

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A termesztett *Pleurotus ostreatus* hibridek tulajdonságainak javítása és új hibridek előállítása vadon termő törzsek alkalmazásával

Írta:

Hajdú Csaba

Témavezető:

Dr. Rimóczi Imre,

Tanszékvezető egyetemi tanár, az MTA doktora



Budapest

2008.

A doktori iskola

megnevezése:

Interdiszciplináris [1. Természettudományok (1.5. Biológiai tudományok), 4. Agrártudományok (4.1. Növénytermesztési és kertészeti tudományok)]
Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és Kertészeti tudományok

vezetője: Dr. Papp János

egyetemi tanár, az MTA doktora
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

témavezető: Dr. Rimóczi Imre,
tanszékvezető egyetemi tanár, az MTA doktora
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,
Növénytani Tanszék és Soroksári Botanikus Kert.

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

Dr. Papp János
Az iskolavezető jóváhagyása

Dr. Dr. Rimóczi Imre
A témavezető jóváhagyása

1. A kutatási feladat összefoglalása és tudományos előzményei

A laskagomba termesztés eredményessége, éppen úgy, mint minden élő objektummal foglalkozó termelési ág - mezőgazdaság, kertészet stb. – eredményessége nagymértékben függ a termesztett, vagy tenyésztett élőlény fajtájától, élettani és alaki tulajdonságaitól.

A laskagomba termesztés terjedésével mind a termesztők, mind a fogyasztók részéről egyre újabb igények jelentkeznek:

- a termesztett gomba legyen bőtermő,
- betegségekkel szemben ellenálló,
- tenészsídeje legyen rövid,
- kívánatos a tetszetős külső, - nem közömbös a szín sem, a fogyasztók a sötétebb alapszín szeretik inkább, míg a konzervipar a világosabb színt kedveli,
- csökkentett számban és lehetőleg az érési időszakban szórjon spórát.

Piaci előnyt jelent, ha a laskagombafajta környezeti igényei egyszerű berendezésekkel olcsón kielégíthetők, és az évszakos változásoktól függetlenül folyamatosan, egész éven át termesztethető.

Nincs olyan laskagombafajta, amely minden igényt egyszerre ki tudna elégíteni. Így nincs más megoldás, mint a fajtaválasztékot bővíteni, hogy a termesztő a termesztési feltételeknek és a piaci igényeknek minél inkább a megfelelő fajtát választhassa ki.

A világon a hagyományos növény- és gombanemesítési eljárások az elmúlt években kiegészültek, egyben felgyorsultak a molekuláris biológia módszereinek alkalmazásával. Ezzel szemben hazánkban a termesztett nagygombák nemesítési eljárásai még mindig a klasszikus módszerekkel történnek és a hazai nemesítési munka, fajtaazonosítás még mindig az 1980-as évek módszereivel történik. Ez nem azt jelenti, hogy a hagyományos nemesítési és fajta-elkülönítési módszerek nem alkalmasak új hibridek létrehozására, esetleg diszkrét morfológiai jegyekkel rendelkező fajták elkülönítésére. Sőt, a jelenlegi gyakorlat a gombák esetében is még mindig azt mutatja, hogy a tradicionális módszerekkel eredményesebb nemesítés folytatható, azonban célszerű megoldásnak azt tartottam, hogy a tradicionális és a hazai viszonylatban mindenképpen újnak nevezhető molekuláris genetikai módszereket párhuzamosan alkalmazzam. Mivel külső kutatóhelyemen (Quality Champignons Kft. Csíraüzeme és Fajtakutató Laboratórium) az utóbbi évek fejlesztéseinek eredményeként egy új molekuláris biológiai laboratóriumi részleget sikerült kialakítanunk, ezért - bár dolgozatomnak nem vállalt feladata a molekuláris biológiai munka – az országban elsőként kezdtem meg a gombaiparhoz kapcsolódó, nukleinsav alapú fajta-

elkülönítési vizsgálataimat.

A gombák, elsősorban a természetett „nagygombák”, rendkívül érzékenyen reagálnak a környezeti feltételek változására. Mindez jól megfigyelhető egy adott törzs termőtesteinek morfológiai változatosságán, amennyiben azok különféle környezeti feltételek mellett fejlődtek. Tehát az egyes környezeti-ökológiai hatások, adott fajra jellemzően, bár más-más súllyal, de széleskörű morfológiai változatok kialakulását teszik lehetővé. A gombatermesztésben és a nemesítési munka során mindez azt a hátrányt hordozza magában, hogy az adott fajta más összetételű szubsztrátumon, más klímájú helyiségben, más természetstechnológia mellett igen változatos morfológiai bélyegeket hordozhat. A környezeti tényezők változásából, valamint az adott faj, fajta jellegéből kifolyólag a morfológiai spektrum a torz termőtestektől a szép, a fajtajelleget magukon hordozó termőtestekig változhat. Mindezek azt jelentik, hogy a hagyományos, morfológiai jegyeken alapuló fajta-elkülönítés, főként a gombafajták esetében, nem minden esetben ad megbízható eredményt.

Hazánkban nagyon kevés a gombafajták kutatásával, új fajták nemesítésével foglalkozó kutatóhely és bár a gombaipari kutatások (komposztálás, nemesítés, új agrotechnológiai módszerek alkalmazása stb.) most kezdtek föllendülni, még így is jelentős lemaradásban vannak a növénynemesítési, növényfajta-elkülönítési, biotechnológiai stb. kutatásokhoz képest.

A dolgozatom központi témája a laskagomba klasszikus technológiákkal történő nemesítése volt, azonban a doktori iskola megkezdése óta a kutatóhelyemen jelentős fejlesztések történtek, így a munkám során e fejlesztésekből eredő előnyöket is próbáltam kihasználni. Természetesen ez az új lehetőség már nem tette lehetővé, hogy a fajta-elkülönítés természetett gombákra vonatkozó minden részletét kimerítsem, azonban annyit sikerült elérnem, hogy a megalapozzam a gombafajták molekuláris alapú elkülönítését. Így a dolgozatom központi témájaként szereplő laskagomba nemesítési munka mellett hazánkban elsőként próbálkoztam molekuláris biológiai alapú laskagomba-fajta elkülönítéssel. Sajnos a növényi biotechnológiai vizsgálatokhoz képest az ilyen jellegű mikológiai kutatások még gyerekcipőben járnak, így azok a módszerek kevésbé kidolgozottak a mikológiai munkában. A további molekuláris biológiai lehetőségeknek részben még határt szabott az, hogy az eszközpark, mely a kutatóhelyen létrejött elsősorban PCR-alapú munkát tesz lehetővé. Bízom benne, hogy a molekuláris biológiai alapú gombafajta elkülönítő vizsgálataim jó alapot szolgáltatnak a későbbi hazai mikológiai kutatásokhoz.

Célkitűzéseim a következők voltak:

- vad laskagomba törzsek és a jelenleg is használt piaci hibridek bevonásával új, kedvező termesztési tulajdonságokkal rendelkező, nagyüzemi szinten is termesztendő laskagomba hibrideket állítsak elő.
- célszerűnek láttam folytatni mindazt a munkát, amit eredményesen végzett a neves laskagomba nemesítő Gyurkó Pál és kutató csoportja a 80-as években. Az általuk előállított hibridek is kiváló alapjai az újabb hibridtörzsek előállításának. Nemesítő munkám során felhasználtam a „Gyurkó-hibrideket”, illetve az azok előállításánál alkalmazott módszerekkel igyekeztem új törzseket előállítani. A nemesítésbe bevontam több újonnan begyűjtött vad *P.ostreatus* törzset is.
- dolgozatom központi témájaként szereplő klasszikus laskagomba-nemesítési munka mellett hazánkban elsőként próbálkoztam molekuláris biológiai, PCR alapú laskagomba-fajta elkülönítéssel.

2. A vizsgálatok módszerei

2.1. Az új hibridek előállítása keresztezésekkel

A keresztezéseknél alkalmazott törzsek

Ma már nehéz lenne bármelyik, a HK35 nemesítésénél alkalmazott szülő törzs szaporítóanyagát önálló fajtaként értékesíteni. Ugyanakkor kiváló lehetőséget adnak ezek a törzsek arra, hogy felhasználásukkal, illetve kiegészítve újabb vad *P. ostreatus* törzsekkel, új, a HK35 fajtától eltérő, de azzal szemben versenyképes hibrideket állítsunk elő.

Ezért is alkalmaztuk a következő törzsek tenyészeit a nemesítésben szülői alapanyagként:

-Gyurkó hibridek: H7, G24, HK35-vonalak különböző forrásból, HK44;

-Vad ostreatusok: PO1-től 25-ig, OL 1-től 7-ig, *Pleurotus ostreatus* var. *florida*.

A szülői törzsekkel a következő keresztezéseket végeztük el.

	Po 1-25	P.o.var. florida	H 7	HK35	G24	HK44	OL1-7
Po 1-25	0	X	X	0	X	X	0
P.o.var. florida	X	0	0	0	0	0	X

H7	X	0	0	0	0	X	X
HK35	0	0	0	0	X	0	0
G24	X	0	0	X	0	0	X
HK44	X	0	0	0	0	0	X
OL1-7	0	X	X	0	X	X	0

(X= keresztezett törzsek; 0= nem keresztezett törzsek)

Az új hibridek előállításánál két eljárást alkalmaztunk, a monospórák és multispórák módszert.

Dikarionta tenyészetek előállítása monospórák eljárással.

A monospórák eljárási lépései a következők:

- Spóraszuszpenziók készítése
- Agarlemezek kiöntése
- A spórák szélesztése
- Csíráztatás
- A csírázó spórák kiemelése
- A tenyészetek mikroszkópos ellenőrzése
- A különböző származású monospórák tenyészetek összeoltása és a kompatibilitás megfigyelés
- A dikarionta tenyészetek fenntartása

Dikarionta tenyészetek előállítása multispórák eljárással

Az eljárás egyes lépései a következők:

- Spóraszuszpenziók készítése,
- A spóraszuszpenziók összekeverése,
- Oltás agarlemezre,
- Csíráztatás és a heterogén telep megfigyelése,
- Izolálás a szektorokból és az izolátumok tisztítása,
- A csatképzés ellenőrzése,
- A dikarionta tenyészetek fenntartása.

A monospórák és multispórák eljárás összehasonlítása

Az egyspórák eljárását a csírázó spórák kiemelése miatt munkaigényesebbnek tartjuk, mint a sokspórákat. A monospórák tenyészetek összeoltásakor, ha a spórák valóban idegenek és nem rokonok, - amit nem lehet előre tudni -, akkor az összeoltásoknak csak mintegy negyedrésze szolgáltat dikarionta tenyészetet. Ebben az esetben sok a feleslegesen végzett munka. A monokariontákat egyébként – ha már izoláltuk őket – érdemes egymással minden kombinációban összeoltani. A monospórák eljárásnak előnye viszont, hogy a tenyészetek mesterséges összeoltása következtében biztosan lehet tudni, hogy a kialakult dikarionta tenyészet két idegen monospórák tenyészet fúziójából származik. Előny továbbá még az is, hogy az így előállított tenyészet mikrobiológiailag tiszta, hiszen az összeoltásokat több lépésben tisztítási munka előzi meg.

A multispórák eljárás esetében tapasztalatunk szerint gyorsabban jutunk sok dikarionta tenyészethez, de ezekről nincs bizonyítékunk, hogy nem két azonos származású kicsírázott spóra hifáinak fúziójából, hanem két idegen összeolvadásából keletkeztek. Egzakt kísérletek bizonyítják ugyan, hogy az idegenek között igen nagy az affinitás, ez azonban csak valószínűsíti az idegenek összeolvadását, de nem bizonyítja. Bizonyosságot csak akkor szerezhethetünk, ha a két szülőtenyészetnek határozottan elkülöníthető, eltérő egyéni tulajdonságai vannak, amely tulajdonságok az utódban együttesen jelennek meg. Ezt a körülményt bizonyítéknak tekinthetjük a kereszteződésre.

A multispórák eljárás esetében felhasználhatjuk egy termőtestet, de kettő, vagy több idegen származású termőtest spóráit.

Egy termőtest spóráit önmagukban általában akkor használjuk, ha egy előregedő, de korábban jól bevált tenyészetet akarunk felújítani, megifjítani. Egyetlen termőtest spóráutódok között is találunk eltéréseket, amelyek közül a korábbi jó törzshöz leginkább hasonló tenyészetet választjuk ki.

Egyetlen termőtest spóráutódainak változatosságánál sokkal nagyobb változatosságot, sokkal tarkább képet kapunk, ha kettő vagy esetleg még több, különböző tulajdonságokkal rendelkező termőtest spóráinak keverékéből készítünk multispórák tenyészeteket. Teljesen új tenyészetek előállításánál általában ezt az utat követjük. A spórák adó termőtesteket célszerű minden esetben gondos mérlegelés alapján kiválasztani.

2.2. Gombafajták elkülönítése molekuláris biológiai módszerekkel

A korábban közölt módszerekkel évente több száz hibridet állítottunk elő. Ezeket kezdetben kisparcellás kísérletekben szelektáltuk. A kisparcellás termesztéseket üvegekben végeztük. Laboratóriumi autoklávban sterilizáltuk le az előtte benedvesített és konzervüvegekbe töltött darált szalmát, majd az így előállított steril alapanyagot szemcsírával oltottuk. A kis üvegeket perforált fóliával és papírral zártuk le. Az átszövetést a csiragyártásnál alkalmazott tiszta, klímatisztált körülmények között végeztük, majd az egységeket aztán hűvös szobában fordítottuk termőre. A termőtestképzéshez szükséges környezeti feltételeket egyszerű technikákkal, a párasítást egy háztartási berendezéssel, a légcserét kis ventilátorral biztosítottuk.

A vizsgálatok célja az volt, hogy megállapítsuk, melyek azok törzsek, amelyek a kontrol HK35 és HK44 törzsekhez viszonyítva azonos vagy jobb eredményeket mutatnak. A kisparcellás, üvegekben végzett termesztések nem alkalmasak termésátlag számítására, viszont kiválóan alkalmazhatóak a primordiumképzés idejének, a termőtestek színének és morfológiájának vizsgálatára. Tehát ezekre a tulajdonságokra végeztük a szelektálást. A kisparcellás vizsgálatok az ismétlésekkel együtt 5-6 hónapig tartottak, s végül 5-8 törzset hagytunk meg további termesztési kísérletek céljából.

A vizsgált laskagomba fajok RAPD mintázatainak vizsgálata során a következő primerek használata esetén találtunk differenciáló band-eket:

- OpA 11
- OpA 15
- OpA 17
- OpA 01
- OpA 4391
- OpA 20

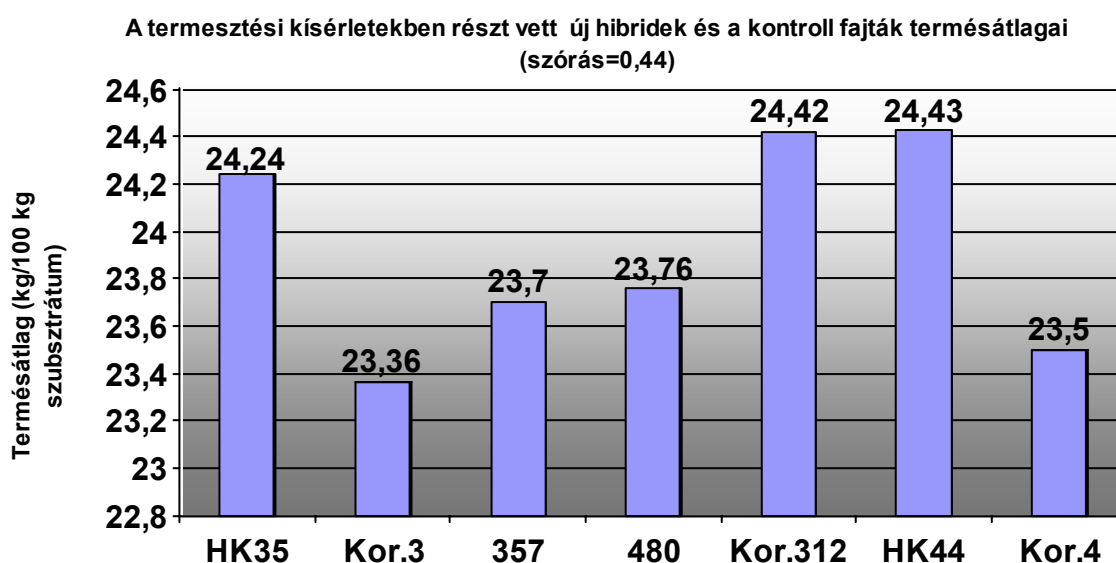
A RAPD analízis céljából kiválasztott törzsek között nemcsak a szülői törzseket, hanem konkurens cégek szaporítóanyagaiból származó fajtákat is vizsgáltunk. Ez azért fontos, hogy a Korona 312 hibridet meg tudjuk DNS-módszer segítségével különböztetni a konkurens cégek fajtáitól, és a nemesítésben alkalmazott szülői és rokon törzsekhez való viszonyt, eltérést is vizsgálni tudjuk.

3. Eredmények és értékelésük

3.1. A keresztezési munka eredményei, az előállított új hibridek jellemzése

A következőkben néhány termesztési kísérlet eredményeit közöljük diagramok segítségével. A termésadatokat nagyüzemi technológiával előállított szubsztrátumon beállított, háromszori ismétlésben végzett kísérletekből kaptuk. Alapanyagdúsítást nem végeztünk, a darált szalmát xerotherm eljárással hőkezeltük. A termesztési kísérletek két hullámának eredményeit pontosan adminisztráltuk. A termés súlya mellett a termőtestek színét, fejlődésének intenzitását, vastagságát jegyeztük fel.

1. diagram.

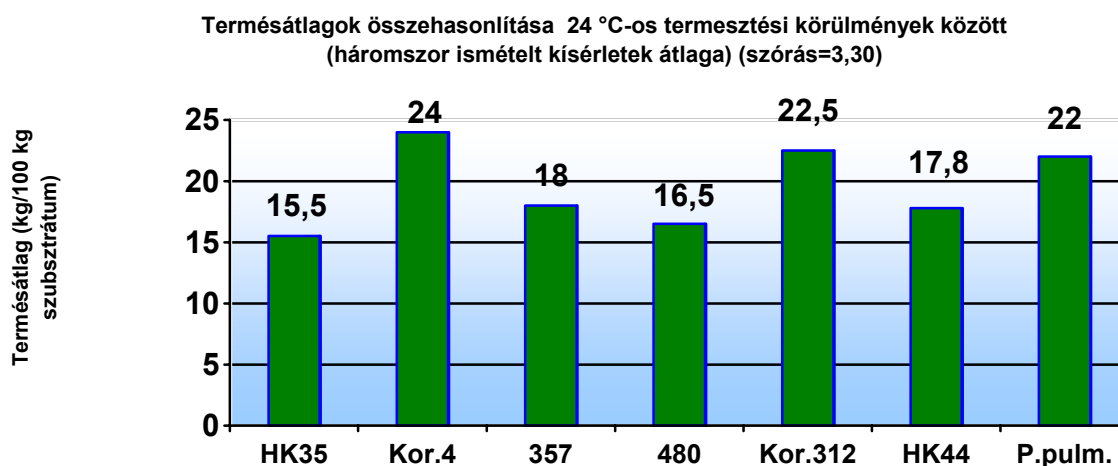


Az oszlopdiaqramon látható, hogy a Korona 3 és 4 törzsek még elmaradnak termésátlagban a HK család tagjaitól. Ezek a törzsek nagyszámú termőtestet képesek kinevelni, viszont a húsvastagságuk, a termőcsozor súlya elmarad a kontrollokhöz képest. A két törzsnél még dominálnak a *P. ostreatus var. florida* tulajdonságai, ez leginkább a következő 2.diaqramon látható, ahol a Korona 4 még meleg termesztési körülmények között igen magas termésátlagot produkált.

A Korona 312 viszont már a HK család két tagjához viszonyítva azonos minőségben és mennyiségben adott termést, elhagyva a Korona Fajtakutató Laboratórium két üzemi fajtáját, a 357 és 480 törzseket.

A kutató munkánk legnagyobb eredményének ezt tartjuk.

2. diagram

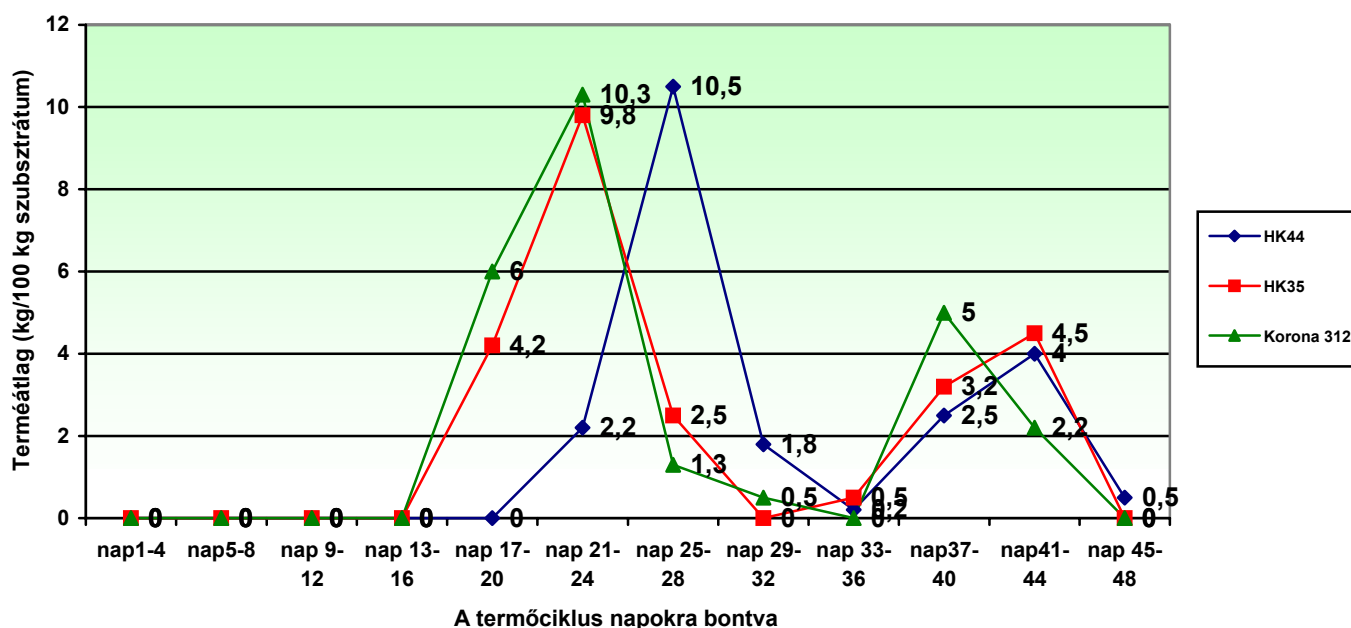


A 2. diagram a meleg, átlag 24 °C-os nappali levegőhőmérsékleten folytatott termesztési kísérletek átlageredményeit mutatja be. Kontrollként *Pleurotus pulmonarius* vad törzset is bevontuk, ez a faj ugyanis jól viseli ezen körülményeket, bizonyos országokban nagyüzemileg is folytatnak ezzel a fajjal termelést. Látható, hogy a Korona 4 és 312 kiemelkedően jól szerepeltek, és ez alkalmassá teheti a két fajtát a nyári nagyüzemi termesztésre.

A 3. diagram azt mutatja meg, hogy az új Korona 312 hibrid nem marad le a HK35 kontroll törzstől a primordiumképzés idejét vizsgálva sem. A termesztők elvárják, hogy az átszövődés gyors és intenzív legyen, hogy a fertőzéseket nagyobb valószínűséggel elkerülhessék. Az intenzív alapanyag-átszövésre képes törzsek a harmadik hét végére elkezdik a termőtestek fejlesztését, így a betelepítést követő negyedik hétre az első hullámot már szedni lehet.

3. diagram.

**A termés időbeli eloszlása a HK35, HK44 és a Korona 312 hibrideknél
(három kísérlet átlaga) (szórás=3,03)**



3.2. A molekuláris biológiai vizsgálatok eredményeinek összefoglalása

A molekuláris biológiai vizsgálataink eredményeképpen elmondható, hogy az általunk keresztezésekkel előállított és termesztési kísérletekben is vizsgált Korona 312-es hibridet, valamint más hazai nemesítők által előállított laskagomba hibridektől sikerült elkülönítenünk a RAPD-PCR differenciáló band-jeire tervezett primerekkel. Az OpA11, OpA15 dekamerek RAPD-PCR-ben történő használata esetén differenciáló bandeket találtunk, azonban a klónozási, szekvenálási, primertervezési munka eredményeként tesztelt saját primerekkel a fajták között nem tudtunk differenciálni. Az OpA01 primer esetében a konkrét cél az volt, hogy ne differenciáljon a primer a különböző laskagomba hibridek között, így azt a munka folyamánként szóba kerülő multiplex PCR-ben lehet fölhasználni. Ezt, mint „univerzális” primerpárt sikerült előállítani, ugyanis az összes hibridben a kívánt mérettartományban visszakaptuk a tervezett amplikont.

Az OpA 17-es dekamer használata esetén két differenciáló sávot sikerült izolálnunk. Az egyik sáv szekvenciaadataira tervezett primerekkel a vizsgálatba bevont laskatörzseket két csoportra lehetett bontani. A következő törzsek, hibridek esetében figyelhettük meg az amplikonok jelenlétét: P.florida, G24, valamint az általunk nemesített Korona 12. Ezek azt bizonyítják, hogy a Korona 312 hibridben dominálnak a *P. florida* tulajdonságai, hiszen ezeknél az egyik szülő törzs a *P.ostreatus var. florida* volt.

Az OpA 17 egy másik differenciáló sávjából egy másik primert terveztünk,

melynek segítségével szintén két csoportra lehetett osztani a törzseket, hibrideket. A következőkben volt megfigyelhető a PCR termék: *P.ostreatus var. florida*, Korona 312, G24, Po12, HK44.

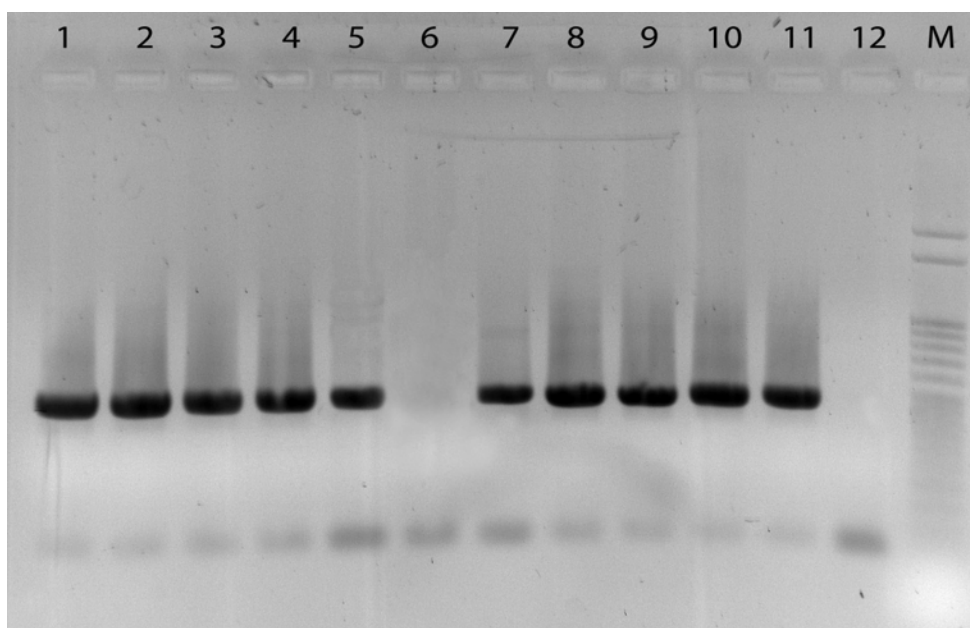
Az OpA 4391 dekamerrel beállított RAPD-PCR-ből származó tervezett primerekkel 6 fajtánál volt megfigyelhető az amplikon jelenléte, így szintén két csoportra voltak bonthatóak a kísérletbe bevont laskagomba-törzsek. A termék a következő templátok használata esetén volt megfigyelhető: 1-0-30, Bu-La, GHK35, K357-1, *P.ostreatus var. florida* és Korona 312.

Az OpA 20 random primer használatával tudtuk azt elérni, hogy a saját nemesítésű Korona 312 esetében nem volt kb. 800 bp-nál amplikon, szemben a többi törzssel.

A minták felvitelének sorrendje a következő volt:

- 1-0-30, egy francia gombacsíra üzem fajtája (1),
- Bu-La, romániai gombacsíra laboratóriumok gyakori fajtája (2),
- GHK-35, az eredeti Gyurkó hibrid (3),
- 357-1, a Korona Üzem fajtája, gyakorlatilag HK szelekció (4),
- *P.ostreatus var. florida*, vad törzs (5),
- Korona 312, új hibrid (6),
- G24, Gyurkó hibrid (7),
- Po12, európai vad törzs (8),
- HK44, Gyurkó hibrid, nincs kereskedelmi forgalomban (9),
- OL1, olaszországi vad *P. ostreatus* (10),
- OL7 olaszországi vad *P. ostreatus* (11),

A szekvenenciaadatok és tervezett primer:



Az OpA 20 primerrel végzett RAPD-analízis differenciáló sávjaira tervezett primerek tesztelése PCR-reakcióban

A Korona 312-es fajta nem ad bandet, szemben a többi hibriddel. Ezzel a primerrel el lehet különíteni az új és a korábbi törzseket, nemesítési alapanyagokat.

Természetesen számunkra az lett volna a megfelelőbb, ha a Korona 312 esetében kaptuk volna a differenciáló band-et, és a többi törzs esetében nem. Kb 40 random primer RAPD-PCR során történő tesztelésével sem tudtuk ezt a célt elérni, azonban úgy gondolom, hogy az ampikon hiánya a saját tervezésű primerrel hasonlóan jó eredmény a fajta-elkülönítési vizsgálatokban. Ennek megfelelően a saját primerekkel beállított PCR eredményeképpen az összes hibrid esetében megfigyelhető volt az ampikonok jelenléte, kivéve a Korona 312 új hibridet. Ezzel a primerpárral sikerült elkülönítenünk az általam termesztési kísérletekben is bizonyítottan jól szereplő új laskagomba hibridet a többi hibridtől. Ez a molekuláris biológiai munka egyik legjelentősebb eredménye kutatásomnak.

4. Az új tudományos eredmények összefoglalása

Nemesítő munkám során felhasználtam a Gyurkó Pál által nemesített hibrideket, illetve az azok előállításánál alkalmazott módszerekkel igyekeztem új törzseket előállítani. A nemesítésbe bevontam több újonnan begyűjtött vad *P.ostreatus* törzset is.

Évente több száz keresztezést végeztem el 7 szülői törzs bevonásával. Az új hibridek közül szelektált törzseket laboratóriumi és termesztési körülmények között teszteltem, tovább

szelektáltam. Évente 2-3 vonalat nagyüzemi termesztésbe vontunk, több ezer liter szaporítóanyagot értékesítettünk a KORONA cégcsoporton belülrre és kívülrre. A III. fejezetben közölt módszerekkel évente több száz hibridet állítottunk elő. Ezeket kezdetben kisparcellás kísérletekben szelektáltuk. A kisparcellás termesztéseket üvegekben végeztük, steril alapanyagon. A vizsgálatok célja az volt, hogy megállapítsuk, melyek azok törzsek, amelyek a kontrol HK35 és HK44 törzsekhez viszonyítva azonos vagy jobb eredményeket mutatnak. A kisparcellás, üvegekben végzett termesztések nem alkalmasak termésátlag számítására, viszont kiválóan alkalmazhatóak a primordiumképzés idejének, a termőtestek színének és morfológiájának vizsgálatára. A kisparcellás vizsgálatok az ismétlésekkel együtt 5-6 hónapig tartottak, s végül 5-8 törzset hagytunk meg további termesztési kísérletek céljából.

A kisparcellás termesztés szelekcióját követően a kiválasztott, ígéretes tulajdonságot mutató törzseket 10 literes steril szubsztrátumra oltottuk, és azokon termesztettük, már üzemi körülmények között.

Az összehasonlító termesztési kísérletekben már nemcsak a törzs morfológiai tulajdonságait lehet elemezni, hanem a kontroll fajtákhoz mérten megkaphatók a termésátlagok eredményei is. Ezekről természetesen messzemenő következtetéseket levonni még nem szabad, de három ismétlés után már az adatok a végleges szelekció alapjául szolgálhatnak. A vizsgált 5-8 törzsből már csak egyet vagy maximum kettőt választottunk ki, hogy a nagyüzemi szaporítóanyag-gyártásban alkalmazzuk, és a felhasználóknak értékesítsük.

Mielőtt azonban ez megtörténne a cég működtetésében lévő egzotikus gombákat termesztő és fajtakísérletnek helyet adó gombafarmon is termesztésbe vontuk, vizsgálva a törzsek környezeti hatásokkal szembeni toleranciáját, érzékenységét.

Ezzel a tesztelési módszerrel az elmúlt években piaci értékesítésre alkalmassá tettünk több új, a tudományos munkám eredményét képező hibridet. Az első hibridjeim a HK 44 és H7, továbbá a HK35 és G24 keresztezésével születtek. Az így készült Korona 3-as vonalak, a Korona 4-es törzsek 2000-től kerültek üzemi gyártásra, és természetesen kereskedelmi forgalomba.

A további években - 2000-től-, egy a *P.ostreatus var. florida* és egy hazai Po5 törzs keresztezéséből előállított fajtát kereszteztünk egy OL1. törzsszel.

Az így kapott vonalak közül egy törzs ment keresztül a törzsszelekciós munkán, a Korona 312-es hibrid, terméseredményei határozottan elkülönítik a kontroll csoportoktól. A hibridet, a termesztési tesztelésével párhuzamosan, vizsgálatoknak vetettük alá molekuláris biológiai módszereknek, annak érdekében, hogy a törzs PCR elkülönítésének

lehetőségét is megvizsgáljuk.

Az 1999-től folytatott kutató munkám három nagy eredményét tudom megfogalmazni és kézzelfoghatóan a tudományos élet szereplői elé tárni.

Először is véghezvittünk egy 8 éve tartó nemesítő munkát, melynek több üzemi szaporított és kereskedelmi forgalomba került hibrid volt az eredménye, közöttük a Korona 312-re keresztelt új laskagomba hibrid. Ez a hibrid a termesztési kísérletek során bizonyította, hogy termésmennyiségében és a termés minőségében egyaránt a HK35 hibrid piaci konkurensé, esetleg azt felváltó utóda lehet.

Másodsorban sikerült a klasszikus nemesítő módszereket alkalmazva, azokat tökéletesítve kidolgozni, egy a Kutató Laboratóriumunkban gyakorolt nemesítési protokollt, amelyet tudomásom szerint ez idáig ilyen részletességgel nem írtak le. Kidolgoztunk egy törzsfenntartó technológiát, amely az igen intenzív növekedésű xilofág gombák fenntartására olyan eredményességgel sikerült alkalmazni, hogy az biztossá tette azok költségtakarékos és hosszú ideig tartó fenntartását. Alkalmaztuk és tökéletesítettük a hagyományos fenntartó technikákat, de új tapasztalatokat szereztünk a krioprezerválási technológia gyakorlásában is.

Bízom benne, hogy a DNS technológiák alkalmazásával felgyorsul, és hatékonyabbá válik a nemesítő munka, és ezzel újra bekerülhetnek magyar kutatók a nemzetközi élvonalba.

Fontosnak érzem a kutatások, elsősorban a molekuláris markerek fejlesztésével kapcsolatos vizsgálatok folytatását, annál is inkább, mert a jövőben várhatóan ezen egységek segítségével lehet jogilag levédeni és megvédeni a hibrideket. Tudomásom szerint a brüsszeli törvényhozók dolgoznak a szabályozások és fajtavédelmek jogi hátterének a kidolgozásán. Az életbelépésig még sok munka vár ránk, hogy ne szoruljunk ki a nemzetközi piacról, ne tudják korlátozni a tevékenységünket a genetikai alapanyagaink jogi védetlensége okán.

5. Az értekezés témaköréből készült publikációk jegyzéke

- HAJDÚ Cs. (1999.): A termesztett laskagomba fajok nemesítésének biológiai háttere, rendszerezésük problémái. Mikológiai Közlemények Vol. 38.No. 1-3. pp.:97-106.
- HAJDÚ Cs. (2003): A laskagomba-fajok rendszerezése és nemesítésének lehetőségei, Magyar Gombahíradó (Hungarian Mushroom Review) 38. szám, p. 12.
- HAJDÚ Cs., SZARVAS J., BUJDOSÓ L. (2004): Laskagomba-fajok (*Pleurotus* spp.) nemesítési módszerei Magyarországon, Magyar Mikrobiológiai Társaság 2004. évi Nagygyűlése és X. Fermentációs Kollokviuma, Keszthely, Konferencia Kiadvány.p.43
- HAJDÚ Cs., SZARVAS J., BUJDOSÓ L., NAGY Z. (2005): Magasabb hőmérsékleten is termő késői laskagomba (*Pleurotus ostreatus*) hibridek nemesítésének eredményei, Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Konferencia Kiadvány, Zöldség- és Gombatermesztési Szekció (Budapest).p.392
- HAJDÚ Cs. (1998.): The cultivation of *Pleurotus* spp. in Hungary, Central Europe. International Symposium on Science & Cultivation of Mushrooms, Nanjing p 56
- HAJDÚ Cs. (1999.): Breeding and cultivating wild *Pleurotus* strains in Hungary. Proceedings of the 20th Fungal Genetics Conference, March 23-28 1999, Asilomar CA (Fungal Genetics Newsletter Volume 46 - Supplement), p 49
- Cs. HAJDÚ, T. SZABO, J. SZARVAS (2004): Traditional breeding methods for the *Pleurotus* spp. Proceedings of the Meeting of Far East Asia for Collaboration on Edible Fungi Research 3. (Suwon, Korea). (abstract) p.40
- Cs. HAJDÚ, J. SZARVAS, L. BUJDOSÓ, D. KLIEGL, Z. NAGY (2005): Methods for breeding the oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) in Hungary, Third Hungarian Mycological Conference, May 26 – 27, 2005, Mátraháza, Hungary, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica.p. 259.

Egyéb közlemények

- HAJDÚ Cs., GEML J. (1996.): Szalma szubsztrátum előállítása, előkészítése. Magyar Gombahíradó (Hungarian Mushroom Review) 12. szám, p.:15.
- HAJDÚ Cs. (1996.): A Korona Csíraüzem laskagomba szaporítóanyag gyártásáról, az OKGE fajtakutatásról. Magyar Gombahíradó (Hungarian Mushroom Review) 12. szám, p.:11.
- GEML J., HAJDÚ Cs. (1997.): Szaporodási rendszerek az *Agaricus* nemzetségben. Magyar Gombahíradó (Hungarian Mushroom Review) 13-14. szám, p.:22
- GEML J., HAJDÚ Cs. (1997.): A "La France" betegség.Magyar Gombahíradó(Hungarian Mushroom Review)13-14. szám, p.:22.

- VETTER, J.- HAJDÚ, Cs.- GYÖRFI, J.- MASZLAVÉR, P. (2005): Mineral composition of the cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*, *Acta Alimentaria*.Vol.34.(4) pp.441-451
- HAJDÚ CS. (2000): Laskagombatermesztés máktokszeckán (Tiszavasvári), Magyar Gombahíradó (Hungarian Mushroom Review) 29. szám, p.:10.
- RÁCZ L., HAJDÚ CS., SZARVAS J. (2005): Szelénos gomba vitamintabletták helyett? Élet és Tudomány LX. Évf. 34. Szám, pp. 1074 – 1075.
- SZARVAS J., HAJDÚ CS., NAGY Z., SZABÓ T. (2004): PCR-alapú fajtaelkülönítés a kétspórás csiperkegomba (*Agaricus bisporus*) esetében, Magyar Mikrobiológiai Társaság 2004.évi Nagygyűlése és X. Fermentációs Kollokviuma, Keszthely, Konferencia Kiadvány.p. 115.
- SZARVAS J., NAÁR Z., TARNAI R., HAJDÚ CS. (2005): Országos jelentőségű csiperkekórokozó-gyűjtemény felállítása, Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Konferencia Kiadvány, Zöldség- és Gombatermesztési Szekció (Budapest).p.422.
- HAJDÚ CS., RÁCZ L., SZARVAS J., NAGY Z., BUJDOSÓ, L., KLIEGL D. (2005): A termesztett csiperkegomba szeléndúsításának vizsgálata az egészségesebb élelmiszer előállítás érdekében, Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Konferencia Kiadvány, Zöldség- és Gombatermesztési Szekció (Budapest).p.390
- J. VETTER, CS. HAJDÚ (2000): New data on the chemical composition of cultivated mushroom species. Trace elements in food, 1st International Iupac symposium,9-11 October 2000, Warsaw, Poland (poster and conference book) p.79.
- SZARVAS J., HAJDÚ CS. (2001): A letermelt gombakomposzt hasznosításának új lehetősége, Magyar Gombahíradó (Hungarian Mushroom Review) 33. szám, p.:10
- HAJDÚ CS. (2002): Mikorrhiza oltóanyagok, Magyar Gombahíradó (Hungarian Mushroom Review) 34-35. szám, p.:12
- RÁCZ L. HAJDÚ CS. (2004) Iodine and selenium intake from soil to cultivated mushrooms, 2nd International IUPAC Symposium- Trace elements is food, Brussels konferencia kiadvány p.21
- T. SZABO, J. SZARVAS, CS. HAJDÚ (2004): Creation of the cultivatable Higher Basidiomycetes species gene bank in Hungary, Proceedings of the Meeting of Far East Asia for Collaboration on Edible Fungi Research 3. (Suwon, Korea).(abstract) p.2

- CS. HAJDÚ, J. SZARVAS, T. SZABO (2004): Spawn production process of cultivated mushroom species in Hungary, Proceedings of the Meeting of Far East Asia for Collaboration on Edible Fungi Research 3. (Suwon, Korea). (abstract)p.34
- J. SZARVAS, T. SZABO, CS. HAJDÚ (2004): PCR examination of the *Agaricus bisporus*, Proceedings of the Meeting of Far East Asia for Collaboration on Edible Fungi Research 3. (Korea). (abstract) p.42
- J. SZARVAS, CS. HAJDÚ, L. BUJDOSÓ, D. KLIEGL, Z. NAGY (2005): Development of a gene bank for cultivated higher Basidiomycetes, Third Hungarian Mycological Conference, May 26 – 27, 2005, Mátraháza, Hungary, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica.p. 269.
- J. SZARVAS, CS. HAJDÚ, D. KLIEGL, L. BUJDOSÓ, Z. NAGY (2005): Updating the propagation material (spawn) production process of cultivated mushroom species, Third Hungarian Mycological Conference, May 26 – 27, 2005, Mátraháza, Hungary, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica.p. 270
- CS. HAJDÚ, L. RÁCZ, J. SZARVAS, L. BUJDOSÓ, D. KLIEGL (2005): Iodine and selenium intake from soil by cultivated mushrooms, Third Hungarian Mycological Conference, May 26 – 27, 2005, Mátraháza, Hungary, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica.p. 259.
- Z. NAÁR, J. SZARVAS, CS. HAJDÚ (2005): Simplified method to study the colony morphology of various fungal species and isolates, Third Hungarian Mycological Conference, May 26 – 27, 2005, Mátraháza, Hungary, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica.p 252
- J. SZARVAS, Z. NAGY, CS. HAJDÚ, G. VILLÁS (2005): Diagnosis of the „La France Isometric Virus” (LIV) in the case of *Agaricus bisporus*, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 1st Central European Forum for Microbiology, Academia Press, p. 153. (Keszthely).
- NAÁR Z., KIRÁLY T., SZARVAS J., HAJDÚ CS. (2005): A táptalaj összetételének hatása a termesztett csiperke kórokozóinak fungicid érzékenységére, Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Konferencia Kiadvány, Zöldség- és Gombatermesztési Szekció (Budapest).p.404.
- SZARVAS J., NAGY Z., HAJDÚ CS. (2005): A kétspórás csiperkegomba „La France izomertrikus vírus” (LIV) okozta betegségének diagnosztikája hazánkban, Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Konferencia Kiadvány, Zöldség- és Gombatermesztési Szekció (Budapest) p.420.

- K. HALÁSZ, A. GEÖSEL, M. BRAY, J. SZARVAS, CS. HAJDÚ, N. LUKÁCS (2007): Detecting viruses in cultivated and wild agaricus species by dsRNA-immunoblotting Acta 15 th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, Hungary. Microbiologica et Immunologica Hungarica 54. p 43.
- E. SZUCS, J. LEHOCZKI-TORNAI, G. PETER, CS. HAJDÚ, J. SZARVAS (2007): Selection of indigenous Saccharomyces cerevisiae strains in Eger Wine District, XXXth World Congress of Vine and Wine, Budapest 10-16, June 2007. (OIV Konferencia Kiadványban)
- GEÖSEL A., HALÁSZ K., SZARVAS J., HAJDÚ CS., LUKÁCS N. (2007): A csiperke vírusos betegségei, Zöldségtermesztés, BCE-KTK, Zöldség és Gombatermesztési Tanszék Tanácsadója, XXXVIII. Évf. 3. sz. pp. 13 –14.
- E. SZUCS, J. LEHOCZKI-TORNAI, G. PETER, CS. HAJDÚ, SZ. JOZSEF (2007): Selection of indigenous Saccharomyces cerevisiae strains in Eger Wine District, XXXth World Congress of Vine and Wine, Budapest 10-06, June 2007. (OIV Konferencia Kiadvány).
- SZARVAS J., VASTAGNÉ CSORBA M., HAJDÚ CS., VILLÁS G. (2007): Laskagombafajták elkülönítése tervezett primerek segítségével (Differentiation of Pleurotus starins by designed primers), Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Konferencia Kiadvány, Zöldség- és Gombatermesztési Szekció (Budapest), p. 372-373.
- VILLÁS G., SZARVAS J., HAJDÚ CS. (2007): A gyapjas tintagomba termesztéstechnológiájának kutatása (The research of the Shaggy Mane's growing technology), Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Konferencia Kiadvány, Zöldség- és Gombatermesztési Szekció (Budapest), p. 378-379.
- VILLÁS G., SZARVAS J., HAJDÚ CS. (2007): A hortobágyi csiperke (Agaricus macrosporoides Bohus), egy őshonos magyar gombafaj termesztésbe vonásának lehetőségei (Agaricus macrosporoides Bohus—the growing possibilities and cultivation of a native mushroom strain), Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Konferencia Kiadvány, Zöldség- és Gombatermesztési Szekció (Budapest), p. 380-381.
- J. SZARVAS, L. BUJDOSÓ, CS. HAJDÚ, M. BRAY (2007): Gene bank of the cultivatable 'higher Basidiomycetes species' in the Hungarian mushroom industry, The Fourth International Medicinal Mushroom Conference, 23rd – 27th September 2007, Ljubjana, Slovenia.
- J. SZARVAS, M. BRAY, CS. HAJDÚ, A. MISZ (2007): Hericium erinaceum cultivation experiments in Hungary, The Fourth International Medicinal Mushroom Conference, 23rd – 27th September 2007, Ljubjana, Slovenia.

HAJDÚ CS., RÁCZ L., SZARVAS J. (2007): Iodine and selenium uptake from soil in cultivated mushrooms, The Fourth International Medicinal Mushroom Conference, 23rd – 27th September 2007, Ljubjana, Slovenia.

K. HALASZ, A. GEOSEL, M. BRAY, J. SZARVAS, CS. HAJDÚ, N. LUKACS (2008): Immunodiagnostic method to detect viruses in Agaricus species, First Symposium on Horticulture in Europe (SHE), 17-20th February 2008, Vienna Austria, p. 74.