Medea', 67 x 'Korona'. A tavaszi vetésű állományokban 2009 májusában szedtünk mintát, a tölevélrózsás állapotban lévő növényekből.

Annak érdekében, hogy a prolin felhalmozódását az áttelelési időszakban is nyomon tudjuk követni, 2010 szeptemberében az alábbi növényanyagot vetettük el: tavaszi 'Ametiszt',

'Medea', 'Korona' és 'Tebona', illetve őszi 'Zeno', 'Leila', 'Kozmosz' fajtákat. A prolintartalom elemzéséhez szükséges növényi anyagot tölevélrózsás állapotban, három különböző időpontban gyűjtöttük be, fagyhatást megelőzően, amikor az átlaghőmérséklet még nem süllyedt 0°C alá (2010. november 25-én), fagyhatáskor, amikor az átlaghőmérséklet már legalább egy héten keresztül fagypont alatt volt (2010. december 3-án) (8. ábra), majd a fagyhatás elmúltával (2011. március 30-án). A növényi mintákat hűtőtáskában szállítottuk be az Egyetem laboratóriumába.



8. ábra: Hótakaróval borított máknövények (Fotó: Radácsi P., 2010)

3.2.3.2. Minta-előkészítés

A vizsgálati anyagot felaprítottuk, amely a növény minden részét (gyökér, szár, levél) tartalmazta. Valamennyi genotíusból 0,25 grammot mértünk ki 3-6 ismétlésben, majd ezeket csipesszel behelyeztük egy-egy műanyag Eppendorf csőbe. (A párhuzamos mérésekkel együtt összesen 6-12 ismétlést végeztünk.) Ezt követően az életfunkciók leállítására céljából az anyagot folyékony nitrogénbe merítettük körülbelül 10 másodpercig. Az így lefagyasztott mintákat mélyhűtőben tároltuk a prolintartalom meghatározásának időpontjáig.

3.2.3.3. Laboratóriumi vizsgálatok

Az előkészített mákminták prolintartalmát BATES et al. (1973) módszere alapján, az alábbi módon mértük. A lefagyasztott, vizsgálandó anyagot csipesszel dörzsmozsárba helyeztük és kvarchomokkal eldörzsöltük. A feltárt növényi mintákat ezután 5 ml, 3 %-os, vizes szulfosalicil-savval elegyítettük. Az így nyert homogenizátumot Whatman 2# szűrőpapír segítségével leszűrtük. Kísérleti anyagoként két-két kémcsőbe 0,5-0,5 ml szűrletet pipettáztunk, majd ehhez további 1-1 ml ninhidrin reagenst és 1-1 ml jégecetot adtunk. (A 4 °C-on, 24 óráig stabil ninhidrin reagens elkészítéséhez 30 ml jégecetben és 20 ml 6 M foszforsavban állandó rázatás

mellett feloldottunk 1,25 g ninhidrint.) Ezt követően a lefedett mintákat egy órán keresztül, 100 °C-on reagáltattuk, majd a reakciót jégfürdőben állítottuk le.

A reakciókeverékek extrahálása 2 ml toluol hozzáadásával történt (9. ábra), melyet a 15-20 másodpercig tartó rázatás folyamata követte. Ezután lepipettáztuk a minta tetején lévő kromofór tartalmú toluolt a vizes fázisról. Az így kinyert anyag fényelnyelését Spectro UV-VIS Dual Beam típusú spektrofotométerrel, szobahőmérsékleten, 520 nm-en mértük meg, melyhez vakoldatként a toluol szolgált. A minták prolin-koncentrációját a következő képlet segítségével számoltuk ki:

$$\{(\mu\text{g prolin/ml} \times \text{ml toluol})/115,5 \mu\text{g}/\mu\text{mol}\} / \{(\text{g minta})/5\} = \{\mu\text{mol prolin/ g friss tömeg}\}$$



9. ábra: A reakciókeverékek toluollal történő extrahálást követően

(Fotó: Jászberényi Cs., 2011)

3.2.4. Szöveti vizsgálatok

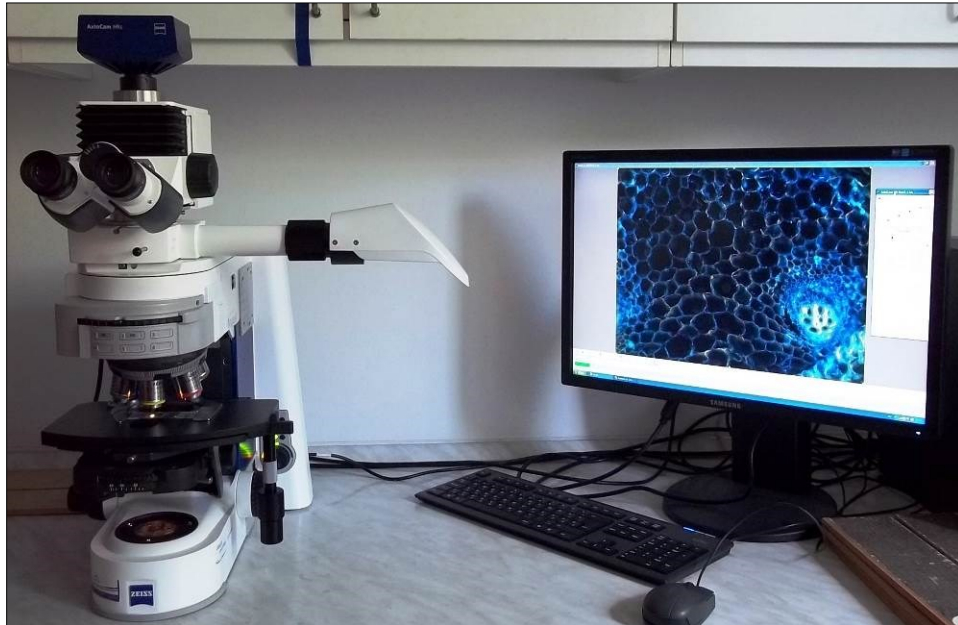
3.2.4.1. A kísérletek ideje, növényanyaga, mintavétel

Kísérletünkhöz az alábbi genotípusokat használtuk fel: 'Ametiszt', 'Korona', 'Medea', 'Tebona' fajták, melyek a tavaszi ökotípust reprezentálják, illetve 'Kozmosz', 'Leila', 'Zeno', melyek az őszi ökotípust képviselik. A magok 2010. szeptember végén, 10 m²-es parcellákba vetettük el, három ismétlésben. A mintákat a következő évben, 2011. május 23-án gyűjtöttük be.

3.2.4.2. Laboratóriumi vizsgálatok

A szöveti vizsgálatokat a Növénytan Tanszéken végeztük. Az azonos fejlettségi fázisban lévő levelek lemezének alapi részéből, fagyasztó mikrotómmal (Leitz Wetzlar) keresztmetszeteket készítettünk. Zeiss, Axio Imager A2 típusú fénymikroszkóp segítségével (10.

ábra) tanulmányoztuk 200x-os nagyításon a 25-30 μm vastagságú metszetek anatómiai sajátosságait, sötét háttérű megvilágítással. A kísérlet során a színi és a fonáki oldalon található epidermisz és kutikula-vastagságát határoztuk meg. A méréseket és a képek dokumentációját Axion Vision 4.8 szoftver alkalmazásával végeztük. Minden fajta esetében 30-szoros ismétléssel dolgoztunk.



10. ábra: Zeiss, Axio Imager A2 típusú fénymikroszkóp (Fotó: Jászberényi Cs., 2011)

3.2.5. Relatív víztartalomra vonatkozó vizsgálat

3.2.5.1. A kísérlet ideje, növényanyaga, mintavétel

Kísérletünkben az *in vitro* fagyűrészvizsgálat során felszaporított, 4-6 levéllel rendelkező máknövényekből ható hat mákfajta ('Ametiszt', 'Korona', 'Kozmosz', 'Leila', 'Medea', 'Przemko') relatív víztartalmát. A növények vetése, ápolási munkái és a kontrollált környezet kondíciói a nevelés során teljes mértékben megegyeztek a 3.2.1.1 fejezetben részletesen leírtakkal. A mintavételezés azelőtt történt, mielőtt a növényeket a mesterségesen indukált edzésnek, majd fagystressznek tettük volna ki, tehát a 15/10 °C-os hőmérsékleti kezelés alatt. A relatív víztartalom mérését fajtanként tíz, véletlenszerűen kiválasztott egyeden végeztük.

3.2.5.2. Laboratóriumi vizsgálat

A relatív víztartalmat (RWC) Schonfeld et al. (1988) módosított módszere alapján határoztuk meg. A begyűjtött növények friss tömegének mérését rögtön a mintavételt követően

végeztük el (11. ábra). Ezután a mintákat szobahőmérsékleten, 24 órára desztillált vízbe merítettük, hogy a növények megszívják magukat vízzel (12. ábra). Miután kivettük azokat a vizes közegből, szárazra töröltük papírtörülővel és meghatároztuk a turgid tömegüket is. Ezt követően a száraztömegük mérésére került sor, melyet 107 °C-on, 17 órán át, tömegállandóságig tartó szárítás előzött meg.



11. ábra: A máknövények a mintavételezést követően (Fotó: Jászberényi Cs., 2011)



12. ábra: Desztillált vízbe merített máknövények (Fotó: Jászberényi Cs., 2011)

A növények relatív víztartalmát az alábbi egyenlet alapján történő számítással kaptuk meg:

$$\text{RWC (\%)} = ((\text{FW} - \text{DW}) / (\text{TW} - \text{DW})) * 100$$

FW= friss tömeg, TW= turgid tömeg és DW= száraz tömeg

3.2.6. Alkaloidtartalomra vonatkozó vizsgálatok

3.2.6.1. A kísérlet ideje, növényanyaga, mintavétel

A tok alkaloidtartalmának vizsgálatára különböző, eltérő fagyűrő-képességgel rendelkező, keresztezett F2 és F3 hibridnemzedékekben került sor, mind őszi, mind pedig tavaszi vetésben, azonos termőhelyi körülmények között. A hibridkombinációk az alábbiak voltak: 'Medea' x 67, 'Minoán' x 'Kozmosz', 'Medea' x 'Kozmosz', 'Korona' x 67, 'Korona' x 'Kozmosz', 'Ametiszt' x 'Leila', 1/172 x 'Leila'. A mákmagokat 2009 szeptemberében, illetve 2010 márciusában vetettük szabadföldbe. A metaxénia elkerülése végett közvetlenül a virágnylás előtt távolítottuk el a növények csésze- és a szíromleveleit, majd a porzókat meghagyva végeztük el a virágok egyedi szigetelését. A tokokat az őszi vetésű parcellákon (ahol a fagyérzékeny egyedek már feltehetően nem voltak jelen) 2010. július 7-én, a tavaszi vetésűek esetében (ahol feltehetően mind a fagyűrő, mind a fagyérzékeny egyedek jelen voltak), július 13-án takarítottuk be. A mintavétel egyedileg történt, 12 ismétlésben.

A levélben felhalmozódó alkaloid mennyiségét az alábbi fajtákban és F3 hibridekben vizsgáltuk. 2009 folyamán: 'Korona', 'Kozmosz', 'Medea', 'Minoán', 'Przemko', valamint 'Ametiszt' x 'Leila', 'Kozmosz' x 'Medea', 'Kozmosz' x 'Minoán', 'Korona' x 67, 'Leila' x 'Ametiszt', 'Medea' x 67, 'Przemko' x 'Leila', 'Przemko' x 'Kozmosz', 1/172 x 'Leila', 67 x 'Medea', 67 x 'Korona', 'Medea' x 'Kozmosz'. 2010-ben pedig az alábbi fajtákat vizsgáltuk: 'A1', 'Botond' 'Korona', 'Leila', 'Medea', 'Minoán'. 2009-ben és 2010-ben a nemesítési munka révén rendelkezésünkre álló tavaszi vetésű populációkból, május közepén a tőlevélrózsás, de még szárbaindulás előtti állapotban lévő növényekből populációnként 3 ismétlésben, reprezentatív mennyiségű átlagmintaként szolgáló levelet gyűjtöttünk. A növények toktermését mindkét évben, júliusban takarítottuk be, szintén reprezentatív átlagmintákat véve, 3 ismétlésben.

3.2.6.2. Laboratóriumi vizsgálatok

A hatóanyag-vizsgálatokat vékonyréteg-kromatográfiával (TLC) végeztük. A középfinom porrá darált tokokból 0,2 g-ot mértünk ki, majd az 1 ml 0,7 %-os NaCO₃ oldattal átitatott drogot állni hagytuk. A porított tokokat 20-25 ml kloroform-metanol (4:1) oldószerrel, Soxhlet berendezés segítségével, forrástól számított 30 percig extraháltuk. Ezután a lehűlt oldatot Rotadest készülékkel szárazra pároltuk, amit később 1 ml oldószer-elegyen újra feloldottunk. Az alkaloidok elválasztásához vízszintes elrendezésű DESAGA-féle futtatókamrát alkalmaztunk. A futtatáshoz Silicagel 60 F254 (Merck) lemezeket, illetve toluol (7) : etil-acetát (2) : dietil-amin (1) elegyet (5-6 ml) használtunk. A rétegre 2 µl oldatot csepegtettünk fel. A lemezek megszáradását követően az anyagok UV-fényben (254 nm-en) történő mennyiségi meghatározását a standardokhoz viszonyítva végeztük.

A növények száraz leveléből történő hatóanyag-tartalom mérését ugyanezen módszer segítségével határoztuk meg.

3.2.7. Zsírosolaj-tartalomra vonatkozó vizsgálat

3.2.7.1. A kísérlet ideje, növényanyaga, mintavétel

A vizsgálatba különböző őszi és tavaszi ökotípust reprezentáló fajtákat bevonva az alábbi genotípusokat neveltük fel: *'Kozmosz'*, *'Leila'*, Monte (fajtajelölt), *'Zeno'*, illetve *'Ametiszt'*, *'Bence'*, *'Botond'*, *'Korona'*, *'Medea'*, *'Óriás kék'* és *'Tebona'*. A növényállomány létesítése 2011. március végén történt. A *'Leila'*-t és a Monte-t 2010 őszén vetettük, tehát őszi vetésből származnak. A magvak betakarítását a fajták fenofázisától függően 2011. július közepén-végén végeztük.

3.2.7.2. Minta-előkészítés

A begyűjtött máktokokat zsákokban szállítottuk az Egyetemre, melyek feldolgozása ezt követően történt. Fajtánként 30 tokot kés segítségével szétválasztottuk, majd homogenizálás céljából a magokat összeöntöttük és az így kapott, fajtára reprezentatív mintát kávédaráló segítségével alaposan összedaráltuk. A zsírosolaj-tartalom mérése folyamán fajtánként háromszoros ismétléssel dolgoztunk.

3.2.7.3. Laboratóriumi vizsgálatok

A zsírosolaj-tartalom meghatározása Soxhlet-extraktor alkalmazásával történt, melynek során 2 g darált mákmagot, 50 ml hexánnal, 5 órán keresztül extraháltunk. Ezután az oldott anyagot tartalmazó lombikot Rotadest berendezés segítségével bepárooltuk (Bajpai et al., 1999).

A lombik tömegének visszamérése után kapott eredmény, illetve a lombik eredeti bemért tömege közötti különbség által kaptuk meg a zsírsolaj-tartalmat, amit százalékban adtunk meg.

3.2.8. Csírázásbiológiai vizsgálatok

A csírázásbiológiai vizsgálatokba az alábbi őszi és tavaszi ökotípusú fajtákat vontuk be 2012 tavaszán: 'Kozmosz', 'Leila', 'Zeno', illetve 'Ametiszt', 'Korona', 'Medea'. Fajtánként 3x50 darab magot vizsgáltunk, két ismétlésben.

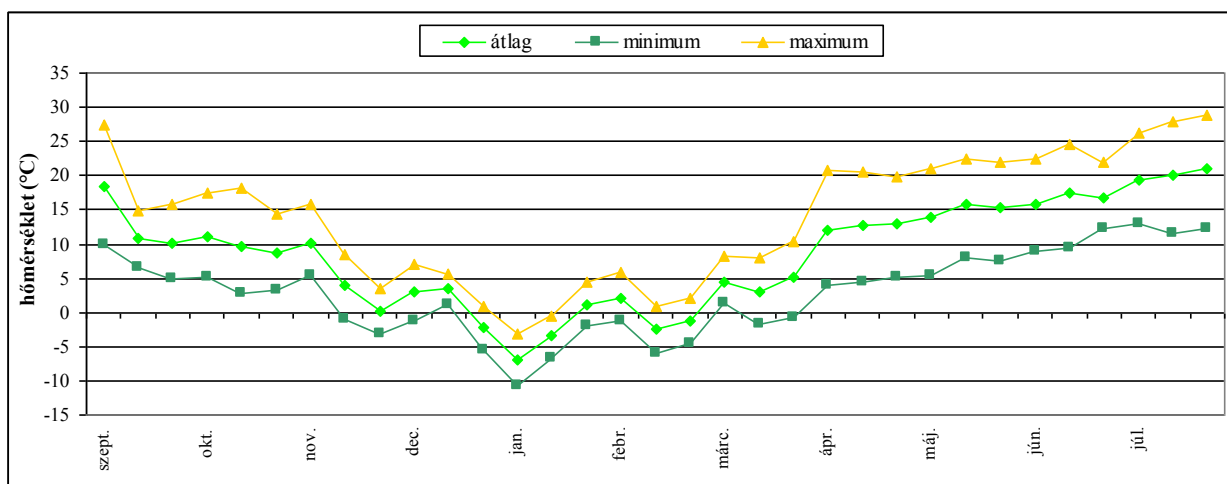
A csíráztatást az MSZ 6354-3:1991 számú magyar szabványban meghatározott módon végeztük. Ehhez Petri-csészékbe dupla szűrőpapír réteget helyeztünk, amelyre a magokat tettük. Az öntözések desztillált vízzel történtek. A szűrőpapír megfelelő átnedvesítése után az üvegtetővel letakart magok bekerültek a csíráztató szekrénybe állandó éjjel-nappali hőmérsékletre.

A 10 °C mellé 25 °C-os csíráztatási hőmérsékletet választottuk a tavaszi- és őszi mák ökotípusok összehasonlítási alapjául. Ezeknél az értékeknél a csíranövények fejlettségi állapotától függően mi határoztuk meg a csírázási erély és csírázási % számítások napjait. A 10 °C-os kezelést kapott magok esetében a szabványtól eltérően a 10. napon számoltuk a csírázási erélyt, majd ezt követően a 14. napon határoztuk meg a csírázási %-ot. A második ismétlés alkalmával célszerűbbnek tartottuk ezeket a vizsgálati időpontokat az alábbiak szerint módosítani: csírázási erély: 8. nap, csírázási %: 12. nap. A 25 °C-on csíráztatott magok esetében viszont a csírázási erélyt a 4. napon, a csírázási %-ot a 7 napon értékeltük.

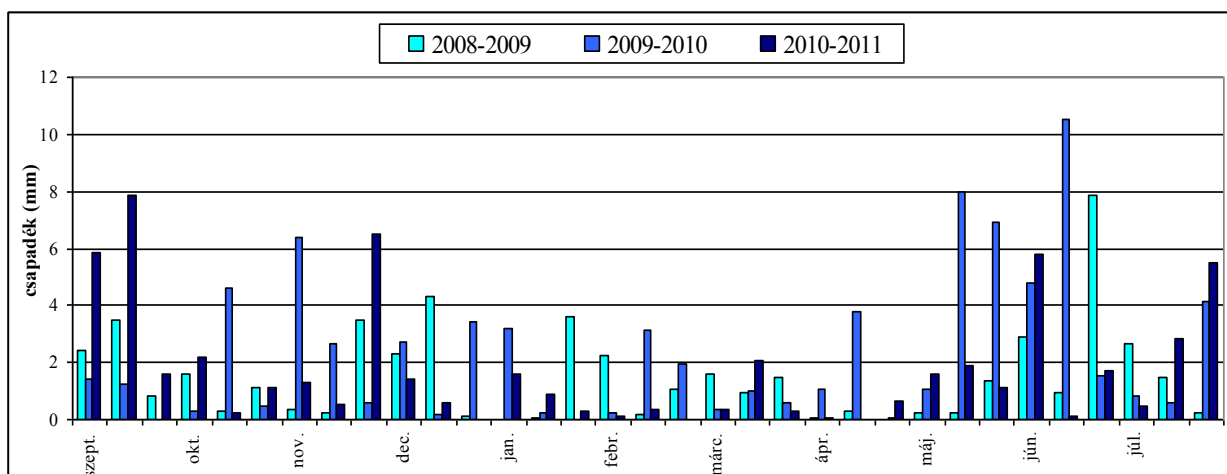
3.2.9. A kísérleti terület időjárási jellemzői

A soroksári meteorológiai adatokat a Rovartani Tanszék, valamint a Budapest-Pestszentlőrinc Meteorológiai Megfigyelő Állomás bocsátotta rendelkezésünkre. A kísérleti időszakban mért paramétereket (hőmérséklet és csapadékviszonyok) a 13-16. ábrák szemléltetik.

2008 telén, november közepétől kezdődően voltak hűvös, fagypont alatti minimum hőmérsékleti értékek (13. ábra). A leghidegebb január első dekádjában volt, átlagosan -10 °C. November végétől december közepéig nagyobb mennyiségű csapadék esett, ami még eső formájában hullott. Január végén, február elején regisztráltak még jelentősebb csapadékot, utána áprilisig átlagosan 1-1,5 mm csapadék volt jellemző (14. ábra). A hőmérséklet április elejétől kezdett enyhülni, fagypont feletti hőmérsékleti értékekkel.



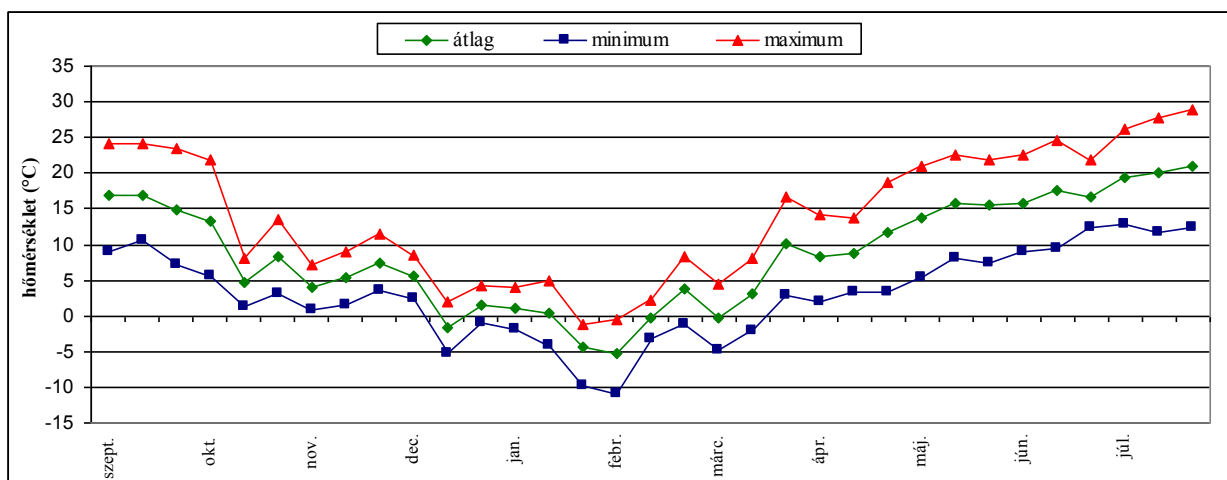
13. ábra: Soroksáron mért hőmérsékleti értékek 2008. szeptember és 2009. július között, dekádonként átlagolva



14. ábra: Soroksáron mért csapadék értékek 2008-2009, 2009-2010 és 2010-2011-es években az őszi vetéstől a betakarításig, dekádonként átlagolva

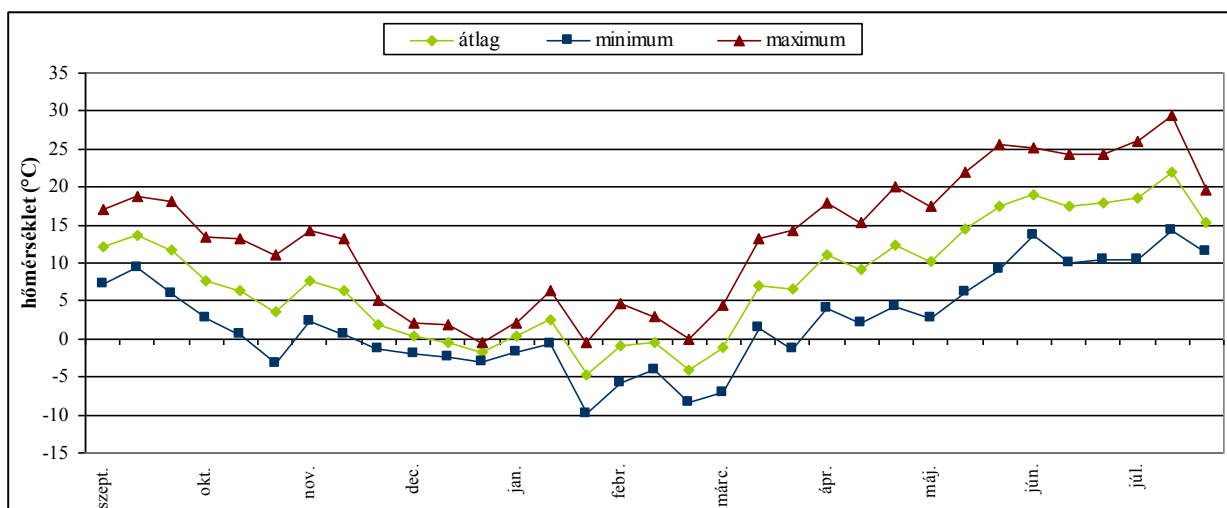
A következő évben, 2009/10 telén az első mintavételt (2009. december 1.) megelőzően, november utolsó két dekádjában a hőmérsékleti értékek 2 és 11 °C között szórtak, átlagosan 2 mm csapadékkal párosulva (15. ábra). December 1-jén, a cukortartalom meghatározásához történő első mintavételkor, a maximum hőmérséklet még jócskán fagypont felett volt (8 °C). Ezt követően december második és harmadik dekádjában, a december első napjaiban tapasztalt, átlagosan 6 °C fagypont körüli értékre csökkent. A minimum hőmérséklet már -1 és -5 °C között alakult. A második mintavétel napján, december 17-én -5 °C volt az átlaghőmérséklet, míg a minimum hőmérséklet aznap a -12 °C-ot is elérte. Csapadék, ami feltételezhetően hó formájában hullott, december utolsó dekádjában volt jellemző (14. ábra). Ezután a hőmérséklet még folyamatosan csökkent, míg februárra elérte a legalacsonyabb értékeket. 2010 márciusától következett be az enyhülés, fokozatos felmelegedés kezdődött. A hónap harmadik dekádjában, a

harmadik mintavételkor (2010. április 1.) a hőmérséklet 8 °C volt, 15 °C-os maximális hőmérséklettel.



15. ábra: Soroksáron mért hőmérsékleti értékek 2009. szeptember és 2010. július között, dekadonként átlagolva

2010/11 telén, a tartós lehülés november elején kezdődött meg (16. ábra). Ebben az időszakban 7 °C körüli átlaghőmérséklet volt jellemző. Jelentősebb csapadék, átlagosan 7 mm november végén esett (14. ábra). November 25-én, amikor a prolintartalom meghatározásához az első mintavételre sor került, az átlag hőmérséklet kicsit volt fagypont fölött, de még a maximum hőmérséklet elérte a 7 °C-ot. December elejétől kezdődően már az átlaghőmérsékleti értékek is 0 °C körül vagy az alatt voltak. A második mintavétel (december 3.) alkalmával mind az átlag, mind a minimum hőmérséklet is fagypont alá süllyedt.



16. ábra: Soroksáron mért hőmérsékleti értékek 2010. szeptember és 2011. július között, dekadonként átlagolva

Csapadék ezt megelőzően hullott. Január közepén egy rövidebb enyhülést követően ismét visszaesett a hőmérséklet, január végén regisztrálták a legalacsonyabb értékeket. Március második dekájától kezdődően lassú felmelegedés volt tapasztalható. A harmadik mintavételkor, március 30-án, a hőmérséklet már 7 és 16 °C között alakult. Nagyobb mennyiségű csapadék, (16,8 mm) a hónap közepén esett.

3.3. STATISZTIKAI ADATFELDOLGOZÁS

Az adatok feldolgozását Microsoft Excel, illetve Microsoft Word program segítségével végeztük el. Az adatok statisztikai elemzéséhez a Pasw 18-as statisztikai programot alkalmaztuk. A módszerek közül egytényezős, egyváltozós és egytényezős többváltozós varianciaanalízist, kétmintás t-próbát, Welch-féle d-próbát, valamint Spearman-féle nemparaméteres regresszióanalízist használtunk. A szórásnégyzetek azonosságát Levene-próba segítségével állapítottuk meg. Az eredményeket minden esetben 95 %-os megbízhatósági szint ($p < 0,05$) mellett elemeztük.

4. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

4.1. A FAJTÁK FAGYTŰRÉSÉNEK STABILITÁSA

A három évben, a szabadföldi körülmények között folytatott, fagyűrésre vonatkozó kísérletünk eredményeit az 3. táblázat szemlélteti. Az értékek egy-egy genotípus tekintetében meglehetősen szóródnak (pl. 'Korona'), melynek az évről évre változó időjárás lehet az oka. A 2010-ben tapasztalt enyhébb téli idő, vagy egyéb közrejátszó tényező jelenléte (pl. vastagabb hótakaró) megfigyelhető a 2010-2011 fagyűrési eredmények alakulásában. Ennek ellenére megállapítható, hogy az áttelelő termesztésre nemesített genotípusok ('Leila', 'Kozmosz', 'Zeno') három év átlagában jobb fagyűrést mutatnak, mint a tavaszi vegetációs ciklusú fajták ('Medea', 'Korona', 'Ametiszt').

Legnagyobb arányban a kiváló fagyűrő képességgel rendelkező 'Leila' telet át (3. táblázat). A 'Kozmosz' és a 'Zeno' szintén kiemelkedő a fagytolerancia szempontjából, hiszen ezek a hagyományos őszi ökotípusú fajták is igen nagymértékben tudták átvészelni a telet.

3. táblázat: A genotípusok szabadföldi fagyűrése 2008-2011 között

Fajták	Szabadföldi fagyűrési eredményei (2008-2011) (áttelelt egyedek)			Átlag	Szórás	CV%
	2008-2009	2009-2010	2010-2011			
'Leila'	-	93	100	97	4,9	5
'Kozmosz'	47	80	100	76	26,8	35
'Zeno'	73	53	100	75	23,6	31
'Medea'	-	27	60	44	23,3	54
'Korona'	-	0	60	30	42,4	141
'Ametiszt'	0	27	20	16	14,0	88

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a tavaszi fajták sem egyenlő mértékben fagynak ki a tél során, annak ellenére, hogy a gyakorlat ezeket a fajtákat fagyérzékenyeknek tekinti. A tavaszi ökotípusú fajták sorából a 'Medea'-t tekinthetjük kevésbé fagyérzékeny fajtának, míg a 'Korona' és az 'Ametiszt' szenzitív genotípusoknak bizonyultak. A variációs koefficiens (CV%) értékei alapján megállapíthatjuk, hogy az 50 % feletti értékekkel rendelkező genotípusok fagyérzékenyeknek, míg az afeletti értékeket reprezentáló fajták fagyűrőnek bizonyultak. Ez alapján a fagyhatást legkevésbé eltűrő fajta a 'Korona' volt, míg kimagaslóan a legtoleránsabbnak a 'Leila' bizonyult.

Az átlagok alapján a 'Medea', illetve az 'Ametiszt' fajta a tavaszi ökotípuson belül a fagyűrési szempontjából a két szélsőséges értéket képviseli. Ugyanez az ellentmondás az őszi fajták esetében is fennáll, amit a termesztési gyakorlatban mindenképpen javasolható figyelembe venni. Új fajták előállításakor, illetve a termesztésbe való bevezetésekor a több éven át történő,

vagy éppen *in vitro* tesztelés alapvető fontosságú lenne. Az időjárás igen nagymértékben meghatározza a fajták sikeres áttelelését.

4.2. AZ ÁTTELELŐ ÉS A TAVASZI TÍPUSOK NÉHÁNY JELLEMZŐ SAJÁTOSSÁGA

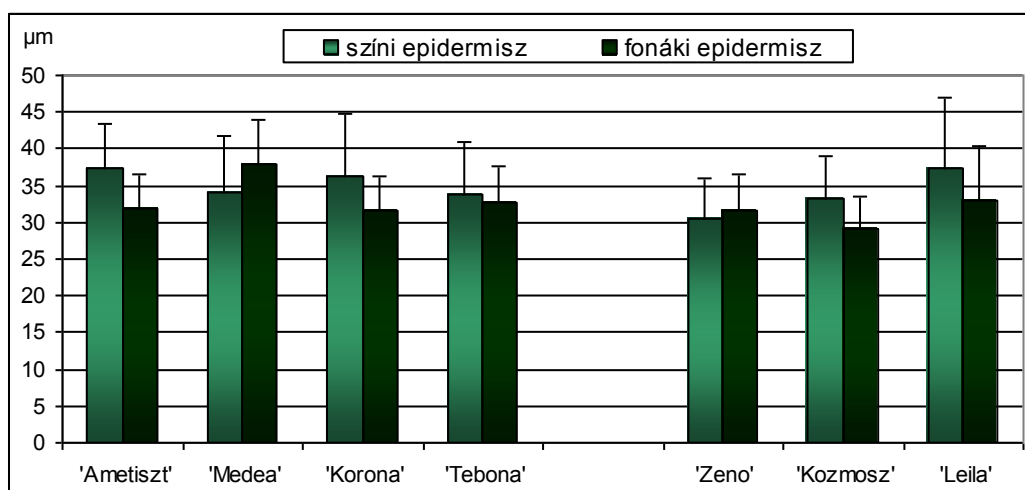
4.2.1. A levelek szövettani jellemzői

A levél színi és fonáki epidermisz sejtjeinek vastagsága

A fagytolerancia morfológiai, anatómiai hátterét keresve vizsgálatainkat a legkülső szöveti rétegeinek (epidermisz és kutikula) tanulmányozásával folytattuk.

A tavaszi ökotípusú fajták közül a legvastagabb a színi epidermisze az 'Ametiszt' levelének volt (37,420 μm), míg a 'Tebona' rendelkezett a legvékonyabbal (33,710 μm) (17. ábra). Az őszi ökotípusú fajták színi epidermisz sejtjeinek vonatkozásában megállapítható, hogy a legvastagabb sejteket a 'Leila' esetében regisztráltuk (37,240 μm), ellenben a legvékonyabbat a 'Zeno'-ban mértük (30,420 μm), mely különbséget az őszi és a tavaszi fajták tekintetében a varianciaanalízis statisztikailag igazolja (4. táblázat). Köztes értéket képviselt a 'Kozmosz' 33,110 μm -rel (17. ábra).

A fonáki epidermisz esetében a 'Medea' epidermisze bizonyult a legvastagabbnak (37,833 μm) az összes genotípus közül, mely statisztikailag is igazolt (4. táblázat). Az is jellemző, hogy kizárólag e tavaszi fajta fonáki epidermisz sejtjei voltak szélesebbek, mint a színi oldalon találhatóak. Ennél vékonyabb, egymáshoz hasonló értékeket kaptunk a többi tavaszi fajta esetében: 'Tebona', 'Ametiszt' és 'Korona' (32,560; 31,935 és 31,590 μm). A fagytoleráns fajták közül a 'Leila'-ban sikerült kimutatni a legszélesebb sejteket (32,830 μm), míg 29,140 μm -rel a legvékonyabbnak a 'Kozmosz' epidermisze bizonyult. A 'Medea'-hoz hasonlóan a levél fonáki epidermisz a 'Zeno'-ban fejlettebb a színinél.



17. ábra: Tavaszi és őszi ökotípusú fajták színi és fonáki epidermisz-vastagsága 2011-ben

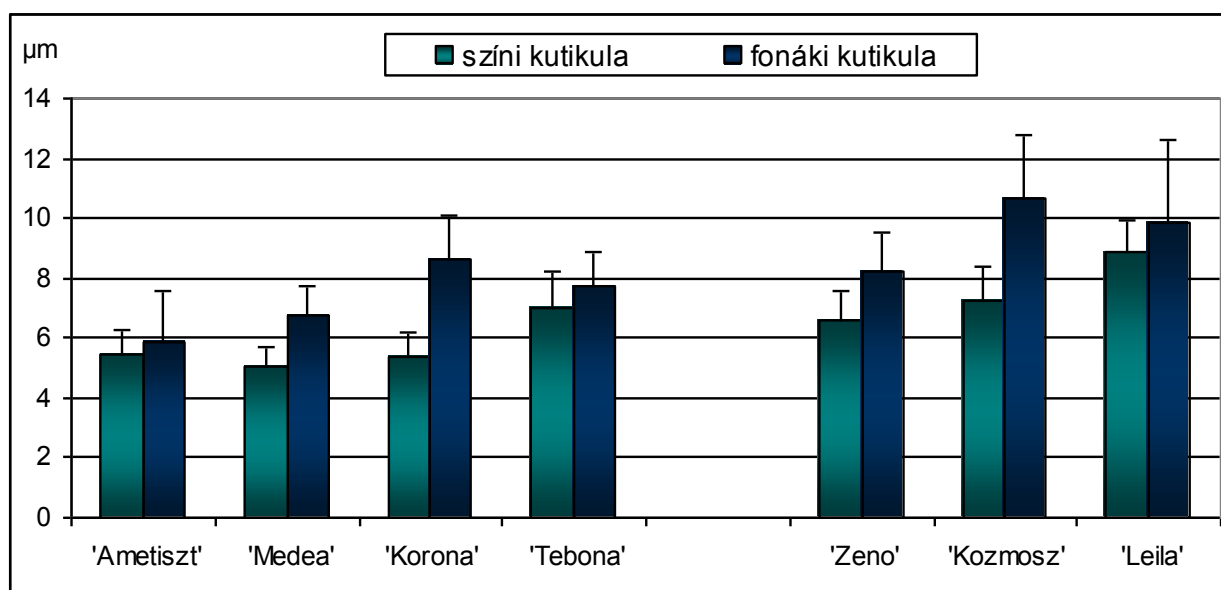
4. táblázat: A fajták közti szignifikáns eltérések a színi és a fonáki epidermisz-vastagságot tekintve (*) (A színi/fonáki epidermisz-vastagságra vonatkozó szignifikáns eltérések a sötétített mezők alatti/feletti területen találhatók.)

fonáki színi	'Ametiszt'	'Medea'	'Korona'	'Tebona'	'Zeno'	'Kozmosz'	'Leila'
'Ametiszt'		*					
'Medea'			*	*	*	*	*
'Korona'							
'Tebona'							
'Zeno'	*		*				
'Kozmosz'							
'Leila'					*		

A levél színi és fonáki kutikula-vastagsága

A kevésbé fagyűrő, tavaszi fajták közül a színi oldalon a legvastagabb kutikulát a 'Tebona' esetében tapasztaltuk (6,960 μm), míg ettől alacsonyabb értékeket mértünk a többi fajtában, az 'Ametiszt'-ben (5,430 μm), a 'Korona'-ban (5,390 μm), valamint a 'Medea'-ban (5,024 μm) (18. ábra). Az őszi ökotípusú, áttelelő fajták közül a legvastagabb színi kutikulája a 'Leila'-nak (8,850 μm) volt, míg a legvékonyabbat a 'Zeno' (6,570 μm) esetében találtuk.

A legvastagabb fonáki kutikulával a 'Korona' rendelkezett (8,600 μm), míg az 'Ametiszt' kutikulájának vastagsága a legvékonyabb (5,884 μm). Az őszi ökotípusú fajták esetében a 'Kozmosz'-nak a fonáki kutikulája a legvastagabb (10,700 μm), ezzel szemben a legvékonyabb kutikulát a 'Zeno' esetében tapasztaltuk (8,200 μm). A kutikula-vastagságára vonatkozóan a fajták közti szignifikáns eltéréseket a varianciaanalízis alapján, az 5. táblázat mutatja.



18. ábra: Tavaszi és őszi ökotípusú fajták színi és fonáki kutikula-vastagsága 2011-ben

5. táblázat: A fajták közti szignifikáns eltérések a színi és a fonáki kutikula-vastagságot tekintve (*) (A színi/fonáki kutikula-vastagságra vonatkozó szignifikáns eltérések a sötétített mezők alatti/feletti területen találhatóak.)

fonáki színi	'Ametiszt'	'Medea'	'Korona'	'Tebona'	'Zeno'	'Kozmosz'	'Leila'
'Ametiszt'			*	*	*	*	*
'Medea'			*		*	*	*
'Korona'						*	
'Tebona'	*	*	*			*	*
'Zeno'	*	*	*			*	*
'Kozmosz'	*	*	*				
'Leila'	*	*	*	*	*	*	

Az őszi és a tavaszi ökotípusba tartozó fajták összehasonlítása

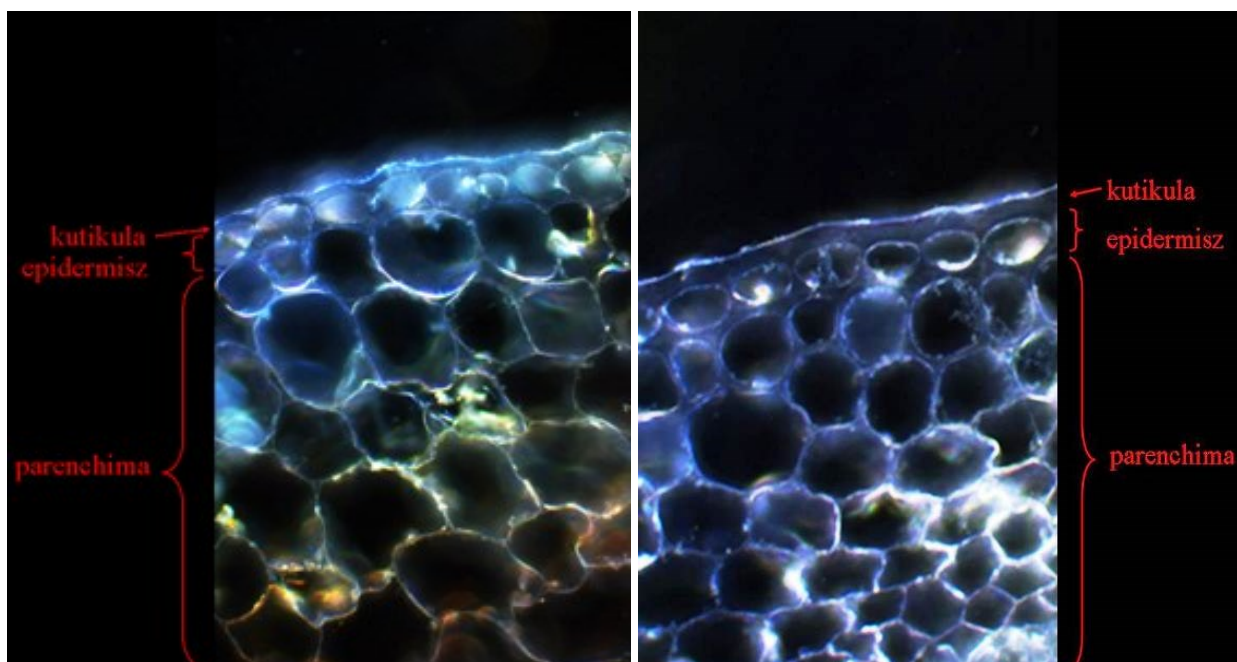
Amennyiben összevetjük a kétféle ökotípusba tartozó fajták átlagos kutikula és epidermisz-vastagságra vonatkozó értékeit (kétmintás t-próba), érdekes eredményre jutunk (6. táblázat).

6. táblázat: A különböző ökotípusok epidermisz és kutikula-vastagságának átlagos értékei (μm)

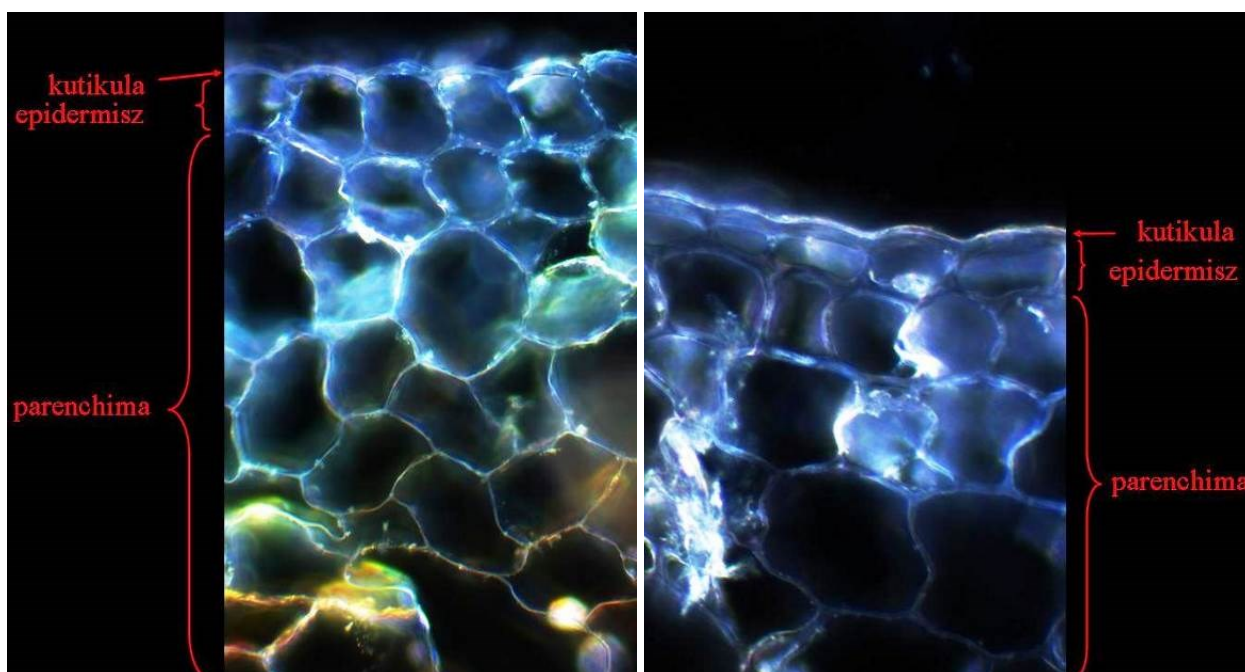
ökotípusok	színi				fonáki			
	epidermisz		kutikula		epidermisz		kutikula	
	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
tavaszi ökotípusú fajták	35,3 A	7,6	5,7 A	1,2	33,5 A	5,7	7,2 A	1,7
őszi ökotípusú fajták	33,6 A	7,8	7,6 B	1,4	31,1 A	6,0	9,6 B	2,4

Azt tapasztalhatjuk, hogy az epidermisz-vastagságában nincs köztük szignifikáns eltérés, kis mértékben azonban mind a színi, mind a fonáki oldalon vastagabb a tavaszi, fagyérzékeny fajták epidermisze (35,336 és 33,480 μm), mint az őszi ökotípusú fajtáké (33,591 és 31,143 μm). Ezzel szemben, ha összehasonlítjuk a kutikula-vastagság átlagos értékeit (Welch-féle d-próba), azt találjuk, hogy az őszi ökotípusú fajták esetében a kutikula mind a színi (7,558 és 5,700 μm), mind pedig a fonáki oldalon (9,585 és 7,236 μm) szignifikánsan vastagabb. Adataink alapján tehát arra következtethetünk, hogy a kutikula-vastagság a fagyűrő fajták egyik prediktív jellemzője lehet. Ugyanakkor a vékony kutikula nem szükségszerűen jelzi az adott genotípus intoleranciáját, hiszen az őszi ökotípusba tartozó, jó fagyűrő képességgel rendelkező 'Zeno' fajta szignifikánsan nem különbözik a színi oldalon a 'Tebona'-tól, illetve a fonákin a 'Tebona'-

tól és a 'Korona'-tól. A 19-20. ábrák illusztrálják a fagyérzékeny- és fagytüró fajták fonáki- és színi epidermisz és kutikula-vastagságát.



19. ábra: A fagyérzékeny 'Korona' és a fagytüró 'Kozmosz' mákfajták fonáki kutikulája, epidermisz és parenchima sejtjei (Fotó: Varga D., 2011)



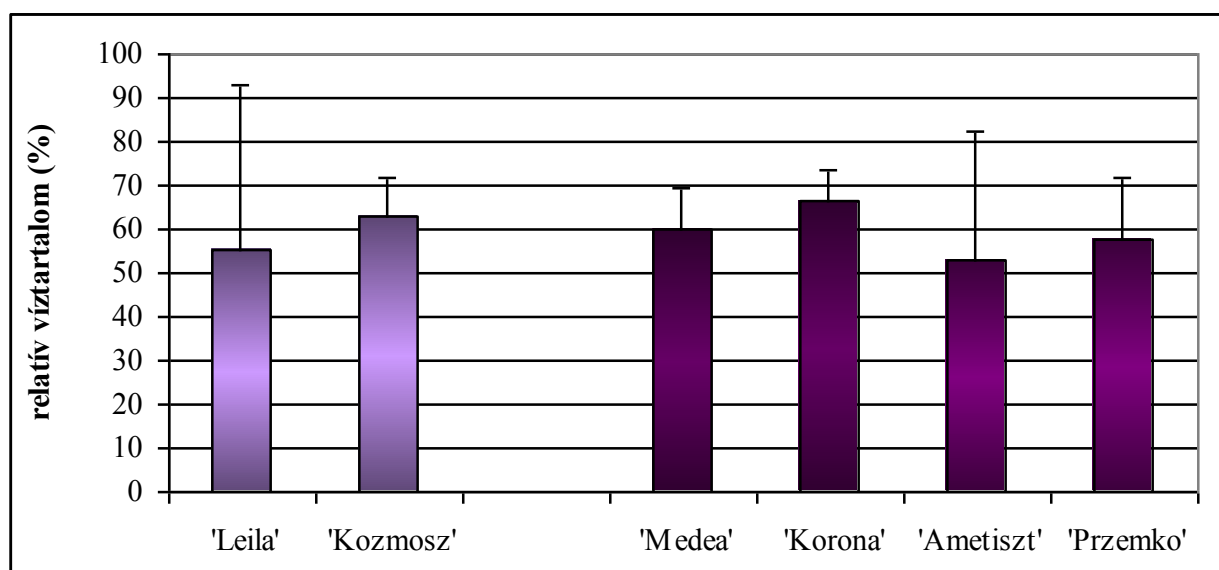
20. ábra: A fagyérzékeny 'Korona' és a fagytüró 'Leila' színi kutikulája, epidermisz és parenchima sejtjei (Fotó: Varga D., 2011)

A mák levelei a környezeti feltételekhez való alkalmazkodás révén anatómiai változásokat mutatnak, melyek a kis növények mezofillum és az epidermisz szöveti struktúrájában is megnyilvánulnak. A környezeti hatások (pl. fény) a levelek mindkét oldalát egyaránt éri, ezért a színi és a fonáki epidermisz nagyon hasonló, a mák levelek mezofillum izolaterális (JÁSZBERÉNYI et al., 2012b). Az áttelelő, fagyűrő fajták vastagabb kutikulával rendelkeznek a fagyérzékeny genotípusokénál. Ez hasonló jelenségre utal, mint amit GRIFFITH és munkatársai (1985) figyeltek meg, akik szintén a kutikula vastagodását írták le őszi rozs (*Secale cereale*) levelében, alacsony hőmérséklet hatására. A mák őszi ökotípusú fajtáinak adaptációját jelzi a leveleinek szürkés színe (DOBOS, 2011), szemben a fagyérzékenyebb fajták hamvas, világosabb zöld levél színével. Ennek közvetlen összefüggése azonban a fajták itt tárgyalt szöveti szerkezetével kérdéses.

A kutikula-vastagság, tehát mint a fagytolerancia egyik markere, gyors, kiegészítő szkrinmódszerként szolgálhat az új, hidegtűrő mákvonalak teszteléséhez.

4.2.2. A szövetek relatív víztartalma

A szövetek víztartalmának csökkenése hozzájárulhat a fagytolerancia növekedéséhez. Vizsgálataink során azonban ez a tulajdonság nem bizonyult ökotípusra specifikusnak. Az adatok 52,957 és 66,643 % között szórtak (21. ábra). Mindkét szélsőértéket reprezentáló genotípus, az 'Ametiszt' és a 'Korona' is a tavaszi ökotípusú fajták közé tartozik. A 'Przemko', illetve a 'Medea' az 57,516 és 60,004 %-os víztartalmukkal köztes értékeket képviseltek.



21. ábra: Őszi és tavaszi ökotípusú fajták relatív víztartalma

A gyakorlati tapasztalatok szerint az áttelelő termesztésre alkalmas, fagytoleráns, őszi ökotípusú fajták közül a '*Kozmosz*' relatív víztartalma 63,225 % volt, megközelítve a '*Korona*' víztartalmát, míg az igen jó fagyűrő képességgel rendelkező '*Leila*' fajtában csupán 55,054 %-ot mértünk.

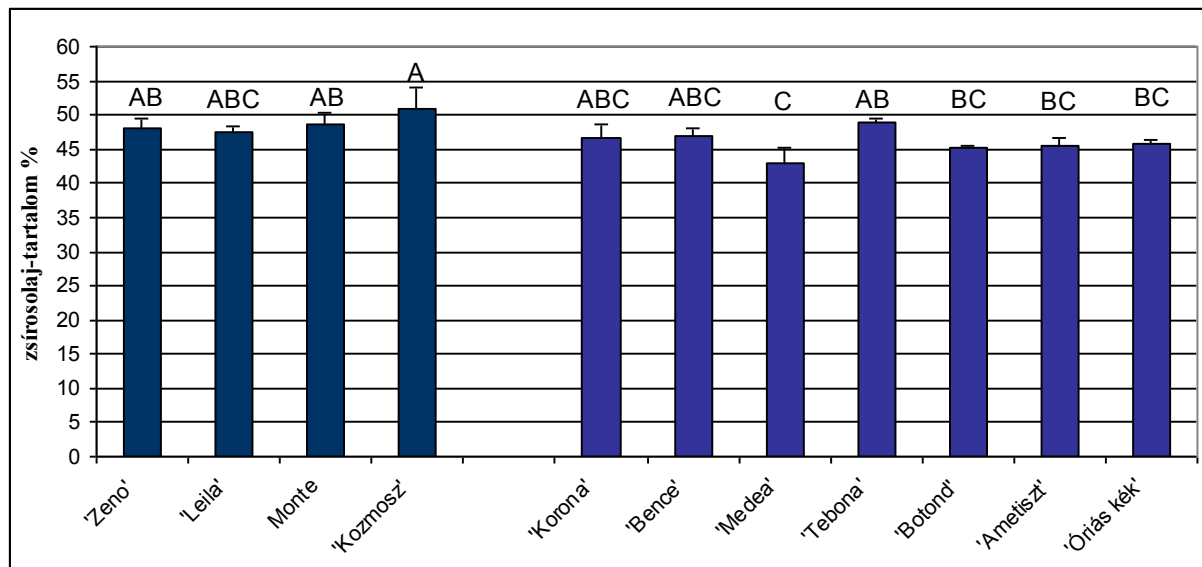
Megállapíthatjuk, hogy 5-6 leveles állapotban, átlagos őszi vagy tavaszi vetést követő körülményeket reprezentáló 15/10 °C-os hőmérsékleten, a vizsgált mákfajták relatív víztartalma nem különbözik szignifikánsan. Nem találtunk kapcsolatot a genotípusok relatív víztartalma és várható fagytoleranciája között. Adataink alapján természetesen nem zárható ki, hogy az edződést elősegítő hőmérsékleten nevelt növényekben a szövetek víztartalma esetleg módosul, hasonlóan más növényekkel végzett kísérlethez. SWAAIJ et al. (1985) megállapításai szerint ugyanis a burgonyában a 2 °C-os edzési hőmérséklet hatására lecsökken a víztartalom, de a fagyűrőréssel szoros összefüggést nem találtak. GIANOLI et al., (2004) hasonló eredményekről számol be, vagyis az ő esetükben is az alacsony hőmérséklet hatására csökken a felemásvirágú szegfű szárában a víztartalom. GUINCHARD et al. (1997) viszont a fehér here fagytoleranciáját éppen a szövetek hidratációjának fenntartásával magyarázza, mivel az edződésen átesett növényekben emelkedett víztartalmat detektált a hideg akklimatizációnak nem kitett növényekével szemben. PERKINS et al. (1993) eredményei szintén ezt az utóbbi megállapítást támasztják alá.

4.2.3. A magvak zsírosolaj-tartalma

Az EU protokoll szerint sem a DUS, sem a VCU vizsgálatban nem szempont a magvak zsírosolaj felhalmozó képességének vizsgálata. Ezért az erre vonatkozó szisztematikus adatok a legismertebb fajták esetében is hiányoznak, pedig napjainkban a mákolaj kedvező étrendi hatása és felhasználási lehetősége egyre nyilvánvalóbb (IMAIZUMI et al., 2000; BEARE-ROGERS et al., 1979; SINGH et al., 1990; NERGIZ és ÖTLES, 1994). Munkánk során e fontos beltartalmi jellemzőt is meg kívántuk ismerni, és az ökotípushoz kapcsolódó esetleges marker jellegét értékelni.

Az eredmények szerint az őszi ökotípust reprezentáló fajták magjainak zsírosolaj-tartalma 47,45 és 50,78 % között alakult, a legkisebb arányban a '*Leila*' tartalmazta, míg a legnagyobban a '*Kozmosz*' (22. ábra). Az egytényezős, egyváltozós varianciaanalízis alapján szignifikáns differencia azonban nem mutatható ki e két érték között. A tavaszi vegetációs ciklusú fajták zsírosolaj-tartalma 42,88 és 48,98 % között mozgott. A két szélső érték közül az előbbit a '*Medea*', az utóbbit viszont a '*Tebona*', képviselte.

A további fajták magvai átlagosan 46 %-ban tartalmaztak zsírosolajat, hozzávetőlegesen kiegyenlített mértékben (22. ábra).



22. ábra: Az őszi és a tavaszi ökotípusú fajták magjának zsírosolaj-tartalma 2011-ben

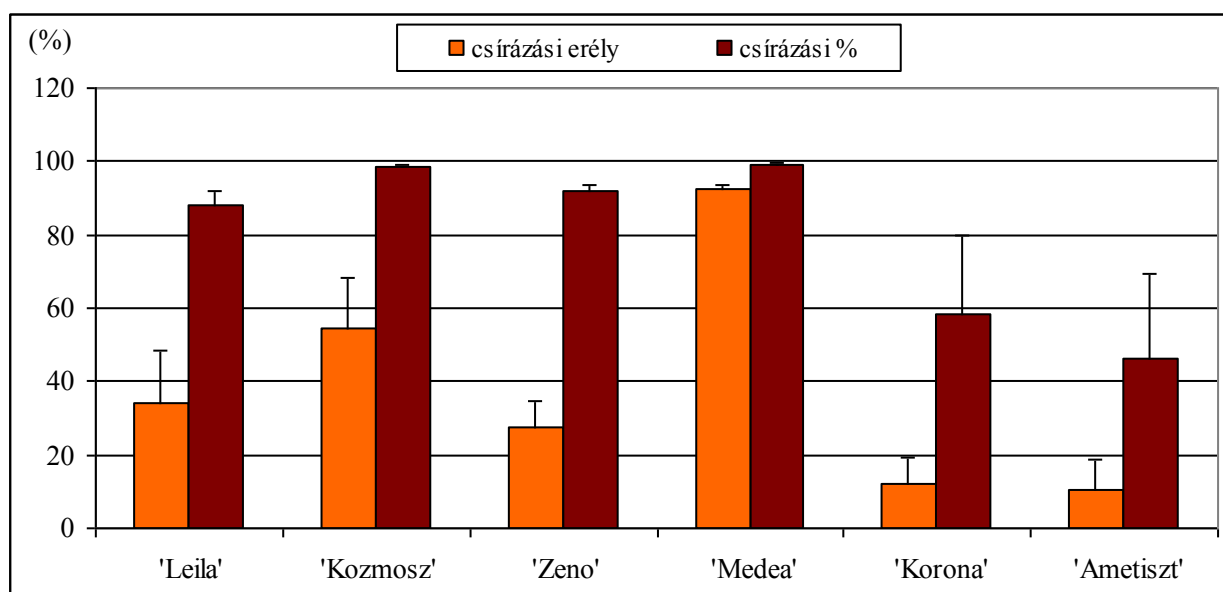
Abban az esetben, ha összehasonlítjuk az őszi (48,73 %), illetve a tavaszi ökotípusú fajták (45,99 %) átlagos zsírosolaj-tartalomra vonatkozó adatait, megállapíthatjuk, hogy az előbbi csoporton belül a vizsgálatba vont genotípusok, a Welch-féle d-próba alapján statisztikailag igazolhatóan magasabb arányban halmozták fel a zsírosolajat, mint az utóbbiak. Ez, ismerve az őszi ökotípusú mák magasabb hozamát (FÖLDESI, 1995), összhangban áll számos kutató által tett megállapítással, miszerint pozitív korreláció van a maghozam és az olajtartalom között (BAJPAI et al., 1999; SETHI et al., 1990, SINGH et al., 1995).

A vizsgálatba vont hazai fajtaspektrum alapján tehát nem zárható ki, hogy a mag magasabb olajtartalma a jobb áttelelő képességű fajtákra jellemző. Ezt azonban újabb vizsgálatokkal szükséges igazolni. Nehézséget okoz ebben az, hogy a zsírosolaj mákmagvakban való felhalmozódására vonatkozóan még megfigyelési adatok sincsenek, tudományos vizsgálatok pedig teljesen hiányoznak. Másrészt valószínűsíthető e két tulajdonság véletlen kapcsoltsága is, hiszen az olajtartalom ismereteink szerint e fajták nemesítése során nem szerepelt célkitűzésként vagy szempontként.

4.2.4. A fajták csírázási hőmérséklete

In vitro körülmények között vizsgáltuk a kétféle ökotípus tudományosan eddig kevésbé ismert és feltárt csírázásbiológiai tulajdonságait. A kísérlethez hat mákfajtát választottunk ki, amelyek ismert életciklusuknál fogva megfelelő alapot biztosítanak az összehasonlításhoz.

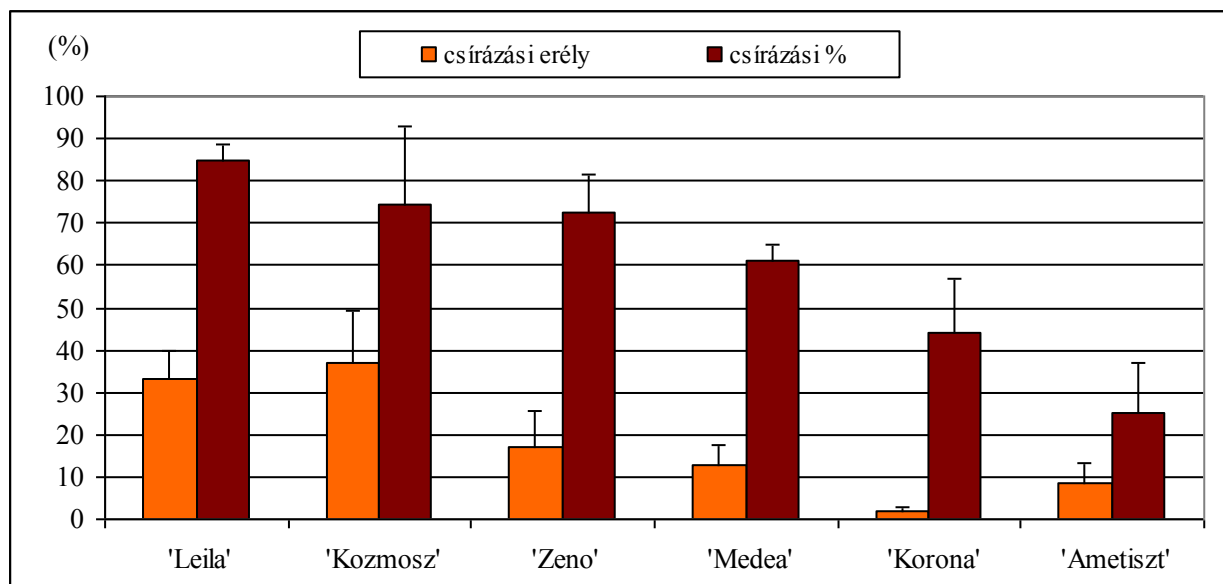
A 23. ábra prezentálja a 10 °C-on csíráztatott mákfajták csírázási erélyét és csírázási százalékát. Alacsony hőmérsékleten a 'Medea' kivételével mind az őszi, mind pedig a tavaszi ökotípusba tartozó fajták esetében lassú kelést tapasztaltunk. A leggyorsabban csírázó fajta a 'Medea' volt, míg a legvonatottabban kelő az 'Ametiszt'. A csírázási százalékok tekintetében megállapíthatjuk, hogy a 'Medea' tavaszi fajta csírázott ki a legnagyobb arányban, ezzel szemben a szintén tavaszi 'Ametiszt' pedig a legkisebb mértékben. A 10 °C-os kezelési hőmérsékleten a Welch-féle d-próba statisztikailag nem bizonyít különbséget a kétféle ökotípusú fajták között.



23. ábra: 10 °C-on csíráztatott mákfajták csírázási erélye és csírázási százaléka

A 25 °C-on végzett csíráztatás eredményét a 24. ábra szemlélteti. A kísérletbe vont őszi-tavaszi vegetációs ciklusú fajták a Welch-féle d-próba alapján szignifikánsan gyorsabban csíráztak a tavasziakkal szemben. Előbbi csoportba tartozó genotípusok csírázási erélyének átlaga 29,1 %, míg utóbbiba tartozóké mindössze 7,6 %. Leggyorsabban csírázó fajta a 'Kozmosz' volt, a legvonatottabb kelést pedig a 'Korona' esetében tapasztaltuk. Hasonló tendencia mutatkozik a fajták csírázási százalékában is. Az ősziék átlagosan nagyobb arányban csíráztak ki (77,1 %), mint a tavasziak (43,3 %). Az alacsony hőmérsékleti kezeléshez hasonlóan a legkisebb csírázási %-ot az 'Ametiszt' esetében mértünk, legnagyobbat viszont a 'Leila'

fajtánál találtuk. Összességében a 25 °C vontatottabb kelést eredményezett a 10 °C-os kezeléshez képest, mind az őszi, mind a tavaszi ökotípusú fajták esetében is, de megállapítható, hogy az őszi fajták gyorsabb kelést produkáltak, mint a tavasziak.



24. ábra: 25 °C-on csíráztatott mákfajták csírázási erélye és csírázási százaléka

A 10 °C-on végzett csíráztatás csak részben igazolja Dobos és Bernáth (1985) azon megfigyelését, miszerint az alacsony hőmérséklet lassítja a csírázás folyamatát, ugyanis míg a legtöbb fajta valóban vontatottan csírázott, addig a tavaszi 'Medea' esetében szokatlanul magas csírázási erélyt tapasztaltunk. A 10 °C-on kapott eredményeink továbbá ellentétben állnak azzal a megállapítással, hogy a tavaszi fajtáknál az alacsonyabb hőmérséklet jelenti az ökológiai előnyt, ugyanis esetünkben az őszi fajták viszonylag gyors csírázást mutattak. Az alacsony hőmérséklet tehát nem hatott gátlóan az őszi fajták csírázóképeségére. Dobos és Bernáth (1985) azon megállapítása, miszerint a tavaszi fajták 30 °C-on gátolt csírázási képességet mutatnak, a mi esetünkben is helytálló, mivel a kísérletünkben a 25 °C is jelentősen korlátozó tényezőnek számított. Adataink tehát ebből a szempontból kiegészítették és megerősítették a korábban tapasztaltakat. Eredményeink szerint az őszi fajtákról elmondható, hogy általánosan minden hőmérsékleti értéknél jól csíráztak, illetve az alacsonyabb hőmérséklet összességében csak lelassította a magok kelését, de nem blokkolta a csírázásukat. A tavaszi fajták csírázását a magasabb hőmérséklet gátolni látszik, de a hőmérsékletre adott reakcióban erős fajtaspecifikusság figyelhető meg.

4.3. KRIOPROTEKTÁNSOK FELHALMOZÓDÁSA

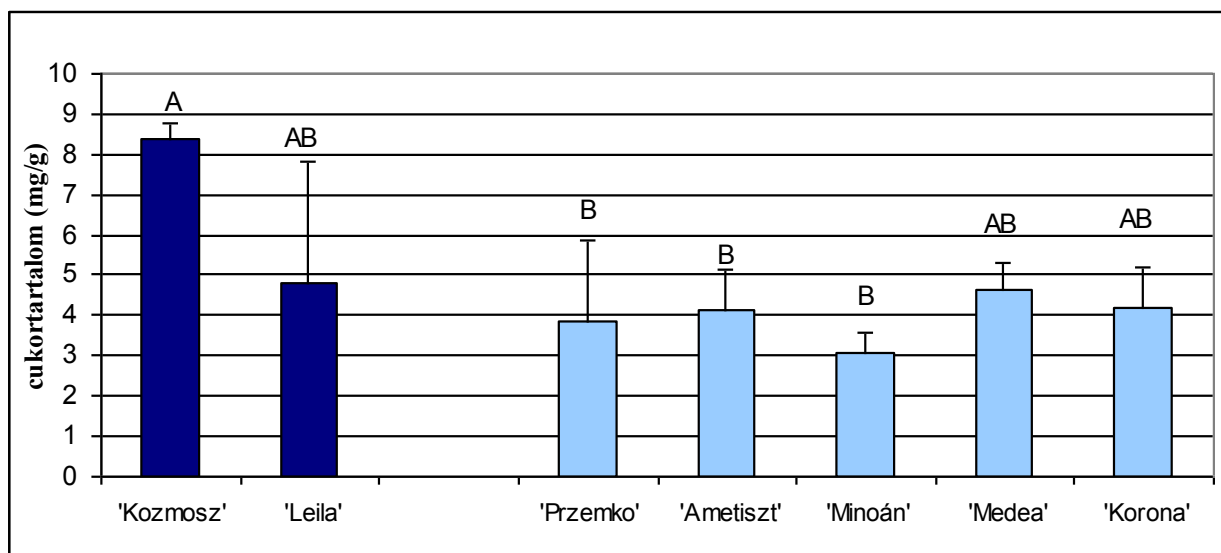
4.3.1. A cukortartalom alakulása

4.3.1.1. Cukortartalom hidegindukció nélkül

4.3.1.1.1. Standard fajták

A mákfajták cukortartalmára irányuló kísérletünk kezdeti lépéseként a természetes (stressz indukció nélküli) cukortartalmat kívántuk meghatározni az egyes genotípusokban. Arra szerettünk volna választ kapni, hogy az áttelelést jellemző vegetatív, tölevélrózsás fázisban van-e kimutatható mennyiségű oldhatócukor-tartalom a levelekben, és ez fajtaspecifikus tulajdonságnak tekinthető-e.

Májusban a legnagyobb oldhatócukor-tartalommal (fruktóz, glükóz, szacharóz) (8,405 mg/g) a 'Kozmosz' fajta rendelkezett, a szintén fagyűrő 'Leila'-ban viszont csaknem feleannyi cukrot detektáltunk (4,780 mg/g) (25. ábra). A tavaszi ökotípusú fajták közül 4 és 5 mg/g közötti értékeket mértünk továbbá a 'Medea'-ban, 'Korona'-ban és 'Ametiszt'-ben (4,635; 4,172 és 4,118 mg/g-ot). A 'Przemko' is csak kevéssel maradt el az előzőleg felsorolt fajtáktól (3,838 mg/g), míg a 'Minoán'-ban mértük a vizsgálatunkba bevont genotípusok közül a legcsekélyebb cukortartalmat (3,066 mg/g). Amennyiben összevetjük az őszi és a tavaszi ökotípusba tartozó fajtákat, nem találunk szignifikáns eltérést a két csoport átlagos értékei között (őszi átlagérték: 6,593 mg/g; tavaszi átlagérték: 3,966 mg/g).



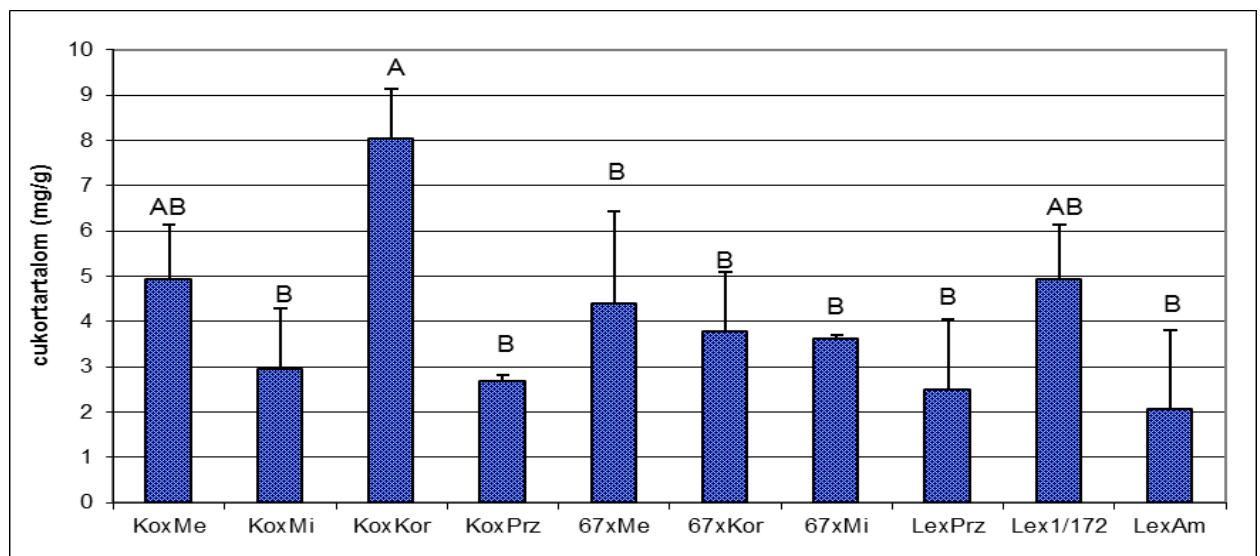
25. ábra: Az őszi- és a tavaszi ökotípusú fajták leveleinek cukortartalma 2009 májusában

Eredményeink tükrében megállapítható, hogy nincs számottevő különbség a fajták cukortartalma között, tavaszi vetés után, tölevélrózsás állapotban. Az őszi fajták nem halmoztak

fel szignifikánsan több cukrot, mint a tavasziak, így a vizsgálat eredményei alapján a fajták cukortartalma ebben az időszakban nem megbízható markerbélyeg a fagytolerancia jellemzésére.

4.3.1.1.2. Hibridek

A hibrid nemzedék különböző magas és alacsony alkaloidtartalmú keresztezéseinek, tölevélrózsás egyedeinek tavaszi időszakban mért cukortartalmát és a varianciaanalízis eredményeit a 26. ábra szemlélteti. Legmagasabb cukortartalom a 'Kozmosz' x 'Korona' hibridet jellemezte, mely szignifikánsan meghaladta a kombinációk többségét. A 'Leila' x 1/172 és a 'Kozmosz' x 'Medea' gyakorlatilag azonos mennyiségben halmozott fel oldható cukrot (4,944 és 4,943 mg/g), és e két hibrid cukortartalma nem különbözik szignifikánsan a 'Kozmosz' x 'Korona'-tól sem. A 67 x 'Medea', a 67 x 'Korona', valamint a 67 x 'Minoán' közel azonos eredményt adtak. 3,00 mg/g alatti értékeket csak a 'Kozmosz' x 'Minoán' (2,969 mg/g), a 'Kozmosz' x 'Przemko' (2,694 mg/g) és a 'Leila' x 'Przemko' (2,514 mg/g) hibridek esetében mértünk. A legkevesebb cukrot tartalmazó kombinációnak, 2,084 mg/g-mal a 'Leila' x 'Ametiszt' bizonyult (26. ábra).



Jelmagyarázat: KoxMe: 'Kozmosz' x 'Medea', KoxMi: 'Kozmosz' x 'Minoán', KoxKor: 'Kozmosz' x 'Korona', KoxPrz: 'Kozmosz' x 'Przemko', 67xMe: 67 x 'Medea', 67xKor: 67 x 'Korona', 67xMi: 67 x 'Minoán', LexPrz: 'Leila' x 'Przemko', Lex1/172: 'Leila' x 1/172, LexAm: 'Leila' x 'Ametiszt'.

26. ábra: A hibridek leveleinek cukortartalma 2009 májusában

A legmagasabb és a legalacsonyabb érték közötti különbség alapján igen jelentős variabilitás nyilvánul meg, hasonlóan a szülőfajtáknál tapasztaltakkal. A 'Kozmosz' utódok átlagos cukortartalma 4,665 mg/g, a 'Leila' utódoké 3,180 mg/g, míg a 67-es törzs utódaié 3,940 mg/g,

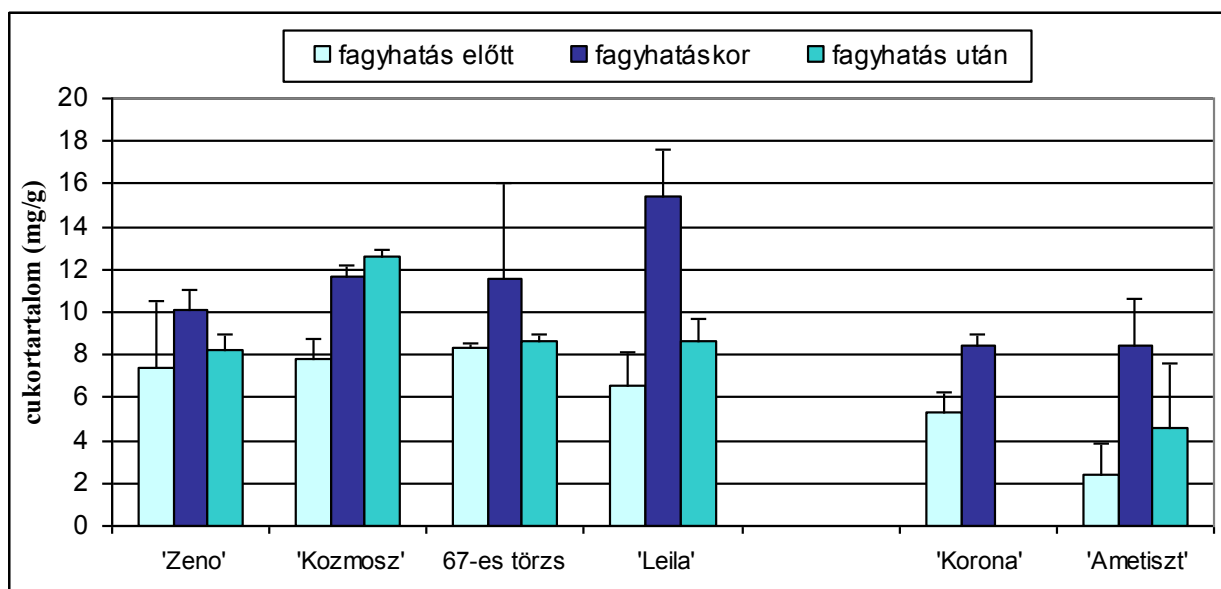
ami alapján megállapítható, hogy a szülőfajtákban mérhető oldhatócukor-tartalom nem tükrözi a hibridek cukortartalmának arányát.

4.3.1.2. Cukorakkumuláció a tél folyamán

4.3.1.2.1. Standard fajták

Ahogy számos más növényvel végzett kísérlet mutatja, az áttelelő szövetek oldható cukortartalma szoros összefüggésben állhat az adott növény fagyűrésével (BOURION et al., 2003; JACOBSEN et al., 2005, ZHANG et al., 2006; SHAHBA et al., 2003). Kísérletünk folytatásaként áttelelő vetésben vizsgáltuk meg a hőmérséklet szerepét a mákfajták oldható cukorakkumulációjára.

Az őszi vetést követően, novemberben, a fagyok beállta előtt az őszi ökotípusba tartozó fajták cukortartalma nem tért el jelentős mértékben egymástól. Az értékek 6,589 és 8,320 mg/g között változtak (27. ábra). Legnagyobb cukortartalommal a 67-es törzs rendelkezett, míg a legalacsonyabbat a 'Leila' fajta esetében regisztráltuk. A tavaszi vegetációs ciklusú, fagyérzékeny fajták kisebb mennyiségű cukrot tartalmaztak, bár ez csak az 'Ametiszt' mintáiban szignifikáns eltérés (7. táblázat). Legcsekélyebb cukormennyiség ebben a fajtában fordult elő (2,373 mg/g), míg a 'Korona'-ban 5,347 mg/g-ot mértünk.



27. ábra: A cukortartalom (glükóz, fruktóz, szacharóz) felhalmozódásának dinamikája az egész növényekben (gyökér, szár, levél) mérve, 2009 telén

7. táblázat: A fajták cukortartalmában fagyhatás előtt tapasztalt szignifikáns eltérések (*)

	'Zeno'	'Ametiszt'	'Korona'	'Kozmosz'	67-es törzs	'Leila'
'Zeno'		*				
'Ametiszt'	*			*	*	
'Korona'						
'Kozmosz'		*				
67-es törzs		*				
'Leila'						

Két hét fagyhatást követően minden fajtában számottevően nőtt a cukortartalom, s ez a varianciaanalízis alapján statisztikailag bizonyítható mind az őszi, mind pedig a tavaszi ökotípusú fajták esetében. Ezen méréseinket támasztják alá korábbi publikációk (BURBULIS et al., 2011; KLOTKE et al., 2004; CASTONGUAY et al., 2011), amelyekben a szerzők különböző stresszhatásra bekövetkező, emelkedett cukortartalmat közölnek más fajok esetében. A fagyűrő fajták közül a 'Leila' vonatkozásában csaknem két és félszeres növekedést állapítottunk meg (15,425 mg/g), mely egyben a legmagasabb mért értéket jelenti. Az őszi fajták sorából a legalacsonyabb cukortartalommal a 'Zeno' fajta rendelkezett (10,070 mg/g). A tavaszi, vagyis fagyérzékeny fajták tekintetében megállapíthatjuk, hogy fagyhatásra ugyan emelkedett a cukortartalmuk - 'Ametiszt'-ben három és félszeres növekedés következett be-, de még így is csekélyebb mennyiséget regisztráltunk, mint az ősziekben (27. ábra). A különbség statisztikailag csak a 'Leila' -hoz képest igazolt (8. táblázat).

8. táblázat: A fajták cukortartalmában fagyhatáskor tapasztalt szignifikáns eltérések (*)

	'Zeno'	'Ametiszt'	'Korona'	'Kozmosz'	67-es törzs	'Leila'
'Zeno'						
'Ametiszt'						*
'Korona'						*
'Kozmosz'						
67-es törzs						
'Leila'		*	*			

A fagyhatás elmúltával, a növények regenerálódását követően a fajták cukortartalma a 'Kozmosz' kivételével lecsökkent, és megközelítőleg visszaállt a fagyhatást megelőzően mért szintre (27. ábra). Ez a csökkenés statisztikailag alátámasztott mind a két ökotípus esetén. A 'Zeno', 67-es törzs és a 'Leila' cukortartalma közel azonos nagyságú volt (8,256; 8,638 és 8,624 mg/g), a 'Kozmosz' esetében ugyanakkor némi növekedést tapasztaltunk (12,589 mg/g), mely így jelentős eltérést mutatott az összes többi fajtától (9. táblázat). A tavaszi fajták közül az 'Ametiszt'-ben hasonló változás következett be, mint az ősziekben, a cukortartalom a fagyhatáskori értékhez viszonyítva majdnem a felére csökkent (4,587 mg/g). A legérzékenyebb

fajta, a 'Korona' a tél során teljes mértékben kifagyott, így tavasszal a mintavétel során már nem tudtuk vizsgálni.

9. táblázat: A fajták cukortartalmában fagyhatás után tapasztalt szignifikáns eltérések (*)

	'Zeno'	'Ametiszt'	'Korona'	'Kozmosz'	67-es törzs	'Leila'
'Zeno'				*		
'Ametiszt'				*	*	*
'Korona' ^a						
'Kozmosz'	*	*			*	*
67-es törzs		*		*		
'Leila'		*		*		

a: 'Korona' a tél során kifagyott

A fajták fagyhatáskor regisztrált, cukortartalomra vonatkozó értékeit összevetve az egyes genotípusok fagyűrésével, érdekes eredményre jutottunk (10. táblázat). Ez alapján összefüggést állapítottunk meg e két tulajdonság között ($r^2=0,774$), ahogyan ez más növényfajok esetén is bizonyítást nyert (JACOBSEN et al., 2005; SHAHBA et al., 2003). A 'Leila' a legmagasabb cukortartalommal a leginkább fagyűrő fajtának bizonyult. A 'Kozmosz' szintén magas cukortartalma ugyancsak jó fagytoleranciával párosult. A 'Zeno' cukortartalma mintegy kétharmada a 'Leila'-nak, míg fagyűrése közel a fele. A hasonló fagyűrésű 67-es törzs cukor értéke megközelíti a 'Kozmosz'-ét. A két tavaszi fajtáé lényegesen alacsonyabb, mint az őszié, és bár egymáshoz igen hasonló, a fagyűrésükben lényeges különbség mutatkozott.

10. táblázat: A fajták fagyhatáskor mért cukortartalma és téltűrése ($r^2=0,774$)

Fajták	Fagyhatáskor mért cukortartalom (mg/g)	Áttelelt egyedek (%)
'Leila'	15,425	93
'Kozmosz'	11,699	80
'Zeno'	10,070	53
67-es törzs	11,613	47
'Ametiszt'	8,434	27
'Korona'	8,467	0

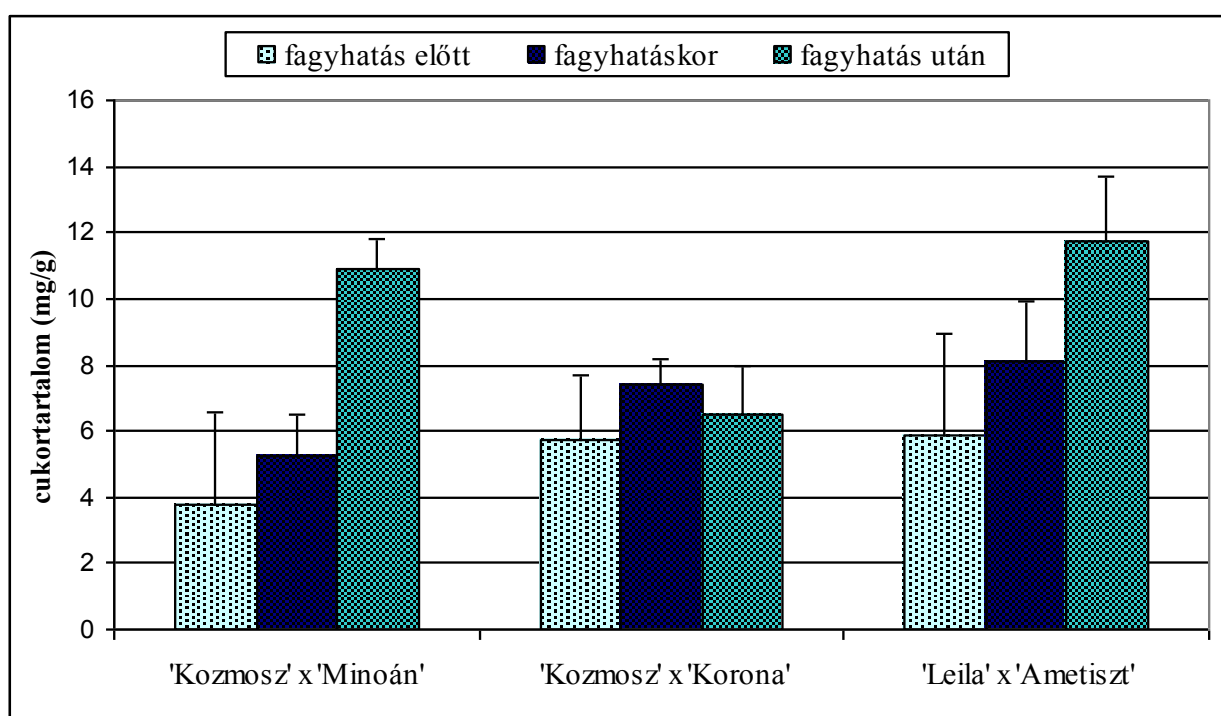
Vizsgálataink alapján tehát az oldhatócukor-tartalom és a fagytolerancia között összefüggés feltételezhető, ahogyan a korreláció szorosságára utaló r^2 érték is bizonyítja. Ezt a későbbiekben további kísérletekkel szükséges igazolni. Ugyanakkor úgy tűnik, a cukor-felhalmozódás valószínűleg nem csak ökotípusra, hanem fajtára is specifikus jelleg. Nagyságrendje a stressztolerancia vonatkozásában fontosabb, mint az indukció nélküli szinthez képest mért emelkedés mértéke.

A fagyhatáskor mért cukortartalom iránymutató lehet a nemesítés, honosítás során, mint markerbélyeg.

4.3.1.2.2. Hibridek

Néhány jellegzetes hibrid törzs esetében megvizsgáltuk azt is, hogyan változik az áttelelési időszak során a növényekben mérhető oldható cukor-tartalom.

A november végi mintavétel során a legalacsonyabb cukortartalmat a 'Kozmosz' x 'Minoán' hibridben mértük (3,800 mg/g), míg a másik két kombinációban szignifikánsan nem magasabb, közel hasonló értékeket detektáltunk (28. ábra).



28. ábra: A hibridek cukor-felhalmozódási dinamikája az egész növényekben (gyökér, szár, levél) mérve, 2009 telén

Két hetes fagypont alatti hőmérséklet hatására jelentősen nem emelkedett meg a hibridekben a cukortartalom, a növekmény mértéke átlagosan, megközelítőleg 2 mg/g volt. A legkisebb koncentrációt 5,220 mg/g-ot a 'Kozmosz' x 'Minoán' hibridben mutattuk ki ettől, a varianciaanalízis alapján, statisztikailag is bizonyíthatóan magasabb értékeket kaptunk a 'Kozmosz' x 'Korona' és a 'Leila' x 'Ametiszt' esetében (11. táblázat). Előbbiben 7,408 mg/g-ot, utóbbiban 8,074 mg/g-ot oldható cukor-tartalmat mértünk.

11. táblázat: A hibridek cukortartalmában fagyhatáskor tapasztalt szignifikáns eltérések (*)

Jelmagyarázat: KoxMi: 'Kozmosz' x 'Minoán', KoxKor: 'Kozmosz' x 'Korona', LexAm: 'Leila' x 'Ametiszt'.

	KoxMi	KoxKor	LexAm
KoxMi		*	*
KoxKor	*		
LexAm	*		

A fagyok elmúltával, a tavaszi mintavételkor a 'Kozmosz' x 'Korona' kombinációban esett vissza a cukortartalom, míg a másik két hibridben ettől eltérő tendenciát figyeltünk meg. A cukor mennyisége szignifikáns, átlagosan közel mintegy 1,7-szeres felhalmozódást mutatott a fagyhatáskor mértékhez képest. A hibridek cukortartalmában, a harmadik mintavételt követően tapasztalt szignifikáns eltéréseket a 12. táblázat tartalmazza.

12. táblázat: A hibridek cukortartalmában fagyhatás után tapasztalt szignifikáns eltérések (*)

Jelmagyarázat: KoxMi: 'Kozmosz' x 'Minoán', KoxKor: 'Kozmosz' x 'Korona', LexAm: 'Leila' x 'Ametiszt'.

	KoxMi	KoxKor	LexAm
KoxMi		*	
KoxKor	*		*
LexAm		*	

Eredményeinket összegezve a szabadföldi körülmények között, az alacsony hőmérsékletű napok után, a hibridnemzedékekben a standard fajtához képest kevésbé emelkedett meg az oldhatócukor-tartalom. Tavasszal, a hőmérséklet emelkedése szignifikáns változást indukált a növényekben, ami azonban –a szülőfajtához hasonlóan- genotípusonként eltérően jelentkezett. Feltételezhető, hogy ebben már más biotikus (ontogenetikus fejlettség, szervi differenciáltság, egészségi állapot) vagy abiotikus (pl. tápanyagellátás) hatások nagyobb szerepet játszanak, mint önmagában a hőmérséklet (KOCH, 2004; DAVID et al., 1998; ERICSSON, 1979; WHITE, 1973).

Amennyiben, alapul véve a mákfajták fagyhatáskori cukortartalma és fagyűrése közötti korrelációra vonatkozó eredményeket, összevetjük a hibridek második mintavételezéskor mért cukortartalmát a genotípusok fagytoleranciájával, azt tapasztalhatjuk, hogy szoros összefüggésben áll e két tulajdonság egymással ($r^2=0,781$), hasonlóan a standard fajtáknál tapasztaltakkal (lásd: 4.1.2.2. fejezet). A legtoleránsabb hibrideknek a 'Leila' x 'Ametiszt' és a 'Kozmosz' x 'Korona' mutatkozott, melyhez igen magas, 9, 652 és 8,078 mg/g cukortartalom párosult. A fagyűrés szempontjából legérzékenyebb kombináció, a 'Kozmosz' x 'Minoán' esetében ugyanakkor a legalacsonyabb cukor-felhalmozódást mértük (13. táblázat).

13. táblázat: A keresztezett utódnemzedék hibridjeinek fagyhatáskor mért cukortartalma és téltűrése ($r^2=0,781$)

Jelmagyarázat: KoxMi: 'Kozmosz' x 'Minoán', KoxKor: 'Kozmosz' x 'Korona', LexAm: 'Leila' x 'Ametiszt'.

Hibridek	Fagyhatáskor mért cukortartalom (mg/g)	Áttelelt egyedek (%)
LexAm	9,652	72
KoxKor	8,078	75
KoxMi	5,659	43

4.3.1.3. Szénhidrát-komponensek felhalmozódása

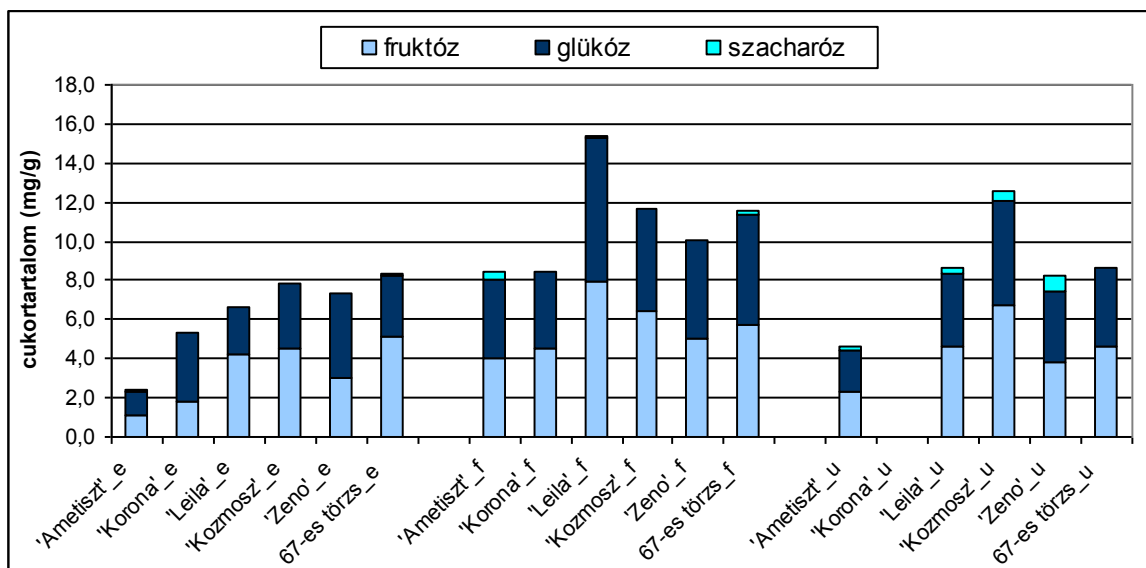
4.3.1.3.1. Standard fajták

A kísérletben vizsgált 6 mákfajta cukorkomponensei közül a fagyhatás előtti időpontban, átlagosan a legnagyobb mennyiségben fruktóz fordult elő (3,299 mg/g), míg glükóz 2,988 mg/g mennyiségben volt jelen, szacharózból pedig nagyon csekély, mindössze 0,027 mg/g-ot sikerült kimutatni (29. ábra).

Két hét fagyhatást követően nagymértékű változás állt be nem csak az összes oldható cukor-koncentrációban, hanem az egyes cukorkomponensek spektrumában is. A fruktóztartalom átlagosan a másfélszeresére emelkedett (5,599 mg/g), a glükózé pedig közel kétszeresére (5,234 mg/g), de még így is az előbbi komponens jelenléte volt a meghatározó. Mind a két esetben a növekmény statisztikailag igazolható, tehát szignifikáns változás következett be e két komponens esetében. A szacharóz mennyiségét tekintve szintén emelkedést tapasztaltunk (0,118 mg/g), de ez a növekedés nem volt számottevő.

Áprilisban, a fagyok elmúltával a cukorkomponensek mennyiségében ismét átalakulást figyeltünk meg. A fajtákban összességében a fruktóz és a glükóztartalmat tekintve csökkenés indult meg (4,433 és 3,762 mg/g), melyek közül csak a glükóz mennyiségének változása volt szignifikáns. Ezzel ellentétben az addig igen kis mennyiségben felhalmozódó szacharóz jelentős mértékben, átlagosan közel háromszorosára emelkedett (1,344 mg/g) (29. ábra).

A vizsgálatba vont genotípusokat külön-külön értékelve megállapíthatjuk, hogy az első mintavételi időpontban a 67-es törzs (5,148 mg/g) tartalmazta a legnagyobb mennyiségű fruktózt, míg a glükóztartalma a 'Zeno'-nak volt a legmagasabb (4,322 mg/g). E főkomponensek közül a legalacsonyabb értékeket az 'Ametiszt' esetében kaptunk. Szacharózt ekkor a fajták közül egyedül az 'Ametiszt'-ben és a 67-es törzsben sikerült detektálni (0,087 és 0,074 mg/g) (29. ábra).



29. ábra: A fajták szénhidrát-komponenseinek felhalmozódási dinamikája 2009 telén, fagyhatás előtt („e”), fagyhatáskor („f”), valamint fagyhatás után („u”)

A fagy hatására nagy mennyiségű fruktóz (7,981 mg/g), illetve glükóz (7,321 mg/g) indukálódott a kiváló fagyűrő képességgel rendelkező 'Leila' fajtában, szignifikáns változást eredményezve a korábbi értékekhez képest (14. táblázat). Legkisebb mennyiségű fruktózt, 4,009 mg/g-ot az 'Ametiszt' tartalmazott, viszont ugyanezen fajta halmozott fel szacharózt a legnagyobb mennyiségben (0,339 mg/g). A legkevesebb glükózt (3,991 mg/g) a 'Korona'-ban mértük.

Tavasszal a legnagyobb fruktóz és glükózmennyiséget a 'Kozmosz'-ból mutattuk ki (6,768; 5,296 mg/g), míg a legmagasabb szacharóztartalmat pedig a 'Zeno' fajta leveleiben találtuk (0,785 mg/g). Legcsekélyebb mennyiségű fruktózt és glükózt -az őszi méréshez hasonlóan- az 'Ametiszt' tartalmazta (2,327 és 2,128 mg/g). A fajták közül csupán a 67-es törzs nem halmozott fel kimutatható koncentrációjú szacharózt.

14. táblázat: A fajták cukorkomponenseiben a fagy előtt (A), fagyhatáskor (B), illetve fagyhatás után (C) tapasztalt szignifikáns eltérések (*)

fajták	fruktóz	glükóz	szacharóz
'Zeno'			BC*, AC*
'Ametiszt'		AB*	
'Korona'	AB*		
'Kozmosz'	AB*, AC*	AB*, AC*	BC*, AC*
67-es törzs			
'Leila'	AB*, CB*	AB*, CB*	

Amennyiben összevontan értékeljük az őszi és a tavaszi ökotípus-csoportba tartozó fajták szénhidrát-komponenseinek felhalmozódási dinamikáját, a statisztikai elemzések alapján

megállapíthatjuk, hogy a fagyűrő fajták esetében számos statisztikailag is igazolható változás következett be, szemben a fagyérzékeny fajtákkal, melyekben csupán a fruktóztartalom tekintetében figyeltünk meg számottevő emelkedést (15. táblázat). Az őszi fajták esetében a fruktóz- és a glükóztartalom vonatkozásában is szignifikáns változásokat tapasztaltunk mind a fagyok beálltát követően, mind pedig az ismételt hőmérséklet emelkedésre. Az őszi fajtákban detektált szacharóz értékek is folyamatos növekedést mutattak, ami a fagypon alatti hőmérsékletekkel szignifikáns mértékűvé vált.

15. táblázat: Az őszi- és tavaszi ökotípusok összehasonlítása a szénhidrát-komponensek változásai alapján fagy előtt (A), fagyhatáskor (B), illetve fagyhatás után (C) (szignifikáns eltérések:*)

szénhidrát-komponens	őszi fajták	tavaszi fajták
fruktóz	AB*, BC*	AB*, BC*
glükóz	AB*, BC*	
szacharóz	AC*, BC*	

Összegezve a cukortartalomra vonatkozó eredményeinket, sikerült az 5-6 lomblevelés állapotban lévő máknövényekből oldhatócukor-tartalmat detektálni. Ebben a fázisban a növény felkészül a hideg periódusra és képes az áttelelésre. Fagyhatás nélkül azonban semmiféle kapcsolatot nem tudtunk megállapítani a genotípusok téltűrése és cukortartalma között. A cukortartalom szignifikáns emelkedését két hét fagyhatást követően sikerült kimutatni, mind az őszi, mind pedig a tavaszi ökotípusú fajtákban, ami feltételezhetően hozzájárul az adott genotípus fagyűréséhez. Ezt bizonyítja az a pozitív korreláció, melyet a fajták oldhatócukor-tartalma és fagyűrése között találtunk. Ezen eredmények egy jellegzetes szezonális és/vagy ontogenetikus dinamikát feltételeznek, mely a mákban is megnyilvánul, hasonlóan más kertészeti növényekhez (BOURION et al., 2003; JACOBSEN et al., 2005, ZHANG et al., 2006). Kísérleteink arra nem adtak választ, hogy a cukortartalom értékek kezdeti szintre való visszaállása pontosan mikor következik be. A cukortartalom csökkenése ugyanis nem mindegyik fajtára volt jellemző, ezért nem kizárható, hogy a genotípus mellett egyéb faktorok is -mint például a fejlettségi fázis- szerepet játszanak ebben a folyamatban.

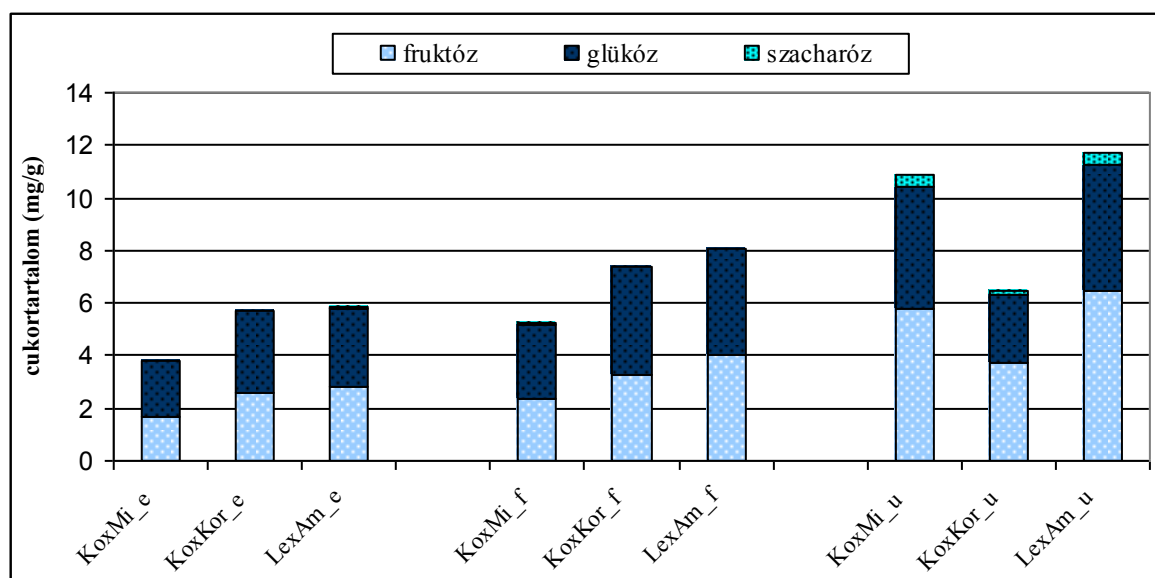
Az egyes cukorkomponensek aránya is jellegzetes változást mutat a hőmérséklet változásával. Fagyhatásra a fruktóz- és a glükóztartalom szignifikánsan megemelkedett, a szacharóz értékek viszont csak a növények regenerálódását követően, tavasszal indultak bizonyíthatóan növekedésnek. Ez arra enged következtetni, hogy csökken a kismolekulájú cukrok ozmoprotektáns szerepe és megindul a tápanyag felhalmozódás. SHAHBA et al. (2003) *Distichlis spicata* esetében hasonló megfigyelésekről számolt be. A glükóz, fruktóz, raffinóz,

sztachióz látványos szezonális változást mutatnak, míg a szacharóz felhalmozódásának dinamikája kevésbé magyarázható, és nem áll összefüggésben a fagytoleranciával. Kísérletünkben a fagyűrő 'Leila' fajta halmozta fel a legnagyobb mennyiségű fruktózt és glükózt, mely eredmény megegyezik azzal, miszerint a hidegtűrő mutáns búzafajták nagyobb arányban tartalmazzák a két említett komponenst, mint a vad típusok (DÖRFFLING et al., 2009).

Megállapítható tehát, hogy hasonlóan más fajokhoz (VÁGÚJFALVI et al., 1999), a megnövekedett szénhidrát-tartalom szerepet játszhat a mák fagyűrésében. Ezen eredmények egy gyors szkrínmódszer fejlesztésének lehetőségét rejtik magukban, amely az őszi ökotípusú mákfajták nemesítése során, a téltűrésre való szelektálás folyamatát gyorsíthatja fel. Annak érdekében azonban, hogy a cukortartalom és a komponensek megbízható markerként szolgáljanak a fagyűrésre, további vizsgálatokra van szükség az akklimatizációs periódus pontos definiálásához.

4.3.1.3.2. Hibridek

Az értékelésbe bevont három hibridben a szénhidrát-komponensek közül a fagyhatást megelőzően legnagyobb arányban, (átlagosan 2,752 mg/g) a glükóz volt jelen, míg a fruktóz ennél kisebb koncentrációban (2,342 mg/g) volt kimutatható (30. ábra). Szacharózt egyedül a 'Leila' x 'Ametiszt' hibridben mértünk, elenyészőnek tekinthető mennyiségben (0,084 mg/g).



Jelmagyarázat: KoxMi: 'Kozmosz' x 'Minoán', KoxKor: 'Kozmosz' x 'Korona', LexAm: 'Leila' x 'Ametiszt'.

30. ábra: A szénhidrát-komponensek felhalmozódási dinamikája a hibrid nemzedékben, 2009 telén, fagyhatás előtt („e”), fagyhatáskor („f”), valamint fagyhatás után („u”)

A második mintavétel időpontjában a cukorkomponensek mennyiségében némi emelkedést figyeltünk meg a glükóz és fruktóztartalomban, ami azonban nem szignifikáns. A komponensek arányaiban nem történt változás, a fagyhatás előtti mintavételhez hasonlóan a domináns komponens a glükóz volt. Ebből átlagosan 3,663 mg/g-ot detektáltunk a hibridekben, míg a fruktóz 3,214 mg/g koncentrációban volt jelen. Habár a szacharóztartalomban jelentős eltérést nem mutattunk ki a két időpontban, csekély mértékű emelkedést detektáltunk. A fagyok bekövetkeztekor a szacharózt már mindhárom hibridből ki tudtunk mutatni.

A statisztikai méréseink tanúsága alapján tavasszal, a fagyok elmúltával szignifikáns változások következtek be a fruktóz és a szacharóztartalom tekintetében. Előbbi szénhidrátkomponens mennyisége átlagosan több mint másfélszeresére, utóbbi tizenötszörösére emelkedett. A glükóztartalom vonatkozásában nem tapasztaltunk jelentős módosulást (4,005 mg/g). A komponensek egymáshoz viszonyított aránya az előzőekhez hasonlóan alakult. A fruktózt találtuk a hibridekben átlagosan a legnagyobb mennyiségben (5,322 mg/g), majd ezt követően glükózt (4,005 mg/g) és végül szacharózt (0,370 mg/g).

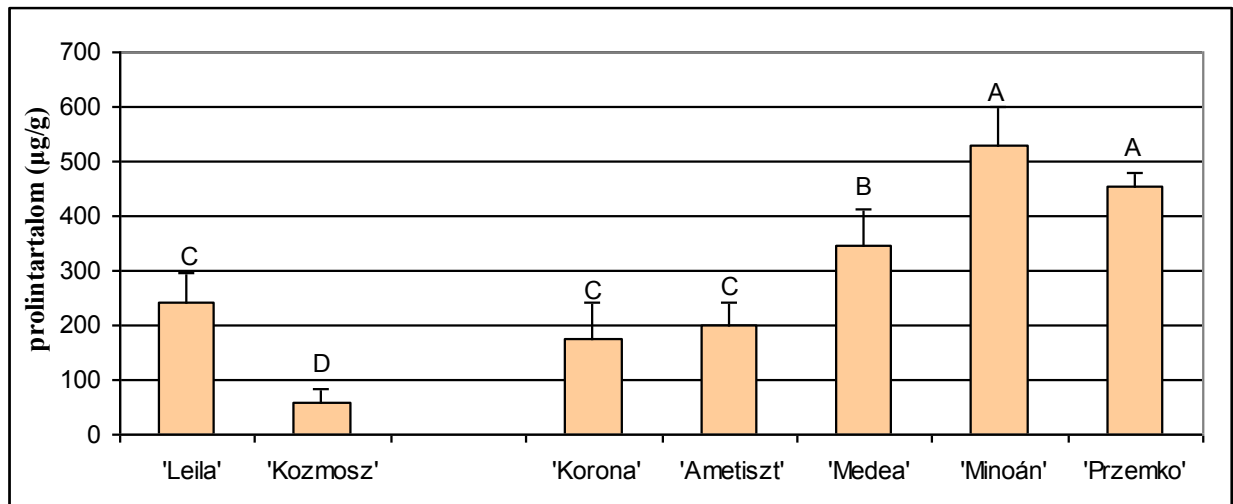
Összegezve eredményeinket elmondható, hogy a standard fajtákhoz hasonlóan, a hibrid nemzedékben esetén is a leginkább fagytoleráns kombináció, a '*Kozmosz*' x '*Korona*' és a '*Leila*' x '*Ametiszt*' halmozta fel a legtöbb glükózt és fruktózt, míg a legkevesebbet a legkevesbé fagyűrő törzs. Eredményeink szerint a hibridekben a standard fajtákhoz hasonló dinamika mutatkozik: a második mintavételi időpontban a cukortartalom a glükóz javára tolódik el (az össz. cukortartalom 52-54 %-a). Tavasszal szignifikáns emelkedés figyelhető meg a szacharóztartalomban minden vizsgálatba vont genotípus esetében. Ez arra enged következtetni, hogy csökken a kismolekulájú cukrok ozmoprotektáns szerepe és megindul a tápanyag felhalmozódás.

4.3.2. A prolintartalom alakulása

4.3.2.1. Prolintartalom hidegindukció nélkül

4.3.2.1.1. Standard fajták

A 2009 májusában, szabadföldön, tölevélrózsás állapotban szedett minták alapján a vizsgált hét fajta közül a legmagasabb prolintartalmat (529,231 µg/g) az egyik tavaszi ökotípusú fajtában, a '*Minoán*'-ban mértük (31. ábra). A második legmagasabb prolintartalommal rendelkező fajta a '*Przemko*' volt (455,787 µg/g). E két genotípusban statisztikailag igazolhatóan magasabb a prolintartalom az összes többi fajtához viszonyítva. A '*Medea*' 347,814 µg/g prolint halmozott fel, míg a legalacsonyabb koncentrációt az '*Ametiszt*' (199,470 µg/g), valamint a '*Korona*' (176,747 µg/g) esetében detektáltuk.



31. ábra: Az őszi- és a tavaszi ökotípusú fajták leveleinek prolintartalma 2009 májusában

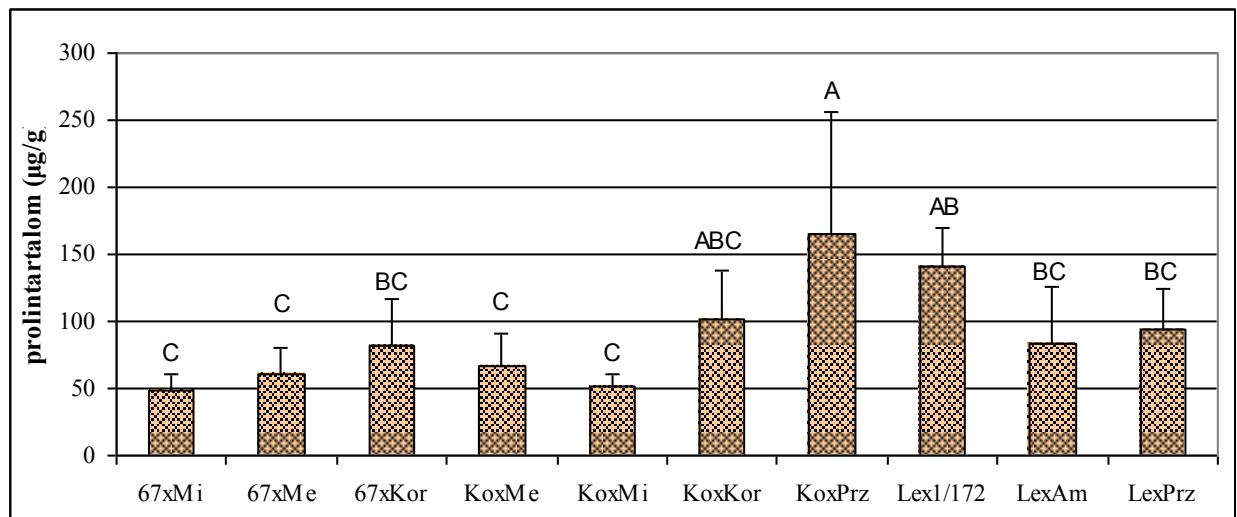
Az őszi, fagytoleráns fajták tekintetében elmondható, hogy az áttelelő termesztésre leginkább alkalmas 'Leila' csupán 239,720 µg/g prolint tartalmazott, alig többet, mint a rendkívül fagyérzékeny 'Korona' és 'Ametiszt'. A szintén fagytoleráns 'Kozmosz' pedig a vizsgálatba vont összes fajta közül a legkevesebb prolint halmozta fel (56,353 µg/g).

Összességében, e májusi időpontban, a tavaszi fajtákban szignifikánsan nagyobb prolin-koncentráció fordult elő, mint az ősziekben.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a máknövények prolin-koncentrációja már a növények 5-6 lomblevelés állapotában mérhető. A detektálható érték inkább fajtajelleg, mint az ökotípushoz köthető tulajdonság.

4.3.2.1.2. Hibridek

A prolin előfordulását a standard fajtákkal együtt kitermesztett, néhány keresztezett F3 utódnemzedékbe tartozó hibrid esetén is megvizsgáltuk. A különböző kombinációk növényegyedeiben, vegetatív fázisban, hidegindukció nélkül felhalmozódó ozmoprotektáns molekula alakulását a 32. ábra illusztrálja.



Jelmagyarázat: 67xMi: 67 x 'Minoán', 67xMe: 67 x 'Medea', 67xKor: 67 x 'Korona', KoxMe: 'Kozmosz' x 'Medea', KoxMi: 'Kozmosz' x 'Minoán', KoxKor: 'Kozmosz' x 'Korona', KoxPrz: 'Kozmosz' x 'Przemko', Lex1/172: 'Leila' x 1/172, LexAm: 'Leila' x 'Ametiszt', LexPrz: 'Leila' x 'Przemko'.

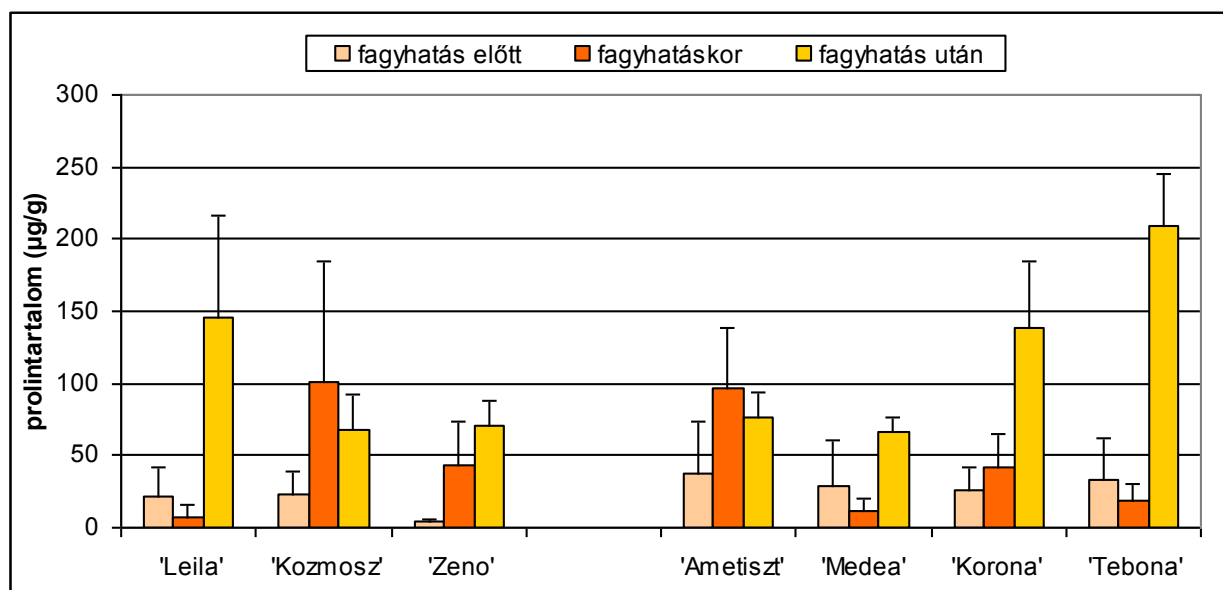
32. ábra: Az F3 nemzedékbe tartozó hibridek leveleinek prolintartalma 2009 májusában

Legkiemelkedőbb prolintartalommal a 'Kozmosz' x 'Przemko' hibrid rendelkezett (164,939 µg/g), mely ezáltal, a statisztikai elemzések (varianciaanalízis) alapján külön homogén csoportba sorolható. Ettől az értéktől szignifikánsan nem minősült alacsonyabbnak a 'Leila' x 1/172 kombináció prolin-koncentrációja (141,106 µg/g). A 'Kozmosz' x 'Korona', a 'Leila' x 'Przemko', a 'Leila' x 'Ametiszt' és a 67 x 'Korona' kombinációk prolintartalmukkal képviselték a köztes értékeket, átlagosan 90,421 µg/g-ot tartalmaztak, míg a legalacsonyabb szintek 48,851 és 66,947 µg/g között változtak.

4.3.2.2. Prolin akkumuláció a tél folyamán

Az első mintavételi időpontban, november végén, a fagy pont alatti hőmérsékletek bekövetkezése előtt a vizsgált fajták prolin-koncentrációja között nem tapasztaltunk számottevő különbséget (33. ábra). A tavaszi vegetációs ciklusú fajták vonatkozásában a legmagasabb prolintartalmat (38,216 µg/g) az 'Ametiszt' esetében regisztráltuk. Ettől az értéktől valamelyest alacsonyabb, egymástól szignifikánsan nem különböző értékeket mértünk a 'Medea', 'Korona' és 'Tebona' fajtákban (32,632; 28,221 és 25,818 µg/g). A fagyűrész szempontjából toleránsnak ismert genotípusok is közel hasonló eredményeket adtak, mint a tavasziak. Közülük a legmagasabb prolin-koncentrációt a 'Kozmosz' fajtában detektáltuk (22,465 µg/g), ettől kevéssel maradt le 22,245 µg/g-mal a 'Leila', míg lényegesen, nagyságrenddel alacsonyabb prolin-

felhalmozódást mutatott a 'Zeno' (3,766 $\mu\text{g/g}$). Mindezen novemberi értékek között ökotípustól függetlenül nincs szignifikáns különbség.



33. ábra: A prolin-felhalmozódás dinamikája az egész növényekben (gyökér, szár, levél) mérve, 2010 telén

Egy hetes fagypont alatti hőmérsékletek után már mérhető változások mutatkoztak a fajták prolin-koncentrációjában. Ez a változás azonban eltérően nyilvánult meg a vizsgált genotípusokban. A tavaszi fajták közül a legnagyobb mértékű krioprotektáns anyag akkumulációját, két és félszeres emelkedést az 'Ametiszt' esetében tapasztaltunk (96,010 $\mu\text{g/g}$), míg ettől kisebb arányú, de pozitív irányú változást a 'Korona'-ban (42,077 $\mu\text{g/g}$) találtunk (33. ábra). Ezen fajtákkal ellentétben csökkenő tendenciát figyeltünk meg a 'Tebona' és a 'Medea' fajták prolintartalmában (19,241 és 11,335 $\mu\text{g/g}$), mely utóbbié a tavaszi fajták között mért legalacsonyabb érték. A fagyűrő genotípusok közül a legmagasabb felhalmozódási értéket, mintegy négy és félszeres növekményt (100,786 $\mu\text{g/g}$) a 'Kozmosz'-ban detektáltunk. Ettől kisebb mértékű, de arányát tekintve jelentős, csaknem tizenkétszeres növekedést (43,307 $\mu\text{g/g}$) a 'Zeno' esetében mértünk. A fagytoleráns fajták közül egyedül a 'Leila'-ban figyeltünk meg csökkenést fagy hatására a prolin-tartalomban (7,874 $\mu\text{g/g}$). A statisztikai elemzések alapján az összes fajtát egybevetve a 'Leila' alacsony és a 'Kozmosz' kimagasló adata között van csupán szignifikáns differencia. Ez arra utal, hogy az egy hét 0 °C alatti hőmérséklet indukálta prolintartalom változások nem kapcsolhatók az őszi jelleghez.

Tavasszal, a harmadik mintavételkor az esetek többségében (7-ből 5 fajtában) feltűnően megemelkedtek a prolin-koncentráció értékek. A tavaszi ökotípusú fajták esetében ez szignifikánsnak is bizonyult, ellentétben az ősziakkal. A 'Leila' mintáiban tizennyolc és félszeres

növekedést regisztráltunk (145,372 µg/g), ami az őszi ökotípusú fajták között a legmagasabb érték. A fagytoleráns genotípusok közül egyedül a 'Kozmosz' fajta prolin-koncentrációja csökkent a hőmérséklet emelkedésével. A tavaszi fajták közül a 'Tebona' prolintartalma növekedett meg a legnagyobb mértékben (209,410 µg/g), az összes fajta vonatkozásában ez a legkimagaslóbb érték. A tavasziak közt is előfordult azonban egy olyan fajta ('Ametiszt'), ahol a többivel ellentétesen változott, azaz csökkent a prolinszint (76,962 µg/g). A statisztikai elemzés alapján a fajták prolin-koncentrációja között a tavaszi mintavételezéskor tapasztalt szignifikáns differenciákat a 16. táblázat szemlélteti.

16. táblázat: A fajták prolintartalmában fagyhatás után tapasztalt szignifikáns eltérések (*)

	'Leila'	'Kozmosz'	'Zeno'	'Ametiszt'	'Medea'	'Korona'	'Tebona'
'Leila'		*	*	*	*		
'Kozmosz'	*					*	*
'Zeno'	*					*	*
'Ametiszt'	*						*
'Medea'	*					*	*
'Korona'		*	*		*		*
'Tebona'		*	*	*	*	*	

Vizsgálataink eredményei alapján tehát megállapítható, hogy egy hét fagypon alatti hőmérséklet után a fagyérzékeny fajtáknak ismert 'Ametiszt' és 'Korona' tartalmazta a legnagyobb mennyiségű prolint (96,010; 42,077 µg/g), míg a fagytoleráns 'Leila'-ban mért érték az előbb említetteknek csupán a töredéke (7,874 µg/g) volt. Ez arra utal, hogy az egy hét fagyhatás után mért prolintartalom és az egyes genotípusok fagytoleranciája nem korrelál egymással. Adataink azt mutatják, hogy az egy hetes fagyhatás szabadföldön nem indukál nagymértékű prolin-akkumulációt a máknövényekben. Ez eltér több más fajtól, (pl. kölesfélék, repce) amelyekről a közlések szerint bebizonyosodott, hogy a prolintartalom és a fagytolerancia között pozitív korreláció áll fenn (CAI et al., 2004; PATTON et al., 2007; BURBULIS et al., 2011). BANDURSKA et al. (2009) tapasztalatai alapján, a prolintartalom és a membrán károsodása között negatív korreláció mutatható ki, ami szintén jelzi a prolin krioprotektánsként betöltött szerepét. Saját eredményeinkkel összhangban azonban néhány esetben más fajokban sincs szoros kapcsolat a fagyűrés és a prolintartalom között (JACOBSEN et al., 2005). Habár a fagyhatásnak kitett, fagytoleráns és érzékenyebb quinoa (*Chenopodium quinoa*) fajták esetében is növekedésnek indult a prolintartalom, az utóbbiakban magasabb szintet detektáltak.

4.3.2.3. A prolintartalom dinamikájának ellenőrzése kontrollált környezetben

4.3.2.3.1. Mákra adaptált, *in vitro* fagyteszt kidolgozása

A mák genotípusok „őszi” és „tavaszi” jellegének megbízható és gyors elkülönítésére munkánk során nyolc lépcsős kísérletsorozatban egy *in vitro* tesztmódszert dolgoztunk ki (JÁSZBERÉNYI és NÉMETH, 2011a). Mivel a mák fagytűrésének még az alapjai sem ismeretesek a szakirodalomban, ezért a kísérletek folyamán négy fontos technikai kérdésre kerestük a választ. 1.) Milyen fejlettségi fázisban lévő mák növényt célszerű alkalmazni a fagytűrés tesztelésére? 2.) Milyen teszthőmérsékleten és mennyi ideig történjen az edzés? 3.) Milyen hőmérsékleten és milyen hosszban végezzük a fagytűrés tesztelését? 4.) Milyen körülmények között és mennyi ideig regeneráltassuk a stressznek kitett növényeket ahhoz, hogy az életben maradás egyértelműen megállapítható legyen?

Információt csupán a gabonafélék fagytűrésével kapcsolatos közlések (pl. GALIBA et al., 2009; VÁGÚJFALVI et al., 1999) jelentettek, bár egy alapvető különbség mutatkozik e fajok és a mák között: a gabonafélékben a hideghatás a generatív differenciálódással is összefügg, míg a mák vernalizációt nem igényel.

Az első vizsgálati szakaszban tisztáztuk a tesztelésre legalkalmasabb *fejlettségi állapotot* (17. táblázat). A gyakorlati termesztésben az áttelelésre -a vetésidőtől és az őszi időjárástól függően- a szikleveles állapottól a 6-7 leveles állapotig sokféle nagyságban kerülhet sor. Korábban a különböző fejlettségű növények áttelelő potenciálját soha nem hasonlították össze szisztematikusan. Vizsgálataink során most megállapítottuk, hogy a szikleveles mákok már rövid ideig tartó fagy hatására is minden esetben elpusztulnak, tehát tesztelésre nem alkalmasak (17. táblázat). A legfejlettebb növények túlélésében csak -4 °C-on jelentkezik nagyobb eltérés. A homogén, 3-4 leveles vagy 6-7 leveles állapotot azonban több kísérletünk tanúsága szerint szakaszos vetéssel sem lehet egységesen biztosítani egyazon populációban. Ezért mindezek alapján a továbbiakban a fejlettség tekintetében a 4-6 leveles állapotot jelöltük meg, mint tesztelésre célszerű nagyságot.

17. táblázat: Különböző fejlettségű máknövények fagytűrése (megmaradt egyedek aránya %) csökkenő hőmérsékleteken, fitotronban (2008)

Fejlettség	'AI' (tavaszi)				'Kozmosz' (őszi)			
	0 °C	-2 °C	-4 °C	-6 °C	0 °C	-2 °C	-4 °C	-6 °C
	4 nap	3 nap	3 nap	3 nap	4 nap	3 nap	3 nap	3 nap
6-7 leveles	81	79	0	0	91	97	77	0
4 leveles	96	10	0	0	71	54	5	0
szikleveles	49	0	0	0	43	4	0	0

A fentiekkel párhuzamosan folyt a hőmérséklet optimalizálása is. Az *előneveléshez* a mák ismert csírázási és kelés utáni optimum hőmérsékletét (BERNÁTH, 2013) továbbá a korábbi, mákkal végzett fitotronos kísérletek tapasztalatait (BERNÁTH et al., 1988; NÉMETH és BERNÁTH, 2003; NÉMETH et al., 2009b) vettük figyelembe. Eszerint 15/10 °C nappali/éjszakai hőmérsékletet állítottunk be nevelési hőmérsékletnek egészen az indukciós program kezdetéig. Összesen 8 *in vitro* teszt során tapasztalataink szerint ezen a hőmérsékleten 7 hét alatt 4-6 leveles, egészséges növényeket kaptunk, így módosításra nem volt szükség.

A legcélszerűbb *edzési hőmérséklet* megállapításához kiindulási alapunk a hazai őszi –téli eleji ökológiai feltételek ismerete, valamint a gabonákkal kapcsolatos információk szolgáltak. A megfelelő felkészüléshez a növénynek a fagypont közeli hőmérsékleten edződésre van szüksége, ami vagy alternáló hőmérséklettel vagy szakaszos lehűtéssel, vagy két lépcsőben oldanak meg a gyakorlatban (TISCHNER et al., 1997; VEISZ, 1997). Előkísérleteink és tanszéki tapasztalatok alapján a 4 napig +2 °C-on majd 4 napig 0 °C-on való edzést jelöltük meg, mint célszerű hőmérsékleti tartományt.

A *fagyasztási* (indukciós) hőmérséklet tekintetében első eredményeink alapján (17. táblázat) megállapítottuk, hogy a mák számára a kritikus hőmérséklet -2 és -4 °C között várható, az alkalmazott 3 napos időtartamban ezen értékek között várható a legjellemzőbb eltérés a kétféle ökotípus között. A -2 °C-on való tesztelés további optimalizálásához az időtartamra vonatkozóan is több teszt sorozatot végeztünk el (18. táblázat). Annak ellenére, hogy a tesztet minden alkalommal a genetikailag azonos magtípusokból folytattuk, az adatok azt bizonyították, hogy a 3 napig -2 °C-on történő fagyasztás nem ad reprodukálható eredményt. Megállapítottuk, hogy ez a hőmérsékleti pont az a határeset a mák számára, ami -hótakaró nélkül- valószínűleg a talajnedvesség, a növények egyedi ellenálló képessége, az állománysűrűség vagy egyéb tényezők hatására csak nagy szórásokkal jellemezhető eredményt ad.

18. táblázat: Őszi és tavaszi fajták fagyűrése -2 °C-on, fitotronban, különböző vizsgálati ciklusokban (2009)

Fajták	<i>In vitro</i> fagyűrészvizsgálat eredményei (megmaradt egyedek aránya kezelésenként)		
	-2 °C, 3 nap április	-2 °C, 3 nap július	-2 °C, 3 nap augusztus
'Zeno'	50%	19%	100%
'Leila'	61%	21%	95%
'Korona'	0%	0%	58%
'Al'	0%	0%	65%

A részeredmények szerint tehát a -2 °C -on való indukció időtartama vagy módosításra szorult, vagy más hőmérséklettel volt érdemes kombinálni. Az indukciós hőmérséklet hosszának módosítása, illetve egy következő lépcső, a -3 °C beiktatása közül ez utóbbival folytattuk munkánkat. Az összefoglaló eredményeket a 19. táblázat mutatja. A -2 °C után alkalmazott -3 °C legkedvezőbb időtartamának a további tesztek alapján az 5 napos periódus bizonyult, ahol az őszi és a tavaszi ökotípus markáns és megbízható eltéréssel reagált a fagyhatásra.

19. táblázat: Őszi és tavaszi fajták fagytűrése a -3 °C -os tesztelés hosszának függvényében fitotronban (2009, 3 teszt átlaga)

Fajták	<i>In vitro</i> fagytűrésvizsgálat eredményei (megmaradt egyedek aránya kezelésként)		
	-3 °C , 3 nap	-3 °C , 5 nap	-3 °C , 9 nap
'Zeno'	80 %	57 %	0 %
'Leila'	71 %	64 %	0 %
'Korona'	15 %	0 %	0 %
'AI'	22 %	4 %	0 %

A fagytűrési arány pontos megállapításához a növények *regenerációs körülményeinek* optimalizálása is kiemelten fontos. Kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy erre a célra a $10/8\text{ °C}$ -os hőmérséklet nem bizonyult megfelelőnek, a növények legnagyobb része 2 hét alatt nem tudott regenerálódni. Ugyancsak nagyarányú pusztulást okozott a túlzott, $25/20\text{ °C}$ feletti felmelegedés. A legalkalmasabb hőmérséklet az életben maradt növények arányának meghatározására az előneveléshez hasonlóan a $15/10\text{ °C}$ (nappali/éjjeli) hőmérsékleti program (20. táblázat). Ezen hőmérsékleten a még életképes növények 2 hét alatt kizöldülnek, és új levélkezdeményeket is hozhatnak. A fagyhatást túlélni nem képes, - bár kezdetben még zöldellő egyedek - ugyanakkor jellegzetes kiszáradásos tüneteket mutatva elpusztulnak.

20. táblázat: Őszi és tavaszi fajták tömegmaradása különböző hőmérsékletű regeneráltatási periódus után (-2 °C 3 nap, -3 °C 5 nap indukció után) (2009, 3 teszt átlaga)

Fajták	<i>In vitro</i> fagytűrésvizsgálat eredményei (megmaradt egyedek aránya kezelésként)		
	$10/8\text{ °C}$, 2 hét	$10/15\text{ °C}$, 2 hét	$25/20\text{ °C}$, 2 hét
'Zeno'	31 %	57 %	5 %
'Leila'	20 %	64 %	2 %
'Korona'	0 %	0 %	0 %
'AI'	1 %	4 %	0 %

A mák növények fagyűrésének teszteléséhez tehát legkedvezőbb a fokozatos lehűtés, és a fagypont alatti hőmérsékleteken összesen, legfeljebb 8 napig tartó kezelés és mérsékelt hőmérsékleten, tartós regeneráltatás. Az összesen 8 lépcsőből álló kísérletsorozat alapján az alábbiak szerint határozható meg a fagytolerancia vizsgálatok metodikája.

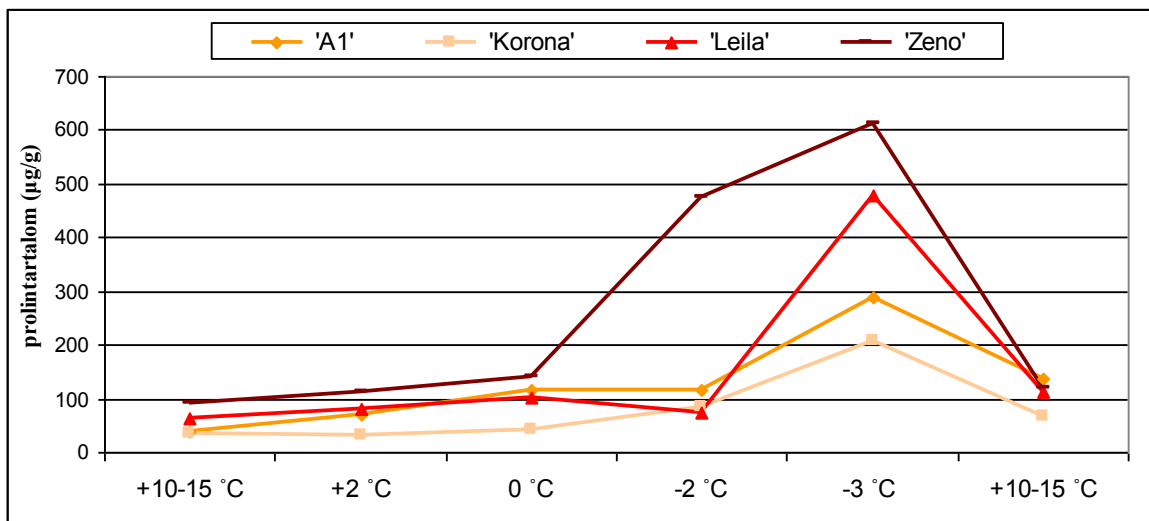
- A mák növények előnevelését 15/10 (nappal/éjjel) °C-on folytatjuk a vetéstől a 4-6 lombleveles állapot eléréséig.
- A teszt növények edzését 4 napig, +2 °C-on majd 4 napig 0 °C-on folytatjuk.
- A fagystresszindukciót a következő kondíciók adják: -2 °C (3 napig), majd -3 °C (5 napig).
- A regeneráltatáshoz 14 napig tartó, 15/10 °C-os nappali/éjszakai hőmérsékletet állítunk be.

Az előnevelést és a regeneráltatást 14000 lux (12/12 nappali/éjszakai) megvilágítás mellett, az edzést és a fagyindukciót csökkentett fényerőséggel, (4000 lux) és szintén rövidnappalos feltételek között végezzük. Ennek alapja a korábbi szakirodalmi és saját tapasztalatok (BERNÁTH et al., 1988; NÉMETH és BERNÁTH, 2003).

E speciálisan a mákra kidolgozott teszt módszer a mák kétféle ökotípusának elválasztására standard körülményeket biztosít és statisztikailag megbízható eredményt produkál. A reprodukálhatóságot jelző variációs koefficiens 18-36 %, fajtától függően.

4.3.2.3.2. A prolintartalom dinamikája kontrollált környezetben

In vitro kísérletünkben kontrollált hőmérsékleti gradiens alkalmazása mellett teszteltük, hogy a fagystressz milyen hatást gyakorol az eltérő ökotípusú fajták prolintartalmára. Két, a gyakorlatban fagyérzékenyként ismert ('Al' és 'Korona') és két őszi, fagyűrő fajtaként elismert ('Leila' és 'Zeno') genotípust választottunk ki a vizsgálatunkhoz. A grafikon jól szemlélteti (34. ábra) a prolin-felhalmozódás dinamikáját az említett genotípusok esetében.



34. ábra: A hőmérséklet hatása a fajták prolin-felhalmozódására egész növényekben mérve (gyökér, szár, levél), kontrollált környezetben, 2009-ben

Fagyhatást megelőzően, mikor a növényeket még 15/10 °C-on neveltük, a fajták prolin szintjében szignifikáns különbségeket nem tapasztaltunk (21. táblázat).

21. táblázat: A különböző fajták között, adott hőmérsékleten mért prolintartalom szignifikáns eltérései (*)

Jelmagyarázat: Kor: 'Korona', Ze: 'Zeno', Le: 'Leila'.

+10-15°C	+2°C	0°C	-2°C	-3°C	+10-15°C
	Kor-Ze*	Kor-A1*	Le-Ze*		
		Kor-Ze*	Kor-Ze*		
			A1-Ze*		

A legnagyobb mennyiségű prolint a 'Zeno' halmozta fel (89,926 µg/g), ezzel ellentétben a legcsekélyebb mennyiséget a 'Korona'-ban regisztráltuk (35,730 µg/g).

A kezdeti +2 °C-os hidegkötés és az azt követő 0 °C sem okozott szignifikáns eltérést a növények prolin-koncentrációjában, viszont a hőmérséklet további 2 °C-kal történő csökkentése már változást generált a növényekben. A 'Zeno'-ban nagyfokú, közel három és félszeres prolintartalombeli emelkedést figyeltünk meg (474,480 µg/g), mely ekkor szignifikánsan eltért az összes többi fajtától (22. táblázat). Számottevő növekedést mértünk a fagyérzékeny 'Korona'-ban is, mely megduplázta a 0 °C-on mért prolin szintjét (22. táblázat).

A fajták többségében a nagyfokú prolintartalom növekedés a -3 °C-os kezelés hatására következett be. Ezen a hőmérsékleten az őszi ökotípusba tartozó fajták esetében átlagosan 200 %-os, a tavasziakban pedig 249 %-os növekedés volt tapasztalható. A legmagasabb értéket a

'Zeno'-ban kaptuk (613,573 µg/g), a 'Leila' szintén kiemelkedő prolintartalommal rendelkezett (479,420 µg/g), míg a legkisebb növekményt az 'AI' és a 'Korona' fajtákban mértük (288,106 és 205,819 µg/g).

22. táblázat: A különböző hőmérsékleteken mért prolintartalom szignifikáns eltérései fajtánként (*)

Jelmagyarázat: A= 10-15 °C, B= +2 °C, C= 0 °C, D= -2 °C, E= -3 °C, F= 10-15 °C

Fajták	Szignifikáns változások							
'Korona'	AD*	AE*	BD*	BE*	CD*	CE*	DE*	FE*
'AI'	AE*	BE*	CE*	DE*	FE*			
'Leila'	AE*							
'Zeno'	AD*	AE*	BD*	BE*	CD*	CE*	FD*	FE*

A fagystresszt követően, a 10-15 °C-os kezelés hatására a prolintartalom ismét lecsökkent, megközelítve az eredeti, kiindulási szintet. Ekkor ismét nem jelentős, nem szignifikáns már sem a tavaszi, sem az őszi fajták értékei közötti különbség.

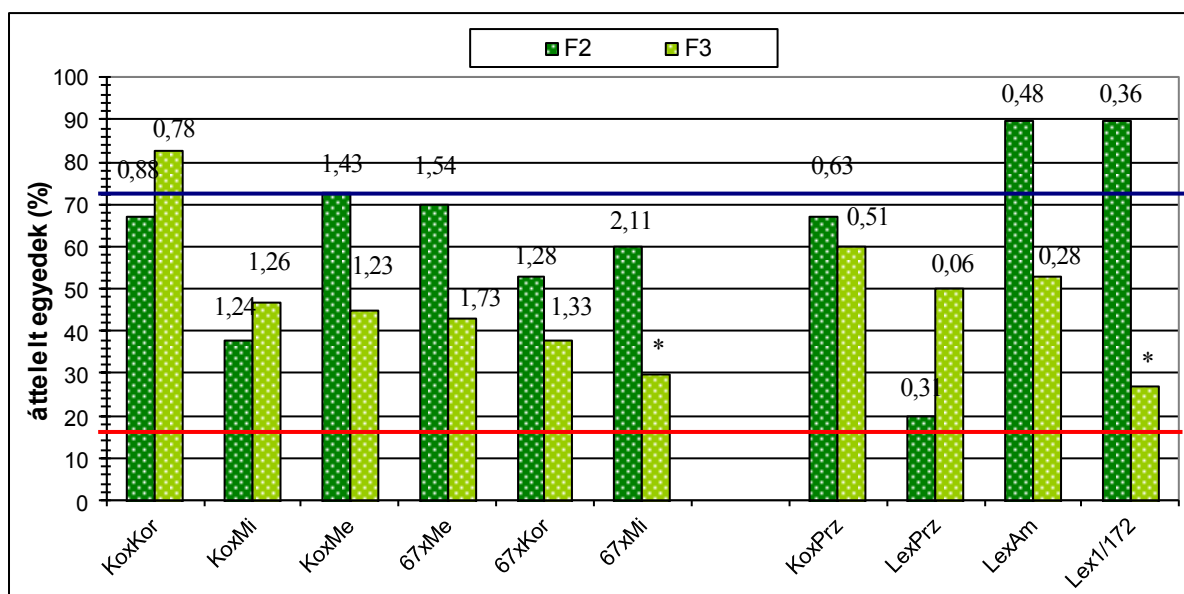
Általánosságban megállapíthatjuk, hogy a mesterséges körülmények között, kontrollált hőmérsékleti lépcsőben előidézett fagyhatás a más genotípusokban, a prolintartalom változását indukálta, ami -3 °C-on statisztikailag is szignifikánsnak bizonyult. *In vitro* kísérleteink adatai szerint az őszi ökotípusba tartozó, fagytoleráns fajták átlagosan 221 %-al nagyobb mértékben halmozták fel az ozmoprotektáns hatású prolint, mint a tavasziak, összefüggést mutatva a fajták téltűrésével. A fagyhatás megszűnése, majd a hőmérséklet emelkedése a prolintartalom ismételt csökkenését eredményezte, tehát a folyamat reverzibilis jellegét tükrözi.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a prolin közrejátszhat bizonyos esetekben a fagytoleranciában, de nyilván nem egyedüli tényezője a védelemnek. Az oldható cukrok felhalmozódásához hasonlóan mindkét ökotípusban bekövetkezik a prolin mennyiségének változása, de szerepe, aktivitása valószínűleg attól is függ, hogy milyen erős a fagyhatás és milyen hosszan tart. Ugyancsak fontos lehet az optimális akklimatizációs időszak, a fokozatos lehülés, hogy a növénynek lehetősége legyen a biokémiai változásokra, a felkészülésre. Adatainkból arra is következtethetünk, hogy nem minden fajtában azonosak ezek az optimális indukciós paraméterek, amit azonban mindenképpen további kísérletekkel lenne szükséges igazolni.

4.4. A TÉLTŰRÉS ÉS AZ ALKALOIDTARTALOM ÖSSZEFÜGGÉSEI

4.4.1. Hibridek áttelelése alapján, szabadföldön

Szabadföldön végzett fagyűrés-vizsgálatunk alapján a magas hatóanyag-tartalmú szülők F2 utódnemzedékén belüli keresztezések közül a 'Kozmosz' x 'Medea' hibrid téltűrése volt 2009 telén a legkimagaslóbb, hiszen az egyedek 73 %-a áttelelt. Ez eléri az ugyanebben az évben áttelelő standard fajták értékét. Ettől kicsivel rosszabb fagytoleranciával rendelkezett a többi utód, ugyanis átlagosan 63 %-ban vészelték át a telet. A legszenzitívebbnek a 'Kozmosz' x 'Minoán' minősült, ugyanis a növények 62 %-a elpusztult (35. ábra). Azonban még a legrosszabb tűrőképességű hibridek is lényegesen kevésbé fagytak ki, mint az ugyanekkor tesztelt tavaszi ökotípusú szülő.



Jelmagyarázat: KoxKor: 'Kozmosz' x 'Korona', KoxMi: 'Kozmosz' x 'Minoán', KoxMe: 'Kozmosz' x 'Medea', 67xMe: 67 x 'Medea', 67xKor: 67 x 'Korona', 67xMi: 67 x 'Minoán', KoxPrz: 'Kozmosz' x 'Przemko', LexPrz: 'Leila' x 'Przemko', LexAm: 'Leila' x 'Ametiszt', Lex1/172: 'Leila' x 1/172.

35. ábra: Magas és alacsony hatóanyag-tartalmú szülők hibridjeinek szabadföldi fagyűrése 2009 telén és össz. alkaloidtartalma az oszlopok felett jelölve, %-ban kifejezve (*: nincs adat, kék vonal: őszi szülőfajták fagyűrésének átlaga, piros vonal: tavaszi szülőfajták fagyűrésének átlaga)

Az alacsony hatóanyag-tartalmú szülők keresztezett, ugyanezen nemzedékének utódai vonatkozásában elmondható, hogy a vizsgált 'Leila' x 'Ametiszt' és a 'Leila' x 1/172 hibridek rendkívül jó fagytoleranciájúknak bizonyultak, ugyanis mindkettőt 90 %-os áttelelési ráta

jellemezte. Ezek az összes F2 hibrid között is a legjobbak voltak, bár statisztikailag csupán a két legérzékenyebb kombinációtól tértek el szignifikánsan (23. táblázat). A 'Kozmosz' x 'Przemko' hibrid is kiemelkedő fagytoleranciát mutatott: ezen kombináció egyedeinek 67 %-a telelt át. A legfagyérzékenyebb hibrid is alacsony hatóanyag-tartalmú volt, a 'Leila' x 'Przemko', mely 80 %-ban kifagyott. Egyedül ennek a kombinációnak az F2 törzsei ritkultak ki olyan mértékben, mint a fagyérzékeny standard fajták.

23. táblázat: Az utódnemzedékekben a hibridek között tapasztalt szignifikáns eltérések a szabadföldi fagyűrésre vonatkozóan (*). (Az F2/F3 hibridekre vonatkozó szignifikáns eltérések a sötétített mezők alatti/feletti területen találhatók.)

Jelmagyarázat: lásd 35. ábra.

F2 \ F3	LexAm	Lex1/172	LexPrz	67xMe	KoxKor	67xKor	KoxMe	KoxPrz	67xMi	KoxMi
LexAm										
Lex1/172					*					
LexPrz	*	*								
67xMe			*							
KoxKor			*						*	
67xKor										
KoxMe			*							
KoxPrz			*							
67xMi										
KoxMi	*	*								

Az F3 utódok közül a magas hatóanyag-tartalmú szülők keresztezéséből származó a 'Kozmosz' x 'Korona' egyedeinek 83 %-a volt képes az áttelelésre. A többi keresztezésből származó hibridek ennél lényegesen gyengébben, átlagosan 51 %-ban maradtak meg a fagyok után. A legszenzitívebb F3 törzsnek, a magas alkaloidtartalmú fajták hibridjének a 67-es törzs keresztezett utódai bizonyultak.

Az alacsony hatóanyagú fajták keresztezései közül a 'Leila' x 1/172-es kombináció telelt át leggyengébben, mivel az egyedek csupán 27 %-a élte túl a hideghatást. Ezzel szemben a 'Leila' x 'Przemko' közepes fagytoleranciájúnak tekinthető, hiszen a növények fele át tudott telelni. A 'Leila' x 'Ametiszt' kombináció volt a leginkább toleráns hibrid, a növények 53 %-a tudott áttelelni.

Az F3 utódnemzedék hibridjeit összevetve a statisztikai elemzés csupán a legjobb és a két legrosszabb fagyűrővel rendelkező kombináció között bizonyított szignifikáns különbséget (23. táblázat). Az alacsony és a magas hatóanyagú keresztezéseket együtt értékelve, az alacsony alkaloidtartalmú hibridek nem bizonyultak szignifikánsan fagytoleránsabbaknak, mint a magasak. Még abban az esetben is, ha a nemzedékeket külön értékeljük. Adataink tehát arra

utalnak, hogy nem bizonyítható egyértelmű korreláció a genotípusok fagyűrése és a tok alkaloidtartalmának alakulása között.

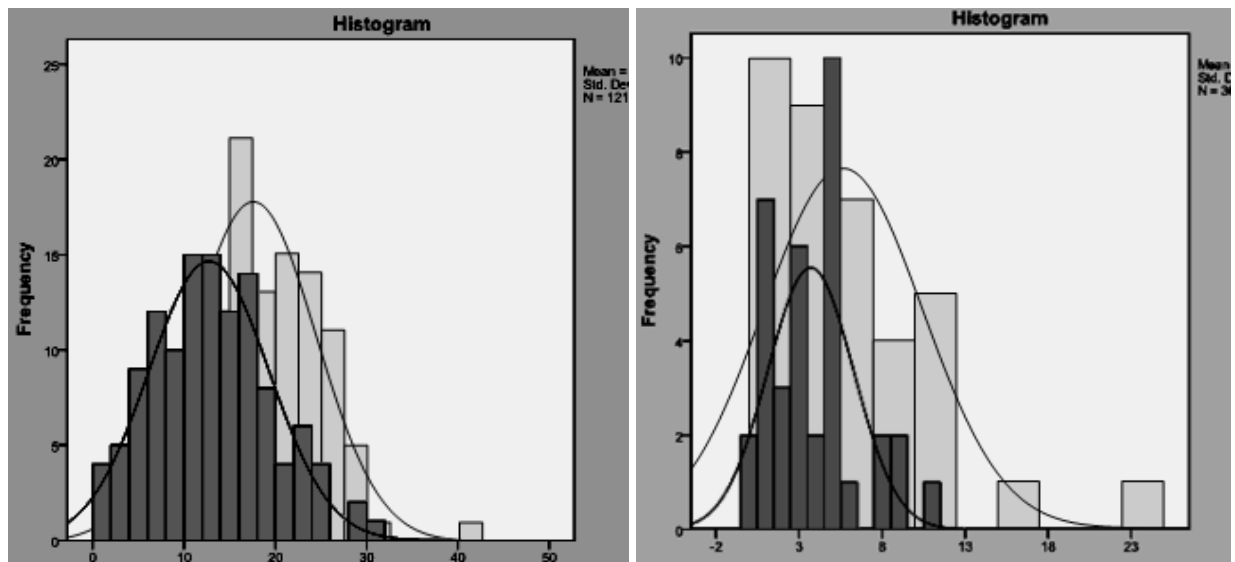
Az áttelelési adatok szerint az őszi és tavaszi jellegű ökotípusok egymással létrehozott hibridjeinek fagyűrése intermedier jelleget mutat. Megállapítható az is, hogy ugyanazon őszi jellegű szülő fagytoleranciája a tavaszi jellegű partnertől függően manifesztálódhat az utódokban. Ezt mutatják vizsgálatunkban pl. a '*Kozmosz*' vagy a '*Leila*' különböző kombinációi.

A különböző generációk között markáns változás a rendelkezésre álló adatok alapján nem detektálható. Egyedül a '*Leila*' x 1/172-es kombináció esetén tapasztaltunk jelentősebb eltérést az F2 és az F3 nemzedék között.

4.4.2. Tavaszi és őszi vetésű populációk összehasonlítása alapján

Annak érdekében, hogy megvizsgáljuk a fagytolerancia és az alkaloidfelhalmozás összefüggését, ugyanazon genotípusok őszi, illetve tavaszi vetésű állományaiban végeztük kísérleteinket. Az őszi vetés után, a tél során a parcellákban feltételezhetően többségben csak a fagyűrő egyedek maradtak meg, így ezek eredményeinek összevetése a fagy által nem érintett populációéval választ adhat a fenti kérdésre.

A különböző hatóanyagszintek miatt az alkaloidtartalomra vonatkozó eredményeket először két csoportban, az alacsony- és magas alkaloidtartalmú hibridek csoportjaira bontva értékeltük. Mindkét kategóriát tekintve, az őszi vetésből származó minták átlagosan alacsonyabb össz. alkaloidtartalommal rendelkeztek (0,369 és 1,272 %), mint a tavasziak (0,566 és 1,759 %). Az adatok szórása a magas hatóanyag-tartalmú csoportban nagyjából megegyezett a két vetésben (0,659; 0,682), az alacsony esetében viszont csaknem kétszeres eltérés mutatkozott közöttük (0,259; 0,481). A 36. ábrán a vizsgált minták eloszlása látható, melynek a csúcsa mutatja a populációk átlagos értékeit.



36. ábra: Az őszi- (sötét) és a tavaszi vetésből származó minták hatóanyag-tartalomra vonatkozó adatainak (világos) eloszlása (balra: magas hatóanyag-tartalmú szülőfajták hibridjei; jobbra: alacsony hatóanyag-tartalmú szülőfajták hibridjei)

Összehasonlítva az őszi és a tavaszi vetésből származó, a vetéskor azonos eredeti genetikai összetétellel rendelkező populációk összes alkaloidtartalmi értékeit, megállapíthatjuk, hogy az esetek többségében szignifikáns különbségek vannak közöttük (24. táblázat). Az eltérések nem köthetők egyértelműen sem a generációhoz, sem a kombinációhoz. Az összes törzsre vonatkozó átlagos szórás a két vetésben 0,703 és 0,816, lényegesen nem eltérő.

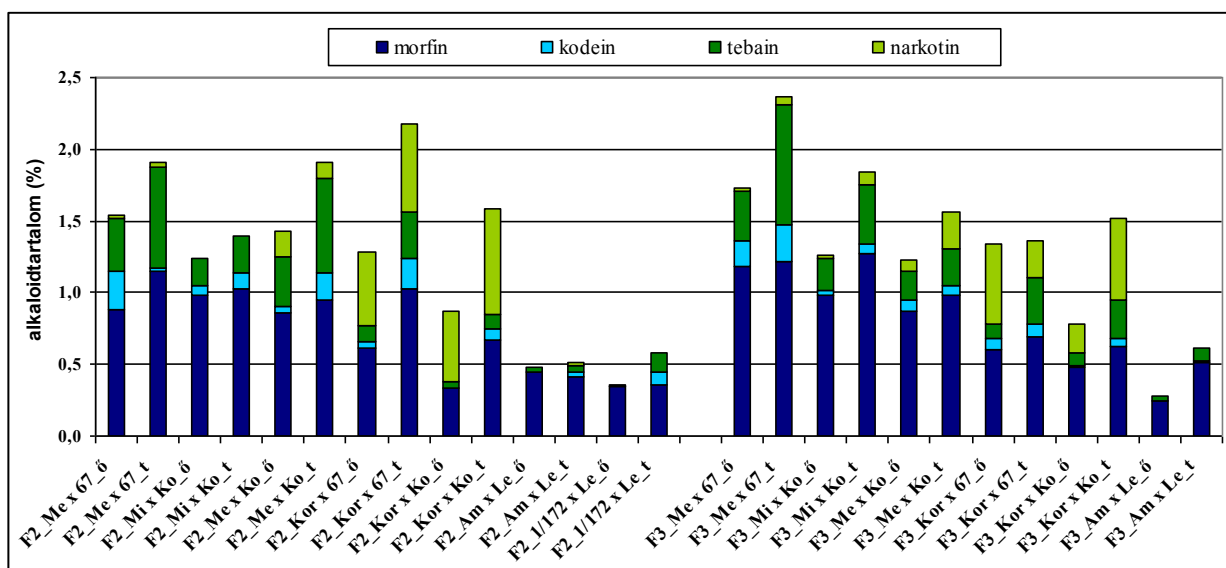
24. táblázat: Az őszi- és a tavaszi vetésű populációk össz. alkaloidtartalmi értékei

Generáció	Kombináció	Össz. alkaloidtartalom (%)							
		Őszi vetés				Tavaszi vetés			
		Min.	Max.	Átlag	Szórás	Min.	Max.	Átlag	Szórás
F2	'Medea' x 67	0,10	2,90	1,542 A	0,937	0,60	2,90	1,904 A	0,625
	'Minoán' x 'Kozmosz'	0,15	2,20	1,242 A	0,483	0,70	2,05	1,393 A	0,474
	'Medea' x 'Kozmosz'	0,40	2,30	1,425 A	0,606	1,15	2,60	1,908 B	0,459
	'Korona' x 67	0,40	2,20	1,283 A	0,540	1,10	4,20	2,175 B	0,903
	'Korona' x 'Kozmosz'	0,30	1,70	0,875 A	0,439	0,30	2,50	1,588 B	0,799
	'Ametiszt' x 'Leila'	0,05	1,05	0,475 A	0,300	0,00	1,20	0,513 A	0,408
	1/172 x 'Leila'	0,00	0,85	0,358 A	0,217	0,00	2,30	0,575 A	0,715
Átlag		0,27	2,26	1,035 A	0,690	0,77	2,85	1,426 B	0,878
F3	'Medea' x 67	1,05	2,40	1,729 A	0,433	1,70	3,20	2,367 B	0,444
	'Minoán' x 'Kozmosz'	0,20	2,30	1,258 A	0,640	0,85	2,95	1,838 B	0,644
	'Medea' x 'Kozmosz'	0,00	2,50	1,229 A	0,598	0,60	2,60	1,563 A	0,539
	'Korona' x 67	0,25	3,10	1,334 A	0,902	0,55	2,10	1,362 A	0,470
	'Korona' x 'Kozmosz'	0,10	1,65	0,783 A	0,377	0,50	2,70	1,521 B	0,737
	'Ametiszt' x 'Leila'	0,00	0,75	0,275 A	0,232	0,25	1,00	0,613 B	0,245
Átlag		0,32	2,39	1,102 A	0,721	0,84	2,71	1,541 B	0,738
Össz. átlag				1,065 A	0,703			1,479 B	0,816

Nem csak az átlagok, hanem a szélső értékek között is különbségeket tapasztaltunk több esetben is. A 'Korona' x 'Kozmosz' (F2), 'Ametiszt' x 'Leila' (F2) és 1/172 x 'Leila' (F2) hibrideket kivéve őszi vetés esetén a minimum értékek alacsonyabbak voltak, mint a tavaszi vetésű populációkban. A maximum értékek tekintetében viszont az esetek többségében a tavaszi vetésből származó minták között mértünk magasabb egyedi értékeket (1,00-4,20 %) (24. táblázat). Fontos megjegyezni, azonban, hogy az őszi vetésben is található néhány igen magas egyedi hatóanyag-tartalmú tok (növény egyed). A 'Minoán' x 'Kozmosz' (F2), illetve a 'Korona' x 67 (F3) kombinációk esetében például magasabb egyedi értékek is előfordultak az őszi vetésben, mint a tavaszi, fagy által nem szelektált parcellákon.

Az alkaloidspektrum alakulása a vizsgált populációkban

A 37. ábra szemlélteti a négy vizsgált alkaloidkomponens (morfin, kodein, tebain és narkotin) szintjét. Ez alapján azt tapasztaltuk, hogy ahogyan az összes alkaloid esetében, úgy az egyes összetevők mennyisége is többnyire arányosan alacsonyabb az áttelelő populációkban, mint a tavaszi vetésűekben. Az eltérés azonban statisztikailag csak a tebain esetében volt igazolható. Ettől ellentétes tendenciát két kombináció esetében figyeltünk meg: a 'Medea' x 67 (F2) hibrid átlagos kodeintartalma és a 'Korona' x 67 (F3) átlagos narkotintartalma az őszi vetésben magasabb volt. Az őszi vetést reprezentáló minták átlagos morfin, kodein, tebain, narkotin értéke 0,681; 0,062; 0,161 és 0,159 %, míg a tavaszi vetésűeké sorban: 0,838; 0,098, 0,338 és 0,212 %.



Jelmagyarázat: Mex67: 'Medea' x 67, MixKo: 'Minoán' x 'Kozmosz', MexKo: 'Medea' x 'Kozmosz', Korx67: 'Korona' x 67, KorxKo: 'Korona' x 'Kozmosz', AmxLe: 'Ametiszt' x 'Leila', 1/172xLe: 1/172 x 'Leila'.

37. ábra: Az őszi- ('ő') és a tavaszi vetésű ('t') populációk alkaloidspektruma

Az egyes alkaloidok (morfin, kodein, tebain, narkotin) maximum értékei őszi vetésben: 1,183; 0,269; 0,369 és 0,554 %, ezzel szemben a tavasziban: 1,271; 0,258; 0,833 és 0,742 %.

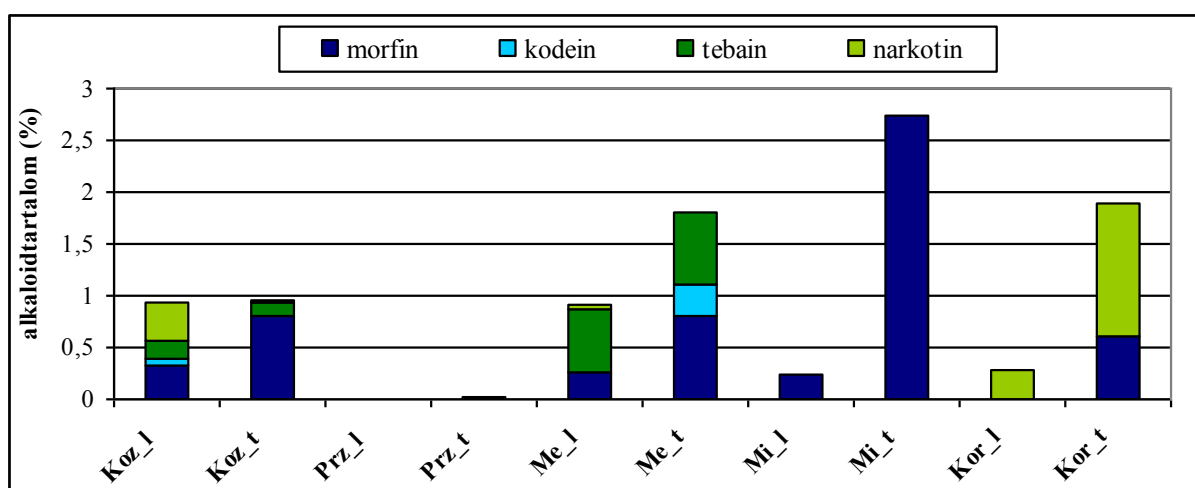
Eredményeink alapján tehát a fagy által szelektált kísérleti parcellákon szignifikánsan alacsonyabb összes alkaloidtartalmat mértünk, mint az eredetileg azonos genetikai összetételű, tavaszi vetésből származó populációkban (JÁSZBERÉNYI és NÉMETH, 2012). Ez a szignifikáns eltérés az egyes alkaloid-komponensek közül a tebain esetében alátámasztható. Habár szabadföldi körülmények között az időjárási viszonyok -főként a nyári esőzés- befolyásolhatja a tokokban az alkaloidfelhalmozást, az eredményeink megerősítik a régi, gyakorlatban tapasztalt megállapításokat, miszerint a fagyűrés és az alacsony alkaloidszint valamilyen szinten kapcsolt tulajdonság. Nyilvánvalóan e kapcsoltság mibenléte legnagyobb valószínűség szerint nem funkcionális. Számos ok feltételezhető: pl. az őszi, vagyis fagyűrő anyagokban a magas hatóanyag irányát szabályozó gének gyakorisága kisebb, az alkaloidok felhalmozódási helyét biztosító tejszővek felépítése módosult vagy egyéb, a nitrogén anyagcsere utak kompetíciója erősebb. Nem ismert ugyanis jelenleg, hogy az alkaloid vagy azotoid típusú vegyületek biokémiaiilag vagy fiziológiailag hozzájárulnának a hidegtűréshez. Nem valószínű az élettani kapcsolat azért sem, hiszen esetünkben az alkaloidok a tokban mért értékek, míg a mák vegetatív fázisban, 4-6 leveles állapotban telel át, bár éppen saját vizsgálataink szerint a levél alkaloidtartalma is bizonyos fokig fajtára jellemző (lásd: 4.6. fejezet). Mivel mind a fagytolerancia, mind pedig az alkaloidok bioszintézise poligénikusan kódolt tulajdonság (NÉMETH et al., 2011), az esetleges összefüggések feltárása igen széleskörű, további kutatást igényel.

A gyakorlat számára azonban nem jelentéktelen, hogy a jelenlegi őszinek ismert anyagok (fajták) eredeti genomja mintegy véletlenszerűen alacsonyabb alkaloid produkcióra képes, amellet, hogy fokozott hidegtűréssel rendelkeznek, vagy tényleges biokémiai-élettani-funkcionális kapcsolat van a fagytolerancia és az alacsonyabb alkaloidszint között. Az előbbi esetben ugyanis reális esély van arra, hogy nemesítéssel, a variabilitás növelésével az alkaloidtartalmat javítsuk, míg a másik esetben ez sokkal kevésbé valószínű.

Munkánk során, a keresztezett nemzedékekben találtunk olyan kombinációkat, melyekben igen magas egyedi tok-alkaloidszint is előfordult az áttelelő vetésben is. Ez feltételez korrelációtörő típusok jelenlétét, ami esetleg éppen a kombinációs nemesítés eredménye. Ennek alapján feltételeztük, hogy célirányos nemesítéssel előállíthatók mind magas-, mind alacsony hatóanyag-tartalmú őszi genotípusok, melyek mindemellett magukban hordozzák a megnövekedett fagytoleranciát, a téltűrés képességét is. Saját eredményeinket e téren a 4.7. fejezetben mutatjuk be.

4.5. A MÁK LEVELE, MINT HATÓANYAGMARKER

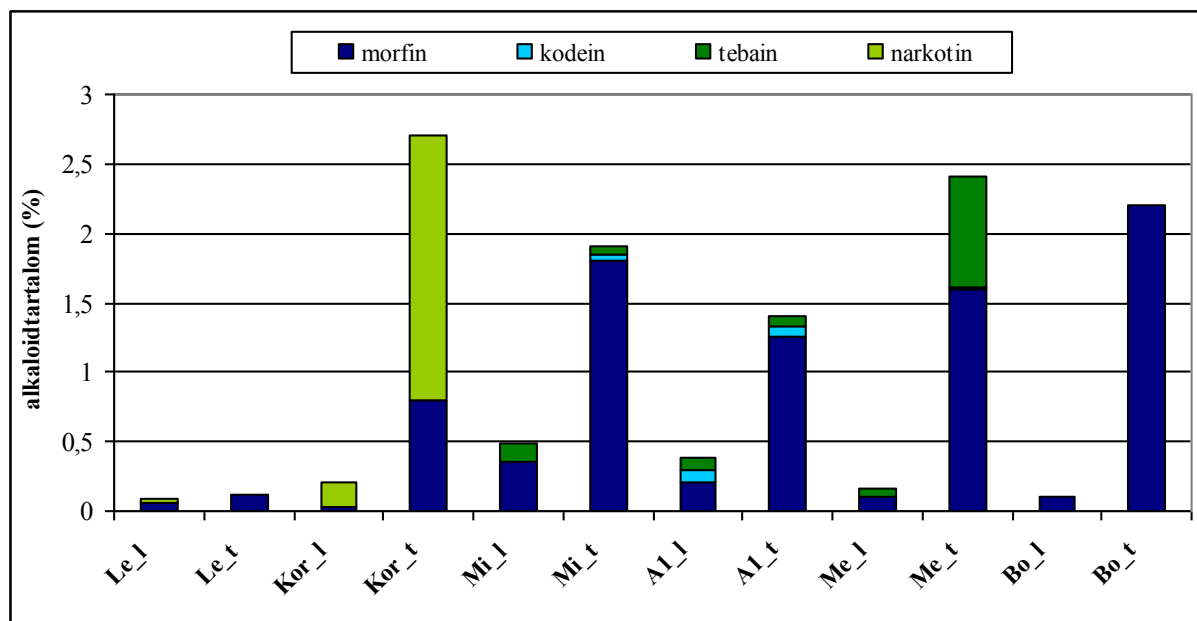
Kiindulva azon megállapításból, hogy a mák egyedfejlődésének egészen korai szakaszában megkezdődik olaj- és alkaloid felhalmozását (BERNÁTH, 1998b; THEN et al., 2000), vizsgálataink során meghatároztuk a különböző alacsony- és magas alkaloidtartalmú standard fajták és F3 nemzedékbe tartozó hibridek fiatal lomblevelének hatóanyag-tartalmát is. Amellett, hogy hatósági fajtaazonosításra is szolgálhatna a módszer, a nemesítésben betöltött szerepénél fogva is hatékony megoldást kínálhat az előállított új vonalak tesztelésékor. A 38. ábra a fiatal levelekben mért értékeket, valamint összehasonlításképpen az ugyanazon genotípus tokjában mért alkaloidtartalmat szemlélteti. Az alacsony hatóanyag-tartalmú 'Przemko' fajta tokja mindössze 0,02 % morfint tartalmazott, ami igen elenyésző mennyiségnek tekinthető. Ennek megfelelően a levelében az analízis során nem is tudtunk alkaloidot kimutatni (38. ábra). A másik étkezési mákfajta, a 'Kozmosz' esetében látható, hogy a tokja 0,8 %-ban halmozott fel morfint és kis mennyiségben tebaint, amit jól mutat a levelében található hatóanyag-tartalom is. Habár narkotint viszonylag nagyobb mennyiségben mértünk a levelében (0,366 %), ez a komponens a tokjában már nem jelentkezett. A magas hatóanyag-tartalmú fajták közül a vegyes alkaloidtartalommal rendelkező 'Medea' levele jól jelzi a tokban várható fő komponensek jelenlétét (morfin, tebain). A 'Minoán' esetén is a domináns összetevőt (morfin) találtuk a levélben a legnagyobb mennyiségben, ami a tokban már a tízszeresére emelkedett. A 'Korona' egy karakteresen magas narkotintartalmú fajta, ami ezt már levelében, vegetatív fázisban is mutatja. Itt egyedüli komponensként, 0,275 %-ban tudtuk kimutatni a narkotint.



Jelmagyarázat: Koz: 'Kozmosz', Prz: 'Przemko', Me: 'Medea', Mi: 'Minoán', Kor: 'Korona'.

38. ábra: Az alacsony és magas hatóanyag-tartalmú fajták levelében és tokjában felhalmozódó alkaloidtartalom, 2009-ben

Kísérletünket 2010-ben jellegzetes hatóanyag-tartalmú, standard fajtákkal megismételtük (39. ábra). Eredményeink a 2009-es évhez hasonlóan alakultak. Az alacsony hatóanyag-tartalmú 'Leila' levelében nagyon csekély mennyiségű alkaloidot tudtunk kimutatni. A 'Korona' esetében a tokban lévő fő komponens, a narkotin, a levélben is fő összetevőként jelentkezett, ahogyan a 'Minoán', 'AI' és 'Botond' fajták morfintartalma is. A morfin mellett nagy mennyiségben tebaint felhalmozó 'Medea' levele hasonló alkaloidspektrumot indikál, csupán a felhalmozódás mértéke kisebb lényegesen.



Jelmagyarázat: Le: 'Leila', Kor: 'Korona', Mi: 'Minoán', Me: 'Medea', Bo: 'Botond'.

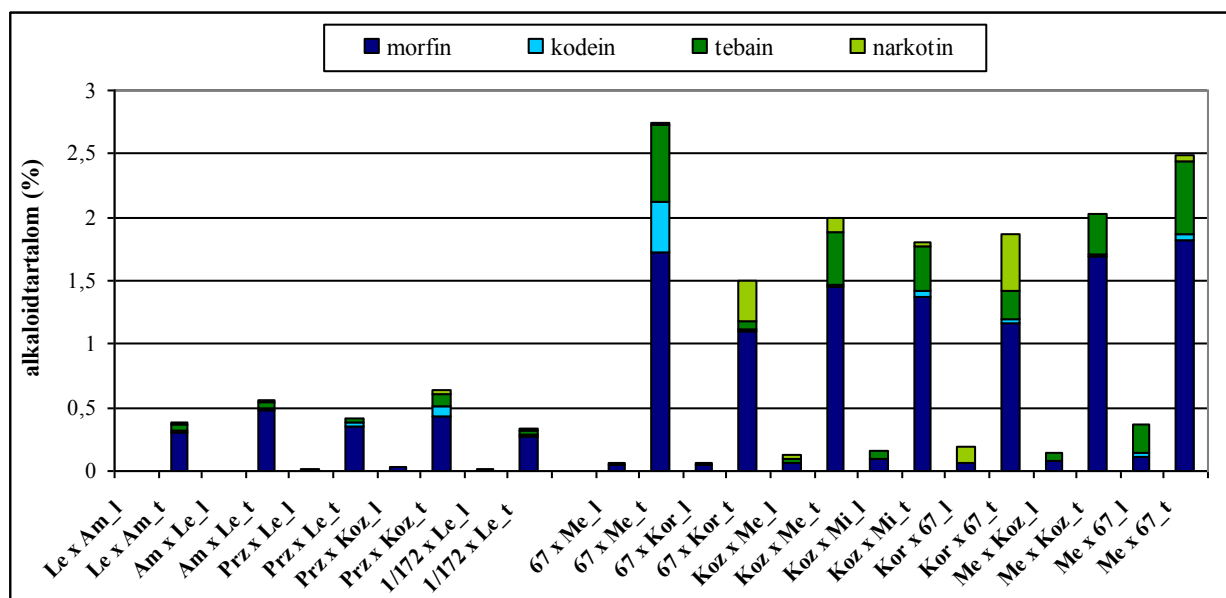
39. ábra: Az alacsony és magas hatóanyag-tartalmú fajták levelében és tokjában felhalmozódó alkaloidtartalom, 2010-ben

A standard fajtákon kívül vizsgálatunk tárgyát képezték még különböző alacsony- és magas alkaloidtartalmú hibrid populációk is. A 40. ábra szemlélteti a két csoport közötti hatóanyag-tartalombeli eltérést, mind a tokban, mind pedig a levélben.

Az alacsony hatóanyag-tartalmú fajták utódai vonatkozásában elmondható, hogy a tokban felhalmozódó alacsony összes alkaloidtartalmat (max. 0,639 %) a különböző genotípusok levelei is alacsonynak jelzik, hiszen egy-két komponens esetében tudtunk csak nagyon kis mennyiséget kimutatni.

A magas hatóanyag-tartalmú fajták hibridjeiben az összes alkaloidtartalom 1,495 és 2,745 % között változott. A legmagasabb értéket a 67 x 'Medea' képviselte, míg a legalacsonyabbat a 67 x 'Korona'. A levelekben a legnagyobb mennyiségű összes alkaloidtartalmat a 'Medea' x 67

kombináció esetében mértük (0,365 %), ellenben a legkisebbet két hibridben, a 67 x 'Medea'-ban és a 67 x 'Korona'-ban (0,066 %). Ezen adatokból megállapíthatjuk, hogy a levélben található alkaloid mennyisége nagyságrendileg jól jellemzi a tokban mért alkaloidtartalmat. A magas (ipari) és alacsony (élelmiszer) hatóanyag-tartalmú törzsek elkülönítésére kiválóan alkalmas. A tokban a fő összetevő legtöbbször a morfin volt, amit a levél is fő alkotórészként jelzett a legnagyobb mennyiségben. Két kombinációban, a 'Korona' x 67 és a 'Medea' x 67 hibridek levelében a morfin mellett fő komponensként a narkotin 0,133 %-ban, valamint a tebain 0,216 %-ban jelent meg, ami a tokban is nagy arányban volt kimutatható.



Jelmagyarázat: LexAm: 'Leila' x 'Ametiszt', AmxLe: 'Ametiszt' x 'Leila', PrzxLe: 'Przemko' x 'Leila', PrzxKoz: 'Przemko' x 'Kozmosz', 1/172xLe: 1/172 x 'Leila', 67xMe: 67 x 'Medea', 67xKor: 67 x 'Korona', KozxMe: 'Kozmosz' x 'Medea', KozxMi: 'Kozmosz' x 'Minoán', Korx67: 'Korona' x 67, MexKoz: 'Medea' x 'Kozmosz', Mex67: 'Medea' x 67.

40. ábra: Az alacsony és magas hatóanyag-tartalmú hibridek levelében és tokjában felhalmozódó alkaloidtartalom, 2009-ben

A két év során 23 db populációban kapott eredményeinket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a tavaszi vetésű mák levele szárbaindulás előtt mintázva nagy valószínűséggel előre jelzi a még ki nem fejlődött tok alacsony vagy magas hatóanyag-tartalmát. Az összes kapott adatunkat egybevetve a Spearman-féle nemparaméteres korrelációanalízis szerint a levél és a tok alkaloidtartalma szignifikánsan korrelál, erőssége közepes (korrelációs együttható: +0,488). Az étkezési illetve ipari célra alkalmas genetikai anyagok korai megkülönböztető bélyege lehet. Emellett a levél alkaloidtartalma alapján a legtöbb esetben

következtethetünk a tokban várható fő komponensre is, ami elsősorban a karakterisztikusan eltérő alkaloidspektrumú fajták esetében markáns bélyeg.

Amellett, hogy e módszer a nemesítés, szelekció célirányossá tételében és a generációk felgyorsításában gyakorlati jelentőséggel bírhat a jövőben, eredményeinket továbbfejlesztve egy, a hatósági ellenőrzésben is segítséget nyújtó fajtaazonosítási rendszer alapjait fektethetjük le.

A leírt összefüggések mind az őszi, mind a fagyérzékeny, tavaszi típusú mákokban jelentkeznek, így azok elkülönítésére, a fagytolerancia markerbélyegének azonban nem alkalmasak.

4.6. NEMESÍTÉSI EREDMÉNYEK

Étkezési célra alkalmas, őszi típusú fajta nemesítéséhez azokat a keresztezési kombinációkat emeltük ki, melyek a fentiekben is tárgyaltak (lásd 4.4.1-es fejezet) szerint a legjobb fagytoleranciával rendelkeztek. E kombinációk különösen a 'Leila' x 'Ametiszt' és a reciprok keresztezésből származó 'Ametiszt' x 'Leila' utódok voltak.

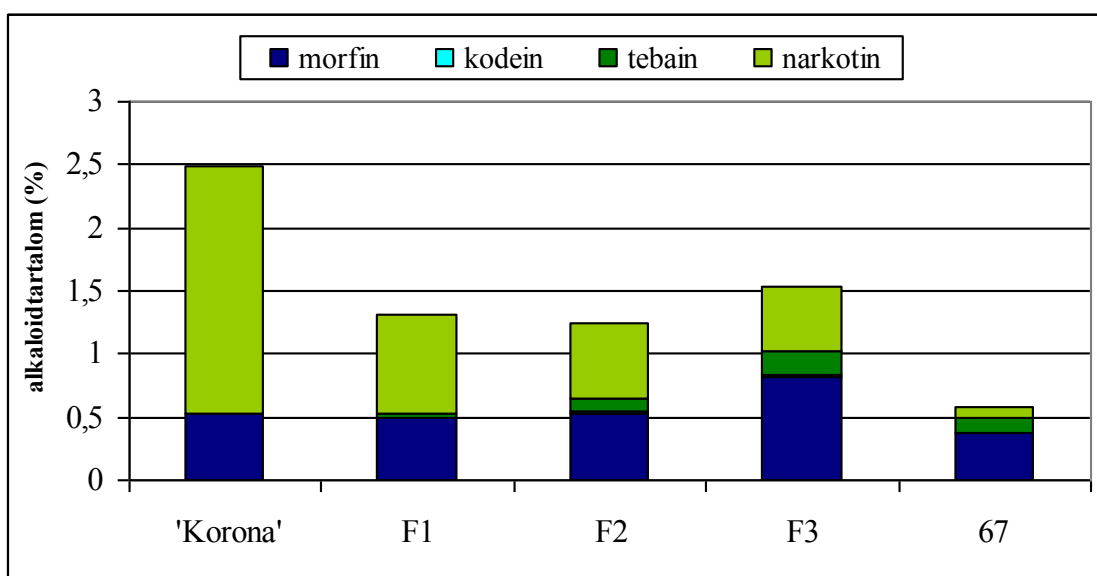
Bár e kombinációk F2 és F3 nemzedékének átlagos tokban mért alkaloidtartalma közepesnek tekinthető (2,2-6,1 %), mindkét kombinációban detektáltunk olyan törzseket, ahol az alkaloidtartalom átlagos értéke 0,1 % alatt volt. E törzsek aránya az 'Ametiszt' x 'Leila' kombinációban 0,16 %, míg a 'Leila' x 'Ametiszt' kombinációban 55 % volt. Mivel az 'Ametiszt' fajta összes alkaloidtartalma a fajtaleírás szerint 0,01 %, ugyanakkor a 'Leila' fajtáé 0,1-0,2 %, úgy tűnik, hogy az anyai hatás e tekintetben is elenyésző jelentőségű, mint ahogy azt a fagyűrész szempontjából is megállapíthattuk (lásd 4.5.1-es fejezet).

A fenti, kedvező tulajdonságú törzsek közül is kiválasztottuk azokat, ahol az egyedek döntő többségében csupán nyomnyi alkaloidtartalmat tudtunk kimutatni, majd további egyedszelekcióval javítva az állományt, két törzset szaporítottunk fel, melyek F6 nemzedékre megbízható fagyűréssel és a kimutathatósági határ alatti, igen alacsony alkaloidtartalommal rendelkeztek (25. táblázat).

25. táblázat: A szelektált mák törzsek alkaloidtartalmi értékei (%) az F6 generációban, 2012-ben (2011 őszi vetés).

	Morfin	Kodein	Tebain	Narkotin	Áttelelt egyedek (%)
9/6 ('Leila' x 'Ametiszt')	0,02	0	0	0	85
10/2 ('Ametiszt' x 'Leila')	0	0	0	0	90
7/4 ('Korona' x 67)	0,33	0,20	0,02	1,87	80
E2 ('Medea' x 'Kozmosz')	0,86	0,15	1,88	0	95

Az ipari célra termelhető, magas alkaloidtartalmú, őszi fajtajelöltek előállítására hasonló módszer szerint folyt. A narkotin főalkaloidot felhalmozó kombinációk közül a fagytolerancia alapján a 'Korona' x 67 emelkedett ki. Bár az első utódnemzedékek alkaloidtartalma intermedier értékeket mutatott (41. ábra), a további szelekció eredményesnek bizonyult. E törzsek közül a legmagasabb átlagértékekkel és legkisebb szórással rendelkezők egyedeit jelöltük ki utódbírálatra, melyek közül a legjobb törzs narkotintartalma 2012-re elérte az 1,8 %-ot (25. táblázat), ami korábban teljes mértékben ismeretlen volt. Ilyen nagyságrendű narkotintartalma csak a 'Korona' szülőfajtának ismert, ami azonban igen gyenge fagyűrő képességgel rendelkezik, mint azt a dolgozatban tárgyalt kísérletekben is bemutattuk. E törzs fagyűrő képessége kissé elmarad a többi fajtajelöltünkétől, erősebb az évjáráti érzékenysége.

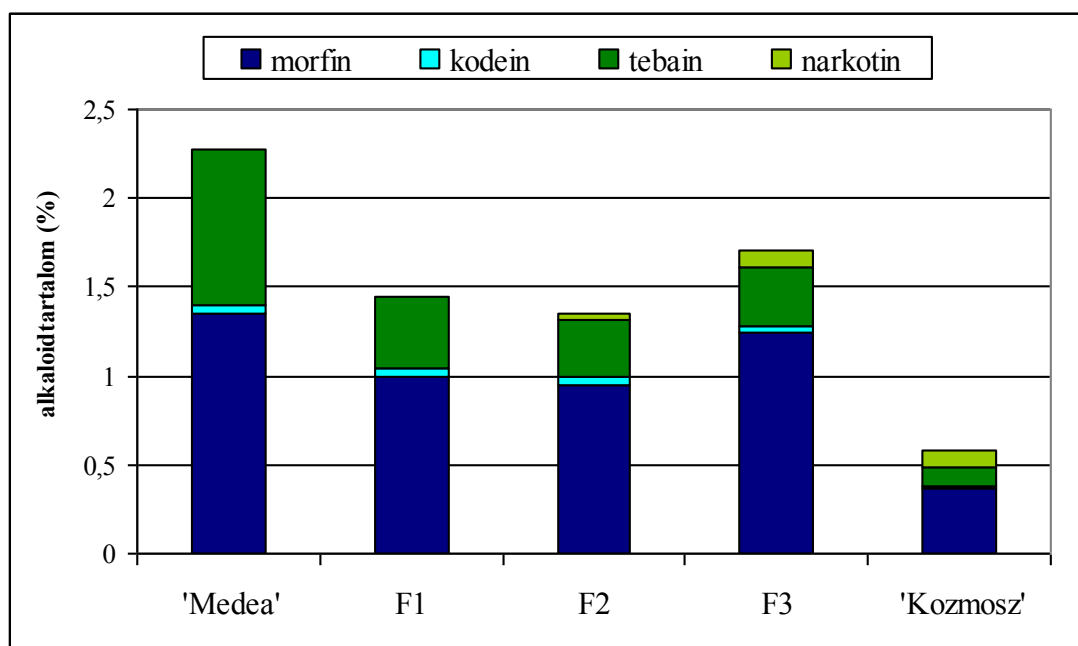


41. ábra: A 'Korona' x 67 kombináció első három utódnemzedékének alkaloidtartalma a szülőfajtákkal összehasonlítva (2009)

Az ipar számára a legutóbbi években a magas morfin- és tebaintartalom a legfontosabb. Ennek megfelelően kiemelt figyelmet fordítottunk az ezen alkaloidokat felhalmozó kombinációkra. A legjobban szereplő egyértelműen a 'Medea' x 'Kozmosz' volt. Bár a 'Medea' x '67' ugyancsak jól szerepelt, az előző kombináció törzseinek fagyűrőse lényegesen meghaladta az utóbbiét. Ezért a 'Medea' x 'Kozmosz' törzsek legjobb egyedeinek további szelekciója látszott célszerűnek.

Az első nemzedékek átlagos alkaloidtartalmát tekintve a narkotinos keresztezésekhez hasonlóan, intermedier alkaloidszintet tapasztaltunk (42. ábra). Az F3 nemzedék legjobb törzseit további kiválogatással javítva F6-ra az E2 jelű törzs összes alkaloidtartalma megközelíti a 3 %-

ot, amelyen belül a tebain csaknem 2/3-ot tesz ki (25. táblázat). A halványrózsaszín sziromszínű, az őszi típusú szülőfajtánál mintegy 5-7 nappal később virágzó, nagy, körte alakú tokokat nevelő fajtajelölt, 2013-ban állami elismeréshez bejelentésre került (43. ábra).

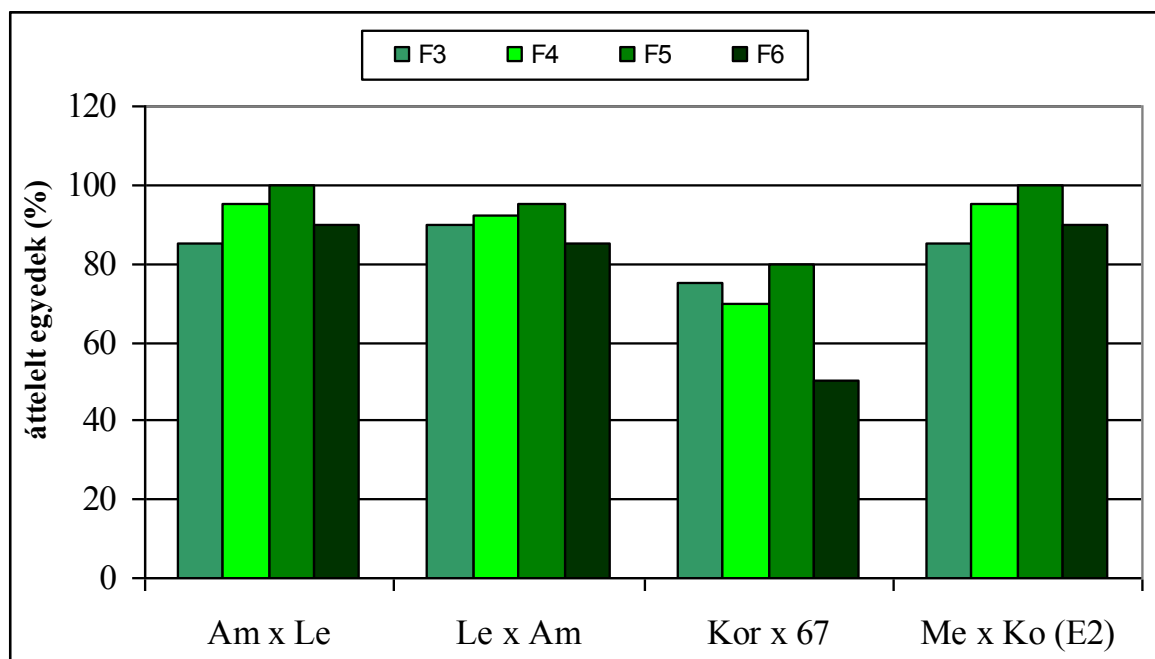


42. ábra: A 'Medea' x 'Kozmosz' kombináció első három utódnemzedékének alkaloidtartalma a szülőfajtákkal összehasonlítva (2009)



43. ábra: Az 'E2' jelű törzs, magas tebain tartalommal és kiváló fagytoleranciával (Fotó: Zámboriné Németh É., 2013)

A munka során megállapítottuk, hogy az F3 nemzedékben tapasztalható fagytolerancia a további három nemzedéken át stabilizálódik (44. ábra). A megfigyelhető ingadozások alapvetően évjáratí hatásra vezethetők vissza. Ez egyben azt is jelzi, hogy a korai hibridnemzedékekben tapasztalható fagytolerancia legalábbis komoly jelzés értékű a törzsek kiválasztásához és fagyűrő képességük megítéléséhez.



Jelmagyarázat: AmxLe: 'Ametiszt' x 'Leila', LexAm: 'Leila' x 'Ametiszt', Korx67: 'Korona' x 67, MexKo: 'Medea' x 'Kozmosz'.

44. ábra: A négy szelektált fajtajelölt kifagyása az F3-F6 hibridnemzedékekben (2009-2012)

A nemesítés eredménye alapján tehát megállapítható, hogy munkánk nyomán mind az étkezési, mind ipari felhasználásra alkalmas fajták spektruma értékes genotípusokkal bővült, melyek őszi-tavaszi vegetációs ciklusban, áttelelő termesztésre biztonságosan alkalmazhatók. Közülük a tebainos fajtajelölt az ipari érdekltség alapján fajtabejelentésre is kerül.

4.7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÉS GYAKORLATI VONATKOZÁSAIK

A három éven át tartó kutatómunkánk az alábbi tudományos és gyakorlati vonatkozású eredményekkel zárult:

1. Elsőként közöltünk adatokat a mákfajták szabadföldi fagyűrésének vonatkozásában, mely során megállapítást nyert, hogy az áttelelő termesztésre nemesített genotípusok három év átlagában jobb fagyűrést mutattak, mint a tavaszi vegetációs ciklusú fajták.
2. Elsőként vizsgáltuk a mákfajták levelének szövettanát, az epidermisz- és a kutikula-vastagságát a fagyűrés vonatkozásában, mely alapján megállapítottuk, hogy az őszi fajták vastagabb színi és fonáki kutikulával rendelkeznek.
3. Bizonyítottuk, hogy a mák 5-6 leveles állapotában, 15/10 °C-os hőmérsékleten, a vizsgált fajták relatív víztartalma nem különbözik szignifikánsan.
4. Igazoltuk, hogy az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú, áttelelő termesztésre alkalmas fajták magasabb arányban halmoztak fel zsírosolajat, mint a tavaszi ökotípust reprezentáló genotípusok.
5. Megállapítottuk, hogy az alacsony hőmérséklet nem hat gátlóan az őszi fajták csírázókéességére.
6. A fagyhatáskori cukortartalom és a fagytolerancia között összefüggést állapítottunk meg.
7. Kimutattuk, hogy a prolin közrejátszhat a fagytoleranciában, de nem egyedüli tényezője a védelemnek.
8. Kidolgoztunk egy, a mákra adaptált *in vitro* tesztmodszert a mák genotípusok „őszi” és „tavaszi” jellegének megbízható és gyors elkülönítésére.
9. Megállapítottuk, hogy nincs egyértelmű korreláció a fagyűrés és a tok alkaloidtartalma között.

10. Bebizonyítottuk, hogy a fiatal levél és a tok alkaloidtartalma korrelál egymással, a levél hatóanyag-tartalma alapján a legtöbb esetben következtethetünk a tokban várható fő komponensre is.

11. Munkánk nyomán az étkezési és ipari felhasználásra alkalmas fajták spektruma értékes genotípusokkal bővült, melyek közül a tebainos fajtajelölt '*Hunor*' néven fajtabejelentésre is került.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

A mák (*Papaver somniferum* L.) amellett, hogy tradicionálisan fogyasztott élelmiszer nemcsak hazánkban, hanem más európai országokban egyaránt, a gyógyszeriparban mindmáig betöltött szerepénél fogva az egyik legkeresettebb, alkaloidokat felhalmozó gyógynövény fajunk. Jelentősége e két speciális funkcionalitásában rejlik, amit a világszerte egyre fokozódó volumenű kutatás támaszt alá.

A hazai máknemesítés célja az évtizedek alatt folyamatos változást mutatott. Korábban a termőképesség és a tokok méretének növelése, valamint az olajtartalom fokozása volt a fő célkitűzés, a gyógyászat fejlődésével és annak fokozódó igényével a morfintartalom, illetve a speciális alkaloidok (narkotin, kodein, tebain) iránti igény növekedése került a nemesítés fókuszpontjába, új teret nyitva a mákkutatásban. Később, az egyre fokozódó kábítószer célú visszaélések miatt gyökeres változást teremtve vált a nemesítés másik párhuzamos irányává az alacsony hatóanyag-tartalmú (<0,01 %) fajták előállítására. Az utóbbi időben, főként a Közép-Európai térségben figyelhető meg, hogy a mák kétféle ökotípusa közül az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú mákfajták termesztése újra az érdeklődés előterébe került. Természetszerűleg az őszi ökotípusú fajták magasabb fagytoleranciával rendelkeznek, tölevélrózsás állapotban képesek áttelelni, jól bírják a téli fagyokat, szemben a tavaszi vetésűekkel. Bár az őszi fajták iránti kereslet a termelők részéről az utóbbi években markánsan nő, - hiszen a nagyobb tok- és maghozam, a korábbi értékesítési lehetőség pluszjövedelmet biztosíthat, e fajtakörben a választék igen csekély. Az őszi fajtaspektrum hazánkban mindössze hat fajtára korlátozódik, ellentétben a tavaszi fajtasortimenttel, mely tizenhat alacsony és magas hatóanyag-tartalmú fajtaival is képviselteti magát. Így az utóbbi időszakban a mák nemesítésének további újabb céljává vált -hatóanyag-tartalmának módosításán túl-, a hideg- és fagyűrő képességének fokozása.

A hideg időszak átvészelését, illetve az áttelelés sikerességét számos tényező befolyásolja. A genetikai adottságok mellett természetesen a környezeti tényezők, továbbá a növény fejlettsége is meghatározó. Az edződés során a növény számos biokémiai és élettani folyamattal készül fel a fagy által okozott stressz elviselésére. A fagy károsító hatása a sejtekben jégkristályok képződésében nyilvánul meg, mely folyamatot a növény a sejt közötti járataiban krioprotektáns anyagok felhalmozásával próbál megakadályozni. Másrészről stressz hatására általánosan indukálódó mechanizmus a különböző ozmolitikumok képződése, melyek segítségével a növény a hidegre rendkívül érzékeny citoplazmát sűríti be, csökkentve a sejt fagyáspontját, illetve a szövetek víztartalmát. A mák esetében mindezen folyamatok kevésbé kutatottak, a mák téltűrésére vonatkozó információk sporadikusak, alapvető ismereteink

leginkább csak a gyakorlatból származnak, csupán termesztési tapasztalatokkal alátámasztottak. A máknemesítés hosszadalmas folyamatát felgyorsíthatná olyan markermolekulák (pl. oldható cukor, prolin) vagy morfológiai, szövettani bélyegek azonosítása, melyek a szakirodalom közlései alapján számos más növényfaj esetében kapcsolatban állnak a fagyűrészsel.

Kutatásaink során ezért az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú mákgenotípusok teljesebb megismerését kívántuk elérni, feltárni a mák fagyűrészével összefüggő biokémiai, fiziológiai jellemzőket, a fagytolerancia és a fontosabb egyéb növényi tulajdonságok esetleges összefüggéseit, továbbá tanulmányozni a téltűrés és az alkaloidfelhalmozódás kapcsolatát. Gyakorlati jelentőségű célként fogalmaztuk meg a tanszéki génbanki gyűjtemény és nemesítői törzsanyag bővítését különböző fagytoleráns genotípusokkal, illetve egy fajspecifikus *in vitro* szkrínómódszer kidolgozását a különböző genotípusok téltűrésének teszteléséhez. Távolabbi célként pedig az EU elvárásoknak megfelelő termesztés-szabályozási formákkal konform, őszi-tavaszi ciklusú új mák fajtajelöltek előállítását kívántuk megvalósítani.

Szabadföldi és *in vitro* kísérleteinket széleskörű munkafolyamatokhoz illeszkedően, változatos populációkban, fajták és azok reciprok keresztezéseiből származó utódnemzedékek (összesen 49 taxon) bevonásával, több kísérleti ciklusban, 2008 és 2012 között folytattuk. Információt gyűjtöttünk a növények szabadföldi fagyűrészéről, felmértük az áttelelő genotípusok jellemző sajátosságait, úgy, mint szövettani jellemzők, relatív víztartalom, zsírosolaj-tartalom, csírázási hőmérséklet, illetve a kapcsolódási viszonyukat, amely által a genotípusban rögzült fokozott tolerancia, mint tulajdonság fenotípusosan is érvényre tud jutni. Vizsgáltuk a krioprotektáns anyagok (cukor, prolin) felhalmozódását a különböző populációkban, a hidegindukció különböző fázisaiban mérve. Ehhez kapcsolódóan a kontrollált kísérletben folytatott vizsgálatainkhoz szükséges növényanyag előállítását az általunk kifejlesztett, fajspecifikus *in vitro* tesztprogrammal tettük lehetővé. A téltűrés és az alkaloidfelhalmozódás kérdéskörére az azonos genetikai állománnyal rendelkező őszi és tavaszi vetésű populációk alkaloidtartalmának összehasonlítása alapján kerestük a választ. Mindemellett meghatároztuk a mák korai egyedfejlődési fázisában lévő lomblevelek hatóanyag-tartalmát is, mint potenciális markerbélyeget.

A mákfajták szabadföldi fagyűrészének vonatkozásában megállapítottuk, hogy az áttelelő termesztésre nemesített genotípusok három év átlagában jobb fagyűrészést mutattak, mint a tavaszi vegetációs ciklusú fajták (átlagosan 276 %-al). Bár statisztikailag elkülönül a két csoport, de különbség van az őszi illetve tavaszi fajtaként nyilvántartott taxonok csoportján belül is. Az áttelelési adatok szerint az őszi és tavaszi jellegű ökotípusok egymással létrehozott hibridjeinek fagyűrészése intermedier jelleget mutat. Megállapítható az is, hogy ugyanazon őszi jellegű szülő fagytoleranciája a tavaszi jellegű partnertől függően manifesztálódhat az utódokban (pl. KoxKor

fokozott fagyűrést mutat KoxMi kombinációnál.) A különböző generációk (F2-F3) között markáns változás a rendelkezésre álló adatok alapján nem detektálható.

A mák levelei a környezeti feltételekhez való alkalmazkodás révén anatómiai változásokat mutatnak. Kimutattuk, hogy az őszi ökotípusú fajták esetében a kutikula mind a színi, mind pedig a fonáki oldalon szignifikánsan, átlagosan 1,858 és 2,349 μm -rel vastagabb. Adataink alapján arra következtethetünk, hogy a kutikula-vastagság a fagyűrő fajták egyik prediktív jellemzője lehet. Ugyanakkor a vékony kutikula nem szükségszerűen jelzi az adott genotípus intoleranciáját. A kutikula-vastagság, mint a fagytolerancia egyik markere, gyors, kiegészítő szkrínmódszerként szolgálhat az új, hidegtűrő mákvonalak teszteléséhez.

Bizonyítottuk, hogy a mák 5-6 leveles állapotában, átlagos őszi vagy tavaszi vetést követő körülményeket reprezentáló 15/10 °C-os hőmérsékleten, a vizsgált fajták relatív víztartalma nem különbözik szignifikánsan (őszi fajták: 59,139 %, tavaszi fajták: 59,280 %). Nem találtunk kapcsolatot a genotípusok relatív víztartalma és várható fagytoleranciája között.

Vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy az őszi-tavaszi vegetációs ciklusú, áttelelő termesztésre alkalmas fajták statisztikailag bizonyíthatóan magasabb arányban halmozták fel a zsírosolajat, mint a tavaszi ökotípust reprezentáló genotípusok. A vizsgálatba vont hazai fajtaspektrum alapján tehát nem zárható ki, hogy a magasabb mag olajtartalom a jobb áttelelő képességű fajtákra jellemző.

Az őszi fajták általánosan minden hőmérsékleti értéken (10 és 25 °C-on) jól csíráztak, illetve az alacsonyabb hőmérséklet összességében csak lelassította a magok kelését, de nem blokkolta a csírázásukat. A tavaszi fajták csírázását a 25 °C gátolni látszik, de a hőmérsékletre adott reakcióban erős fajtaspecifikusság figyelhető meg. A 28 évvel ezelőtti adatokhoz képest ez markáns eltérést jelent, ami bizonyos adaptációra enged következtetni. Úgy tűnik, az őszi fajták genotípusa - feltehetően szelekciós nyomásra - módosulhatott, ökológiai amplitúdójuk megnőtt.

Vizsgálataink alapján a 4-6 lombleveles állapotú máknövények összes oldhatócukortartalma és a fagytolerancia között összefüggés feltételezhető. Ezt a korreláció szorosságára utaló r^2 értékek bizonyítják, ami mind a fajták ($r^2=0,774$), mind pedig a hibridek esetében megnyilvánulnak ($r^2=0,781$). Ugyanakkor úgy tűnik, az ozmolitikumként jelentős cukorfelhalmozódás valószínűleg nem csak ökotípusra, hanem fajtára is specifikus jelleg. Ezen eredmények egy gyors szkrínmódszer fejlesztésének lehetőségét rejtik magukban, amely az őszi ökotípusú mákfajták nemesítése során, a téltűrésre való szelektálás folyamatát gyorsíthatja fel.

Adataink azt mutatják, hogy egy hetes fagyhatás szabadföldön nem indukál nagymértékű prolin-akkumulációt a növényekben. Átlagosan 185 %-os változást detektáltunk. A mesterséges körülmények között, kontrollált hőmérsékleti lépcsőben előidézett fagyhatás a mák genotípusokban a prolintartalom változását eredményezte. *In vitro* kísérleteink adatai szerint az

őszi ökotípusba tartozó, fagytoleráns fajták átlagosan 221 %-al nagyobb mértékben halmozták fel az ozmoprotektáns hatású prolint, mint a tavasziak, összefüggést mutatva a fajták téltűrésével. Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a prolin közrejátszhat bizonyos esetekben a fagytoleranciában, de nyilván nem egyedüli tényezője a védelemnek. A prolin krioprotektáns szerepe a mákban valószínűleg attól is függ, hogy milyen erős a fagyhatás és milyen hosszan tart, valamint milyen akklimatizációs körülmények után köszönt be a fagy.

Nyolclepcsős kísérletsorozatban kidolgoztunk egy, a mákra adaptált *in vitro* teszt módszert a mák genotípusok „őszi” és „tavaszi” jellegének megbízható és gyors elkülönítésére, amely a mák kétféle ökotípusának elválasztására standard körülményeket biztosít, és statisztikailag megbízható eredményt produkál. Meghatároztuk a növények fagytoleranciájának teszteléséhez legalkalmasabb fejlettségi állapotot (4-6 leveles), az előnevelés paramétereit (nappali/éjszakai hőmérséklet: 15/10 °C, 14000 lux fényerősség, 70 %-os relatív páratartalom), a fagyűrés tesztelésének kondícióit (+2 °C: 4 nap, 0 °C: 4 nap, -2 °C: 3 nap, -3 °C: 5 nap), valamint a növények regeneráltatásának körülményeit (15/10 °C: 14 nap).

Megállapítottuk, hogy nincs egyértelmű korreláció a mák genotípusok fagyűrése és a tok alkaloidtartalmának alakulása között. Ez a gyakorlat számára igen fontos eredmény. Az alacsony alkaloidtartalmú máktörzsek nem bizonyultak szignifikánsan fagytoleránsabbaknak, mint a magasak. A fagy által szelektált kísérleti parcellákon szignifikánsan alacsonyabb összes alkaloidtartalmat mértünk, mint az eredetileg azonos genetikai összetételű, tavaszi vetésből származó, teljes populációkban. Ezzel egyidejűleg azonban a keresztezett nemzedékekben találtunk olyan kombinációkat, amelyekben igen magas (3,10 %) egyedi alkaloidtartalom is előfordult az áttelelő vetésben is, amely alapján valószínűsítjük, hogy célirányos nemesítéssel előállíthatók mind magas-, mind alacsony hatóanyag-tartalmú őszi genotípusok.

A levél és a tok alkaloidtartalma között szignifikáns korrelációt mutattunk ki, közepes erősséggel ($r^2 = +0,488$). A levél hatóanyag-tartalma az étkezési, illetve ipari célra alkalmas genetikai anyagok korai megkülönböztető bélyege lehet. Az össz. alkaloidtartalom mellett ez alapján a legtöbb esetben következtethetünk a tokban várható fő komponensre is, ami elsősorban a karakterisztikusan eltérő alkaloidspektrumú fajták (narkotinos, tebainos) esetében mutatkozik markánsnak. Amellett, hogy a jövőben e módszer a nemesítés, szelekció célirányossá tételében és a generációk felgyorsításában gyakorlati jelentőséggel bírhat, eredményeinket továbbfejlesztve egy, a hatósági ellenőrzésben is segítséget nyújtó fajtaazonosítási rendszer alapjait fektethetjük le.

A nemesítés eredménye alapján megállapítható, hogy munkánk nyomán mind az étkezési, mind ipari felhasználásra alkalmas fajták spektruma értékes genotípusokkal bővült, melyek őszi-tavaszi vegetációs ciklusban, áttelelő termesztésre biztonsággal alkalmazhatók. Az F3

nemzedékben tapasztalható fagytolerancia a kiválasztott törzsek további három nemzedékén át stabilizálódott. Közülük a tebainos fajtajelölt (tebain tartalom: 1,88 %, morfin tartalom: 0,86 %) az ipari érdekeltség alapján, 'Hunor' néven, 2013 őszén fajtabejelentésre is került.

Kutatómunkánk számos értékes elméleti és gyakorlati eredménnyel zárult, amellyel remélhetőleg jó alappal tudunk szolgálni a jövőbeni, hasonló témakörben végzendő munkákhoz.

SUMMARY

Poppy (*Papaver somniferum* L.) is a traditionally consumed food not just in Hungary but in other European countries as well due to the importance in pharmaceutical industry it is one of the species used in the largest scale that accumulate alkaloids.

The aim of inland poppy breeding was changed persistently over the decades. Earlier the main goals were the enhancement of productivity, capsule size and oil content of poppy, later the development and cumulative demand of therapy caused the increased demand for morphine content and other special alkaloids (narcotine, codeine, thebaine) which created new opportunities in the poppy research. After that, because of the increase of drug abuses, the breeding of low alkaloid content cultivars (<0,01 %) became an important direction as well parallel to the breeding of high alkaloid content cultivars. Recently mainly in the Central European region from the two ecotypes of poppy, the cultivation of winter poppy became the conspicuous of interest. Naturally the winter poppy ecotypes possess enhanced frost tolerance in leaf rosette stage and able to overwinter, while spring poppy is generally killed or severely damaged by frosts under average winter conditions. The demand of winter poppy cultivars became significant in the last few years for the growers because of the higher and more stable yields as well as the earlier sales opportunities that ensures plus income, but in this ecotype the choice is poor. In the Hungarian list of varieties, only six cultivars belong to the winter poppy group while 16 ones are registered as spring poppy cultivars with low or high alkaloid content. Therefore the enhancement of frost tolerance of poppy is the further aim of poppy breeding besides altering the alkaloid content of it.

There are many factors which affect the overwintering of plants and its successfulness. In this point of view the genetic endowments, the environmental factors and the plants' development are also important. Many biochemical and physiological processes are necessary for the hardening of the plants to endure stress. Freeze causes ice crystals to form in the cells, which process the plants try to avoid by accumulating cryoprotectant compounds in the intercellular space. On the other hand, the forming of the different osmolites is a generally induced mechanism caused by stress, where the plant concentrates the extremely cold sensitive cytoplasm and lowers the freeze point and the water content of the cells. In case of poppy these processes are less researched, the information regarding the poppy's frost tolerance are very sporadic; the basic knowledge is derived from the practice, underpinned only with growing experiments. The long procedure of poppy breeding can be speeded up by identification of marker molecules (soluble sugar, proline) or morphological and histological markers which are connected to stress tolerance in case of several other plant species published in the literature.

Therefore in the present work our aims were to gather more information about know more about winter poppy genotypes, to reveal the biochemical, physiological characteristics related to frost tolerance of poppy and the possible relationship between frost tolerance and other important plant properties, additionally to investigate the connection of alkaloid accumulation and winter hardiness. The practical purposes were to broaden the gene bank collection and the breeding core materials of the Department of Medicinal and Aromatic Plants of the Corvinus University of Budapest with different frost tolerant genotypes as well as to develop a species-specific *in vitro* test method to test the frost tolerance of different genotypes. Our far goal was to implement new winter poppy candidate varieties which meet the growing regulations and requirements of the EU.

The open field and *in vitro* trials were conducted between 2008 and 2012 matching comprehensive session, in various populations, with cultivars and generations which were derived from the reciprocal crossings of cultivars (49 taxons), in more experimental cycle. We collected informations about the frost tolerance of plants in open field and the characteristic features of overwintering genotypes such as histological characteristics, relative water content, fatty oil content, sprouting temperature as well as the relationship which with the increased tolerance determined in the genotype able to manifest in the phenotype. The analysis of the accumulation of cryoprotectants (sugar and proline) was done too, in different populations and in the various phases of cold induction. Connected with the *in vitro* experiments the plant material was made with a species-specific *in vitro* test method developed specifically for the purposes of this study. We tried to answer the question of winter hardiness and alkaloid accumulation by comparing the alkaloid content of autumn and spring sown populations which have the same genetic material. Furthermore the alkaloid content of poppy leaves was measured, which are in an early ontogenetic stage as a potential marker.

Regarding the frost tolerance of poppy cultivars in open field, it can be established that the overwintering genotypes showed better frost tolerance in the mean of three years than the spring ecotype varieties (average of 276 %). The two groups are separated statistically, but there are differences within the groups also. According to overwintering data, the frost tolerance of hybrids made of the crossings of winter and spring ecotypes show intermediate character. It can be presumed also that the frost tolerance of the winter ecotype parent can be manifested in other ways in the progenies which depends on the spring ecotype parent (KoxKor shows better frost tolerance than KoxMi). There aren't any significant changes between the different generations (F2-F3) based on data.

The leaves of poppy adapt to environmental conditions, thus anatomical changes appear in the tissue structure of the mesophyll as well as of the epidermis. We could observe significant

difference between the cuticle thickness of spring ecotype and winter poppy varieties, which means that the genotypes that are able to overwinter have thicker cuticle than the spring varieties. This difference occurred both on the abaxial and the adaxial sides of the leaves, in an average of 1,858 and 2,349 μm . We can conclude that cuticle thickness can be a predictive characteristic of frost tolerant genotypes, although thinner cuticle is not necessarily related to intolerance. Cuticle thickness as one of the markers of frost tolerance may offer the possibility of a rapid screening method for new cold tolerant winter ecotypes of poppy.

We proved that the relative water content of poppy cultivars, measured in 5-6 leaf stage and under 15/10 $^{\circ}\text{C}$ (which represents the average conditions in case of an autumn or spring sown population), do not differ significantly (winter poppy cultivars: 59,139 %, spring ecotype cultivars: 59,280 %). No relationship between the relative water content of genotypes and their prospective frost tolerances could be found.

Results showed that the winter poppy cultivars suitable for overwintering could accumulate more fatty oil than the spring ecotypes cultivars. Based on the tested inland cultivars it can not be excluded that the higher seed oil content is a typical feature of a better overwintering cultivars.

Generally the winter ecotype cultivars could germinate on every tested temperature (10 and 25 $^{\circ}\text{C}$) and the lower temperatures only slowed down the germination of seeds but did not block it. In case of spring ecotype cultivars 25 $^{\circ}\text{C}$ seemed to block the germination, although in the reaction given on this temperature were strongly species-specific. Compared to the data of 28 years ago this means a remarkable difference suggesting a certain adaptation. Probably the genotypes of winter poppy cultivars have changed because of presumable selection pressure and their ecological amplitudes have increased.

Based on our study, in 4-6 leaf stage poppy plants a correlation can be assumed between the total soluble sugar content and the frost tolerance which can be proved by the r^2 values in case of both the cultivars ($r^2=0,774$) and the hybrids ($r^2=0,781$). At the same time it seems that the sugar accumulation (as a significant osmolytic) is specific not only for ecotype but for cultivar as well. These results may offer a possibility to develop a rapid screen method which might facilitate the selection for overwintering in the course of breeding winter ecotype cultivars.

According to our data, one week of frost on open field does not induce an excessive proline accumulation in poppy plants. An average of 185 % change was detected. The frost effect triggered under artificial circumstances, in controlled temperature stages resulted proline changes in poppy genotypes. Accordance with our data of *in vitro* experiments, the frost tolerant winter ecotype cultivars accumulated an average of 221 % more osmoprotectant proline than the spring cultivars, which correlates with the frost tolerance of the cultivars. Based on the results, it

can be concluded that proline may play a role in the frost tolerance of poppy but it is not the only factor determining this feature. The role of the cryoprotectant proline also depends on the strength and length of the frost effect and on the acclimation conditions before frost.

In an eight stages experiment an *in vitro* test method adapted for poppy were developed for the reliable and rapid separation of the 'winter' and 'spring' features of poppy genotypes. It ensures standard conditions for the separation of the ecotypes and produce statistically reliable result. We determined the phenological stage (4-6 leaf stage) of the plants which is optimal for testing frost tolerance; the parameters of the growing period (day/night temperature: 15/10 °C, 14000 lux light intensity, 70 % relative humidity); the conditions of cold treatment (+2 °C: 4 days, 0 °C: 4 days, -2 °C: 3 days, -3 °C: 5 days) as well as the regeneration condition of poppy plants (15/10 °C: 14 days).

It could be concluded that there is no definite correlation between the frost tolerance of poppy genotypes and the alkaloid content of capsules, what is very important result for the practice. The low alkaloid content poppy strains did not prove to be more frost tolerant than the ones with high alkaloid content. Populations showed lower total alkaloid content on the experimental plots selected by frost than the ones which derived from the spring sowing and have the same genetic composition. At the same time we found some combination in the crossed generations with very high individual alkaloid content (3.10 %) in the overwintered plots also, therefore we can assume that with targeted breeding, both high and low alkaloid content winter poppy genotypes can be produced.

We detected significant correlation between the leaf and the capsule alkaloid content with moderate strength ($r^2 = +0,488$). The alkaloid content of leaf can be the distinctive character for the different poppy genotypes (culinary or industrial purposes). Beside the total alkaloid content we can implicate the prospective main component in the capsule also, that occurs mainly in case of those cultivars which have characteristically different alkaloid content (with narcotine or thebaine content). In the future this method may play a practical role in making the selection targeted and in speeding up the generations in the breeding process. Moreover, we can lay down the basics of a cultivar identification system assisting the official controls as well.

According to the results of the breeding process, the spectrum of cultivars suitable for both culinary and industrial purposes was broaden with valuable genotypes which can be used safely in . frost tolerance observed in the F3 generation stabilized throughout the three generations of the selected strains. Due to industry interests, one of strains with thebaine content (thebaine content: 1,88 %, morphine content: 0,86 %) was announced to cultivar notification in the autumn of 2013 as '*Hunor*'.

Our research work was finished with many theoretical and practical results, which can serve as a good base for further studies in this area of research.

ÁBRÁK JEGYZÉKE

- 1. ábra:** Mák (*Papaver somniferum* L.) ültetvény, Kostelec na Hané, Csehország (Fotó: Jászberényi Cs., 2011)
- 2. ábra:** Nyers ópium
- 3. ábra:** A mák fő alkaloidjainak bioszintézis útja (Németh et al., 2011)
- 4. ábra:** A növények nevelése és fagyűrésük tesztelése során alkalmazott berendezések (Fotó: Jászberényi Cs., 2010)
- 5. ábra:** 4-6 lomblevelés máknövények a fagyűrésvizsgálatot megelőzően (Fotó: Jászberényi Cs., 2011)
- 6. ábra:** Az áttelelt növények, Soroksár (Fotó: Jászberényi Cs., 2009)
- 7. ábra:** Hótakaróval borított kísérleti parcella a december 17.-i mintavételkor (Fotó: Jászberényi Cs., 2009)
- 8. ábra:** Hótakaróval borított máknövények (Fotó: Radácsi P., 2010)
- 9. ábra:** A reakciókeverékek toluollal történő extrahálást követően (Fotó: Jászberényi Cs., 2011)
- 10. ábra:** Zeiss, Axio Imager A2 típusú fénymikroszkóp (Fotó: Jászberényi Cs., 2011)
- 11. ábra:** A máknövények a mintavételezést követően (Fotó: Jászberényi Cs., 2011)
- 12. ábra:** Desztillált vízbe merített máknövények (Fotó: Jászberényi Cs., 2011)
- 13. ábra:** Soroksáron mért hőmérsékleti értékek 2008. szeptember és 2009. július között, dekádonként átlagolva
- 14. ábra:** Soroksáron mért csapadék értékek 2008-2009, 2009-2010 és 2010-2011-es években az őszi vetéstől a betakarításig, dekádonként átlagolva
- 15. ábra:** Soroksáron mért hőmérsékleti értékek 2009. szeptember és 2010. július között, dekádonként átlagolva
- 16. ábra:** Soroksáron mért hőmérsékleti értékek 2010. szeptember és 2011. július között, dekádonként átlagolva
- 17. ábra:** Tavaszi és őszi ökotípusú fajták színi és fonáki epidermisz-vastagsága 2011-ben
- 18. ábra:** Tavaszi és őszi ökotípusú fajták színi és fonáki kutikula-vastagsága 2011-ben
- 19. ábra:** A fagyérzékeny 'Korona' és a fagyűrő 'Kozmosz' mákfajták fonáki kutikulája, epidermisz és parenchima sejtjei (Fotó: Varga D., 2011)
- 20. ábra:** A fagyérzékeny 'Korona' és a fagyűrő 'Leila' színi kutikulája, epidermisz és parenchima sejtjei (Fotó: Varga D., 2011)
- 21. ábra:** Őszi és tavaszi ökotípusú fajták relatív víztartalma
- 22. ábra:** Az őszi és a tavaszi ökotípusú fajták magjának zsírosolaj-tartalma 2011-ben
- 23. ábra:** 10 °C-on csíráztatott mákfajták csírázási erélye és csírázási százaléka

- 24. ábra:** 25 °C-on csíráztatott mákfajták csírázási erélye és csírázási százaléka
- 25. ábra:** Az őszi- és a tavaszi ökotípusú fajták leveleinek cukortartalma 2009 májusában
- 26. ábra:** A hibridek leveleinek cukortartalma 2009 májusában
- 27. ábra:** A cukortartalom (glükóz, fruktóz, szacharóz) felhalmozódásának dinamikája az egész növényekben (gyökér, szár, levél) mérve, 2009 telén
- 28. ábra:** A hibridek cukor-felhalmozódási dinamikája az egész növényekben (gyökér, szár, levél) mérve, 2009 telén
- 29. ábra:** A fajták szénhidrát-komponenseinek felhalmozódási dinamikája 2009 telén, fagyhatás előtt („e”), fagyhatáskor („f”), valamint fagyhatás után („u”)
- 30. ábra:** A szénhidrát-komponensek felhalmozódási dinamikája a hibrid nemzedékben, 2009 telén, fagyhatás előtt („e”), fagyhatáskor („f”), valamint fagyhatás után („u”)
- 31. ábra:** Az őszi- és a tavaszi ökotípusú fajták leveleinek prolintartalma 2009 májusában
- 32. ábra:** Az F3 nemzedékbe tartozó hibridek leveleinek prolintartalma 2009 májusában
- 33. ábra:** A prolin-felhalmozódás dinamikája az egész növényekben (gyökér, szár, levél) mérve, 2010 telén
- 34. ábra:** A hőmérséklet hatása a fajták prolin-felhalmozódására egész növényekben mérve (gyökér, szár, levél), kontrollált környezetben, 2009-ben
- 35. ábra:** Magas és alacsony hatóanyag-tartalmú szülők hibridjeinek szabadföldi fagyűrése 2009 telén és össz. alkaloidtartalma az oszlopok felett jelölve, %-ban kifejezve (*: nincs adat, kék vonal: őszi szülőfajták fagyűrésének átlaga, piros vonal: tavaszi szülőfajták fagyűrésének átlaga)
- 36. ábra:** Az őszi- (sötét) és a tavaszi vetésből származó minták hatóanyag-tartalomra vonatkozó adatainak (világos) eloszlása (balra: magas hatóanyag-tartalmú szülőfajták hibridjei; jobbra: alacsony hatóanyag-tartalmú szülőfajták hibridjei)
- 37. ábra:** Az őszi- (’ö’) és a tavaszi vetésű (’t’) populációk alkaloidspektruma
- 38. ábra:** Az alacsony és magas hatóanyag-tartalmú fajták levelében és tokjában felhalmozódó alkaloidtartalom, 2009-ben
- 39. ábra:** Az alacsony és magas hatóanyag-tartalmú fajták levelében és tokjában felhalmozódó alkaloidtartalom, 2010-ben
- 40. ábra:** Az alacsony és magas hatóanyag-tartalmú hibridek levelében és tokjában felhalmozódó alkaloidtartalom, 2009-ben
- 41. ábra:** A ’Korona’ x 67 kombináció első három utódnemzedékének alkaloidtartalma a szülőfajtákkal összehasonlítva (2009)
- 42. ábra:** A ’Medea’ x ’Kozmosz’ kombináció első három utódnemzedékének alkaloidtartalma a szülőfajtákkal összehasonlítva (2009)

43. ábra: Az 'E2' jelű törzs, magas tebain tartalommal és kiváló fagytoleranciával (Fotó: Zámboriné Németh É., 2013)

44. ábra: A négy szelektált fajtajelölt kifagyása az F3-F6 hibridnemzedékekben (2009-2012)

TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

1. **táblázat:** Ozmoprotektáns anyagok alacsony hőmérsékletre vagy fagyhatásra bekövetkező változásai növényekben
2. **táblázat:** A kísérletekben előforduló *Papaver somniferum* L. fajták és taxonok (részletesen lásd az egyes kísérleteknél)
3. **táblázat:** A genotípusok szabadföldi fagyűrése 2008-2011 között
4. **táblázat:** A fajták közti szignifikáns eltérések a színi és a fonáki epidermisz-vastagságot tekintve (*)
5. **táblázat:** A fajták közti szignifikáns eltérések a színi és a fonáki kutikula-vastagságot tekintve (*)
6. **táblázat:** A különböző ökotípusok epidermisz és kutikula-vastagságának átlagos értékei (μm)
7. **táblázat:** A fajták cukortartalmában fagyhatás előtt tapasztalt szignifikáns eltérések (*)
8. **táblázat:** A fajták cukortartalmában fagyhatáskor tapasztalt szignifikáns eltérések (*)
9. **táblázat:** A fajták cukortartalmában fagyhatás után tapasztalt szignifikáns eltérések (*)
10. **táblázat:** A fajták fagyhatáskor mért cukortartalma és téltűrése ($r^2=0,774$)
11. **táblázat:** A hibridek cukortartalmában fagyhatáskor tapasztalt szignifikáns eltérések (*)
12. **táblázat:** A hibridek cukortartalmában fagyhatás után tapasztalt szignifikáns eltérések (*)
13. **táblázat:** A keresztezett utódnemzedék hibridjeinek fagyhatáskor mért cukortartalma és téltűrése ($r^2=0,781$)
14. **táblázat:** A fajták cukorkomponenseiben a fagy előtt (A), fagyhatáskor (B), illetve fagyhatás után (C) tapasztalt szignifikáns eltérések (*)
15. **táblázat:** Az őszi- és tavaszi ökotípusok összehasonlítása a szénhidrát-komponensek változásai alapján fagy előtt (A), fagyhatáskor (B), illetve fagyhatás után (C) (szignifikáns eltérések:*)
16. **táblázat:** A fajták prolintartalmában fagyhatás után tapasztalt szignifikáns eltérések (*)
17. **táblázat:** Különböző fejlettségű máknövények fagyűrése (megmaradt egyedek aránya %) csökkenő hőmérsékleteken, fitotronban (2008)
18. **táblázat:** Őszi és tavaszi fajták fagyűrése $-2\text{ }^\circ\text{C}$ -on, fitotronban, különböző vizsgálati ciklusokban (2009)
19. **táblázat:** Őszi és tavaszi fajták fagyűrése a $-3\text{ }^\circ\text{C}$ -os tesztelés hosszának függvényében fitotronban (2009, 3 teszt átlaga)
20. **táblázat:** Őszi és tavaszi fajták tömegmaradása különböző hőmérsékletű regeneráltatási periódus után ($-2\text{ }^\circ\text{C}$ 3 nap, $-3\text{ }^\circ\text{C}$ 5 nap indukció után), (2009, 3 teszt átlaga)

- 21. táblázat:** A különböző fajták között, adott hőmérsékleten mért prolintartalom szignifikáns eltérései (*)
- 22. táblázat:** A különböző hőmérsékleteken mért prolintartalom szignifikáns eltérései fajtánként (*)
- 23. táblázat:** Az utódnemzedékekben a hibridek között tapasztalt szignifikáns eltérések a szabadföldi fagyűrésre vonatkozóan (*)
- 24. táblázat:** Az őszi- és a tavaszi vetésű populációk össz. alkaloidtartalmi értékei
- 25. táblázat:** A szelektált mák törzsek alkaloidtartalmi értékei (%) az F6 generációban, 2012-ben (2011 őszi vetés).

IRODALOMJEGYZÉK

- ABROMEIT, M.; ASKMAN, P.; SARNIGHAUSEN, E.; DÖRFFLING, K. (1992):** Accumulation of high-molecular-weight proteins in response to cold hardening and abscisic acid treatment in two winter wheat varieties with different frost tolerance. *Journal Plant Physiol.* 140(5): 617-622. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)80798-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80798-4)
- ANDERGASSEN, S.; BAUER, H. (2002):** Frost hardiness in the juvenile and adult life phase of ivy (*Hedera helix* L.). *Plant Ecology*, 161(2): 207-213. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1020365422879>
- ANONYMUS (2011):** Alkaloida Vegyészeti Gyár Zrt., Máktermesztési technológia (kézirat)
- ANTAL J. (1999):** A szántóföldi növények trágyázása. In: Fülek Gy. (szerk.) Tápanyag-gazdálkodás. Budapest, Mezőgazda Kiadó p. 296-300.
- AUGUSTIN B.; JÁVORKA S.; GIOVANNINI R.; ROM P. (1948):** Magyar Gyógynövények. Földművelésügyi Minisztérium, Budapest p. 106.
- AZCAN, N.; KALENDER, B. O.; KARA, M. (2004):** Investigation of turkish poppy seeds and seed oils. *Chemistry of Natural Compounds.* 40(4): 370-372. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/B:CONC.0000048250.81843.0a>
- BAJPAI, S.; PRAJAPATI, S.; LUTHRA, R.; SHARMA, S.; NAQVI, A.; KUMAR, S. (1999):** Variation in the seed and oil yields and oil quality in the Indian germplasm of opium poppy *Papaver somniferum*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46(5): 435-439. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1008753604907>
- BANDURSKA, H.; PLACHTA, M.; WOSZCZYK, M. (2009):** Seasonal patterns of free proline and carbohydrate levels in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) and ivy (*Hederea helix*) leaves and resistance to freezing and water deficit. *Dendrobiology*, 62: 3-9.
- BANNER, A. S. (1986):** Cough: Physiology, evaluation, and treatment. *Lung*, 164(1): 79-92. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02713631>
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. (1973):** Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1): 205-207. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060>
- BEARE-ROGERS, J. L.; GRAY, L.; NERA, E. A.; LEVIN, O. L. (1979):** Nutritional properties of poppyseed oil relative to some other oils. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 23(4): 335-346. DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000176272>
- BECK, E. H.; HEIM, R.; HANSEN, J. (2004):** Plant resistance to cold stress: Mechanisms and environmental signals triggering frost hardening and dehardening. *Journal of Biosciences*, 29(4): 449-459. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02712118>
- BEHAR, M.; OLSHWANG, D.; MAGORA, F.; DAVIDSON, J. T. (1979):** Epidural morphine in treatment of pain. *The lancet*, 313(8115): 527-529. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(79\)90947-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(79)90947-4)

- BELLA, A. J.; BROCK, G. B. (2004):** Intracavernous pharmacotherapy for erectile dysfunction. *Endocrine*, 23(2-3): 149–155. DOI: <http://dx.doi.org/10.1385/ENDO:23:2-3:149>
- BERNÁTH J. (1986):** Complex physio-ecological evaluation of the alkaloid formation of the poppy (*Papaver somniferum* L.). *Herba Hungarica*, 25(2): 43-75.
- BERNÁTH J. (1998a):** Cultivation of poppy under tropical conditions. In: Bernáth J. (szerk.) *Poppy - The genus Papaver*. Harwood Academic Press, Amsterdam p. 237-248.
- BERNÁTH J. (1998b):** Utilization of poppy. In: Bernáth J. (szerk.) *Poppy - The genus Papaver*. Harwood Academic Press, Amsterdam p. 337-342.
- BERNÁTH J. (1998c):** Overview of world tendencies on cultivation, processing and trade of raw and opiates. In: Bernáth J. (szerk.) *Poppy - The genus Papaver*. Harwood Academic Press, Amsterdam p. 319-335.
- BERNÁTH J. (2001):** A mák gazdasági jelentősége és felhasználása. A mákalkaloidok stratégiai jelentősége. In: Sárkány S.; Bernáth J.; Tétényi P. (szerk.) *Magyarország kultúrflórája: A mák (Papaver somniferum L.)*. Akadémiai Kiadó, Budapest p. 215-223.
- BERNÁTH J. (2002):** Strategies and recent achievements in selection of medicinal and aromatic plants. *Acta Horticulturae*, 576: 115-122.
- BERNÁTH J. (2013):** Vadon termő és termesztett gyógynövények. *Mezőgazda Kiadó, Budapest* p. 379-385.
- BERNÁTH J.; DÁNOS B.; VERES T.; SZÁNTÓ J.; TÉTÉNYI P. (1988):** Variation in alkaloid production of poppy genotypes. Responses to different environment. *Biochem. Syst. Ecol.*, 16(2): 171-178.
- BERNÁTH J.; SÁRKÁNY S. (2001):** A mák gazdasági jelentősége és felhasználása. A mákalkaloidok előállításának hazai hagyományai. In: Sárkány S.; Bernáth J.; Tétényi P. (szerk.) *Magyarország kultúrflórája: A mák (Papaver somniferum L.)*. Akadémiai Kiadó, Budapest p. 223-225.
- BERNÁTH J.; NÉMETH É. (2005):** A hazai máktermesztés EU konformitását megalapozó nemesítési eredmények. *Kertgazdaság*, 37(3): 71-77.
- BERNÁTH J.; NÉMETH É. (2009):** Poppy. In: Vollmann J.; Rajcan I. (szerk.) *Handbook of plant breeding*. Springer, New York p. 449-468.
- BERNÁTH J.; NÉMETH É. (2010):** A mák. *Termesztés és receptek*. CSER Kiadó, Budapest
- BERNÁTH J.; TÉTÉNYI P. (1979)** cit. in BERNÁTH J. (2000): Speciális növényi anyagok felhalmozódásának környezeti feltételei. In: Bernáth J. (szerk.) *Gyógy- és Aromanövények*. Mezőgazda Kiadó, Budapest p. 58.
- BERNÁTH, J.; TÉTÉNYI, P. (1981):** The Effect of environmental factors on growth, development and alkaloid production of poppy (*Papaver somniferum* L.) II. Interaction of light and temperature. *Biochem. Physiol. Pfl.*, 176(7): 599-605.

- BERNÁTH J.; TISCHNER T.; ÁBRÁNYI A. (1982):** Növénykörnyezet és szabályozása. Akadémiai Kiadó, Budapest p. 88.
- BHANDARI, M. M. (1989):** Inheritance of petal colour in *Papaver somniferum* L. Journal of Horticultural Science, 64: 339-340.
- BOESE, S. R.; HUNER, N. P. A. (1990):** Effects of growth temperature and temperature shifts on spinach leaf morphology and photosynthesis. Plant Physiol., 94: 1830-1836. DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.94.4.1830>
- BOURION, V.; LEJEUNE-HÉNAUT, I.; MUNIER-JOLAIN, N.; SALON, C. (2003):** Cold acclimation of winter and spring peas: carbon partitioning as affected by light intensity. European Journal of Agronomy, 19(4): 535-548. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s1161-0301\(03\)00003-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1161-0301(03)00003-0)
- BOZAN, B.; TEMELLI, F. (2008):** Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. Bioresource Technology, 99 (14): 6354-6359. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.009>
- BRAVO, L. A.; ZÚNIGA, G. E.; ALBERDI, M.; CORCUERA L. J. (1998):** The role of ABA in freezing tolerance and cold acclimation in barley. Physiologia Plantarum, 103(1): 17-23. DOI: <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1030103.x>
- BRYANT, R. J. (1987):** The manufacture of medicinal alkaloids from the opium poppy - a review of a traditional biotechnology. Fifth SCI process development symposium. Chemistry and Industry, Birmingham (7 March 1988) p. 146-153.
- BURBULIS, N.; KUPRIENÉ, R.; BLINSTRUBIENÉ, A. (2008):** The effect of de-acclimation and re-acclimation treatments on winter rapeseed cold resistance *in vitro*. Horticulture and Lithuanian University of Agriculture, 27(4): 233-240.
- BURBULIS, N.; JONYTIENE, V.; KUPRIENE, R.; BLINSTRUBIENE, A. (2011):** Changes in proline and soluble sugars content during cold acclimation of winter rapeseed shoots *in vitro*. Journal of Food Agriculture & Environment, 9(2): 371-374.
- BUVAT, J.; LEMAIRE, A.; MARCOLIN, G.; DEHAENE, J. L.; BUVAT-HERBAUT, M. (1987):** Intracavernous injection of papaverine (ICIP). World Journal of Urology, 5(3): 150-155. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00326822>
- CASTONGUAY, Y.; BERTRAND, A.; MICHAUD, R.; LABERGE, S. (2011):** Cold-induced biochemical and molecular changes in alfalfa populations selectively improved for freezing tolerance. Crop Science, 51(5): 2132-2144. DOI: <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2011.02.0060>
- CAI, Q. S.; WANG, S. Z.; CUI, Z. P.; SUN, J. H.; ISHII Y. (2004):** Changes in freezing tolerance and its relationship with the contents of carbohydrates and proline in overwintering centipedegrass (*Eremochloa ophiuroides* (Munro) Hack.). Plant Production Science, 7(4): 421-426. DOI: <http://dx.doi.org/10.1626/pss.7.421>
- CEVIK-DEMIRKAN, A.; OZTASAN, N.; OGUZHAN, E. O.; CIL, N.; COSKUN, S. (2012):** Poppy seed oil protection of the hippocampus after cerebral ischemia and re-perfusion in rats. Biotechnic & Histochemistry, 87(8): 499-505. DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/10520295.2012.701763>

- CHITTY, J. A.; ALLEN, R. S.; FIST, A. J.; LARKIN, P. J. (2003):** Genetic transformation in commercial Tasmanian cultivars of opium poppy, *Papaver somniferum*, and movement of transgenic pollen in the field. *Functional Plant Biology*, 30(10): 1045–1058. DOI: <http://dx.doi.org/10.1071/fp03126>
- CLOUTIER, Y.; SIMINOVITCH, D. (1982):** Correlation between cold- and drought-induced frost hardiness in winter wheat and rye varieties. *Plant Physiology*, 69(1): 256-258. DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.69.1.256>
- DACHLER, M. (1990):** Varieties and nitrogen requirements of some medicinal and spice plants grown for seed (*Papaver somniferum* L., *Linum usitatissimum* L., *Carum carvi* L. and *Sinapis alba* L.). *Herba Hungarica*, 29(3): 41-50.
- DAI, Y.; AN, L.; XU, S. (2004):** Comparative study on characteristics of leaf structure of *Papaver croceum* Ldb. (*Papaveraceae*) in two altitudes habitat at cold regions. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 24(3): 495-503.
- DAVID, M. M.; COELHO, D.; BARROTE, I.; CORREIA, M. J. (1998):** Leaf age effects on photosynthetic activity and sugar accumulation in droughted and rewatered *Lupinus albus* plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 25(3): 299-306. DOI: <http://dx.doi.org/10.1071/pp97142>
- DÁNOS B. (1965):** Wirkung der generativen Hybridisierung auf die Gestaltung des Alkaloidgehalts des Mohns. *Pharmazie*, 20: 727-730.
- DÁNOS B. (2006):** Farmakobotanika Gyógynövényismeret. Semmelweis Kiadó, Budapest p. 48-49.
- DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. S. (1993):** Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal*, 4(2): 215-223. DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-313x.1993.04020215.x>
- DOBOS J.; BERNÁTH, J. (1985):** Eltérő származású és vegetációs ciklusú *Papaver somniferum* L. fajták csírázásbiológiai vizsgálata. *Herba Hungarica*, 24(2-3): 35-41.
- DOBOS, G.; KURCH, R.; BÖRNER, A.; LOHWASSER, U. (2011):** Untersuchungen zur Winterfestigkeit von Schlafmohn (*Papaver somniferum* L.) der Genbank in Gatersleben. *Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen*, 16(4): 151-155.
- DÖRFFLING, K.; DÖRFFLING, H.; LUCK, E. (2009):** Improved frost tolerance and winter hardiness in proline overaccumulating winter wheat mutants obtained by *in vitro*-selection is associated with increased carbohydrate, soluble protein and abscisic acid (ABA) levels. *Euphytica*, 165: 545-556. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-008-9777-3>
- DUBEY, M. K.; DHAWAN, O. P.; KHANUJA, S. P. S. (2009):** Downy mildew resistance in opium poppy: resistance sources, inheritance pattern, genetic variability and strategies for crop improvement. *Euphytica*, 165(1): 177-188. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-008-9804-4>
- DZINK, J. L.; SOCRANSKY, S. S. (1985):** Comparative *in vitro* activity of sanguinarine against oral microbial isolates. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 27(4): 663-665. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/aac.27.4.663>

- EKLUND, A.; AGREN, G. (1975):** Nutritive value of poppy seed protein. In: Journal of American Oil Chemists Society. 52(6): 188-190. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/bf02672167>
- EQUIZA, M. A.; MIRAVÉ, J. P.; TOGNETTI, J. A. (2001):** Morphological, anatomical and physiological responses related to differential shoot vs. root growth inhibition at low temperature in spring and winter wheat. Annals of Botany, 87(1): 67-76. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/anbo.2000.1301>
- ERICSSON, A. (1979):** Effects of fertilization and irrigation on the seasonal changes of carbohydrate reserves in different age-classes of needle on 20-year-old scots pine trees (*Pinus silvestris*). Physiologia Plantarum, 45(2): 270–280. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1979.tb01700.x>
- FACCHINI, P. J.; HAGEL, J. M.; LISCOMBE, D. K.; LOUKANINA, N.; MACLEOD, B. P.; SAMANANI, N.; ZULAK, K. G. (2007):** Opium poppy: blueprint for an alkaloid factory. Phytochem. Rev., 6: 97-124. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11101-006-9042-0>
- FACCHINI, P. J.; DE LUCA, V. (1994):** Differential and tissue-specific expression of a gene family for Tyrosine Dopa decarboxylase in opium poppy. The Journal of Biological Chemistry, 269(43): 26684-26690.
- FACCHINI, P. J.; BIRD, D. A. (1998):** Developmental regulation of benzyloquinoline alkaloid biosynthesis in opium poppy plants and tissue cultures. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 34(1): 69-79. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/bf02823126>
- FERREIÓS, N.; DRESEN, S.; HERMANN-CLAUSEN, M.; AUWAERTER, V.; THIERAUF, A.; MÜLLER, C.; HENTSCHEL, R.; TRITTLER, R.; SKOPP, G.; WEINMANN, W. (2009):** Fatal and severe codeine intoxication in 3-year-old twins - interpretation of drug and metabolite concentrations. International Journal of Legal Medicine, 123(5): 387-394. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00414-009-0340-0>
- FINETTO, G. (2008):** Opium poppy: Societal blessing and curse. *Chronica Horticulturae*, 48(3): 18-23.
- FÖLDESI D. (1994):** A mák termesztése. *Agrofórum*, 5(2): 30-32.
- FÖLDESI D. (1995):** Az őszi mák termesztése. *Új Kertgazdaság*, 1(1-2): 72-73.
- FÖLDESI D. (1997):** A mák (*Papaver somniferum* L.). Olaj, szappan, kozmetika, 46(3): 93-97.
- FÖLDESI D. (2000):** Mák (*Papaver somniferum* L.). In: Bernáth J. (szerk.) Gyógy- és aromanövények. Mezőgazda Kiadó, Budapest p. 451-461.
- FÖLDESI D. (2001):** A mák termesztése. A száraztok-előállítás technológiája. In: Sárkány S.; Bernáth J.; Tétényi P. (szerk.) Magyarország kultúrflórája: A mák (*Papaver somniferum* L.). Akadémiai Kiadó, Budapest p. 205-215.
- FÖLDESI D. (2005):** Az őszi mák termesztése. *Új Kertgazdaság*, 1(1-2): 72-73.
- FRICK, S.; CHITTY, J. A.; KRAMELL, R.; SCHMIDT, J.; ALLEN, R. S.; LARKIN, P. J.; KUTCHAN, T. M. (2004):** Transformation of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) with antisense berberine bridge enzyme gene via somatic embryogenesis results in an altered ratio of

- alkaloids in latex but not in roots. *Transgenic Research*, 13(6): 607-613. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11248-004-2892-6>
- FÜRST ZS.; HOSZTAFI S. (2001):** A mák gazdasági jelentősége és felhasználása. A mákalkaloidok farmakológiája. In: Sárkány S.; Bernáth J.; Tétényi P. (szerk.) Magyarország kultúrflórája: A mák (*Papaver somniferum* L.). Akadémiai Kiadó, Budapest p. 225-236.
- GALIBA G.; VÁGÚJFALVI A.; LI, C.; SOLTÉSZ A.; VASHEGYI I.; CATTIVELLI, L.; DUBCOVSKY, J. (2009):** Molekuláris modell a fagyállóság és a vernalizációs igény kölcsönhatásának értelmezésére. XV. Növénynevelési Tudományos Napok. Budapest (2009.03.17.) Összefoglalók p. 140-144.
- GHIORGHITA, G.; NICULIȚĂ, C.; BALINT, S. V. (1990):** Influence of self-pollination and of the branching degree on some morpho-physiological induces in opium poppy (*Papaver somniferum* L.). *Revue Roumaine de Biologie. Série de Biologie Végétale*, 35(1): 67-74.
- GIANOLI, E.; INOSTROZA, P.; ZÚÑIGA-FEEST, A.; REYES-DÍAZ, M.; CAVIERES, L. A.; BRAVO, L. A.; CORCUERA, L. J. (2004):** Ecotypic differentiation in morphology and cold resistance in populations of *Colobanthus quitensis* (*Caryophyllaceae*) from the Andes of Central Chile and the Maritime Antarctic. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 36(4): 484-489. DOI: [http://dx.doi.org/10.1657/1523-0430\(2004\)036%5B0484:edimac%5D2.0.co;2](http://dx.doi.org/10.1657/1523-0430(2004)036%5B0484:edimac%5D2.0.co;2)
- GLEESON, D.; LELU-WALTER, M. A.; PARKINSON, M. (2004):** Overproduction of proline in transgenic hybrid larch (*Larix x leptoeuropaea* (Dengler)) cultures renders them tolerant to cold, salt and frost. *Molecular Breeding*, 15: 21-29. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11032-004-1363-3>
- GRIFFITH, M.; HUNER, N. P. A.; ESPELIE, K. E.; KOLATTUKUDY, P. E. (1985):** Lipid polymers accumulate in the epidermis and mesophyll cell walls during low temperature development of winter rye leaves. *Protoplasma*, 125(1-2): 53-64. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/bf01297350>
- GUINCHARD, M. P.; ROBIN, C. H.; GRIEU P. H.; GUCKERT, A. (1997):** Cold acclimation in white clover subjected to chilling and frost: Changes in water and carbohydrates status. *European Journal of Agronomy*, 6(3-4): 225-233. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s1161-0301\(96\)02046-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1161-0301(96)02046-1)
- GUY, C. L.; HUBER, J. L. A.; HUBER, S. C. (1992):** Sucrose phosphate synthase and sucrose accumulation at low temperature. *Plant Physiol.*, 100(1): 502-508. DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.100.1.502>
- HALMAI J.; NOVÁK I. (1963):** Farmakognózia. Medicina Könyvkiadó, Budapest p. 224-237.
- HARASZTY Á. (1998):** Növény szerkezettan és növényélettan. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest
- HAMILTON, G. R.; BASKETT, T. F. (2000):** History of Anesthesia. In the arms of Morpheus: the development of morphine for postoperative pain relief. *Canadian Journal of Anesthesia*, 47(4): 367-374.
- HANZLIK, P. J. (1929):** 125th anniversary of the discovery of morphine by Sertürner. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 18(4): 375-384. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jps.3080180413>

- HEINO, P.; PALVA, E. T. (2003):** Signal transduction in plant cold acclimation. *Topics in Current Genetics, Plant Responses to Abiotic Stress*, 4: 151-186. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-39402-0_7
- HERMANN-CLAUSEN, M.; WEINMANN, W.; AUWÄRTER, V.; FERREIRÓS, N.; TRITTLER, R.; MÜLLER, C.; PAHL, A.; SUPERTI-FURGA, A.; HENTSCHEL, R. (2009):** Drug dosing error with drops - severe clinical course of codeine intoxication in twins. *European Journal of Pediatrics*, 168(7): 819-824. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00431-008-0842-7>
- HINCHA, D. K. (1994):** Rapid induction of frost hardiness in spinach seedlings under salt stress. *Planta*, 194(2): 274-278. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/bf00196398>
- HOFMAN, P. J.; MENARY, R. C. (1984):** Losses, by leaching, of alkaloids from the capsule of the poppy (*Papaver somniferum* L.) during maturation. *Australian Journal of Agricultural Research*, 35(2): 253-261. DOI: <http://dx.doi.org/10.1071/ar9840253>
- HOMSI, J., WALSH, D.; NELSON, K. A. (2001):** Important drugs in advanced cancer. *Support Care Cancer*, 9: 565-574. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s005200100252>
- HORNOK L. (1978):** Gyógynövények termesztése és feldolgozása. Mezőgazda Kiadó, Budapest p. 107-117.
- HOSZTAFI S. (2001a):** A mák anyagcsereje és kémiai összetétele. A mák alkaloidjai és képződésük. A mákalkaloidok kémiai kémiája. In: Sárkány S.; Bernáth J.; Tétényi P. (szerk.) Magyarország kultúrflórája: A mák (*Papaver somniferum* L.). Akadémiai Kiadó, Budapest p. 113-127.
- HOSZTAFI S. (2001b):** A mák anyagcsereje és kémiai összetétele. A mák alkaloidjai és képződésük. Mákalkaloidok bioszintézise. In: Sárkány S.; Bernáth J.; Tétényi P. (szerk.) Magyarország kultúrflórája: A mák (*Papaver somniferum* L.). Akadémiai Kiadó, Budapest p. 127-135.
- HÖRÖMPÖLI T. (1995):** Amit a máktermesztésről tudni kell. Gazda füzetek 3. Regiocon Kft., Kompolt
- HÖRÖMPÖLI T. (2004):** Mák. In: Izsáki Z. (szerk.) Szántóföldi növények vetőmagtermesztése és kereskedelme. Mezőgazda Kiadó. Budapest p. 507.
- IMAIZUMI, K.; ADAN, Y.; SHIBATA, K. (2000).** Role of dietary lipids in arteriosclerosis in experimental animals. *Biofactors*, 13(1-4): 25-28. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/biof.5520130105>
- JACKSON, A. E.; SEPPELT, R. D. (1995):** The accumulation of proline in *Prasiola crispa* during winter in Antarctica. *Physiologia plantarum*, 94(1): 25-30. DOI: <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-3054.1995.940104.x>
- JACOBSEN, S. E.; MONTEROS, C.; CHRISTIANSEN, J. L.; BRAVO, L. A.; CORCUERA, L. J.; MUJICA, A. (2005):** Plant responses of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to frost at various phenological stages. *Europ. J. Agronomy*, 22: 131-139. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eja.2004.01.003>

- JAIN, R.; SHRIVASTAVA, A. K.; SOLOMON, S.; YADAV, R. L. (2007):** Low temperature stress-induced biochemical changes affect stubble bud sprouting in sugarcane (*Saccharum spp.* hybrid). *Plant Growth Regul.*, 53: 17-23. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10725-007-9199-6>
- JANDA T.; SZALAI G.; TARI I.; PÁLDI E. (1999):** Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta*, 208(2): 175-180. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s004250050547>
- JANDA T.; SZALAI G.; RIOS-GONZALEZ K.; VEISZ O.; PÁLDI E. (2003):** Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals. *Plant Science*, 164(2): 301-306. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452\(02\)00414-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452(02)00414-4)
- JÁSZBERÉNYI CS.; NÉMETH É. (2011a):** *In vitro* test method of frost tolerance of poppy (*Papaver somniferum* L.). 1. Transilvanian Horticulture and Landscape Studies Conference, 8-9. April 2011., Marosvásárhely, Book of Abstracts p. 38.
- JÁSZBERÉNYI CS.; NÉMETH É. (2011b):** Frost tolerance of spring and winter ecotypes of poppy (*Papaver somniferum* L.). International Symposium on Papaver, 7-11. February 2011, Lucknow, India, Book of Abstracts p. 9.
- JÁSZBERÉNYI CS.; LUKÁCS L.; INOTAI K.; NÉMETH É. (2012a):** Soluble sugar content in poppy (*Papaver somniferum* L.) and its relationship to winter hardiness. *Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen*, 17(4): 169-174.
- JÁSZBERÉNYI CS.; VARGA D.; NÉMETH É.; ERŐS-HONTI ZS. (2012b):** Histological differences between the leaves of spring and winter ecotypes of poppy (*Papaver somniferum*) varieties. 47th Croatian & 7th International Symposium on Agriculture. Opatija (2012.02.13-17.) Proceedings p. 359-362.
- JÁSZBERÉNYI CS.; NÉMETH É. (2012):** Connection of frost tolerance and alkaloid accumulation potential in poppy (*Papaver somniferum* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 85(1): 116-119.
- KAMATA, T.; UEMURA, M. (2004):** Solute accumulation in wheat seedlings during cold acclimation: Contribution to increased freezing tolerance. *Cryoletters*, 25(5): 311-322.
- KAZUO, S.; KAZUKO, Y. S. (1996):** Molecular responses to drought and cold stress. *Plant biotechnology*, 7:161-167. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0958-1669\(96\)80007-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0958-1669(96)80007-3)
- KEMBLE, A. R.; MACPHERSON, H. T. (1954):** Liberation of amino acids in perennial rye grass during wilting. *Biochem J.*, 58(1): 46-49.
- KING, A. I.; JOYCE, D. C.; REID, M. S. (1988):** Role of carbohydrates in diurnal chilling sensitivity of tomato seedlings. *Plant Physiol.*, 86(3): 764-768. DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.86.3.764>
- KIRÁLY I. (1965):** Növénytan és drogismeret. Medicina Könyvkiadó, Budapest p. 150-152.
- KISKÉRI R.-NÉ; MÓRÁSZ S.; BÓCSA I. (1977):** Kísérletek tetraploid mák (*Papaver somniferum* L.) előállítására. cit in. Zámoriné N. É. (2001): A mák genetikai sajátosságai és nemesítése. In: Sárkány S.; Bernáth J.; Tétényi P. (szerk.) Magyarország kultúrflórája. A mák. Akadémiai Kiadó, Budapest p. 187-197.

- KRENN, L.; DOBOS, G., GABRIEL, E. (1998):** Alkaloidgehalt und -spektrum verschiedener Mohn-Genotypen. *Z. Arzn. Gew. Pfl.*, 6: 118-124.
- KRIST, S.; STUEBIGER, G.; UNTERWEGER, H.; BANDION, F.; BUCHBAUER, G. (2005):** Analysis of volatile compounds and triglycerides of seed oils extracted from different poppy varieties (*Papaver somniferum* L.). *Journal Agric. Food Chem.*, 53(21): 8310–8316. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jf0580869>
- KLOCKGETHER-RADKE, A. P. (2002):** F. W. Sertürner und die Entdeckung des Morphins. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 37(5): 244-249. DOI: <http://dx.doi.org/10.1055/s-2002-30132>
- KLOTKE, J.; KOPKA, J.; GATZKE, N.; HEYER, A. G. (2004):** Impact of soluble sugar concentrations on the acquisition of freezing tolerance in accessions of *Arabidopsis thaliana* with contrasting cold adaptation - evidence for a role of raffinose in cold acclimation. *Plant cell and environment*, 27(11): 1395-1404. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2004.01242.x>
- KOCH, K. (2004):** Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(3): 235–246. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2004.03.014>
- KOSÁRY J.; CSALÁRI J. (1998):** A mák avasodásának vizsgálata biokémiai módszerekkel. *Olaj, szappan, kozmetika*, 47(2): 49-53.
- KÖCK O.; BERNÁTH J.; SÁRKÁNY S. (2001):** A mákfajták elismerésének rendszere. In: Sárkány S., Bernáth J., Tétényi P. (szerk.) Magyarország kultúrflórája. A mák. Akadémiai Kiadó, Budapest p. 246.
- KULSUDJARIT, K. (2006):** Drug problem in Southeast and Southwest Asia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1025: 446-457. DOI: <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1316.055>
- LAUGHLIN, J. C. (1985):** The effect of delayed harvest and leaching on the morphine concentration of poppy (*Papaver somniferum* L.) capsules. *The Journal of Agricultural Science*, 104: 559-564. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/s0021859600044312>
- LEVY, A.; MILO, J. (1998):** Genetics and breeding of *Papaver somniferum*. In: Bernáth J. (szerk.) *Poppy - The genus Papaver*. Harwood academic publishers, Amsterdam p. 93-103.
- LIMIN, A. E.; FOWLER, D. B. (2006):** Low-temperature tolerance and genetic potential in wheat (*Triticum aestivum* L.): response to photoperiod, vernalization, and plant development. *Planta*, 224(2): 360-366. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00425-006-0219-y>
- LIN, A.; ZHANG, P.; CHENG-ZHI, H. (2004):** Effects of low temperatures tolerance on the electrolyte osmotic rate and the content of soluble sugar, proline of grape roots. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2004-04.
- LINK, W.; BALKO, C.; STODDARD, F. L. (2010):** Winter hardiness in faba bean: Physiology and breeding. *Field Crops Research*, 115: 287–296. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2008.08.004>

- LŐRINCZ GY.-NÉ; TÉTÉNYI P. (1970):** Távoli keresztezések módszerével végzett máknemesítések eredményeiről. *Herba Hungarica*, 9: 79-85.
- MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. (2005):** Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139-158. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018>
- MILLER, J. A. C.; HENNING, L.; HEAZLEWOOD, V. L.; LARKIN, P. J.; CHITTY, J.; ALLEN, R.; BROWN, P. H.; GERLACH, W. L.; FIST, A. J. (2005):** Pollination biology of oilseed poppy, *Papaver somniferum* L. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56(5): 483–490. DOI: <http://dx.doi.org/10.1071/ar04234>
- MITCHELL, D. E.; MADORE, M. A. (1992):** Patterns of Assimilate Production and Translocation in Muskmelon (*Cucumis melo* L.) II. Low Temperature Effects. *Plant Physiol.*, 99(3): 966–971. DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.99.3.966>
- MOLLO, M.; MARTINS, M. C. M.; OLIVIERA, V. M.; NIEVOLA, C. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. (2011):** Effects of low temperature on growth and non-structural carbohydrates of the imperial bromeliad *Alcantarea imperialis* cultured *in vitro*. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.*, 107: 141-149. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-011-9966-y>
- MORGAN, J. M. (1987):** Osmoregulation as a selection criterion for drought tolerance in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 34(6): 607-614. DOI: <http://dx.doi.org/10.1071/ar9830607>
- MÓRÁSZ S. (1979):** A mák termesztése. Mezőgazdasági Könyvkiadó, Budapest p. 5-64.
- MUÑOZ-AMATRIAIN, M.; CISTUÉ, L.; XIONG, Y.; BILGIC, H.; BUDDE, A. D.; SCHMITT, M. R.; SMITH, K. P.; HAYES, P. M.; MUEHLBAUER, G. J. (2010):** Structural and functional characterization of a winter malting barley. *Theor. Appl. Genet.*, 120: 971–984. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-009-1225-9>
- MSZ 6354-3:1991 számú Magyar Szabvány**
- MURELLI, C.; RIZZA, F.; ALBINI, F. M.; DULIO, A.; TERZI, V.; CATTIVELLI, L. (1995):** Metabolic changes associated with cold-acclimation in contrasting cultivars of barley. *Physiologia plantarum*, 94(1): 87-93. DOI: <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-3054.1995.940113.x>
- NAGHAVI, A.; SOFALIAN, O.; ASGHARI, A.; SEDGHI, M. (2010):** Relation between freezing tolerance and seed storage proteins in winter bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 15(2): 154-158.
- NAIDU, B. P.; PALEG, L. G.; ASPINALL, D.; JENNINGS, A. C.; JONES, G. P. (1991):** Amino acid and glycine betaine accumulation in cold-stressed wheat seedlings. *Phytochemistry*, 30(2): 407-409. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83693-f](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(91)83693-f)
- NERGIZ, C.; ÖTLES, S. (1994):** The proximate composition and some minor constituents of poppy seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 66(2): 117–120. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740660202>

- NÉMETH É. (1998):** Cultivation of poppy in the temperate zone. In: Bernáth J. (szerk.) Poppy - The genus *Papaver*. Harwood academic publishers, Amsterdam p. 219-235.
- NÉMETH É. (2000):** Gyógynövények nemesítése és fajtahasználata. In: Bernáth J. (szerk.) Gyógy- és aromanövények. Mezőgazda Kiadó, Budapest p. 91-96.
- NÉMETH É. (2002):** World tendencies, aims and results of poppy (*Papaver somniferum* L.) breeding. In: Govil, J. N.; Kumar, A. P.; Singh, V. K. (szerk.) Recent Progress in Medicinal Plants, Vol. 4. Biotechnology and genetic engineering. SCI TECH Pub, Houston p. 129-141.
- NÉMETH É.; BERNÁTH J.; SZTEFANOV A.; PETHEŐ F. (2002):** New results of poppy (*Papaver somniferum* L.) breeding for low alkaloid content in Hungary. *Acta Horticult.*, 576: 151-158.
- NÉMETH É.; BERNÁTH, J. (2003):** 'Ametiszt', alacsony alkaloidtartalmú étkezési mák fajtajelölt. *Kertgazdaság*, 35(4): 69-77.
- NÉMETH É.; BERNÁTH J. (2009):** Selection of poppy (*Papaver somniferum* L.) cultivars for culinary purposes. *Acta Horticulturae*, 826: 413-419.
- NÉMETH É.; BERNÁTH J.; JÁSZBERÉNYI Cs. (2009a):** Magas narkotin tartalmú, új *Papaver somniferum* fajta. *Kertgazdaság*. 41(3): 79-87.
- NÉMETH É.; BERNÁTH J.; JÁSZBERÉNYI Cs. (2009b):** Studies on the inheritance of poppy (*Papaver somniferum* L.) alkaloids and the new cultivar 'Korona' accumulating high concentrations of narcotine. Proceedings of the International Symposium on Breeding Research of Medicinal and Aromatic Plants, Ljubljana, Slovenia, (17-21 June, 2009.) *Acta Horticult.*, 860: 153-160.
- NÉMETH-ZÁMBORI É.; JÁSZBERÉNYI Cs.; RAJHÁRT P.; BERNÁTH J. (2011):** Evaluation of alkaloid profiles in hybrid generations of different poppy (*Papaver somniferum* L.) genotypes. *Industrial Crops and Products*, 33: 690-696. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.01.013>
- NORN, S.; KRUSE, P. R.; KRUSE, E. (2005):** History of opium poppy and morphine. *Dan Medicinhist Arbog.*, 33: 171-84.
- OKIE, S. (2010):** A flood of opioids, a rising tide of deaths. *The New England Journal of Medicine*, 363: 1981-1985. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/nejmp1011512>
- ÖZCAN, M. M.; ATALAY, C. (2006):** Determination of seed and oil properties of some poppy (*Papaver somniferum* L.) varieties. *Grasasy Aceites*, 57(2): 169-174. DOI: <http://dx.doi.org/10.3989/gya.2006.v57.i2.33>
- PACE, S.; BURKE, T. E. (2008):** Intravenous morphine for early pain relief in patients with acute abdominal pain. *Academic Emergency Medicine*, 3(12): 1086-1092. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1553-2712.1996.tb03365.x>
- PALONEN, P.; BUSZARD, D.; DONNELLY, D. (2000):** Changes in carbohydrates and freezing tolerance during cold acclimation of red raspberry cultivars grown *in vitro* and *in vivo*. *Physiologia Plantarum*, 110(3): 393-401. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.2000.1100314.x>

- PALVA, E. T.; WELLING, A.; TÄHTIHARJU, S.; TAMMINEN, I.; PUHAKAINEN, T.; MÄKELÄ, P.; LAITINEN, R.; LI, C.; HELENIUS, E.; BOIJE, M.; ASPEGREN, K.; AALTO, O.; HEINO, P. (2001):** Cold acclimation and development of freezing and drought tolerance in plants. IV. International Symposium on *In Vitro* Culture and Horticultural Breeding, Tampere, Finland, Acta Horticulturae, 560: 277-284.
- PASQUALI, G.; BIRICOLTI, S.; LOCATELLI, F.; BALDONI, E.; MATTANA, M. (2008):** Osmyb4 expression improves adaptive responses to drought and cold stress in transgenic apples. Plant Cell Rep., 27: 1677–1686. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00299-008-0587-9>
- PATTON, A. J.; CUNNINGHAMB, S. M.; VOLNECEB, J. J.; REICHER, Z. J. (2007):** Differences in freeze tolerance of zoysiagrasses: II. Carbohydrate and proline accumulation. Crop Science, 47(5): 2170-2181. DOI: <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2006.12.0784>
- PERKINS, T. D.; ADAMS, G. T.; LAWSON, S.; HEMMERLEIN, M. T. (1993):** Cold tolerance and water content of current-year red spruce foliage over two winter seasons. Tree Physiol., 13(2): 119-129. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/13.2.119>
- PETER, S.; KELLER, F. (2009):** Frost tolerance in excised leaves of the common bugle (*Ajuga reptans* L.) correlates positively with the concentrations of raffinose family oligosaccharides (RFOs). Plant Cell and Environment, 32(8): 1099-1107. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01991.x>
- PETHEÖ F.; BERNÁTH J.; SZTEFANOV A. (2002):** Variability of alkaloid content in accessions of winter poppy ecotype (*Papaver somniferum* L.). Acta Horticulturae, 576: 57-60.
- PETHŐ M. (1993):** Mezőgazdasági növények élettana. Akadémiai Kiadó, Budapest
- PETHŐ M. (1998):** A növényélettan alapjai. Akadémiai Kiadó, Budapest
- PHARMACOPOEA HUNGARICA (2004):** Editio VIII. – Tom. II. Medicina Könyvkiadó, Budapest. 2257-2259.
- PRAJAPATI, S.; BAJPAI, S.; GUPTA, M. M.; KUMAR, S. (2001):** The floral androcarpel organ mutation permits high alkaloid yields in opium poppy *Papaver somniferum*. Current Science, 81(8): 1109-1112.
- PSENAK, M. (1998):** Chemistry – Biochemistry of poppy. Biosynthesis of morphinane alkaloids. In: Bernáth J. (szerk.) Poppy the Genus *Papaver*. Overseas Publishers Association, Amsterdam p. 159-188.
- RAHMATPOUR, N.; ATTAR, F.; ZAMANI, A.; NAJAFI, A. A. (2010):** Comparative anatomy in some species of *Papaver* L. (*Papaveraceae*) in Iran as taxonomical implication. Iran. J. Bot., 16(2): 282-292.
- RAIE, M. Y. (1985):** *Sesamum indicum* and *Papaver somniferum* oils. Fette Seifen Anstrichmittel, 87(6): 246-247. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/lipi.19850870609>
- RATINAM, M.; ABDELMONEIM, A. M.; SAXENA, M. C. (1994):** Variations in sugar content and dry matter distribution in roots and their associations with frost tolerance in certain forage legume species. Journal of Agronomy and Crop Science, 173(5): 345-353. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-037x.1994.tb00582.x>

- RÁCZ G.; RÁCZ-KOTILLA E.; SZABÓ L. GY. (1992):** Gyógynövényismeret –a fitoterápia alapjai-. Sanitas Természetgyógyászati Alapítvány, Budapest p. 263-268.
- RÁPÓTI J.; ROMVÁRY V. (1977):** Gyógyító növények. Medicina Könyvkiadó, Budapest p. 214-215.
- REJŠKOVÁ, A.; PATKOVÁ, L.; STODULKOVÁ, E.; LIPAVSKÁ, H. (2007):** The effect of abiotic stresses on carbohydrate status of olive shoots (*Olea europaea* L.) under *in vitro* conditions. Journal of Plant Physiology, 164: 174-184. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2005.09.011>
- RÜTTEN, D.; SANTARIUS, K. A. (1992):** Relationship between frost tolerance and sugar concentration of various bryophytes in summer and winter. Oecologia, 91(2): 260-265. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/bf00317794>
- SÁRKÁNY S.; PAÁL H.; BERNÁTH J. (2001):** A mák fejlődésalaktana, fenológiája, virágzás- és termésbiológiai viszonyai. In: Sárkány S.; Bernáth J.; Tétényi P. (szerk.) Magyarország kultúrflórája: A mák (*Papaver somniferum* L.). Akadémiai Kiadó, Budapest p. 105-112.
- SCHAMSCHULA, R. G.; SUGÁR, E.; UN, P. S.; DUPPENTHALER, J. L.; TÓTH, K.; BARMES, D. E. (1988):** Aluminium, calcium and magnesium content of Hungarian foods and dietary intakes by children aged 3.9 and 14 years. Acta Physiol Hung., 72(2): 237-51.
- SCHONFELD, M. A.; JOHNSON, R. C.; CARVER, B. F.; MORNHINWEG, D. W. (1988):** Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. Crop Sci., 28: 526-531. DOI: <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1988.0011183x002800030021x>
- SETHI, K. L.; SAPRA, R. L.; GUPTA, R.; DHINDSA, K. S.; SANGWAN, N. K. (1990):** Performance of eight opium poppy (*Papaver somniferum* L.) cultivars in relation to seed, oil and latex yields under different environments. Journal of the Science of Food and Agriculture, 52: 309-313. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740520304>
- SHAHBA, M. A.; QIAN, Y. L.; HUGHES, H. G.; KOSKI, A. J.; CHRISTENSEN, D. (2003):** Relationship of soluble sugar carbohydrates and freeze tolerance in saltgrass. Crop Sci., 43: 2148-2153. DOI: <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2003.2148>
- SHARMA, J. R.; LAL, R. K.; GUPTA, A. P.; MISHRA, H. O.; PANT, V.; SINGH, N. K.; PANDEY, V. (1999):** Development of non-narcotic (opiumless and alkaloid-free) opium poppy, *Papaver somniferum*. Plant Breeding, 118(5): 449-452. DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1439-0523.1999.00419.x>
- SINGH, S. P.; KHANNA, K. R.; DIXIT, B. S.; SRIVASTAVA, S. N. (1990):** Fatty acid composition of poppy (*Papaver somniferum*) seed oil. Indian Journal of Agricultural Sciences, 60(5): 358-359.
- SINGH, S. P.; SHUKLA, S.; KHANNA, K. R. (1995):** Correlated response in opium poppy (*Papaver somniferum* L.). Current Research on Medicinal and Aromatic Plants, 16: 326-327.
- SMIRNOFF, N. (1998):** Plant resistance to environmental stress. Plant biotechnology, 9: 214-219. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0958-1669\(98\)80118-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0958-1669(98)80118-3)

- SMITH, L. A.; MOORE, R. A.; MCQUAY, H. J.; GAVAGHAN, D. (2001):** Using evidence from different sources: an example using paracetamol 1000 mg plus codeine 60 mg. *BMC Medical Research Methodology*, 1:1.
- STAVANG, J. A.; HANSEN, M.; OLSEN, J. E. (2008):** Short term temperature drops do not enhance cold tolerance. *Plant Growth Regulation*, 55(3): 199-206. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10725-008-9274-7>
- STEFANOWSKA, M.; KURAS, M.; KUBACKA-ZEBALSKA, M.; KACPERSKA, A. (1999):** Low temperature affects pattern of leaf growth and structure of cell walls in winter oilseed rape (*Brassica napus* L., var. *oleifera* L.). *Annals of Botany*, 84: 313-319. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/anbo.1999.0924>
- STEFANOWSKA, M.; KURAS, M.; KACPERSKA, A. (2002):** Low temperature induced modifications in cell ultrastructure and localization of phenolics in winter oilseed rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera* L.). *Annals of Botany*, 90: 637-645. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcf241>
- SVENNING, M. M.; RØSNES, K., JUNTTILA O. (1997):** Frost tolerance and biochemical changes during hardening and dehardening in contrasting white clover populations. *Physiologia Plantarum*, 101(1): 31-37. DOI: <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-3054.1997.1010105.x>
- SWAAIJ, A. C.; JACOBSEN, E.; FEENSTRA, W. J. (1985):** Effect of cold hardening, wilting and exogenously applied proline on leaf proline content and frost tolerance of several genotypes of *Solanum*. *Physiologia Plantarum*, 64(2): 230-236. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1985.tb02341.x>
- SYSOIEVA, M. I.; MARKOVSKAYA, E. F.; KHARKINA T. G.; SHERUDILO, E. G. (1999):** Temperature drop, dry matter accumulation and cold resistance of young cucumber plants. *Plant Growth Regulation*, 28(2): 89-94. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1006243230411>
- SYSOIEVA, M. I.; SHERUDILO, E. G.; MARKOVSKAYA, E. F.; OBSHATKO, L. A.; MATVEYEVA, E. M. (2005):** Temperature drop as a tool for cold tolerance increment in plants. *Plant Growth Regulation*, 46(2): 189-191. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10725-005-7357-2>
- SZABÓ L. GY. (2005):** Gyógynövényismereti tájékoztató. Schmidt und Co. – Melius Alapítvány, Baksa-Pécs p. 207-208.
- SZABÓ L. GY.; DOMOKOS J.; KISS B. (2006):** Az olajnövények. In: Kiss B. (szerk.) *Olajnövények, növényolajgyártás*. Mezőgazda Kiadó, Budapest p. 64-65.
- SZALAI I. (1974):** Növényélettan II. Tankönyvkiadó, Budapest
- SZALAI I. (2006):** A növények élete II. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest
- SZIGETI Z. (2007):** Növények és a stressz. In: Láng F. (szerk.) *Növényélettan. A növényi anyagcsere II*. ELTE Eötvös Kiadó, Budapest p. 950-1019.
- TAKAGI, H. (2008):** Proline as a stress protectant in yeast: physiological functions, metabolic regulation, and biotechnological applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 81: 211-223. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-008-1698-5>

- TÉTÉNYI P. (2001):** A mák rendszertani helye, rokonsága, elterjedése és kemotaxonómiája. In: Sárkány S.; Bernáth J.; Tétényi P. (szerk.) Magyarország kultúrflórája: A mák (*Papaver somniferum* L.). Akadémiai Kiadó, Budapest p. 26-60.
- THEN M.; SIMÁNDI B.; RÓNYAI E.; PERNECZKI S.; SZENTMIHÁLYI K. (1996):** Különféle kivonási eljárással készült mákolajok összehasonlító vizsgálata. Olaj, szappan, kozmetika, 45(6): 228-232.
- TISCHNER T.; KŐSZEGI B.; VEISZ O. (1997):** Climatic programmes currently used most frequently in the Martonvásár phytotron. Acta Agron. Hung., 45: 85-104.
- THEN M.; ILLÉS V.; HUSSEIN, D.; SZALAI O.; BERTALAN L.; SZETMIHÁLYI K. (2000):** Máknövények és különböző gyógynövények mákmaggal alkotott keverékeinek extrakciója szuperkritikus és Soxhlet módszerrel. Olaj, szappan, kozmetika, 49: 33-39.
- THOMS, H. (1924)** cit in Bernáth J. (2001): A mák ökofiziológiája és környezeti igénye. In: Sárkány S.; Bernáth J.; Tétényi P. (szerk.) Magyarország kultúrflórája – A mák. Akadémiai kiadó, Budapest p. 169.
- TÖRÖK A.; SZÉKELY J.; GÖTZ F. (1987):** Papaverine-induced erection. International Urology and Nephrology, 21(2): 195-200. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/bf02550808>
- UDVARDY L. (2008):** Kertészeti növénytan növényismereti kompendiuma. Mezőgazda Kiadó, Budapest p. 53.
- UEMURA, M.; TOMINAGA, Y.; NAKAGAWARAA, C.; SHIGEMATSUA, S.; KAWAMURAC, A. M. Y. (2006):** Responses of the plasma membrane to low temperatures. Physiologia Plantarum, 126: 81–89. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00594.x>
- UNK J.; FÖLDESI D. (1978):** A mák termesztése. In: Antal J. (szerk.) Olajnövények termesztése. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest p. 77-89.
- VÁGÚJFALVI A.; KEREPESEI I.; GALIBA G.; TISCHNER T.; SUTKA J. (1999):** Frost hardiness depending on carbohydrate changes during cold acclimation in wheat. Plant Science, 144(2): 85-92. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452\(99\)00058-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452(99)00058-8)
- VÁRADI J. (1974):** Drogismeret. Medicina Könyvkiadó, Budapest p. 56-57.
- VEISZ, O. (1997):** Studies on the frost resistance of winter cereals in the Martonvásár phytotron. Proc. Int. Symp. Cereal Adapt. to Low Temp. Stress., Martonvásár, June 2-4. p. 109-115.
- VEISZ O.; HARNOS N.; SZUNICS L.; TISCHNER T. (1996):** Overwintering of winter cereals in Hungary in the case of global warming. Euphytica, 92(1-2): 249-253. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/bf00022852>
- VERMA, S.; AGARWAL, S. K.; SINGH, S. S.; SIDDIQUI, M. S.; KUMAR, S. (1997):** Poppy seed-Composition and uses. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences, 21: 442-446.
- VERZÁRNÉ PETRI G. (1982):** Farmakognózia. Medicina Könyvkiadó, Budapest p. 101-105.
- WANNER L. A.; JUNTILA O. (1999):** Cold-induced freezing tolerance in Arabidopsis. Plant Physiology, 120: 391–399. DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.120.2.391>

- WANG, J.; ZOU, J.; GAO, Y.; XU, Q.; CAO, C.; QIAN, J.; XU, D.; PAN, H. (2005):** Double-blinded, controlled, randomized study of dihydrocodeine tartrate vs codeine phosphate in treating cancer pain. *The Chinese-German Journal of Clinical Oncology*, 4(2): 108-111. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10330-004-0286-0>
- WHITE, L. M. (1973):** Carbohydrate reserves of grasses: A review. *Journal of Range Management*, 26(1): 13-18. DOI: <http://dx.doi.org/10.2307/3896873>
- WINZER, T.; GAZDA, V.; HE, Z.; KAMINSKI, F.; KERN, M.; LARSON, T.R.; LI, Y.; MEADE, F.; TEODOR, R.; VAISTIJ, F. E.; WALKER, C.; BOWSER, T. A.; GRAHAM, I. A. (2012):** A *Papaver somniferum* 10-Gene Cluster for Synthesis of the Anticancer Alkaloid Noscapine. *Science*, 336(6089): 1704-1708. DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1220757>
- YADAV, S. K. (2011):** Cold stress tolerance mechanisms in plants. In: Lichtfouse, E., Hamelin, M., Navarrete, M., Debaeke, P. (ed.) *Sustainable Agriculture*, 2: 605-620. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-0394-0_27
- YANG, Q.; XIE, D. R.; JIANG, Z. M.; MA, W.; ZHANG, Y. D.; BI, Z. F.; CHEN, D. (2010):** Efficacy and adverse effects of transdermal fentanyl and sustained-release oral morphine in treating moderate-severe cancer pain in Chinese population: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 29(67): 1-6. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1756-9966-29-67>
- YELENOSKY, G.; GUY, C. L. (1989):** Freezing tolerance of citrus, spinach, and petunia leaf tissue osmotic adjustment and sensitivity to freeze induced cellular dehydration. *Plant Physiol.*, 89(2): 444-451. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.89.2.444>
- YOSHIDA, M.; ABE, J.; MORIYAMA, M.; KUWABARA, T. (1998):** Carbohydrate levels among winter wheat cultivars varying in freezing tolerance and snow mold resistance during autumn and winter. *Physiologia Plantarum*, 103(1): 8-16. DOI: <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1030102.x>
- ZÁMBORINÉ N. É. (2001):** A mák genetikai sajátosságai és nemesítése. In: Sárkány S.; Bernáth J.; Tétényi P. (szerk.) *Magyarország kultúrflórája. A mák*. Akadémiai Kiadó, Budapest p. 187-197.
- ZELENYÁK J. (1908):** A gyógynövények hatása és használata. Stephaneum Nyomda Rt., Budapest p. 78-81.
- ZHANG, X.; ERVIN, E. H.; LABRANCHE, A. J. (2006):** Metabolic defense responses of seeded bermudagrass during acclimation to freezing stress. *Crop Science*, 46(6): 2598-2605. DOI: <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2006.02.0108>
- ZHANG, G.; LUORANEN, J.; SMOLANDER, H. (2007):** Short-day treatment during the growing period limits shoot growth and increases frost hardiness of hybrid aspen plants in the nursery. *Forestry Studies in China*, 9(4): 262-266. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11632-007-0041-z>
- ZHU, X.; SONG, F.; XU, H. (2009):** Influence of arbuscular mycorrhiza on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity of maize plants under temperature stress. *Mycorrhiza*, 20(5): 325-332. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00572-009-0285-7>

ZIEGLER, J.; FACCHINI, P. J.; GEISSLER, R.; SCHMIDT, J.; AMMER, C.; KRAMELL, R.; VOIGTLANDER, S.; GESELL, A.; PIENKNY, S.; BRANDT, W. (2009): Evolution of morphine biosynthesis in opium poppy. *Phytochemistry*, 70: 1696–1707. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.07.006>

Internetes hivatkozások:

Nemzeti Fajtajegyzék (2013):

http://www.nebih.gov.hu/szakteruletek/szakteruletek/novterm_ig/szakteruletek/fajta_szap/jegyzetek/nemzeti.html

Kormányrendelet 62/2010. (III. 18.): A kábítószer előállítására alkalmas növények termesztésének, forgalmazásának és felhasználásának rendjéről szóló 162/2003. (X. 16.) Korm. rendelet módosításáról.

<http://www.kozlonyok.hu/nkonline/MKPDF/hiteles/mk10039.pdf>

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném hálámat kifejezni témavezetőmnek, Zámboriné Dr. Németh Évának, aki szakmai tapasztalatával mindvégig segítette kutatómunkámat, hasznos tanácsaival, éleslátásával, konstruktív ötleteivel hozzájárult doktori disszertációm létrejöttéhez.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Bernáth Jenőnek, akinek szakmai tanácsaira mindig számíthattam. Köszönet illeti Ruttner Klárát és Török Brigittát a kísérleteimhez kapcsolódó labormunkák elvégzésében való szerepvállalásukért. A minták cukortartalmának analizálásában Nádoszi Márta, dr. Zákány Gáborné Lukács Larina és Inotai Katalin voltak a segítségemre, akiknek szintén hálával tartozom. Matek Kamillóné Árvay Katalinnak a prolintartalmi mérésekben való részvételét, Dr. Erős-Honti Zsoltnak és Varga Dánielnek pedig a szövettani vizsgálatokban való segítségnyújtásukat, a közös publikációban való közreműködésüket szeretném megköszönni.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Gosztola Beátának messzemenő segítőkészségéért, akihez szakmai kérdésekkel mindig bizalommal fordulhattam. Köszönöm a Soroksári Kísérleti Üzem Gyógynövénytermesztési Telep valamennyi dolgozójának segítségét, akik a növényállományok fenntartásában, a csúcsosodó munkák elvégzésében rengeteg segítséget nyújtottak.

Végezetül szeretném megköszönni férjem, szüleim és testvérem folyamatos bátorítását, akik mindvégig támogattak a munkámban.