

## Indukált mutációval létrehozott kukoricagénbank a nemesítési alapanyagbázis növeléséért

Tóth Szilárd – Bódi Zoltán

Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum,  
Mezőgazdaságtudományi Kar,  
Genetikai és Nemesítési Tanszék, Debrecen  
tszi@agr.unideb.hu

### ÖSSZEFOGLALÁS

*A heterózisnemesítés a kukoricavonalak uniformizálásával géneróziót idézett elő. A nemesítési alapanyagbázis szélesítése érdekében került létrehozásra a kukoricagénbank, amely a nagyobb genetikai variációt biztosító, jó rezisztenciájú és alkalmazkodóképes vonalakat foglalja magában. A kukoricagénbank létrehozása több mint két évtizedes nemesítési munka eredménye. A génbanki alapanyag hibridek és vonalak fizikai mutagénnel (gyors neutron) való kezelésével jött létre. Az 1500 vonalat magába foglaló génbanki anyag széles genetikai variabilitással rendelkezik, melyek kiaknázása azonban csak megfelelő szelekciós és értékelési eljárásokkal lehetséges csupán. Az elmúlt évek eredményeképpen a P 26, P 61 és P 62 jelzésű kukoricavonalak a DUS vizsgálatok lezárása és kedvező eredményei alapján 2001-ben állami elismerést kaptak.*

**Kulcsszavak:** génbank, kukorica (*Zea mays L.*), mutációs nemesítés, gyors neutron

### SUMMARY

*Heterosis breeding in maize caused gene erosion by using uniform inbred lines. In order to strengthen the genetic base, we established a gene bank containing lines with broad genetic variability, resistance and adaptability. The maize gene bank is a result of our work in the past two decades.*

*The gene bank originated from treatments of maize seeds of hybrids and inbred lines with fast neutrons. The 1500 maize lines have great genetic variability which can be exploited after strict assessment and selection. As a result of the past several years, P 26, P 61 and P 62 lines have been released after DUS investigation in 2001.*

**Keywords:** genebank, maize (*Zea mays L.*), mutation breeding, fast neutron

### BEVEZETÉS

A nemesítő csak széles genetikai bázisból tud sikeresen, számára kedvező genotípusokat kiválogatni és a további munkájában felhasználni. A genetikailag eltérő kukoricahibridek előállítására, termesztésük kockázatának csökkentését is jelenthetik, hiszen jobb adaptációs képességgel fognak bírni a különböző termőhelyi és időjárási viszonyokhoz. Az utóbbi évtizedekben mind Európában mind Amerikában erősen lecsökkent a kiinduló szülői vonalak száma. Kialakult egy kevés törzsből álló jó kombinálódóképességgel bíró, nagy heteróziát nyújtó vonalanyag. Az ezekből

származó hibridek nagyfokú genetikai hasonlósága sebezhetővé teheti őket a különféle abiotikus és biotikus stresszfaktorokkal szemben. Ma az újabb kukoricahibridek termőképességét évente 0,5-1%-kal növeli a nemesítési munka. Az ilyen fokú genetikai haladás biztosításához a nemesítőknek új kedvező tulajdonságokkal, megfelelő kombinálódóképességű populációkra, genetikai alapokra van szükségük.

Hazánkban a kukoricánemesítés genetikai bázisa – a specifikus nemesítési célkitűzések és a génerózió következtében – az utóbbi évtizedekben jelentősen leszűkült, melynek kedvezőtlen hatásai közismertek. A kukoricatermesztésben igen sok külföldi hibridet használnak, amelyek genetikai hátterét csak néhány beltenyésztett vonal alkotja. A termesztés genetikai sebezhetőségének csökkentése érdekében rendkívül fontos a kukoricánemesítés alapanyagbázisának különböző módszerekkel történő szélesítése.

A genetikai variabilitás növelésének specifikus változata a különböző mutagénekkel történő kezelés. Jelentős azoknak a törzseknek, populációknak a száma is, melyek bizonyos előnytelen tulajdonságaiknál fogva korlátozottan használhatók a nemesítési programokban. Ezen negatív tulajdonságok javítása a hagyományos nemesítési eljárásokon túlmenően biotechnológiai módszerekkel is lehetséges. Ezek mellett azonban hasznos lehet a mutációs módszerek alkalmazása (Maráz et al., 1993; Pepó és Pepó, 1993; Pásztor et al., 1985).

A kukoricánemesítésben felhasználható genotípusok körének szélesítéséhez a mutációs nemesítési módszer alkalmazása nagy segítséget jelenthet. Indukált mutánsok felhasználásával a populáció génkészlete gyarapszik, ami a fajták formagazdagságban bekövetkezett elszegényedése miatt napjainkban egyre fokozottabb jelentőségű. A változékonyságot növelő mutáció segítségével olyan növénytermesztési szempontból kedvező vonalak szelektálhatók, amelyek a termelési igényeket jobban kielégítő új hibridkombinációkat eredményeznek (Pepó és Pepó, 1993). A nemesítési alapanyag diverzifikálása neutronsugárással is megvalósítható. Az utóbbi időszakban a neutronbesugárzás genetikai, növénytermesztésbeli alkalmazása iránt megnyilvánuló fokozott érdeklődés azzal magyarázható, hogy ez a fizikai mutagén faktor igen nagymértékben hat az RNS-DNS struktúrára azáltal, hogy a besugárzás nyomán keletkezett radioaktív anyagok által kibocsátott sugárzások sűrűbb ionizációt okoznak az élő szervezetben (Tóth és Pepó, 2003).

## IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A növénynevelés tökélsége világszerte rohamosan nő, a nagy konkurencia miatt felgyorsult a koncentráció, ami a genetikai variabilitás beszűküléséhez vezethet (Bedő, 2004).

A neutronsugárzás várható nagy genetikai affinitása miatt világszerte egyre nagyobb mértékben használják fel ezen sugárforrást a növényi anyagok genetikai variabilitásának növelésére (Pepó et al., 1989).

Indukált mutáció segítségével különböző fenotípusú vonalak hozhatók létre, amelyek morfológiai tulajdonságaik alapján kultúr vonal, kultúr-bokros vonal, teopod, corn-grass típusokba sorolhatók. Ezek a mutáns vonalak eredményesen használhatók fel a hibrid előállítás programokban (Pásztor et al., 1985; Pepó és Pásztor, 1985; Lakatos et al., 1996).

A mutációs nemesítéssel létrehozott beltenyésztett vonalakkal megvalósított rekurrens szelekció kombinálható az *in vitro* szövetkultúrával és haploid technikával, továbbá kedvező minőségi tulajdonsággal rendelkező kombinációk hozhatók létre (Pepó, 2004; Pepó et al., 2004).

A genetikai homogenitás növekedése a biológiai háttér oldaláról a termélnövekedés akadályozójává vált, mert a hibridek ökológiai érzékenysége nagymértékben fokozódott (Váczi, 1978). Ennek elkerülése érdekében Menyhért (1979) genetikailag különböző hibridek termesztését javasolta a különböző éréscsoportokon belül.

A különböző FAO csoportokban szükség van olyan, egymástól eltérő genotípusú hibridek nemesítésére, amelyek mennyiségi és minőségi tulajdonságai a korszerű növénytermesztés igényeinek megfelelnek (Váczi, 1979). A cél megvalósítása érdekében a kukoricanevelésben felhasználható alapanyagbázis szélesítésére van szükség.

Az irányított keresztezési programok megvalósításában a genetikai divergenciának is igen nagy jelentősége van a nemzetközi együttműködésben, amely segítséget nyújt az eredményes hibridkukorica nemesítés megvalósításához (Kappel és Zieger, 1983). A különböző kukoricanevelési célok (tőszámsűrítéssel szembeni tolerancia, terméskomponensek és a minőség javítása) megvalósítására a távoli keresztezéseken és a rekurrens szelekción kívül a mutációs nemesítés is eredményesen felhasználható (Tomov, 1984).

A mutagenézis legsikeresebben használható fel a szülői vonalak egyes kedvezőtlen bélyegeinek javítására és a fontos tulajdonságok hibridekbe történő bevitelére értékes kémiai komponenseket tartalmazó mutánsok indukálására, a beltenyésztett vonalak kombinálódóképességének javítására, valamint rezisztens vonalak és hibridek előállítására (Sztolov és Kiszova, 1989).

Genova és Genov (1995a) két kukoricavonalnál

(W 401, Ma 21) alkalmaztak mutagén kezelést (fizikai és kémiai mutagént). Az előállított mutánsvonalak tesztelése során megállapították, hogy a kedvező GCA értékkel rendelkező vonalak szintetikus fajták előállítására, míg a kedvező SCA értékkel rendelkezők pedig a heterózis nemesítésben hibridek előállítására használtak fel.

Ugyanezen szerzők (Genova és Genov, 1995b) további vizsgálataik alapján megállapították, hogy a mutáns vonalak a kiindulási vonalakhoz képest jobb kombinálódóképességet mutattak.

A fajok, fajták változatosságának fennmaradása jelentheti a jövőbeli nemesítési és szelekciós munka, a változó körülményekhez és igényekhez alkalmazkodó új fajták létrehozásának az alapját. A géntechnológia térnyerésének (GMO) legnagyobb kockázata, hogy a mezőgazdaságot még tovább uniformizálja (Móra, 2004).

## ANYAG ÉS MÓDSZER

A besugárzások az MTA Atommagkutató Intézete (ATOMKI) Ciklotron Laboratóriumában üzemelő gyors neutronforrások használatával történtek. A gyorsneutronok keltésére az MGC-20E ciklotron által felgyorsított protonokat vagy deuteronokat használtak. Atommagfizikai okokból minden neutronforrás körül kevert n- $\gamma$  mező jön létre (Fenyvesi, 2004). A mezőbe helyezett kukoricamagvak atommagjainak ütköző neutronok és gamma-fotonok szóródhatnak, vagy el is nyelődhetnek. A magok által módosított n- $\gamma$  mező mindkét komponense felelős a sugárkárosodásból eredő biológiai hatásokért. A sugárzás biológiai hatását az elnyelt dózissal jellemezzük, amelynek jele: D. Mértékegysége a gray (Gy), az a sugárdózis, amelyet 1 kg tömegű anyag elnyel, ha vele állandó sugárzással 1 joule energiát közlünk: 1 Gy = 1 J/kg (Szalay, 1982).

A DE ATC MTK Genetikai és Nemesítési Tanszék mutációs nemesítési programjának első lépéseként 1982-86 között és 1991-ben számos kukoricahibrid (amerikai hibridalapanyag F<sub>1</sub>) és vonal vetőmagjának besugárzását végeztük el előbb neutron generátorral, majd ciklotronban 5, 7.5, 12.5, 15, 17.5, 20, 30, 40, 50 Gy sugárdózissal. A magvakat előzetes kezelés nélkül 14%-os nedvességtartalom mellett kerültek besugárzásra. A kísérletek során felhasznált hibridek a következők voltak: Pi 3950 MSC; Pi 3978 SC; Pi 3780 MSC; Pi 3901 SC; Pi 3709 MSC; Pi 3747 SC; Pi 3764 MTC; Pi 3906 MSC; Pi 3839 SC; Pi 3732 SC; NK PX 14 MSC. A beltenyésztett vonalak közül az alábbiak besugárzását végeztük el: F 2; GK 41; Li 19; Sz 904, OL, GK 13; Mo 17; GK 13; J/0 156; J/0014; I-2536; I-2245; I-1023; I-1527.

A gyors neutronos vetőmagkezelést követően a szegregációt mutató állományok szigorú beltenyésztésére, genetikai homogenizálására és a legkedvezőbb tulajdonságokkal rendelkező beltenyésztett vonalak kiválogatására került sor.

**EREDMÉNYEK**

A kiválasztott hibridek és a beltenyészett vonalak vetőmagjának neutron kezelését követően a sugárzás különböző jellegű változásokat idézett elő a kukoricánövényeken. Megállapításra került, hogy az egyes egyedek esetében a levélszám gyengén, a növénymagasság erősen mutabilis tulajdonságként

szerepelt. A mutáns növényállományokban a mennyiségi jellegek (csőtömeg, csővenkenti szemszám, ezermagtömeg) nagyobb valószínűséggel változtak negatív irányban. Az alacsonyabb sugárdózisok a csőtömeget és a csőhosszúságot erőteljesebben növelték pozitív irányba, mint a nagyobb dózisu kezeléseket. A kukoricagénbank fontosabb adatai az 1. táblázatban láthatók.

1. táblázat

A kukoricagénbankban szereplő vonalak adatai

Vonalak(1)	Évek(2)								
	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
Leírás(3)	155	155	155	155	155	155	122	106	92
Fenntartás(4)	517	450	450	450	217	217	250	310	120

Table 1: Data of inbred lines in the maize gene bank  
Inbred lines(1), Years(2), UPOV characterization(3), Self-pollination(4)

A neutron besugárzást követően olyan törzseket tudunk szelektálni, amelyek a különböző kórokozókkal (Ustilago maydis, MDMV) szemben rezisztensek voltak. A génbanki anyag vizsgálata során arra következtethetünk, hogy a kukorica mutációs kezelése során létrehozott vonalak betegségellenállósága fokozódhat. A mutáció révén olyan új tulajdonságokat tudunk kialakítani, amelyeket a populáció természetes genetikai változékonysága egyébként nem tenne lehetővé. A génbanki anyagok vizsgálata azt mutatta, hogy a különböző módon előállított mutánsokkal a cső- és szárazanyagtermést egyaránt növelhetjük. A kísérleti

mutagenézisnek igen nagy szerepe van a kukoricahibridek heterózisának növelésében. A kukoricamagvak besugárzásával kapott mutánsok alkalmazása a szemtermés növelését tette lehetővé több kétvonalas (SC) hibridben. Az így létrehozott mutánsok alapanyagként szerepelhetnek nagy termőképességű, három- (TC), illetve négyvonalas (DC) hibridekben is. Az alapanyagok tanulmányozása, mutációk kiváltása és a beltenyészett törzsek kombinálódóképességének vizsgálata során olyan kedvező tulajdonságú törzsek kerültek kiválasztásra, amelyeket a növénynemesítői munkában hasznosítani lehetett (1. ábra).

1. ábra: A kukoricavonalak kombinálódóképesség értékei (420 vonal esetén) terméseredményre és rezisztenciális tulajdonságokra vonatkozólag

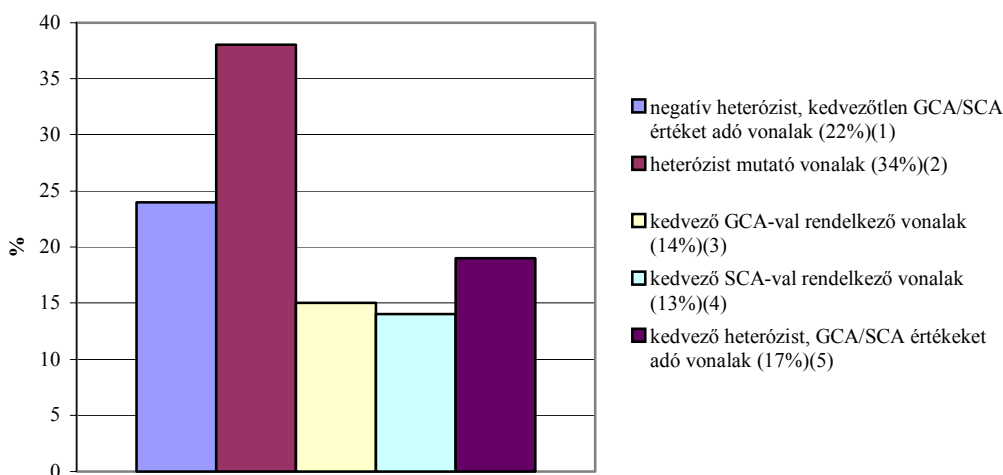


Figure 1: Combining ability of maize lines based on agronomy traits (yield and resistance) (No. of lines tested)  
Lines with negative heterosis and unfavourable GCA/SCA values(1), Lines exhibiting heterosis(2), Lines with favourable GCA(3), Lines with favourable SCA(4), Lines with favourable heterosis and GCA/SCA(5)

A sugárkezelt vonalak keresztezésével létrehozott hibridkombinációk termőképessége, kukoricaüszög rezisztenciája, tözsűrűsége szignifikánsan jobb eredményeket mutatott a standard hibridekhez viszonyítva.

A heteróziásnemesítés a vonalak uniformizálásával géneróziót idézett elő. Ennek elkerülése érdekében került létrehozásra a kukoricagénbankunk, amely a nagyobb genetikai variációt biztosító, jó rezisztenciájú és

alkalmazkodóképes vonalakat foglalja magába. Bebizonyosodott, hogy ilyen vonalak a poliploidizáció, a nemzetség és fajkeresztezés mellett mutációval állíthatók elő. Az alkalmazott csíraplasmákban elég nagy a genetikai variáció, ennek kiaknázása azonban csak megfelelő szelekciós és értékelési eljárásokkal lehetséges csupán.

A különböző, növekvő dózisu besugárzási kísérleteink eredményei azt mutatták, hogy a 30 Gy feletti dózisok teljes letalitást okoztak, így a kukoricaneemesítésben a továbbiakban nem alkalmazhatók. Élő, felnevelt növényeket csak az 5,

20 és 30 Gy besugárzási dózisok esetén kaptunk, a vetőmagelőállítás viszont csak az 5, illetve a 20 Gy dózissal kezelt növényeknél bizonyult sikeresnek. Az 5 Gy kezelést követően mikromutációk, a 20-30 Gy esetén pedig makromutációk megjelenésére számíthatunk az  $M_2$  és az  $M_3$  nemzedékekben. A makromutációk esetében több gazdaságilag értékes beltenyésztett vonal alakult ki. A sugárkezelések hatására a törzsek kezdeti fejlődési erélye kedvezőtlenebbé vált, kitolódott a nő- és hímvirágzás ideje, a növénymagasság, az asszimilációs felület és a szárátmérő csökkenése mellett (2. ábra).

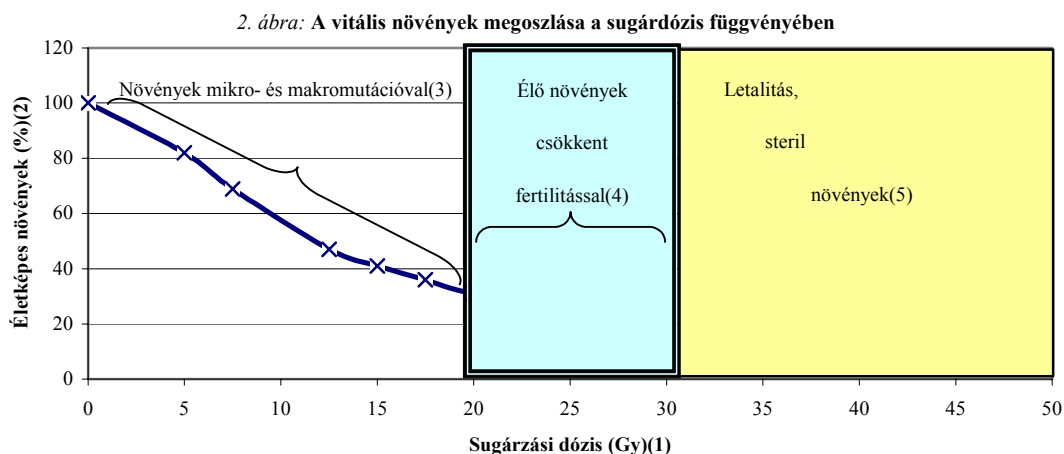


Figure 2: Ratio of vigorous maize plants as a function of irradiation dose  
Irradiation dose (Gy)(1), Vigorous plants(2), Plants exhibiting micro- and macromutations(3), Viable plants with reduced fertility(4), Lethality, sterile plants(5)

Az optimális sugárdózis intervallum meghatározására 0-20 Gy-ig terjedő dózisok alkalmazására került sor. Az  $M_2$  generációban a növénymagasság és szárátmérő nőtt. A termésképző elemeknél is pozitív változások következtek be (csőhossz, csőtömeg, csőátmérő növekedése). A csővenkenti szemtömeg jó indikátorként mutatkozott a dózisoptimum meghatározására. E tekintetben a 12,5 Gy dózis bizonyult optimálisnak a legtöbb törzs esetében.

A több időszakot felelő besugárzási kísérletek során kialakult mutáns kukoricatörzsek szelekcióját követően azok több éven keresztül beltenyésztése került sorra. Ennek eredményeképpen a *P 26*, *P 61* és *P 62* nemesítői jelzésű kukoricavonalak a DUS vizsgálatok lezárása és kedvező eredményei alapján 2001-ben állami elismerést kaptak. Ezek a jövőbeni kukoricaneemesítési programok alapanyagát biztosítják, a genetikai variabilitás növelése érdekében.

#### IRODALOM

- Bedő Z. (2004): Mezőgazdasági technológiák fejlesztése és a genetikailag módosított (GM) növények. Genetikailag módosított élelmiszerek társadalmi fogadtatása c. workshop kiadványa (2004/11/26). KRE-MTA TK, Budapest, 6-16.
- Fenyvesi, A. (2004): Neutron sources for basic and applied research at the MGC-20E cyclotron of ATOMKI, Proceedings of the Enlargement Workshop on Neutron Measurements and Evaluations for Applications (NEMEA), 5-8 November 2003, Budapest, Hungary, Ed.: A. Plompen, Institute for Reference Materials and Measurements, European Commission – Directorate-General – Joint Research Centre, May 18, 2004, Report EUR 21100 EN, 68-74.
- Genova, I.-Genov, M. (1995a): Genetic and breeding evaluation of midlate mutant maize lines. Rasteniye "dni Nauki, 32. 9-10, 41-43. 13. ref.
- Genova, I.-Genov, M. (1995b): Breeding evaluation of midearly mutant maize lines. Rasteniye "dni-Nauki, 32. 1-2. 108-110. 13 ref.
- Kappel, W.-Zieger, G. (1983): Genetische Divergenz und gezielte Kreuzungsprogramme als Grundlage für eine erfolgreiche Hybrid maiszüchtung im Rahmen internationaler Zusammenarbeit. Bericht über die Arbeitstagung Gumpenstein, Bundesamt für Alpl. Landwirt, 117-189.
- Lakatos L.-Tóth Sz.-Pepó P. (1996): A kukorica (*Zea mays* L.) szárazanyag gyarapodásának vizsgálata diallél rendszerekben klimatikus stresszfüggvény alkalmazásával. Növénytermelés, 45. 4. 353-364.
- Maráz A.-né-Pepó P.-Tóth Sz. (1993): Kukoricavonalak és populációk variabilitásának növelése mutációs úton. Növénynevelési Tudományos Napok, Budapest, 63.
- Menyhért Z. (1979): Kukoricáról a termelőknek. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 60-63.
- Móra V. (2004): A GMO-k fogadtatása a környezetvédelmi szervezeteknél. Genetikailag módosított élelmiszerek társadalmi fogadtatása c. workshop kiadványa (2004/11/26). KRE-MTA TK, Budapest, 40-47.

- Pásztor, K.-Pepó, P.-Egri, K. (1985): Changes in the production of maize hybrids due mutant parent lines. *Acta Agronomica*, 34. 1-2. 189-195.
- Pepó P.-Pásztor K.-Palij A. F.-Pepó P. (1989): Kukorica mutánsvonalak genetikai analízise. *Növénytermelés*, 38. 3. 193-199.
- Pepó P.-Tóth Sz.-Oskolás H. (2004): A kukorica (*Zea mays* L.) elemtartalmának változása a tenyésztő során. *Növénytermelés*, 53. 4. 317-327.
- Pepó, P. (2004): Using new methods in conventional breeding of maize (*Zea mays* L.). *Cereal Research Communications*, 32. 4. 485-491.
- Pepó, P.-Pásztor, K. (1985): Use of irradiation induced maize mutant lines in plant improvement. *Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci., Hung.*, 20. 1-2. 27.
- Pepó, P.-Pepó, P. (1993): Biological background of sustainable maize (*Zea mays* L.) production. *Landscape and Urban Planning*, 27. 179-184.
- Szalay B. (1982): *Fizika. Magfizika. Műszaki Könyvkiadó, Budapest*, 864.
- Sztoilov, M.-Kiszova, B. (1989): Njakai rezultati; problemi po izpozuvane na eksperimentalnija mutagenezisz v szelek cijata na carevicata. *Genetika; Szelekcija, Szofija*, 22. 2. 85-90.
- Tomov, N. (1984): Posztizsenija v oblaszta na genetikata na carevicata u nasz. *Szelsz. Nauka, Szofija*, 22. 4. 41-5.
- Tóth Sz.-Pepó P. (2003): Nemesítési alapanyagok vizsgálata kukoricában. *Növénytermelés*, 52. 6. 609-621.
- Váczi D. (1978): A kukorica lehetőségei és gondjai. *Magyar Mezőgazdaság, Budapest*, 33. 10.
- Váczi D. (1979): Silókukorica fajtaellátottság, fajtakísérletek. *Magyar Mezőgazdaság, Budapest*, 34. 15-28.