



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Abnormális szárnövekedésű paprika mutánsok *in vitro* vizsgálata, valamint
mechanikai és molekuláris genetikai elemzése

Pápai Bánk

Gödöllő
2026.

A doktori iskola

megnevezése: Agrár- és Élelmiszertudományok Doktori Iskola

tudományága: Növény- és Kertészettudományi Program

vezetője: **Dr. Kovács Melinda Beatrix**
Egyetemi tanár, MTA rendes tagja
MATE, Élettani és Takarmányozástani Intézet
Élettani és Állategészségügyi Tanszék

Témavezetők: **Dr. Veres Anikó**
Egyetemi docens, PhD
MATE, Genetika és Biotechnológia Intézet
Genetika és Genomika Tanszék

Dr. Szőke Antal
Egyetemi docens, PhD
MATE, Genetika és Biotechnológia Intézet
Genetika és Genomika Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezetők jóváhagyása

Tartalom:

Ábrák és táblázatok jegyzéke:.....	5
Rövidítések jegyzéke:.....	7
1. Bevezetés.....	10
2. Célkitűzések	12
3. Irodalmi áttekintés	13
3.1. A paprika (<i>Capsicum annuum</i>) rendszertani, morfológiai jellemzői	13
3.2. A paprika gazdasági jelentősége Magyarországon.....	14
3.3. A paprika nemesítése Magyarországon.....	16
3.4. Mutációk szerepe és gazdasági hasznosulásuk.....	16
3.4.1. Mutánsok szerepe a növények nemesítésében.....	16
3.4.2. Gazdasági szempontból fontos <i>Solanaceae</i> mutánsok	18
3.5. Növényi válaszreakciók a különböző abiotikus ingerekre	19
3.5.1. Fototropizmus.....	20
3.5.2. Gravitropizmus	23
3.5.3. A foto-, és gravitropizmusért felelős gének és azok mutáns típusai.....	28
3.5.4. <i>In vitro</i> kísérletek a foto-, és gravitropizmus vizsgálatára.....	30
3.6. Lignifikáció folyamata	31
3.6.1. Lignin szerepe a szár keménységében.....	31
3.6.2. Lignin bioszintézise és az ebben szerepet játszó gének	34
3.7. Fitohormonok szerepe a szár fejlődésében.....	37
3.7.1. Auxinok szerepe a szár növekedésében	37
3.7.2. Gibberellinek szerepe a szár megnyúlásában	39
3.8. Az abnormális szárnövekedésben szerepet játszó gének.....	43
4. Anyag és módszer	45
4.1. A felhasznált növényanyagok	45
4.2. <i>In vitro</i> kísérletek.....	50
4.2.1. <i>In vitro</i> csíráztatás	50
4.2.2. Foto-, és gravitropizmus kísérletek	51
4.2.3. Auxinos hormonkezelés	52
4.3. Keményítőtartalom kvalitatív és kvantitatív meghatározása.....	52
4.3.1. Keményítő kimutatása Lugol-oldattal	52
4.3.2. Keményítőtartalom analitikai mérése.....	52
4.4. Lignintartalom kvalitatív és kvantitatív meghatározása	53
4.4.1. Lignin kimutatása floroglucin festéssel.....	53
4.4.2. Lignintartalom analitikai meghatározása	54
4.5. Szárkeménység mechanikai vizsgálata.....	55
4.6. Génexpressziós vizsgálatok.....	56

4.6.1. RNS izolálás	56
4.6.2. Reverz transzkripció cDNS szintézis	56
4.6.3. Alkalmazott primerek	56
4.6.4. Real-Time PCR vizsgálatok	58
4.7. Statisztikai elemzések	58
5. Eredmények és értékelésük	59
5.1. <i>In vitro</i> kísérletek eredményei	59
5.1.1. A két és három hetes csiranövények hipokotil növekedésének vizsgálata	59
5.1.2. A mutáns genotípusok fényre és gravitációs ingerre adott válaszreakcióinak vizsgálata	63
5.1.3. A reorientációhoz szükséges időtartam vizsgálata <i>Pcx</i> mutánsok esetében	68
5.1.4. Auxinos hormonkezelés hatása a gravitációra nem reagáló mutánsok esetében	72
5.2. Keményítőtartalom vizsgálatának eredményei	74
5.2.1. Gyökércsúcsok Lugol-oldatos festése	74
5.2.2. Keményítőtartalom analitikai mérése	75
5.3. Lignintartalom és a törési erő összefüggéseinek vizsgálata	76
5.5. Génexpressziós vizsgálatok	82
5.5.1. Lignin bioszintézisben szerepet játszó gének vizsgálata	83
5.5.2. Gibberellin bioszintetikus útvonalban szerepet játszó gének vizsgálata	85
6. Következtetések és javaslatok	87
7. Új tudományos eredmények	89
8. Összefoglalás	90
9. Summary	92
10. Mellékletek	94
M1. Irodalomjegyzék:	94
M2. MS táptalaj összetevői:	103
M3. Lignintartalom analitikai mérésének protokollja:	104
M4. RNS izolálás:	105
M5. Reverz transzkripció:	106
M6. A különböző genotípusok hipokotil növekedésére, valamint a gravitropizmusra adott válaszra vonatkozó mérési adatok	107
M7. A különböző genotípusok keményítőtartalmának mérési eredményei	108
M8. A különböző genotípusok lignintartalma és törési értékei	109
11. Köszönetnyilvánítás	110

Ábrák és táblázatok jegyzéke:

1. ábra: Magyarország zöld-, és fűszerpaprika termésátlagának (t/ha) évenkénti változása	14
2. ábra: 2023. év betakarított paprika termésmennyisége a tíz legtöbbet termelő európai országban.....	15
3. ábra: A hipokotil fototropizmusa.....	22
4. ábra: A gravitropizmus folyamatának áttekintése a gravitációs inger érzékelésétől a szervek reorientációjáig.....	24
5. ábra: A gyökerek gravitáció érzékelésének elsődleges mechanizmusa az amiloplasztok elrendeződése a gyökércsúcs kolumella sejtjeiben.....	25
6. ábra: Keményítőtartalmú feketére festett sztatolitok a szár endodermiszében elhelyezkedve <i>Arabidopsis thaliana</i> vad típusú növény (Ws) esetében.....	26
7. ábra: Sztatolitok a gyökércsúcsban Lugol-oldattal festve kontrollés különböző mértékben keményítőhiányos mutáns növények esetében.....	26
8. ábra: <i>Arabidopsis</i> csíranövény szerveinek elmozdulásra a gravitációs tengellyel párhuzamosan 90 percenként dokumentálva.....	27
9. ábra: Auxin eloszlás a gyökércsúcsban gravitáció hatására <i>Arabidopsis</i> növényben	29
10. ábra: A lignin három monolignol egysége	32
11. ábra: Az általános lignin bioszintetikus útvonal sematikus diagramja.....	35
12. ábra: Az <i>Arabidopsis</i> és kukorica IAA (indol-3-ecetsav) bioszintézisének feltételezett útvonalai.....	38
13. ábra: A gibberellin bioszintézis útvonala	41
14. ábra: <i>Pcx</i> növények üvegházi körülmények között, Szentés, Hungary	46
15. ábra: A <i>Pcx</i> mutánsok különböző szárnövekedési típusai.....	46
16. ábra: <i>tti</i> növények üvegházi körülmények között, Szentés, Magyarország.....	47
17. ábra: <i>frx</i> mutáns paprikák törési felszíne összehasonlítva a normál szárnövekedésű paprikák törésével	48
18. ábra: A <i>pfi</i> mutánsokra jellemző puffadt szárszerkezet, ami az internodiumoknál figyelhető meg.....	49
19. ábra: Módszer a növények gravitropizmusának vizsgálatára	51
20. ábra: A szár különböző részeinek meghatározása mintavételhez a lignintartalom és mechanikai tulajdonságok értékeléséhez	54
21. ábra: Mechanikai 3-pont törésteszt alkalmazása textúra analízáló géppel paprikaszár esetében.....	55
22. ábra: Két- és három hetes <i>Pcx 1</i> , <i>Pcx 2</i> , <i>tti</i> és 'Fehérözön' (kontroll) csíranövények <i>in vitro</i> körülmények között.....	60
23. ábra: A <i>Pcx 1</i> és <i>2</i> , <i>tti</i> és 'Fehérözön' (kontroll) növények hipokotiljainak dőlésszöge összevetve a növénymagassággal a két- és három hetes kultúrák esetében.	61
24. ábra: A <i>Pcx1</i> és <i>2</i> , <i>tti</i> és 'Fehérözön' (kontroll) növények hipokotiljainak dőlésszöge összevetve a növénymagassággal 24 órával a 90°-os döntés után három hetes csíranövények esetében	63
25. ábra: A foto- és gravitropizmusra adott válaszreakciói a <i>Pcx 1</i> , 'Fehérözön' (kontroll) és <i>tti</i> genotípusoknak.....	65

26. ábra: A foto- és gravitropizmusra adott válaszreakciói a <i>pfi</i> , 'Fehérözön' (kontroll) és <i>frx</i> genotípusoknak.....	66
27. ábra: Három hetes 'Fehérözön' (kontroll), <i>Pcx 1</i> és <i>Pcx 2</i> csíranövények gravitációra adott válaszának óránkénti dokumentációja	69
28. ábra: A <i>Pcx</i> , kontroll háromhetes csíranövények hipokotiljainak gravitációra adott válasza az idő függvényében 90°-os reorientáció után óránként dokumentálva <i>in vitro</i> körülmények között.....	70
29. ábra: Három hetes <i>in vitro</i> csíráztatott <i>Pcx1</i> paprika növények MS táptalajon hormonos kiegészítés nélkül, valamint 10 µM indol-3-ecetsav hozzáadásával.....	72
30. ábra: Három hetes <i>in vitro</i> csíráztatott <i>Pcx</i> paprika növények MS táptalajon hormonos kiegészítés nélkül, valamint 20 µM indol-3-ecetsav hozzáadásával.....	73
31. ábra: Három hetes <i>in vitro</i> csíráztatott 'Fehérözön' kontroll és <i>Pcx1</i> paprika növények gyökércsúcsi képe 8x nagyításon sztereomikroszkóppal dokumentálva	74
32. ábra: A <i>Pcx</i> , <i>tti</i> és 'Fehérözön' (kontroll) növények szárában mért keményítőtartalom mennyisége mg/g-ban meghatározva.....	75
33. ábra: <i>Pcx1</i> , <i>tti</i> és 'Fehérözön' (kontroll) növények hipokotiljainak metszetei floroglucinnal festve, sztereomikroszkóp alatt 16×-os nagyításon	76
34. ábra: A különböző genotípusok szárának három régiójából mintavételezett száruk töréséhez szükséges erő összehasonlítása N-ban meghatározva	78
35. ábra: A különböző genotípusok szárának három régiójában mért összes lignin mennyiségének összehasonlítása mg/g-ban (DW) meghatározva.....	78
36. ábra: A lignintartalom és a törési erő közötti korreláció a különböző genotípusok esetében regressziós egyenesen ábrázolva.....	81
37. ábra: A génexpresszióbeli relatív különbségek a 'Garai Fehér' fajtával (kontroll) összevetve, hőtérképen ábrázolva	83
38. ábra: A génexpresszióbeli relatív különbségek hőtérképen ábrázolva a <i>tti</i> genotípus különböző szárrégióiban a 'Garai Fehér' fajtával összevetve.....	85
1. táblázat: A génexpressziós vizsgálatokhoz alkalmazott primerek	57
2. táblázat: Egytényezős varianciaanalízis a kéthetes genotípusok hipokotil görbülete között	62
3. táblázat: Egytényezős varianciaanalízis a háromhetes genotípusok hipokotil görbülete között	62
4. táblázat: Egytényezős varianciaanalízis a háromhetes genotípusok hipokotil görbülete között 24 órával a 90°-os eldöntés után	64
5. táblázat: Egytényezős varianciaanalízis a <i>Pcx</i> genotípusok hipokotil görbülete között óránként dokumentálva a 90°-os eldöntés után.....	Hiba! A könyvjelző nem létezik.
8. táblázat: A lignintartalom és a törési erő F értékei.....	82

Rövidítések jegyzéke:

2,4-D = 2,4-diklórfenoxiecetsav

3ox = 3-oxidáz

4-CPA = 4-klór-fenoxi-ecetsav

4CL = p-kumarát-CoA ligáz

5PTASE13 = foszfatidilinozitol 4,5-biszfoszfát 5-foszfátáz 13

13ox = 13-oxidáz

20ox = 20-oxoglutarát-függő dioxigenáz

AAO1 = aldehyd-oxidáz 1

AM1 = indol-3-acetamid amidohidroláz

ASA1/ASB1 = antranilát-szintáz alegységek A1 és B1

AUX1 = auxin resistant 1 / auxin-influx transzporter 1

C3H = p-kumarát 3-hidroziláz

C4H = cinnamát 4-hidroziláz

CAD = cinnamil-alkohol-dehidrogenáz

CCR = cinnamoil-CoA-reduktáz

CCoAOMT = kafeoil-CoA O-metiltranszferáz

ChiVMV = chilli veinai mottle virus

COMT = kafeinsav O-metiltranszferáz

Cop1 = constitutively photomorphogenic 1

CPS = ent-kopalil-difoszfát-szintáz

CPP = ent-kopalil-difoszfát

CSE = kafeoil-shikimát-észteráz

CYP71A13 = citokróm P450 monooxygenáz 71A13

CYP71B15 = citokróm P450 monooxygenáz 71B15

CYP71P1 = citokróm P450 monooxygenáz 71P1

CYP79B2/3 = citokróm P450 monooxygenáz 79B2/3

CYP83B1 = citokróm P450 monooxygenáz 83B1

DAG = diacilglicerol

Dicamba = 3,6-diklór-2-metoxi-benzoésav

F5H = ferulát 5-hidroziláz

FPP = farnezil-difoszfát

frx = törékeny szárú - fragile plant

GA = gibberellin

GFP = zöld fluorescens fehérje
GID1 = gibberellin insensitive dwarf 1
G-lignin = gvajakil monolignol egység
GGDP = geranilgeranil-difoszfát
H-lignin = p-hidroxibenzil monolignol egység
HCALDH = hidroxicinamaldehyd-dehidrogenáz
HCT = hidroxicinamoil-CoA:shikimát hidroxicinamoil-transzferáz
Hy5 = elongated hypocotyl 5
IAA = indol-3-ecetsav
IAM = indol-3-acetamid
IBA = indol-3-vaajsav
IAOX = indol-3-acetaldoxim
IGS = indol-glicerín-foszfát-szintáz
INS = indol-szintáz
InsP₃ = inozitol-1,4,5-triszfoszfát
IPA = indol-3-piroszőlősav
KA = ent-kaurén
KAO = ent-kaurénsav-oxidáz
KO = ent-kaurén-oxidáz
KS = ent-kaurén-szintáz
NAA = 1-naftilecetsav
NIT1/NIT2 = nitriláz 1/nitriláz 2
Nph3 = non-phototropic hypocotyl 3
P450-1 = citokróm P450 monooxygenáz 1
P450-3 = citokróm P450 monooxygenáz 3
PAL = fenilalanin ammónia-liáz
PAT1 = foszforibozil-antranilát transzferáz
Pcx = elfekvő növény - procumbent plant
PepYLCV = Pepper yellow leaf curl virus
PHOT1 = phototropin 1
PHOT2 = phototropin 2
PIF = fitokróm interakciós faktor
PIN- = pin-formed transzportfehérjék
PIP2 = foszfatidilinozitol 4,5-biszfoszfát
PIP5K2 = foszfatidilinozitol-4-foszfát 5-kináz 2

pfi = pufi szárú - puffy-structured stem
Pfr = phytochrome far-red absorbing form
S-lignin = sziringil monolignol egység
SUR1 = szulfotranszferáz 1
TAA/TAR/TIR = triptofán-aminotranszferáz enzimek
TAM = triptamin
TDC = triptofán-dekarboxiláz
tti = csavarodó ízközű - tortous internodii
TSA1 = triptofán-szintáz alfa alegység
TSB1/2 = triptofán-szintáz béta alegységek
UGT74B1 = UDP-glikozil-transzferáz 74B1
UV = ultraibolya
Ws = vad típusú növény
YUCCA/YUC = flavin-monooxygenáz

1. Bevezetés

Napjainkban a zöldségtermesztés ágazat egy dinamikusan fejlődő és folyamatosan változó szektor, ahol mindig szükség van innovációra, új termesztési módszerekre és növényanyagokra, hogy képesek legyünk kielégíteni a piaci igényeket azáltal, hogy megfelelő mennyiségű zöldséget termesztünk országosan, és világszinten. A növénynemesítés iránti igény évszázadok óta folyamatosan fennáll, mivel elengedhetetlen a termés mennyiségének és minőségének növelése szempontjából. A nemesítési folyamatokban fontos szerepet játszanak a természetben véletlenszerűen létrejövő mutáns növények, amelyek sokszor hordozhatnak olyan tulajdonságot, amely agronómiai szempontból kiemelkedővé teszi őket, és a termesztésbe vonás után hasznosnak bizonyulhatnak.

A magyar nemesítésű étkezési és fűszerpaprika nem csak a hagyományos konyha elengedhetetlen része, de népelelmezési cikknek számít Magyarországon és Közép-Európában is. Az étkezési paprika fogyasztása hazánkban kimagasló, termesztése mind szabadföldön, mind üvegházakban történik. Előállításának legnagyobb kihívása jelenleg a magas termelési költség, ami indokolja az új termesztési módok kifejlesztését.

A növények szárának normál növekedése, fejlődése és szerkezete is befolyásolja a termés mennyiségét. A paprika alapvetően erős szerkezetű, felfelé növekvő szárát fejleszt magának, ám valamilyen mutáció bekövetkezésével ez változhat. Az elfekvő, bókoló, elterülő fenotípusokat gyakran felhasználják a dísznövények nemesítése során, de ha paprikanemesítésben gondolkozunk, ezek a növekedési típusok új lehetőséget nyithatnak meg az üvegházi termesztésben. A mutánsok alkalmazhatóvá válhatnak vertikális, vagy 'high-wire' támrendszerekre szárvezetéssel felfuttatott termesztésre, amelyeket már sikeresen alkalmaztak paradicsom, tojásgyümölcs, illetve uborka termesztésben.

Hazánkban a paprika termesztése és nemesítésre hosszú évszázados múlttal rendelkezik, nemesítők közül mindenképpen kiemelendő Csilléry Gábor, valamint az ő mutánsgyűjteménye. Bár szinte minden tulajdonság aspektusában nézve találhatóak benne érdekességek, termesztési szempontból hasznosnak mutatkoznak az abnormális szárnövekedésű mutánsok, a *Pcx* (elfekvő növény - procumbent plant), a *tii* (csavarodó ízközű - tortous internodii), az *frx* (törékeny szárú - fragile plant) és a *pfí* (pufi szárú - puffy-structured stem). Ezen mutáns tulajdonságok valószínűleg valamilyen lignifikációs folyamatban bekövetkezett hibához, vagy abnormális hormonszint miatt megváltozott növekedési és fejlődési anomáliához, esetlegesen a környezeti tényezőkre (fény, illetve gravitáció) mutatott válaszreakciók mechanizmusának hiányához vezethetők vissza. A lehetséges magyarázatok laboratóriumi vizsgálata, valamint a mutáns fenotípusok genetikai hátterének feltérképezése lehetőséget nyithat arra, hogy ezek a tulajdonságok a nemesítés során

nyomonkövethetőek legyenek, illetve precíziós biotechnológiai módszerekkel célzottan módosítani is lehessen őket.

2. Célkitűzések

A vizsgálat célja a paprika szárnövekedési mutánsainak élettani, biomechanikai és molekuláris hátterének feltárása, különös tekintettel a gravitropikus válaszokra, a hormonális szabályozásra és a lignifikációra. A kutatás fő célkitűzései:

- A mutánsok fény- és gravitropikus válaszainak, valamint gravitációs alkalmazkodási dinamikájának meghatározása.
- A keményítőtartalom szerepének vizsgálata a gravitropikus érzékelésben.
- A lignintartalom mennyiségi és minőségi elemzése, valamint a lignin bioszintézis génexpressziós hátterének vizsgálata
- A gibberellin-oxidáz gének expressziójának vizsgálata a megváltozott növekedési fenotípusok összefüggésében.
- A szár mechanikai tulajdonságainak összehasonlító értékelése.
- Az auxinkezelésre adott élettani válaszok elemzése.

3. Irodalmi áttekintés

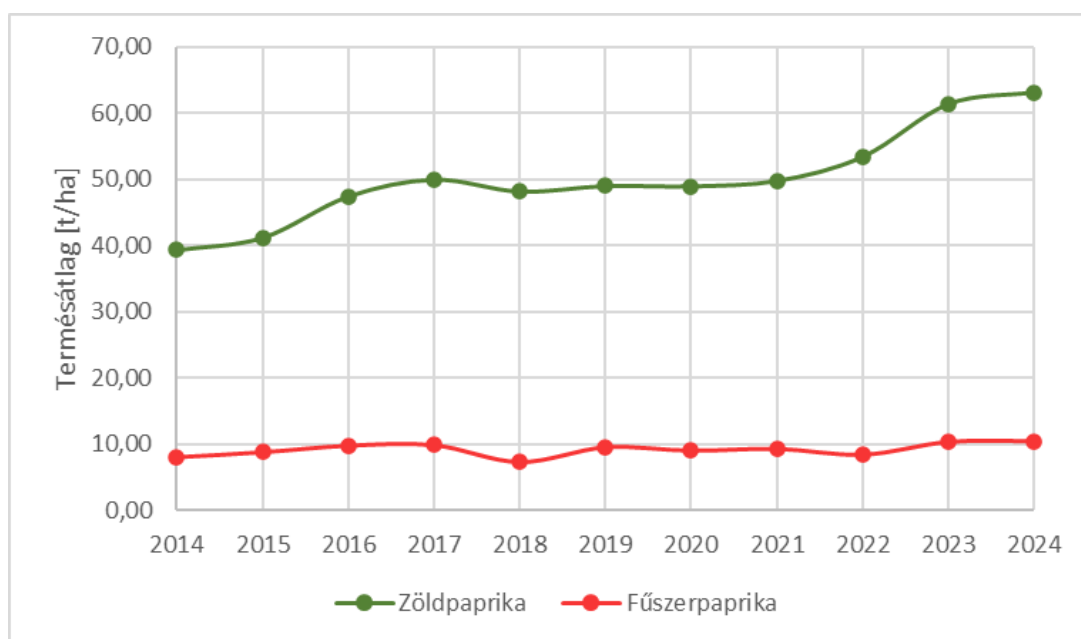
3.1. A paprika (*Capsicum annuum*) rendszertani, morfológiai jellemzői

A paprika egy világszerte termesztett, kétszikű növény, amely a Solanales rend *Solanaceae* családjába, a *Capsicum* nemzetségbe tartozik. Eredete Közép-, és Dél-Amerikához köthető a jelenlegi kutatási eredmények alapján (Zhigila *et al.*, 2014). A *Capsicum* nemzetségbe ugyan 32 faj tartozik, ennek ellenére csak öt, termesztésbe vont paprika van termesztésben, név szerint a *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense*, *Capsicum baccatum* és *Capsicum pubescens* (Hernández-Pérez *et al.*, 2020).

A *Capsicum annuum* növények jellemzője a diarch gyökérzet, mely orsó alakú, két szemközti sorban egyenletesen növvő mellégyökerekkel rendelkező, bojtra emlékeztető formát alkot. Szabadföldön a paprika gyökérzete akár fél méter sugarú területen is kiterjedhet, és mintegy 60 cm mélységig hatolhat le a talajba. A kifejlett növény alsó részén több, csoportosan elhelyezkedő hajtás található, míg a felső részen az elágazás típusa a növekedési habitustól függ. A determinált növekedésű fajtákra jellemző a bogas elágazás, amelyben a főhajtás virágban végződik, míg a folytonnövő típusok esetében a főhajtás növekedése tovább folytatódik, és a virágzatok az oldalhajtásokon alakulnak ki. Bár a paprika lágyszárú növény, a fejlődés következtében szára felfelé fásulhat. A levelek mérete és formája fajtánként eltérő lehet, általánosságban elmondható, hogy tojás- vagy lándzsa alakúak, simák, ép szélűek és rövid levélnyelűek. A levelek elhelyezkedése lehet szórt vagy átellenes. A paprika virágai egylakiak, öntermékenyülők, egymás után nőnek ágvillaiban, lehetnek fehér, sárga vagy akár lila színűek is. Az étkezési paprika vastag húsú bogyótermést fejleszt, míg a fűszer- és chili típusokra vékonyabb termésfalú bogyó jellemző. A termések formája is változatos, fajtára jellemző tulajdonság (Cselőtei *et al.*, 1993) lehet szarv alakú, keskeny háromszög, háromszög, trapéz, téglalap, négyzet, lapított, szív, és kerek is. A termés színe általában lehet zöld, piros, sárga, de vannak egyéb barna és fekete színváltozatok is (Arimboor *et al.*, 2015). Napjainkban a piacon olyan paprikák is helyet kaptak, amelyek termése lila színű (Meng *et al.*, 2022). A fogyasztásra szánt paprika termések értékét a színen kívül a forma, a termés méret, a termés húsossága, illetve azok beltartalmi mutatói együttesen határozzák meg (Paran és Fallik, 2011). Az élelmezési felhasználás mellett a paprika egyes fajtáit dísnövényként is termesztik, ahol a termés színe, formája és kompakt növekedési habitusa a legfontosabb értékmérő tulajdonság.

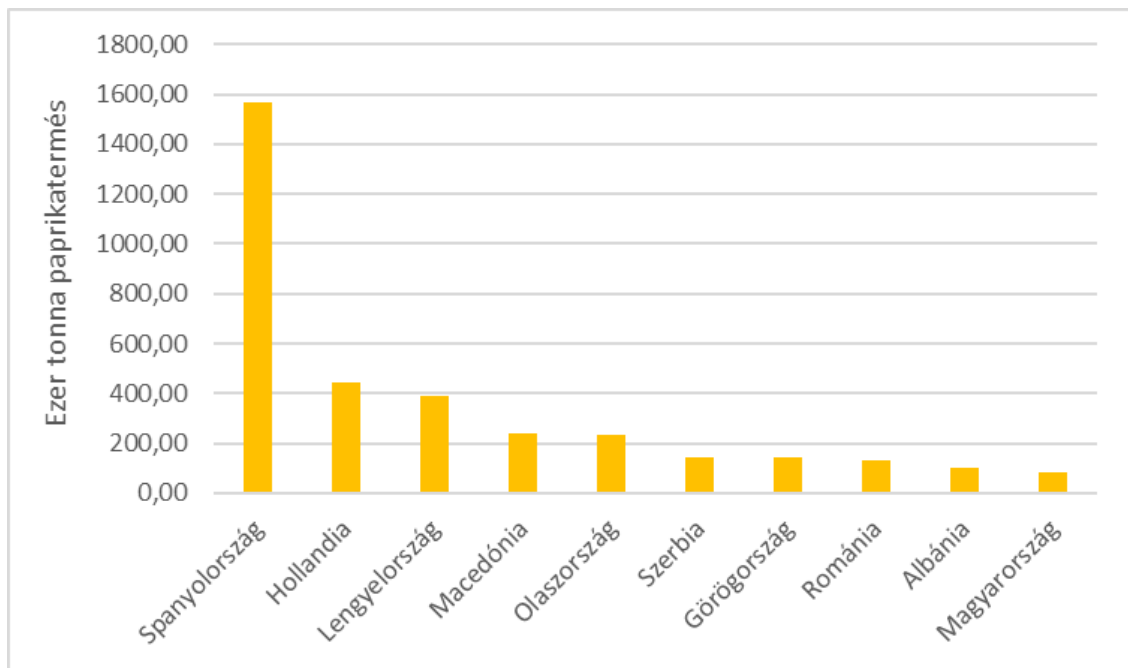
3.2. A paprika gazdasági jelentősége Magyarországon

Hazánkban a paprika kiemelkedő gazdasági jelentőséggel bír, mind a hazai zöldségfogyasztásban, mind export terén. Az elmúlt évtizedben a zöldpaprika termésátlag folyamatos növekedést mutatott, majd az elmúlt években elérte a több, mint 60 tonna/hektár termésmennyiséget. Fűszerpaprika esetében is növekedést tapasztaltunk, bár nem olyan nagy mértékben, mint a zöldpaprika esetében. Az elmúlt pár évben Magyarország fűszerpaprika termésátlaga (http1) több, mint 10 tonna/hektár volt (1. ábra).



1. ábra: Magyarország zöld-, és fűszerpaprika termésátlagának (t/ha) évenkénti változása (KSH, 2014-2024)

Magyarország paprikatermelése kiemelkedő európai szinten is, az ország éghajlati viszonyai és talajtípusai ideálisak a növény optimális termesztéséhez. Európai viszonylatban a hazai termesztés nem rendelkezik olyan nagy termésmennyiséggel, mint a listavezető Spanyolország, Hollandia vagy Lengyelország (2. ábra), ennek ellenére a rangsorban a tizedik helyen szerepelt (http2). Európában az étkezési paprika fogyasztása főleg a Balkán országokra jellemző (Csilléry, 2006).



2. ábra: 2023. év betakarított paprika termésmennyisége a tíz legtöbbet termelő európai országban (http2)

A magyar paprikatermesztésre jellemző mind a nagyüzemi kereskedelmi gazdálkodás és kisüzemi családi gazdálkodás is. A nagyobb gazdaságok olyan modern technológiákat alkalmaznak, mint a csepegtető öntözés, műanyag talajtakarás, korszerű növényvédelmi munkák, a hozam növelése és a hatékonyság javítása érdekében, míg a kisebb gazdaságok jobban támaszkodnak a hagyományos zöldségtermesztési módszerekre. Az ipari paprikatermesztésben néhány nagyvállalat dominál, ezek az Univer Product Zrt. és a Fűszerpaprika Zrt., amelyek együttesen teszik ki a termesztés mintegy 70%-át.

A paprika fogyasztásának évszázadokra visszanyúló tradíciója van hazánkban, nem is csak a hagyományos értelemben vett konyhaművészetben, de nemzeti jelképként is. A szárított, őrölt fűszerpaprika tradicionális ételeink elengedhetetlen összetevője, ám nem csak ennek a típusnak a fogyasztása kiemelkedően magas. Statisztikai adatok alapján hazánkban 2010. és 2020. között az egy főre jutó zöldpaprikafogyasztás 4,3 és 5,5 kg/fő között alakult (http3). A paprika tehát nemcsak kulináris, hanem gazdasági szempontból is meghatározó növény Magyarországon. Ennek következtében kiemelt jelentőségű a hazai nemesítésű étkezési paprikafajták fejlesztése és az új termesztési technológiák kidolgozása, hogy a növekvő igényeket magasabb termésmennyiséggel és jobb minőséggel lehessen kielégíteni (Terbe, 2004).

3.3. A paprika nemesítése Magyarországon

A paprika nemesítése során sokféle cél lehet, leggyakrabban olyan tulajdonságokat részesítenek előnyben, mint biotikus és abiotikus stresszfactorokkal szembeni rezisztencia, a pozitív beltartalmi értékek növelése, valamint a termések külső megjelenésének változtatása, hogy az vonzó legyen a fogyasztók számára (Devi *et al.*, 2021). Hazánkban a XVIII. században bolgárkertészek indították el a paprika termesztését, akik korukhoz képest igen fejlett zöldségtermesztési rendszert dolgoztak ki. A házikertekben is megkezdték a paprika termesztését, valamint jelentős nemesítési munkát is folytattak. Az általuk kidolgozott termesztéstechnológiáknak köszönhetően Magyarországra kerültek azok a paprikatípusok (édes vastag húsú, vékonyhúsú hegyes és csipős, valamint paradicsom alakú), amelyek fenntartására nagy figyelmet fordítottak, ezek voltak a későbbi magyar tájfajták elődei (Szabó, 2018).

Magyarországon a paprikanemesítők legfőképp a konvencionális nemesítési módszereket részesítik előnyben új fajták létrehozására. Paprika esetén a leggyakrabban alkalmazott módszerek közé sorolható a tömegszelekció, tiszta vonal szelekció, pedigré módszer, egymag módszer, visszakeresztezéses módszer, heterózis nemesítés, illetve ritkán az indukált mutagenézis is. Alapvetően a fajtaelőállítás egy konvencionális nemesítési folyamat során hosszú éveket vehet igénybe, ám ez a folyamat lerövidíthető biotechnológiai módszerek alkalmazásával (pl. mikroszaporítás, haploid és double-haploid növény előállítás, marker alapú szelekció, valamint *in vitro* mutagenézis) (Ahmar *et al.*, 2020).

A természetesen és indukáltan létrejött mutánsok értékes alapanyagai lehetnek a nemesítésnek, felhasználásuk pedig hozzájárulhat új fajták és termesztési stratégiák kidolgozásához (Shalaby és El-Banna, 2013).

3.4. Mutációk szerepe és gazdasági hasznosulásuk

3.4.1. Mutánsok szerepe a növények nemesítésében

A mutáns növények olyan egyedek, amelyekben spontán vagy indukált mutáció következtében öröklődő genetikai változás jött létre extranukleáris-, gén-, kromoszóma- vagy genomszinten (Yadav *et al.*, 2021). Ezek a módosulások olyan morfológiai, fiziológiai vagy biokémiai jellegű változásokhoz vezethetnek, amelyek eltérnek a szülői vonal, illetve az adott faj standard jellemzőitől (Carlson, 2011). Bár a legtöbb mutáció növénytermesztési, kertészeti szempontból előnytelen, bizonyos újonnan megjelenő tulajdonságok előnyösek is lehetnek agronómiai szempontból (Breseghello és Coelho, 2013). Elsősorban olyan tulajdonságokat érdemes vizsgálni, amelyek a termesztési folyamatokat segítik elő, megkönnyítik a növényápolási

munkákat, a betakarítást és a tárolást. A szárok, az ágak, a levelek növekedése, azok egymástól való elhelyezkedése mind befolyásolja a termés mennyiségét, minőségét is, így az ezeket érintő mutációk is a termesztők segítségére lehetnek abban, hogy alternatív termesztési módokra alkalmas növényanyagot állítsanak elő (Bado *et al.*, 2015, Waite és Dardick, 2021). Természetes mutációból fakadó egyedeket érdemes először kiválogatni az előnyösnek mutatkozó tulajdonságaik alapján, majd őket konvencionális nemesítésbe vonni. A megfelelő protokollt követve többszöri keresztezéssel, szelekcióval nemesítési alapanyagként szolgáló vonalakat lehet létrehozni. Ezt a folyamatot jelentősen megkönnyíti, ha a tulajdonságok megfelelő molekuláris genetikai módszerekkel nyomon követhetőek (Pathirana, 2011).

A természetben előforduló mutációk spontán és véletlenszerű események, azonban a növénynemesítésben a mesterségesen indukált mutációk alkalmazása bevett gyakorlatnak számít (Sigurbjörnsson, 1983). A folyamat során valamilyen sugárzásnak (UV – ultraibolya, gamma-sugárzás), vagy kémiai mutagéneknek (EMS – etil-metán-szulfonát) tesznek ki növényeket. Bár a módszer sokszor letális a növényekre nézve, ennek ellenére viszonylag nagy hatékonysági rátával dolgozik (Mba *et al.*, 2010). Az így létrejött változatok ugyanúgy mutánsok, mint a spontán mutációval keletkezettek, csak az eredetük ismert és szándékos beavatkozás eredménye. Azok az egyedek, amelyek valamilyen új fenotípusos tulajdonsággal rendelkeznek, sokszor alkalmasak arra, hogy tulajdonságaikat továbbörökítsék, így kijelenthető, hogy viszonylag rövid idő alatt egy teljesen új fenotípus jelenhet meg a tulajdonságok öröklésmenetének függvényében (Kumar *et al.*, 2001). Az indukált mutagenézissel létrehozott mutáns egyedek első generációját kontrollált körülmények között kell tartani, megfigyelni, majd a kívánt egyedeket önbeporzással kell megtermékenyíteni, hogy a mutáns allél homozigóta állapotba kerüljön, így a mutáció stabilan öröklődjön több nemzedéken keresztül. A cél az, hogy a növények ezekre a tulajdonságokra nézve homozigóták legyenek. Ha a kívánt tulajdonság recesszíven öröklődik, akkor a folyamat viszonylag könnyebb a szelekciót illetően, mivel csak a homozigóta egyedek mutatják a kívánt fenotípust. Domináns tulajdonság esetében a szelekció hosszabb folyamat, több nemzedéken keresztül tarthat, mivel a domináns allél heterozigóta egyedek esetében is előidézi a mutáns fenotípust, tesztkeresztezésekre, vagy molekuláris vizsgálatokra is szükség lehet. A mutációs nemesítésben a kezelést nagy egyedszámú populáción szükséges elvégezni, mivel a legtöbb mutáció kedvezőtlen hatású, így a kívánt fenotípusú egyedek aránya alacsony. A kezelés után ezért elengedhetetlen a nagyszámú növény gondos szelekciója a hasznos mutánsok azonosításához (Jain, 2010).

Mutációs nemesítés során érdemes kiemelni a makro-, és mikromutánsokat is. Ezek klasszikus növénynemesítési fogalmak, amelyeket főként a fenotípusos megjelenés alapján történő csoportosításra használnak. A makromutánsok általában fenotípusukban könnyen megfigyelhető,

drasztikus hatású változásokat mutatnak morfológiai vagy fiziológiai jellemzőkben. Ezek a mutációk gyakran a kromoszóma anyagának sérüléséből erednek, és csökkent életképességet, valamint fokozott sterilitást okozhatnak (pleiotróp). Többnyire kvalitatív jellegeket érintenek, így egyetlen növényen is biztonsággal felismerhetők. A makromutánsok közvetlenül ritkán hasznosíthatók a nemesítésben, inkább keresztezési partnerekként játszanak szerepet. A mikromutánsok ezzel szemben kis hatású, finom változásokat okoznak, amelyek csak alapos megfigyeléssel, méréssel és az adatok biometria kiértékelésével detektálhatók. Ezek főként kvantitatív jellegeket érintenek, és több növény együttes vizsgálatával azonosíthatók. A mikromutációk jellemzően olyan finomabb genetikai változásokat hoznak létre, amelyek specifikus anyagcsere-utak, jelátviteli folyamatok vagy egyes enzimek működését módosítják anélkül, hogy a növény genomjának egészét károsítanák. Például karotenoid-bioszintézis génjeinek variánsai a provitamin-A tartalmat növelhetik, auxin-jelút komponensek módosulása gravitropikus viselkedést befolyásolhat, míg flavonoid-út génmutációk az antioxidáns-kapacitást és szint befolyásolják (Sao *et al.*, 2021). A korábbi irodalmi adatok alapján a vizsgált paprikamutánsok várhatóan a tropizmus, a lignifikáció vagy a fitohormonális szabályozás valamelyik folyamatában mutathatnak eltérést, így célszerű e témaköröket röviden összekapcsolni a mutációk ismertetésével.

3.4.2. Gazdasági szempontból fontos *Solanaceae* mutánsok

Analógiaként megemlíthető, hogy a *Solanaceae* család tagjainál jelentős eredményeket értek el mutagenézissel olyan tulajdonságok esetében, mint a terméshozam, a termés minőségi mutatói, betegségekkel szembeni rezisztencia, valamint hímsterilitás (Siddique *et al.*, 2020). Padlízán esetében sikeresen hoztak létre olyan mutáns egyedeket, amelyekben megnövekedett az olyan fenolos vegyületek mennyisége, mint az antociánok és a klorogénsav, amelyek pozitív élettani hatása már bizonyított (Piron *et al.*, 2010), illetve paradicsom esetében sikeresen indukáltak potyvírus rezisztenciát is (Xi-Ou *et al.*, 2017).

Paprika esetében több mutáns populációt hoztak már létre. Bosland (2002) EMS kezeléssel hozott létre olyan paprika mutánst, amely kókadó szárral rendelkezett. Bár a tulajdonság agronómiaiilag nem jelentős, ennek ellenére hasznos lehet a szárban lévő turgornyomás, a szárazságstressz, illetve a sztómák működésének vizsgálatában. Ez a mutáns tulajdonság monogénesen recesszíven öröklődött.

Agronómiai szempontból a termés színére ható mutációk mindenképpen kiemelendők, a korábban említett EMS kezelés hatására narancsszínű termésű mutánsok is létrejöttek, amelyekben a színért felelős, nagy mennyiségben felhalmozódott karotinoidok egészségvédelemben nyújtott szerepe is igazolt (Hwang *et al.*, 2014). Tomlekova és munkatársai (2021) olyan paprika mutáns

vonulat vizsgáltak, amely megnövekedett β -karotin szinttel rendelkezett. A vizsgálatok során kimutatták, hogy olyan magas a termések β -karotin szintje, hogy két-három paprika termés elfogyasztása fedezi az ajánlott napi mennyiséget. Bár ezekben a mutánsokban a β -karotin szint nagyon magas lett, ezzel arányosan a xantofill vegyületek mennyisége csökkent.

Cheng és munkatársai (2019) indukált mutagenézissel képesek voltak a paprikák levélszínét változtatni. Létrehoztak halványzöld, sötétzöld és lila levelű egyedeket is. A halvány levélszínű egyedek a klorofill hiányában a kontrollhoz képest gyengébben növekedtek, gyökereik aktivitása is gyengébbnek mutatkozott, valamint kisebb mennyiségben állítottak elő cukrokat és fehérjéket, ami kondícióvesztéssel járt. A lila levélszínű egyedekben antocianinok halmozódtak fel, ezek a korábbival ellentétben magasabb gyökéraktivitással, cukor-, és fehérjefelhalmozódással rendelkeztek, ám a fotoszintetikus aktivitásuk alacsonyabb volt a kontrollhoz képest.

Manzila és Priyatno (2020) EMS kezeléssel sikeresen hoztak létre PepYLCV (pepper yellow leaf curl virus) rezisztens vonalakat, Hwang és munkatársai pedig olyan paprika mutánssal dolgoztak, ami ChiVMV (chilli vein mottle virus) rezisztenciával rendelkezett.

3.5. Növényi válaszreakciók a különböző abiotikus ingerekre

Általánosságban véve a növények rendelkeznek azzal a tulajdonsággal, hogy érzékeljék a különböző őket ért ingereket, mint például az érintés, a fény, a hőmérséklet, a nedvesség és a gravitáció (Lew *et al.*, 2020). A környezethez való alkalmazkodási képességük alapvető fontosságú a biotikus és abiotikus tényezők okozta káros hatások csökkentésében is. Az abiotikus ingerek közül azonban nem mind befolyásolja közvetlenül a növényi szervek növekedését vagy annak irányát. Míg a szárazság, a hőstressz vagy a sókoncentráció inkább a sejtek anyagcseréjére és vízháztartására hat, addig bizonyos ingerek, mint a fény és a gravitáció a sejtek osztódásának, megnyúlásának irányát és mértékét szabályozzák, így közvetlenül alakítják a növény morfológiáját. A jelenséget, amikor egy külső inger irányítottan határozza meg a növény hajtásának elmozdulását vagy növekedését, tropizmusnak nevezzük. Ehhez a növények belső szenzoros rendszerek széles skálájával rendelkeznek (Gilroy, 2008). A tropizmus során megfigyelhető növekedési irányváltozás a sejtek aszimmetrikus osztódásából és megnyúlásából adódik, amelyben kulcsszerepet játszik az auxin növényi hormon (Muday, 2001).

Egyedfejlődési és morfológiai szempontból különösen jelentős, hogy a növények hogyan reagálnak a fényre (fototropizmus) és a gravitációs ingerekre (gravitropizmus), mivel ezek határozzák meg a hajtások és gyökerek térbeli tájolását, és ezzel a növény teljes szervezeti felépítését is.

3.5.1. Fototropizmus

A növények fényérzékelése, a fototropizmus, három különböző lépésből áll: a fény érzékelése, a jel átvitele, illetve szervek irányított növekedési reakciója a transzdukált jel szerint (Holland *et al.*, 2009). Korábbi kutatási eredmények bizonyították, hogy az optimális növekedés érdekében egy kifinomult rendszer működik a fényérzékelés folyamatában, amelyben többféle fotoreceptor család is megtalálható, ezek a fitokrómok, amelyek főként a red/far.red (vörös/távoli vörös, ~660 nm/~730 nm) fényt abszorbeálják, de a spektrum kék régiójában (~400–500 nm) is mutatnak kismértékű elnyelést (Wang *et al.*, 2001), a kriptokrómok, amelyek a kék/UV (ultraibolya)-A fény érzékelésében vesznek részt (Sancar, 2003) és fototropinok, amelyek szintén a kék/UV-A fényelnyelő képességgel rendelkeznek (Briggs és Christie, 2002).

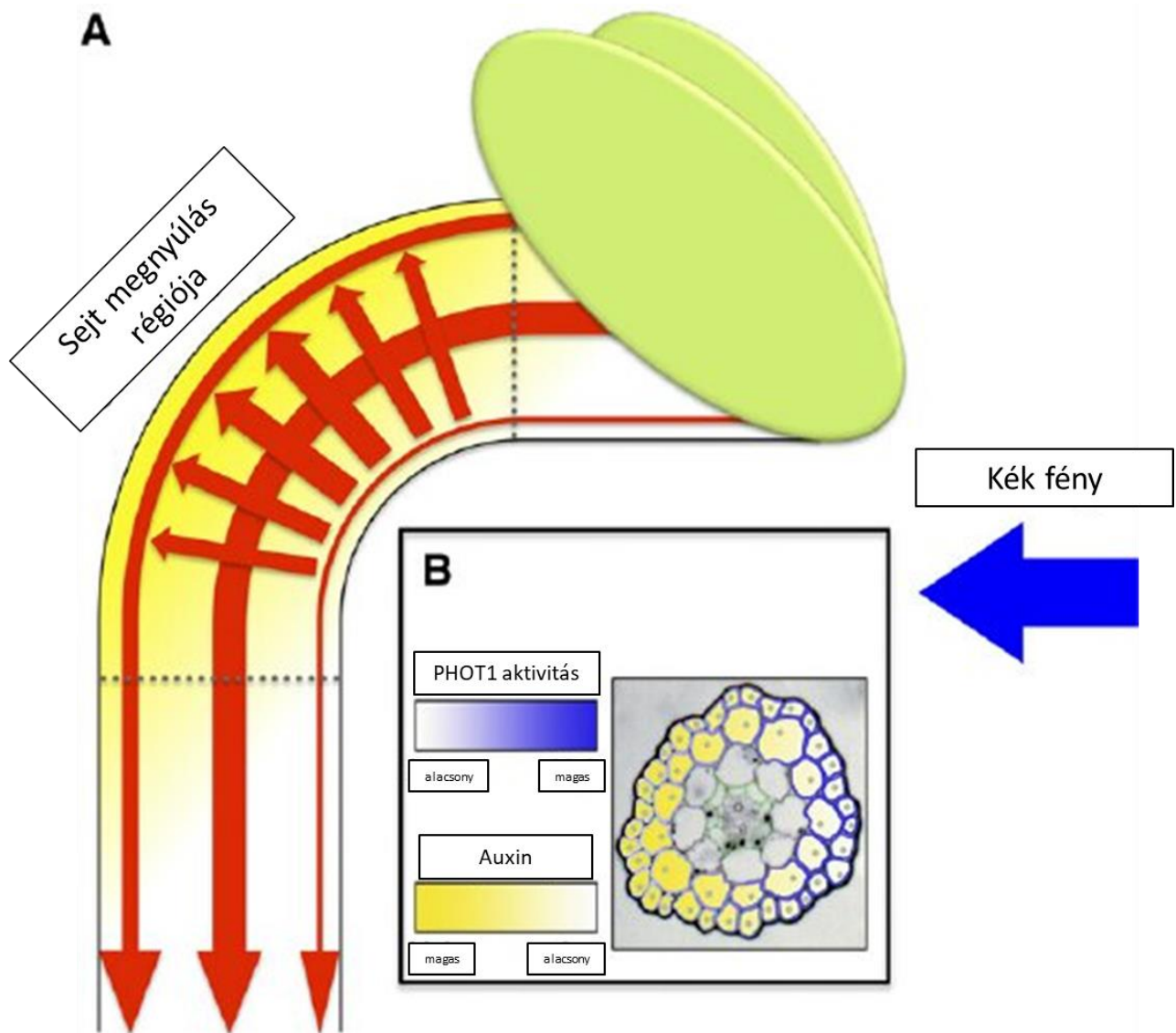
Mindhárom fotoreceptor család specifikus válaszokat válthat ki a fényt érzékelve. Azonban a legtöbb fejlődési folyamat során több fotoreceptor is részt vesz a fény érzékelésében, ami a különböző fényindukált útvonalak közötti kölcsönhatások bonyolult hálózatát hozza létre. A fotoreceptorokon keresztül szabályozott mechanizmusok bonyolultságát az is mutatja, hogy ugyanazon fotoreceptor család különböző tagjai alapvetően ugyanazt a jelet generálják, mégis más fiziológiai válaszokat szabályoznak. Emellett különböző receptorcsaládok, amelyek alapvetően másfajta fényminőségek érzékeléséért felelősek, mind részt vehetnek ugyanabban a fényválaszban (Quail, 2002).

A fitokrómokra jellemző, hogy amikor elnyelik a vörös fényt, konformációs változásokon mennek keresztül. Ez a változás aktiválja a fitokróm fehérjét, lehetővé téve, hogy kölcsönhatásba lépjen sejten belüli partnerekkel. A fitokróm fehérjék aktív, Pfr (phytochrome far-red absorbing form) formává alakulnak, amely a citoplazmából a sejtmagba transzlokálódik, ahol kölcsönhatásba lép a fitokróm interakciós faktorokkal (PIF), transzkripciós faktorokkal. Az aktív Pfr foszforilálja a PIF-eket, megjelölve őket az ubikvitinációra és a 26S proteasóma általi lebontásra. A PIF-ek lebomlása felszabadítja a fényre reagáló gének represszióját, ami génexpressziós és fiziológiai változásokat eredményez.

A kriptokrómok a fény hatására konformációs változásokon mennek keresztül, amely lehetővé teszi számukra, hogy kölcsönhatásba lépjenek más fehérjékkel. Aktivált kriptokrómok például a Cop1 (constitutively photomorphogenic 1) fehérjével lépnek kölcsönhatásba, amely a fotomorfogenezis egyik represszora. A kriptokrómok általi inaktiváció következtében a Cop1 már nem célozza lebontásra a Hy5 (ELONGATED HYPOCOTYL 5) transzkripciós faktort, így a Hy5 stabilizálódik. A stabil Hy5 aktiválja a fényre reagáló gének kifejeződését, ami a fényexpozícióval összefüggő fejlődési változásokhoz vezet.

A fototropinok kék fény hatására konformációs változáson mennek keresztül, ami feltárja a kináz doméneket a fehérjében. A domének saját magukra helyeznek egy foszfátcsoportot bizonyos aminosavaikon (szerin és treonin), ami aktiválja a fototropin molekulát. Az aktivált fototropinok kölcsönhatásba lépnek különböző downstream jelátviteli fehérjékkel, például az Nph3-mal (non-phototropic hypocotyl 3), amely fényviszonyoktól függően foszforilálódik vagy defoszforilálódik. Emellett a fototropinok szabályozzák a PIN-transzportfehérjék (PIN-FORMED) eloszlását, ami befolyásolja az auxin térbeli eloszlását a növényben, és ezáltal meghatározza a hajtás növekedésének irányát a fényforrás felé (Hohm *et al.*, 2013).

Az auxin elsődlegesen az apikális merisztéma szövetekben szintetizálódik, és irányított auxin transzport által oszlik el a hajtáson belül (Zhang *et al.*, 2017). Korábbi kutatási eredmények bizonyították, hogy a fény irányába meghajlott növények megvilágított oldalán az auxin szint számottevően alacsonyabb, mint a nem megvilágított oldalán (Esmon *et al.*, 2006). Aszimmetrikus eloszlása megindítja a sejtek megnyúlását a hajtás egyik oldalán, ezáltal a hajtás elkezd hajlani, elmozdul a fény irányába (Hohm *et al.*, 2013, Pietruszka és Lewicka, 2007) (3. ábra).



3. ábra: A hipokotil fototropizmusa, A, Az auxin a hajtáscsúcsban szintetizálódik, majd irányított transzportfolyamatok révén a gyökerek felé szállítódik, elsősorban a központi edénnyalábokon, kisebb mértékben a külső sejtrétegeken keresztül (vörös nyilak). Kék fény hatására különbség alakul ki a külső sejtrétegek felé irányuló auxin-áramban, az auxin a világított oldalról az árnyékos oldal felé áramlik (sárga szín). Ennek következtében az árnyékos oldalon az auxin magasabb koncentrációja fokozott sejtnyúlást és differenciált növekedést eredményez, ami a növény fény felé történő dőlését okozza. B, Az *Arabidopsis* csiranövény fény irányába hajló száráról készült keresztmetszet. PHOT1 (PHOTOTROPIN 1) aktivitás (fehértől kékig) és az auxin mennyisége (fehértől sárgáig). (Liscum *et al.*, 2014 alapján).

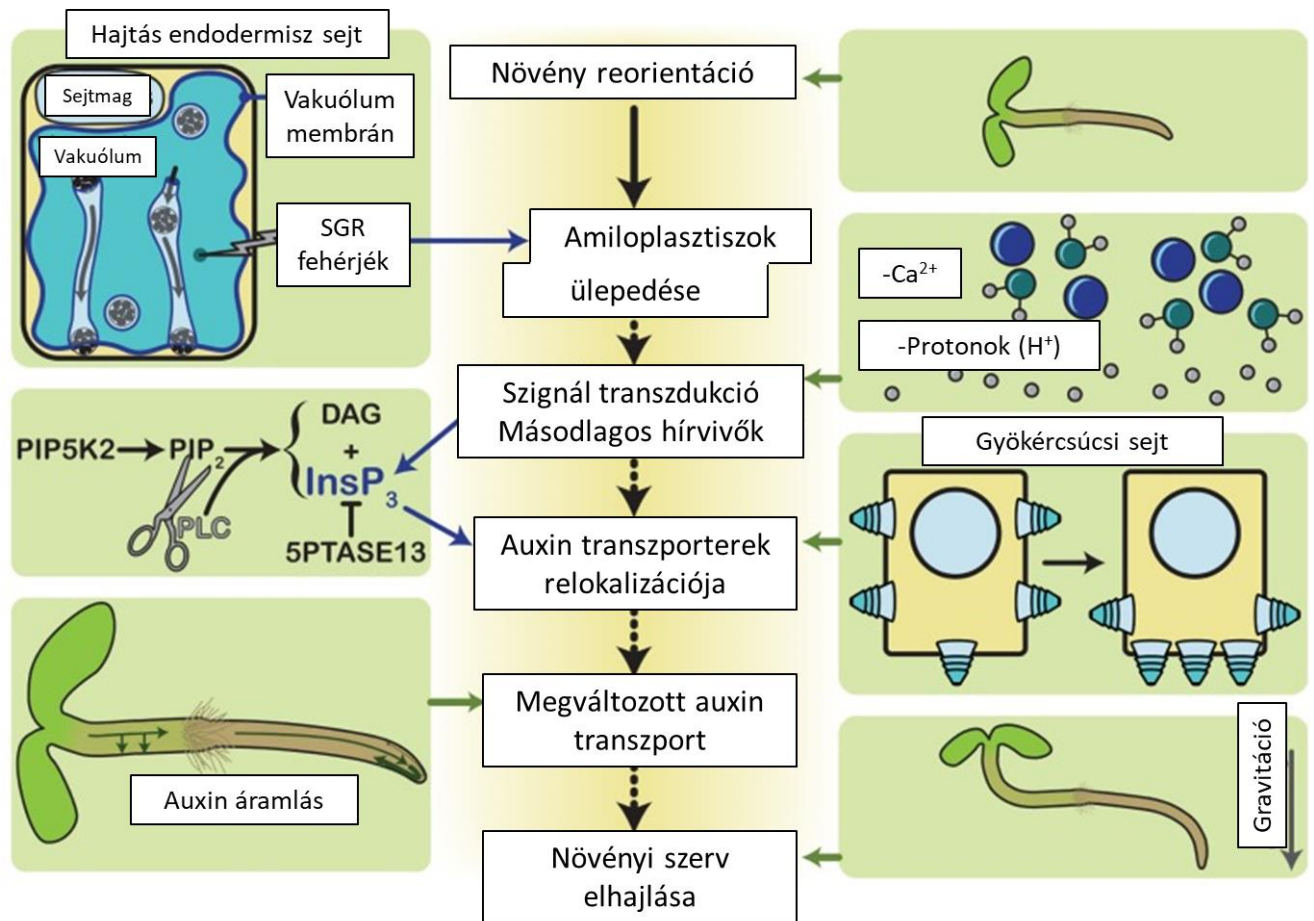
A korábban leírt jelenségek alapján kiemelkedően fontos az auxin szerepét vizsgálni a fototropizmus jelenségével kapcsolatban, mind genetikai, mind növényélettani szinten, valamint az érzékelésben, a transzportban és a jelátvitelben is (Sakai és Haga, 2012). Bár az auxin játssza a fő szerepet a fototropizmus folyamatában, más egyéb fitohormonok szerepe is említésre méltó, mint például a gibberellinek és citokininek, amelyek befolyásolják a fényérzékelést azáltal, hogy

hatással vannak az auxin jelátviteli útvonalra (Yang *et al.*, 2021). Az auxinok gyakran szinergistaként hatnak a gibberellinokkal együtt, mivel az auxin fokozza a sejtek gibberellinre adott válaszát (Bara és Hasman, 1963). Citokininek esetében általában ellentétes hatásról beszélünk, mivel ezek inkább a sejtosztódást, nem a sejtek megnyúlását segítik elő, de a fototropizmus során a citokininek támogathatják az auxin és a gibberellin által stimulált általános növekedési folyamatokat, biztosítva, hogy a termelt új sejtek készen álljanak a megnyúlásra (Su *et al.*, 2011).

3.5.2. Gravitropizmus

Gravitropizmus az a jelenség, amikor a növény növekedése, a hajtás, gyökér és levelek megfelelő pozicionálása a gravitációs inger által irányított (Ajala és Hasenstein, 2019, Gadalla *et al.*, 2018). Ez az irányított folyamat nemcsak a szár felfelé növekedéséért felelős, hanem hozzájárul a levelek optimális pozíciójához is. Mivel a sztómák nyitása fény, víztartalom és szén-dioxid mennyiség függvénye, ezért, ha a gravitropizmus által a levelek helyzete ideális, a sztómák hatékonyabban tudják szabályozni a szén-dioxid felvételt és a párologtatást, azaz optimális gázcserét biztosítanak. Hatással van a gyökerek növekedésére is, ami a gravitáció irányába történik a talaj mélyebb rétegeibe, azért, hogy elérje a növekedéséhez, fejlődéséhez elengedhetetlen vízforrást, ásványi ionokat is (Chen *et al.*, 1999). Amikor a növényi szervek a földhöz viszonyítva felfelé növekednek negatív gravitropizmusról beszélünk, ellenben a gyökerek esetében, amikor minél inkább lefelé igyekeznek haladni, ott pozitív gravitropizmusként jellemezzük a jelenséget (Ge és Chen, 2019).

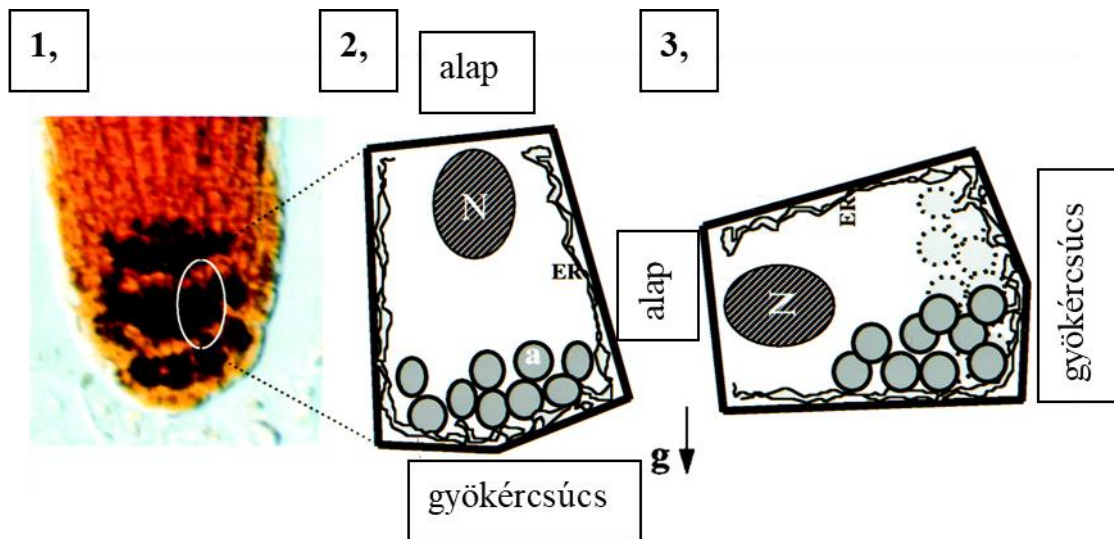
A gravitropizmus komplex folyamata négy, egymással összefüggő lépésből áll. Ezek a gravitáció érzékelése, jeladás a receptoroktól, intra-, és intercelluláris jeladás, valamint a célzott szöveten belül a fototropizmusra is jellemző aszimmetrikus sejtmegegyülés (Liu *et al.*, 2021) (4. ábra).



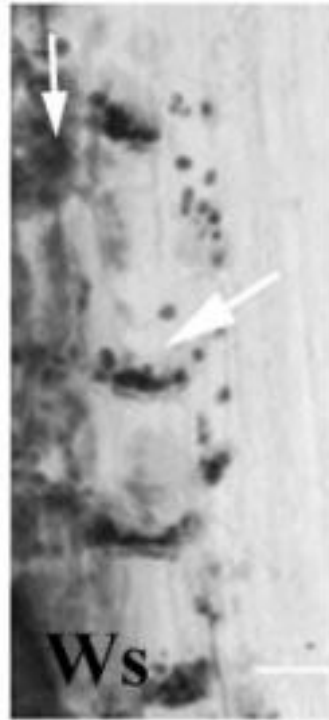
4. ábra: A gravitropizmus folyamatának áttekintése a gravitációs inger érzékelésétől a szervek reorientációjáig. PIP5K2=foszfatidilinozitol-4-foszfát 5-kináz 2, PIP2=foszfatidilinozitol 4,5-biszfoszfát, DAG=diacilglicerol, InsP₃= inozitol-1,4,5-triszfoszfát, 5PTASE13= foszfatidilinozitol 4,5-biszfoszfát 5-foszfataz 13 (Strohm *et al.*, 2012 alapján)

A gravitáció érzékelés folyamata a növényen belül a sztatocitákban kezdődik. Ezek tartalmazzák az úgy nevezett sztatolitokat, amelyek magas keményítőtartalommal rendelkező amiloplasztok (Takahashi *et al.*, 2003). Ezek külön erre a feladatra differenciálódott sejtalkotók és mivel nagyobb a tömegük, mint az őket körülvevő citoplazmának, ezért azt a feladatot töltik be, hogy a nehézségi erő hatására a gravitációs vektor irányába, lefelé vándorolnak sejten belül (Kolesnikov *et al.*, 2016). A sztatolitok a gyökéren belül a gyökércsúcsban találhatóak (5. ábra), míg a szárban, hipokotilban, mezokotilban, epikotilban, virágzatban, kocsányban, levélnyelben az endodermisz (6. ábra) tartalmazza őket (Vandenbrink és Kiss, 2019).

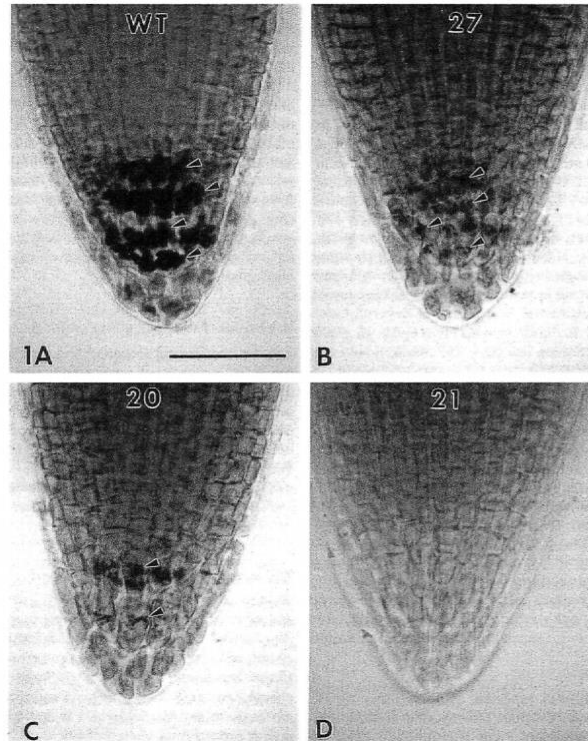
Korábbi kutatások írtak le olyan csökkent keményítőtartalmú, illetve keményítőhiányos *Arabidopsis* növényeket, amelyek kevesebb sztatolittal rendelkeztek, így a gravitáció érzékelés hiánya abnormalis szárnövekedést eredményezett (7. ábra) (Kiss *et al.*, 1996).



5. ábra: A gyökerek gravitáció érzékelésének elsődleges mechanizmusa az amiloplasztok elrendeződése a gyökércsúcs kolumella sejtjeiben. 1, fénymikroszkópos képen a keményítővel teli amiloplasztokat kálium-jodidos jóoldattal történő festéssel mutatják ki egy függőlegesen növekedő *Arabidopsis* magonc gyökércsúcs esetében, 2, sematikus ábrán szemléltetve (N =sejtmag, a = sztatolitok, ER = endoplazmatikus retikulum), 3, sematikus ábrán szemléltetve, hogy a sztatolitok hogyan rendeződnek újra 90°-os megdőntés esetében (g = a gravitációs vektor iránya) (Chen *et al.*, 1999 alapján).



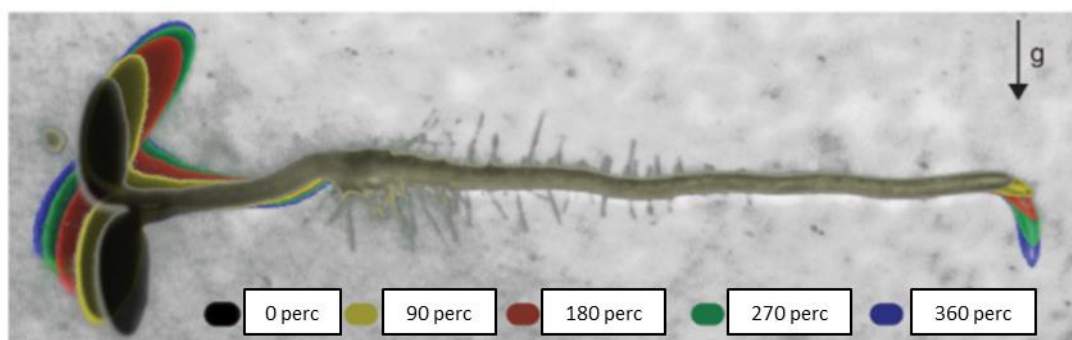
6. ábra: Keményítőtartalmú feketére festett sztatolitok (fehér nyíllal jelölve) a szár endodermisében elhelyezkedve *Arabidopsis thaliana* vad típusú növény (Ws) esetében (Wyatt, 2004 alapján)



7. ábra: Sztatolitok a gyökércsúcsban Lugol-oldattal festve kontroll (1A) és különböző mértékben keményítőhiányos mutáns növények esetében (B, C, D) (Kiss *et al.*, 1996 alapján).

A gravitációs inger érzékelése után a növényi szövetekben a mechanikai jel átalakul biokémiai jellé (Yamamoto és Kiss, 2002). Ennek első lépéseként a gravitáció hatására a sztatolitok újrendeződnek az őket tartalmazó növényi részben és aktiválják a mechanoreceptorokat. A mechanoreceptorok által a mechanikai jel biokémiai jellé alakul a szignál transzdukciós folyamaton keresztül, megnyílnak az ioncsatornák és megindulnak a kalcium ionok a citoplazmába. A kalcium ionok olyan enzimatikus folyamatokat aktiválnak, amelyek foszforilálják a PIN-fehérjéket a sejten belüli térben, ezáltal ők transzportfehérjeként képesek a megfelelő helyen funkcionálni. A PIN-fehérjék elősegítik az auxin kiáramlását a citoplazmából a sejtfalon keresztül a szomszédos sejtekbe, ezáltal irányítva az auxin transzportját a növényben. E fehérjék aszimmetrikusan helyezkednek el a sejtmembrán bazális (alsó) vagy laterális (oldalsó) oldalán, ami biztosítja az auxin irányított szállítását a szövetekben. A gyökérben például a PIN1 főként a bazális oldalakon található, ami az auxin lefelé irányuló transzportját teszi lehetővé a szállítónyalábok mentén, míg más PIN-fehérjék (pl. PIN2) laterális elhelyezkedése oldalirányú áramlást biztosít a kéreg és a gyökércsúcs sejtei között. Ez a kombinált elrendezés alakítja ki az auxináramlás irányát, vagyis annak polaritását.

Ez a folyamat legvégül aszimmetrikus auxin eloszlást eredményez a reagáló szervekben (Blancaflor és Masson, 2003). A hormon megindítja a sejtosztódást a szerv egyik oldalán, ez végső soron meghajlást eredményez a gravitációs vektorral párhuzamos irányban (8. ábra) (Konstantinova *et al.*, 2021). Ez egy dinamikus működő folyamat, hogy a növény folyamatosan képes legyen alkalmazkodni változó környezeti tényezőkhöz is.



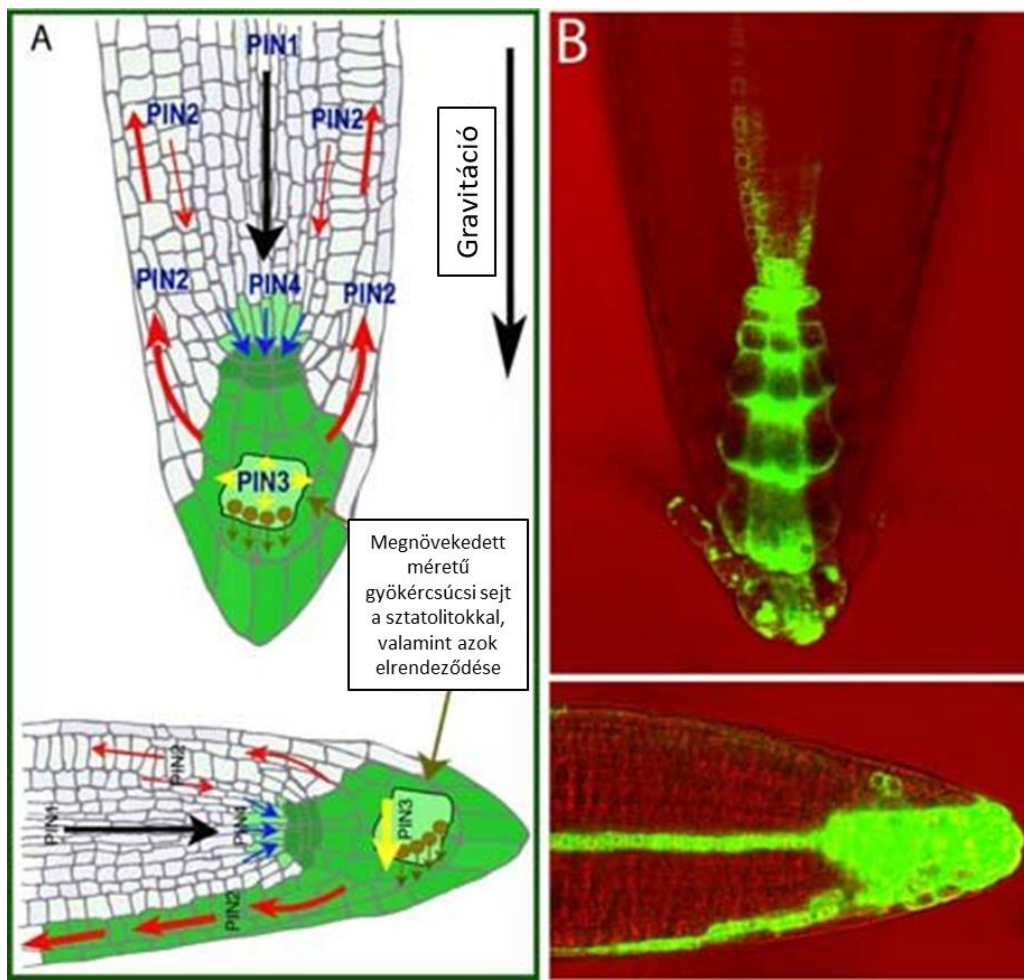
8. ábra: *Arabidopsis* csíranövény szerveinek elmozdulásra a gravitációs tengellyel (g) párhuzamosan 90 percenként dokumentálva (Su *et al.*, 2017 alapján)

3.5.3. A foto-, és gravitropizmusért felelős gének és azok mutáns típusai

Fontos említést tennünk azokról génekről, amelyek kritikus szerepet játszanak a korábban részletezett abiotikus tényezők érzékelésében, a válaszreakciók lefolyásában. A fototropizmusban legfontosabb gének a *PHOT1* (phototropin 1) és a *PHOT2* (phototropin 2). Ez a két gén kódolja a fényérzékelési receptorokat és indítja meg a további jelátvitelt (Kimura *et al.*, 2020). Ha a *PHOT1* vagy *PHOT2* gén működését mutáció károsítja, a receptorok nem érzékelik megfelelően a kék fényt, és a fény által kiváltott jelátvitel nem indul el. Ennek következményeként a növények nem képesek a hajtásukat vagy a leveleiket a fény irányába növeszteni, azaz a fototropizmus hiányzik, a növekedés véletlenszerűvé válik. Ohgishi és munkatársai, (2004) olyan mutáns *Arabidopsis* növényeket írtak le, amelyeknél ez a jelenség jól megfigyelhető volt.

Mellettük még kiemelkedő szereppel rendelkeznek a *PIN 1-8* gének, amelyek az auxin transzportért és eloszlásért felelősek, hogy a megnyúlásért felelős hormon a megvilágítatlan oldalon halmozódjon fel, ezzel elérve a növény hajlását (Kumar *et al.*, 2021).

A gravitropizmusban is azonos hatásmechanizmussal játszanak szerepet a *PIN* gének. Az aszimmetrikus auxin eloszlás felelős ebben az esetben is a gravitációs inger által irányított megnyúlásért, hajlásért (9. ábra).



9. ábra: Auxin eloszlás a gyökércsúcsban gravitáció hatására *Arabidopsis* növényben. A, a PIN fehérjék által irányított auxin áramlás (nyilakkal jelölve) és az auxin felhalmozódás helye (zölddel jelölve). Gravitáció hatására a sztatolitok leülepsznek a gyökércsúcsi sejt aljába, a PIN3 relokalizálódik és lefelé irányítja az auxin áramlást (sárga nyíllal jelölve) aszimmetrikus auxin felhalmozódást okozva ezzel. B, Gyökércsúcsok auxintartalmának mintázata GFP (zöld fluorescens fehérje) markerrel jelölve gravitációs hatás előtt (fent) és után (lent) (Michniewicz *et al.*, 2007 alapján)

Emellett létfontosságú szerepet játszanak olyan fejlődési folyamatokban, mint a gyökérszőrök növekedése, az oldalgökérzet fejlődése, a gyökér merisztémaszöveteinek fejlődése, a szállítóyalábok differenciálódása, valamint az embriófejlődés folyamata. Kiemelendő közülük a *PIN3* és a *PIN7* gének, amelyek segítik az auxin újraeloszlását a növény alsó fele felé, elősegítve a gravitáció irányába történő növekedést (Wang *et al.*, 2015). A *PIN3* elsősorban a gyökércsúcsi merisztéma szövetben, valamint a szár epidermiszében expresszál. A *PIN3* mutációi gyakran a gravitropizmus diszfunkciójához vezetnek a gyökerekben és a szárbán, ami rendellenes gyökérgömbületet és megváltozott szár-orientációt okozhat. Ding és munkatársai (2011) írtak le ilyen *Arabidopsis* mutánst, amely ebből az okból kifolyólag abnormális, véletlenszerű irányú szárnövekedést mutatott. A főképp oldalgökerek csúcaiban expresszáló *PIN7* szintén jelentős

szerepet játszik az auxin transzportban és a gravitropikus jelátvitelben. A *PIN7* mutációi tovább súlyosbíthatják a gyökér- és hajtásgravitropizmusával kapcsolatos problémákat. Előfordulhat, hogy a gyökerek nem hajlanak megfelelően a gravitáció hatására, ami rossz támasztáshoz és tápanyagfelvételhez vezethet, valamint a hajtás is képtelen a számára optimális irányba nőni. Rosquete és munkatársai (2018) bizonyították, hogy a *PIN3* és *PIN7* mutánsok nem reagáltak az auxin által közvetített irányító jelekre, így növekedésük dezorientált maradt. A PIN gének szövetspecifikusan expresszálódnak, számuk növényfajonként változó. Bioinformatikai elemzések szerint paprika esetében 10 különböző PIN gén vesz részt az irányított auxin transzportban. Konkrét szerepük még nem teljesen tisztázott, de kimutatták, hogy abiotikus stressz hatására az expressziójuk módosul. Sóstressz esetén a *PIN1* és *PIN7* gének expressziója viszonylag stabil marad, míg a többi PIN alulműködött. PEG (polietilén-glikol) kezelés hatására *PIN1* és *PIN7* géneken kívül mindegyik gén túltermelődik, kiemelve ezzel ennek a két génnek a kulcsfontosságú szerepét az auxin transzportban és a stresszválasz szabályozásában (Zhang *et al.*, 2018).

Az *AUX1* (AUXIN RESISTANT 1) és a hozzá hasonló *LAX* (LIKE-AUX1) gének szerepe szintén az auxinhoz köthető, a sejtek auxin felvételét irányítja, ezáltal is befolyásolva a gravitropizmus folyamatát (Swarup és Bhosale, 2019). Az ezeket a géneket érintő mutációk gyakran rendellenes szármegnyúlást és abnormális szárszerkezetet eredményeznek (Swarup *et al.*, 2004). Az auxin szállítóyalábokból a sejtekbe történő beáramlását az *AUX1/LAX* típusú influx transzporterek biztosítják, ami kulcsfontosságú a sejtek megnyúlásának és osztódásának szabályozásában. Megfelelő *AUX1/LAX* funkció hiányában előfordulhat, hogy csökevényes vagy túlzottan megnyúlt szár fejlődik. Ez befolyásolhatja a növény általános stabilitását, valamint a tápanyag- és vízszállítás hatékonyságát is. Az *AUX1* gén hiánya magában csak alig észrevehetően gyengébb fototropizmust eredményezett (Okada és Shimura, 1992), míg, ha vele együtt a *LAX2* és *LAX3* gének funkciója is hiányzik, akkor a fototropizmus akár teljes hiánya is tapasztalható volt *Arabidopsis* esetében (Christie *et al.*, 2011).

3.5.4. *In vitro* kísérletek a foto-, és gravitropizmus vizsgálatára

Fototropizmussal, illetve gravitropizmussal kapcsolatos kísérletek során leghatékonyabb *in vitro* módszerekkel dolgozni, mivel a növények abiotikus ingerekre adott, esetlegesen abnormális válaszait teljesen szabályozott körülmények között vizsgálhatjuk (Stanković *et al.*, 1998).

Eason és munkatársai (1987) olyan borsó mutánsokat vizsgáltak *in vitro* körülmények között, amelyek nem reagáltak megfelelően a gravitációs ingerekre. Az *in vitro* módszer használata lehetővé tette, hogy hajtással, valamint hajtás eltávolítása után is vizsgálni lehessen a gyökerek

növekedését. A mutáns növények gyökerei horizontális növekedést mutattak, viszont nem voltak teljesen anti-gravitropikusak. A mutáns gyökerek izoláltan folyadékkultúrában ugyanazt a növekedési potenciált mutatták, mint a normál borsó gyökerei. Auxinos és abszcizinsavas kezelés ugyan hatott a mutánsok növekedésére, ám normál gravitropizmust nem eredményezett.

Vinterhalter és munkatársai (2012) hasonlítottak össze etiolált és fényen nevelt kontroll burgonya növényeket *in vitro* körülmények között a fototropizmus aspektusában, ahol sikerült bizonyítaniuk, hogy az etiolált növényeknek 90°-os reorientáció után háromszor annyi időre van szüksége, hogy elérjék a 90°-os elhajlást a fény irányába. Gravitropizmus esetében hasonló eredményeket dokumentáltak, az etiolált növények 50%-kal lassabban hajlottak a megváltozott gravitációs inger hatására, mint a fényen nevelt csoport.

Paprikára vonatkozó *in vitro* kísérletek, amely során a fény és a gravitáció hatását vizsgálnák még nem áll rendelkezésre.

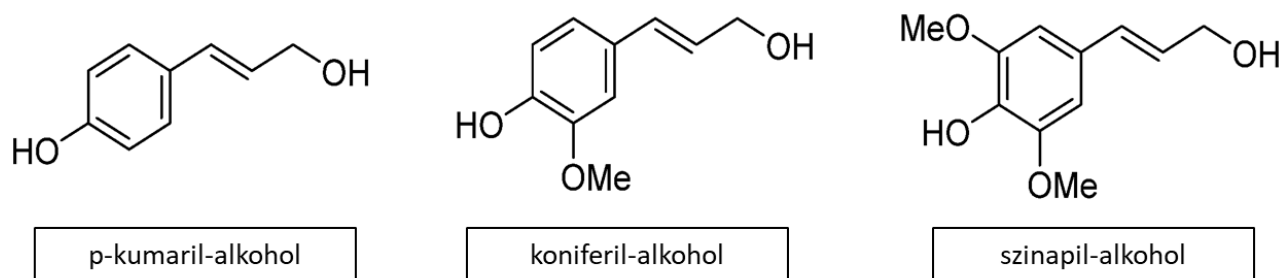
3.6. Lignifikáció folyamata

A szárazföldi életnek elengedhetetlen része, hogy a növények valamilyen támasztékkal rendelkezzenek, képesek legyenek ellenállni az abiotikus tényezőknek, legfőképpen a szélnek (Boudet, 2000). Ebben szerepet játszanak a különböző növényi rostok, valamint azok mennyisége és elrendeződése a szilárdító szövetekben. A szilárdító szövetek közül a kollenchima felelős a rugalmasságért, amely élő szövet, ennek sejtfalai főképp cellulózból és pektinből állnak, míg a főleg cellulózt és lignint is tartalmazó szklerenchima járul hozzá a szár keménységéhez (Leroux, 2012), a megfelelő mechanikai támasztékának biztosításához, elhajlás, vagy deformáció elleni ellenállóságához (Meshitsuka és Isogai, 2017).

Kutatási eredmények igazolták, hogy a növényi másodlagos sejtfal összetevők közül a cellulóz, hemicellulóz és a lignin mennyisége a meghatározó tényezők, ha a szár mechanikai ellenállóképességét vizsgáljuk (Meents *et al.*, 2018).

3.6.1. Lignin szerepe a szár keménységében

A ligninek szerepe nélkülözhetetlen a növények szabályos fejlődésében, a szár mechanikai keménységének kialakításában. Hozzájárulnak a szerkezeti integritás fenntartásához, valamint támasztékot biztosítanak a növényeknek (Polo *et al.*, 2020). Ezekon felül részt vesznek a növények víztranszport folyamataiban, biotikus tényezőkkel szembeni védekezésben, alkalmazkodóképesség fenntartásában a növény teljes életciklusa folyamán (Miedes *et al.*, 2014). Ezek olyan komplex polimerek, amelyek háromféle monolignol egységből állnak (10. ábra): p-kumaril-alkohol, koniferil-alkohol és szinapil-alkohol (Hatfield és Vermerris, 2001).



10. ábra: A lignin három monolignol egysége (Tiz *et al.*, 2024 alapján)

Ezek a monolignol egységek számos enzimatis reakción keresztül polimerizálódnak, hogy létrehozzák a lignin szerkezetét. Ezeken felül még különböző fenolos savak, gyanta létrehozásában szerepet játszó oldatok, valamint aromás vegyületek is részt vehetnek a lignin bioszintézisében. A pontos összetétel mindig függ a növényfajtól, a szövet típusától, valamint a fejlődési stádiumtól is (Gong *et al.*, 2022). A szárszilárdságot nagyban befolyásolja a G (gvajakil) és S (sziringil) egységek aránya. A G egységek koniferil-alkohol származékok, szinte minden növény ligninjében megtalálhatóak. Az S egységek, amelyek szinapil-alkohol származékok, nagyobb számban vannak jelen keményfákban (például: tölgy, bükk, dió), mint puhafákban (például: fenyő, nyárfa) (Lourenço és Pereira, 2018). Az S és G egységek arányára és a szár keménységére vonatkozó összefüggést már többen leírták főleg fás szárú növényfajok esetében. Zöldségnövényekre vonatkozólag kevés szakirodalom áll rendelkezésre. Dohány növény esetében dokumentált, hogy a szárában található S és G egységek mennyisége közel azonos (Ma *et al.*, 2018). A H-lignin (p-hidroxibenzil) egységek p-kumaril-alkohol származékok, kevésbé komplex formák az S és a G egységekkel összevetve. Főképpen lágyszárú növényekben találhatóak meg nagyobb mennyiségben, fás szárú növények esetén mennyiségük elhanyagolható, így ez nem is határozza meg számottevően a szilárdsági tényezőket (Karthäuser *et al.*, 2021). Paprika tekintetében jelenleg nem áll rendelkezésre olyan kutatási adat, ami leírná ezeknek a lignin egységeknek az arányát.

A lignin hiánya miatt általában abnormális szárnövekedés tapasztalható, amely sokszor káros, akár letális lehet a növény túlélését tekintve (Bhattacharya, 2022). A teljes ligninhiány a természetben viszonylag ritkán fordul elő, ilyenkor általában olyan genetikai mutációk és a biokémiai útvonalban bekövetkezett hibák jelentkeznek, hogy nem tud a rendes sejtfal szerkezet kialakulni, ezáltal a növénynek nincs megfelelő támasztéka, bókoló, fekvő fenotípust is mutathatnak. Jones és munkatársai (2001) olyan *Arabidopsis* növényt írtak le, amelyben a

lignintartalom szinte teljes hiánya mutatkozott, ez a növény képtelen volt megtartani magát, majd hogy nem fekvő típust mutatott, ám a hajtáscsúcsa ennek ellenére felfelé hajlott.

A lignintartalom kvalitatív, illetve kvantitatív meghatározása gyakori kutatási téma, mivel egy olyan faktorról beszélünk, amely nagy mértékben meghatározza a növény ellenállóságát, biomechanikai tényezőit, mint rugalmasság és szilárdság, ezáltal a termesztési értékét is. Ipari szempontból is hasznos információként szolgál az egyes növények teljes lignintartalma, ezért kvantitatív meghatározása fontos, amely általában erős savak és spektroszkópos technikák segítségével valósul meg. Ha a lignin pontos összetevőre, azok arányára vagy a szerkezetére vagyunk kíváncsiak, érdemes többféle mérési módszert is alkalmazni, mert a kémiai lebontáson alapuló technikák a lignin monomerösszetételét határozzák meg, míg a spektroszkópai módszerek elsősorban a szerkezeti jellemzők és a funkciós csoportok feltárására alkalmasak (Lupoi *et al.*, 2015). Moreira-Vilar (2014) és munkatársai több analitikai mérési eljárást is összehasonlítottak. A tioglikolsavas mérés produkálta a legnagyobb eredménybeli eltérést a többi módszerhez képest, lényegesen alacsonyabb lignintartalmat mutatott ki, mint a többi módszer, ennek oka a lignin vesztesége a mérési eljárás során, mivel a lignin egy része az oldatban visszamaradt vagy elveszett a mintaelőkészítés során. A Klason-módszer kénsav alapú, amely szinte azonos eredményeket produkált, mint az acetyl-bromidos mérés, de erős savval dolgozik, ami nagy körültekintést igényel, valamint a sok lépése miatt sokkal időigényesebb. Alacsony lignintartalmú szövetekben kevesebb lignint mutatott ki, tehát a kevésbé lignifikált szövetek esetében alulbecsülhet. Az acetyl-bromidos mérés az előzőhöz képes gyorsabb, és bár az acetyl-bromid is veszélyes anyag, ennek ellenére kevésbé veszélyes, mint kénsavval dolgozni, valamint ez a módszer pontosabb mérési adatokkal szolgál akkor is, ha nagyon kis mennyiségű ligninről van szó.

A lignin jelentőségét mutatja, hogy a különböző nemesítési stratégiákban egyre nagyobb figyelmet kap, és kutatások folynak a lignintartalom és a lignin összetételének módosítására szolgáló technikák kidolgozására. Kukorica, rizs és árpa esetében a takarmányminőség javítása miatt, míg cirok esetében a bioetanol-előállítás érdekében (Frei, 2013). Az összes lignintartalom módosítása több aspektusban is fontosnak mutatkozik. Takarmányozás szempontjából a minél alacsonyabb lignintartalom optimális, mivel a magas lignintartalom kevésbé emészhetővé teszi a takarmánynövényeket az állatok számára, így ennek csökkentése transzgenikus, vagy nemesítési módszerekkel az állattartók előnyére válhat a mezőgazdaságban (Moore és Jung, 2001). A bioetanol-előállításra használt növények esetében előnyös a lignintartalom csökkentése, mivel a lignin akadályozza a cellulóz és a hemicellulóz fermentálható cukrokká bontását, így az alacsonyabb lignintartalmú növények csökkentik a feldolgozási költségeket. (Mukherjee *et al.*, 2016).

Nem csak a lignintartalom csökkentése, a növelése is számos előnnyel jár. A megnövelt lignintartalmú növényekből izolált, esetlegesen módosított lignin ipari alapanyagként is szolgálhat (Yang *et al.*, 2019). Kutatások kimutatták, hogy a transzgenikus, magasabb lignintartalmú növények, például rizs (Lee *et al.*, 2016), szőlő (Tu *et al.*, 2020), alma (Geng *et al.*, 2018) és *Arabidopsis* (Ménard *et al.*, 2022) mind nagyobb szárazságtoleranciával és általánosan fokozott abiotikus stressz-ellenállósággal rendelkeznek a kontroll növényekhez képest. A magasabb lignintartalom biotikus stresszfaktorokkal szemben is növeli a növények ellenállóképességét: Ma és munkatársai (2018) dohány növényeken végzett kísérleteikben kimutatták, hogy a teljes lignintartalom, valamint az S lignin mennyiségének növekedésével a növények betegségekkel szembeni ellenállóképessége is növekedett.

Bár a magasabb lignintartalom növeli a növények abiotikus és biotikus stresszekkel szembeni ellenállóságát, agronómiai szempontból fontos figyelembe venni, hogy a lignin felhalmozódása a növények minőségi paramétereire is hatással lehet, a termékek textúrája és íze romolhat (Wang *et al.*, 2023).

3.6.2. Lignin bioszintézise és az ebben szerepet játszó gének

A lignin létrehozása számos hosszú, enzimátikus útvonalon keresztül valósul meg (11. ábra) (Sakamoto *et al.*, 2020).

a fenilalanin ammónia-liáz (PAL) enzim. A fahéjsav a cinnamát 4-hidroxiláz (C4H) enzim révén p-kumársavvá, majd a 4-kumarát-CoA ligáz (4CL) enzim hatására p-kumaroil-CoA-vá alakul. A p-kumaroil-CoA három fő monolignollá metabolizálódik: p-kumaril-, koniferil- és szinapil-alkohollá. Minden bioszintetikus ágon a karbonsav redukcióját a cinnamoil-CoA reduktáz (CCR) és a cinnamil-alkohol dehidrogenáz (CAD) katalizálja, először aldehiddé, majd alkohollá alakítva a vegyületet. A koniferil- és szinapil-alkoholok aromás gyűrűjének hidroxilálását a p-kumaroil 3-hidroxiláz (C3H) és a ferulát 5-hidroxiláz (F5H) végzi, majd a 3- és 5-O-metilcsoportok beépítését a CCoAOMT és a COMT enzimek katalizálják; a hidroxilálás mindig megelőzi a metilálást, melyet követ a karbonsav redukciója (Vanholme *et al.*, 2019).

Szintézisük után a monolignol egységek a sejtalba kerülnek, ahol oxidatív polimerizáción mennek keresztül, amelyet a peroxidáz és lakkáz enzimek katalizálnak, így jönnek létre a ligninláncok (Zhao *et al.*, 2013). A lignint gyakran módosítják olyan folyamatok, mint a metiláció, acilezés és hidroxiláció, ez befolyásolhatja összetételét, fizikai tulajdonságait is (Whetten *et al.*, 1998). A kész lignin ezután eléri végső helyét a sejtfalban, ahol innentől kezdve hozzájárul a növényi szövetek szilárdságához, ellenállóságához.

Korábbi kutatások során már vizsgálták, hogy ezen gének expresszióbeli különbségei milyen hatást gyakorolnak a növények teljes lignintartalmára. Ezek alapján a korábban említett enzimek közül öt kiemelendő, és az ezeket a különböző enzimeket kódoló gének overexpressziója magasabb lignintartalmat eredményezett. A fenilalanin ammónia-liáz esetében Sewalt és munkatársai (1997) leírták, hogy transzgénikus dohánynál a *PAL* és *C4H* gén alulműködése csökkent lignintartalmat eredményezett, valamint a *C4H* esetében csökkent az S monomer egységek aránya a G egységekhez képest. Yan és munkatársai (2019) kimutatták, hogy *Phytophthora sojae* fertőzés hatására a *C4H* gén overexpresszált szójában, ami a lignintartalom növekedését eredményezte, ez fokozott ellenállóképességgel járt együtt. Ugyanezt az eredményt kimutatták dohányban is. Meng és munkatársai (2024) kimutatták, hogy a *4CL* gén túltermeltetése a *Ganoderma lucidum*-ban megnövekedett flavonoid mennyiséghez, valamint a szár lignintartalmának növekedéséhez vezetett. Song és munkatársai (2022) *Pennisetum purpureum* növényből származó *CCoAOMT* gént overexpresszáltatták transzgénikus dohányban, amelyben szintén a megnövekedett flavonoid tartalom mellett nőtt a lignintartalom is, valamint ezzel a növény ellenállóképessége is növekedett. A batátából izolált *CAD* gén segítségével állítottak elő transzgénikus *Arabidopsis* vonalakat Kim & Huh (2019), amelyek esetében bebizonyosodott, hogy a *CAD* gén magasabb expressziós szintje magasabb lignintartalmat eredményezett. Számos, a ligninbioszintézisben szerepet játszó enzimeket kódoló génre irányuló kutatás ellenére a paprika esetében az ezzel kapcsolatos irodalmi háttér továbbra is hiányos. Az eddig rendelkezésre álló

eredmények alapján feltételezhető, hogy a génműködés mutáció okozta megváltozása a lignintartalom módosulását idézheti elő, ami a szárak mechanikai gyengüléséhez vezethet.

3.7. Fitohormonok szerepe a szár fejlődésében

A fitohormonok olyan, kis mennyiségben termelődő szerves vegyületek, amelyeket a növény meghatározott szövetei szintetizálnak, majd más sejtekbe vagy szervekbe szállítódva szabályozzák a növények élettani folyamatait, például a növekedést, fejlődést és a környezeti ingerekre adott válaszokat (Sezgin és Kahya, 2018).

Klasszikus értelemben véve ötféle növényi hormont említhetünk, az auxint, citokinint, gibberellint, abszcizinsavat, illetve az etilént (Kende és Zeevaart, 1997). Ezeken felül további hormonok is részt vesznek a növények élettani folyamataiban, pl.: brassinoszteroid, szalicilsav, jázminsav és strigolakton (Wang *et al.*, 2021). E hormonok közül az auxin és a gibberellin játszanak meghatározó szerepet a szár növekedésének és megnyúlásának szabályozásában, ezért a következő fejezetek ezek élettani hatásait mutatják be részletesebben.

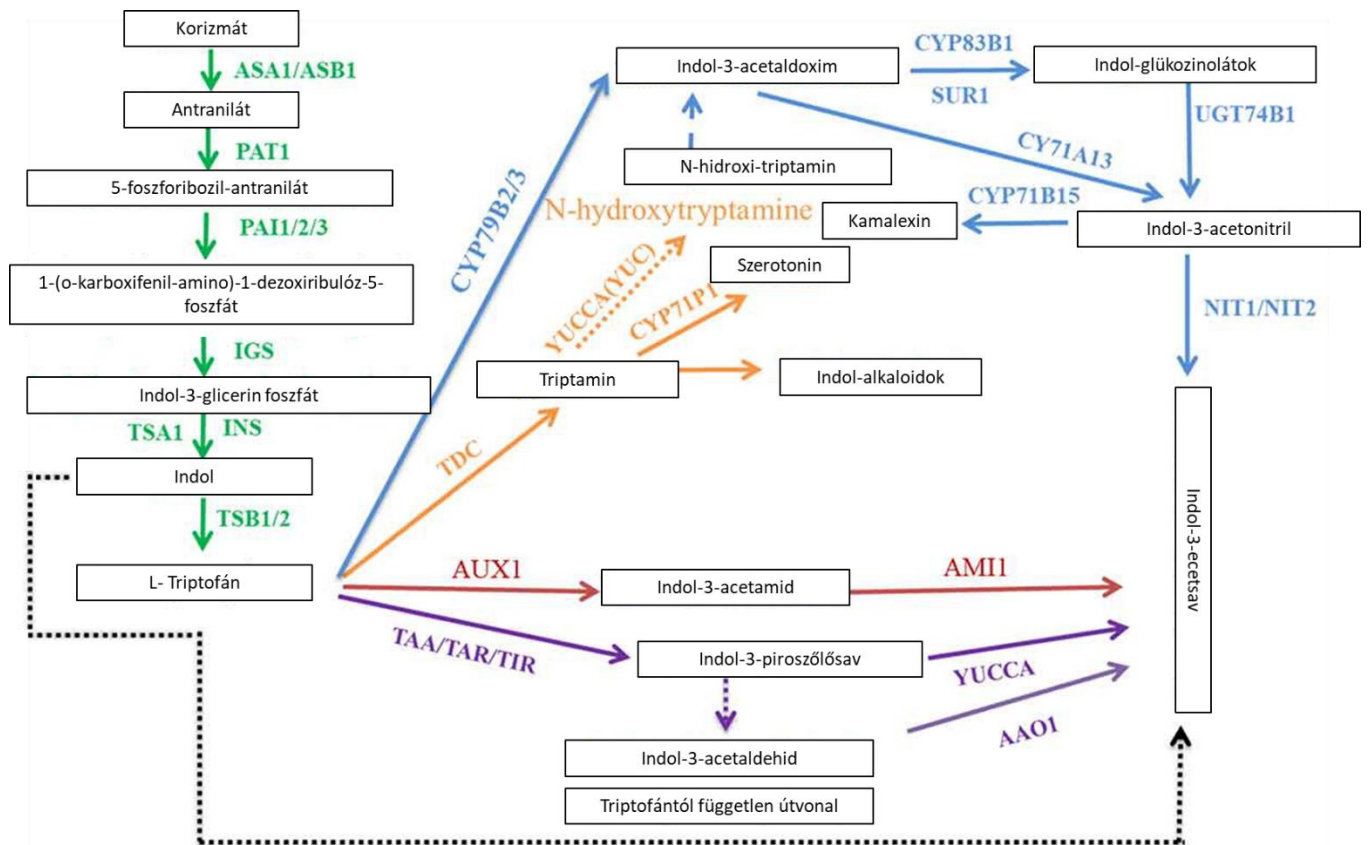
3.7.1. Auxinok szerepe a szár növekedésében

Vegetatív fejlődés, illetve fototropizmus, gravitropizmus szempontjából elengedhetetlen az auxin hormon szerepe (Muday, 2001), mivel rengeteg különböző növekedési és fejlődési folyamatban vesz részt (Frankenberger Jr és Arshad, 2020).

Auxin bioszintézis során beszélhetünk triptofántól függő bioszintetikus útvonalokról, ezek az indol-3-piroszólősav (IPA), triptamin (TAM) és indol-3-acetaldoxim (IAOx), indol-3-acetamid (IAM) útvonalak.

Az IPA útvonalban a triptofán a TAA1/TAR/TIR (triptofán-aminotranszferáz) enzimek hatására alakul IPA-vá, amelyet a YUCCA flavin monooxygenázok oxidálnak, így keletkezik az indol-3-ecetsav (IAA), a növényi auxin fő formája. A triptamin (TAM) útvonal során a triptofán dekarboxilálódik triptaminná a triptofán-dekarboxiláz (TDC) enzim hatására, majd a triptamin oxidációja és deaminációja révén alakul IAA-vá (indol-3-ecetsav). Az indol-3-acetaldoxim (IAOx) útvonalban a triptofán a CYP79B2/B3 citokróm P450 enzimek közreműködésével IAOx-szá alakul, amely köztes lépéseken, például indol-3-acetonitrilen keresztül, végül szintén IAA-vá alakul. Az indol-3-acetamid (IAM) útvonalban a triptofán IAM-má alakul, amelyet az IAM-hidroláz enzim bont IAA-vá.

Triptofántól független útvonalon is létrejöhet az indol-3-ecetsav (12 ábra), ilyenkor az indol bioszintézis útvonalának köztes termékeiből, például indolból vagy indol-glicerín-foszfátból képződik (Zhao, 2012).



12. ábra: Az *Arabidopsis* és kukorica IAA (indol-3-ecetsav) bioszintézisének feltételezett útvonalai. A zöld nyilak a triptofántól függő bioszintetikus útvonalat jelzik. A piros az indol-3-acetamid (IAM), a lila az indol-3-piroszólósav (IPA), a sárga a triptamin (TAM), a kék pedig az indol-3-acetaldoxim (IAOX) útvonalat mutatja. A hosszú szaggatott fekete nyíl a triptofán-független IAA-szintézist, míg a rövid szaggatott nyilak azokat a lépéseket jelölik, amelyek génjei és enzimikus folyamatai még nem teljesen ismertek. ASA1/ASB1=antranilát-szintáz alegységek A1 és B1, PAT1=foszforibozil-antranilát transzferáz, PAI1/2/3=foszforibozil-antranilát-izomeráz izoenzimiek, IGS=indol-glicerin-foszfát-szintáz, TSA1=triptofán-szintáz alfa alegység, INS=indol-szintáz, TSB1/2=triptofán-szintáz béta alegységek, CYP79B2/3=citokróm P450 monooxigenáz 79B2/3, CYP83B1=citokróm P450 monooxigenáz 83B1, SUR1=szulfotranszferáz 1, UGT74B1=UDP-glikozil-transzferáz 74B1, CYP71A13=citokróm P450 monooxigenáz 71A13, CYP71B15=citokróm P450 monooxigenáz 71B15, NIT1/NIT2=nitriláz 1/2, TDC=triptofán-dekarboxiláz, CYP71P1=citokróm P450 monooxigenáz 71P1, YUCCA(YUC)=flavin-monooxigenáz, AUX1=auxin-influx transzporter 1, AMI1=indol-3-acetamid amidohidroláz, TAA/TAR/TIR=triptofán-aminotranszferáz enzimek, AAO1=aldehyd-oxidáz 1. (Yue *et al.* 2021 alapján)

Az auxin serkenti a növények növekedését, a szár fejlődését azáltal, hogy fokozza a sejtek megnyúlását és osztódását. Általában az auxin merisztémaszövetekben szintetizálódik, levelekben, hajtáscsúcsban, virágokban, majd transzportfolyamatokon keresztül jut el a növények alsóbb régióiba is. Az AUX1/LAX fehérjék proton–auxin szimporterként működnek, a

plazmamembránon keresztül a proton gradiens energiáját felhasználva importálják az auxint a sejtekbe, elsősorban az apikális (felső) membránon keresztül. Ez az aktív felvétel biztosítja, hogy az auxin a sejtekben felhalmozódhasson, még akkor is, ha a sejten kívüli koncentráció alacsony (Ung *et al.*, 2025).

Az auxin sejtek közötti irányított eloszlását nemcsak a PIN-fehérjék polarizált működése szabályozza, hanem az ABCB/PGP-transzporterek is részt vesznek a hormon aktív exportjában. Az auxin transzportját irányító PIN-fehérjék működése alapvető a szár növekedésében is. Részletesen a gravitropizmusról szóló fejezetben ismertetett mechanizmus szerint ezek a fehérjék aszimmetrikusan helyezkednek el a sejtmembránon, és ezáltal meghatározzák az auxináramlás polaritását (Adamowski és Friml, 2015).

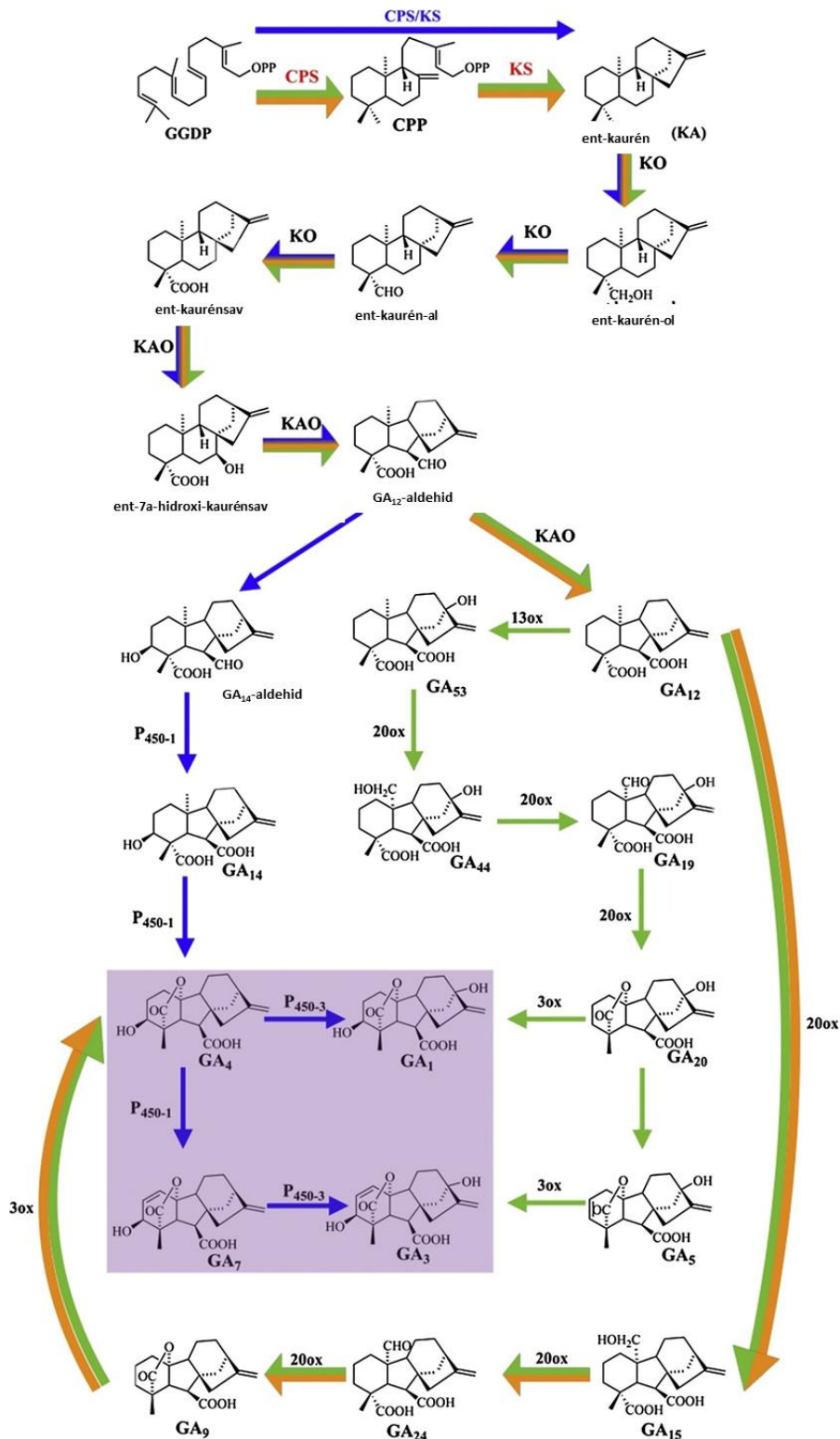
Az ABCB/PGP transzporterek a PIN-fehérjékkel együtt működnek, ATP-hidrolízis révén segítve az auxin aktív exportját. Ezek a transzporterek főként a plazmamembrán bazális és laterális oldalán helyezkednek el, például a gyökér és a hajtás szállítónyaláb-sejtjeiben, és kulcsszerepük van az auxin nagy távolságú, irányított szállításában a növény csúcsi részei felé (Cho és Cho, 2013).

A természetes, növényekben szintetizálódó auxin az indol-3-ecetsav, de hasonló szerkezetű, mesterségesen előállított molekulákkal is képesek vagyunk auxin hatásmechanizmust elérni a növényekben, mivel ezek ugyanazokba a receptorokba kötnek be, mint a természetes auxin molekulák (Flasiński és Hąc-Wydro, 2014). Ezeket a vegyületeket általában a mezőgazdaságban és a kertészetben használják a növények növekedésének és fejlődésének fokozására. Az 1-naftilecetsav (NAA) és az indol-3-vaicsav (IBA) általában hajtások gyökeresítéséhez alkalmazott vegyületek mind szabadföldön, mind szövettenyészetek esetében. A 2,4-diklórfenoxiecetsav (2,4-D), valamint a 3,6-diklór-2-metoxi-benzoecetsav (Dicamba) szintén szintetikus auxin vegyületek, általában kétszikű gyomnövények esetében gyomirtószerként használják őket. A 4-klór-fenoxiecetsav (4-CPA) általában kertészetben alkalmazott vegyület, ami a terméskötődést segíti elő. A 2,4-D és a NAA szövettenyészetekben gyakran alkalmazott kallusz indukcióhoz is, valamilyen citokinin vegyülettel kombinációban.

3.7.2. Gibberellinek szerepe a szár megnyúlásában

A gibberellinek a növény egész élete folyamán szerepet játszó hormonok, amelyek elengedhetetlenek a növekedésben, fejlődésben (Gao *et al.*, 2022). Többek között szerepet játszik a növekedési, fejlődési, termékenyülési folyamatokban, sejtmeinyúlásban is (Hedden és Sponsel, 2015).

A gibberellin anyagcsere útvonal komplex enzimikus reakciók sorozatát foglalja magába, amelyek a kiindulási anyagot, a geranylgeranyl-difoszfátot (GGDP) bioaktív gibberellinné alakítják (11. ábra) (Salazar-Cerezo *et al.*, 2018).



13. ábra: A gibberellin bioszintézis útvonala. A növényekben (zöld nyilak), gombákban (kék nyilak) és baktériumokban (sárga nyilak) különböző útvonalak működnek. A biológiailag aktív gibberellinek a lila négyzetben találhatóak. GGDP=geranilgeranil-difoszfát, CPS=ent-kopalil-difoszfát-szintáz, CPP=ent-kopalil-difoszfát, KS=ent-kaurén-szintáz, KA=ent-kaurén, KO=ent-kaurén-oxidáz, KAO=ent-kaurénsav-oxidáz, GA=gibberellin, 13ox=13-oxidáz, 20ox=20-oxoglutarát-függő dioxigenáz, 3ox=3-oxidáz, P₄₅₀₋₁=citokróm P450 monooxygenáz 1, P₄₅₀₋₃=citokróm P450 monooxygenáz 3 (Salazar-Cerezo *et al.*, 2018

alapján)

A gibberellinek prekuzora, a GGDP (geranilgeranil-difoszfát) a mevalonát, vagy a metileritrit-foszfát bioszintetikus útvonalakból származik, amelyekben a geranilgeranil-difoszfát szintáz (GGPS) enzim hozza létre farnezil-difoszfátból (FPP) és izopentenil-difoszfátból (IPP). Ezután az ent-kopalil-difoszfát-szintáz (CPS) katalizálja a GGDP ciklizációját, hogy ent-kopalil-difoszfátot (ent-CPP) hozzon létre. Majd az ent-kauren-szintáz (KS) enzim ezután az ent-CPP-t ent-kaurenné alakítja. Az ent-kauren az ent-kauren-oxidáz (KO) enzim hatására ent-kaurensavvá, majd az ent-kaurensav az ent-kaurensav-oxidáz (KAO) enzim hatására GA₁₂-aldehiddé, majd GA₁₂-vé alakul. A GA₁₂-ből a 13-hidroxilált útvonalon GA₅₃, a nem hidroxilált útvonalon pedig GA₉ képződik. A GA₂₀ox enzim a GA₁₂-t és a GA₅₃-at oxidálja, aminek eredményeként GA₉ és GA₂₀ keletkezik, míg a GA₃ox a GA₂₀-at GA₁-gyé és más bioaktív gibberellinekké alakítja. A környezeti hatások függvényében egy visszacsatolós rendszeren keresztül a biológiailag aktív gibberellinek magas szintje gátolja a GA₂₀ox és a GA₃ox enzimek működését (Salazar-Cerezo *et al.*, 2018).

A korábban említett mechanizmus mellett a növények képesek a biológiailag aktív gibberellinek szintjét közvetlenül csökkenteni a GA₂ox enzimen keresztül, amely a hormonok inaktiválásáért felelős. A GA₂ox enzim képes inaktiválni a biológiailag aktív gibberellineket a molekulák hidroxilezésével, ezzel fenntartva egy optimális szintet a növényeken belül (Sakamoto *et al.*, 2001).

A gibberellineket különböző, sejtmembránhoz kötődő receptorok érzékelik (Hernández-García *et al.*, 2021). Amikor a molekulák hozzákötődnek az érzékelő fehérjékhez, megindul a jelátadási rendszer, aktiválódnak a gibberellinre reagáló gének, amelyek általában sejtosztódáshoz, sejtmegnyúláshoz köthetőek (Castro-Camba *et al.*, 2022). A gibberellinek közvetlenül is hatással lehetnek a génexpresszióra azáltal, hogy sejtmagi receptorokhoz kötődnek, aktiválhatják a transzkripciós faktorokat (Lv *et al.*, 2021). Fiatal hajtásokban gyakran megfigyelhető, hogy a nóduszok száma változatlan marad, de az internódiumok megnyúlnak. Ezt a gibberellinek által kiváltott sejtfal-lazulás és a sejtek vízfelvételének fokozódása eredményezheti, ami a sejtek megnyúlását, és ezáltal a hajtás megnyúlását segíti elő (Cosgrove és Sovonick-Dunford, 1989). A gibberellinek gyakran együtt fejtik ki hatásukat más fitohormonokkal, hogy az általuk befolyásolt komplex növekedési folyamatok is le tudjanak zajlani (Ross *et al.*, 2016). Ezen tulajdonságaik által gyakran gyakorlatban is alkalmazzák őket, mind mezőgazdasági termesztésben, mind pedig szövettenyészetek esetében növekedés serkentésére, magok csíráztatásának elősegítésére.

3.8. Az abnormális szárnövekedésben szerepet játszó gének

Számos gén lehet felelős a növények internodiumainak abnormális megnyúlásáért. Ezek a mutánsok gyakran fejlesztenek sokkal hosszabb szárakat, mint vad típusaik, amely a szárszerkezet keménységének csökkenéséhez vezethet (Zhang *et al.*, 2020). Ezek a gének általában abnormális auxin, vagy gibberellin hormonszintért felelősek.

A triptofán-aminotranszferáz (*TAA1*) és *YUCCA* (*YUC*) géneket érintő mutációk megnyúlt internodiumot okozhatnak. A *TAA1* enzim alakítja át a triptofánt indol-3-piruváttá, ezután a *YUC* enzim vesz részt abban, hogy az indol-3-piruvát indol-3-ecetsavvá alakulhasson (Won *et al.*, 2011). E gének overexpressziója a növényekben megnövekedett endogén auxinszinthez, ezáltal fokozott sejtmegnyúláshoz vezet, ami megnyúlt internódiumok formájában nyilvánulhat meg. Kim és munkatársai (2007) olyan *YUCCA* géneket overexpresszáló *Arabidopsis* növényeket írtak le, amelyek megnövekedett endogén auxin szinttel rendelkeztek, kiemelkedően hosszú virágzattal, megnyúlt és csavarodó levelekkel.

Gibberellin esetében kiemelendők a *GA20ox* és a *GA3ox* enzimek szintéziséért felelős gének, amelyek a citoplazmában fejtik ki hatásukat, hogy a biológiailag inaktív gibberellinokat alakítják aktív formába (Lee *et al.*, 2020). A *GA20ox* és *GA3ox* enzimekért felelős gének overexpressziója több növényfaj esetében is hosszabb, megnyúlt szárhoz vezetett. Reinecke és munkatársai (2013) transzgénikus *GA3ox* enzimet túltermelő borsó növény vizsgálata során tapasztalták a növény megnyúlását, és a hosszabb internódiumokat, indákat és terméseket. García-Hurtado és munkatársai (2012) overexpresszáltatták a *GA20ox* termelésért felelős gént paradicsom növényben, ezzel több paraméter változása mellett a növénymagasság is nagyobb lett. *GA2ox* enzim deaktiválja a biológiailag aktív gibberellinokat (Schrager-Lavelle *et al.*, 2019), Sun és munkatársai (2019) olyan paradicsom növényeket írtak le, ahol ennek az enzimnek a bioszintéziséért felelős génnek az overexpressziója törpe mutánsokat eredményezett, így feltételezhetjük, hogy a gént érintő mutáció megnyúlt internódiumot eredményezhet. Hasonló tulajdonságot okozhat a gibberellin receptorokért felelős gének mutációja is. A *GID1* (gibberellin insensitive dwarf1) gének mutációi több növényfajban is törpe fenotípust idéztek elő, például rizsben (Ueguchi-Tanaka *et al.*, 2005) és paradicsomban (Illouz-Eliaz *et al.*, 2019).

Gibberellin esetében a *DELLA* fehérjék jelentősége is kiemelkedő, ezek a gibberellin jelátviteli rendszerben represszorként szolgálnak, általuk optimális szinten tartható a növények endogén gibberellin szintje (Xue *et al.*, 2022). A *DELLA* fehérjék szintéziséért felelős gének diszfunkciója folyamatos gibberellin hatás alatt tartja a növényeket, ezáltal hosszabbak, megnyúlt szerkezetűek, ezt a jelenséget már viszonylag sok növény esetén detektálták, többek között paradicsom növényben írták le Bassel és munkatársai (2008).

Az irodalmi áttekintésben tárgyalt tropizmusok, lignifikációs folyamatok és fitohormonális szabályozó mechanizmusok olyan alapvető élettani és molekuláris folyamatokat foglalnak magukban, amelyek meghatározó szerepet játszanak a paprika szárának fejlődésében és mechanikai tulajdonságainak kialakulásában. A vizsgált paprika-mutánsokban megfigyelt abnormális növekedési mintázatok e szabályozó útvonalak zavarára utalhatnak, ugyanakkor a fajra vonatkozó részletes genetikai és élettani ismeretek jelenleg korlátozottak. Ennek megfelelően indokolt a mutánsok fiziológiai, biokémiai és molekuláris szintű jellemzése, amely lehetőséget teremt a megfigyelt fenotípusok háttérében álló módosult folyamatok pontosabb azonosítására.

4. Anyag és módszer

4.1. A felhasznált növényanyagok

Kísérleteinkben négy különböző mutáns nemesítési vonal szerepel, amelyek mindegyike valamilyen jellegű abnormális szárnövekedést mutat. A kísérletek során vizsgált mutáns vonalak mindegyike Csilléry Gábor gyűjteményéből származik (PepGen Kft., Budapest, Hungary). A mutánsok öntermékenyítéssel, valamint szelekcióval vannak fenntartva, az ezekből az öntermékenyítésből származó magokkal kezdtük meg kísérleteinket. Kontrollként két, kereskedelmi forgalomban is kapható fajta lett bevonva a vizsgálatokba, a determinált növekedésű 'Fehérözön', illetve a folytonos növekedésű 'Garai fehér' (Royal Sluis Magrovet Kft., Kecskemét, Hungary).

A *Pcx* – (elfekvő növény – procumbent plant) mutáns fenotípusáért felelős gén jelenleg nem azonosított, az eddig nemesítési munkák tapasztalatai alapján egy domináns gén lehet felelős, de a dominancia csak részleges. A fő gén mellett további módosító gének jelenléte is feltételezett. A mutáns fenotípus először egy fűszer típusú, sötétzöldből pirosra érő, F₃ nemzedékű nemesítési vonalban bukkant fel. A *Pcx* fenotípus már szikleveles korban könnyen azonosítható, mert gyakorlatilag teljesen elfekszik, majd kúszónövény szerűen, a földön folytatja növekedését (14. ábra). Az utódnövények között nagy variancia tapasztalható. Egyes egyedek a fejlődés során teljesen normális szárnövekedést mutatnak, teljesen felfelé növekszenek. Bizonyos egyedek fekvéskor kezdik meg növekedésüket, viszont ezt a tulajdonságukat később elveszítik, míg más növények teljes életciklusukban végig fekvéskor maradnak (15. ábra). A teljesen fekvéskor növekvő növények növekedésükben lemaradnak a normális szárnövekedést mutató egyedekkel összehasonlítva. A kezdetben elfekvő, majd később felegyenesedő típusú növények oldalhajtásai csüngnek vagy bókólnak, de a lehajló ág-, illetve szárrészek teljesen kemények, így nem hervadó jelleg adja a fenotípus hátterét. A *Pcx* növények nagyon koraiak, ami feltételezések szerint nem csak a fűszer típusú eredetnek tulajdonítható, hanem a mutáció erre a tulajdonságra is kifejtheti hatását. A *Pcx* növények közül vannak olyan növények, amik életük végéig mutatják a fekvő fenotípust (*Pcx 1*) és vannak olyanok, amelyek kezdetben fekvő habitussal rendelkeznek, de ezt a későbbiek során elveszítik és függőlegesen nőnek tovább (*Pcx 2*).



14. ábra: *Pcx* növények üvegházi körülmények között, Szentés, Hungary



15. ábra: A *Pcx* mutánsok különböző szárnövekedési típusai

A *titi* – (csavarodó ízközű – tortuous internodi) mutáns növények fenotípusáért felelős gén jelenleg ismeretlen, ám a nemesítési tapasztalatok alapján feltételezett, hogy egyetlen recesszív gén felelős érte. A mutáns fenotípust először egy Cecei típusú, fehérből pirosra érő, középnagy bogyóméretű F_3 nemzedékű nemesítési vonalban figyelték meg. A *titi* mutánsokra jellemző

fenotípus a szikleves korban még nehezen felismerhető, de 3-4 lomblevelés kortól a növény szára megdől, elfekszik, enyhén csavarodik is (16. ábra). A kifejlett növény internodiuma a paprikára jellemző átlagos 5-8 cm helyett 10-15 cm, az oldalhajtásoké még ennél is hosszabb lehet. Az ilyen hosszú ízköz agronómiai szempontból nem előnyös. Mivel csak az internodiumok mérete változott, a nóduszok száma viszont nem, így feltételezhető, hogy csak megnyúlásról van szó, ami által viszont a szár szerkezete gyengébb lesz. Eddigi termesztési tapasztalatok alapján a *tti* mutánsok szára viszonylag könnyen törnek (Csilléry *et al.*, 2023).



16. ábra: *tti* növények üvegházi körülmények között, Szentés, Magyarország

Az *frx* – (törekeny szárú – fragile-plant) mutánsokat eredetileg egy fonalféreg rezisztencia kísérlet során fedezték fel. Az önbeperzással fenntartott egyedek között egy mutáció hozta létre ezt a fenotípust. A mutáns fenotípus könnyen felismerhető a viszonylag rövid gyökérhossz miatt, valamint a mutáns nevét adó szárok miatt, amelyek könnyedén, pattanva törnek. A törésponton mindig sima törési felszín alakul ki, ez a paprikára alapvetően nem jellemző (17. ábra). Bár ez a tulajdonság termesztéstechnikai szempontból elsősorban károsnak tűnhet, ez a mutáns tulajdonság hasznosnak bizonyulhat mechanikus betakarítási eljárásoknál, mivel a terméseket tartó kocsány is hasonlóképpen törik. Az eddigi, nemesítés során leírt megfigyelések alapján egyetlen recesszív

gén lehet felelős a mutáns tulajdonságért, bár ez a gén eddig ismeretlen (Erős-Honti és Csilléry, 2016).



17. ábra: *frx* mutáns paprikák törési felszíne (bal) összehasonlítva a normál szárnövekedésű paprikák törésével (jobb)

A *pfí* – (pufi szárú – puffy-structured stem) mutánsok eredetileg Bergh és Lippert kutatók gyűjteményéből származik (Bergh és Lippert, 1964). A gyűjteményből származó magokból nevelt növények önbeporzással vannak fenntartva, valamint szelektálva a mutáns fenotípusra. Ez a fenotípus a korai életszakaszban nem könnyen figyelhető meg, látszatra nem különbözik a normál növekedésű típusoktól. A sziklevelek felett a növények dőlni kezdenek, mivel csak itt kezd el kialakulni a mutánsokra jellemző szárszerkezet, ami az adott régióban sokkal vastagabb. A szárok puffadt szerkezete látványos és könnyen megfigyelhető (18. ábra). Ez kizárólag csak az internódiumoknál figyelhető meg, a nóduszoknál nincs növekedés, amiből arra következtethetünk, hogy csupán valamilyen térfogatnövekedésért felelős mutációról beszélhetünk.



18. ábra: A *pfi* mutánsokra jellemző puffadt szárszerkezet, ami az internodiumoknál figyelhető meg

4.2. *In vitro* kísérletek

4.2.1. *In vitro* csíráztatás

Az összes *in vitro* kísérletet Murashige és Skoog (1962) MS táptalajon végeztük (2. melléklet), ezen csíráztattuk és tartottuk fent a steril tenyészeteket.

A magok felületi sterilizálásának a lépései az alábbiak:

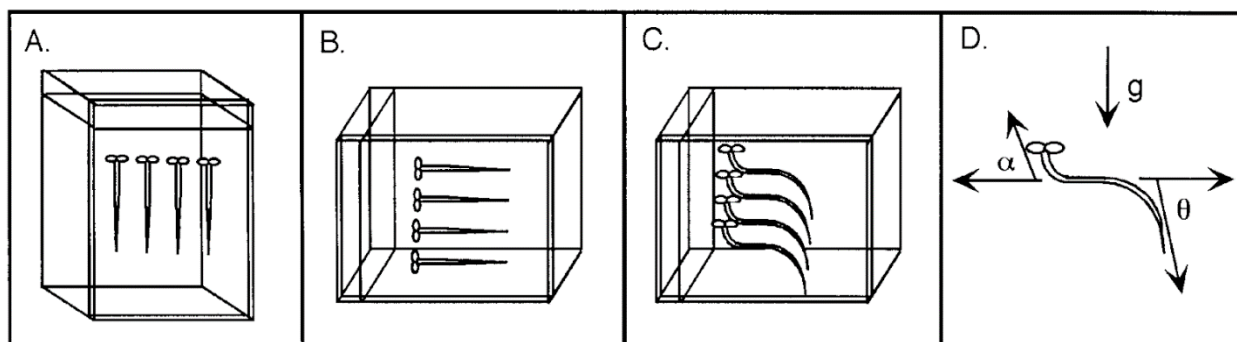
- A magok steril lombikba helyezése
- Rázatás 70%-os etil-alkoholban 45 másodpercig
- Rázatás 1% NaClO oldatban 20 percig
- Steril desztillált vizes atmoszféra háromszor
- A magok táptalajra helyezése

A két- és háromhetes csíranövények hipokotilnövekedésének vizsgálatához kettő-kettő darab magot helyeztünk egymástól egyenlő távolságra egy-egy 200 ml térfogatú steril üvegedénybe. A két- és háromhetes csíranövények vizsgálata azért indokolt, mert ebben a fejlődési szakaszban a hipokotil intenzív megnyúlási növekedést mutat, miközben a szöveti differenciálódás és lignifikáció még nem befolyásolja jelentősen a növekedési válaszokat. A foto-, és gravitropizmus vizsgálatához négy-négy magot helyeztünk egy 700 ml térfogatú befőttesüvegbe, egy sorba, egymástól egyenlő távolságra. A reorientációhoz szükséges időtartam meghatározásához egy-egy magot tettünk 100 ml térfogatú szögletes üvegedényekbe nagyjából középre. Az auxinos hormonkezeléshez négy-négy mag került egy 200 ml térfogatú üvegedénybe szórtan, egymástól egyenlő távolságra.

A magokat 25°C-on csíráztattuk, 16-8 órás fény-sötét periódusokkal és 1800 lux fényintenzitással, felső megvilágítással. A csírázott, két- és három hetes növényeket összehasonlítottuk annak megállapítására, hogy optimális körülmények között milyen mértékben mutatják a fekvő fenotípust. A kísérlet genotípusonként tíz biológiai ismétlésben végeztük. A növények dőlésszögét a táptalaj felszínéhez viszonyítva határoztuk meg, ahol a függőlegesen növő (egyenes) növények 90°-os szöget zártak be a táptalajjal. A dőlésszög meghatározása a növények magasságának (hipokotil-hosszának) mentén, milliméterenként történt, majd az egyes minták értékeit egymással összevetettük.

4.2.2. Foto-, és gravitropizmus kísérletek

Annak megállapítására, hogy miképpen reagálnak a növények a fényre és a gravitációra, Grube és munkatársai (2003) módszertanát alkalmaztuk (19. ábra). A kísérletet három hetes csíranövényekkel végeztük genotípusonként tíz biológiai ismétlésben. A módszertan lényege, hogy a csíranövények tárolóedényeit 90 fokkal elforgattuk, majd a hipokotilok dőlésszögét lemértük 24 óra elteltével.



19. ábra: Módszer a növények gravitropizmusának vizsgálatára: A, a növények szilárd táptalajra vannak helyezve; B, a táptalajt tartalmazó üveget elfordítjuk 90°-kal; C, a növények reorientálják magukat, hogy igazodjanak a gravitációs vektorhoz; D, a növények hipokotiljának (α) és gyökernének (θ) dőlésszöge meghatározható a vízszintes növekedéshez képest, g =gravitációs vektor (Grube *et al.*, 2003)

Az eldöntött kultúrában növekedő növények dőlésszögét a hipokotil hossza mentén határoztuk meg. A szögmérések során a táptalaj felszínére merőleges irányt 0°-nak tekintettük. A felfelé növekedő, gravitációval ellentétes irányú hajtások pozitív (0°–90°) értéket kaptak, míg a lefelé irányuló, gravitációval megegyező növekedésű hajtásokat negatív értéként rögzítettük. Az így meghatározott dőlésszög-értékeket a különböző növények között összevetettük. A kísérletet kiegészítettük egy olyan beállítással, amelyben a növények egy része zárt rendszerben, fitotronban, kizárólag egyoldali megvilágításnak volt kitéve, míg a másik csoport teljes sötétségben, minden fényhatástól elzárva növekedett genotípusonként négy biológiai ismétlésben.

4.2.3. Auxinos hormonkezelés

A gravitropizmust nem mutató *Pcx* mutáns növényeket különböző koncentrációjú auxin (indol-3-ecetsav) hormont tartalmazó MS táptalajon csíráztattuk, majd neveltük (0, 10 $\mu\text{M/l}$, 20 $\mu\text{M/l}$), hogy megfigyelhető legyen, hogy a hozzáadott auxin kifejti-e hatásmechanizmusát a növényeken, illetve képes-e megtörni az elfekvő fenotípust. Az auxin koncentrációk kiválasztása a szakirodalomban általánosan alkalmazott mikromoláris tartományon alapult, amely lehetővé teszi az auxin által közvetített növekedési és tropikus válaszok vizsgálatát, valamint a dózisfüggő hatások kimutatását. A kísérletet hormonkezelésenként tíz biológiai ismétlésben végeztük el. Megfigyeltük a hormonos táptalajon csíráztatott három hetes növények hipokotiljainak dőlését, hogy mutatják-e az elfekvő fenotípust.

4.3. Keményítőtartalom kvalitatív és kvantitatív meghatározása

4.3.1. Keményítő kimutatása Lugol-oldattal

A keményítőtartalom kimutatása a gyökércsúcsban Lugol-oldat (kálium-jodidos jóddoldat) segítségével történt. A három hetes csíranövényeket 70%-os etanol oldatba helyeztük, hogy minden színyanyagot eltávolítsunk. Az alkohol oldat gyakori cseréje, valamint a növények folyamatos rázatása felgyorsíthatja a folyamatot. Ez a folyamat addig zajlott, amíg a növények teljesen színtelenek lettek. A színtelen növények festését 3%-os Lugol-oldatban 5-10 percig tartó inkubációval végeztük. A Lugol-oldat keményítő jelenlétében sötétkékes színeződést mutat. A gyökércsúcsok vizsgálata Leica LEITZ DMRXE (Wetzlar, Németország) sztereomikroszkóppal, 8x-os nagyításon történt. A módszer csak ellenőrzésként szolgál, hogy a keményítő valóban jelen van a szövetekben.

4.3.2. Keményítőtartalom analitikai mérése

A teljesen kifejlett, csírázástól számított 12 hetes növények szárának keményítőtartalmának analitikai meghatározása Sigma-Aldrich® Starch (HK) Assay Kit segítségével történt a gyártó útmutatása alapján (Zhu *et al.*, 2016). A vizsgálatban részt vevő enzimek az amiloglükozidáz, a hexokináz és a glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz. A vizsgálathoz mindegyik típusból 1 g szármintát gyűjtöttünk. A kísérletet öt biológiai és két technikai ismétlésben végeztük. A szármintákat mozsárban porítottuk, majd a mintákat egy 150 ml-es lombikba helyeztük, és 25 ml deionizált vízzel felöntöttük. Az oldatok pH-jának optimálisan 5 és 7 közé kell, hogy esnie. A mintákat folyamatos keverés mellett felforraltuk, majd 3 percig

forrásban tartottuk. Ezután a lombikokat lezárva autoklávban 1 órán át 135°C-on kellett tartani. A mintákhoz visszahűtés után, 100 ml deionizált vizet adtunk hozzá.

1 ml mintára 1 ml Starch Assay Reagent oldatot mértünk, majd 60°C-on 15 percig inkubáltuk. Az inkubáció után szobahőmérsékletre kellett hűteni. A mintákhoz 200 µl Glucose Assay Reagent oldatot mértünk, majd 15 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk.

A minták abszorbanciájának meghatározását 340 nm hullámhosszon Jenway 6105 UV/Vis spektrofotométerrel végeztük. A konkrét mennyiségeket a gyártó útmutatásában található képlet segítségével határoztuk meg.

$$A_{\text{Total Blank}} = (A_{\text{Minta Blank}} - A_{\text{Glucose Assay Reagents Blank}}) + A_{\text{Starch Assay Reagents Blank}}$$

$$SC = \frac{(\Delta A) (TVSA/SVSA) (TVGA/SVGA) (\text{Keményítő molekulatömege})}{(\epsilon) (d) (1000)}$$

SC = Keményítőtartalom

$\Delta A = A_{\text{Teszt}} - A_{\text{Total Blank}}$

TVSA = Total Assay térfogata Starch Assay-ből ml-ben

SVSA = Minta térfogata Starch Assay-ből ml-ben

TVGA = Total Assay térfogata Glucose Assay-ből ml-ben

SVGA = Minta térfogata Glucose Assay-ből ml-ben

Keményítő molekulatömege = 162,1 g/mol,

ϵ = Millimoláris extinkciós együttható NADH-ra 340 nm-en $\text{millimol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, (ml/mmol)(1/cm)

d = Fény útja (cm) = 1 cm

1000 = Váltószám µg-ből mg-ba

4.4. Lignintartalom kvalitatív és kvantitatív meghatározása

4.4.1. Lignin kimutatása floroglucin festéssel

A festési eljárást Nakano és Meshitsuka (1992) módszertana alapján végeztük. A floroglucin reagens elkészítéséhez 2,08 g floroglucin-dihidrátot oldottunk fel 100 ml abszolút etanolban, majd az oldatot 50 ml tömény sósavval elegyítettük. A kész reagens korlátozott stabilitása miatt sötétített, zárt edényben tároltuk, és elkészítése után a lehető leghamarabb felhasználtuk.

Az oldatot a különböző genotípusok szárának metszeteire csepegtettük, amely lignin jelenlétében azonnali színreakciót eredményezett. A háromhetes *Pcx*, *tti* és 'Fehérözön' (kontroll) növények hipokotiljaiból készített metszeteket a floroglucin festést követően Leica LEITZ

DMRXE (Wetzlar, Németország) mikroszkóp alatt, 16×-os nagyításon dokumentáltuk. A módszert kizárólag ellenőrzési célokra alkalmaztuk, a lignin jelenlétének igazolására a szövetekben.

4.4.2. Lignintartalom analitikai meghatározása

A lignintartalom analitikai meghatározása Moreira-Vilar és munkatársai (2014) acetil-bromidos módszerének protokollján alapul (3. melléklet). A teljesen fejlett, csírázástól számított 12 hetes paprikanövények szárait a levelektől megtisztítottuk, majd a náduszkok elhelyezkedése alapján három régióra (alsó, középső és felső szárszakasz) osztottuk. Az alsó régió a föld feletti szárrész kezdetétől, a középső a növény mértani közepén, míg a felső a hajtáscsúcs közelében helyezkedett el. Mindhárom régióból körülbelül 8 cm hosszúságú szárdarabokat vágunk, majd régiónként külön homogenizáltuk őket (20. ábra).

A minták abszorbanciáját 280 nm hullámhosszon Jenway 6105 UV/Vis spektrofotométerrel határoztuk meg. Az abszorbanciaértékek alapján, standard görbe felhasználásával számítottuk ki a minták pontos lignintartalmát. A standard görbét Sigma-Aldrich® alkáli lignin alkalmazásával készítettük. Mindegyik genotípus mindhárom régióját tíz biológiai ismétlésben mértük.



20. ábra: A szár különböző részeinek meghatározása mintavételhez a lignintartalom és mechanikai tulajdonságok értékeléséhez

4.5. Szárkeménység mechanikai vizsgálata

A mutáns nemesítési vonalak és a kontroll paprikanövények esetében a szárkeménységet hárompontos töréssel határoztuk meg TA.XTplusC (Stable Micro Systems) textúraanalizáló berendezés segítségével. A mérésekhez a lignintartalom analitikai meghatározására szolgáló módszertan alapján előkészített szárdarabokat használtuk, amelyeket az internódiumok középső részénél helyeztünk a mérőberendezés alá. Mindegyik genotípus mindhárom régióját tíz biológiai ismétlésben mértük.

A mechanikai vizsgálat során a berendezés folyamatos terhelést fejtett ki a szármintákra, és meghatározta azt az erőt (N), amely a szárok törését vagy teljes elhajlását okozta (21. ábra). A mérésekhez kizárólag ép, kórokozók és kártevők által nem károsított szárokat választottunk. Az eredményeket az Exponent Connect szoftverrel dokumentáltuk.



21. ábra: Mechanikai 3-pont töréssel alkalmazása textúra analizáló géppel paprikaszár esetében

4.6. Génexpressziós vizsgálatok

4.6.1. RNS izolálás

Az RNS izolálását a csírázástól számított 12 hetes, teljesen fejlett paprikanövények szárszegmenseiből végeztük. Az RNS kivonása OMEGA E.Z.N.A.® Plant RNA Kit felhasználásával történt, a gyártó utasításainak megfelelően (4. melléklet).

Az RNS izolálás sikerességét NanoDrop® ND-1000 UV–Vis spektrofotométerrel ellenőriztük, majd a mintákat -70 °C -on tároltuk.

4.6.2. Reverz transzkripció cDNS szintézis

A cDNS szintézisát Thermo Scientific™ Maxima H Minus First Strand cDNA Synthesis Kittel végeztük a gyártó utasításai alapján (5. melléklet).

4.6.3. Alkalmazott primerek

A vizsgálatba bevont géneket korábbi, hasonló mutációkat ismertető tudományos közlemények alapján választottuk ki. A kiválasztott gének paprikában leírt szekvenciáit az NCBI (National Center for Biotechnology Information, USA) adatbázisában azonosítottuk. A PCR-reakciókhoz szükséges primereket ezt követően a génbanki azonosítókhoz tartozó szekvenciákhoz a Primer3 program alkalmazásával, saját tervezéssel készítettük ([http4](http://primer3.org)). A génexpressziós vizsgálatokhoz alkalmazott primerek listáját a 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: A génexpressziós vizsgálatokhoz alkalmazott primerek

Primer	Szekvencia	TM (°C)	Amplikon hossza	Génbanki azonosító
CaPAL Fw	gcagagtcattgaaaggtagcc	55,9°C	168 bp	XM_016699298.2
CaPAL R	tgcatectcagataactccact	55,4°C		
CaC4H Fw	attatcctagcgtgccaattc	56°C	219 bp	NM_001325053.1
CaC4H R	tatcagatttctccagagccccc	55,3°C		
Ca4CL Fw	acctgatgtgaaaaatccagcct	56,7°C	178 bp	NM_001324830.1
Ca4CL R	gcaacacatcaacacgttctca	56,1°C		
CaCCoAOMT Fw	gttggtggactgattggctatg	55,9°C	160 bp	XM_016705577.2
CaCCoAOMT R	gaagctggcagatttcgattct	55,4°C		
CaCAD Fw	cgatgttaagcgttcaaagtt	54,1°C	157 bp	XM_016696173.2
CaCAD R	agtaactgtaccatccgtgtct	55,2°C		
CaGA2ox1 Fw	ctggaaatgatagcagaagggc	65,8°C	172 bp	XM_016706507.2
CaGA2ox1 R	ggtctgtgtgttctccaaatcc	64,6°C		
CaGA2ox2 Fw	ggtcattgcgagaatgaaaga	67,2°C	198 bp	NM_001324585.1
CaGA2ox2 R	ttagacatggtttggcacgtt	65,2°C		
CaGA2ox6 Fw	tctcctctcctacatgacttg	55,3°C	150 bp	XM_047404979.1
CaGA2ox6 R	tcgcatctggtcttttctctct	55,7°C		
CaGA3ox1 Fw	ccatactgaccatcctacacca	63,5°C	169 bp	XM_016707277.2
CaGA3ox1 R	acagcttgatgtaacacactcg	61,8°C		
CaGA20ox Fw	ctccaaacaccttccaacctc	63,8°C	185 bp	XM_016726684.2
CaGA20ox R	ctatattcccttcgccagcaag	65,6°C		
CaGA20ox1 Fw	acacaattcatatggccggatg	55,6°C	188 bp	XM_016709248.2
CaGA20ox1 R	ttagcgtcaactccatggttca	56,4°C		
CaAktin Fw	gtccctgacaatttctcgtcag	58,6°C	175 bp	XM_016716696.2
CaAktin R	ggactccggtgatggtg	61,4°C		

4.6.4. Real-Time PCR vizsgálatok

A kvantitatív PCR vizsgálatokat a géneexpressziós szintek meghatározására Stratagene MX3000p qPCR készüléken végeztük, Thermo Scientific™ PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix alkalmazásával. A qPCR-reakciókat a „standard cycling mode” protokoll szerint hajtottuk végre, 60 °C-os annealing hőmérsékleten. A végső reakciótérfogat 10 µl volt, amely 5 µl 2× PowerUp™ SYBR™ Green Master Mixet, 0,75 µl forward és 0,75 µl reverz primert (10 µM), valamint 1 µl, 50 ng/µl koncentrációra hígított cDNS-t tartalmazott. Kontrollként a háztartási gén minden esetben az aktin volt. A különböző genotípusokhoz tartozó, a lignintartalom analitikai meghatározásánál ismertett három szárregió mintáin a géneexpressziós vizsgálatokat három biológiai és három technikai ismétlésben végeztük.

4.7. Statisztikai elemzések

Az *in vitro* gravitációra irányuló kísérletek eredményeinek statisztikai kiértékelését egytényezős varianciaanalízis (ANOVA) alkalmazásával végeztük. A reorientációhoz szükséges időtartam értékeit kétmintás t-próbával, eltérő szórás feltételezése nélkül (Welch-féle t-próba) hasonlítottuk össze Microsoft Office LTSC Professional Plus 2021 Excel program segítségével. A szignifikancia szint $p=0,05$ szinten került meghatározásra.

Az *in vitro* kísérletek eredményeinek, valamint a keményítőtartalom mérési adatainak szemléltetését a Microsoft Office LTSC Professional Plus 2021 Excel programmal készített diagramok segítségével végeztük.

A szártörési adatok és a lignintartalom összehasonlítását többváltozós varianciaanalízissel (MANOVA) értékeltük ki az IBM® SPSS® Statistics 23-as verziójának felhasználásával.

A géneexpressziós vizsgálatok eredményeit hőtérképen szemléltettük a TBtools program segítségével. A hőtérkép színskálája kék–fehér–piros volt, a minimum- és maximumértékekhez igazítva. A géneket és a mintákat hierarchikus klaszterezéssel rendeztük a minták közötti hasonlóságok vizualizálása érdekében.

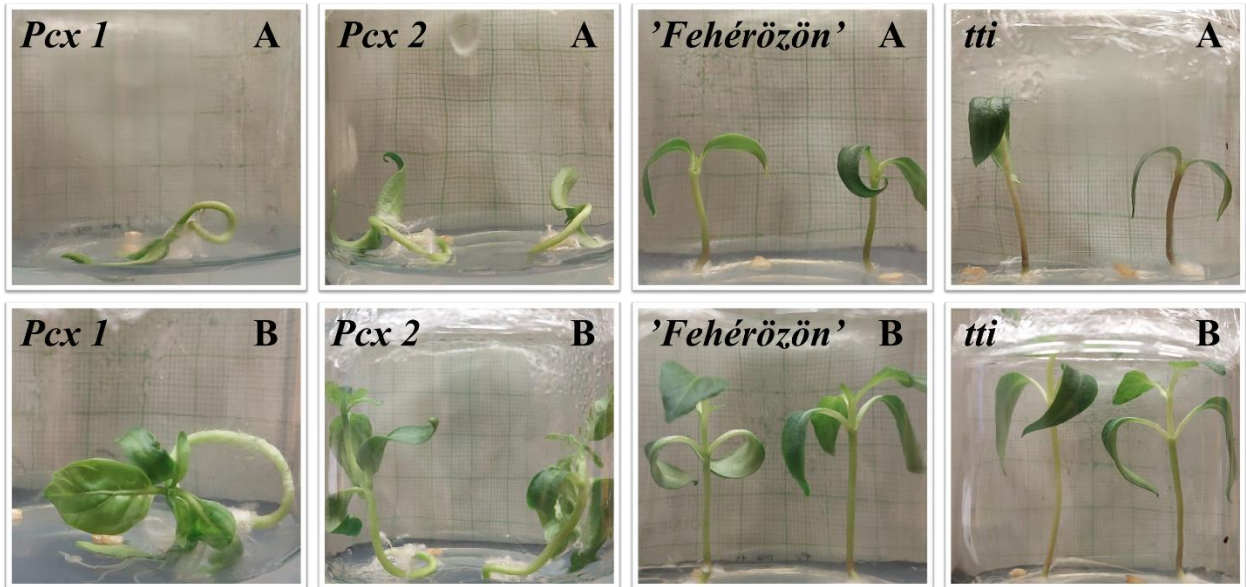
5. Eredmények és értékelésük

5.1. *In vitro* kísérletek eredményei

Az *in vitro* nevelés során a környezeti feltételek szigorúan kontrolláltak voltak, így kizárhatóvá váltak a fény-, hőmérséklet-, víz- és tápanyagellátás ingadozásából, valamint a talajeredetű biotikus stresszfaktorokból származó hatások. Ennek köszönhetően a megfigyelt fenotípusos eltérések elsősorban genetikai eredetűek voltak.

5.1.1. A két és három hetes csíranövények hipokotil növekedésének vizsgálata

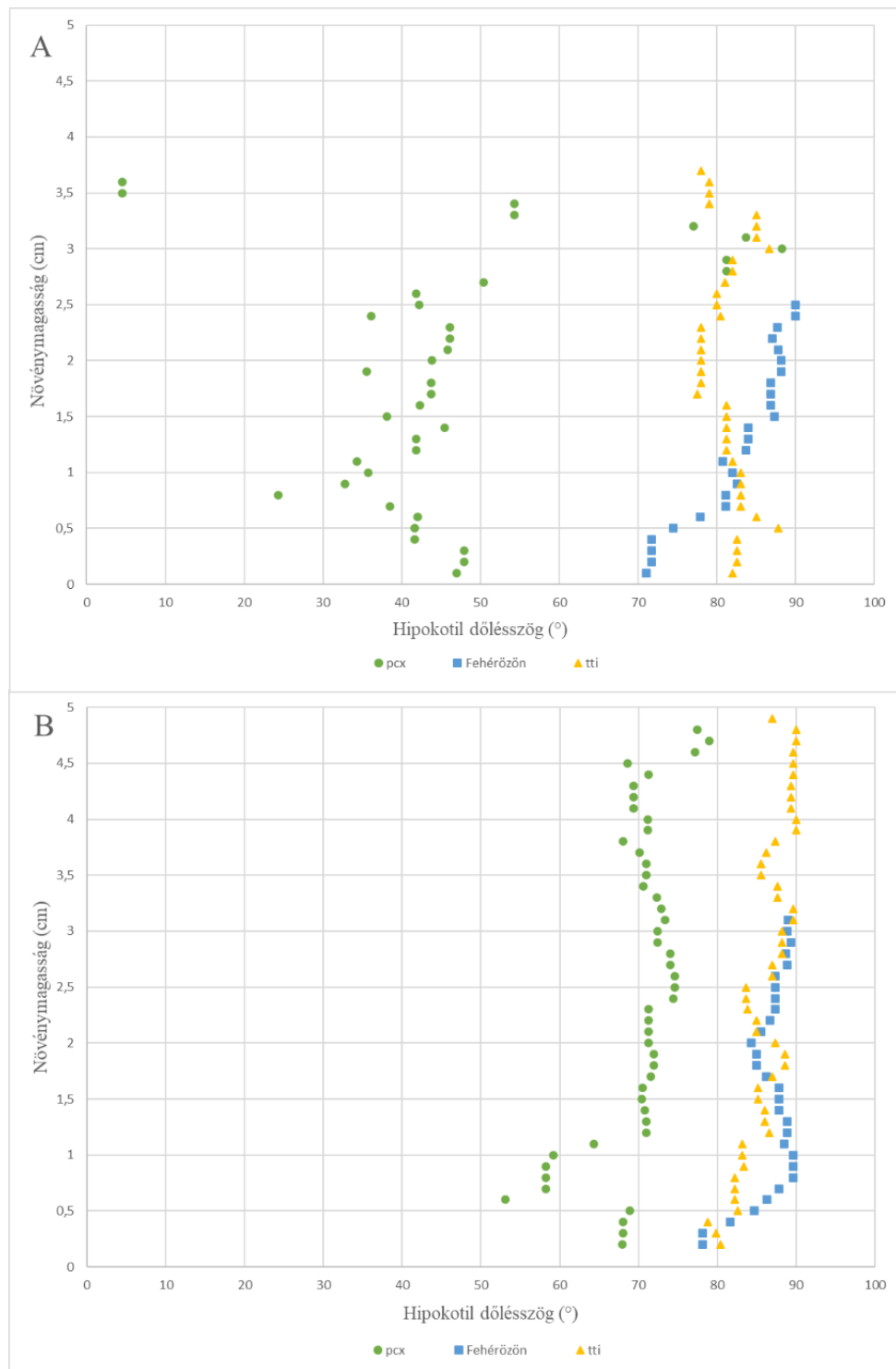
Az elvégzett kísérletek arra fókuszáltak, hogy a vizsgálat során a *Pcx* meg a *tti* mutánsok miképpen reagálnak a különböző abiotikus tényezőkre, a fényre, illetve a gravitációra, valamint, hogy már a korai fejlődési stádiumukban is megfigyelhetőek-e a mutáns fenotípusok, mivel ezek a típusok teljesen kifejlett formájukban abnormálisan, dőlve, illetve fekvő növekednek. Kontrollként a 'Fehérözön' fajtát alkalmaztuk. A hipokotil növekedési iránya minden esetben függetlennek bizonyult a gyökérnövekedéstől, mivel minden egyes növény esetében csak olyan jelenség lett dokumentálva, hogy a gyökerek a gravitáció irányába növekednek. Az *in vitro* csíráztatott növények fejlődését két- és három hetes korban dokumentáltuk (22. ábra), ahol a növénymagasságot miliméterben határoztuk meg, míg a hipokotil relatív dőlésszögét fokban (°) rögzítettük. A dőlésszög a hipokotil táptalajhoz viszonyított eltérését jelzi, a 90° pedig a teljesen függőleges, merőleges helyzetet reprezentálja, lehetővé téve a gravitációs és egyéb növekedési irányokra adott válaszok kvantitatív összehasonlítását a különböző genotípusok között.



22. ábra: Két- (A), és három hetes (B) *Pcx 1* – olyan fekvő genotípus, ami megőrzi ezt a tulajdonságát, *Pcx 2* – olyan fekvő genotípus, amely fekvő tulajdonsága már nem figyelhető meg a későbbi fejlődési fázisban), *tti* és 'Fehérözön' (kontroll) csíranövények *in vitro* körülmények között

Megfigyeléseink alapján akár egy hét tenyésztés is jelentős változást, teljesen más dőlési szöveget idézhet elő a mutánsok között. A *Pcx* vonal egyedei között az üvegházi körülmények közt nevelt növényekre is jellemző három növekedési formát lehetett lejegyezni, a végig felálló típust, a kezdetben fekvő, majd később felfelé növekvő típust, valamint a végig fekvő maradó típust. A vizsgálatokba a végig fekvő, valamint a kezdetben elfekvő, majd később felálló növényeket vontuk be, mivel ezek mutatták a gravitropikus válasz zavarára utaló fenotípust. A végig felálló típus nem tért el számottevően a normál növekedési mintázattól, ezért nem került elemzésre. A *tti* növények esetében csak valamivel hosszabb hipokotil figyelhető meg, de a kontroll növényekkel megegyezően a gravitációs vektort követve felfelé növekednek.

A csíranövények hipokotiljának hosszát, valamint a növénymagassághoz tartozó dőlésszöveget a 23. ábra tartalmazza.



23. ábra: A *Pcx 1* és *2*, *tti* és 'Fehérözön' (kontroll) növények hipokotiljainak dőlésszöge összevetve a növényt magassággal a két- (A) és három hetes (B) kultúrák esetében. Genotípusonként 10 biológiai ismétlés ($n = 10$) került vizsgálatra, és az ábrán ezek átlagértékei szerepelnek. A növényt magasság centiméterben, míg a hipokotil viszonyított dőlésszöge fokban ($^{\circ}$) van meghatározva, milliméterenkénti felbontásban mérve. A dőlésszög a hipokotil helyzetét jelzi a táptalajjal bezárt szögben, ahol 90° a teljesen függőleges helyzetet jelenti.

A két- és három hetes csíranövények magasságához és ehhez tartozó dőlésszögéhez tartozó statisztikai elemzéséhez egytényezős varianciaanalízist (ANOVA) alkalmaztunk. (2. és 3. táblázat). Szignifikáns különbséget találtunk a kéthetes növények hipokotil-görbületében az egyes genotípusok között $p=0,05$ szinten a három tényező esetében [$F(2, 98) = 117,1, p = 1,05008E-26$].

2. táblázat: Egytényezős varianciaanalízis a kéthetes genotípusok hipokotil görbülete között

VARIANCIANALÍZIS						
<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	30311,20	2	15155,60	117,10	1,05E-26	3,09
Csoporton belül	12683,36	98	129,42			
Összesen	42994,56	100				

Szignifikáns különbséget találtunk a háromhetes növények hipokotil-görbületében is az egyes genotípusok között $p=0,05$ szinten, a három tényező esetében [$F(2, 125) = 250,02, p = 2,05612E-44$].

3. táblázat: Egytényezős varianciaanalízis a háromhetes genotípusok hipokotil görbülete között

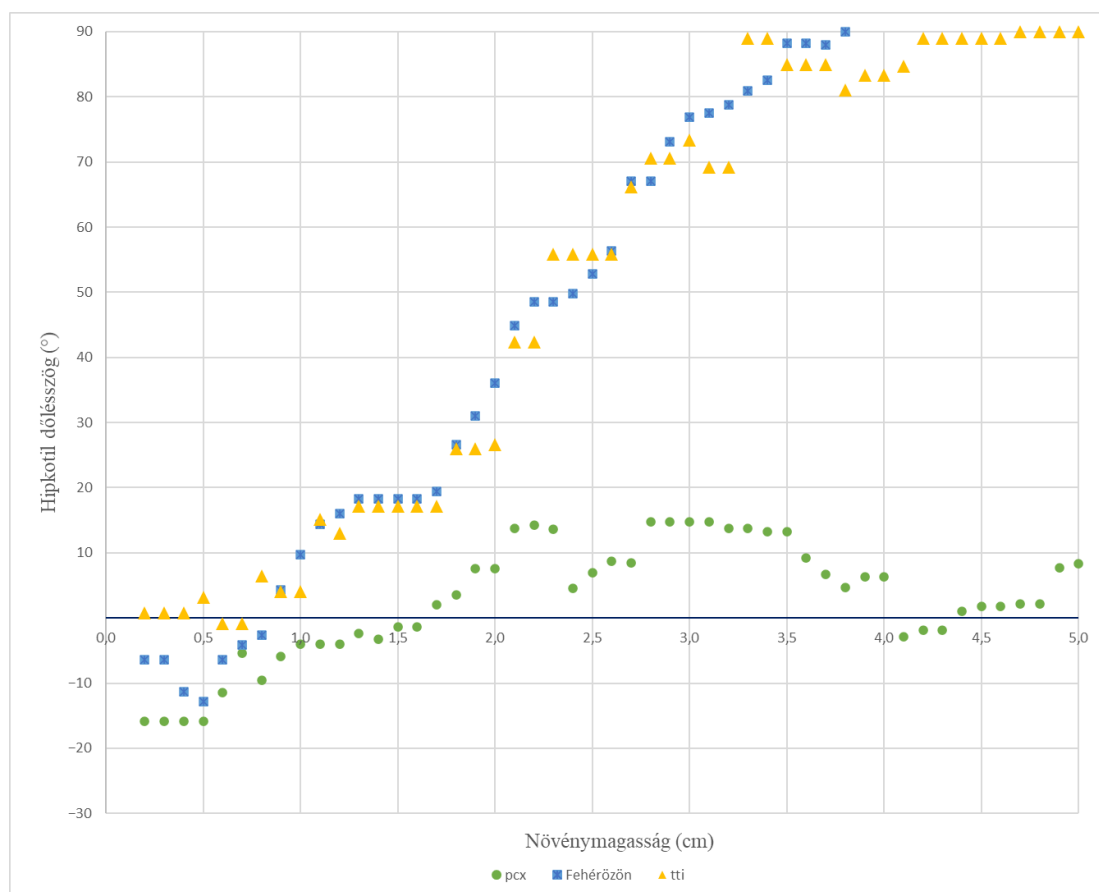
VARIANCIANALÍZIS						
<i>Tényezők</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-érték</i>	<i>F krit.</i>
Csoportok között	8027,24	2	4013,62	250,02	2,06E-44	3,07
Csoporton belül	2006,69	125	16,05			
Összesen	10033,93	127				

A korábbi eredmények összegzése után a *Pcx* növények abnormális növekedése mutat kiugró eredményt, mivel a *tti* és a kontroll növények a táptalajhoz képest mindig 90° -hoz közeli dőlésszöget mutatnak. A *Pcx* növények nem csak a többi genotípustól különböznek, az azonos utódnemzetségből származó egyedek között is nagy eltérések mutatkoznak. A 23. ábrán megfigyelhető, hogy a három hetes növények dőlésszögeinek átlaga egyre inkább a 90° -hoz konvergál, ez azzal magyarázható, hogy bizonyos *Pcx* egyedek a nagyon korai fejlődési fázis után elveszítik a fekvő tulajdonságukat, így ez eltolta az átlagértéküket is. A szakirodalomban több növényfajban is leírtak a *Pcx* mutánshoz hasonló fenotípusú mutánsokat, többek között paradicsomban (Gaiser és Lomax, 1993), tatárkában (Liang *et al.*, 2022) és rizsben (Abe *et al.*, 1996). Li és munkatársai (2007) bizonyították rizs esetében, hogy abnormális növekedésnél a

gravitáció érzékelés hiánya a *LAZY1* gén működéséhez köthető. Ennek ellenére olyan mutációt korábban egy növény esetében sem jegyeztek le, ahol az antigravitropikus növekedés idővel megszűnt volna.

5.1.2. A mutáns genotípusok fényre és gravitációs ingerre adott válaszreakcióinak vizsgálata

A korábbi kísérlet eredményeit figyelembe véve a növényeket 90°-kal megdöntöttük, majd a hipokotil dőlésszögét ismételten mértük 24 órával a reorientációt követően; a növénymagasságot centiméterben, a hipokotil relatív dőlésszögét pedig fokban (°) határoztuk meg, milliméteres felbontásban. A dőlésszög a hipokotil táptalajhoz viszonyított eltérését jelzi, ahol a 0° a táptalajra merőleges helyzetet, míg a 90° a teljesen függőleges pozíciót reprezentálja. Az eredményeket a 24. ábra tartalmazza.



24. ábra: A *Pcx1* és *2*, *tti* és 'Fehérözön' (kontroll) növények hipokotiljainak dőlésszöge összevetve a növénymagassággal 24 órával a 90°-os döntés után három hetes csíranövények esetében.

Genotípusonként 10 biológiai ismétlés ($n = 10$) került vizsgálatra, és az ábrán ezek átlagértékei szerepelnek. A növénymagasság centiméterben, míg a hipokotil viszonyított dőlésszöge fokban (°) van meghatározva, milliméterenkénti felbontásban mérve. A dőlésszög a hipokotil eltérését jelzi a táptalajhoz viszonyított merőlegestől (0°), ahol 90° a teljesen függőleges helyzetet jelenti.

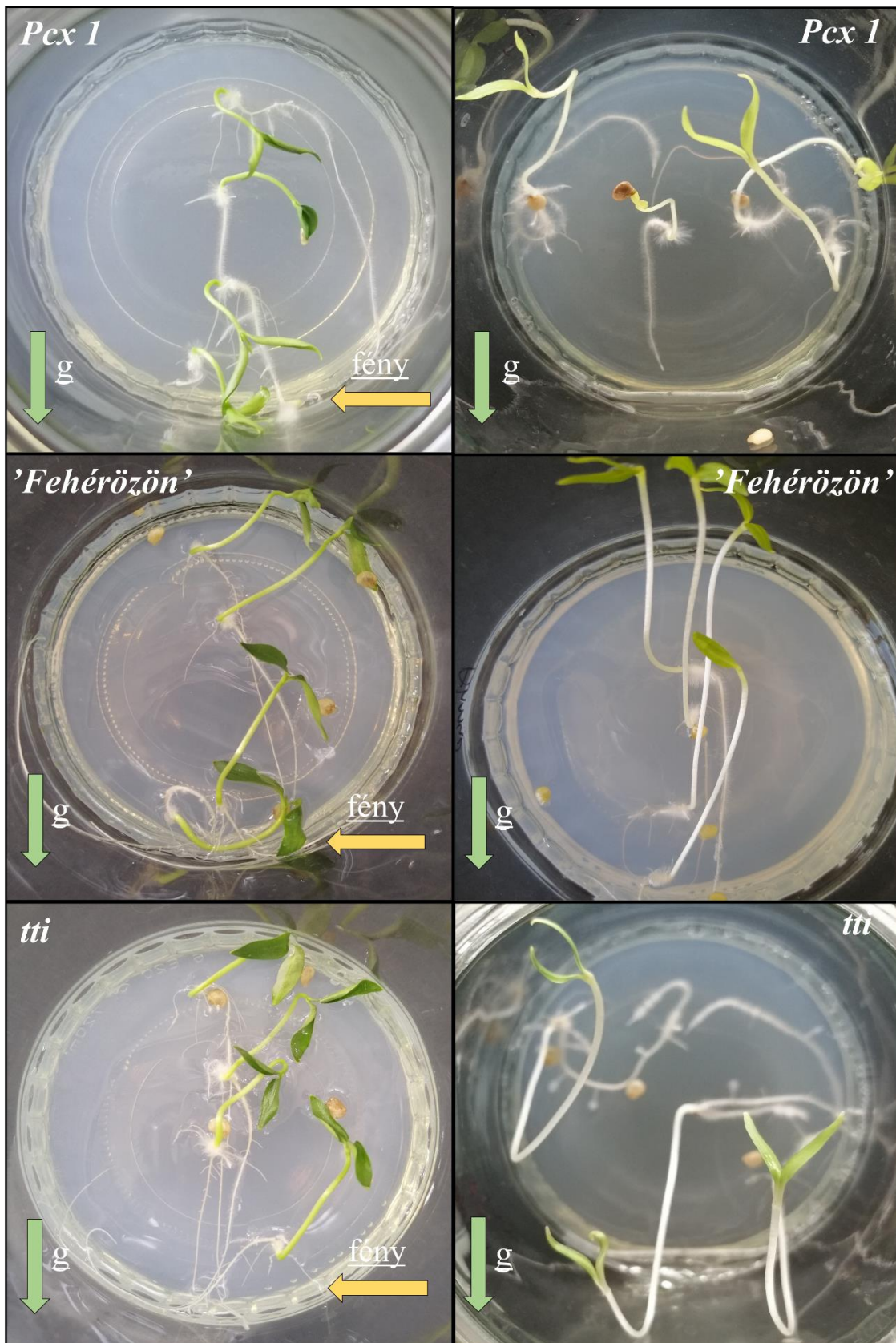
A kísérlet végeztével kizárólag a *Pcx* növények mutattak abnormális fenotípust, ami összhangban van a korábbi megfigyelésekkel. Eredményeink ezt a jelenséget kísérletesen is alátámasztották. A *tti* és a kontroll növények mind ismét 90°-hoz közeli átlagot produkáltak a dőlésszögüket tekintve, míg *Pcx* esetében ismét nagyon nagy a szórás. A 3 hetes csíranövények statisztikai összehasonlításához, egytényezős varianciaanalízist (ANOVA) alkalmaztunk (4. táblázat). Szignifikáns különbség mutatkozott a genotípusok között a hipokotil görbületben $p=0,05$ szinten, $[F(2, 137) = 41,24, p = 9,53938E-15]$.

4. táblázat: Egytényezős varianciaanalízis a háromhetes genotípusok hipokotil görbülete között 24 órával a 90°-os eldöntés után

VARIANCIANALÍZIS						
Tényezők	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Csoportok között	72512,86	2	36256,43	41,24	9,54E-15	3,06
Csoporton belül	120441,43	137	879,13			
Összesen	192954,28	139				

Mivel ismert, hogy a fény- és gravitációérzékelés útvonalai kölcsönhatásban állnak, és együtt határozzák meg a növények szabályos növekedését (Correll és Kiss, 2002), ezért vizsgálatunkban elemeztük, hogy a különböző genotípusok miként reagálnak e két inger együttes vagy elkülönített hatására (25–26. ábra). A kísérlethez minden genotípusból két tenyészedenyt készítettünk elő, egyenként négy-négy *in vitro* csíráztatott növényvel, továbbá ugyanilyen összeállításban kontroll növényeket is alkalmaztunk. A tenyészedenyek felét standard, felülről érkező megvilágítás alatt tartottuk, míg a másik felét teljes sötétségben neveltük a kísérlet kezdetéig. Amikor a csíranövények elérték a három hetes kort, az edényeket 90°-kal lettek megdöntve, ezt követően pedig a növények egyik fele továbbra is sötétben maradt, míg a másik fele növénynevelő kamrában egyoldali megvilágításnak lett kitéve.

A korábban vizsgált genotípusok mellett a vizsgálatban az *frx* és *pfj* mutánsok is szerepeltek. Bár ezek a mutánsok a három hetes fejlődési fázisban még nem mutatnak bókoló hipokotilt, a fényre és gravitációra adott válaszuk vizsgálata értékes információval szolgálhat a gravitropizmus és fototropizmus genotípus-specifikus szabályozásáról. Így a kísérlet lehetővé tette, hogy összehasonlítsuk az eltérő genetikai háttérrel rendelkező növények korai, még nem bókoló fejlődési fázisban mutatott reakcióit is.



25. ábra: A foto- és gravitropizmusra adott válaszreakciói a *Pcx 1*, 'Fehérözön' (kontroll) és *tti* genotípusoknak, g = gravitációs vektor, fény = az oldalsó megvilágítás iránya



26. ábra: A foto- és gravitropizmusra adott válaszreakciói a *pfi*, 'Fehérözön' (kontroll) és *frx* genotípusoknak, g = gravitációs vektor, fény = az oldalsó megvilágítás iránya

A kísérleti eredményeket tekintve a kontroll növények látványosan reagáltak mind a fényre, mind a gravitációs ingerre. Mivel sötétben növesztve is tökéletesen követik a gravitációs vektort, így bizonyításra került, hogy a teljes gravitáció érzékelő rendszer hibátlanul funkcionál a növényen belül.

A *tti* mutánsok is mindkét ingerre pozitívan reagáltak, bár néhány különbség észrevehető. A teljes sötétségben csíráztatott növények esetében megfigyelhető, hogy bár a sziklevelek igyekeznek elérni a tenyésztedény tetejét, mégis dőlés tapasztalható amiatt, hogy a szár megnyúlt szerkezete képtelen megtartani azok súlyát. Megnyúlt, irreálisan hosszú internodiumokért az abnormális gibberellin szint lehet felelős a növényeken belül. Sun és munkatársai 2019-ben írtak le olyan paradicsom mutánsokat, amelyek folyamatosan, biológiailag aktív gibberellin hatás alatt állnak, így azok hosszabbak, megnyúltak lesznek. Lanahan és munkatársai (1988) olyan árpa növényeket írtak le, amelyek hasonló szárszerkezettel rendelkeznek, esetükben sikerült is dokumentálni, hogy az állandó gibberellin hatás idézi elő ezt a növekedési formát.

Pcx mutánsok esetében tapasztalható, hogy bár mindegyik növényegyed reagált a fényre és el is fordultak annak irányába, közben mégis bókoló formát mutattak, sötét környezetben pedig teljesen véletlenszerű növekedést figyelhető meg velük kapcsolatban. Kim és munkatársai (2011) dokumentáltak hasonló mutánsokat *Arabidopsis thaliana* esetében. Kísérletük során olyan növényeket mutattak be, amelyek teljes sötétségben növekedve reorientáció után nem reagáltak a gravitációra, a *Pcx* növényeinkhez hasonlóan. A jelenség genetikai háttere a fitokróm jelátviteli rendszer zavarásával hozható összefüggésbe, amely közvetetten befolyásolja az auxintranszportot és a gravitropikus válasz kialakulásához szükséges aszimmetrikus auxin eloszlást. A fitokróm rendszer hibás működése ezért negatív gravitropikus fenotípust eredményezhet.

A *pfi* mutáns növények fiatal korban nem mutattak számottevő fenotípusos eltérést a kontroll növényekhez képest. Eredményeink összhangban vannak a nemesítési tapasztalatokkal, és kísérletesen is alátámasztják, hogy a mutáns jelleg csak a későbbi fejlődési stádiumokban válik láthatóvá.

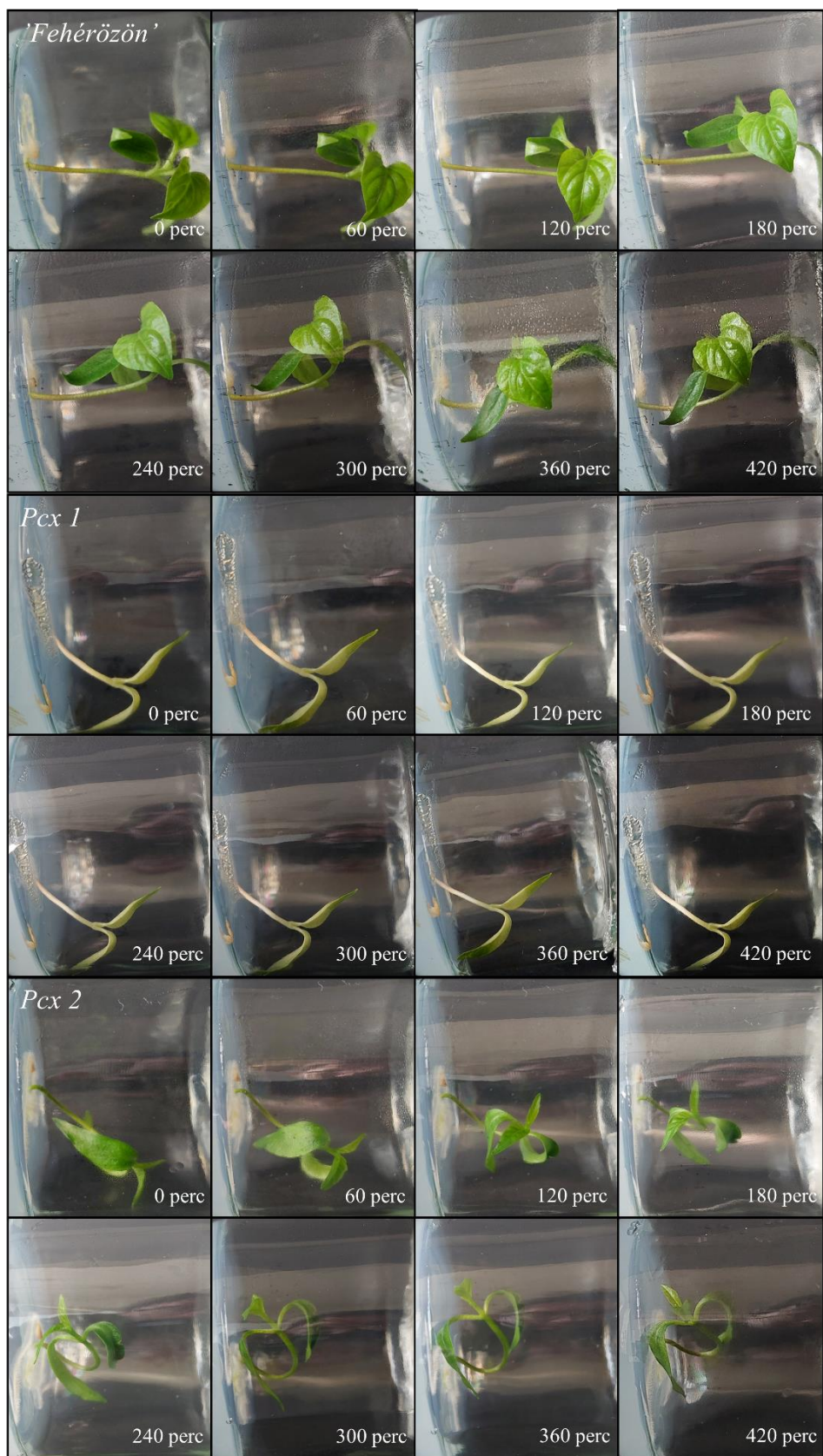
Az *frx* mutánsok reagáltak a fényre, valamint sötétben csíráztatva a gravitációra is, csak az oldalsó megvilágítás esetén figyelhető meg a bókoló fenotípus. Ez a *tti* növények esetében dokumentált növekedéshez hasonló, hogy a növények hipokotil szerkezete egyszerűen képtelen elbírnai a sziklevelek súlyát, a hipokotil belső szerkezete nem megfelelő. Sakamoto és Mitsuda (2015) írt le olyan mutáns *Arabidopsis thaliana* növényt, amelyből szinte teljesen hiányzik a lignin, így a szerkezeti hiányosságai miatt teljesen bókoló formát mutatnak, az *frx* növényekhez hasonlóan dőlnek.

A gyökerek növekedése minden esetben teljesen normális, a gyökerek csúcsa megtalálja a gravitációs vektort és növekedésüket lefelé folytatják, ez arra utal, hogy minden mutáns esetében

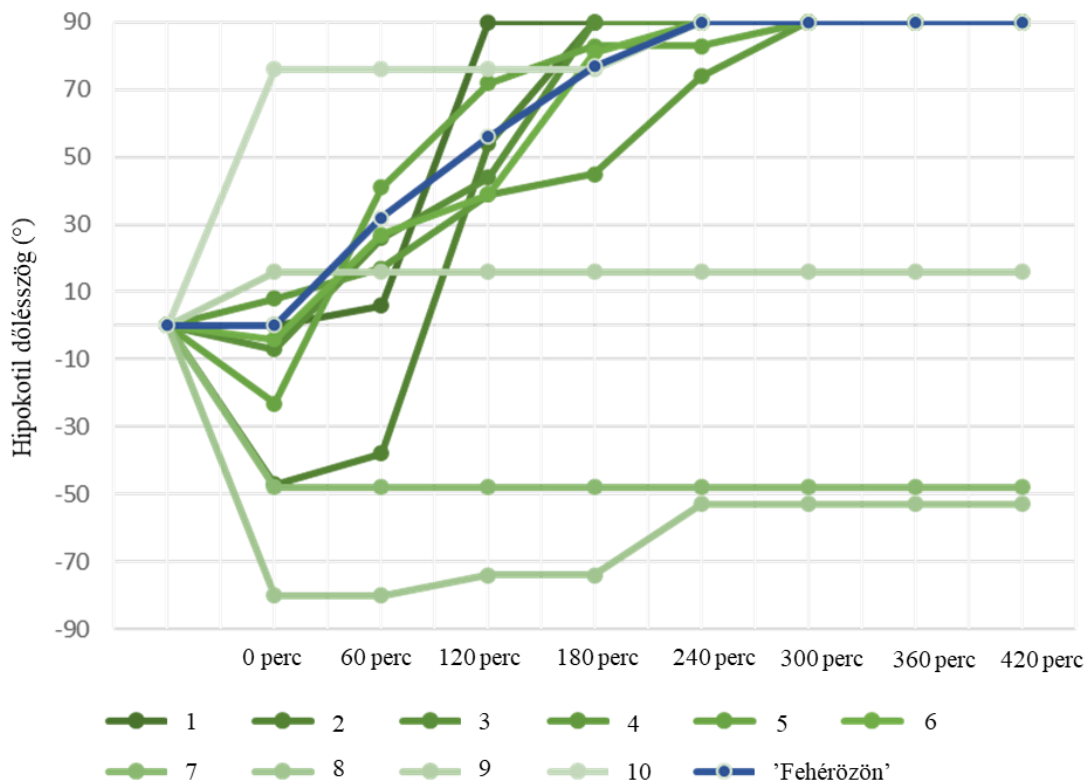
a bókoló fenotípusért felelős mutáció a gyökértől teljesen független, hasonlóképpen Fukaki és munkatársai (1996) által leírt *Arabidopsis* mutánsokhoz, amelyeknél dokumentálták, hogy a gravitáció érzékelést érintő mutáció csak a hajtásnövekedésre volt hatással, a gyökérzet fejlődését nem érintette.

5.1.3. A reorientációhoz szükséges időtartam vizsgálata *Pcx* mutánsok esetében

Az abnormális gravitropikus választ mutató növények esetében az új gravitációs vektorra történő elmozduláshoz szükséges időtartamot határoztuk meg egy 90°-os reorientáció után. Mivel a vizsgált genotípusok közül kizárólag a *Pcx* mutánsok mutatták a gravitropikus válasz hiányát, a gravitropizmus időbeli követését csak ezeknél a növényeknél végeztük el, és eredményeiket a 'Fehérözön' (kontroll) növényekkel vetettük össze. Az elforgatott 'Fehérözön' és *Pcx* (27. ábra) növények dokumentációja óránként történt. A hipokotil görbületének időbeli változását a 28. ábra szemlélteti egy közös grafikonon.



27. ábra: Három hetes 'Fehérözön' (kontroll), *Pcx 1* – olyan fekvő genotípus, ami megőrzi ezt a tulajdonságát, és *Pcx 2* – olyan fekvő genotípus, amely fekvő tulajdonsága már nem figyelhető meg a későbbi fejlődési fázisban) csiranövények gravitációra adott válaszában óránkénti dokumentációja



28. ábra: A *Pcx* (1-10-ig a számok a különböző egyedeket jelölik), kontroll háromhetes csíranövények hipokotiljainak gravitációra adott válasza az idő függvényében 90°-os reorientáció után óránként dokumentálva *in vitro* körülmények között. A kontroll görbéje 4 biológiai ismétlés átlagértékeit mutatja. A hipokotil görbületét °-ban van meghatározva, ahol 0° a táptalajra merőleges egyenes helyzetet, míg 90° a teljesen függőleges orientációt jelöli.

Eredményeinket összegezve az látható, hogy azok a *Pcx* növények, amelyek képesek voltak érzékelni és reagálni a gravitációra viszonylag gyorsan reorientálódtak, már a 120. percnél történt dokumentáció során észrevehető egy enyhe dőlés a kontroll növényekhez hasonlóan. A hipokotilok a közel 90°-os dőlésszöget a 240. percnél már szinte mindegyik reagáló növény elérte, ahogy a kontroll növények is jól mutatják, hogy ez az időtartam volt szükséges a teljes reorientációhoz. A kísérlet utolsó dokumentált idejénél sem mutattak semmiféle dölést azok a növények, amelyek eleinte sem reagáltak a megváltozott gravitációs vektorra. A gravitropikus válasz erősségét az egyes növények maximális hajlási sebességével (°/óra) jellemeztük. A 'Fehérözön' kontroll és a reagáló *Pcx* mutáns növények értékeit kétmintás t-próbával, eltérő szórás feltételezése nélkül (Welch-féle t-próba) hasonlítottuk össze $p = 0,05$ szignifikanciaszinten. A reagáló *Pcx* mutánsok maximális hajlási sebessége szignifikánsan nem tért el a 'Fehérözön' növényekétől ($p = 0,102$).

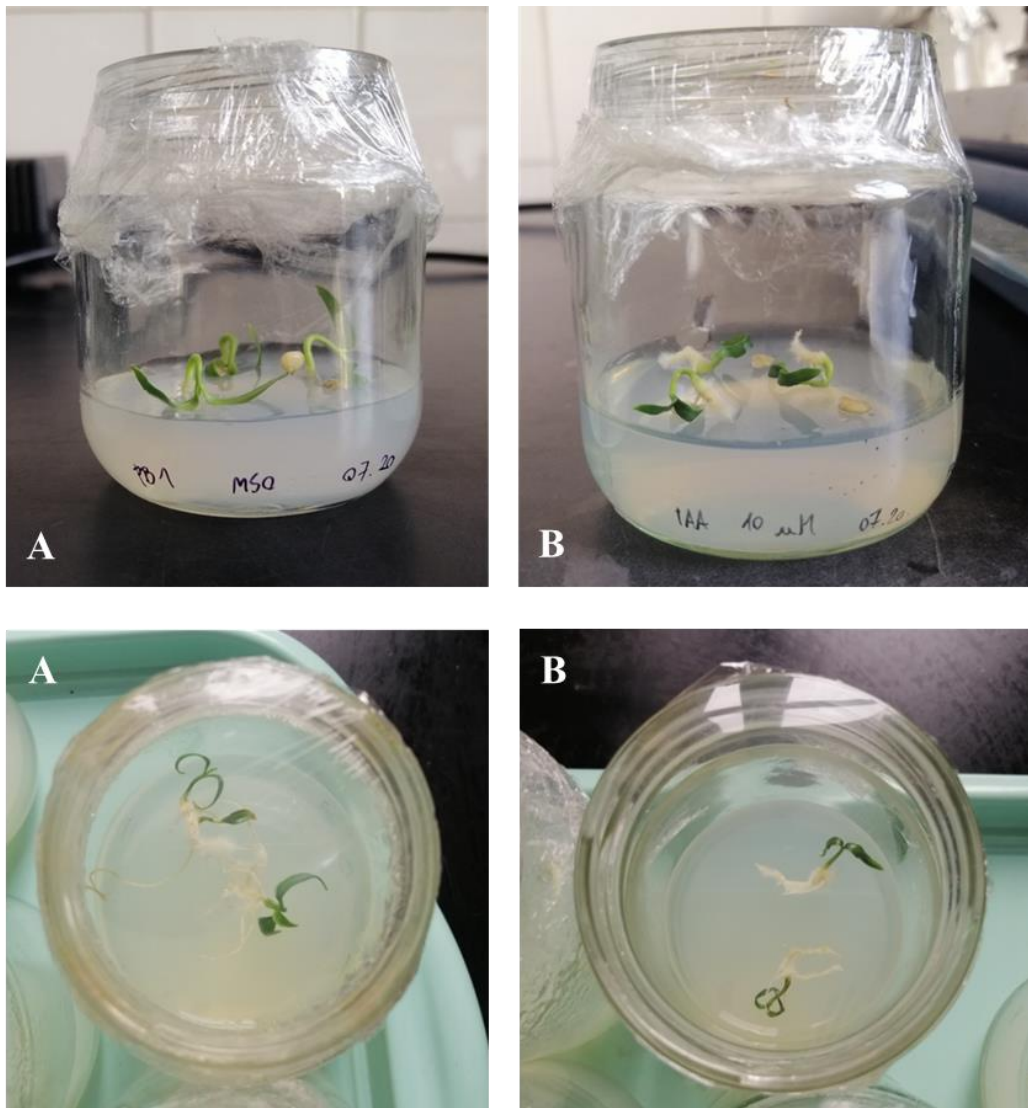
5. táblázat: A reagáló *Pcx* és 'Fehérözön' kontroll növények maximális hajlási sebességének Welch-féle kétmintás t-próba értékei

	<i>Változó 1</i>	<i>Változó 2</i>
Várható érték	53	32,25
Variancia	811,6667	24,25
Megfigyelések	7	4
Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	7	
t érték	1,878502	
P(T<=t) egyszélű	0,051195	
t kritikus egyszélű	1,894579	
P(T<=t) kétszélű	0,102391	
t kritikus kétszélű	2,364624	

Csupán a *Pcx* nemesítési vonal egyedei között figyelhető meg ez a fenotípus, ezért megerősítést nyer, hogy a gravitropizmus folyamatában bekövetkezett hibából adódik ez a megjelenési forma, esetükben 'anti-gravitropikus' fenotípusról lehet beszélni. Dong és munkatársai (2013) hasonló válaszreakciókról számoltak be a kukorica növény esetében. Vizsgálatuk során a kontroll növények a 120-150. percben érték el a 90°-os dőlésszöget, ami az esetünkben alkalmazott kontroll növényekéhez nagyon hasonló eredmény. Az általuk vizsgált mutánsok csak késleltetve voltak képesek alkalmazkodni a megváltozott gravitációhoz, valamint leírtak olyan mutánst is, amely semmilyen válaszreakciót nem produkált a mi *Pcx* növényekhez hasonlóan. A mutáns fenotípus genetikai háttereként a kukorica esetében már leírt *LAZY1* gént írták le, amely befolyásolja az auxin jelátviteli rendszert, valamint a gravitációra és fényre adott válaszreakciókat. Li és munkatársai (2007) szintén a *LAZY1* gént írták le a mutáns fenotípusért felelős faktorként. Kutatásuk során olyan rizs mutánsokat írtak le, amelyek szintén nem reagáltak a megváltozott gravitációs vektorra. Bár a reakcióhoz szükséges időtartamok eltérőek voltak rizs esetében itt is bizonyított, hogy olyan mutánsokról van szó, amelyek hosszabb idő elteltével sem orientálták a hajtásukat a megfelelő irányba. Számos olyan mutáns lett már dokumentálva, amelyek hasonló 'anti-gravitropikus' fenotípust mutatnak, bár ezek többféle genetikai háttérhez vezethetőek vissza (Kawamoto és Morita, 2022).

5.1.4. Auxinos hormonkezelés hatása a gravitációra nem reagáló mutánsok esetében

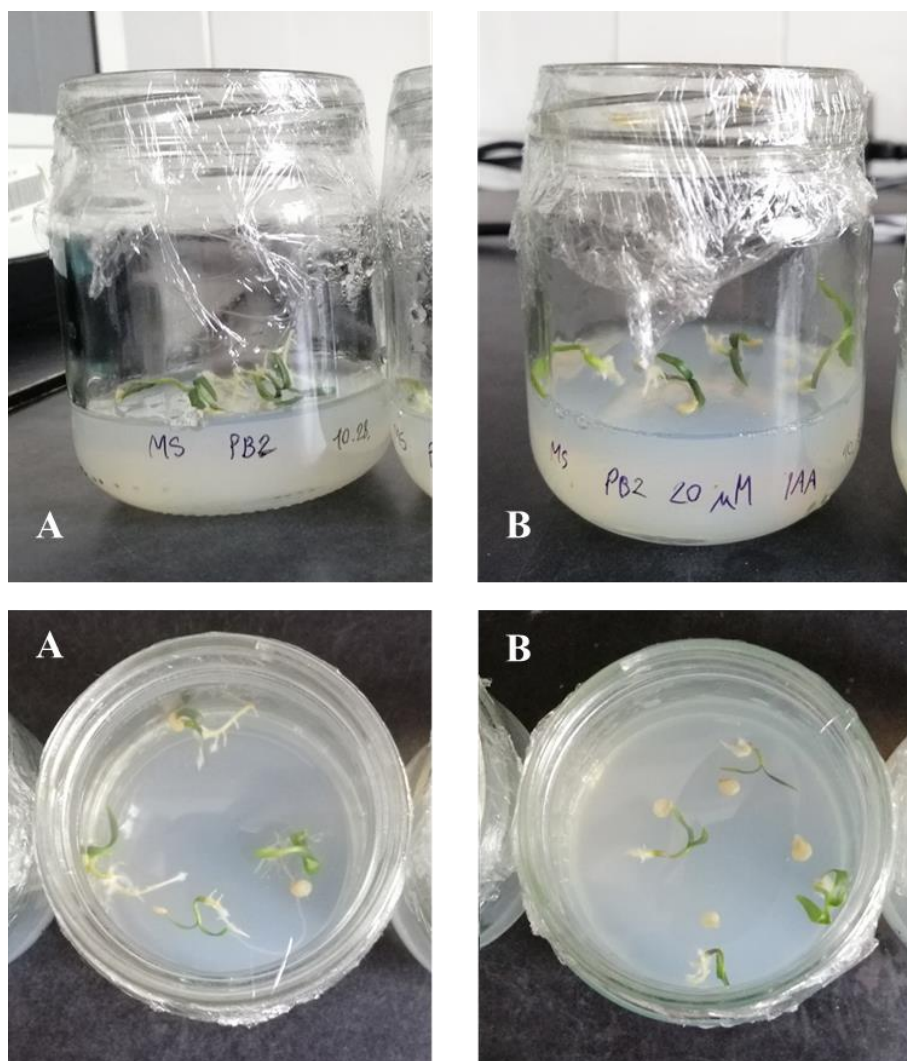
Mivel a gravitropizmus az auxin hormon aszimmetrikus eloszlásából adódik, a hormonkezeléses vizsgálat előkísérletként szolgált annak feltárására, hogy a különböző mennyiségű auxin hozzáadásával megtörhető-e az elfekvő fenotípus a *Pcx1* mutánsok esetében. A különböző hormonmennyiségekre adott reakciókat a 29. ábra mutatja.



29. ábra: Három hetes *in vitro* csíráztatott *Pcx 1* paprika növények MS táptalajon hormonos kiegészítés nélkül (A) valamint 10 μM indol-3-ecetsav hozzáadásával (B).

Az auxinos hormonkezelés eredményeképp megfigyelhető, hogy az indol-3-ecetsav kifejtette hatásmechanizmusát a növényekre, amely a gyökérhossz méretében figyelhető meg. Megfigyeléseink alapján az auxinnal kezelt növények gyökerei rövidebbek, mint a hormonmentes táptalajon csíráztatott növényeké, ennek ellenére az auxinos hormonkezelés sem tudta megtörni az

elfekvő tulajdonságot. A hormonkezelés során a hipokotil növekedésében semmiféle különbség sem volt tapasztalható. A hormonmennyiség növelésének eredményeit a 30. ábra mutatja.



30. ábra: Három hetes *in vitro* csíráztatott Pcx paprika növények MS táptalajon hormonos kiegészítés nélkül (A) valamint 20 μM indol-3-ecetsav hozzáadásával (B).

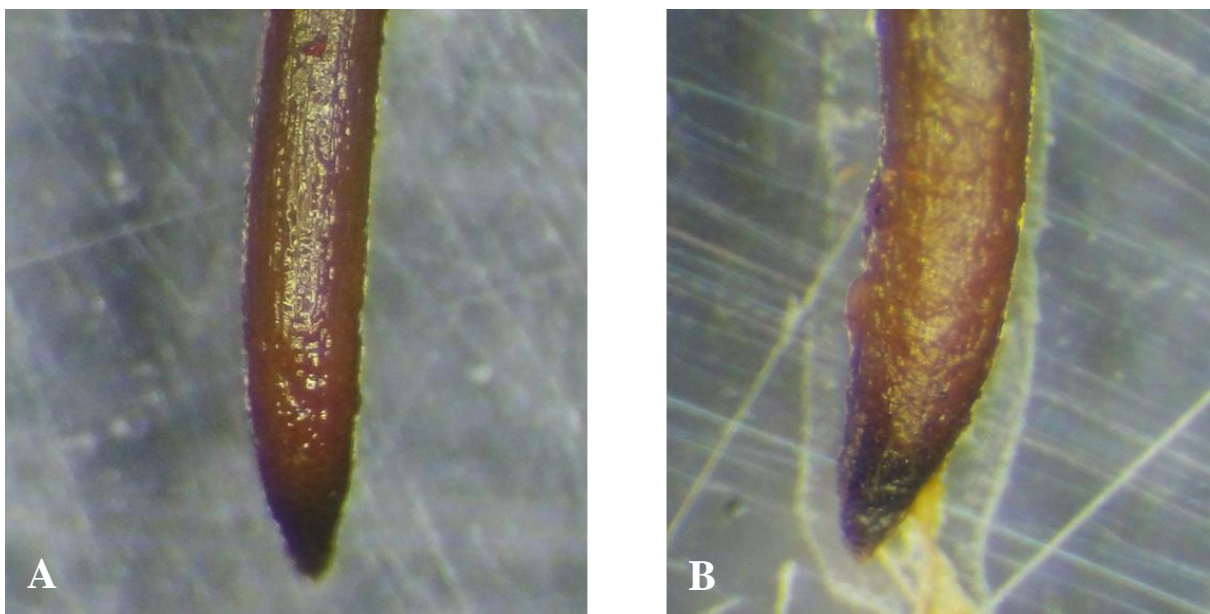
Az auxinos hormonkezelési kísérlet bizonyította számunkra, hogy extra auxin hozzáadásával sem befolyásolható a hipokotilok gravitropizmusa a *Pcx* mutáns növények esetében, mivel semmilyen megfigyelhető különbség nem volt kimutatható a hormonkezelt és nem kezelt növények hipokotiljai között. Mivel a gyökerek hossza szemmel láthatólag ilyen rövid lett a kísérletek során, így több növény nem is volt képes támasztékot nyerni magának a táptalajon és eldőlték. Sugawara és munkatársai (2015) hasonlóképpen dokumentálták az auxin hatását, amely szerint az auxin hozzáadása gátolta a gyökérhossz növekedést, ám az oldalgyökerek megjelenését, számukat növelte az auxin hormonos kiegészítés ez egybevág a *Pcx* mutánsokra vonatkozó

eredménnyel és igazolja, hogy az auxin érzékelő rendszer a növényen belül megfelelően funkcionál. Marchant és munkatársai (1999) kiegészítő auxinkezeléssel képesek voltak helyreállítani a gravitációs ingerre nem reagáló *Arabidopsis* mutánsok gyökereinek gravitropizmusát. Fontos azonban kiemelni, hogy ők kifejezetten a gyökerek gravitropizmusát vizsgálták, míg jelen kísérlet nem a gyökerek, hanem a *Pcx* mutánsok hipokotiljának elfekvő fenotípusára fókuszált. Ennek megfelelően a két rendszer nem teljesen összevethető. Az eredmények szerint a mutáns hipokotilok gravitációra adott abnormalis válaszreakciója és a növény auxinra mutatott mechanizmusa egymástól független.

5.2. Keményítőtartalom vizsgálatának eredményei

5.2.1. Gyökércsúcsok Lugol-oldatos festése

A gravitáció érzékeléshez szükséges rendszer alapja sztatolitok, amelyeket magas keményítőtartalmuk határoz meg, annak teljes hiánya a gravitropizmus folyamatának hiányához vezet, így szükséges vizsgálni. Kiss és munkatársai (1997) írtak le olyan mutánsokat, amelyekben ez volt az ok a növények abnormalis fenotípusa mögött. A vizsgálatot csak *Pcx1* fekvő mutánsokon volt érdemes elvégezni a kontroll 'Fehérözön' fajtával összevetve, mert korábbi kísérletek során bebizonyosult, hogy csak ez a genotípus nem reagált a gravitációra. A *Pcx* és kontroll növények gyökércsúcsainak festési eredményét a 31. ábra mutatja.

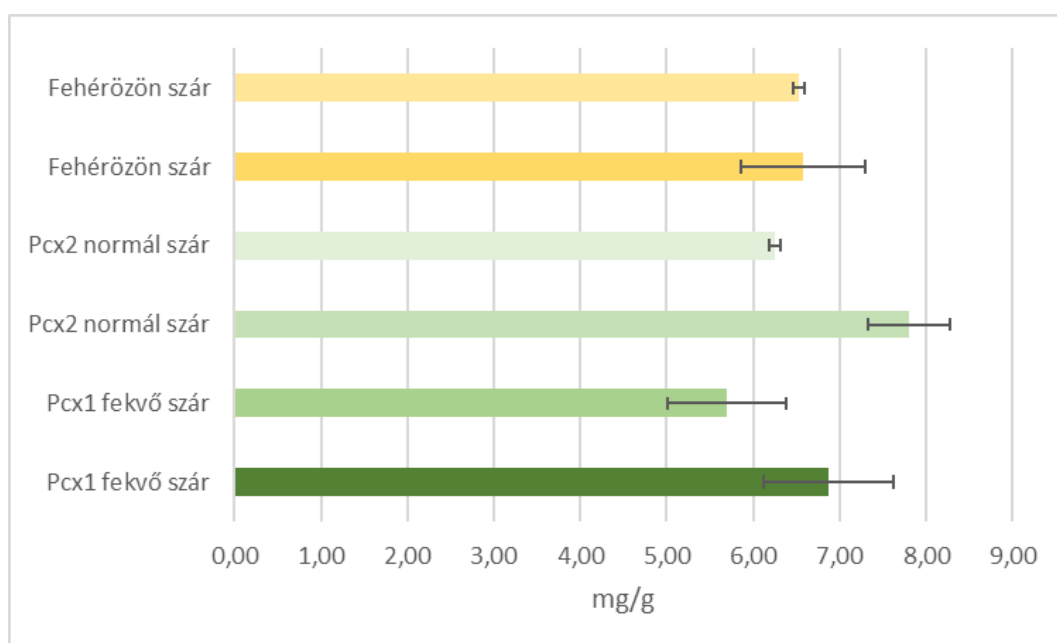


31. ábra: Három hetes *in vitro* csíráztatott 'Fehérözön' kontroll (A) és *Pcx I* (B) paprika növények gyökércsúcsi képe 8x nagyításon sztereomikroszkóppal dokumentálva. A gyökércsúcsok kékes–feketés elszíneződése a Lugol-oldat hatására kialakuló reakciót jelzi, amely a keményítő jelenlétére utal.

A 31. ábrán jól észrevehetően elkülönül a növények gyökércsúcsa a feketés-sötétkék elszíneződés miatt. A festés során jódmolekulák beépülnek a keményítő hélixébe és az így kialakuló másodlagos kötések okozzák a színváltozást. A festési eljárás bizonyította, hogy a növények gyökércsúcsai átlagos keményítőtartalommal rendelkeznek, az abnormális szárnövekedést nem a sztatolitok hiánya okozza.

5.2.2. Keményítőtartalom analitikai mérése

Mivel a Lugol-oldatos festés csak a keményítő jelenlétét képes kimutatni, annak pontos mennyiségi meghatározására nem képes, így analitikai méréssel is szükséges igazolni a korábbi eredményeket a festési eljárásra vonatkozólag a *Pcx 1* és *Pcx 2* mutánsok esetében kontrollal összevetve. A keményítőtartalom mérési eredményeit a 7. melléklet és a 32. ábra tartalmazza.



32. ábra: A *Pcx*, *tti* és 'Fehérözön' (kontroll) növények szárában mért keményítőtartalom mennyisége mg/g-ban meghatározva. A kísérletet genotípusonként öt biológiai és két technikai ismétlésben végeztük.

A növények szárában lévő sztatolitok jelenléte és elhelyezkedése befolyásolja a növények gravitropizmusra adott válaszát. A *Pcx* növények esetében két csoportot vizsgáltunk (*Pcx 1* és *Pcx 2*) hogy megfigyelhető legyen az esetleges különbség az azonos nemzedékből származó fekvő és álló egyedek között is. Bár a hipokotil növekedésre vonatkozó *in vitro* kísérletek során nagy eltérések voltak tapasztalhatóak a *Pcx* növények csoportján belül, ezzel szemben a kontroll és a *tti* csoportok egymáshoz egészen hasonló eredményeket produkáltak. Keményítőtartalomban viszont csak kisebb eltérések voltak megfigyelhetők a genotípusok között, a mutánsok minden esetben a kontrollhoz hasonló eredményt adtak, ami arra utal, hogy a vizsgált tényező nem okozhatja a

megfigyelt fenotípust. Korábban leírt kutatási eredmények alapján csak az idézhető elő a fekvő genotípust, ha a keményítőtartalom nagyobb mértékben, vagy teljesen hiányozna a szárakból, így megállapítható, hogy a *Pcx* növények abnormalis növekedése nem a magas keményítőtartalmú sztatolitok hiányból ered. Tanimoto és munkatársai (2008), valamint Sala és munkatársai (2023) is *Arabidopsis thaliana* mutánsokat jegyeztek le, amelyekben a keményítő bioszintézise gátolt volt, ezáltal kevesebb keményítő halmozódott fel a növényeken belül, így azok gyengébb válaszreakciót produkáltak a gravitropizmus tekintetében. Vitha és munkatársai (1998) dohány növényben tapasztalták ugyanezt a jelenséget, hogy a keményítő hiányában kritikus szinten csökkent a gravitációra adott válaszmechanizmusa a növényeknek.

5.3. Lignintartalom és a törési erő összefüggéseinek vizsgálata

5.3.1. Lignin kimutatása a szövetekben floroglucin festéssel

A szövetek lignintartalmának és annak térbeli eloszlásának vizsgálatára floroglucin-sósavas festést alkalmaztunk, amely a lignifikált sejtfalokban jellegzetes vörös elszíneződést eredményez (33. ábra).



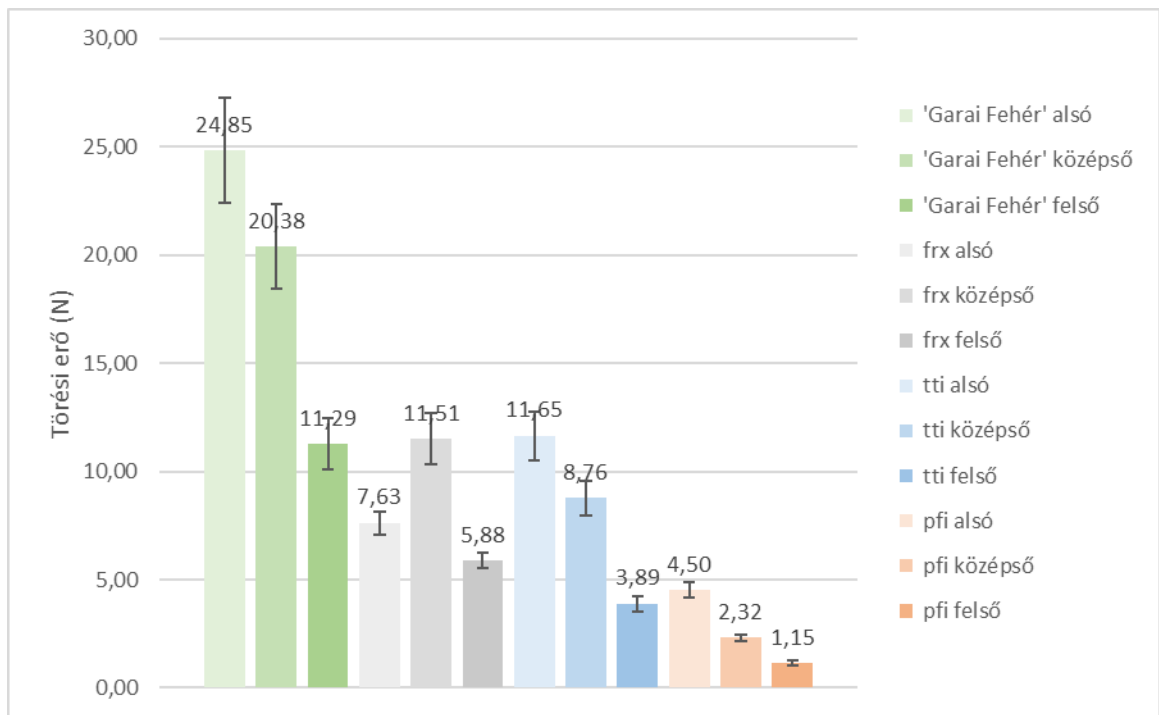
33. ábra: *Pcx 1*, *tti* és 'Fehérözön' (kontroll) növények hipokotiljainak metszetei floroglucinval festve. A metszetek Leica LEITZ DMRXE (Wetzlar, Németország) sztereomikroszkóp alatt 16×-os nagyításon kerültek dokumentálásra. A lignintartalmú szövetek lilára festődnek, lehetővé téve a lignin eloszlásának vizuális megfigyelését a hipokotil szöveiteiben.

A kísérlet eredményeként különbségek figyelhetők meg a hipokotil szegmensek között, a lignintartalmú szövetek lilás színeződést mutatnak a floroglucinos festés hatására. A *Pcx* mutánsok esetében a kontrollnál is nagyobb a színeződés mértéke, amely arra enged következtetni, hogy lignintartalma magasabb, mint egy normál növekedésű genotípusé. Ez az eredmény egybevág a nemesítési tapasztalattal, hogy a *Pcx* mutánsok teljesen kifejlett szára nagyon ellenálló és kemény. A kísérlet bizonyítja, hogy a *Pcx* genotípus esetében a fekvő fenotípus a gravitropizmus folyamatának hiányából ered, nem a csökkent lignintartalom idézi elő. *tti* mutánsok esetében az

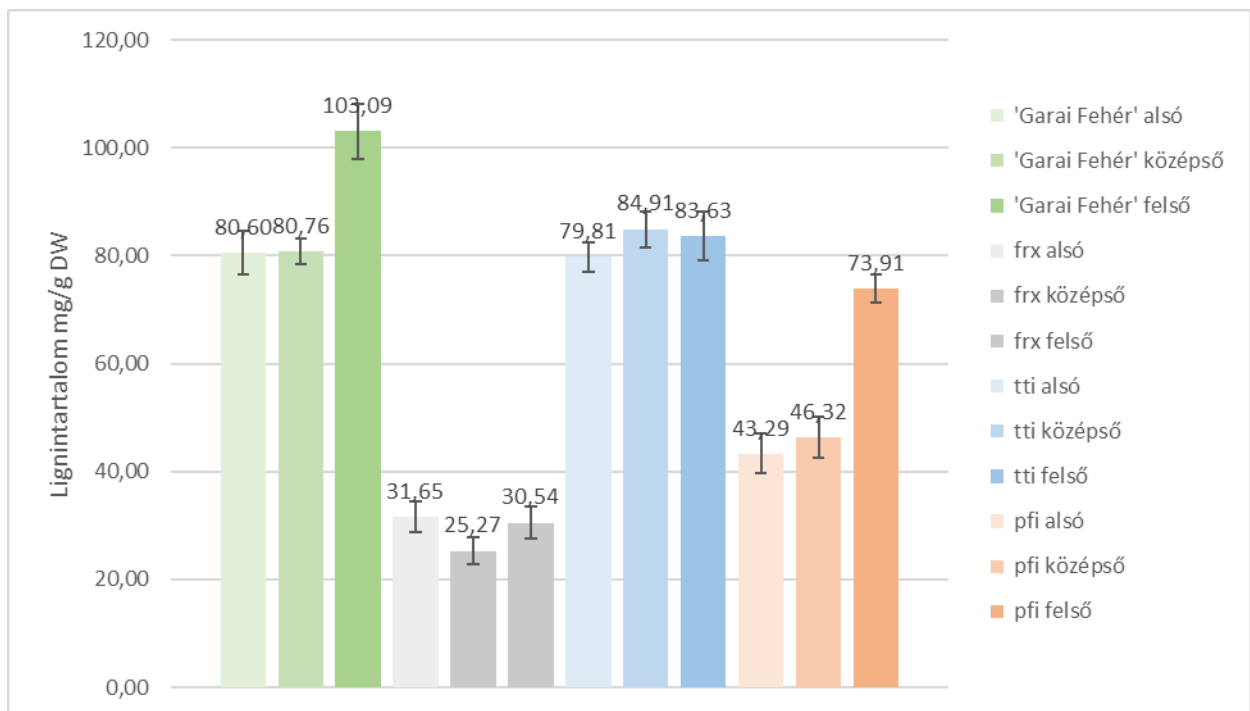
elszíneződés mértéke kisebb a kontrollhoz képest, ami bizonyítja, hogy ennek a genotípusnak a szára kisebb lignintartalommal rendelkezik. Ez is azonos a korábban leírt nemesítési tapasztalattal, hogy a *tti* mutánsok megnyúlt szárai gyengébb szerkezettel rendelkeznek, mint a kontroll növények. Mivel a festéssel látható eltérés volt kimutatható a mutánsok lignintartalmában, így részletesebb mennyiségi meghatározást is végeztünk.

5.3.2. Lignintartalom analitikai mérése, valamint a törési erő meghatározása

A szárok lignintartalma meghatározásra került a különböző genotípusok szárainak három régiójában. Az eredmények mg/g száraz tömegben (DW) lettek megadva. A töréshez szükséges erőt, amit a különböző genotípusokban ugyanúgy három különböző régióban lett mérve, N-ban lett meghatározva. A kísérletben részt vevő mutánsok mind folytonnövény típusok, ezért összehasonlításhoz a szintén folytonnövény 'Garai Fehér' fajtát használtuk kontrollként. A mutánsokra vonatkozó eredményeket a 8. melléklet, valamint a 34. és 35. ábra tartalmazza.



34. ábra: A különböző genotípusok szárának három régiójából mintavételezett szárok töréséhez szükséges erő összehasonlítása N-ban meghatározva. Minden genotípus mindhárom régióját 10 biológiai ismétlésben mértük (n = 10).



35. ábra: A különböző genotípusok szárának három régiójában mért összes lignin mennyiségének összehasonlítása mg/g-ban (DW) meghatározva. Minden genotípus mindhárom régióját 10 biológiai ismétlésben mértük (n = 10).

A 'Garai Fehér' fajta esetében szignifikáns különbség mutatkozik a lignintartalomban a szár felső régiójában, ahol a mért lignintartalom érték $103,09 \pm 5,15$ mg/g DW volt. Ez sokkal magasabb érték a fajta szárának többi régiójához képest, ahol a mért érték $80,76 \pm 2,33$ mg/g DW volt a középső régióban, valamint $80,60 \pm 3,98$ mg/g DW az alsó régióban. Ez a magasabb lignintartalom szint ellentmondásban áll a törési mutató mérésének eredményével, amely a legalacsonyabb szárkeményiségi értéket mutatta a felső régióban, ami $11,29 \pm 1,20$ N volt. Ez arra utalhat, hogy a felső szárszakaszban jelen lévő lignin mennyisége önmagában nem biztosít elegendő mechanikai támasztékot, amennyiben a szárszakasz morfológiailag vékonyabb, vagy kevésbé fejlett. Az irodalom alapján általában a lignintartalom növekszik a szárérésével, így az idősebb internodiumok gyakran magasabb lignintartalommal rendelkeznek, mint a fiatalabb szárrészek; ugyanakkor a mért mennyiségek közötti arány függ a növényfajtól, a szövettípustól és a környezeti feltételektől is (Xiao *et al.*, 2025).

Az *frx* mutáns mintái esetében, a lignintartalom közel azonos volt minden szárrégióra nézve, a mért érték $31,65 \pm 2,87$ mg/g DW volt az alsó régióban, $25,27 \pm 2,49$ mg/g DW a középső régióban, valamint $30,54 \pm 2,99$ mg/g DW a felső régióban. Bár a lignintartalom hasonló mennyiségű volt, ennek ellenére szignifikánsan több erő: $11,51 \pm 1,17$ N volt szükséges a szár középső régiójának töréséhez, mint a szár másik két régiójában, ahol mért értékek $7,63 \pm 0,53$ N volt az alsó régióban, valamint $5,88 \pm 0,37$ N volt a felső régióban. Ez a mintázat csupán az *frx* mutáns mintáira jellemző, az összes többi genotípus esetében csökkenő tendencia látható a törési erő mértékében, ahogy az alsó régióktól a felsőkig elemezzük őket.

Az *frx* genotípus eredményeihez hasonlóan a *tti* mutáns mintái is nagyjából azonos lignintartalommal rendelkeztek a szár minden régiójában, viszont a lignintartalom mennyisége a kontroll mintákban mért eredményekhez hasonlóak voltak, $79,81 \pm 2,72$ mg/g DW volt az alsó régióban, $84,91 \pm 3,31$ mg/g DW volt a középső régióban, valamint $83,63 \pm 4,55$ mg/g DW volt a felső régióban. Azonban a szár minden régiójának töréséhez szükséges erő jelentősen kisebb volt. A megnyúlt internodiumok és a sejtfalon belüli eltérő lignin-eloszlás valószínűleg olyan szövetszerkezeti változásokat idéz elő, amelyek a teljes lignintartalom ellenére gyengébb mechanikai szilárdsághoz vezetnek. Az alsó régióban mért törési érték a legmagasabb, ám ez sem éri el a kontroll esetében, a felső régióban mért legalacsonyabb értéket. Szignifikáns különbség mutatkozik a *tti* szárrégiói között a felső régióban, ahol $3,89 \pm 0,35$ N volt a mért érték.

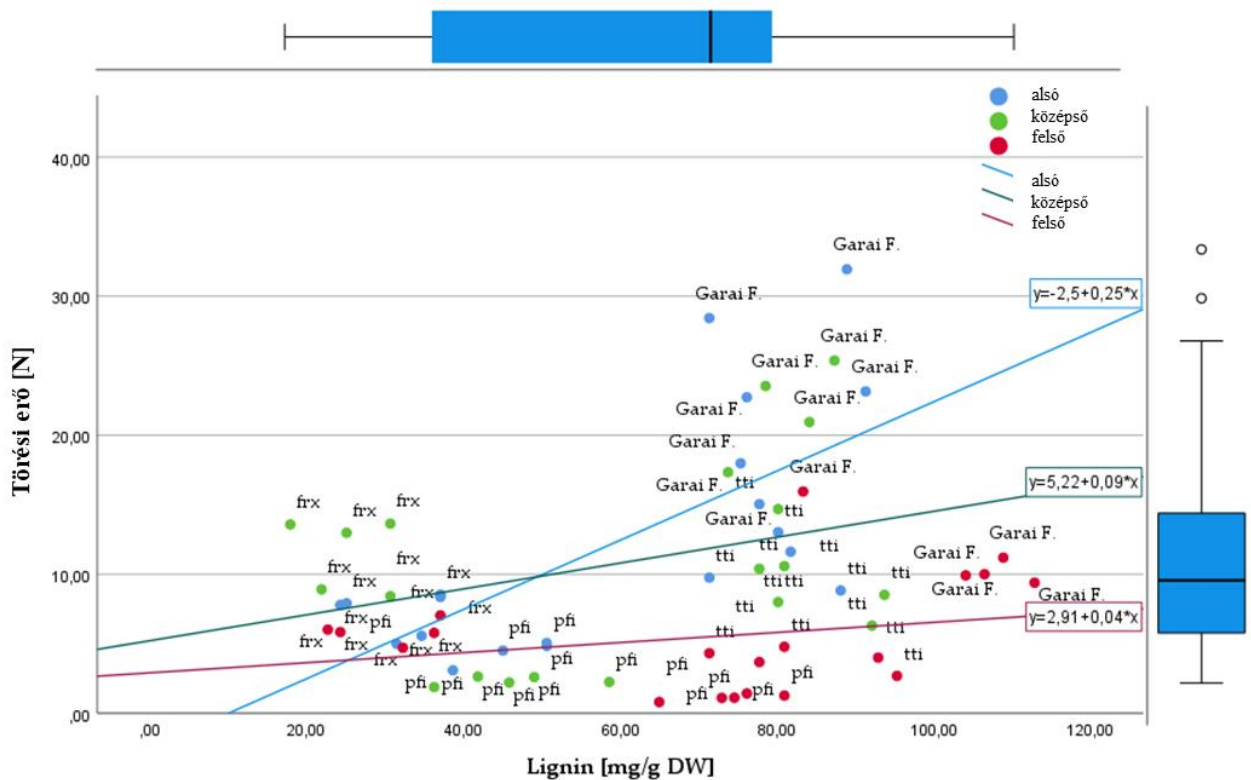
A *pfj* mutánsok esetében a kontrollhoz képest szintén alacsonyabb lignintartalom értékek voltak tapasztalhatóak a mérés során. Ennek a genotípusnak az esetében is szignifikánsan magasabb lignintartalom volt kimutatható a szár felső régiójában, ahol a mért érték $73,91 \pm 2,60$ mg/g DW volt. A másik két szárrégióban a mérési eredmény egymáshoz hasonló volt, $43,29 \pm 3,68$ mg/g DW volt az alsó régióban, valamint $46,32 \pm 3,74$ mg/g DW a középső régióban. A *pfj*

genotípus mintái mutatták a legalacsonyabb törési értékeket az összes genotípus között. Mindazonáltal szignifikáns különbségek figyelhetők meg a *pf1* száraz régióit összehasonlítva, az alsó régióban $4,50 \pm 0,36$ N, a középső régióban $2,32 \pm 0,14$ N, és a felső régióban $1,15 \pm 0,10$ N volt a töréshez szükséges erő.

A szár szilárdsága nem csak a lignintartalom által meghatározott tényező, a másodlagos sejtfa más összetevőinek mennyisége is befolyásolja azt (Zhong *et al.*, 2019). Törékeny szárú mutánsok esetében a cellulózképződést és eloszlást befolyásoló mutációk csökkentették a szár szilárdságát, ami a sejtfaon belüli cellulózhányra és annak nem megfelelő eloszlására vezethető vissza (Wang *et al.*, 2022); ezért mindenképp érdemes lenne e paraméter analitikai mérését is elvégezni. Ahogy azt mi is tapasztaltuk, valamint dokumentáltuk, az *frx* mutánsok szárai úgy törnek, hogy teljesen sima törési felszínt hagynak, nincsenek szárszilánkok. Bár a mutáns genotípusok között jelentős eltérések figyelhetők meg, a lignintartalom alakulását nemcsak a genetikai háttér, hanem a gravitropizmusra és mechanikai stresszre adott válaszok is befolyásolhatják (Andersson-Gunnerås *et al.*, 2006). Több tanulmány készült már a ligninhiányos mutáns növényekkel kapcsolatban, valamint ez miképp befolyásolja a növények ellenállóképességét (Pedersen *et al.*, 2005), ezek a kutatások főképp fűfélékre, valamint szántóföldi növényekre fókuszálnak. Hasonlóan a korábban ismertetett eredményekhez, Shen és munkatársai (2023) jelentős különbségeket írtak le a töréshez szükséges erő mértékében különböző cukornád genotípusok között, ahol az eredmények 6,6 N-tól 32,8 N-ig terjedtek. Ez a jelenetős különbség is azt bizonyítja, hogy különböző cukornád genotípusok is nagyon eltérő mechanikai tulajdonságokkal rendelkeznek.

A paradicsom szárazakkal végzett vizsgálatokban a mechanikai stressznek kitett növények átlagos törési erőértéke 21,13 N volt, míg a kontroll növényeké 9,8 N (Sabina és Jithesh, 2020). Az irodalomban leírt paradicsom kontroll esetében mért érték azért releváns számunkra, mert a paradicsom szára már ezen a szilárdsági szinten is képes megtartani a termések súlyát, azaz a gyakorlatban funkcionálisan megfelelő teherbírású. Ezt a referenciaértéket azért említjük, mert így érzékeltethető, hogy a paprika vizsgált szárainak merevsége – még egyes mutánsok esetében is – meghaladja vagy megközelíti azt a szintet, amely más növényfajoknál bizonyítottan elegendő a termések megtartásához. Kivételt csupán a *pf1* mutáns képez, amelynek szilárdsági értékei a paradicsom esetében mérténél is alacsonyabbak, ami valóban gyenge teherbírásra utal.

A különböző genotípusok esetében a lignintartalom és a törési erő közötti összefüggést lineáris regressziós egyenesen ábrázoltuk, amely a korreláció mértékét is szemlélteti (36. ábra).



36. ábra: A lignintartalom és a törési erő közötti korreláció a különböző genotípusok esetében regressziós egyenesen ábrázolva

Ahogy a 36. ábra is szemlélteti, a lignintartalomban történő változás a növények alsó régiójában nagyobb hatást gyakorolnak a töréssel szemben ellenállás változásaira, ellentétben a többi régióval. A minták genotípus szerint csoportosíthatók, de a vizsgált régiók alapján a csoportosítás már nem annyira egyértelmű. Az alacsonyabb lignintartalmú minták, mint például a *frx* mutáns, szintén alacsonyabb törési erőt mutatnak, a többi mintával összevetve.

MANOVA tesztet alkalmaztunk annak meghatározására, hogy van-e statisztikailag szignifikáns hatás a mérésben részt vevő genotípusok és a szár különböző régiói között a vizsgált függő változók tekintetében. Az F értékeket a 8. táblázat tartalmazza, a legnagyobb szerepet játszó változókat félkövérrel emeltük ki. Az együttes hatás szignifikánsnak bizonyult. $F(12, 94)=6,248$; $p=0,00$; Wilks' $\lambda=0,309$. A genotípus hatását a lignintartalomra és a törési erőre is sikerült igazolni: $F(3, 48)=186,112$; $p=0,00$, illetve $F(3, 48)=109,031$; $p=0,00$. A vizsgált szár régiója szintén szignifikáns hatást gyakorolt a lignintartalomra: $F(2, 48)=20,851$; $p=0,00$, valamint a törési erőre: $F(2, 48)=38,400$; $p=0,00$.

6. táblázat: A lignintartalom és a törési erő F értékei

	Lignintartalom [mg/g DW]	Törési erő [N]
Genotípus (G)	186,112	109,031
Szár régió (Sr)	20,851	38,400
G x Sr	6,081	6,855

A *tti* mutáns esetében bár a lignintartalom hasonló volt a kontroll genotípussal összevetve, a szárok vizsgálatokor sokkal alacsonyabb törési erőt mutatott minden régióban. Ennek a mutánsnak az esetében célszerű figyelembe venni a növény magasságát, valamint az internodiumok hosszát is a későbbi vizsgálatok során, ugyanis a lignin eloszlása a sejtfalon belül eltérhet, ami változásokat idézhet elő a mechanikai jellemzőkben, még akkor is, ha a teljes lignintartalom azonos (Higuchi, 2018). A megnyúlt internodiumok megváltozott sejtszerkezetekkel rendelkezhetnek, amelyek befolyásolhatják az általános szöveti szilárdságot is.

A *pf* and *fr* mutánsok sokkal alacsonyabb lignintartalommal rendelkeztek a kontrolléhoz képest. Váratlan eredmény volt a *pf* mutánsok esetében a felső régió kiemelkedően magas lignintartalma. Ez az eredmény megegyezik a nemesítési tapasztalattal, hogy a *pf* mutánsra jellemző szárszerkezet inkább a felső régiókban dominál. A *pf* mutánsok szára magasabb lignintartalommal rendelkeznek, mint az *fr* mutánsoké, ennek ellenére ennek a genotípusnak vannak a legalacsonyabb szártörési értékei. Az *fr* mutáns vizsgálata a törékeny fenotípusból kiindulva alacsony lignintartalom volt a várt eredmény, ezt sikerült is a méréssel bizonyítani.

A vizsgálatok alapján általánosságban elmondható, hogy a lignintartalom növekedése összefüggést mutat a töréshez szükséges erő növekedésével, ahogy más kutatási eredmények is leírták korábban (Kamran *et al.*, 2018, Zhang *et al.*, 2014). Ezzel szemben az abnormális szárnövekedést mutató mutánsok esetében ez az összefüggés nem írható le olyan egyszerűen, ha a szárok különböző régióira leírt eredményeket nézzük. Gyanítható, hogy nem csak a lignin mennyisége, hanem a szerkezete és minősége (H, G, S egységek aránya) is meghatározó, tehát a teljes lignintartalom nem feltétlenül jelzi közvetlenül a mechanikai tulajdonságokat, ahogy ezt már korábban más kutatási eredmény is igazolta (Köhler és Spatz, 2002).

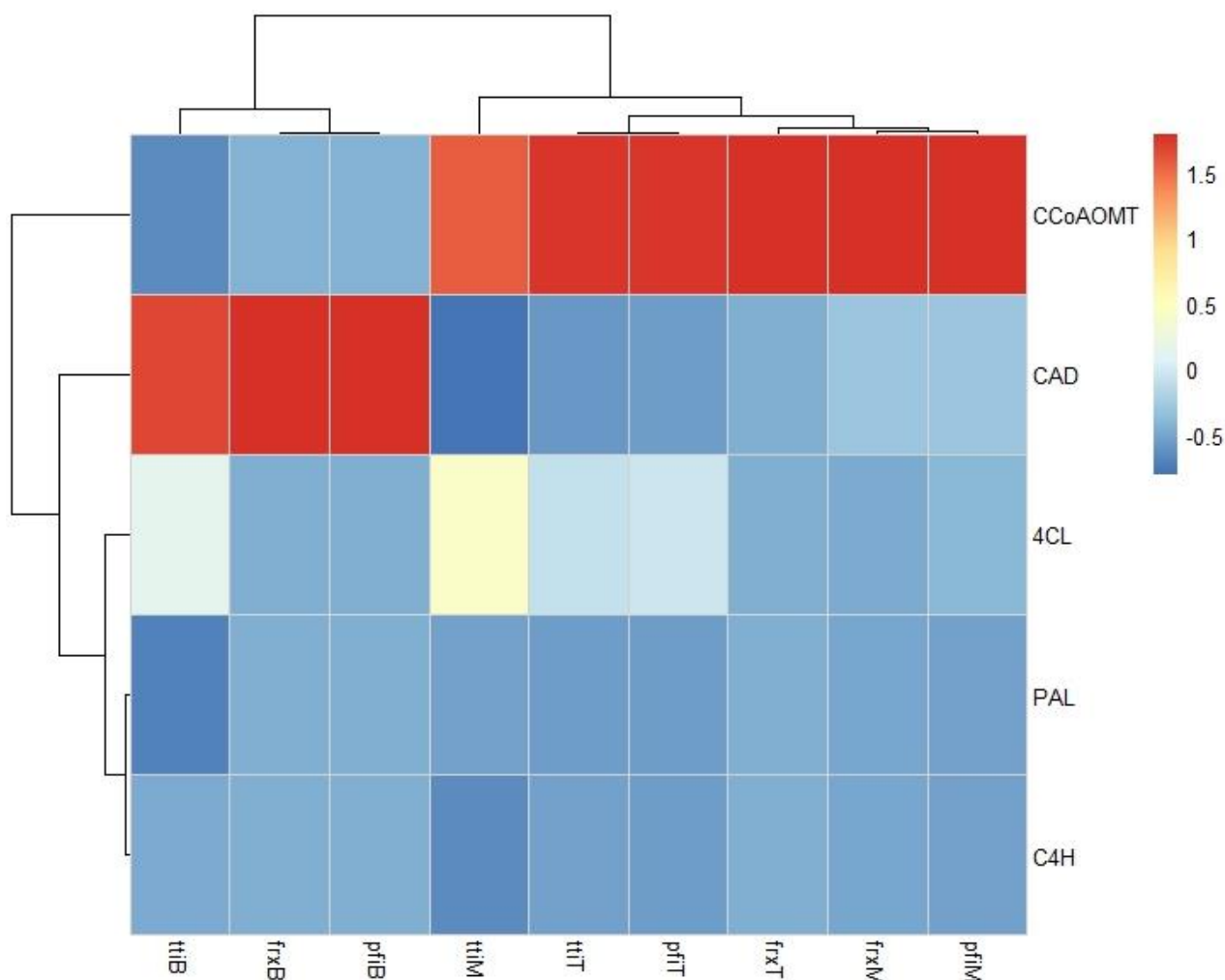
5.5. Génexpressziós vizsgálatok

A kísérletek célja annak meghatározása volt, hogy az abnormális szárnövekedésben valószínűleg szerepet játszó gének miképpen expresszálnak egy kontroll növényvel összevetve, a szár különböző régióiban.

5.5.1. Lignin bioszintézisben szerepet játszó gének vizsgálata

A génextpressziós vizsgálatokhoz qPCR-t alkalmaztunk, hogy öt, a lignin bioszintézisében szerepet játszó gén expresszióját vizsgálhassuk a szárak különböző régióiban. A ligninre azért fókuszáltunk, mert a paprika-mutánsok abnormális szárfelépítése feltételezhetően a szár szerkezeti szilárdságának csökkenéséből ered, amelyet a lignintartalom, illetve a ligninhez kapcsolódó gének expressziójának megváltozása is befolyásolhat. A vizsgálatba vont gének: a fenilalanin ammónia-liáz (*PAL*), cinnamát 4-hidroxiáz (*C4H*), 4-kumarát-CoA ligáz (*4CL*), koffeoil-CoA O-metiltransferáz (*CCoAOMT*) és cinnamil-alkohol-dehidrogenáz (*CAD*) (37. ábra) voltak.

A korábbi kutatási eredmények alapján a várt eredmény, hogy a vizsgált gének túl magas expressziós szintje összefüggést mutathat a lignintartalom növekedésével a szárakban.



37. ábra: A génextpresszióbeli relatív különbségek a 'Garai Fehér' fajtavál (kontroll) összevetve, hő térképen ábrázolva (kék – alulműködés, piros – túlműködés) a különböző genotípusok különböző szárrégióiban B=alsó, M=középső, T=felső. A három szárrégió mintáinak génextpressziós vizsgálatait három biológiai és három technikai ismétlésben végeztük el.

A hő térkép szemlélteti a 'Garai Fehér' kontrollhoz viszonyított relatív expressziós szinteket az öt gén esetében. A közel azonos expresszió világoskék színnel vannak jelölve, a túlműködést piros szín szemlélteti, valamint az alulműködés sötétkék színű. A gének expressziós szintjeit hierarchikus klaszterezés köti össze.

A vizsgálat során sikerült a genotípusok közötti különbségeket detektálni. A kontrollal összevetve mind a *tti*, az *frx*, és a *pfi* mutáns, amelyek abnormális szárnövekedést mutatnak, a *CCoAOMT* gén esetében overexpresszió tapasztalható a felső és a középső régiókban. Az összes mutáns genotípus a *CAD* gén esetében is overexpressziót mutatott, de ez kizárólag csak az alsó régiókra volt jellemző. Ezek a különbségek feltehetően magasabb lignintartalomhoz vezethetnek az adott régiókban, ahogy Song és munkatársai (2022) ezt leírták *Pennisetum purpureum* növények esetében is, ahol a *CCoAOMT* gén overexpressziója nem csak magasabb ligninszintet eredményezett, de ez továbbá növelte a növények szárazságtűrését is. Wei és munkatársai (2023) is hasonló eredményt dokumentáltak, *Dendrocalamus farinosus* növényekben a *CCoAOMT* gén overexpressziója szintén magasabb lignintartalmat eredményezett, ebből fakadóan a xylem is vastagabb lett a növényen belül, valamint ennek is növekedett a szárazsággal szembeni ellenállóképessége. Li és munkatársai (2023) olyan transzgenikus *Arabidopsis thaliana* és nyírfa növényeket hoztak létre, amelyekben szintén a *CCoAOMT* gént termeltették túl, ez mindkét fajban emelkedett ligninszintet, valamint szintén megvastagodott xylemet eredményezett. Ezeken felül kompaktabb sejtszerkezetet is dokumentáltak. Bár a *CCoAOMT* gén működése és a lignintartalom közötti összefüggés számos kutatás által bizonyított, ennek ellenére a mutáns genotípusok esetében ezt nem sikerült bizonyítani. Li és munkatársai (2019) körtéből izolált *CAD2* gént overexpresszáltattak transzgenikus paradicsom növényekben, amelynek hatására a szárakban felhalmozódott lignin mennyisége magasabb lett, mint a kontroll növényeké. Kim és Huh (2019) batátából izolált *CAD* gént overexpresszáltattak transzgenikus *Arabidopsis* növényekben, ez magasabb lignintartalmat, gyorsabb csírázóképeséget, valamint reaktív oxigéngyökökkel szembeni ellenállóképességet eredményezett. A paprika mutánsok esetében ezt az összefüggést sem sikerült bizonyítani. Wagner és munkatársai (2011) dokumentálták, hogy a növények a lignin bioszintézise során, amennyiben valamelyik útvonalban hiány mutatkozik, úgy azt máshonnan képesek kompenzálni. *Pinus radiata* növény esetében a *CCoAOMT* gén működésének hiánya ugyan csökkent lignintartalmat eredményezett, de ez csak a G-ligninekre korlátozódott, a H-lignin mennyisége növekedett. Ez megváltozott S/G lignin arány pedig más mechanikai tulajdonságokhoz vezet.

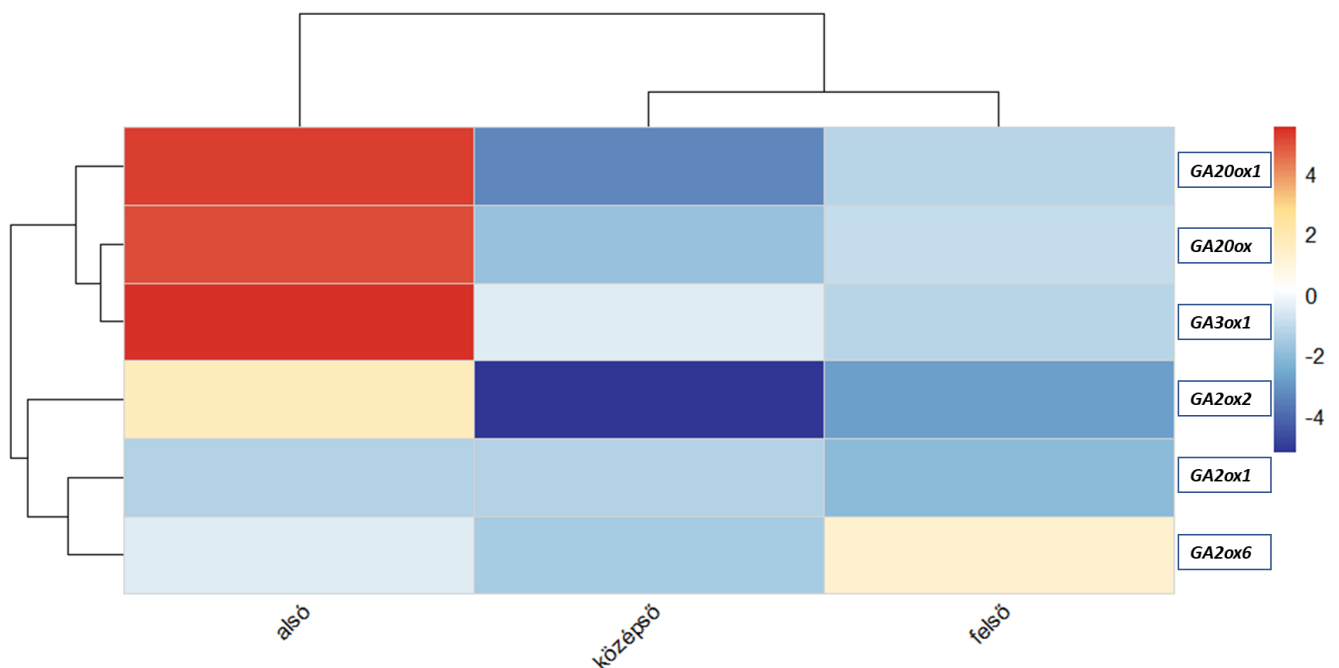
A gének hierarchikus klaszterezése hatékonyan szemlélteti a lignin bioszintézis útvonal lépcsőzetességét, valamint a gének milyen szorosan kapcsolódnak egymáshoz az útvonalon belül.

A korai és késői szakaszban bekapcsolódó gének között nagyobb eltérés tapasztalható. Érdekes kiemelni, hogy a *PAL* és *C4H* gének között szorosabb kapcsolat figyelhető meg, amelyek mindketten a fenilalanin útvonal kezdeti lépéseit képviselik. Hozzájuk legközelebb a *4CL* gén áll, amely rögtön utánuk kapcsolódik be a bioszintézisbe. A *CCoAOMT* később kapcsolódik be a metabolikus folyamatba, míg a *CAD* a monolignol egységek kialakításának terminális lépéseként szolgál. A klaszterek elemzése során megfigyelhető, hogy a gének közötti kapcsolatok összhangban vannak az irodalomban leírtakkal, hogy milyen sorrendben működnek ezek a gének a lignin bioszintézisének érdekében (Sakamoto *et al.*, 2020).

5.5.2. Gibberellin bioszintetikus útvonalban szerepet játszó gének vizsgálata

A vizsgálatba a gibberellin anyagcserében szerepet játszó oxidáz gének kerültek bevonásra, nevezetesen a gibberellin-2-oxidáz (*GA2ox*) géncsalád tagjai: *GA2ox1*, *GA2ox2* és *GA2ox6*, a gibberellin-3-oxidáz (*GA3ox*), valamint a gibberellin-20-oxidáz gének: *GA20ox* és *GA20ox1*. (38. ábra).

A korábbi kutatási eredmények alapján a várt eredmény, hogy a vizsgált gének overexpressziója összefüggést mutathat az internodiumok megnyúlásával.



38. ábra: A génexpresszióbeli relatív különbségek hőterképen ábrázolva (kék – alulműködés, piros – túlműködés) a *titi* genotípus különböző szárregióiban a 'Garai Fehér' fajttal összevetve. A három szárregió mintáinak génexpressziós vizsgálatait három biológiai és három technikai ismétlésben végeztük el.

A hőtérkép a 'Garai Fehér' kontrollhoz viszonyított relatív expressziós szinteket mutatja a gének esetében. A közel azonos szint világoskék, a túlműködés piros, míg az alulműködés sötétkék színnel van jelölve. A gének expresszióját hierarchikus klaszterezés kapcsolja össze.

Az elemzés során sikerült a *tti* genotípus és a kontroll fajta, a 'Garai Fehér' között különbségeket detektálni. A *GA3ox1* gén expressziója sokkal magasabb volt a kontrollhoz képest, de ezt csak a szár alsó régiójában sikerült detektálni. Reinecke és munkatársai (2013) olyan transzgenikus borsót írtak le, amelyben mesterségesen overexpresszáltatták a *GA3ox1* gént, ezek a növények hosszabb ízközökkel, indákkal és termésekkel rendelkeztek, ez az összefüggés a *tti* mutánsok megnyúlt internodiumaira is leírható.

A *tti* esetében az alsó régióban a *GA20ox*, valamint a *GA20ox1* esetében is túlműködés volt tapasztalható. García-Hurtado és munkatársai (2012) tanulmányukban egy citrus eredetű *GA20ox* génnel transzformáltak Micro-Tom paradicsomot. Ezek a transzformánsok mind nagyobb növénymagassággal, szárhosszal rendelkeztek, mint a kontroll egyedek. Voorend és munkatársai (2016) a *GA20ox1* overexpresszióját vizsgálták kukorica növényben, amely szintén hosszabb szárat eredményezett, de ezek a szárok vékonyabbak is voltak a kontrollhoz képest, amely gyengébb szárszilárdsághoz vezethet, ahogy azt a *tti* növények esetében is dokumentáltuk.

A *GA3ox1*, *GA20ox* és *GA20ox1* overexpressziós mintázata kizárólag a szárok alsó régióiban észlelhető, a többi szárrégióban ezek a gének mind enyhe alulműködést mutatnak a kontrollhoz képest.

A *GA2ox1*, *GA2ox2*, *GA2ox6* gének esetében kisebb alulműködést tapasztaltunk majdnem minden régióban a kontrollal összevetve, kivéve a *GA2ox2* az alsó régióban, illetve a *GA2ox6* a felső régióban. A *GA2ox* gén a bioaktív gibberellinek inaktiválásáért felelős, ennek megfelelően a *GA2ox* aktivitás csökkenése emeli a bioaktív gibberellin szintet, ami gyakran fokozott internodium megnyúlást és hosszabb növényeket eredményez (Martin *et al.*, 1999, Rieu *et al.*, 2008).

6. Következtetések és javaslatok

Az *in vitro* módszertant sikerült adaptálni a mutáns paprika genotípusok esetében a fény és gravitációs ingerek vizsgálatára. Ezekkel sikerült igazolni, hogy minden genotípus normálisan reagál ezekre a *Pcx* mutánsokat leszámítva, amelyek bár követték a fény irányát, sötétségben növekedve teljesen véletlenszerű szárnövekedést tanúsítottak. Ebből lehet következtetni, hogy esetükben a gravitációérzékelés hiányából ered a mutáns fenotípus, bár a más növényfajok esetében leírt irodalmi adatokkal ellentétben a *Pcx* növények teljesen normális keményítőtartalommal rendelkeznek mind a gyökér, mind a szár esetében. Érdeemes lenne kiegészíteni a kísérleteket a *LAZY*, valamint a *PIN* gének vizsgálatával, hogy esetlegesen ezen gének hibás működéséből eredhet a fekvő tulajdonság. A gravitropizmus egy auxin hormon által vezérelt folyamat, ennek ellenére az „anti-gravitropikus” fenotípust auxin hozzáadásával sem sikerült megtörni.

A kísérletek során sikerült meghatározni a szárak lignintartalmát és azt is, hogy mekkora erő szükséges a szárak eltöréséhez. Ezek az adatok értékes információt nyújtanak a növény alkalmazhatóságának megítéléséhez, hogy mennyi termést bírnak el egy adott termesztési mód során. A különböző genotípusok, valamint a szárak különböző régiói között is sikerült szignifikáns különbséget kimutatni. A lignintartalomra vonatkozó adatok alapján bebizonyosodott, hogy *tii* mutánsok esetében hasonló volt a lignin mennyisége, mint a kontroll fajtában, itt valószínűleg a megnyúlt szárban egy nagyobb területen oszlik el ugyanaz a ligninmennyiség, ezáltal a szár nem bírja el a növény súlyát, bókoló fenotípust mutat. Az *frx* mutánsoknál jóval alacsonyabb lignintartalmat sikerült kimutatni, mint a kontroll esetében, amely egybevág a nemesítési tapasztalattal, valamint a szakirodalmi adatokkal, hogy ez felelős a törékeny fenotípusáért, bár nem feltétlen csak a lignin okozhatja ezt. Esetében érdemes lenne a cellulóz szint meghatározása is, ugyanis korábbi kutatási eredmények leírták, hogy törékeny és nem-törékeny típusok között a különbséget cellulóz mennyisége jelentette. *pfi* mutánsok esetében szintén az alacsonyabb lignintartalom tehető felelőssé a szár gyengeségét illetően, bár a puffadt szárszerkezet pontos genetikai háttere egyelőre ismeretlen, így biztos más faktorok is szerepet játszanak ebben.

Génexpressziós vizsgálataink során sikerült kimutatni, hogy a mutáns vonalak középső és felső régiójában a *CCoAOMT* gén overexpresszál, valamint a mutánsok alsó régióiban a *CAD* gén mutat túltermelést. Ezekkel a génekkel kapcsolatban kutatási eredmények bizonyítják, hogy mesterségesen overexpresszáltatva ezeket növekedett a lignintartalom mennyisége, ám a kísérleteink során ezt összefüggést nem tudtuk igazolni, mivel minden mutáns a kontrollnál alacsonyabb lignintartalommal rendelkezett, valamint szárszilárdságuk is gyengébb volt. Jelenleg nincsen paprika növény esetében sem erre, sem az S/G ligninek arányára sincs irodalmi adat.

A gibberellin bioszintézisben szerepet játszó gének vizsgálata során sikerült bizonyítani, hogy a *GA3ox1*, *GA20ox*, valamint a *GA20ox1* gének mind overexpresszálnak a *tti* mutánsok esetében. Ez egybevág a szakirodalmi adatokkal, ahol különböző kutatásokban leírt növényfajok esetében ezeknek a géneknek a túlműködése szintén megnyúlt szárat eredményezett egy folyamatos endogén gibberellin hatás által.

A többi mutáns paprika vonal abnormális szárnövekedésének pontos genetikai háttere jelenleg ismeretlen, hogy mely gének működése idézi elő bennük ezeket a látványos formákat.

Mindenképpen érdemes lenne tovább, a lignin bioszintézisben szerepet játszó géneket bevonni a vizsgálatokba, valamint a másodlagos sejtfal egyéb alkotóelemeinek mennyiségét is pontosan meghatározni. Javasolt lenne a *PIN* és *LAX* gének expressziós szintjeit is vizsgálni a paprika száракban.

Egy gravitáció által nem befolyásolt *Pcx* mutáns szárnövekedése teljesen irányítható, így akár egy vertikális farmban, vagy egy döntött kultúrában is alkalmazhatónak mutatkozhat. Hasonlóképpen a *tti* mutáns megnyúlt, bókoló szerkezete szintén hasznosnak bizonyulhat, egy ilyen termesztési mód során. Az *frx* mutáns törékeny fenotípusa, ha lehetséges lokalizálni a kocsányokra, akkor megkönnyítheti a mechanikai betakarítást. A *Pcx*, *tti* és *pf1* mutánsok különleges megjelenése alapján potenciálisan dísznövényként, akár ámpolnanövényként is alkalmazhatók lehetnek, ezért ennek a hasznosítási lehetőségét is célszerű lenne vizsgálni. Az abnormális szárnövekedésű mutánsokat üvegházban, termesztési körülmények között lenne szükséges tesztelni, hogy hasznosíthatóságuk így igazolt legyen.

7. Új tudományos eredmények

1. Paprikára adaptáltunk egy *in vitro* módszertant a foto-, és gravitropizmus vizsgálatára.
2. A *Pcx* mutáns esetében igazoltuk, hogy a fekvő fenotípus a gravitációérzékelés hiányából ered.
3. Meghatároztuk a mutánsok lignintartalmát és szárszilárdságát a szár három régiójában. Az eredmények alapján meghatározható az átlag terméstmeg, melyet a paprika szára elbír, ez utóbbi a paprikatermesztés gyakorlatában is hasznosítható.
4. A *tii*, *frx* és *pfí* mutánsok mindegyikében kimutattuk a *CAD* gén overexpresszióját a szárok alsó régióiban, valamint a *CCoAOMT* gén túlműködését a középső és felső régiókban, de ez nem járt emelkedett lignintartalommal, amely eredmény ellentmond az eddigi szakirodalmi adatoknak és bár a lignintartalom hozzájárul a szár szilárdításához, önmagában nem meghatározó tényező a szárszilárdság kialakulásában.
5. Kimutattuk, hogy a *tii* mutánsok szárának megnyúlása és a hosszú internodiumok a *GA3ox1*, *GA20ox* és *GA20ox1* gének overexpressziójából ered, amelyet kizárólag a szár alsó régiójában detektáltunk, ami új megfigyelés a szakirodalomban, ugyanakkor összhangban van azzal, hogy ezen gének fokozott kifejeződése az internodiumok megnyúlását idézheti elő.

8. Összefoglalás

Napjainkban a zöldségtermesztés dinamikusan fejlődő és folyamatosan változó ágazat, ahol állandóan szükség van innovációra, új termesztési módszerekre és növényanyagokra a piaci igények kielégítéséhez, mind hazai, mind nemzetközi szinten. A nemesítési folyamatok során fontos szerepet játszanak a természetben véletlenszerűen létrejövő mutáns növények, amelyek gyakran hordozhatnak agronómiai szempontból kiemelkedő tulajdonságokat, és termesztésbe vonásuk hasznos lehet.

A magyar nemesítésű étkezési- és fűszerpaprika nemcsak a hagyományos konyha elengedhetetlen része, hanem népelelmezési cikknek számít Magyarországon és Közép-Európában is. A paprika alapvetően erős, felfelé növekvő szárát fejleszt, ám bizonyos mutációk megváltoztathatják a növekedési típust. Az elfekvő, bókoló vagy elterülő fenotípusokat gyakran használják dísznövények nemesítésében; a paprikánál ezek a növekedési típusok új lehetőségeket kínálnak az üvegházi termesztésben, például vertikális vagy „high-wire” támrendszerek alkalmazásával, amelyek már paradicsom, tojásgyümölcs és uborka termesztésében sikeresen működnek.

Vizsgálatunk során különböző, abnormális szárnövekedésű paprika mutánsokat elemeztünk a *Pcx* – (elfekvő növény – procumbent plant), *titi* – (csavarodó ízközű – tortuous internodi), *frx* – (törékeny szárú – fragile-plant) és *pfí* – (pufi szárú – puffy-structured stem) mutánsokat. *In vitro* módszerek alkalmazásával kimutattuk, hogy mindegyik mutáns érzékeli és reagál a fényre. A *Pcx 1* fekvő mutáns esetében az elfekvő tulajdonság a gravitáció érzékelésének hiányából ered; ez azonban nem függ össze a keményítőtartalommal, mivel a mutánsok szárának keményítőtartalma a kontroll genotípuséhoz hasonló. A *Pcx 2* normál szárnövekedésű mutánsok a megváltozott gravitációs ingerre ugyanolyan gyorsan reagáltak, valamint reorientálódtak, mint a kontroll növények, míg a fekvő típusok 420 perc elteltével sem mozdították el a hipokotiljaikat.

A többi mutáns mind reagált a gravitációra, de a *titi* és *pfí* mutánsok enyhén bókoló fenotípust mutattak, ami gyengébb szárszilárdságból adódik. A *Pcx 1* fekvő mutánsokat *in vitro* kultúrában auxinnal kezeltük, ám a fekvő tulajdonság ezzel sem szüntethető meg.

Meghatároztuk a *titi*, *frx* és *pfí* mutánsok lignintartalmát, valamint a szárszilárdságukat a szár három különböző régiójában. Vizsgálatunk igazolta, hogy teljes fejlettségében mindegyik mutáns genotípus gyengébb szárát fejleszt, mint a kontroll. Az is igazolást nyert, hogy a lignintartalom hozzájárul a szár szilárdításához, önmagában a magasabb lignintartalom nem eredményez nagyobb szárszilárdságot.

A lignin bioszintézisben szerepet játszó gének közül vizsgáltuk a *PAL*, *C4H*, *4CL*, *CAD* és *CCoAOMT* gének expresszióját szintén a szár három különböző régiójában. A *CAD* gén esetében

overexpressziót tapasztaltunk a mutánsok szárának alsó régiójában, míg a *CCoAOMT* gén vizsgálata során a középső és felső régiókban tapasztaltuk túltermelést. Bár ezek a gének a szakirodalmi adatok alapján magasabb ligninszintet eredményeznek, a mutánsok esetében mi mászt tapasztaltunk.

A gibberellin-bioszintézisben szerepet játszó gének közül a *titi* mutánsokban a *GA3ox1*, *GA20ox* és *GA20ox1* gének overexpresszióját mutattuk ki, amely kizárólag a szár alsó régiójában volt megfigyelhető. Ezek az eredmények összhangban vannak a szakirodalmi adatokkal, amelyek szerint ezen gének túlműködése folyamatos gibberellin-hatást biztosít a növények számára, ezáltal a szár megnyúlását okozva.

A különböző szárrészek lignintartalmának, szárszilárdságának, génexpressziós adatainak vizsgálata bővíti az eddigi paprikatermesztésre vonatkozó szakirodalmi adatokat, valamint a mutánsok alkalmazhatóságára vonatkozó ismereteket, ezek az eredmények új kutatási célokat nyithatnak meg.

9. Summary

Nowadays, vegetable production is a rapidly developing and continuously changing sector, where innovation, new cultivation methods, and plant materials are constantly needed to meet market demands both nationally and internationally. Naturally occurring mutant plants play an important role in breeding programs, as they often carry traits of agronomic significance, and their introduction into cultivation can be beneficial.

Hungarian-bred sweet and spice peppers are not only indispensable in traditional cuisine but also constitute a staple food crop in Hungary and Central Europe. Typically, pepper develops a strong, upright stem; however, certain mutations can alter its growth habit. Procumbent, decumbent, or vine-like phenotypes are often utilized in ornamental breeding, but in pepper, these growth types may also offer novel opportunities for greenhouse cultivation, for instance in vertical or “high-wire” trellis systems, which have already been successfully applied in tomato, eggplant, and cucumber production.

In this study, we analyzed various pepper mutants exhibiting abnormal stem growth, the *Pcx* – (procumbent plant), *tii* – (tortuous internodi), *frx* – (fragile-plant) and *pfi* – (puffy-structured stem). Using *in vitro* methods, we demonstrated that all mutants perceive and respond to light. In the *Pcx 1* prostrate mutant, the horizontal growth habit resulted from impaired gravity sensing; however, this was not associated with starch content, as the mutants contained similar starch levels in the stem as the control genotype. The *Pcx 2* mutants with normal stem growth responded and reoriented to altered gravitational stimulus as quickly as control plants, whereas the prostrate types failed to reorient their hypocotyls even after 420 minutes.

All other mutants responded to gravity; however, the *tii* and *pfi* mutants exhibited a slightly drooping phenotype, which was attributed to reduced stem mechanical strength. *Pcx 1* procumbent mutants were treated with auxin *in vitro*, but the horizontal growth habit was not reversed.

We determined lignin content and stem mechanical strength in the three regions of the stem for the *tii*, *frx*, and *pfi* mutants. Our results demonstrated that, at full development, all mutant genotypes produced weaker stems than the control. It was also confirmed that lignin contributes to stem reinforcement, but elevated lignin content alone does not necessarily result in increased stem strength.

Among the genes involved in lignin biosynthesis, we examined the expression of *PAL*, *C4H*, *4CL*, *CAD*, and *CCoAOMT* in the same three stem regions. In the *CAD* gene, overexpression was observed in the lower stem regions of the mutants, whereas *CCoAOMT* overexpression was detected in the middle and upper stem regions. Although these genes are reported in the literature to increase lignin content, our mutants did not display this effect.

Regarding gibberellin biosynthesis genes, *tti* mutants exhibited overexpression of *GA3ox1*, *GA20ox*, and *GA20ox1* exclusively in the lower stem regions. These findings are consistent with literature data, which indicate that overexpression of these genes provides a sustained gibberellin effect, thereby promoting stem elongation.

Analysis of lignin content, stem mechanical strength, and gene expression in different stem regions expands the existing literature on pepper cultivation and provides new insights into the potential applications of these mutants. These findings may also open new avenues for future research.

10. Mellékletek

M1. Irodalomjegyzék:

- ABE, K., TAKAHASHI, H. & SUGE, H. 1996. Lazy gene (la) responsible for both an agravitropism of seedlings and lazy habit of tiller growth in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of plant research*, 109, 381-386.
- ADAMOWSKI, M. & FRIML, J. 2015. PIN-dependent auxin transport: action, regulation, and evolution. *The Plant Cell*, 27, 20-32.
- AHMAR, S., GILL, R. A., JUNG, K.-H., FAHEEM, A., QASIM, M. U., MUBEEN, M. & ZHOU, W. 2020. Conventional and molecular techniques from simple breeding to speed breeding in crop plants: recent advances and future outlook. *International journal of molecular sciences*, 21, 2590.
- AJALA, C. & HASENSTEIN, K. H. 2019. Augmentation of root gravitropism by hypocotyl curvature in *Brassica rapa* seedlings. *Plant Science*, 285, 214-223.
- ANDERSSON-GUNNERÅS, S., MELLEROWICZ, E. J., LOVE, J., SEGERMAN, B., OHMIYA, Y., COUTINHO, P. M., NILSSON, P., HENRISSAT, B., MORITZ, T. & SUNDBERG, B. 2006. Biosynthesis of cellulose-enriched tension wood in *Populus*: global analysis of transcripts and metabolites identifies biochemical and developmental regulators in secondary wall biosynthesis. *The Plant Journal*, 45, 144-165.
- ARIMBOOR, R., NATARAJAN, R. B., MENON, K. R., CHANDRASEKHAR, L. P. & MOORKOTH, V. 2015. Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability—a review. *Journal of food science and technology*, 52, 1258-1271.
- BADO, S., FORSTER, B. P., NIELEN, S., ALI, A. M., LAGODA, P. J., TILL, B. J. & LAIMER, M. 2015. Plant mutation breeding: current progress and future assessment. *Plant breeding reviews: volume 39*, 23-88.
- BARA, M. & HASMAN, M. 1963. Investigations on auxin-gibberellin interaction on the phototropism of *Helianthus annuus* hypocotyl. *Plant and Cell Physiology*, 4, 73-77.
- BASSEL, G. W., MULLEN, R. T. & BEWLEY, J. D. 2008. *Procera* is a putative DELLA mutant in tomato (*Solanum lycopersicum*): effects on the seed and vegetative plant. *Journal of experimental botany*, 59, 585-593.
- BERGH, B. & LIPPERT, L. 1964. Six new mutant genes in the pepper, *Capsicum araneum* L.
- BHATTACHARYA, A. 2022. *Physiological processes in plants under low temperature stress*, Springer.
- BLANCAFLOR, E. B. & MASSON, P. H. 2003. Plant gravitropism. Unraveling the ups and downs of a complex process. *Plant physiology*, 133, 1677-1690.
- BOSLAND, P. 2002. Inheritance of a novel flaccid mutant in *Capsicum annuum*. *Journal of Heredity*, 93, 380-382.
- BOUDET, A.-M. 2000. Lignins and lignification: selected issues. *Plant physiology and biochemistry*, 38, 81-96.
- BRESEGHELLO, F. & COELHO, A. S. G. 2013. Traditional and modern plant breeding methods with examples in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 61, 8277-8286.
- BRIGGS, W. R. & CHRISTIE, J. M. 2002. Phototropins 1 and 2: versatile plant blue-light receptors. *Trends in plant science*, 7, 204-210.
- CARLSON, E. A. 2011. *Mutation: The history of an idea from Darwin to genomics*, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- CASTRO-CAMBA, R., SÁNCHEZ, C., VIDAL, N. & VIELBA, J. M. 2022. Plant development and crop yield: The role of gibberellins. *Plants*, 11, 2650.
- CHEN, R., ROSEN, E. & MASSON, P. H. 1999. Gravitropism in higher plants. *Plant physiology*, 120, 343-350.
- CHENG, G.-X., ZHANG, R.-X., LIU, S., HE, Y.-M., FENG, X.-H., HAQ, S. U., LUO, D.-X. & GONG, Z.-H. 2019. Leaf-color mutation induced by ethyl methane sulfonate and genetic and physio-biochemical characterization of leaf-color mutants in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 257, 108709.

- CHO, M. & CHO, H. 2013. The function of ABCB transporters in auxin transport. *Plant signaling & behavior*, 8, 642-54.
- CHRISTIE, J. M., YANG, H., RICHTER, G. L., SULLIVAN, S., THOMSON, C. E., LIN, J., TITAPIWATANAKUN, B., ENNIS, M., KAISERLI, E. & LEE, O. R. 2011. phot1 inhibition of ABCB19 primes lateral auxin fluxes in the shoot apex required for phototropism. *PLoS biology*, 9, e1001076.
- CORRELL, M. J. & KISS, J. Z. 2002. Interactions between gravitropism and phototropism in plants. *Journal of plant growth regulation*, 21.
- COSGROVE, D. J. & SOVONICK-DUNFORD, S. A. 1989. Mechanism of gibberellin-dependent stem elongation in peas. *Plant Physiology*, 89, 184-191.
- CSELŐTEI, L., NYÚJTÓ, S. & CSÁKY, A. 1993. Kertészet. 5. átdolg. kiadás. *Mezőgazda Kiadó. Budapest.*
- CSILLÉRY, G. 2006. Pepper taxonomy and the botanical description of the species. *Acta Agronomica Hungarica*, 54, 151-166.
- CSILLÉRY, G. R., JÓZSEF, PÁPAI, B., KOVÁCS, Z. F., MIKLÓS & SZAMOSI, C. 2023. A tti és Pex gének alkalmazása az ámpolna típusú paprika fajták nemesítése során In: KARSAI, I., PAUK, J., VEISZ, O. B., POLGÁR, Z. & BÓNA, L. (eds.) *XXIX. Növénynevelési Tudományos Napok Összefoglaló kötet.* Martonvásár: MTA ATK.
- DEVI, J., SAGAR, V., KASWAN, V., RANJAN, J., KUMAR, R., MISHRA, G. P., DUBEY, R. & VERMA, R. K. 2021. Advances in breeding strategies of bell pepper (*Capsicum annuum* L. var. *grossum* Sendt.). *Advances in Plant Breeding Strategies: Vegetable Crops: Volume 9: Fruits and Young Shoots.* Springer.
- DING, Z., GALVÁN-AMPUDIA, C. S., DEMARSY, E., ŁANGOWSKI, Ł., KLEINE-VEHN, J., FAN, Y., MORITA, M. T., TASAKA, M., FANKHAUSER, C. & OFFRINGA, R. 2011. Light-mediated polarization of the PIN3 auxin transporter for the phototropic response in *Arabidopsis*. *Nature cell biology*, 13, 447-452.
- DONG, Z., JIANG, C., CHEN, X., ZHANG, T., DING, L., SONG, W., LUO, H., LAI, J., CHEN, H. & LIU, R. 2013. Maize LAZY1 mediates shoot gravitropism and inflorescence development through regulating auxin transport, auxin signaling, and light response. *Plant physiology*, 163, 1306-1322.
- EASON, W., HALL, G. & WANG, T. 1987. In vitro analysis of gravitropic mutants of pea. *Journal of plant physiology*, 131, 201-213.
- ERŐS-HONTI, Z. & CSILLÉRY, G. 2016. Morphological and anatomical characterisation of the fragile plant-frx pepper mutant.
- ESMON, C. A., TINSLEY, A. G., LJUNG, K., SANDBERG, G., HEARNE, L. B. & LISCUM, E. 2006. A gradient of auxin and auxin-dependent transcription precedes tropic growth responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 236-241.
- FLASIŃSKI, M. & HAĆ-WYDRO, K. 2014. Natural vs synthetic auxin: Studies on the interactions between plant hormones and biological membrane lipids. *Environmental research*, 133, 123-134.
- FRANKENBERGER JR, W. & ARSHAD, M. 2020. *Phytohormones in soils microbial production & function*, CRC Press.
- FREI, M. 2013. Lignin: characterization of a multifaceted crop component. *The Scientific World Journal*, 2013, 436517.
- FUKAKI, H., FUJISAWA, H. & TASAKA, M. 1996. SGR1, SGR2, and SGR3: novel genetic loci involved in shoot gravitropism in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 110, 945-955.
- GADALLA, D. S., BRAUN, M. & BÖHMER, M. 2018. Gravitropism in higher plants: Cellular aspects. *Gravitational biology I: Gravity sensing and graviorientation in microorganisms and plants.* Springer.
- GAISER, J. C. & LOMAX, T. L. 1993. The altered gravitropic response of the lazy-2 mutant of tomato is phytochrome regulated. *Plant Physiology*, 102, 339-344.
- GAO, F., YANG, L., CHEN, A.-J., ZHOU, W.-H., CHEN, D.-Z. & CHEN, J.-M. 2022. Promoting effect of plant hormone gibberellin on co-metabolism of sulfamethoxazole by microalgae *Chlorella pyrenoidosa*. *Bioresource Technology*, 351, 126900.
- GARCÍA-HURTADO, N., CARRERA, E., RUIZ-RIVERO, O., LÓPEZ-GRESA, M. P., HEDDEN, P., GONG, F. & GARCÍA-MARTÍNEZ, J. L. 2012. The characterization of transgenic tomato overexpressing gibberellin 20-oxidase reveals induction of parthenocarpic fruit growth, higher

- yield, and alteration of the gibberellin biosynthetic pathway. *Journal of Experimental Botany*, 63, 5803-5813.
- GE, L. & CHEN, R. 2019. Negative gravitropic response of roots directs auxin flow to control root gravitropism. *Plant, Cell & Environment*, 42, 2372-2383.
- GENG, D., CHEN, P., SHEN, X., ZHANG, Y., LI, X., JIANG, L., XIE, Y., NIU, C., ZHANG, J. & HUANG, X. 2018. MdMYB88 and MdMYB124 enhance drought tolerance by modulating root vessels and cell walls in apple. *Plant Physiology*, 178, 1296-1309.
- GILROY, S. 2008. Plant tropisms. *Current Biology*, 18, R275-R277.
- GONG, X., MENG, Y., LU, J., TAO, Y., CHENG, Y. & WANG, H. 2022. A review on lignin-based phenolic resin adhesive. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 223, 2100434.
- GRUBE, R. C., BRENNAN, E. B., & RYDER, E. J. 2003. Characterization and genetic analysis of a lettuce (*Lactuca sativa* L.) mutant, weary, that exhibits reduced gravitropic response in hypocotyls and inflorescence stems. *Journal of experimental botany*, 54(385), 1259-1268.
- HATFIELD, R. & VERMERRIS, W. 2001. Lignin formation in plants. The dilemma of linkage specificity. *Plant physiology*, 126, 1351-1357.
- HEDDEN, P. & SPONSEL, V. 2015. A century of gibberellin research. *Journal of plant growth regulation*, 34, 740-760.
- HERNÁNDEZ-GARCÍA, J., BRIONES-MORENO, A. & BLÁZQUEZ, M. A. Origin and evolution of gibberellin signaling and metabolism in plants. *Seminars in cell & developmental biology*, 2021. Elsevier, 46-54.
- HERNÁNDEZ-PÉREZ, T., GÓMEZ-GARCÍA, M., VALVERDE, M. & PAREDES-LÓPEZ, O. 2020. Capsicum annuum (hot pepper): an ancient Latin-American crop with outstanding bioactive compounds and nutraceutical potential. A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 19 (6): 2972–2993.
- HIGUCHI, T. 2018. Lignin structure and morphological distribution in plant cell walls. *Lignin biodegradation: Microbiology, chemistry, and potential applications*. CRC Press.
- HOHM, T., PREUTEN, T. & FANKHAUSER, C. 2013. Phototropism: translating light into directional growth. *American journal of botany*, 100, 47-59.
- HOLLAND, J. J., ROBERTS, D., & LISCUM, E. 2009. Understanding phototropism: from Darwin to today. *Journal of experimental botany*, 60(7), 1969-1978.
- HWANG, D., JEONG, H.-J., KWON, J.-K., KIM, H., KANG, S.-Y. & KANG, B.-C. 2014. Phenotypic variants among ethyl methanesulfonate M2 mutant lines in Capsicum annuum. *Plant Genetic Resources*, 12, S141-S145.
- ILLOUZ-ELIAZ, N., RAMON, U., SHOHAT, H., BLUM, S., LIVNE, S., MENDELSON, D. & WEISS, D. 2019. Multiple gibberellin receptors contribute to phenotypic stability under changing environments. *The plant cell*, 31, 1506-1519.
- JAIN, S. M. 2010. Mutagenesis in crop improvement under the climate change. *Romanian biotechnological letters*, 15, 88-106.
- JONES, L., ENNOS, A. R. & TURNER, S. R. 2001. Cloning and characterization of irregular xylem4 (irx4): a severely lignin-deficient mutant of Arabidopsis. *The Plant Journal*, 26, 205-216.
- KAMRAN, M., CUI, W., AHMAD, I., MENG, X., ZHANG, X., SU, W., CHEN, J., AHMAD, S., FAHAD, S. & HAN, Q. 2018. Effect of paclobutrazol, a potential growth regulator on stalk mechanical strength, lignin accumulation and its relation with lodging resistance of maize. *Plant growth regulation*, 84, 317-332.
- KARTHÄUSER, J., BIZIKS, V., MAI, C. & MILITZ, H. 2021. Lignin and lignin-derived compounds for wood applications—A review. *Molecules*, 26, 2533.
- KAWAMOTO, N. & MORITA, M. T. 2022. Gravity sensing and responses in the coordination of the shoot gravitropic setpoint angle. *New Phytologist*, 236, 1637-1654.
- KENDE, H. & ZEEVAART, J. 1997. The five "classical" plant hormones. *The plant cell*, 9, 1197.
- KIM, J. I., SHARKHUU, A., JIN, J. B., LI, P., JEONG, J. C., BAEK, D., LEE, S. Y., BLAKESLEE, J. J., MURPHY, A. S. & BOHNERT, H. J. 2007. yucca6, a dominant mutation in Arabidopsis, affects auxin accumulation and auxin-related phenotypes. *Plant Physiology*, 145, 722-735.
- KIM, K., SHIN, J., LEE, S.-H., KWEON, H.-S., MALOOF, J. N. & CHOI, G. 2011. Phytochromes inhibit hypocotyl negative gravitropism by regulating the development of endodermal amyloplasts through phytochrome-interacting factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 1729-1734.

- KIM, Y.-H. & HUH, G.-H. 2019a. Molecular characterization and expression of the cinnamyl alcohol dehydrogenase gene family in sweet potato (*Ipomoea batatas*) under environmental stresses. *Horticultural Science and Technology*, 37, 279-289.
- KIM, Y.-H. & HUH, G.-H. 2019b. Overexpression of cinnamyl alcohol dehydrogenase gene from sweetpotato enhances oxidative stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 55, 172-179.
- KIMURA, T., TSUCHIDA-MAYAMA, T., IMAI, H., OKAJIMA, K., ITO, K. & SAKAI, T. 2020. *Arabidopsis* ROOT PHOTOTROPISM2 is a light-dependent dynamic modulator of phototropin1. *The Plant Cell*, 32, 2004-2019.
- KISS, J. Z., GUISSINGER, M. M., MILLER, A. J. & STACKHOUSE, K. S. 1997. Reduced gravitropism in hypocotyls of starch-deficient mutants of *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology*, 38, 518-525.
- KISS, J. Z., WRIGHT, J. B. & CASPAR, T. 1996. Gravitropism in roots of intermediate-starch mutants of *Arabidopsis*. *Physiologia Plantarum*, 97, 237-244.
- KOLESNIKOV, Y. S., KRETYNIN, S. V., VOLOTOVSKY, I. D., KORDYUM, E. L., RUELLAND, E. & KRAVETS, V. S. 2016. Molecular mechanisms of gravity perception and signal transduction in plants. *Protoplasma*, 253, 987-1004.
- KONSTANTINOVA, N., KORBEI, B. & LUSCHNIG, C. 2021. Auxin and root gravitropism: Addressing basic cellular processes by exploiting a defined growth response. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 2749.
- KÖHLER, L. & SPATZ, H.-C. 2002. Micromechanics of plant tissues beyond the linear-elastic range. *Planta*, 215, 33-40.
- KUMAR, M., KHERAWAT, B. S., DEY, P., SAHA, D., SINGH, A., BHATIA, S. K., GHODAKE, G. S., KADAM, A. A., KIM, H.-U. & CHUNG, S.-M. 2021. Genome-wide identification and characterization of PIN-FORMED (PIN) gene family reveals role in developmental and various stress conditions in *Triticum aestivum* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 7396.
- KUMAR, O., ANITHA, V., SUBHASHINI, K. R. & RAO, K. R. 2001. Induced morphological mutations in *Capsicum annum* L.
- LANAHAN, M. B. & HO, T.-H. D. 1988. Slender barley: a constitutive gibberellin-response mutant. *Planta*, 175, 107-114.
- LEE, D.-K., JUNG, H., JANG, G., JEONG, J. S., KIM, Y. S., HA, S.-H., DO CHOI, Y. & KIM, J.-K. 2016. Overexpression of the OsERF71 transcription factor alters rice root structure and drought resistance. *Plant physiology*, 172, 575-588.
- LEE, J., MOON, S., JANG, S., LEE, S., AN, G., JUNG, K.-H. & PARK, S. K. 2020. OsbHLH073 negatively regulates internode elongation and plant height by modulating GA homeostasis in rice. *Plants*, 9, 547.
- LEROUX, O. 2012. Collenchyma: a versatile mechanical tissue with dynamic cell walls. *Annals of Botany*, 110, 1083-1098.
- LEW, T. T. S., KOMAN, V. B., GORDIICHUK, P., PARK, M. & STRANO, M. S. 2020. The emergence of plant nanobionics and living plants as technology. *Advanced Materials Technologies*, 5, 1900657.
- LI, J., JI, X., MAO, R., CAO, F. & LI, M. 2023. Increasing lignin accumulation in *Arabidopsis* and Poplar by overexpressing a CCoAOMT gene from the Dove Tree (*Davidia involucreta* Baill.). *Journal of Plant Growth Regulation*, 42, 4095-4105.
- LI, M., CHENG, C., ZHANG, X., ZHOU, S., LI, L. & YANG, S. 2019. Overexpression of pear (*Pyrus pyrifolia*) CAD2 in tomato affects lignin content. *Molecules*, 24, 2595.
- LI, P., WANG, Y., QIAN, Q., FU, Z., WANG, M., ZENG, D., LI, B., WANG, X. & LI, J. 2007. LAZY1 controls rice shoot gravitropism through regulating polar auxin transport. *Cell research*, 17, 402-410.
- LIANG, C., WEI, C., WANG, L., GUAN, Z., SHI, T., HUANG, J., LI, B., LU, Y., LIU, H. & WANG, Y. 2022. Characterization of a novel creeping Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) mutant lazy1. *Frontiers in plant science*, 13, 815131.
- LISCUM, E., ASKINOSIE, S. K., LEUCHTMAN, D. L., MORROW, J., WILLENBURG, K. T. & COATS, D. R. 2014. Phototropism: growing towards an understanding of plant movement. *The Plant Cell*, 26, 38-55.
- LIU, G., LI, Y., GAO, J., FENG, Z., GUO, H., ZOU, H., CHU, X., LI, Y., CHEN, Y. & YU, C. 2021. Detecting the different responses of roots and shoots to gravity in *Salix matsudana* (Koidz). *Forests*, 12, 1715.

- LOURENÇO, A. & PEREIRA, H. 2018. Compositional variability of lignin in biomass. *Lignin-trends and applications*, 65-98.
- LUPOI, J. S., SINGH, S., PARTHASARATHI, R., SIMMONS, B. A. & HENRY, R. J. 2015. Recent innovations in analytical methods for the qualitative and quantitative assessment of lignin. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 49, 871-906.
- LV, H., LI, X., LI, H., HU, Y., LIU, H., WEN, S., LI, Y., LIU, Y., HUANG, H. & YU, G. 2021. Gibberellin induced transcription factor bZIP53 regulates Cesa1 expression in maize kernels. *PLoS One*, 16, e0244591.
- MA, Q. H., ZHU, H. H. & QIAO, M. Y. 2018. Contribution of both lignin content and sinapyl monomer to disease resistance in tobacco. *Plant Pathology*, 67, 642-650.
- MANZILA, I. & PRIYATNO, T. Genetic variations of EMS-induced chili peppers (*Capsicum annuum*) cv. Gelora generate geminivirus resistant mutant lines. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020. IOP Publishing, 012031.
- MARCHANT, A., KARGUL, J., MAY, S. T., MULLER, P., DELBARRE, A., PERROT-RECHENMANN, C. & BENNETT, M. J. 1999. AUX1 regulates root gravitropism in *Arabidopsis* by facilitating auxin uptake within root apical tissues. *The EMBO journal*.
- MARTIN, D. N., PROEBSTING, W. M. & HEDDEN, P. 1999. The SLENDER gene of pea encodes a gibberellin 2-oxidase. *Plant physiology*, 121, 775-781.
- MBA, C., AFZA, R., BADO, S. & JAIN, S. M. 2010. Induced mutagenesis in plants using physical and chemical agents. *Plant cell culture: essential methods*, 20, 111-130.
- MEENTS, M. J., WATANABE, Y. & SAMUELS, A. L. 2018. The cell biology of secondary cell wall biosynthesis. *Annals of Botany*, 121, 1107-1125.
- MÉNARD, D., BLASCHEK, L., KRIECHBAUM, K., LEE, C. C., SERK, H., ZHU, C., LYUBARTSEV, A., NUOENDAGULA, BACSIK, Z. & BERGSTRÖM, L. 2022. Plant biomechanics and resilience to environmental changes are controlled by specific lignin chemistries in each vascular cell type and morphotype. *The Plant Cell*, 34, 4877-4896.
- MENG, L., ZHOU, R., LIANG, L., ZANG, X., LIN, J., WANG, Q., WANG, L., WANG, W., LI, Z. & REN, P. 2024. 4-Coumarate-CoA ligase (4-CL) enhances flavonoid accumulation, lignin synthesis, and fruiting body formation in *Ganoderma lucidum*. *Gene*, 899, 148147.
- MENG, Y., ZHANG, H., FAN, Y. & YAN, L. 2022. Anthocyanins accumulation analysis of correlated genes by metabolome and transcriptome in green and purple peppers (*Capsicum annuum*). *BMC Plant Biology*, 22, 358.
- MESHITSUKA, G. & ISOGAI, A. 2017. Chemical structures of cellulose, hemicelluloses, and lignin. *Chemical modification of lignocellulosic materials*. Routledge.
- MICHNIEWICZ, M., BREWER, P. B. & FRIML, J. 2007. Polar auxin transport and asymmetric auxin distribution. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 5, e0108.
- MIEDES, E., VANHOLME, R., BOERJAN, W. & MOLINA, A. 2014. The role of the secondary cell wall in plant resistance to pathogens. *Frontiers in plant science*, 5, 358.
- MOORE, K. J. & JUNG, H.-J. G. 2001. Lignin and fiber digestion. *Rangeland Ecology & Management/Journal of Range Management Archives*, 54, 420-430.
- MOREIRA-VILAR, F. C., SIQUEIRA-SOARES, R. D. C., FINGER-TEIXEIRA, A., OLIVEIRA, D. M. D., FERRO, A. P., DA ROCHA, G. J., FERRARESE, M. D. L. L., DOS SANTOS, W. D. & FERRARESE-FILHO, O. 2014. The acetyl bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than Klason and thioglycolic acid methods. *PLoS one*, 9, e110000.
- MUDAY, G. K. 2001. Auxins and tropisms. *Journal of plant growth regulation*, 20, 226-243.
- MUKHERJEE, A., MANDAL, T., GANGULY, A. & CHATTERJEE, P. K. 2016. Lignin degradation in the production of bioethanol—A review. *ChemBioEng Reviews*, 3, 86-96.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15.
- NAKANO, J. & MESHITSUKA, G. 1992. The detection of lignin. *Methods in lignin chemistry*. Springer.
- OHGISHI, M., SAJI, K., OKADA, K. & SAKAI, T. 2004. Functional analysis of each blue light receptor, cry1, cry2, phot1, and phot2, by using combinatorial multiple mutants in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 2223-2228.
- OKADA, K. & SHIMURA, Y. 1992. Mutational analysis of root gravitropism and phototropism of *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Australian Journal of Plant Physiology*, 19, 439-448.

- PARAN, I. & FALLIK, E. 2011. Breeding for fruit quality in pepper (*Capsicum* spp.). *Breeding for fruit quality*, 307-322.
- PATHIRANA, R. 2011. Plant mutation breeding in agriculture. *CABI Reviews*, 1-20.
- PEDERSEN, J. F., VOGEL, K. P. & FUNNELL, D. L. 2005. Impact of reduced lignin on plant fitness. *Crop Science*, 45, 812-819.
- PIETRUSZKA, M. & LEWICKA, S. 2007. Anisotropic plant growth due to phototropism. *Journal of mathematical biology*, 54, 45-55.
- PIRON, F., NICOLAÏ, M., MINOÏA, S., PIEDNOIR, E., MORETTI, A., SALGUES, A., ZAMIR, D., CARANTA, C. & BENDAHMANE, A. 2010. An induced mutation in tomato eIF4E leads to immunity to two potyviruses. *PLoS one*, 5, e11313.
- POLO, C. C., PEREIRA, L., MAZZAFERA, P., FLORES-BORGES, D. N., MAYER, J. L., GUIZAR-SICAÏROS, M., HOLLER, M., BARSÍ-ANDREETA, M., WESTFAHL JR, H. & MENEAU, F. 2020. Correlations between lignin content and structural robustness in plants revealed by X-ray ptychography. *Scientific reports*, 10, 6023.
- QUAIL, P. H. 2002. Photosensory perception and signalling in plant cells: new paradigms? *Current opinion in cell biology*, 14, 180-188.
- REINECKE, D. M., WICKRAMARATHNA, A. D., OZGA, J. A., KUREPIN, L. V., JIN, A. L., GOOD, A. G. & PHARIS, R. P. 2013. Gibberellin 3-oxidase gene expression patterns influence gibberellin biosynthesis, growth, and development in pea. *Plant physiology*, 163, 929-945.
- RIEU, I., ERIKSSON, S., POWERS, S. J., GONG, F., GRIFFITHS, J., WOOLLEY, L., BENLLOCH, R., NILSSON, O., THOMAS, S. G. & HEDDEN, P. 2008. Genetic analysis reveals that C19-GA 2-oxidation is a major gibberellin inactivation pathway in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 20, 2420-2436.
- ROSS, J. J., MIRAGHAZADEH, A., BECKETT, A. H., QUITTENDEN, L. J. & MCADAM, E. L. 2016. Interactions between gibberellins and other hormones. *Annual Plant Reviews, Volume 49: Gibberellins, The*, 229-252.
- RUIZ ROSQUETE, M., WAIDMANN, S. & KLEINE-VEHN, J. 2018. PIN7 auxin carrier has a preferential role in terminating radial root expansion in Arabidopsis thaliana. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1238.
- SABINA, S. & JITHESH, M. N. 2020. Mechanical rubbing of tomato internode influence stem growth, improve tensile strength but negatively impact flavonoid levels. *Advances in Horticultural Science*, 34, 373-380.
- SAKAI, T. & HAGA, K. 2012. Molecular genetic analysis of phototropism in Arabidopsis. *Plant and Cell Physiology*, 53, 1517-1534.
- SAKAMOTO, S., KAMIMURA, N., TOKUE, Y., NAKATA, M. T., YAMAMOTO, M., HU, S., MASAI, E., MITSUDA, N. & KAJITA, S. 2020. Identification of enzymatic genes with the potential to reduce biomass recalcitrance through lignin manipulation in Arabidopsis. *Biotechnology for biofuels*, 13, 97.
- SAKAMOTO, S. & MITSUDA, N. 2015. Reconstitution of a secondary cell wall in a secondary cell wall-deficient Arabidopsis mutant. *Plant and Cell Physiology*, 56, 299-310.
- SAKAMOTO, T., KOBAYASHI, M., ITOH, H., TAGIRI, A., KAYANO, T., TANAKA, H., IWAHORI, S. & MATSUOKA, M. 2001. Expression of a gibberellin 2-oxidase gene around the shoot apex is related to phase transition in rice. *Plant physiology*, 125, 1508-1516.
- SALA, J., MOESSO, N., ISONO, E. & SCHWECHHEIMER, C. 2023. Arabidopsis thaliana B-GATA factors repress starch synthesis and gravitropic growth responses. *New Phytologist*, 239, 979-991.
- SALAZAR-CEREZO, S., MARTÍNEZ-MONTIEL, N., GARCÍA-SÁNCHEZ, J., PÉREZ-Y-TERRÓN, R. & MARTÍNEZ-CONTRERAS, R. D. 2018. Gibberellin biosynthesis and metabolism: A convergent route for plants, fungi and bacteria. *Microbiological research*, 208, 85-98.
- SANCAR, A. 2003. Structure and function of DNA photolyase and cryptochrome blue-light photoreceptors. *Chemical reviews*, 103, 2203-2238.
- SAO, R., SAHU, P. K., MONDAL, S., KUMAR, V., SHARMA, D. & DAS, B. 2021. Spectrum and frequency of macro and micro mutations induced through gamma rays in traditional rice landraces of Chhattisgarh. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 12.
- SCHRAGER-LAVELLE, A., GATH, N. N., DEVISSETTY, U. K., CARRERA, E., LÓPEZ-DÍAZ, I., BLAZQUEZ, M. A. & MALOOF, J. N. 2019. The role of a class III gibberellin 2-oxidase in tomato internode elongation. *The Plant Journal*, 97, 603-615.

- SEWALT, V. J., NI, W., BLOUNT, J. W., JUNG, H. G., MASOUD, S. A., HOWLES, P. A., LAMB, C. & DIXON, R. A. 1997. Reduced lignin content and altered lignin composition in transgenic tobacco down-regulated in expression of L-phenylalanine ammonia-lyase or cinnamate 4-hydroxylase. *Plant physiology*, 115, 41-50.
- SEZGIN, M. & KAHYA, M. 2018. Phytohormones. *Bitlis Eren University Journal of Science and Technology*, 8, 35-39.
- SHALABY, T. A. & EL-BANNA, A. 2013. Molecular and horticultural characteristics of in vitro induced tomato mutants. *Journal of Agricultural Science*, 5, 155.
- SHEN, Y., ADNAN, M., MA, F., KONG, L., WANG, M., JIANG, F., HU, Q., YAO, W., ZHOU, Y. & ZHANG, M. 2023. A high-throughput phenotyping method for sugarcane rind penetrometer resistance and breaking force characterization by near-infrared spectroscopy. *Plant Methods*, 19, 101.
- SIDDIQUE, M. I., BACK, S., LEE, J.-H., JO, J., JANG, S., HAN, K., VENKATESH, J., KWON, J.-K., JO, Y. D. & KANG, B.-C. 2020. Development and characterization of an ethyl methane sulfonate (EMS) induced mutant population in *Capsicum annuum* L. *Plants*, 9, 396.
- SIGURBJÖRNSSON, B. 1983. Induced mutations. *Crop breeding*, 153-176.
- SONG, J.-L., WANG, Z.-Y., WANG, Y.-H., DU, J., WANG, C.-Y., ZHANG, X.-Q., CHEN, S., HUANG, X.-L., XIE, X.-M. & ZHONG, T.-X. 2022. Overexpression of *Pennisetum purpureum* CCoAMT contributes to lignin deposition and drought tolerance by promoting the accumulation of flavonoids in transgenic tobacco. *Frontiers in plant science*, 13, 884456.
- STANKOVIĆ, B., VOLKMANN, D. & SACK, F. D. 1998. Autotropism, automorphogenesis, and gravity. *Physiologia Plantarum*, 102, 328-335.
- STROHM, A. K., BALDWIN, K. L. & MASSON, P. H. 2012. Multiple roles for membrane-associated protein trafficking and signaling in gravitropism. *Frontiers in Plant Science*, 3, 274.
- SU, S.-H., GIBBS, N. M., JANCEWICZ, A. L. & MASSON, P. H. 2017. Molecular mechanisms of root gravitropism. *Current Biology*, 27, R964-R972.
- SU, Y.-H., LIU, Y.-B. & ZHANG, X.-S. 2011. Auxin–cytokinin interaction regulates meristem development. *Molecular plant*, 4, 616-625.
- SUGAWARA, S., MASHIGUCHI, K., TANAKA, K., HISHIYAMA, S., SAKAI, T., HANADA, K., KINOSHITA-TSUJIMURA, K., YU, H., DAI, X. & TAKEBAYASHI, Y. 2015. Distinct characteristics of indole-3-acetic acid and phenylacetic acid, two common auxins in plants. *Plant and Cell Physiology*, 56, 1641-1654.
- SUN, X., SHU, J., ALI MOHAMED, A. M., DENG, X., ZHI, X., BAI, J., CUI, Y., LU, X., DU, Y. & WANG, X. 2019. Identification and characterization of EI (Elongated Internode) gene in tomato (*Solanum lycopersicum*). *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 2204.
- SWARUP, R. & BHOSALE, R. 2019. Developmental roles of AUX1/LAX auxin influx carriers in plants. *Frontiers in plant science*, 10, 1306.
- SWARUP, R., KARGUL, J., MARCHANT, A., ZADIK, D., RAHMAN, A., MILLS, R., YEMM, A., MAY, S., WILLIAMS, L. & MILLNER, P. 2004. Structure-function analysis of the presumptive *Arabidopsis* auxin permease AUX1. *The Plant Cell*, 16, 3069-3083.
- SZABÓ, D. 2018. *Mit adott a bolgárkertész?: az eredetvédett szentesi paprika és a hideg hajtatott étkezési paprika jövedelmezősége*. BCE Gazdálkodástudományi Kar.
- TAKAHASHI, N., YAMAZAKI, Y., KOBAYASHI, A., HIGASHITANI, A. & TAKAHASHI, H. 2003. Hydrotropism interacts with gravitropism by degrading amyloplasts in seedling roots of *Arabidopsis* and radish. *Plant physiology*, 132, 805-810.
- TANIMOTO, M., TREMBLAY, R. & COLASANTI, J. 2008. Altered gravitropic response, amyloplast sedimentation and circumnutation in the *Arabidopsis* shoot gravitropism 5 mutant are associated with reduced starch levels. *Plant Molecular Biology*, 67, 57-69.
- TERBE, I. 2004. Some relationships between soil and nutrient requirements and nutrient supply of pepper (*Capsicum annuum* L.) with respect to types grown in Hungary. *International Journal of Horticultural Science*, 10, 93-105.
- TIZ, D. B., TOFANI, G., VICENTE, F. A. & LIKOZAR, B. 2024. Chemical synthesis of monolignols: Traditional methods, recent advances, and future challenges in sustainable processes. *Antioxidants*, 13, 1387.
- TOMLEKOVA, N., SPASOVA-APOSTOLOVA, V., PANTCHEV, I. & SARSU, F. 2021. Mutation associated with orange fruit color increases concentrations of β -carotene in a sweet pepper variety (*Capsicum annuum* L.). *Foods*, 10, 1225.

- TU, M., WANG, X., YIN, W., WANG, Y., LI, Y., ZHANG, G., LI, Z., SONG, J. & WANG, X. 2020. Grapevine VlbZIP30 improves drought resistance by directly activating VvNAC17 and promoting lignin biosynthesis through the regulation of three peroxidase genes. *Horticulture research*, 7.
- UEGUCHI-TANAKA, M., ASHIKARI, M., NAKAJIMA, M., ITOH, H., KATOH, E., KOBAYASHI, M., CHOW, T.-Y., HSING, Y.-I. C., KITANO, H. & YAMAGUCHI, I. 2005. GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 encodes a soluble receptor for gibberellin. *Nature*, 437, 693-698.
- UNG, K. L., SCHULZ, L., ZUZIC, L., AMSINCK, B. L., KOUTNIK-ABELE, S., BENHAMMOUCHE, I., ANDERSEN, C. G., NEL, L., SCHIØTT, B. & STOKES, D. L. 2025. Structures and mechanism of the AUX/LAX transporters involved in auxin import. *Nature Plants*, 11, 1670-1680.
- VANDENBRINK, J. P. & KISS, J. Z. Plant responses to gravity. *Seminars in cell & developmental biology*, 2019. Elsevier, 122-125.
- VANHOLME, R., DE MEESTER, B., RALPH, J. & BOERJAN, W. 2019. Lignin biosynthesis and its integration into metabolism. *Current opinion in biotechnology*, 56, 230-239.
- VINTERHALTER, D., VINTERHALTER, B. & ORBOVIĆ, V. 2012. Photo-and gravitropic bending of potato plantlets obtained in vitro from single-node explants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31, 560-569.
- VITHA, S., YANG, M., KISS, J. Z. & SACK, F. D. 1998. Light promotion of hypocotyl gravitropism of a starch-deficient tobacco mutant correlates with plastid enlargement and sedimentation. *Plant physiology*, 116, 495-502.
- VOOREND, W., NELISSEN, H., VANHOLME, R., DE VliegHER, A., VAN BREUSEGEM, F., BOERJAN, W., ROLDÁN-RUIZ, I., MUYLLE, H. & INZÉ, D. 2016. Overexpression of GA 20-OXIDASE 1 impacts plant height, biomass allocation and saccharification efficiency in maize. *Plant biotechnology journal*, 14, 997-1007.
- WAGNER, A., TOBIMATSU, Y., PHILLIPS, L., FLINT, H., TORR, K., DONALDSON, L., PEARS, L. & RALPH, J. 2011. CCoAOMT suppression modifies lignin composition in *Pinus radiata*. *The Plant Journal*, 67, 119-129.
- WAITE, J. M. & DARDICK, C. 2021. The roles of the IGT gene family in plant architecture: past, present, and future. *Current Opinion in Plant Biology*, 59, 101983.
- WANG, G.-L., WU, J.-Q., CHEN, Y.-Y., XU, Y.-J., ZHOU, C.-L., HU, Z.-Z., REN, X.-Q. & XIONG, A.-S. 2023. More or less: recent advances in lignin accumulation and regulation in horticultural crops. *Agronomy*, 13, 2819.
- WANG, H.-Z., YANG, K.-Z., ZOU, J.-J., ZHU, L.-L., XIE, Z. D., MORITA, M. T., TASAKA, M., FRIML, J., GROTEWOLD, E. & BEECKMAN, T. 2015. Transcriptional regulation of PIN genes by FOUR LIPS and MYB88 during *Arabidopsis* root gravitropism. *Nature Communications*, 6, 8822.
- WANG, H., MA, L.-G., LI, J.-M., ZHAO, H.-Y. & DENG, X. W. 2001. Direct interaction of *Arabidopsis* cryptochromes with COP1 in light control development. *Science*, 294, 154-158.
- WANG, Y., JIN, M., LUO, Y., CHANG, Y., ZHU, J., LI, Y. & WANG, Z. 2022. Effects of irrigation on stem lignin and breaking strength of winter wheat with different planting densities. *Field Crops Research*, 282, 108518.
- WANG, Y., MOSTAFA, S., ZENG, W. & JIN, B. 2021. Function and mechanism of jasmonic acid in plant responses to abiotic and biotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 8568.
- WEI, L., ZHAO, X., GU, X., PENG, J., SONG, W., DENG, B., CAO, Y. & HU, S. 2023. Genome-wide identification and expression analysis of *Dendrocalamus Farinosus* CCoAOMT Gene Family and the role of DfCCoAOMT14 involved in Lignin Synthesis. *International journal of molecular sciences*, 24, 8965.
- WHETTEN, R. W., MACKAY, J. J. & SEDEROFF, R. R. 1998. Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Annual review of plant biology*, 49, 585-609.
- WON, C., SHEN, X., MASHIGUCHI, K., ZHENG, Z., DAI, X., CHENG, Y., KASAHARA, H., KAMIYA, Y., CHORY, J. & ZHAO, Y. 2011. Conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASES OF ARABIDOPSIS and YUCCAs in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 18518-18523.
- WYATT, S. The gravity persistent signal (gps) Mutants of *Arabidopsis*: Insights into Gravitropic Signal Transduction. 35th COSPAR Scientific Assembly, 2004. 1146.

- XI-OU, X., WENQIU, L., WEI, L., XIAOMING, G., LINGLING, L., FEIYUE, M. & YUGE, L. 2017. The analysis of physiological variations in M2 generation of *Solanum melongena* L. Mutagenized by ethyl methane sulfonate. *Frontiers in Plant Science*, 8, 17.
- XIAO, P., PFAFF, S. A., ZHAO, W., DEBNATH, D., VOJVODIN, C. S., LIU, C.-J., COSGROVE, D. J. & WANG, T. 2025. Emergence of lignin-carbohydrate interactions during plant stem maturation visualized by solid-state NMR. *Nature Communications*, 16, 8010.
- XUE, H., GAO, X., HE, P. & XIAO, G. 2022. Origin, evolution, and molecular function of DELLA proteins in plants. *The Crop Journal*, 10, 287-299.
- YADAV, R., GORATHOKI, S., DHAKAL, S., BC, P., SHAH, A. & POUDEL, S. 2021. A review on overview role of mutation in plant breeding. *Reviews in Food and Agriculture (RFNA)*, 2, 39-42.
- YAMAMOTO, K. & KISS, J. Z. 2002. Disruption of the actin cytoskeleton results in the promotion of gravitropism in inflorescence stems and hypocotyls of Arabidopsis. *Plant Physiology*, 128, 669-681.
- YAN, Q., SI, J., CUI, X., PENG, H., CHEN, X., XING, H. & DOU, D. 2019. The soybean cinnamate 4-hydroxylase gene GmC4H1 contributes positively to plant defense via increasing lignin content. *Plant Growth Regulation*, 88, 139-149.
- YANG, J., CHING, Y. C. & CHUAH, C. H. 2019. Applications of lignocellulosic fibers and lignin in bioplastics: A review. *Polymers*, 11, 751.
- YANG, S.-J., LI, W.-F., CHU, M.-Y., ZUO, C.-W., MA, Z.-H., ZHAO, X., ZHOU, Q., CHEN, B.-H. & MAO, J. 2021. Petiole hormones act as regulators in the early phototropic leaf movements of grape (*Vitis vinifera* L.) revealed by comparative transcriptome profiling. *Scientia Horticulturae*, 283, 110049.
- YUE, K., LINGLING, L., XIE, J., COULTER, J. A. & LUO, Z. 2021. Synthesis and regulation of auxin and abscisic acid in maize. *Plant Signaling & Behavior*, 16, 1891756.
- ZHANG, C.-B., CHEN, L.-H. & JIANG, J. 2014. Why fine tree roots are stronger than thicker roots: The role of cellulose and lignin in relation to slope stability. *Geomorphology*, 206, 196-202.
- ZHANG, C., YUAN, Q., ZHAO, T., XIAO, D. & XU, X. 2018. Genome-wide identification and expression analysis of the PIN gene family during abiotic stress in tomato (*Solanum lycopersium*). *Int. J. Agric. Biol.*, 20, 2481-2490.
- ZHANG, R., SHAN, F., WANG, C., YAN, C., DONG, S., XU, Y., GONG, Z. & MA, C. 2020. Internode elongation pattern, internode diameter and hormone changes in soybean (*Glycine max*) under different shading conditions. *Crop and Pasture Science*, 71, 679-688.
- ZHANG, Y., YU, Q., JIANG, N., YAN, X., WANG, C., WANG, Q., LIU, J., ZHU, M., BEDNAREK, S. Y. & XU, J. 2017. Clathrin regulates blue light-triggered lateral auxin distribution and hypocotyl phototropism in Arabidopsis. *Plant, Cell & Environment*, 40, 165-176.
- ZHAO, Q., NAKASHIMA, J., CHEN, F., YIN, Y., FU, C., YUN, J., SHAO, H., WANG, X., WANG, Z.-Y. & DIXON, R. A. 2013. Laccase is necessary and nonredundant with peroxidase for lignin polymerization during vascular development in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 25, 3976-3987.
- ZHAO, Y. 2012. Auxin biosynthesis: a simple two-step pathway converts tryptophan to indole-3-acetic acid in plants. *Molecular plant*, 5, 334-338.
- ZHIGILA, D. A., ABDULRAHAMAN, A. A., KOLAWOLE, O. S. & OLADELE, F. A. 2014. Fruit morphology as taxonomic features in five varieties of *Capsicum annum* L. Solanaceae. *Journal of Botany*, 2014, 540868.
- ZHONG, R., CUI, D. & YE, Z. H. 2019. Secondary cell wall biosynthesis. *New Phytologist*, 221, 1703-1723.
- ZHU, C., XU, X., WANG, D., ZHU, J., LIU, G. & SENEWEERA, S. 2016. Elevated atmospheric [CO₂] stimulates sugar accumulation and cellulose degradation rates of rice straw. *Gcb Bioenergy*, 8, 579-587.

http1: https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0019.html (2025.11.16.)

http2: <https://www.reportlinker.com/dataset/ec5fd993d95aea2144738ade8eb8e154b82f2c7a?utm> (2025.11.16.)

http3: https://www.ksh.hu/stadat_files/jov/hu/jov0051.html (2025.11.16.)

http4: <https://primer3.ut.ee/> (2025.11.16.)

M2. MS táptalaj összetevői:

Összetevők	Mennyiségek
Makroelemek	mg/l
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
CaCL ₂ x 2H ₂ O	440
MgSO ₄	370
KH ₂ PO ₄	170
Mezoelemek	mg/l
FeSO ₄ x 7H ₂ O	27,80
Na - EDTA	37,30
Mikroelemek	mg/l
MnSO ₄ x 4H ₂ O	22,30
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	8,60
H ₃ BO ₃	6,20
KI	0,83
Ma ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ x 5H ₂ O	0,025
CoCL ₂ x 6H ₂ O	0,025
Vitaminok	mg/l
Inozitol	100,00
Thiamin, B ₁	0,10
Nikotinsav, B ₃	0,50
Piridoxin, B ₆	0,10
Glicin	2,00
Egyéb összetevők	g/l
Agar	8,00
Szacharóz	30,00

pH: 5,6-5,8

M3. Lignintartalom analitikai mérésének protokollja:

A lignintartalom analitikai méréséhez a Moreira-Vilar és munkatársai (2014) által leírt acetil-bromidos módszert alkalmaztuk genotípusonként 10 ismétlésben az Anyag és módszer fejezetben leírt három régióban. A vizsgálathoz csírázástól számított 12 hetes növények száraiból gyűjtöttünk mintát. A méréshez fehérjementes sejtfalkivonatra van szükség, ennek előállításához 200 mg liofilizált hajtást kellett homogenizálni 5 ml 50 mM-os kálium-foszfát pufferben (pH 7) majd ezeket 1400 g erővel 5 percig kellett centrifugálni. A felülúszót leöntve a puffer ismételt rámerésével kétszer ismételni kellett a lépést. Ezután 5 ml 1%-os Triton-X oldatot kellett mérni a mintákra, vortexelni, majd 1400 g erővel 5 percig centrifugálni. A felülúszó eltávolítása után, még kétszer ismételni kellett a lépést. 1 M-os NaCl oldatot kellett mérni a mintákra, vortexelni, majd centrifugálni ismét 1400 g erővel 5 percig. A felülúszó leöntése után még kétszer ismételni kellett a lépést. 5 ml MQ tisztaságú vízzel kellett mosni a mintákat, vortexelni, majd 1400 g erővel 5 percig centrifugálni. A felülúszó eltávolítása után még kétszer ismételni kellett a lépést. Végül 5 ml tiszta acetont kellett mérni a mintákra, vortexelés után 1400 g erővel 5 percig centrifugálni, a felülúszót leönteni, majd még kétszer ismételni a lépést. Az utolsó mosási folyamat után a mintákat egy éjszakán 60°C-on kellett inkubálni.

A fehérjementes tiszta sejtfalkivonatból 20 mg-ra 0,5 ml 25% (v/v) jégecetben oldott acetil-bromid oldatot kellett mérni, majd 70°C-on 30 percig vízfürdőben inkubálni. Az inkubációs idő leteltével a mintákat jégre kellett helyezni. A mintákra 0,9 ml 2 M-os nátrium-hidroxidot, valamint 0,1 ml 5 M-os hidroxilamin-hidrogén kloridot és 4 ml jégecetet kellett mérni, majd 1400 g erővel 5 percig centrifugálni.

A minták abszorbanciájának meghatározása 340 nm hullámhosszon Jenway 6105 UV/Vis spektrofotométerrel történt 280 nm-en. Standard görbe segítségével az abszorbancia alapján a pontos mennyiségek meghatározhatóak. Standard görbe Sigma-Aldrich® alkáli lignin felhasználásával készült.

M4. RNS izolálás:

Első lépésként 100 mg paprika szárat szükséges homogenizálni folyékony nitrogén és dörzsmozsár segítségével. A porított növényi szövetet egy 1,5 ml-es Eppendorf-csőbe kellett helyezni. Ezekre 500 µl WB puffert kellett mérünk, majd vortexelni. A növényi törmelék tartalmazó oldatot homogenizáló membránon keresztül kell szűrni, majd 14000 g erővel 5 percig centrifugálni. Az átszűrt folyadékra rá kell mérni 70%-os etanolt, majd vortexelni. A HiBind® RNA Mini membránon kell átszűrni a folyadékot 1 perc 14000 g centrifugálással. 500 µl RNA Wash Buffer I. oldatot kellett rámérni, majd 10000 g erővel 30 másodpercig centrifugálni. A gyűjtőcsövet folyadékostul el kellett távolítani, majd az RNS-t tartalmazó membránt egy új gyűjtőcsőbe helyezni. Ezután rá kellett mérni 700 µl RNA Wash Buffer II. oldatot, 10000 g fordulatszám 30 másodpercig kellett centrifugálni, majd ismételni ezt a lépést. Ezután a membráncsöveket gyűjtőcső nélkül is le kellett centrifugálni 14000 g erővel 2 percig, a minták teljes beszáritása érdekében. Az RNS-t tartalmazó membránokat egy új 1,5 ml térfogatú Eppendorf-csőbe kellett helyezni, 50 µl steril desztillált vizet rámérni a membránra, majd 14000 g erővel 1 percig kellett centrifugálni. Az RNS izolálás sikerességének ellenőrzéséhez 0,5x TBE pufferből készült 1%-os agaróz gélelektroforézis lett alkalmazva, valamint a koncentrációk meghatározása NanoDrop® ND-1000 UV-Vis spektrofotométerrel történt. A mintákat -70°C-on kellett tárolni.

M5. Reverz transzkripció:

A genomi DNS eltávolítása a Thermo Scientific™ Maxima H Minus First Strand cDNA Synthesis Kíthez tartozó dsDNáz enzimmal valósult meg. 1 µg RNS-hez 1 µl 10X dsDNáz puffert, valamint 1 µl dsDNáz enzimet kellett mérni. Steril desztillált vízzel 10 µl végtérfogatra kellett kiegészíteni, majd 37°C-on 2 percig inkubálni. Az inkubációs idő letelte után a mintákat jégen kellett tárolni.

A DNáz kezelés után 1 µl oligo (dT)₁₈ primert, 1 µl 10 mM dNTP Mix elegyet kellett mérni, steril desztillált vízzel 15 µl-re kiegészíteni. Ehhez 4 µl 5X RT puffert-t, valamint 1 µl Maxima H Minus Enzyme Mix-et kellett adni. Az elegyet össze kellett forgatni, majd centrifugálni. 10 percig 25°C-on kellett inkubálni, majd 30 percig 50 °C-on hőkezeln. A folyamat befejeztével egy 5 perces 85°C-os kezeléssel kellett terminálni az enzim aktivitását. A cDNS szintézis sikerességének ellenőrzése PCR-rel történt. A mintákat -70°C-on tároltuk.

M6. A különböző genotípusok hipokotil növekedésére, valamint a gravitropizmusra adott válaszra vonatkozó mérési adatok

A hipokotil dőlésére, valamint a gravitropizmus vizsgálatára vonatkozó mérési adatok az alábbi linken érhetőek el

<https://drive.google.com/drive/folders/1wyPKtq6Y3da2N70nHZYA3xVoX4-Oroli?usp=sharing>

(2026.01.29.)

M7. A különböző genotípusok keményítőtartalmának mérési eredményei

A kísérletet genotípusonként öt biológiai és két technikai ismétlésben végeztük.

Genotípusok	mg/g átlag	szórás
<i>Pcx 1</i> fekvő szár	6,88	0,75
<i>Pcx 1</i> fekvő szár	5,70	0,68
<i>Pcx 2</i> normál szár	7,80	0,47
<i>Pcx 2</i> normál szár	6,26	0,06
'Fehérözön' szár	6,58	0,72
'Fehérözön' szár	6,53	0,07

M8. A különböző genotípusok lignintartalma és törési értékei

Minden genotípus mindhárom régióját 10 biológiai ismétlésben mértük (n = 10), és az ábrázolt értékek ezen ismétlések átlagát mutatják.

Minta	Régió	Lignin [mg/g DW]	Törési erő [N]
'Garai Fehér'	Alsó	80,60±3,98a	24,85±2,42a
	Középső	80,76±2,33a	20,38±1,96a
	Felső	103,09±5,15b	11,29±1,20b
<i>frx</i>	Alsó	31,65±2,87a	7,63±0,53a
	Középső	25,27±2,49a	11,51±1,17b
	Felső	30,54±2,99a	5,88±0,37a
<i>tti</i>	Alsó	79,81±2,72a	11,65±1,12a
	Középső	84,91±3,31a	8,76±0,80a
	Felső	83,63±4,55a	3,89±0,35b
<i>pfí</i>	Alsó	43,29±3,68a	4,50±0,36a
	Középső	46,32±3,74a	2,32±0,14b
	Felső	73,91±2,60b	1,15±0,10c

Az azonos blokkban található értékek, amelyek más betűvel rendelkeznek szignifikánsan különbözőek $p < 0,05$ értéken a kéttényezős vizsgálatban. A tesztek azonos varianciát feltételeznek.

11. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek Dr. Veres Anikónak és Dr. Szőke Antalnak, akik nem csak a dolgozat elkészítésében, de szakmai fejlődésemben is nélkülözhetetlen segítség voltak. Továbbá Dr. Kovács Zsófiának, Dr. Tóth-Lencsés Andrea Kittinek és Bedő Jankának is rettenetesen hálás vagyok a rengeteg, szavakkal ki sem fejezhető mennyiségű segítségért, valamint minnyájuknak, hogy az oktatói csapat részévé válhattam. Köszönettel tartozom korábbi oktatóimnak, Dr. Kiss Erzsébetnek, Dr. Gyulai Gábornak és Dr. Pauk Jánosnak, akiktől rengeteget tanulhattam az elmúlt években.

Hálás vagyok Csilléry Gábornak, aki nem csak a fantasztikus növényanyagot biztosította, de a paprikák iránti korlátlan lelkesedést is átadta nekem.

Köszönettel tartozom továbbá Dr. Tarnawa Ákosnak, Dr. Juhász Ákosnak és Dr. Dobránszki Juditnak, hogy elvállalták a disszertációm bírálatát és ezzel hozzájárulnak, hogy az értekezésem egy értékes munka lehessen.

Szeretném megköszönni a Mikrobiális Biotechnológia és Mikrobiomika Csoport munkatársainak, Dr. Mayer Zoltánnak, Szentpéteri Viktornak, László Líviának, valamint intézetigazgatóknak, Dr. Posta Katalinnak, hogy mindig támogattak engem a doktori időszakom során.

Köszönöm a családomnak, barátaimnak, volt szaktársaimnak (Farkas Biankának, Dr. Balázs Rékának, Péter Dánielnek és Tóth Zoltánnak), oktatóimnak és minden intézeti munkatársnak a támogatást, inspirációt, közreműködést!

Hálás vagyok minden korábbi, jelenlegi és jövőbeli szakdolgozó hallgatónak, mert ők inspirálnak, hogy tovább haladjak előre.