

IN VITRO SZELEKCIÓ ALKALMAZÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI PAPRIKA (*CAPSICUM ANNUUM* L.) NEMESÍTÉSÉBEN

APPLICATION OF *IN VITRO* SELECTION IN PEPPER (*CAPSICUM ANNUUM* L.) BREEDING: POSSIBILITIES AND CONSTRAINTS

*Mihálka Virág

főiskolai adjunktus, Kecskeméti Főiskola Kertészeti Főiskolai kar, 6000 Kecskemét Erdei Ferenc tér 1-3.,
mihalka.virag@kfk.kefo.hu

Kulcsszavak:

pepper (*Capsicum* spp.)
somaclonal variation
stress tolerance
resistance
in vitro selection

Keywords:

paprika (*Capsicum* spp.)
szomaklonális variabilitás
stressz tolerancia
rezisztencia
in vitro szelekció

Cikktörténet:

Beérkezett 2015. október 10.
Átdolgozva 2015. október 31.
Elfogadva 2015. november 5.

Összefoglalás

A cikkben megvitatásra kerül, hogy a szomaklonális variabilitást kiaknázó *in vitro* szelekció alkalmazható –e paprikánál (*Capsicum* spp.), nemesítési programok részeként. Ismertetésre kerülnek a paprika sejt- és szövettenyésztése terén elért saját és mások által publikált eredmények, és ennek alapján javaslatokat fogalmazunk meg a módszer lehetséges alkalmazásának munkafázisaira vonatkozóan.

Abstract

In this paper it is discussed if somaclonal variation-based *in vitro* selection could be applied in pepper (*Capsicum* spp.) breeding. Different tissue culture methods are reviewed and evaluated from this point of view. Finally, suggestions are made for work phases of the potential application of *in vitro* selection method in pepper.

1. Bevezetés

Napjaink változó klímája, a globális felmelegedés és különböző antropogén hatások (szennyező anyagok, erózió stb.) miatt termesztett növényeink fokozott stresszhatásnak vannak kitéve. A biotikus és abiotikus stressztényezők jelentősen csökkentik a terméshozamokat. A növénynemesítők újabb és újabb rezisztenciaforrások bevonásával küzdenek ezen stressz tényezők ellen. A hagyományos nemesítési programok határait az adott faj elérhető génkészlete szabja meg. A genetikai transzformáció segítségével lehetséges ugyan a növények stressz toleranciájának kialakítása akár idegen fajok génkészletének felhasználásával, ugyanakkor sok érv szól a technika alkalmazása ellen. Mindamelllett, hogy a genetikailag módosított szervezetek elismerése és elfogadása jelenleg bizonytalan, a technológia alkalmazásának következtében fellépő környezeti károk, a biológiai sokszínűség veszélyeztetése, valamint a GM élelmiszerek fogyasztásának esetleges káros hatásai is megosztják a közvéleményt. Ráadásul a genetikai transzformáció alkalmazhatóságát erőteljesen korlátozza a géncsendesítés jelensége, és az ennek következményeként fellépő gyengébb génkifejeződés, ami a molekuláris növénynemesítés szempontjából jelentős hátrányt jelent [23].

* Mihálka Virág. Tel.: +36 76 517696;
E-mail cím: mihalka.virag@kfk.kefo.hu

A szövettenyésztési rendszereket felhasználó *in vitro* szelekció, az utóbbi időkben újra előtérbe került, mint stressztoleráns növények előállítására alkalmas, megvalósítható, költséghatékony, és a genetikai transzformáció alternatívjaként alkalmazható módszer.

Toleráns növények, ill. sejtvonalak állíthatók elő különböző szelekciós ágensek alkalmazásával pl. sótolerancia (NaCl), szárazságtűrés (polietilén-glikol (PEG) vagy mannit), betegség ellenállóság kialakítása (patogén kultúra-szűrlet, kórokozó, vagy fitotoxinok táptalajhoz történő adagolása segítségével). Az *in vitro* rendszerekben csak azok a sejtvonalak maradnak életben, amelyek a szelekciós nyomást hosszabb távon is képesek tolerálni. Az *in vitro* szelekció alapja a szövettenyésztési rendszerekben megfigyelhető szomaklonális variabilitás. Az így előállított variánsok, tehát nem GMO-k, és -bizonyos esetekben- az *in vitro* szelekció, a genetikai transzformáció növénynemesítésben is alkalmazható, rendkívül költséghatékony potenciális alternatívjaként alkalmazható.

A paprika (*Capsicum annuum* L.) Magyarország fontos növénye, friss fogyasztásra, fűszer- és gyógynövényként egyaránt széleskörűen használjuk. A Szegedi és a Kalocsai fűszerpaprika őrlemény hungarikum termékek. A biotikus és abiotikus stressztényezők fenyegetést jelentenek a hazai paprikatermesre, ezért növénynemesítőink nagy erőfeszítéseket tesznek stressz-toleráns / rezisztens fajták fejlesztésére.

Jelen cikkben az *in vitro* szelekció paprikanemesítésben való alkalmazhatóságának lehetőségeit vizsgáljuk meg.

2. Az *in vitro* szelekció alkalmazása a stressz-tolerancia/ rezisztencia nemesítésben

A tenyésztett sejtek genetikai instabilitásának tényére már a 70-es években felfigyeltek a kutatók, és mint a szövettenyésztés hátrányos tulajdonságát értékelték. Larkin és Scowcroft [17] voltak az elsők, akik a jelenségre, mint a természetesen létező genetikai variabilitást növelő új módszerre tekintettek. Az *in vitro* szelekció alkalmazása, az *in vitro* tenyészetekben megfigyelhető, szomaklonális variabilitáson alapul [22].

Bár a szomaklonális variabilitás genetikai hátterével kapcsolatban sok a bizonytalanság, egyre több növénynemesítő alkalmazza a variabilitás új forrásaként.

A megfigyelhető szomaklonális variabilitás két forrásból származik:

a, Az explantum az *in vitro* tenyészetek indításakor eleve heterogén sejtekből áll (mutációk, endoploidia, stb. miatt).

b, Genetikai változások történnek az *in vitro* tenyésztett sejtek genetikai instabilitása következtében.

A különböző kutatók mintegy 30% körüli értékre becsülik a *de novo* jelenlevő variabilitás arányát a szomaklonális variabilitáson belül [6].

Saját megfigyeléseim alapján pl. *Brassica oleracea* mikrospóra kultúrából regenerált növények esetében a ploidia szint nagy változatosságot mutat. Az összesen 6 genotípus bevonásával végzett kísérletekben a regenerált hajtások között a haploidok 9-45%-ban, a diploidok 42,5-70%-ban, a tetraploidok 5-38%-ban míg a 4n-nél magasabb ploidszintű hajtások 0-5%-ban fordultak elő genotípusonként eltérő arányban (Mihálka, nem publikált eredmény).

Növényi sejtek, szövetek illetve szervek szelektív ágenszt tartalmazó táptalajon történő *in vitro* tenyésztése lehetővé teheti a kívánatos tulajdonságokkal rendelkező növények előállítását [26]. A leggyakrabban használt szelekciós ágensek a NaCl (sótűrőképesség), PEG vagy mannit (szárazságtűrés), patogén-kultúra filtrátum vagy fitotoxin pl. fuzáriumsvav vagy maga a patogén (betegség elleni rezisztencia).

A szelekciót két féle módon valósíthatjuk meg:

a, több lépésből álló hosszú távú szelekció,

b, egy lépésben magas dózisú szelekciós ágens alkalmazása [26].

Az *in vitro* szelekció alkalmazása jelentősen lerövidítheti a kívánatos tulajdonságra történő szelektálás időtartamát, valamint a környezeti hatások nagy része is kiküszöbölhető az eljárás segítségével [13]. Az *in vitro* tenyésztés következtében genetikai változáson átesett és ennek következtében a szelektív ágenszt toleráló sejtek felszaporodnak, és a rezisztens szövetekből bizonyos esetekben intakt növények regenerálhatók. Ugyanakkor a módszer alkalmazhatóságát

jelentősen korlátozza a következő tényezők előfordulása: a; hajtásregenerációs képesség elvesztése az *in vitro* szelekció időtartama alatt; b; a tolerancia más mechanizmus szerint működik sejtszinten, mint az intakt növényben; c; epigenetikus adaptáció előfordulása. Az *in vitro* szelekció alatt epigenetikus változások történhetnek, melyek DNS bázissorrend szinten nem öröklődnek, ennek kiküszöbölésére több szerző is az egy lépésben történő szelekciót javasolja [4, 5, 19, 30].

A nehézségek ellenére több szerző számol be arról, hogy sikeresen regeneráltak stressztoleráns növényt a szelektált kallusz, illetve sejtvonalakból [10, 15, 18, 24, 27, 29].

3. Sejt- és szövettenyésztési eljárások paprikánál

A paprikát a *Solanaceae* család más tagjaival ellentétben *in vitro* tenyésztés tekintetében az ún. rekalcitráns fajok között tartjuk számon, gyenge válaszóképesége miatt. Bár DH (doubled haploid) paprika növények viszonylag nagy hatékonysággal állíthatók elő portok kultúrákban, a szomatikus szövetekből történő regeneráció alacsony hatékonyságú, és rendkívül erős genotípus függést mutat. Jelen munkában a paprika *in vitro* rendszerek terén elért saját és mások által publikált eredményeket kimondottan az *in vitro* szelekció alkalmazási lehetőségének szempontjából tekintjük át.

3.1. Organogenezis

A gödöllői Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpontban Fári és munkatársai által kidolgozott paprika organogenezis rendszer [7] továbbfejlesztése során különböző tényezőket optimalizáltunk [21]. A fenti organogenezis rendszerben azt tapasztaltuk, hogy a különböző korú lomblevél explantumok közül a 2. emeleti (3. 4. levél) a legmegfelelőbb explantum, ugyanakkor a legnagyobb hajtásszámot 12-16 napos sziklelevél explantumok használatával érték el.

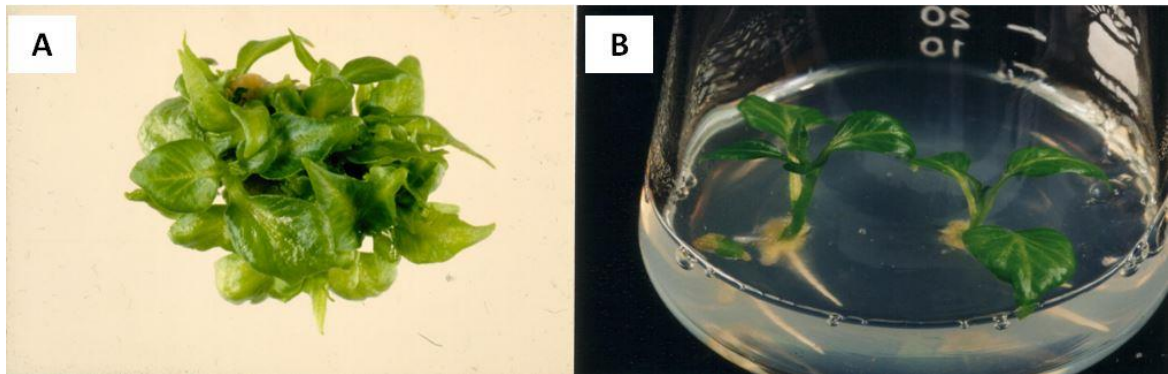


1. ábra: A, Organogenesis indukció paprika (*Capsicum annuum* L. No 40017) sziklelevél explantumon. B, Hajtásregenerálás No 40017 paprika genotípusnál (Mihálka V. és mts-i kísérlete, MBK Gödöllő)

Az ennél fiatalabb explantumok rendkívül sérülékenyek és sok elpusztul közülük a regenerációs protokoll során, míg az idősebbek elveszítik regenerációs képességüket (Mihálka, nem publikált eredmények). A sziklevelek nyéli részén mintegy 3 hét múlva már jól látható a folyamatban levő organogenezis (1. ábra). A megfelelő hormonrezsím megválasztásával jelentős hajtásszám növekedés volt elérhető rendszerünkben [21]. A legnagyobb hajtásszámot az indukciós táptalajhoz adagolt 4 mg/L BAP (benzilamino-purin) és 0,5 mg/L IAA (indolecetsav) alkalmazása mellett érték el.

A regenerált hajtások megnyújtása problémákat okozott, aminek kiküszöbölésére 1 mg/L GA₃ (gibberellinsav) –t és 1,65 mg/L BAP -t tartalmazó MSB5E (MS sók, B5 vitaminok, 1% glükóz, 1% maltóz, 1% szaharóz) táptalajon történő inkubációt alkalmaztunk. A fenti *in vitro* rendszerben maximálisan 1-1,5 gyökeres hajtás / explantum hatékonyságot sikerült elérnünk a különböző szövettenyésztési tényezők megfelelő megválasztásával [21]. Az optimalizált protokoll alkalmazása ellenére a hajtás primordiumok jelentős része nem fejlődik normális morfológiájú

hajtássá, gyakori a levélcsokok kialakulása (2.A. ábra), és a megnyúlt hajtásoknak is csak kb. 50% volt *in vitro* meggyökeresíthető (2.B. ábra).



2. ábra. A; Aberrált, megnyúlásra képtelen hajtáskezdemények, levélcsokok *in vitro* regenerált paprikánál (*Capsicum annuum* L. No 40017)
B; *In vitro* regenerált, *in vitro* gyökeresített paprika hajtások. (*Capsicum annuum* L. No 40017)
(Mihálka Virág és mts.-i kísérlete, MBK Gödöllő)

Vizsgálatokat végeztünk a rendszer genotípus függése irányában, a portokkultúrában rendkívül jó válaszadó képességű Fehérozón valamint a California Wonder csemegepaprika fajták, továbbá a Szegedi-20 és a Kalocsai-622 fűszerpaprikák bevonásával.

1. Táblázat. Az *in vitro* hajtásindukció és hajtásregeneráció leggyakrabban alkalmazott tényezői (Ochoa-Alejo et al., 2001 [25] alapján, módosított) (Rövidítések: C.: *Capsicum*; nsz.: növekedésszabályozók; 2iP: 2-isopentenyladenine; TDZ: thidiazuron; PAA: fenil-ecetsav; IBA: indol-3-vojsav; NAA: naftil-ecetsav)

Vizsgált tényező	Tesztelt változók	A leggyakrabban /legsikeresebben alkalmazott változó
Fajok	<i>C. annuum</i> , <i>C. frutescens</i> , <i>C. baccatum</i> , <i>C. pendulum</i> , <i>C. praetermissum</i>	<i>C. annuum</i>
Explantum típus	sziklevél, hipokotil, érett magok, levél, hajtásrügy, gyökér	Sziklevél, hipokotil, érett mag
Táptalaj	MS, MS/B5 vitaminokkal, MS/L2 vitaminokkal	MS
Rügy/ hajtásindukcióban alkalmazott nsz.	BAP, 2iP, zeatin, TDZ, BAP/IAA, 2iP/IAA, és BAP/PAA	BAP/IAA, BAP
Hajtásmegnyújtásra alkalmazott nsz.	NAA, BAP, Kin, GA ₃ , BAP/PAA, brasszinozid, zeatin egyenként és kombinációban	BAP/PAA, BAP/ GA ₃
Gyökeresítésben alkalmazott nsz.	NAA, IAA, és IBA	NAA
Szénforrás	szacharóz, glükóz	szacharóz
Etilén gátlók	AgNO ₃	-
Szilárdító anyag	Agar és Phytigel	Agar
Fény	Folytonos megvilágítás/ fotoperiódus alkalmazása	Folytonos megvilágítás
Hőmérséklet	25-28,5 °C	25 °C

A Fehérözön fajtánál sikerült néhány növényt regenerálni, de nem sikerült kellően hatékony rendszert beállítani, míg a California Wonder és a két fűszerpaprika fajtánál nem sikerült hajtást regenerálni. A fenti regenerációs rendszer legfőbb hátránya tehát, hogy erősen genotípus függőnek bizonyult. Míg az *in vitro* válaszdásra szelektált, No 40017 R-13 genotípusnál [7] hatékony organogenezis volt elérhető, az optimális hormonrezsím megválasztásával, más genotípusok esetében a rendszer módosítás nélkül nem volt használható, ami erősen megkérdőjelezi a növény-nemesítésben történő alkalmazhatóságát.

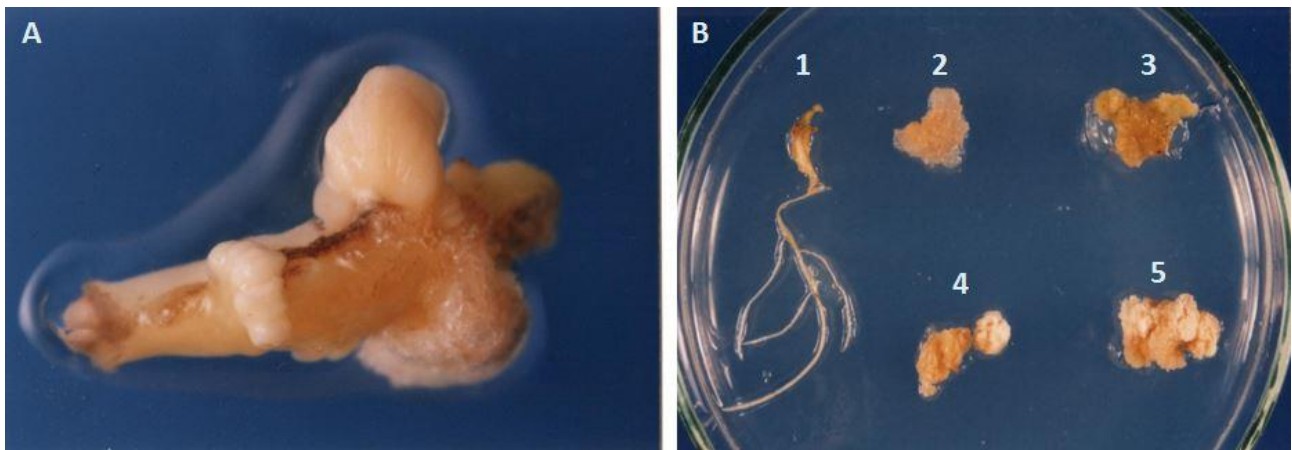
Más, paprika organogenezissel foglalkozó kutatócsoportok a fentiekhez hasonló tapasztalatokat írnak le. A témában több részletes összefoglaló is született [16, 25]. Az egyes szerzők által tesztelt különböző tényezőket az 1. táblázatban foglaltam össze. Valamennyi szerző erős genotípus függésről és rekalcitranciáról számol be. A mi tapasztalatainkkal egybevágóan a regenerált hajtások megnyújtásának problémájáról és aberrált hajtások, levélcsokok, megjelenését tapasztalták az egyes szerzők.

Saját korábbi tapasztalatainkat az irodalmi adatokkal összevetve elmondhatjuk, hogy:

- A paprika regenerációs rendszerek erősen genotípus függőek, és a protokollt adaptálni kell az adott genotípushoz.
- A tesztelt genotípusok jelentős része *in vitro* kultúrában nem válaszdó.
- A hatékonyságot befolyásolja az alkalmazott explantum típusa.
- A hajtásregenerálás hatékonysága általánosságban 0,5 -10 hajtás/ explantum körüli a leghatékonyabb rendszerekben.
- A regenerációs protokollok jelentős részében a legfőbb problémát a hajtás megnyúlásának elmaradása jelenti: a hajtások jelentős része nem képes normális hajtássá fejlődni, levélszerű struktúrák, illetve abnormális hajtások alakulnak ki.

3.2. Szomatikus embriogenezis

A szomaklonális variabilitás növelésére az egyik legmegfelelőbb rendszer az embriogén kalluszból kiinduló szomatikus embriogenezis. Több olyan cikk jelent meg, amelyben működő embriogén rendszerről (mind direkt, mind indirekt embriogenezissel) számoltak be paprikánál (*Capsicum* spp.). Paprika szomatikus embriókat elsőként portok kultúrán keresztül állítottak elő Vagera és mts.-i [31]. Más szerzők éretlen zigótikus embriókat [2, 9, 12], érett zigótikus embriókat [3], levél explantumokat [14] illetve hipokotil explantumokat [33] alkalmaztak.



3. ábra. A, Paprika embriogén kallusz különböző stádiumú embriókkal.

B, Éretlen zigótikus embrió explantum alkalmazásával előállított, nem embriogén kallusok. A kallusz indukció MS táptalajon történt a következő növekedésszabályozók alkalmazása mellett:
 1. 1 mg/L 2-4 D; 2. 10 ml/L kókusztej + 1 mg/L 2-4 D; 3. 0,5 mg / L Picloram + 0,2 mg / L BAP
 4. 10 ml/L kókusztej + 0,5 mg / L Picloram 5. 10 ml/ L kókusztej + 0,5 mg / L Picloram + 0,2 mg/ L BAP (Mihálka Virág kísérlete, MBK Gödöllő)

Míg a szerzők többségénél a szomatikus embriók közvetlenül az explantumon fejlődtek, Buyucalaca és mts-i [3], valamint Zapata-Castillo és mts-i. [33] a szomatikus embriogenezist sejtsuszpenziós kultúrában indukálták. A paprika rekalcitranciája ugyanakkor a szomatikus embriogenezis terén is megmutatkozik. A szerzők alacsony hatékonyságról és deformált embriókról számolnak be. Problémát okoz, hogy az embriók viszonylag kis százalékban fejlődnek növénygé. A szomatikus embriogenezist a legtöbb esetben 2,-4D (2,4- diklór-fenoxi-ecetsav) használatával érték el, önmagában vagy TDZ -vel [2, 33], kókusztejjel [2, 9], illetve BAP -al [14] kombinálva.

Saját korábbi kísérleteinkben California Wonder és Fehérözön izolált éretlen embrióból indítottunk szuszpenziós kultúrákat, s bár embriogenezist nem sikerült detektálni, az ilyen módon előállított szuszpenziós kultúrák sokkal gyorsabban növekednek és alkalmasabbak a kísérletes munkára (pl. szelektációs rendszerek tesztelésére), mint az eddig általunk előállított bármelyik szuszpenziós kultúra (Mihálka, nem publikált eredmény). Ugyanakkor sikerült embriogenezist detektálnunk éretlen embriók szilárd táptalajon történő tenyésztése során, amit a 3. A. ábrán láthatunk (Mihálka nem publikált eredmény). A rendszer ígéretes, továbbfejlesztésével esetlegesen *in vitro* szelektációra használható rendszert hozhatunk létre.

3.3. Kallusz szuszpenziós kultúra

Saját korábbi kísérleteink során *Capsicum annuum* L. cv. California Wonder szuszpenziós kultúrát alkalmaztunk a genetikai transzformációs rendszer bizonyos tényezőinek tesztelésére [21]. A hipokotil eredetű kalluszt, 0,5 mg/ L Piclorammal kiegészített, folyékony MSB5G1 (MS sók, B5 vitaminok, 20 g/ L glükóz) táptalajon tartottuk fent 26 °C-on. A sejteket a szelektív anyagot (esetünkben antibiotikumot), 0,05 mg/ L Picloramot és 0,1 mg/L 2 iP-t tartalmazó 0,8 % LM (Low Melting) agarral szilárdított táptalajba ágyasztuk (4. ábra) , és vizsgáltuk a sejtkolóniák növekedését [21].



4. ábra. Paprika (*Capsicum annuum* L. cv. California Wonder) kallusz kultúra, 0,05 mg / L Picloramot és 0,1 mg/ L 2-iP-t tartalmazó MSB5G1 táptalajon. (Mihálka Virág és mts.-i kísérlete, MBK Gödöllő)

Ebben a rendszerben nem sikerült embriogenezist indukálni illetve hajtást regenerálni, ugyanakkor egy hasonló rendszer alkalmas lehet arra, hogy magát az *in vitro* szelektációs rendszert kidolgozzuk, illetve teszteljük. A szelektációs ágensek koncentrációjának beállítására a szelektáció optimális időtartamának meghatározására egy ilyen rendszer jól használható lenne.

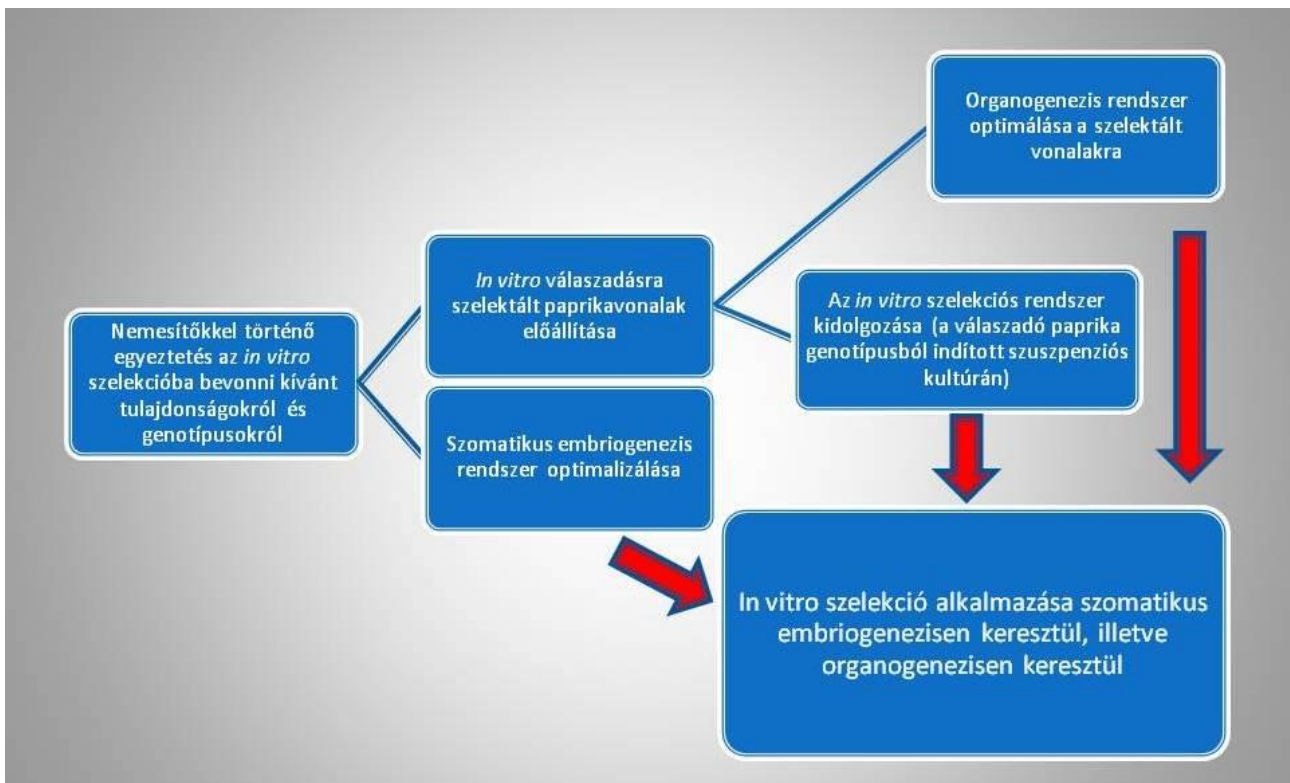
4. Követetések, Javaslatok

Amint azt az előbbieken bemutattuk, az *in vitro* sejt- és szövettenyészetek alkalmasak lehetnek stressztoleráns növényfajták előállítására. Az *in vitro* szelektációt alkalmazó nemesítés során a szomaklonális variabilitásnak köszönhetően, kibővített genetikai állománnyal dogozhatunk anélkül, hogy genetikai transzformációt alkalmaznánk. Az *in vitro* szelektáció a konvencionális nemesítéshez viszonyítva idő- hely- és költségtakarékos.

Azok a fajok, ahol az *in vitro* szelektációt sikeresen alkalmazták új fajták nemesítésében (pl. burgonya, dohány, cukorrépa), nagyságrendekkel jobb *in vitro* válaszadó képességgel

rendelkezik, illetve az *in vitro* rendszerek genotípusfüggése kevésbé kifejezett, mint paprika esetében. Nem meglepő tehát, hogy mindeztig kevés publikáció jelent meg, amely az *in vitro* paprika kultúrákban jelentkező szomaklonális variabilitást tanulmányozza [8, 11]. Mindössze egy publikáció ismeretes, amely arra utal, hogy szomaklonális variabilitás kiaknázásával új paprika fajtákat sikerült nemesíteni [28]. Egy szerző sem számolt be azonban *in vitro* szelekció alkalmazásáról. Ugyanakkor mivel gazdaságilag jelentős zöldség- és fűszernövényünkről van szó, érdemes erőfeszítéseket tenni a nemesítők eszköztárának kiszélesítése érdekében. Az általunk idáig tesztelt szövettenyésztési eljárások közül csak a sziklevíl explantumból kiinduló hajtásregenerációs rendszerben sikerült megfelelő hajtásszámot elérnünk, így ebben a rendszerben lenne érdemes megkezdeni a szomaklonok előállítására és vizsgálatára vonatkozó kísérleteket.

Az 5. számú ábrán összefoglaltuk, hogy véleményünk szerint, milyen lépéseken keresztül lenne alkalmazható az *in vitro* szelekció technikája paprikánál. Elsőként, a növénynemesítőkkel konzultálva meghatározásra kerülhet, hogy magyar viszonylatban mely agronómiailag értékes tulajdonságokra és mely fajták esetén lenne érdemes kidolgozni *in vitro* szelekciós rendszert (5. ábra).



5. ábra. *In vitro* szelekciós eljárás kidolgozásának tervezett lépései paprikánál (*Capsicum annum* L.)

Az *in vitro* regenerációs képesség erőteljes genotípus függősége nagyban korlátozhatja a növénynemesítésben történő alkalmazhatóságot. Ugyanakkor érdemes elgondolkodni annak lehetőségén, hogy az agronómiai szempontból értékes paprikafajták esetében *in vitro* választásra szelektált *-in vitro* regenerált, majd öntermékenyített- vonalak előállításával, jobb választadó-képességgel rendelkező vonalakat hozhatunk létre, majd a továbbiakban az *in vitro* választásra szelektált vonalakkal dolgozhatunk (5. ábra). A kiválasztott stressz tolerancia/ rezisztencia működésének biokémiai, molekuláris hátterének figyelembevételével kerülne kidolgozásra a szelekciós módszer, a megnövelt *in vitro* választadó képességgel rendelkező paprika genotípusból indított kallusz szuszpenziós kultúra alkalmazásával. A szelekciós módszer részleteit esetlegesen érdemes először más *Solanaceae* fajokra kidolgozni (paradicsom, burgonya), melyeknél hatékony *in vitro* rendszerek állnak rendelkezésre. Az előbbiekkal

párhuzamosan érdemes lenne további vizsgálatokat folytatni szomatikus embriogenezis irányában. *Capsicum chinense* esetében Zapata-Castillo és mts.-i hipokotil explantumból kiinduló szuszpenziós kultúrában szomatikus embriogenezist indukáltak, 3,4 μM Thidiazuron alkalmazásával, egy rendkívül egyszerű protokoll alkalmazásával (Zapata Castillo és mts.-i, 2007). Saját, éretlen zigótikus embrió explantumot alkalmazó kísérleteinkben is sikerült szomatikus embriogenezist indukálni, mely rendszer továbbfejlesztésre alkalmas lehet. Az *in vitro* válaszadásra szelektált vonalakra optimalizált regenerációs rendszerrel és a kidolgozott szelekciós módszerrel, ezek után meg lehetne kezdeni a stressztoleráns paprika szomaklónok előállítását.

Az *in vitro* szelekció alkalmazása rendkívüli módon lerövidítheti a kívánt tulajdonságra történő szelekció időtartamát, alkalmazási lehetősége azonban bizonyos tekintetben korlátozott. Ez abból adódik, hogy a dedifferenciálódott osztódó sejtekből álló tenyészetekben csak olyan tulajdonságokra tudunk szelektálni, amelyek *in vitro* tenyészetekben is manifesztálódnak. Azaz nem tudunk szelektálni komplex tulajdonságokra.

Ötletes megoldásokkal ugyanakkor olyan szelekciós stratégiák alakíthatók ki, melyeken keresztül termesztési szempontból jelentős komplex tulajdonságok vagy esetleg egyszerre több tulajdonság is befolyásolható [6]. Erre jó példa Martonvásáron az MTA ATK munkatársainak munkája. Ambrus és mts.-i kukorica antérakultúra felhasználásával *in vitro* szelekció mellett hidegre toleranciát mutató DH vonalakat állítottak elő [1]. A szelekció oxidatív stressz stimulátorokkal történt, annak a jelenségnek a kihasználásával, hogy a legtöbb biotikus és abiotikus stressz tényező reaktív oxigénformák generálása útján fejt ki károsító hatását. Az oxidatív stresszekkel szemben ellenálló vonalak, több különböző abiotikus stresszel szemben megnövekedett toleranciát mutattak. Mivel paprika estén a portokkultúra az egyik leghatékonyabb *in vitro* rendszer, érdemes lenne megvizsgálni az *in vitro* szelekció lehetőségét a gametoklonális variabilitás tekintetében is paprikánál.

Irodalomjegyzék

- [1] H. Ambrus, S. Dulai., Z. Király, B. Barnabás, É. Darkó „Paraquat and cold tolerance in doubled haploid maize.” *Acta Biol. Szeged*, 52, 147-151, 2008
- [2] M.L. Binzel, N. Sankhla, S. Joshi, D. Sankhla., „*In vitro* regeneration in chile pepper (*Capsicum annuum* L.) from 'half-seed explants.’ *Plant Growth Regulat.* 20:287–293, 1996
- [3] S. Buyukalaca, F. Mavituna, „Somatic embryogenesis and plant regeneration of pepper in liquid media.” *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 46:227–235, 1996
- [4] S.F. Chandler, I.K. Vasil, „Selection and characterization of NaCl tolerant cells from embryogenic cultures of Pennisetum purpureum Schum. (Napir grass).” *Plant Sci. Lett.* 37, 157–164, 1984
- [5] P.J. Dix, „The role of mutant cell lines in studies on environmental stress tolerance: an assessment.” *Plant J.* 3, 309–313, 1993
- [6] D. Dudits, L. Heszky, „Növényi biotechnológia és géntechnológia.” Tankönyv, Agroinform kiadó, pp. 136-140, 2014; <http://www.tankonyvtar.hu/>
- [7] M. Fári, M. Csányi, I. Nagy, A. Andrásfalvy, „Steps toward genetic engineering of pepper (*Capsicum annuum* L.): Improvement of regeneration and optimisation of inoculation protocol with Agrobacterium transformation vectors.” *Proc. Abstr. of Posters, VIIIth. EUCARPIA Congress, Reproductive Biology and Plant Breeding, 7-11 July, Anger, France*, pp: 635-636, 1992
- [8] S. Grozeva, V. Todorova, „*In vitro* regeneration in pepper (*Capsicum annuum* L.) and characterization of plant regenerants”, *Electronic Journal of Biology* 11 (1): 17-22, 2015
- [9] Harini, G.L. Sita., „Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of chilli (*Capsicum annuum* L.)” *Plant Sci.* 89:107–112, 1993
- [10] Z. Hossain, A.K.A. Mandal, S.K. Datta, A.K. Biswas, „Development of NaCl-tolerant line in Chrysanthemum morifolium Ramat. through shoot organogenesis of selected callus line. *J. Biotechnol.* 129, 658–667, 2007
- [11] M. A. Hossain, K. Konisho, M. Minami, K. Nemoto, „Somaclonal variation of regenerated plants in chilli pepper (*Capsicum annuum* L.)” *Euphytica* 130: 233-239, 2003
- [12] J-Y. Jo, E.-Y. Choi, D. Choi, and K.-W. Lee, „Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature zygotic embryo culture in pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Plant. Biol.* 39:127–135, 1996
- [13] M. Jain, „Tissue culture-derived variation in crop improvement.” *Euphytica* 118, 153–166, 2001
- [14] S. Kintzios, J.B. Drossopolous, Ch. Lympelopoulos, „Effect of vitamins and inorganic micronutrients on callus growth and somatic embryogenesis from leaves of chillipepper.” *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 67:55–62, 2001
- [15] M.W. Nabors, G.E. Gibbs, C.S. Bernstein, M.E. Meis, „NaCl-tolerant tobacco plants from cultured cells.” *Z. Pflanzenphysiol.* 97, 13–17, 1980
- [16] S.L. Kothari, A. Joshi, S. Kachhwaha, N.Ochoa-Alejo “Chilli peppers - A review on tissue culture and transgenesis”, *Biotechnol Adv.* 28 (1):35-48, 2010
- [17] P.J. Larkin, S.C. Scowcroft, „Somaclonal variation—a novel source of variability from cell culture for plant improvement.” *Theor. Appl. Genet.* 60, 197–214, 1981

- [18] Mahmood et al., "In vitro selection of tissue culture induced somaclonal variants of wheat for drought tolerance.", J. Agric. Res. 50.2, 2012.
- [19] A. McHugen, M.A. Swartz, „Tissue culture derived salt-tolerant line of flax (*Linum usitatissimum*)”, J. Plant Physiol. 117, 109–117, 1984
- [20] N. Mezghani, R. Gargouri-Bouزيد, J. Laliberté, N. Elloumi, N. Tarchoun, A. Jemmal „Charakterizatio nof CDKA gene expressed during in vitro regeneration from pepper (*Capsicum annuum* L.) cotyledon explants. IJAAR, 5 (5): 29-39, 2014
- [21] V. Mihálka, M. Fári, A. Szász, E. Balázs, I. Nagy, „Optimized protocols for efficient plant regeneration and gene transfer in pepper (*Capsicum annuum* L.)” J. of Plant Biotechnology 2: 143–149, 2000
- [22] M. A. H. Mohamed, P. J. C. Harris, J. Henderson, „In vitro selection and characterization of a drought tolerant clone of *Tagetes minuta*.” Plant Sci. 159, 213–222, 2000
- [23] T.K. Mondal, P.K. Kundu, P.S. Ahuja, „Gene silencing: a problem in transgenic Research”, Curr. Sci. 72, 699–700, 1997
- [24] E. R. Nehnevajova, K. Herzig, H. Erismann, J.-P. Schwitzguébel, „In vitro breeding of *Brassica juncea* L. to enhance metal accumulation and extraction properties.” Plant Cell Rep. 26:429-437, 2007
- [25] N. Ochoa-Alejo, R. Ramirez-Malagon, „In vitro chili pepper biotechnology.” In vitro cell. Dev. Biol.-Plant 37:701-729, 2001
- [26] M. Purohit, S. Srivastava, P.S. Srivastava, „Stress tolerant plants through tissue culture.” In: Srivastava, P.S. (Szerk.), Plant Tissue Culture and Molecular Biology: Application and Prospects. Narosa Publishing House, New Delhi, pp. 554–578, 1998
- [27] B. Roy, A. Mandal, „Towards development of Al-toxicity tolerant lines in indica rice by exploiting somaclonal variation.” Euphytica, 145:221-227, 2005
- [28] G.J. Sargsyan, I.V., Vardanian, and Z. E. Harutyunyan, „Usage of callus culture in selection of pepper and tomato.” Acta Hortic. (ISHS) 1033:77-84, 2014
DOI :10.17660/ ActaHortic.2014.1033.10, <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1033.10>
- [29] M. Singh, U. Jaiswal, V.S. Jaiswal, „In vitro selection of NaCl-tolerant callus line and regeneration of plantlets in a bamboo (*Dendrocalamus strictus* Nees.). In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant 39, 229–233, 2003
- [30] M. Tal, „In vitro selection for salt tolerance in crop plants: Theoretical and practical considerations. ” In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant 30, 175–180, 1994
- [31] J. Vagera, „Pepper (*Capsicum* spp.): In vitro induction of haploids”. Y.P.S. Bajaj (szerk.). Biotechnology in agriculture and forestry. Vol. 12: 374–392, 1990
- [32] Q.-M. Wang, L. Wang, „An evolutionary view of plant tissue culture: somaclonal variation and selection.” Plant Cell Rep. 31:1535-1547, 2012
- [33] P.Y. Zapata-Castillo, A.C. Flick, G. López-Puc, A. Solís-Ruiz, F. Barahona-Pérez, N. Santana-Buzzy, „Somatic embryogenesis in Habanero Pepper (*C. chinense* Jacq.) From Cell Suspensions” Hort Science vol. 42, no. 2, pp. 329-333, 2007