

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**Különböző növényi vetőmagvak genetikai homogenitás vizsgálata
tömegspektroszkópiai technológiával**

Készítette:
Bojté Csilla
doktorjelölt

Témavezető:
Dr. Tóth Szilárd

Társtémavezető:
Dr. Micsinai Adrienn

DEBRECENI EGYETEM

Kerpely Kálmán Doktori iskola



Debrecen, 2022

1. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI

Az emberiség növekedésével és a felgyorsult világunkban nagy kihívást jelent a szükségletek kiszolgálása bármilyen területen. A mezőgazdasági ágazaton belüli igények teljesítése a minőségi élelmiszer és takarmány szempontjából meghatározó szerepet kap társadalmunkban. A biztos és sikeres hozam alapvető feltétele a jó minőségű és genetikailag homogén vetőmag előállítása.

A MALDI-TOF tömegspektrométer célkészülék a mikrobiológia minták gyors azonosításra szolgál fehérje alapon. J. J. Thomson, akit a tömegspektroszkópia atyának is tekintenek, vizsgálatai során arra a következtetésre jutott, hogy az ionizációt követően az elektromos térben gyorsított pozitív töltésű gázionok eltérő röppályán haladnak a mágneses térben, majd eltérő helyen csapódnak a detektorba. Ezáltal lehetőséget teremtve a mintából keletkező ionok molekulatömeg/töltés (m/z) alapján történő elválasztására (HTTP4). Az 1980-as években újabb ionizációs technikákat fejlesztettek ki: Fast Atom Bombardment, FAB; Plazmadeszorpciós, PD-; lézerdeszorpciós, LDI-ionizáció. A biopolimerek vizsgálata szempontjából a legfontosabb módszer a lézerdeszorpciós ionizáció feltalálása volt. HILLENKAMP és KARAS 1988-ban megalkotta a MALDI rendszert, az újonnan kifejlesztett MALDI forrást a repülési idő analizátorhoz (time-of-flight, TOF) kapcsolták (KARAS and HILLENKAMP, 1988).

Ez a készülék már alkalmas volt 10 kDa molekulatömegű minták analízisére is. KOICHI TANAKA számolt be először (1987) a lézerdeszorpciós ionizáció alkalmazásáról, amiért 2002-ben Nobel-díjat kapott (ZIMMERMANN, 2015). A tömegspektrometria a szerkezeti vizsgálatok hatékony módszere, amelyben a vizsgálandó molekulákat gázfázisba juttatják, ionizálják és nagyfeszültségű elektromos térrel gyorsítják. Az ionokat tömegük és töltésük alapján mágneses, elektrosztatikus vagy rádiófrekvenciás mezővel választják el és mérik. A biológiailag aktív molekulák (fehérjék, enzimek) vizsgálatának egyik legfontosabb vizsgálati módszere a MALDI-TOF technológián alapul. Az új mérnöki fejlesztéseknek köszönhetően rendkívül gyors pontos és egyszerű a készülékek használata.

Ph.D. (doktori) értekezésem a Budapesti WESSLING Hungary Kft.-nél készült, ahol a cég tulajdonában lévő MALDI-TOF MS készüléken kaptam lehetőséget a módszerek fejlesztésére és minták előkészítésre, valamint mérésére. A nemzetközileg elismert magyar cég csoport tagja már korábban elkezdte a fejlesztést a kukorica vetőmagok vizsgálatára, amely sikeres és biztos alapot adott a további munkám elkezdésére és annak sikeres befejezésre.

Szakmai és emberi segítségükkel 4 gazdaságilag fontos ipari növény vetőmagjainak genetikai tisztaságát sikerült vizsgálnom és módszert fejlesztenem azokra. A kukorica vizsgálatok eredményei adták azt a bázist, amelyből a további vizsgálatokat folytattam a MALDI-TOF MS készülék és szoftveres háttérrel napraforgóra, szójára és búza vetőmagokra.

Kutatásaim főbb célkitűzései a következők voltak:

1. MALDI-TOF MS technológia kidolgozása búza, kukorica, napraforgó és szója fajták fajtatisztaságának/homogenitásának meghatározására a magok tartalékfehérjéinek összetétele alapján.
2. Különböző extraháló szerek alkalmazása a magok tartalékfehérjéinek kivonására, a tömegspektrum szempontjából optimális oldószer kiválasztása növényfajonként.
 - NaCl-os (semleges és savas), valamint 60%-os etanolos puffer eljárás
 - 1-, illetve 2-propanolos puffer eljárás
 - SA mátrix oldat és a HCCA mátrix oldatok jelentősége; eltérés és különbségek
 - Hexános előkezelés a napraforgó és a szója esetében.
 - A magminták extraktumainak eltarthatósága a tömegspektrum változása nélkül.
 - Mintaelőkészítési eljárások fejlesztése.
 - Az extrahálószer és az M/Z érték között korreláció vizsgálat.
3. MALDI-TOF MS készülék paramétereinek optimalizálása:
 - Mérési paraméterek optimalizálásával automata gyors mérési lehetőség kialakítása (AutoXrun)

Kapott eredményekre mérési módszer (method), azaz értékelő fájlok tervezése.

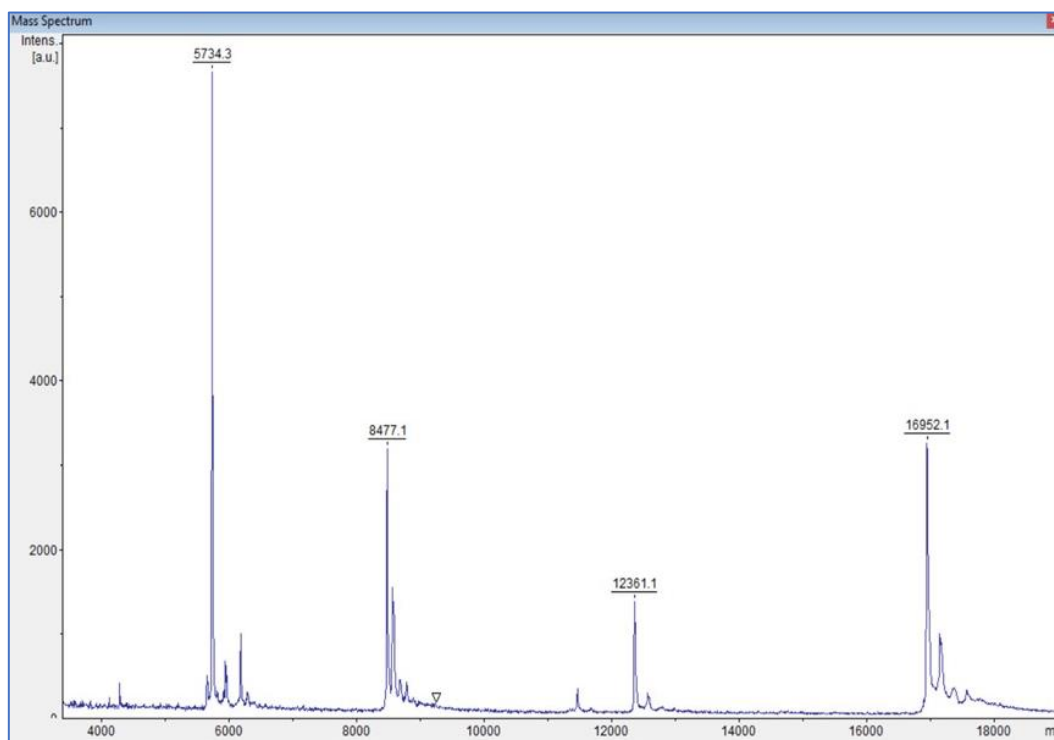
2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Kalibráló Standard

Az analízisek során a mérési módszereket a Bruker protein mix standardjával kalibráltam. A kalibrációs anyag, amely lefedte az elvárt mérési tömegtartományt, a következő standardokat tartalmazta, Insulin, ubiquitin, Cytochrome C, Myoglobin (1. táblázat, 1. ábra).

1. táblázat: Kalibrációs standard oldatok összetétele

Protein Mix I	(M+H)avg
Insulin	5734.51 Da
Ubiquitin	8565.76 Da
Cytochrome C	1236.97 Da
Myoglobin	16952.30 Da



1. ábra: A Protein Mix I kalibráló standard spektrum

2.2. Az extrakciós módszer optimalizálása

Ahhoz, hogy minél informatívabb tömegspektrumokat kapjunk az extrakció körülményeit optimalizálnunk kell. A tartalék fehérjék oldhatóság szempontjából két fő csoportra osztják, a „vízoldható” frakcióra és az „alkohol-oldható” frakcióra, ezért az extrakcióhoz különböző extraháló elegyeket alkalmazhatunk. Ezen kívül az extrakciót több paraméter is befolyásolja (pH, ionerősség, keverési mód, extrakciós idő, extrakciós hőmérséklet, redukálószer koncentrációja), amelyeknek a hatását a módszer optimalizálása során szintén meg kell vizsgálnunk. Ehhez ismert fehérje összetételű vetőmagok átlagmintáival végzünk extrakciós kísérleteket, azért, hogy a legmegfelelőbb paramétereket tudjuk alkalmazni a valódi minták vizsgálataiban. A vízoldható frakciók extraktumainak felvitele a MALDI-TOF mintatartó lemezére (target-re) általában nem problémát (határozott formájú cseppek vihetők fel), bár a szakirodalom azt javasolja, (ide jön a szakirodalom) hogy ezeket az extraktumokat is célszerű adott összetételű acetonitril – TFA elegyre (30 % ACN – 0,6 % TFA) hígítani. Az így előállított oldat homogénebb spot-ot eredményez és javítja is a tömegspektrometriás csúcsok alakját, felbontását. Célszerű a módszer

2.3. Az alkohol oldható extraháló szerek jellemzői

- a) extraháló szer anyagi minősége: Minden esetben analitikai tisztaságú vagy azzal egyenértékű volt
- b) extraháló szer pH-ja:
 - semleges pH (puffer nélkül);
 - savas pH (pH állítás ecetsavval (1% v/v);
 - enyhén bázikus pH (pH állítás TRIS pufferrel)
- c) Az extraháló szer ionerőssége:
 - Nátrium-klorid koncentrációja (0,2 – 0,4 – 0,6 – 0,8 – 1,5 – 5,0 % m/v)

2.4. A redukáló szer mennyisége

- Ditiotreitol (DTT): 0,0 – 0,1 – 0,2 – 0,4 – 0,8 – 1,0 % m/v

2.5. Az extrakciós módok

- Ultrahanggal segített extrakció;
- Rotációs keverővel végzett extrakció;
- Rázógépen végzett extrakció

2.6. Az extrakció ideje és hőmérséklete

- d) Az extrakció ideje: 40 perc;
- e) Az extrakció hőmérséklete: szobahőmérséklet (20-24 °C);

2.7. Extrakciós munka oldatok

- **NaCl extraháló puffer:** egy 150 ml-es csavaros tetejű üvegbe 100 ml ionmentes vizet mértünk, majd 0,58 g NaCl-ot és 0,31 g Ditiotreitol (DL-DTT) mértünk és alaposan összekevertük.
- **NaCL savas extraháló puffer:** egy 150 ml-es csavaros tetejű üvegbe 100 ml ionmentes vizet mértünk, majd 0,58 g NaCl-ot és 0,31 g Ditiotreitol (DL-DTT) és 1 ml ecetsavat mértünk és alaposan összekevertük.
- **Propanolos extraháló puffer:** egy 150 ml-es csavaros tetejű üvegbe 50 ml 1- propanolt mértünk, hozzátettünk 47 ml ionmentes vizet, 1 ml 100%-os ecetsavat és 2 g ditiotreiol (DL-DTT).
- **2-propanolos extraháló puffer:** egy 150 ml-es csavaros tetejű üvegbe 50 ml 2- propanolt mértünk, hozzátettünk 47 ml ionmentes vizet, 1 ml 100%-os ecetsavat és 2 g ditiotreiol (DL-DTT).
- **60%-os EtOH:** 60 ml analitikai tisztaságú abszolút etanolt 200 ml mérőhengerben mérünk majd 40 ml ionmentes vizet tettünk hozzá. Ezt az oldatot 150 ml-es csavaros tetejű üvegbe átöntöttük majd alaposan összeráztuk.

A nagy minta szám miatt ezeket az oldatokat 4 vizsgálat során el is használtuk, de maximum 30 napig tárolhatók 4 °C-on.

2.8. Eluáló oldat

TA25 oldat: egy 150 ml-es csavaros üvegbe 25 ml acetonitrilt (ACN), 75 ml ionmentes vizet és 100 µl trifluorecetsavat mértünk, majd alaposan összekevertük.

2.9. Mátrix oldatok

- **Mátrix oldat HCCA:** Az ionmentes vízből pipettával bemértünk 450 µl-t egy 1,5 ml-es Eppendorf csőbe, hozzá mértünk 500 µl acetonitrilt és 25 µl 100 %-os trifluorecetsavat.
- **Mátrix oldat SA:** Az ionmentes vízből pipettával bemértünk 450 µl-t egy 1,5 ml-es Eppendorf csőbe, hozzá mértünk 450 µl acetonitrilt és 35 µl 100 %-os trifluorecetsavat.

2.10. Minta előkészítés

2.10.1. Mintatartó lemezek

2.10.1.1. Mintatartó lemezek előkészítése

Ezt a tisztítási eljárást Lovász Csaba okleves vegyész-mérnök fejlesztette ki a WESSLING Hungary Kft-ben. Első lépésben a mintatartó lemezeket kell előkészíteni az alábbi módon:

1. A MALDI-TOF vizsgálat befejezése után, a szennyezett mintatartó lemezeket 5-10 percre 70 %-os etanolban áztatjuk.
2. Áztatás után meleg folyóvízzel lemostuk a mátrix, vagy az extraktumok maradékát, és ezt követően
3. finom alumínium-oxid vizes szuszpenziójával átdörzsöltük a lemezeket, majd
4. papírtörölő segítségével megszáritottam.
5. Ezt követően 5 - 10 percre metanolba áztattuk a lemezeket, majd
6. lamináris boksban hagytuk elpárologni a metanol maradékát.
7. A lemezeket 2-propanolba mártott szálmentes törölkendővel dörzsöltük át.
8. Száradás után lamináris boksban a lemezek közepére 50 ml 80 %-os trifluorecetsav oldatot pipettáztunk és fültisztító pálcika segítségével a lemezeket alaposan átdörzsöltük, majd
9. a trifluorecetsav maradékát ionmentes vízzel lemostuk.
10. A megszáritott lemezeket kevés grafitporral dörzsöltük át, a grafitpor maradékát finom ecsettel távolítottuk.
11. Az így előkészített mintatartó lemezeket Petri csészében tároltuk a vizsgálatok megkezdéséig.

Több MALDI-TOF vagy MALDI-TOF-TOF készüléket használó laborokban az egyszerű mosogatószer és desztillált, azaz ioncserélt vizes eljárást használják:

1. Első lépésben desztillált vízben áztatják 10 percig majd
2. mosogatószerrel viznek fel a lemezre, ezt követően
3. egy általános mosogató szivaccsal letörlik majd
4. újra desztillált vízben áztatva 5 perc után szárazra törlik.

2.11. Kalibráló Standard oldat

2.11.1. Standard oldat

Az eljárás során, a Bruker által kiadott protokollt használtuk. A kalibráló standardoldat 1 ml-t az előkészített mintatartó lemez „A” sor valamelyik pozíciójára cseppentettük fel és hagytuk az oldószert elpárologni. Lehetőség szerint, a száradás után azonnal 1 ml mátrix oldatot (SA vagy HCCA) cseppentettünk a kalibráló standardra és lamináris boksiban hagytuk elpárologni az oldószert. Minden minta felviteléhez új pipetta hegyet használtunk, és miután a minta megszáradt a lemezen, azután mértük a mintákra a mátrix oldatot legfeljebb 10 percen belül. A mintatartó lemezeket hagytuk megszáradni szobahőmérsékleten és a beszáradás után készek voltak a MALDI-TOF és MALDI-TOF-TOF vizsgálatokra.

2.11.2. SA mátrix készítése

Az SA mátrix oldatot (25 mg/ml koncentrációjú) DIECKMANN és munkatársai (2008) által publikált tanulmány szerint 0,6 % TFA tartalmú ioncserélt víz és ACN 1:1 arányú oldatának, valamint a kívánt 25 mg/ml koncentráció eléréséhez szükséges kristályos szinapinsavnak az összemérésével készítettük. Az oldódást vortex használatával segítettük elő. A mátrix oldat 4°C-on, fénytől védve tárolandó, a felhasználás napján célszerű frissen készíteni, mert legfeljebb 1 napig használható.

2.11.3. HCCA mátrix készítése

A α -HCCA mátrix oldatot (20 mg/ml koncentráció) SIGNOR és ERBA (2013) által publikált tanulmány szerint, 5 % hangyasav tartalmú ioncserélt víz és ACN 7:3 arányú oldatának, valamint a kívánt 20 mg/ml koncentráció eléréséhez szükséges kristályos α -HCCA összemérésével készítettük. Az oldódást vortex, majd ultrahang vízfürdő használatával segítettük elő. A mátrix oldat 4°C-on fénytől védve tárolandó, a felhasználás napján célszerű frissen készíteni, legfeljebb 1-2 napig használható.

2.12. Minták fizikai előkészítése

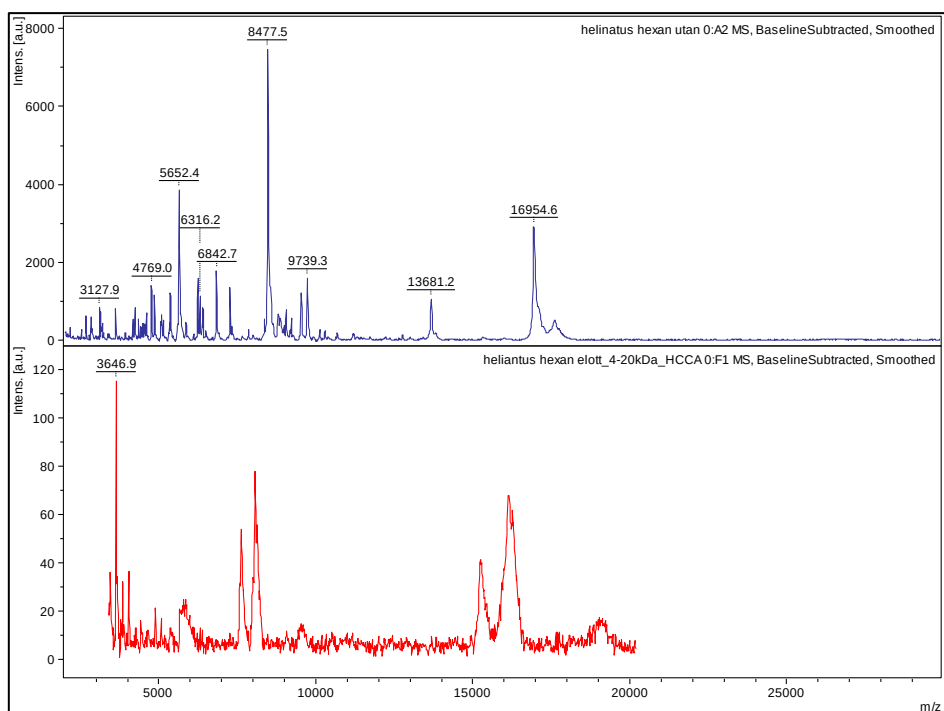
A módszer újdonsága miatt, minden egyes vetőmag tételtől és növényfajtól függetlenül össz darálmányt kellett készítenünk. A kapott vetőmag tételekből 20 szemet összedaráltunk, 1 mg -ot kivettünk egy 2 ml -es eppendorf csőbe és növényfajtól függően ráértünk 500 μ l megfelelő extraháló szert. A szója és napraforgó esetében a hexános eljárás nélkülözhetetlen volt. Erre azért volt szükség, hogy feltérképezzük milyen biomarkereket kell kapnunk a szemenkénti vizsgálatoknál.

A szemenkénti vizsgálatokhoz, azaz a homogenitás vizsgálatokhoz a mintákat a napraforgó kaszatok estében hántoljuk. Minden egyes fajtánál egyesével daráltuk ultracentrifugális őrlőmalommal (Retsch ZM200). Az őrleményeket 2 ml steril eppendorfba helyeztük.

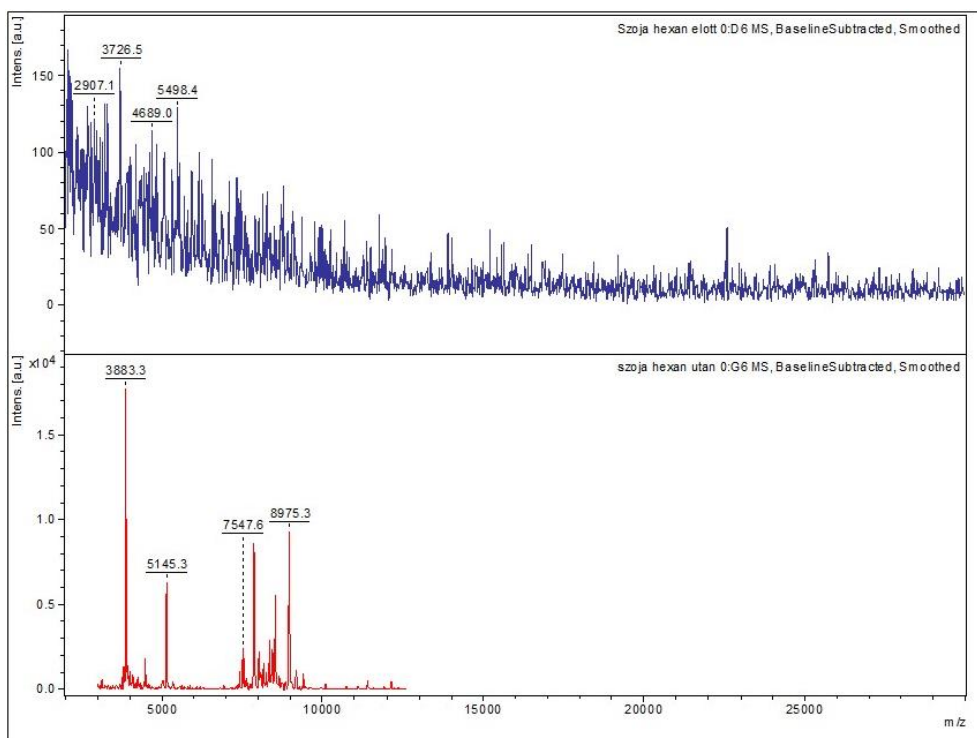
2.13. Extrakciós eljárások

2.13.1. Hexános puffer extraktumok felvitelének lépései

A napraforgó magok és szója magok esetében, az extrakciós eljárás előtt a megtört és darált szemeket 1 ml analitikai tisztaságú hexánban áztattuk 30 percig. Erre a külön eljárásra azért volt szükség mert az előkísérleteink alapján elmondható, hogy a magas olaj és zsírtartalom befolyásolja a kapott végeredményt.



2. ábra: A napraforgó hántolt kaszatok hexános kezelése – kék spektrum előtte és piros spektrum utána



3. ábra: Szójabab hexános kezelése – kék spektrum előtte és piros spektrum utána

2.13.2. Extrakció vizes (semleges) NaCl pufferrel

A mintákat szemenként megtörtük, majd 10 mg-ot mértünk be egy 2,0 ml-es Eppendorf centrifugacsőbe. A darált mintákra 300 µl NaCl-os extrahálószeret pipettáztunk, majd Vortexszel megkevertük. Ezután 30 percre ultrahangos fürdőbe helyeztük. Az NaCl-os mintákat rotoros vertikális rázó gépbe helyeztük és még 30 percig ráztuk. Az extrakció befejezése után lecentrifugáltuk (3 perc, 14100 rpm), és a felülúszóból 50 µl-t pipettáztunk egy tiszta 1,5 ml-es új Eppendorf csőbe. A minták felvitelle előtt ismét vortexszel megkevertük az extraktumot és újra lecentrifugáltuk (3 perc, 14100 rpm). Ezek után az előkészített mintatartó lemezre 1-1 µl-t cseppentettünk két párhuzamosban mintánként. Száradás után a felvitt mintákra 1 µl HCCA vagy SA mátrix oldatot cseppentettünk és lamináris boksiban hagytuk elpárologni az oldószert, és megszáradni mintát.

2.13.3. Extrakció savas NaCl pufferrel

A mintákból 10 mg-ot mértünk be egy 2,0 ml-es Eppendorf centrifugacsőbe. Ezután 300 µl NaCl-os extrahálószeret pipettáztunk a centrifugacsővekbe. Vortexszel megkevertük, majd 30 percre ultrahangos fürdőbe helyeztük őket. Ezt követően rotoros vertikális rázó gépbe helyeztük a mintákat és még 30 percig folytattuk az extrakciót ennek az eljárásnak a befejezése után lecentrifugáltuk a mintákat (3 perc, 14100 rpm), majd a felülúszóból 50 µl-t pipettáztunk egy tiszta 1,5 ml-es Eppendorf csőbe. Mielőtt felvittük a mintákat, vortexszel alaposan megkevertük az extraktumot újra és még egyszer lecentrifugáltuk (3 perc, 14100 rcf). Ezt követően az előkészített mintatartó lemezre 1-1 µl-t cseppentettünk két párhuzamosban mintánként. Száradás után a mintákra HCCA vagy SA 1 µl mátrix oldatot egyenként cseppentettünk és lamináris boksiban hagytuk elpárologni az oldószert, beszáradni a mintát.

2.13.4. Extrakció 2-propanolos pufferrel

A mintákból 10 mg-ot mértünk be egy 2,0 ml-es Eppendorf centrifugacsőbe. A darálmányokra 300 µl 1-propanolos extrahálószeret pipettáztunk. Vortexszel összekevertük, majd 30 percre ultrahangos fürdőbe helyeztük. Ezután rotoros, vertikális rázó gépbe helyeztük a mintákat és még 30 percig folytattuk az extrakciót, ahogy ez folyamat befejeződött lecentrifugáltuk a mintákat (3 perc, 14100 rpm), majd a felülúszóból 50 µl-t pipettáztunk egy tiszta 1,5 ml-es Eppendorf csőbe. A felülúszó lepipettázása után, 50µl TA25 oldatot adtunk a mintákhoz. Ez a lépés a minta extraktum felvitele szempontjából fontos.

A tiszta 2-propanolos extraktum szétfolyik a lemezen, viszont TA25 oldattal kiegészítve a felvitel lehetségessé válik. Kísérleteinkből kiderült, ez az anyag nem befolyásolja a további eredményeket. A mintafelvitel előtt ismét vortexszel alaposan megkevertük az extraktumot és lecentrifugáltuk (3 perc, 14100 rpm). Ezt követően az előkészített mintatartó lemezre 1- 1 µl-t cseppentettünk két párhuzamosban mintánkként. Száradás után a mintákra 1 µl mátrix oldatot cseppentettünk és lamináris boksban hagytuk elpárologni az oldószert, beszáradni a mintát.

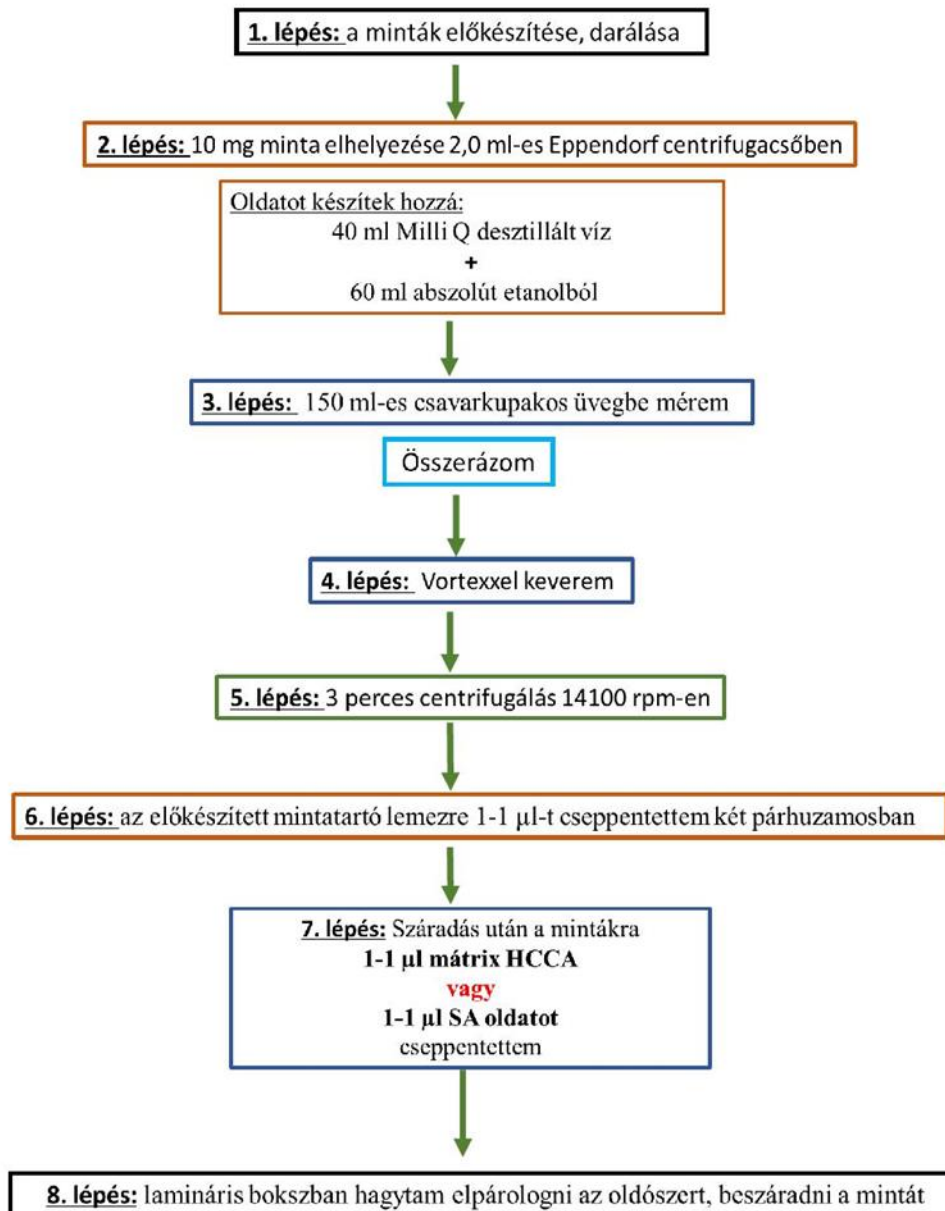
2.13.5. Extrakció 1-propanolos pufferrel

Minden egyes mintából külön-külön 10 mg-ot mértünk 2,0 ml-es Eppendorf centrifugacsőbe. Ezután 300 µl 1-propanolos extrahálószeret pipettáztunk a centrifugacsővekbe. Vortexszel alaposan megkevertük, majd 30 percre ultrahangos fürdőbe helyeztük őket. Ezután rotoros vertikális rázógépbbe helyeztük a mintákat és még 30 percig folytattuk az extrakciót. Az extrakció befejezése után lecentrifugáltuk a mintákat (3 perc, 14100 rpm), majd a felülúszóból 50 µl-t pipettáztunk egy tiszta 1,5 ml-es Eppendorf csőbe. A felülúszó lepipettázása után, 50µl TA25 oldatot adtunk a mintákhoz. Ez a lépés a minta extraktum felvitele szempontjából fontos. A tiszta 1-propanolos extraktum szétfolyik a lemezen, viszont TA25 oldattal kiegészítve a felvitel lehetségessé válik. Kísérleteinkből kiderült, ez az anyag nem befolyásolja a további eredményeket. A mintafelvitel előtt ismét vortexszel alaposan megkevertük az extraktumot és lecentrifugáltuk (3 perc, 14100 rpm). Ezt követően az előkészített mintatartó lemezre 1- 1 µl-t cseppentettünk két párhuzamosban mintánkként. Száradás után a mintákra 1 µl mátrix oldatot cseppentettünk és lamináris boksban hagytuk elpárologni az oldószert, beszáradni a mintát.

2.13.6. 60%-os etanolos puffer és az extraktumok felvitele

A darált szemeket 2,0 ml-es Eppendorf centrifugacsőbe helyeztük. Az oldat elkészítése 40 ml Milli Q desztillált víz és 60 ml abszolút etanol 150 ml-es csavarkupakos üvegbe történő mérésével és összerázásával készült. A mintafelvitel előtt ismét vortexszel alaposan megkevertük az extraktumot és lecentrifugáltuk (3 perc, 14100 rpm). Ezt követően az előkészített mintatartó lemezre 1- 1 µl-t cseppentettünk négy párhuzamosban mintánkként. Száradás után a mintákra 1-1 µl mátrix HCCA vagy 1-1 µl SA oldatot cseppentettünk és lamináris boksban hagytuk elpárologni az oldószert, beszáradni a mintát.

Búza minta előkészítése 60% EtOH vizsgálathoz



4. ábra: 60% EtOH vizsgálat mintaelőkészítés folyamatábrája

2.14. MÉRÉS

A méréshez *Bruker microflex LT* MALDI-TOF tömegspektrométert használtuk a Wessling Hungary KFT-ben. A Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékén 2000-ben egy, a szintén Bruker cég által gyártott igen korszerű MALDI-TOF-TOF tömegspektrométer, amelynek típusa Autoflex Speed.

Az előkészített mintatartó lemezt vagy másnéven plate-t, zsiliprendszeren keresztül juttattuk az ionforrásba. A minták letapogatásához szükséges mozgatót, egy precíz mechanika végzi, amely igen pontosan tudja mozgatni a mintatartó lemezt az UV lézerforrás alatt. Egy kisfelbontású digitális kamerával nyomon is követhetjük az aktuális pozícióban lévő minta vizsgálatát. Ez egyrészt segít ellenőrizni, hogy a vizsgálat a megfelelő minta pozícióból történik, illetve az esetleges mintafelviteli inhomogenitások esetén segíti a manuális spektrum felvételt.

Egy általános műszervezérlő szoftverrel (*flexControl - Bruker Daltonik*) lehet beállítani a tömegspektrumok felvételéhez szükséges paramétereket, például a lézer energiáját, az ionok gyorsításához szükséges nagyfeszültséget, a mintatartó lemez mozgató sémáját és a vizsgált tömegszám tartományt is. Ezzel a szoftverrel végezhetjük továbbá a készülék tömegszám-skálájának kalibrációját, a repülési idők tömegszámra történő konverziójához szükséges függvény meghatározását. Az elv egyszerű, egy ismert fehérje összetételű protein mixet, mint kalibráló standardot használtam erre a célra.

A vákuum ellenőrzése után, a kalibráló pozícióra (A3) állítottuk a lézert és az automatikus spektrum felvételi módban elkészítettük a kalibráló standard átlag tömegspektrumát a 2000 – 25.000 amu (*atomic mass unit*) tömegszám tartományban, lehetőség szerint 200-500 spektrum átlagából. Zajsűrés (simítás) és alapvonal korrekció után elvégeztük a kalibrációt (a műszer megkereste a referencia tömegszámokat és a megfelelő függvényt illesztette a tömegszámokra). Ellenőriztük a referencia tömegszámok eltérését, és akkor fogadtuk el a kalibrációt, ha minden tömegszám esetén az eltérés kisebb volt, mint 500 ppm.

2.14.1. Saját method fájlok automatizált méréshez

A kukorica vetőmagok genetikai homogenitás vizsgálatához az */csilla/MBT_FC_Kukorica_14526.par* nevezetű módszer fájlt használtuk. A készülék a mintapozíciókon automatikusan haladt végig és közben a szoftver elvégezte a tömegspektrumok felvételét.

A napraforgó vetőmagok genetikai homogenitás vizsgálatához az */csilla/MBT_FC_napraforgo_14476.par* nevezetű módszer fájlt használtuk. A készülék a mintapozíciókon automatikusan haladt végig és közben a szoftver elvégezte a tömegspektrumok felvételét.

A szójabab vetőmagok genetikai homogenitás vizsgálatához az */csilla/MBT_FC_szoja_14852.par* nevezetű módszer fájlt használtuk. A készülék a mintapozíciókon automatikusan haladt végig és közben a szoftver elvégezte a tömegspektrumok felvételét.

A búza vetőmagok genetikai homogenitás vizsgálatához az */csilla/MBT_FC_buza_14999.par* nevezetű módszer fájlt használtuk. A készülék a mintapozíciókon automatikusan haladt végig és közben a szoftver elvégezte a tömegspektrumok felvételét.

2.14.2. Statisztikai kiértékelés metodikája

A kiértékelésekhez az adatokat Microsoft Excel táblázat segítségével összesítettük, majd ábráztuk, míg a statisztikai kiértékeléseket az SPSS v13.0 programmal végeztük.

A statisztikai vizsgálatot R 4.1.3. statisztikai környezetben (HTTP7) RStudio (RSTUDIO TEAM, 2022) grafikus felülettel, "agricolae" (de MENDINBURU, 2021) csomagok felhasználásával végeztük. A grafikonok Microsoft Excel 2019 programmal készültek. A statisztikai vizsgálat során az elsőfajú hibát 5%-nak választottuk meg ($\alpha = 0,05$). Az extrahálószer M/Z értékekre gyakorolt hatásának vizsgálatára ismételt mérési modellt (repeated measure analysis of variance) alkottunk HUZSVAI és BALOGH (2015) példája alapján. Az ismételt mérési modell szintaxisa R statisztikai környezetben:

```
modell<- aov(M/Z~Extrahálószer+Error(minta_azonosító/Extrahálószer),  
data=forrás_adatbázis)  
summary(modell)
```

A mért M/Z adatok középérték összehasonlítását legkisebb szignifikáns különbség (least significant difference - LSD) módszerével végeztük, amelyben meghatároztuk a legkisebb szignifikáns különbséget R statisztikai környezetben az ismételt mérési modell minden egyes megadni, amelyet a következő szintaxissal végeztük minden modellre külön-külön post hoc tesztjéhez a szabadsági fokokat (df) és a négyzetösszeg hibákat (MSE) egyedileg kell (HUZSVAI és BALOGH, 2015):

```
df=df.residual(modell$"hiba:hiba")  
mse=deviance(modell$"hiba:hiba")/df  
LSD <- with(adatbázis, LSD.test(M/Z, modellből_a_szignifikáns_hatás, df, mse, console = T))
```

3. EREDMÉNYEK

3.1. A MALDI-TOF vizsgálatok eredményeinek értékelése

A FelxAnalysis szoftverrel lehetőségünk nyílt egyesével megtekinteni a különböző növényfajok magjainak mintáiból készült tömegspektrumokat. Miután beolvastuk a spektrumokat, egy általunk kidolgozott módszerfájllal elvégeztük a zajszűrést és az alapvonal korrekciót. Bár a készülék egy mintából 640 tömegspektrumot készített és átlagolt, az elkészült spektrumok intenzitása teljesen eltérő volt. Ez a különbség abból ered, hogy az extrakcióhoz bemért mintarészek nem azonos mennyiségben tartalmazták a különböző tartalék fehérjéket, melyeket vizsgáltunk.

A genetikai homogenitás vizsgálatokhoz minden esetben fel kell térképezni a jellemző fehérjéket, ezért ilyenkor több szem átlagmintáiból készítünk extraktumokat és ezeket visszük fel a mintatartó lemezre, majd elvégezzük a mérést, hogy vizsgálni tudjuk milyen spektrum görbék jellemzőek az adott tételekre. Ezáltal lehetőségünk nyílt megtalálni az ún. marker fehérjéket, amelyek jellemzően kimutathatóak a különböző tételekben. Általában ezek egymáshoz közeli tömegszámú csúcspároként jelentek meg a tételek tömegspektrumaiban. A markerfehérje kiválasztása után a fajtákból készített extraktumok tömegspektrumait vizsgáltam és kerestem a markerfehérjék jelenlétét. Amennyiben a kiválasztott marker csúcsok jelen voltak a spektrumban, akkor azt a fajtát genetikailag homogénnek tekintettem.

Minőség ellenőrzés céljából minden extraktumból két párhuzamos vizsgálatot végeztem. A „hibás”, genetikailag nem tiszta fajta szemeiből készített extraktumok vizsgálatát többször is megismételtem és csak utána fogadtam el a végleges eredményt.

Továbbá a minták extraktumait hűtőszekrényben tároltam 4 °C-on, mert a tapasztalataim alapján az extraktumok így legalább 1 hónapig megőrzik a minőségüket. Az eltarthatóságot folyamatosan vizsgáltam és az eredményeket táblázatban foglaltam össze A 2-5. táblázatokból jól látható, hogy a kukorica (*Zea mays*), a szója [*Glycine max* (*L.*) *Merr.*] és a búza (*Triticum aestivum*) esetében nem csökkent 90% alá, míg a napraforgónál (*Heliantus annuus*) nem haladta meg a 4%-os csökkenést 1 hónap letelte után.

2. táblázat: A kukorica (*Zea mays*) minták extraktumainak eltarthatósága (%)

4 °C-on 1 hónapig

<i>Zea mays</i> 2-89	100%
<i>Zea mays</i> 3-236	100%
<i>Zea mays</i> 4-167	95%
<i>Zea mays</i> 5-137	93%
<i>Zea mays</i> 6-99	100%
<i>Zea mays</i> 7-125-15	100%
<i>Zea mays</i> 8-103-15.4	100%
<i>Zea mays</i> 9-169-15.25	100%
<i>Zea mays</i> 10-165-15	99%

3. táblázat: A szója (*Glycine max* (L.) Merr.) minták extraktumainak eltarthatósága (%)

4 °C-on 1 hónapig

<i>Glycine max</i> (L.) Merr.1- 1	100%
<i>Glycine max</i> (L.) Merr. 2-2	100%
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.3-78-16	100%
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.4-4	100%
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.5-5	98%
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.6-169	98%
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.7-58.59	100%
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.8- mentor	91%
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.9- Elio5-16	100%
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.10-keveret	100%

4. táblázat: A napraforgó (*Heliantus annus*) minták extraktumainak eltarthatósága (%)

4 °C-on 1 hónapig

<i>Heliantus annus</i> 1-Sun 1	96%
<i>Heliantus annus</i> 2-33tetel sun	98%
<i>Heliantus annus</i> 3-8tetel	100%
<i>Heliantus annus</i> 105-15	100%
<i>Heliantus annus</i> 5-sun.2018.10.11	97%
<i>Heliantus annus</i> 6-122-15	100%
<i>Heliantus annus</i> 7-F1	99%
<i>Heliantus annus</i> 8- 7 new	100%
<i>Heliantus annus</i> 9-9new	99%
<i>Heliantus annus</i> 10-10_SA	99%

5. táblázat: A búza (*Triticum aestivum*) minták extraktumainak eltarthatósága (%)

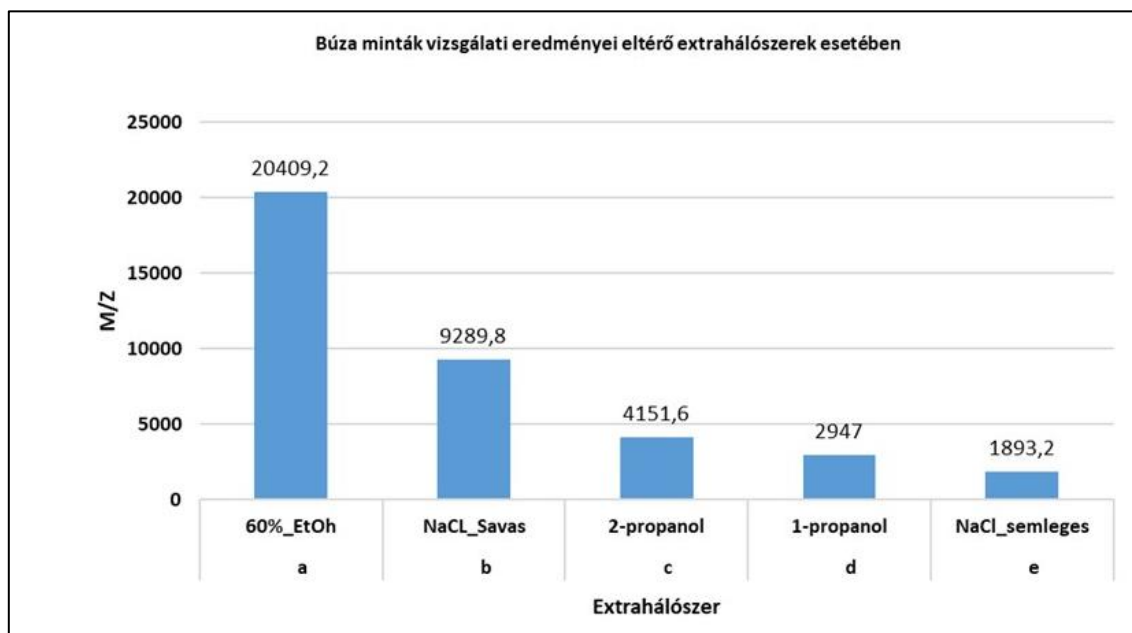
4 °C-on 1 hónapig

<i>Triticum aestivum</i> 1-h7	100%
<i>Triticum aestivum</i> 2-F2	100%
<i>Triticum aestivum</i> 3-20tetel Buza	100%
<i>Triticum aestivum</i> 4-4tetel Buza	98%
<i>Triticum aestivum</i> 5-21	100%
<i>Triticum aestivum</i> 6- 10tetel Buza	97%
<i>Triticum aestivum</i> 7-balibuza	100%
<i>Triticum aestivum</i> 8-h2	100%
<i>Triticum aestivum</i> - 9 9tetel Buza	100%
<i>Triticum aestivum</i> 10-h22	97%

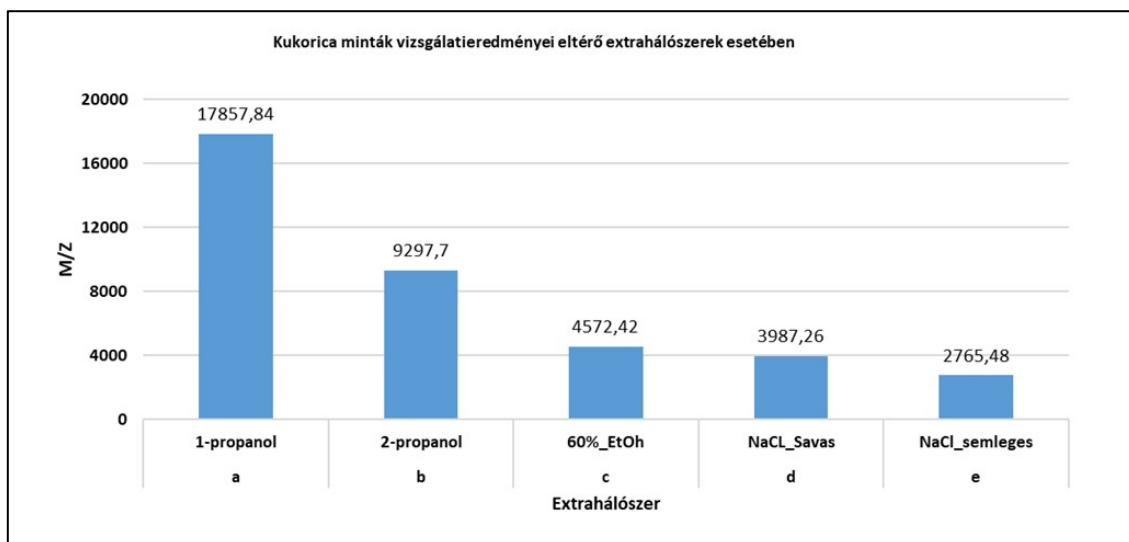
3.2. Az extraháló szerek kiválasztása spektrumok alapján, a vizsgált növényfajoknál

A búza minták esetében azt tapasztaltuk, hogy a legnagyobb M/Z értéket (20409,2) a 60%-os EtOH, a legkisebbet pedig a NaCl izoláló (1893,2) adta, de jelentősen különböztek a többi három izolálóval kapott M/Z értékek is, melyek esetében LSD_{5%}-on vizsgálva szignifikánsan ($p < 0,05$) gyengébb spektrum eredményeket adtak a 60% EtOH extrahálószerhez viszonyítva (5. ábra).

5. ábra: Búza minták tartalékfehérjéinek M/Z értékei eltérő extrahálószer alkalmazása esetében

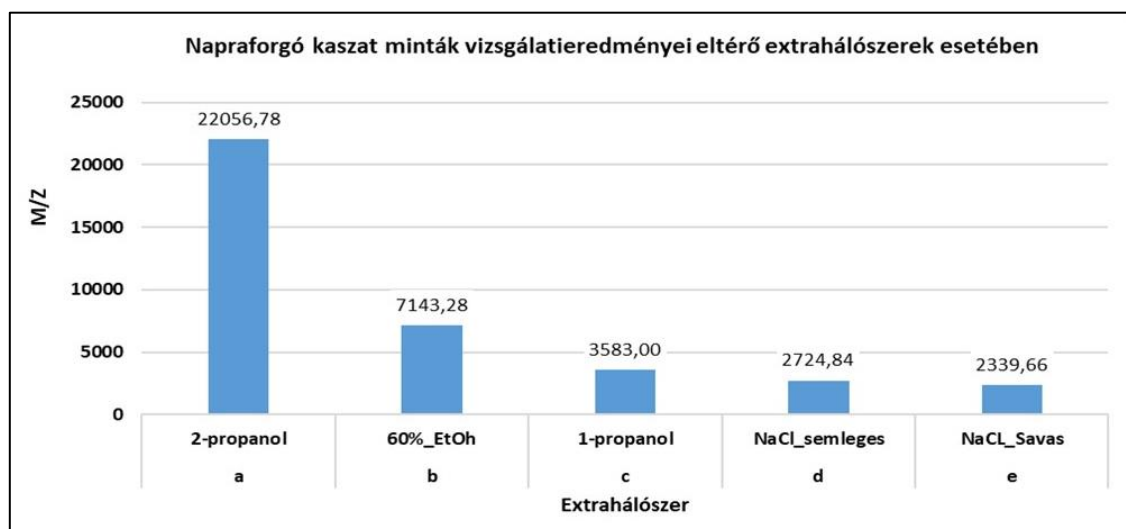


Hasonló tendenciát figyeltünk meg a kukorica mintáknál is, de ezeknél a NaCl savas és semleges izolálók adták a legalacsonyabb (3987,26 és 2765,48), szinte azonos M/Z értékeket. LSD_{5%}-on vizsgálva megállapítottuk, hogy 1-propanol szignifikánsan ($p < 0,05$) a legjobb M/Z eredményt adta (17857,84) a kukorica esetében a 60% EtOH, illetve a NaCl savas és NaCl semleges extrahálószer spektrumaihoz viszonyítva (6. ábra).



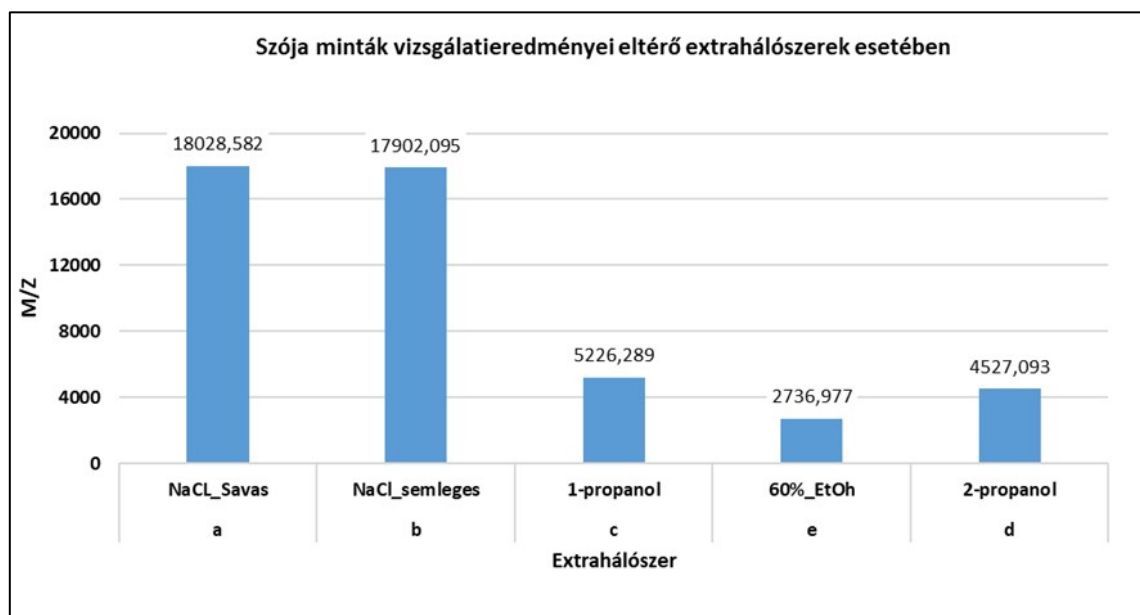
6. ábra: Kukorica minták tartalékfehérjéinek M/Z értékei eltérő extrahálószeres esetében

A napraforgó kaszátminták esetében az öt extrahálószer közül a 2-propanolos izoláló adta a legjobb M/Z értéket (22056,78), melyet LSD_{5%}-on vizsgálva szignifikánsan ($p < 0,05$) is eltért a 60% EtOH, 1-propanol, NaCl semleges és NaCl savas izoláló szerekhöz viszonyítva (7. ábra). Ebből is látható, hogy nem minden extrahálószer alkalmas az adott növényfaj elemzésére.



7. ábra: Napraforgó kaszát minták tartalékfehérjéinek M/Z értékei eltérő extrahálószeres esetében

A szója mintáknál mind a NaCl savas, mind pedig a NaCl semleges izolálók után magas M/Z értékeket kaptunk (18028 és 17902), míg az 1-propanol és a 2-propanol, valamint 60% EtOH szignifikánsan a legalacsonyabb ($p < 0,05$) M/Z értékeket adták a két NaCl extrahálószerhez viszonyítva (LSD_{5%}-on vizsgálva) (8. ábra).



8. ábra: Szója minta vizsgálati eredménye eltérő extrahálószeres esetén

3.3. Az extrahálószer és az M/Z érték közötti korreláció Pearson-féle analízissel vizsgálva

Tovább elemezve a kapott eredményeket, arra kerestük a választ, hogy mennyire alkalmas az adott izoláló a vizsgált szántóföldi növényfaj tartalékfehérje markereinek meghatározására. Az összefüggés vizsgálatot Pearson-féle korrelációs analízissel végeztem, és az eredmények alapján megállapítottam, hogy minden vizsgált növéyminta esetében pozitív közepes kapcsolat volt a növényfajonként alkalmazott extrahálószeres és az M/Z értékek között, mely hozzájárulhat az új módszer finomításához (6-9. táblázat). Az analízis megerősítette, miszerint a búza fehérjét a 60 EtOH-, a kukorica fehérjét az 1-propanol-, a napraforgó kaszatokban lévő fehérjét a 2-propanollal, míg a szója esetében a két NaCl extrahálószer oldja ki a legjobban, mely a fehérjék repülési tömegének idejében mutatkozik meg a legjobban (M/Z). A kapcsolatok jellemzője, hogy pozitív, közepes erősségű mind a négy növényfaj esetében (Búza $r = 0,661^{**}$, kukorica $r = 0,600^{**}$, napraforgó kaszat $r = 0,634^{**}$, szója $r = 0,656^{**}$).

6. táblázat: A búza mintákhoz alkalmazott extrahálószeres és az M/Z értékek közötti kapcsolat vizsgálata Pearson-féle analízissel

Búza mintához alkalmazott extrahálószeres	60% EtOH (r)	NaCl savas (r)	2-propanol (r)	1-propanol (r)	NaCl semleges (r)
M/Z	0,661**	0,197	0,152	0,129	0,106

** A korreláció szignifikáns p = 1% szinten

7. táblázat: A kukorica mintákhoz alkalmazott extrahálószeres és az M/Z értékek közötti kapcsolat vizsgálata Pearson-féle analízissel

Kukorica mintához alkalmazott extrahálószeres	1-propanol (r)	2-propanol (r)	60% EtOH (r)	NaCl savas (r)	NaCl semleges (r)
M/Z	0,600**	0,193	0,157	0,134	0,112

** A korreláció szignifikáns p = 1% szinten

8. táblázat: A napraforgó mintákhoz alkalmazott extrahálószeres és az M/Z értékek közötti kapcsolat vizsgálata Pearson-féle analízissel

Napraforgó kaszat mintához alkalmazott extrahálószeres	2-propanol (r)	60% EtOH (r)	1-propanol (r)	NaCl semleges (r)	NaCl savas (r)
M/Z	0,634**	0,197	0,163	0,127	0,122

** A korreláció szignifikáns p = 1% szinten

9. táblázat: A szója mintákhoz alkalmazott extrahálószeres és az M/Z értékek közötti kapcsolat vizsgálata Pearson-féle analízissel

Szója mintához alkalmazott extrahálószeres	NaCl savas (r)	NaCl semleges (r)	1-propanol (r)	60% EtOH (r)	2-propanol (r)
M/Z	0,656**	0,623**	0,177	0,125	0,169

** A korreláció szignifikáns p = 1% szinten

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. MALDI-TOF MS tartalékfehérje tömegspektrum alapú adatbázis létrehozása 10-10 búza, kukorica, napraforgó és szója fajta vetőmagjainak genetikai tisztaságára vonatkozóan, amelyből a vizsgált tételek genetikai homogenitása bármikor visszakereshető és évekre visszamenően összehasonlítható.
2. A módszer költséghatékony és környezet kímélőbb, mint az eddigi módszerek anyag használat tekintetében. A MALDI-TOF MS technológia lehetővé teszi, hogy rövid időn belül készülék típustól függően 102 vagy 362 mintát lemérjünk rövid idő alatt.
3. A munkánk során nem csak hibrideket, de szülői vonalakat is sikerült vizsgálni. Ennek nagy jelentősége van abból a szempontból, hogy a hibridvetőmag előállításnál fontos, hogy a szülői vonalak is homozigóták és genetikailag tiszták legyenek, mert ez az egyik fontos feltétele a hibrid fajta genetikai homogenitásának is.
4. A MALDI-TOF MS tömegspektrumok analízise során bebizonyosodott, hogy 2-30 kD molekulatömegű tartalékfehérjék vizsgálatakor azok a 2000-2500 m/z tartományban értékelhetők.
5. A kutatási eredményeink bizonyítják, hogy a MALDI-TOF MS készülékkel kapott tartalékfehérje tömegspektrumok alkalmasak különböző ön- és idegentermékenyülő növényfajok fajtáinak genetikai homogenitás vizsgálatára az 1-25000 m/z tartományban.

5. GYAKORLATBAN HASZNOSÍTHATÓ EREDMÉNYEK

1. Az általunk kifejlesztett módszer kukorica, búza, napraforgó, és szója vetőmagok esetében a mintaelőkészítés módjától függően, alkalmazható a vetőmag-minősítésben. Javasoljuk a vizsgált növényfajok eltérő magtípusú mintáinak a megdarálását az analízisek előtt.
2. A magas olaj-/zsírtartalmú növényfajoknál a homogenitási vizsgálat eredményeit befolyásolja az olaj- és/vagy a zsírtartalom, ezért a darálás után a napraforgó és a szója magokat 250µl ml hexán oldattal zsírtalanítani szükséges. Ennek hiányában a kapott eredmények nem a valóságot tükrözik.
3. Az analízisek alapján az említett növényfajok tartalékfehérjéinek vizsgálatához az SA- (3mg/250µl koncentrációban) vagy a HCCA mátrix (2,5mg/250µl koncentrációban) a legmegfelelőbbek.

IRODALOMJEGYZÉK

1. *DIECKMANN, R. - HELMUTH, R. - ERHARD, M. - MALORNY B.* (2008): Rapid Classification and Identification of Salmonellae at the Species and Subspecies Levels by Whole-Cell Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *Applied and Environmental Microbiology*. 74 (24): 7767-7778.
2. *HTTP4:* <https://pubsapp.acs.org/subscribe/archive/tcaw/12/i09/pdf/903chemchron.pdf> (letöltve: 2019.11.15)
3. *HTTP7: R CORE TEAM.* (2022) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/> (letöltve: 2020.09.10)
4. *HUZSVAI L. – BALOGH P.:* 2015. Lineáris modellek az R-ben. Seneca Books, Debrecen. 28-34; 109–124. http://seneca-books.hu/doc/Linearis_modellek.pdf (letöltve: 2020. 09.10)
5. *KARAS, M. – HILLENKAMP, F* (1988): Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons, *Anal. Chem.*, 60 (20): 2299-2301.
6. *SIGNOR, L. - ERBA, E. B.* (2013): Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometric Analysis of Intact Proteins Larger than 100 kDa. *Journal of Visualized Experiments*. 79: 1-7.
7. *ZIMMERMANN, S.* (2015): Modern Techniques for pathogen detection. Markono Print Media Pte Ltd. Singapore. 221-222.

A JELÖLTNEK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁBAN SZÜLETETT PUBLIKÁCIÓI



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/260/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Bojté Csilla
Doktori Iskola: Kerpely Kálmán Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10056782

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (3)

1. **Bojté, C.**, Helenkár, A., Nagy, N. E., Tóth, B., Hajósné Novák, M., Micsinai, A., Parádi, I., Szemán-Nagy, G., Tálas, L., Bojtó, C., Nagy, J.: Búza (*Triticum aestivum* L.) vetőmagok minősítése MALDI-TOF MS módszerrel.
Növénytermelés. 70 (1), 45-57, 2021. ISSN: 0546-8191.
2. Kaszab, E., Háhn, J., **Bojté, C.**, Jiang, D., Kriszt, B., Szoboszlay, S.: Rhodococcus típusörzsek atrazine biodegradációjára utaló biomarkerinek azonosítása MALDI-TOF MS módszerrel.
Ökotoxikol. 2 (2), 15-16, 2020. EISSN: 2732-2556.
3. **Bojté, C.**, Lovász, C., Lajkó, L., Tímár, E., Miccsinai, A., Tóth, S. Z.: MALDI-TOF módszer alkalmazhatóságának vizsgálata napraforgó genetikai azonosság vizsgálatokban.
Agrártud. Közl. 72, 33-38, 2017. ISSN: 1587-1282.

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

4. **Bojté, C.**, Lovász, C., Tímár, E., Lajkó, L., Nagy, J., Nagy, N. E., Bodnár, K. B., Czerődiné Kempf, L., Horváth, B., Micsinai, A., Tóth, S. Z.: Development of seed analyses by means of various matrix solutions and the MALDI-TOF MS technique.
Agrártud. Közl. 2019 (1), 53-57, 2019. ISSN: 1587-1282.
DOI: <http://dx.doi.org/10.34101/actaagrar/1/2370>

Magyar nyelvű konferencia közlemények (1)

5. Hajósné Novák, M., Daoud, H. G., **Bojté, C.**: A klasszikus mutációs szójanemesítés (*Glycine max* L Merrill) eredményei a SZIE genetikai és biotechnológia intézetében az 1990-es és 2010-es évek között.
In: Növénytermelés a 21. század elején: kihívások és válaszok : XXV. Növénytermelési Tudományos Nap 2019. Szerk.: Karsai Ildikó, MTA Agrártudományok Osztályának Növénytermelési Tudományos Bizottsága, Budapest, 313-317, 2019. ISBN: 9789638351456





Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (4)

6. Hajdú, E., Hajósné Novák, M., Szűcsné Varga, G., Vinogradov, S., **Bojté, C.**: A C. 50x Cserszegi fűszeres hibridpopuláció morfológiai és termesztési értékeinek értékelése.
In: XXVI. Növénynevelési Tudományos Napok : összefoglaló kötet. Szerk.: Bóna Lajos, Karsai Ildikó, Matuz János, Pauk János Polgár Zsolt, Veisz Ottó, Gabonakutató Nonprofit Közhasznú Kft., Szeged, 85, 2020. ISBN: 9789635089307
7. **Bojté, C.**, Bojtó, C., Hajósné Novák, M., Illés, Á., Horváth, B., Lovász, C., Nagy, J., Czerődiné Kempf, L., Nagy, N. E., Tímár, E., Micsinai, A.: A szója (*Glycine max* L.) vetőmagok genetikai homogenitás vizsgálata MALDI-TOF Készülékkel.
In: Hungalimenteria 2019 : "Ésszel a kosárba" : konferencia és kiállítás, Wessling Hungary Kft., Budapest, 24-25, 2019.
8. **Bojté, C.**, Lovász, C., Tímár, E., Lajkó, L., Lukács, J., Micsinai, A., Tóth, S. Z.: Minta-előkészítési eljárások fejlesztése napraforgó vetőmagok MALDI-TOF MS vizsgálatára.
In: Tavaszi szél konferencia 2018 Nemzetközi multidiszciplináris konferencia : Absztraktkötet. Szerk.: Keresztes Gábor, Doktoranduszok Országos Szövetsége, Budapest, 65, 2018. ISBN: 9786155586262
9. **Bojté, C.**, Lovász, C., Tímár, E., Lajkó, L., Lukács, J., Micsinai, A., Tóth, S. Z.: Napraforgó magvak vizsgálata MALDI-TOF MS módszerrel.
In: XXIV. Növénynevelési Tudományos Nap : Összefoglalók. Szerk.: Karsai Ildikó, Polgár Zsolt, Keszthelyi Burgonyáért Egyesület, Keszthely, 68, 2018. ISBN: 9786150014692

Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (2)

10. Kaszab, E., Dongze, J., **Bojté, C.**, Micsinai, A., Kriszt, B., Szoboszlay, S.: The application of maldi-tof ms in the characterization of opportunistic pathogen pseudomonas aeruginosa.
In: A Magyar Mikrobiológiai Társaság 2020. évi Nagygyűlése és a XIV. Fermentációs Kollokvium : Absztraktfüzet, Magyar Mikrobiológiai Társaság, Keszthely, 16, 2008.
11. **Bojté, C.**, Lovász, C., Tímár, E., Lajkó, L., Lukács, J., Micsinai, A., Tóth, S. Z.: Homogeneity testing of sunflower (*Helianthus annuus*) seeds by MALDI-TOF MS technique.
In: Fiatal Biotechnológusok Országos Konferenciája. Szerk.: Tamás László, Zelenyánszki Helga, JATEPress, Szeged, 112, 2018. ISBN: 9789633153703





További közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

12. Nagy, N. E., **Bojté, C.**, Tatárvári, K.: Eltérő szójatermesztési technológiák összehasonlító elemzése az igen korai éréscsoportban.
Gradus. 6 (2), 47-52, 2019. ISSN: 2064-8014.

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

13. Huzsvai, L., Fejér, P., Illés, Á., Bojtó, C., **Bojté, C.**, Horváth, É., Demeter, C.: Analysis of sweet corn nutritional values using multivariate statistical methods.
Agrártud. Közl. 1, 103-108, 2021. ISSN: 1587-1282.
DOI: <http://dx.doi.org/10.34101/ACTAAGRAR/1/8587>

Magyar nyelvű konferencia közlemények (2)

14. Nagy, N. E., Popovics, T., **Bojté, C.**, Tatárvári, K.: Napjainkban elfogadott helyes agrotechnológia hatása a közép-magyarországi régióban termesztett gmo mentes szójabab termésátlagára, fehérje- és olajtartalmára.
In: XXXVII. Óvári Tudományos Napok, 2018. november 9-10. : Fenntartható agrárium és környezet, az Óvári Akadémia 200 éve - múlt, jelen, jövő. Szerk.: Szalka Éva, VEAB Agrártudományi Szakbizottság, Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszer tudományi Kar, Mosonmagyaróvár, 302-308, 2018. ISBN: 9786155837159
15. Nagy, N. E., Pepó, P., Tatárvári, K., **Bojté, C.**: Szójatermesztésben alkalmazható csávázó- és oltóanyagok hatása a termésátlagra és beltartalomra kispárcellás körülmények között.
In: XXXVII. Óvári Tudományos Napok, 2018. november 9-10. : Fenntartható agrárium és környezet, az Óvári Akadémia 200 éve - múlt, jelen, jövő. Szerk.: Szalka Éva, VEAB Agrártudományi Szakbizottság, Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszer tudományi Kar, Mosonmagyaróvár, 158-165, 2018. ISBN: 9786155837159

Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (1)

16. Illés, Á., Bojtó, C., **Bojté, C.**, Nagy, J.: Effects of biostimulant foliar fertilization on maize (*Zea mays* L.) hybrid zinc content and yield parameter.
In: 4th Biostimulants World Congress : Abstract book for Oral and poster presentations, [s.n.], [Barcelona], 203, 2019.

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudomány-metriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.05.25.

