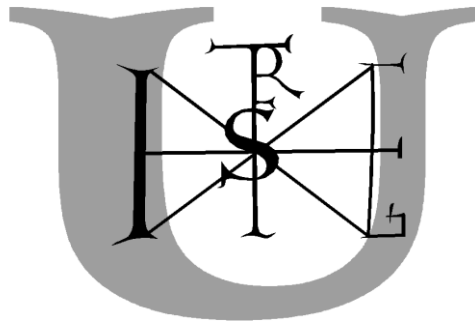




SZENT ISTVÁN EGYETEM

Őszi búza × *Triticum timopheevii* hibrid
utódainak jellemzése

Doktori (Ph.D) értekezés

Dr. Horváthné Uhrin Andrea

Martonvásár

2013

A doktori iskola**megnevezése:**

Növénytudományi Doktori Iskola

Tudományága:

Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok

Vezetője:

Dr. Helyes Lajos

egyetemi tanár, az MTA doktora

SZIE Mezőgazdaság-és Környezettudományi

Kar

Kertészeti technológiai tanszék

Program:

Növénygenetika, növénynemesítés és növénybiotechnológia

Témavezetők:

Dr. Láng László

tudományos tanácsadó, az MTA doktora

MTA Agrártudományi Kutatóközpont

Mezőgazdasági Intézet

Dr. Lángné dr. Molnár Márta, az MTA doktora

MTA Agrártudományi Kutatóközpont

Mezőgazdasági Intézet

.....

Dr. Helyes Lajos

Iskolavezető jóváhagyása

.....

Dr. Láng László

A témavezető jóváhagyása

.....

Dr. Lángné dr. Molnár Márta

A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

ALKALMAZOTT RÖVIDÍTÉSEK	5
1. BEVEZETÉS.....	7
1.1. Célkitűzések	8
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	11
2.1. Az őszi búza génforrásai	11
2.2. A <i>T. timopheevii</i> , mint génforrás a búzanemesítésben	12
2.3. A <i>T. timopheevii</i> -ből származó rezisztenciagének	16
2.4. Molekuláris és citogenetikai módszerek az idegen fajokból származó kromoszómák és kromoszóma-fragmentumok kimutatására	19
2.4.1. Molekuláris markerek.....	19
2.4.1.1. A búzában térképezett mikroszatellit markerek konvertálhatósága a <i>T. timopheevii</i> -ben.....	21
2.4.2. <i>In situ</i> hibridizáció (ISH).....	23
2.4.2.1. A genomi <i>in situ</i> hibridizáció (GISH)	23
2.4.2.2. A sávozásos technikáktól a fluoreszcens <i>in situ</i> hibridizációig (FISH)	24
2.4.3. <i>T. timopheevii</i> faj kromoszómáin végzett citogenetikai vizsgálatok.....	26
2.4.4. Búza tartalékfehérjék, mint biokémiai markerek	29
2.5. A levélrozsdá (<i>Puccinia tritricina</i>), és a levélrozsdával szembeni ellenállóképesség	29
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	31
3.1. Növényi anyagok.....	31
3.2. Molekuláris markerek tesztelése	34
3.2.1. PCR reakciók.....	35
3.3. Citogenetikai módszerek	35
3.3.1. Fluoreszcens <i>in situ</i> hibridizáció	36
3.3.2. Genomi <i>in situ</i> hibridizáció	37
3.4. Tartalékfehérje (gliadin) analízis egy dimenziós A-PAGE módszerrel	38
3.5. Üvegházi mesterséges rozsdafertőzés	38
3.6. Szántóföldi természetes rozsdafertőződés	39
4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK	41
4.1. Eredmények	41
4.1.1. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) és szülő fajtáinak fenotípusos jellemzése	41
4.1.2. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) és a Chinese Spring CO4 keresztezéséből származó utódok fenotípusos jellemzése.....	42
4.1.3. Mikroszatellit markerek polimorfizmus vizsgálata a 6B és 6G kromoszómákon	43
4.1.3.1. A mikroszatellit markerek tesztelése 6B nulliszómás vonalakon	47
4.1.3.2. 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × CO4 utódnemzedékek elemzése mikroszatellit markerekkel	48
4.1.4. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”), az Mv14, a Fleischmann-481 búzafajta és a <i>T. timopheevii</i> citogenetikai jellemzése	52
4.1.5. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × CO4 utódnemzedékeken végzett citogenetikai vizsgálatok	62
4.1.6. A citogenetikai és a molekuláris markerekkel végzett elemzés összevetése	67
4.1.7. Gliadin frakció elemzése	69
4.1.8. A transzlokációt hordozó utódok levélrozsdával szembeni rezisztenciájának vizsgálata	71

Tartalomjegyzék

4.1.8.1. Üvegházi mesterséges levélrozsdá fertőzések.....	71
4.1.8.2. Szántóföldi természetes fertőződések.....	79
4.2. Eredmények megvitatása.....	81
4.2.1. Fenotípusos jegyek	81
4.2.2. Elemzés mikroszatellit markerekkel.....	82
4.2.3. Citogenetikai elemzések	85
4.2.4. Gliadin tartalékfehérjék elemzése	88
4.2.5. Levélrozsdával szembeni ellenállóképesség	88
4.3. Új tudományos eredmények	92
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	93
6. ÖSSZEFOGLALÁS	95
7. SUMMARY	97
MELLÉKLETEK JEGYZÉKE	99
M1. IRODALOMJEGYZÉK	100
M2. melléklet.....	113
M3. melléklet.....	114
M4. melléklet.....	115
M5. melléklet.....	127
M6. melléklet.....	141
M7. melléklet.....	142
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	148

ALKALMAZOTT RÖVIDÍTÉSEK

AFLP: amplified fragment length polymorphism (amplifikált fragmentumhossz polimorfizmus)

„AMP12”: a Fleischmann-481/*Triticum timopheevii* amfiploid Mironovszkaja-808 és Mv14

búzafajtával visszakeresztett 42 kromoszómaszámú, lisztharmattal és levélrozsdával szemben rezisztens utóda

AP-PCR: arbitrary prime PCR

bp: bázispár

CAPS: cleaved amplified polymorphic sequences (amplifikált termékek restrikciós hasításával nyert polimorfizmusok)

CO4: Chinese Spring *Ph1* szuppresszor gént hordozó vonala

cM: centiMorgan

cpDNS: citoplazma DNS

DAF: DNA amplification fingerprinting

DAPI: 4',6'-diamidino-2-fenilindol

DArT: diversity arrays technology

EDTA: etilén-diamin-tetraecetsav

EST: expressed sequence tags

EST-SSR: expressed sequence tag-simple sequence repeats

FISH: fluoreszcens *in situ* hibridizáció

GISH: genomi *in situ* hibridizáció

ISH: *in situ* hibridizáció

ISSR: inter simple sequence repeat (egyszerű belső szekvencia ismétlődés)

LR: levélrozsdá rezisztenciagén

NOR: nucleolus organizer region (nukleolusz organizátor régió)

PCR: polymerase chain reaction (polimeráz láncreakció)

RAPD: random amplified polymorphic DNA (random oligonukleotidokkal indított PCR)

rRNS: riboszomális ribonukleinsav

SCAR: sequence characterized amplified regions (feltárt szekvenciájú amplifikált régiók)

SDS: nátrium-dodecil-szulfát

SNP: single nucleotid polimorphism

SSC: nátrium citrát/ nátrium-klorid oldat

SSR: simple sequence repeats (egyszerű szekvencia ismétlődés)

STS: sequence tagged sites (szekvenciával jelölt hely)

TBE: trisz – bórsav – EDTA puffer

Tween: polioxietilén-szorbitán–monolaurát

U: Unit (egység)

1. BEVEZETÉS

Hazánkban az őszi búza (*Triticum aestivum* ssp. *aestivum* L., $2n=6x=42$, AABBDD) élelmezésben betöltött kiemelkedő helye, vetésterületének nagysága valamint az exportra szánt mennyisége jól tükrözi e növényfaj meghatározó szerepét a növénytermesztési ágazaton belül.

A termelés mértékét és minőségét nagymértékben befolyásolhatják a kedvezőtlen környezeti hatások is. A búza agronómiai tulajdonságai, elsősorban a különféle betegségekkel szembeni ellenállóképessége javítható a szélesebb genetikai diverzitással rendelkező növényfajok nemesítésben való felhasználásával. A genetikai variabilitás növelésének egyik hatékony eszköze a búzával rokon fajokkal történő keresztezés, mely során fajidegen egyedi kromoszómákat vihetünk a recipiens növénybe. A fajidegen kromoszómák hasznos agronómiai tulajdonságokat, például betegségekkel, biotikus és abiotikus stresszfaktorokkal szembeni ellenállóképességet növelő géneket hordozhatnak. Az előnyös tulajdonságok mellett azonban kedvezőtlen tulajdonságokat is magukkal hozhatnak, ezért a génátvitel végső célja az, hogy a teljes idegen kromoszóma helyett csak a kívánt tulajdonságokat kódoló géneket tartalmazó kromoszóma-fragmentumot tartalmazza a recipiens fajta. Fontos, hogy a beépült kromoszóma vagy kromoszóma-szegmentum képes legyen kompenzálni a kiesett búzakromoszóma vagy kromoszómaszakasz hatásait. A kompenzációt leginkább a homeológ kromoszómák képesek kiváltani. A homeológ kromoszómák párosodását – és így az intergenomikus transzlokációk indukálását – az 5B kromoszómán levő, kromoszómapárosodást kontrolláló *Ph1* lokusz gátolja.

A *Ph1* lokusz gátlásával vagy deléciójával kiváltható az idegen kromoszóma törése, transzlokációk létrejötte. A kromoszóma átrendeződések után a fragmentek recipiens genomba történő beilleszkedésének helyét kell megtalálnunk a recipiens genomban. A kromoszómákra specifikus mikroszatellit markerek alkalmazásával lokalizálható az idegen kromoszómaszakasz helye, valamint kellő markersűrűség mellett a töréspontok helye is meghatározható. Citogenetikai módszerekkel a különböző genomokból származó kromoszóma-fragmentumok kimutathatók, valamint a genomon belüli kromoszóma átrendeződések és a töréspontok helye is egyaránt vizsgálható. A kérdéses genom kromoszómáinak azonosítása szintén citogenetikai módszerekkel végezhető el. A molekuláris markerek mellett a biokémiai markerek, például az adott fajra jellemző tartalékfehérjék is jelezhetik az idegen kromoszóma jelenlétét vagy hiányát. Az idegen kromoszóma törése után a különböző méretű és helyzetű transzlokációt tartalmazó utódnövények vizsgálatával (például kórokozó mesterséges fertőzés inokulálásával) határozható meg a hasznos tulajdonságot kódoló géneket tartalmazó kromoszóma-szegmentum jelenléte a genomban. A

nemesítés ezt követő szakaszaiban a kívánt tulajdonságot hordozó transzlokációs törzsek citogenetikai stabilitásának elérése a cél.

A biotechnológiai módszerek fejlődésével napjainkban már a búzával távolabbi rokonságban lévő növényfajok is keresztezhetők és felnevelhetők. A búzával legalább egy homeológ genomot tartalmazó fajokból a hasznos gének keresztezéssel, majd amfiploidok előállításával átvihetők a recipiens búzába. Az *Aegilops* és *Agropyron* fajokból több betegségekkel szembeni és só-, fagy- illetve szárazságtűréssel kapcsolatos és rezisztenciát kódoló gént vittek már át a búzába. A *Triticum timopheevii* (Zhuk.) ismert a betegségekkel szembeni ellenállóképességéről, és bár viszonylag sok kutatás alanyaként szerepelt és több rezisztenciagént azonosítottak már belőle, számos olyan gént hordozhat még, amelyek a termesztett búza agronómiai tulajdonságainak javítására szolgálhatnak.

1.1. Célkitűzések

A munka során célul tűztük ki, hogy olyan 6B.6G transzlokációt hordozó búzatörzseket hozzunk létre, amelyek rendelkeznek a *T. timopheevii*-ből származó levélrozda ellenállósággal, de mentesek az idegen kromoszómával bevihető hátrányos agronómiai és minőségi tulajdonságoktól. Ennek elérése érdekében a következő kísérleteket végeztük:

- A 6G kromoszóma gyors kimutatása és követése céljából a 6G(6B) szubsztitúciót hordozó „AMP12” törzs, a 6G kromoszóma donor növénye, a *T. timopheevii* és a búza 6B kromoszómája között polimorf mikroszatellit markerek keresése.
- A polimorf és a nem polimorf markerek tesztelése 6B-nulliszóm genotípusokon a specificitás meghatározása érdekében.
- A 6G és 6B kromoszómák közötti rekombináció indukálása céljából a Chinese Spring CO4 törzsszel keresztezett, 6G(6B) szubsztitúciót hordozó („AMP12”) utódok egymást követő 3 nemzedékének vizsgálata polimorf mikroszatellit markerekkel a 6B és 6G kromoszómák közötti esetleges átépülések azonosítása érdekében.
- A *T. timopheevii* kromoszómáinak azonosítása és kariotípusának meghatározása genomi és fluoreszcens *in situ* hibridizációval.
- Az „AMP12” törzs 6G kromoszómájának azonosítása FISH-sel, repetitív DNS próbák segítségével.
- A 6B.6G transzlokációt hordozó utódok vizsgálata *in situ* hibridizációval, összehasonlítása a

6G(6B) szubsztitúciót és a 6B kromoszómát tartalmazó utódokkal.

- A 6G(6B) szubsztitúciót és transzlokációt hordozó utódok valamint a *T. timopheevii* génbanki tételek elemzése savas poliakrilamid gélelektroforézissel az idegen kromoszóma/kromoszóma-szegmentum azonosítása céljából.
- A 6G(6B) szubsztitúciót hordozó („AMP12”) törzs és több martonvásári búzafajta keresztezéséből származó utódnövény vizsgálata a polimorf mikroszatellit markerekkel.
- Az „AMP12”, a kontroll genotípusok és a 6B.6G transzlokációt hordozó ill. nem hordozó „AMP12” × Chinese Spring CO4 valamint az „AMP12” és több martonvásári búzafajta keresztezéséből származó utódok levélrozsdával szembeni ellenállóképességének vizsgálata mesterséges fertőzéssel üvegházban illetve szántóföldi körülmények között.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az őszi búza génforrásai

A rokon növényfajok között létrehozott faj- és nemzetséghibridek a szülőfajok gazdasági és nemesítési szempontból előnyös tulajdonságait hordozhatják magukban, ezért előállításuk és vizsgálatuk különösen fontos (Heszky 1970, 1971). A búzával közeli vagy távolabbi rokonságban lévő növényfajok hasznos forrásai lehetnek olyan tulajdonságoknak, amelyek jelentősen növelik a búza alkalmazkodó képességét vagy felhasználhatóságát. A biotikus rezisztencia fejlesztése állandó versenyfutást jelent a kórokozók és a nemesítők között, de a nemesítés hosszú távon is lépéselőnyhöz juthat hatásos rezisztenciájú búza genotípusok előállításával és ezek kombinálásával (Láng és Bedő 2008).

A búza genetikai változatosságát növelni képes növényfajokat a genetikai felépítésük és a búzával való keresztezhetőségük szerint csoportosítjuk.

Az elsődleges géntartalékokhoz soroljuk azokat a fajokat, amelyek a búzával homológ kromoszómákat tartalmaznak, és ezáltal a keresztezés során hibridizációval vagy rekombinációval kerülnek át a kromoszómák a recipiens búzába. Ide tartozik a *Triticum spelta* L. ($2n=42$, AABBDD) a *T. turgidum* L. ($2n=4x=28$, $\overset{u}{A} \overset{u}{A} BB$), a *T. urartu* L. ($2n=2x=14$, $\overset{u}{A} \overset{u}{A}$) és *T. monococcum* L. ($2n=AA$) valamint a termesztett búza D-genomjának donorja, az *Aegilops tauschii* Coss. ($2n=2x=14$, DD).

A búza másodlagos géntartalékai közé azok a fajok tartoznak, amelyeknek legalább egy, a búzával homológ genomjuk van. Ezek esetében azok a gének rekombinálódhatnak, amelyek a homológ kromoszómán helyezkednek el. Ide tartoznak a *T. timopheevii* (Zhuk.) subsp. *timopheevii*, *T. timopheevii* subsp. *araraticum* ($2n=28=A^tA^tGG$) és változatai, valamint azok az *Aegilops* fajok, amelyek a búza B-genomjával rokon S-genomot hordozzák. Az elsődleges és másodlagos génforrás növényfajaiból több hatékony betegségrezisztencia-gént sikerült átvinni a búzába (McIntosh 1983; Friebe et al. 1996)

A harmadlagos génforráshoz tartozó fajok a kenyérbúza távolabbi rokonai, nincsenek egymással homológ kromoszómáik. A búza és a harmadlagos génforrásba tartozó növényfajok közötti génátvitel csak speciális módszerekkel oldható meg. A búzával távolabbi rokonságban álló, azzal azonos genomot nem hordozó fajokkal történő keresztezésekkor ugyanis az idegen kromoszómák a meiózisban nem tudnak a búzakromoszómákkal párosodni, könnyen eliminálódnak, ezért igen kis gyakorisággal várható hibridek létrejötte. Amennyiben hibrid szemek képződnek, gyakran hiányzik a hibrid embrió fejlődéséhez szükséges táplálósövet, az

endospermium, ezért embriómentést kell végrehajtani vagyis mesterséges táptalajon kell felnevelni a hibrid növényt. Az idegen fajú kromoszómák közötti párosodás genetikai módszerekkel vagy ionizáló sugárzással, kémiai mutagének használatával, illetve a hibridek szövettényésztésbe helyezésével indukálhatók. Idegen fajból származó DNS ezek mellett modern génátviteli módszerekkel, genetikai transzformáció útján is átvihető a búzába, azonban az így előállított, genetikailag módosított növények szabadföldi termesztése hazánkban nem engedélyezett.

A faj- és nemzetségkeresztezések során a recipiens fajokba integrálódott kromoszómák hordozhatnak agronómiailag hátrányos tulajdonságokat kódoló géneket is. Az előnyös tulajdonságok megtartása és a nemkívánatos tulajdonságok csökkentése érdekében a kromoszómák különböző módszerekkel törhetőek, majd az utódok értékelésekor kiválaszthatók a kívánt tulajdonságokat tartalmazó rekombinánsok.

Az agronómiailag értékes géneket hordozó kromoszómák törése elősegíthető γ -sugárzás alkalmazásával. Ezzel a módszerrel lehetséges a töredezett kromoszómarészek beépülése a búza genomjába. Sears (1956) ezzel a módszerrel lehetővé tette az *Ae. umbellulata* máig rendkívül hatékony *Lr9* génjét hordozó kromoszóma-szegmentum beépülését a búzába.

Egy másik elterjedt módszer a homeológ kromoszómák közötti rekombináció indukálására a búza 5B kromoszómájának hosszú karján elhelyezkedő *Ph1* gén manipulációja. Ez a gén a homeológ kromoszómák párosodását akadályozza meg (Riley et al. 1968). Az első *Ph* mutáns vonalat a Chinese Spring fajtából állították elő (Sears 1977). A *Ph* gén deléciónja mellett felfedezték, hogy az *Ae. speltoides*-ből izolált *Ph* szuppresszor gén elnyomja a *Ph* gén hatását, ami elősegíti az idegen fajokból származó gének búzába történő beépítését (Dvořák 1977).

2.2. A *T. timopheevii*, mint génforrás a búzanemesítésben

A *T. timopheevii* a Kaukázus lábainál honos évelő, tetraploid, endemikus faj. Genomképlete $2n=28=A^tA^tGG$. Először a *T. dicoccum* Schrank var. *dicoccoides* Körn. egyik változataként írta le Zhukovsky 1923-ban (Zhukovsky 1923). 1928-ban *T. timopheevii* Zhuk. néven került be a botanikai rendszertanba, majd Zhukovsky (1928) és Sando (1935) részletes botanikai leírást adott közzé az új növényfajról. Zhukovsky így jellemezte az újonnan felfedezett fajt: a *T. timopheevii* egyik jellegzetessége a szőrözöttség, amely a kalászkákon, a szártagokon és a leveleken is látható. A kalászkok szélesek, laposak és csúcsos formájúak. A kalászkok szintén szőrözöttek, és érett állapotban igen törékenyek, szálkázottak. A szálkák 4-7 cm hosszúak. A pelyvalevelek vékonyak és hártyaszerűek (Zhukovsky 1928). Ezek mellett a *T. timopheevii*-ből készült liszt jó sütőipari tulajdonságokkal rendelkezik (Zhukovsky 1971) és jól ismert a búzát

gyakran fertőző kórokozók elleni rezisztenciájáról. A lisztharmattal, levél- és szárrozsával szembeni ellenállóképessége miatt régóta vizsgálják a búzanemesítésben való alkalmazhatóságát. A termesztett *T. timopheevii* csak egy körbezárt, szűk területen élt, ezért az egyes változatai között csak igen kis morfológiai, kariatípus-beli illetve tartalékfehérje-különbségek alakultak ki (Badaeva et al. 1994a; Brown-Guedira et al. 1996). A *T. timopheevii* ezek után a kutatások népszerű alanya lett nem csak azért, mert kimagasló a betegségekkel szembeni ellenállóképessége (Pridham 1939; Newton et al. 1940; Shands 1941; Garcia-Rada et al. 1942; Hart 1943), hanem azért is, mert a GG genomot tartalmazza (Kihara és Lilienfeld 1934), ami addig nem volt ismeretes a *Triticum* nemzetségben (Allard 1949).

Vad formája, a *T. timopheevii* (Zhuk.) subsp. *armeniicum* (Jacubz.) Közép-Ázsiában és a Transzkaukázus környékén honos. Ez a vad faj a termesztett *T. timopheevii* (Zhuk.) subsp. *timopheevii* őse (Feldman 1966), amelyet a *T. monococcum*-mal kevert állományokban természetesen Grúzia nyugati részein. A *T. armenicum* jóval nagyobb területeken fordult elő, ezért genetikai állománya is sokkal változatosabb a *T. timopheevii* subsp. *timopheevii*-nél (Badaeva et al. 1994b; Brown-Guedira et al. 1996), viszont a búzával képzett utódai sterilnek bizonyultak (Shands 1941). A *T. timopheevii* eredete sok kérdést vetett fel. A tetraploid búzák egyik fő csoportját alkotják az emmer vagy tönke búzák, amelyek közé a durumbúza (*T. turgidum* L. subsp. *durum* $2n = 28$, A^uA^uBB), a vad emmer (*T. turgidum* L. subsp. *dicoccum* A^uA^uBB) valamint egyéb A^u és B-genommal rendelkező fajok tartoznak. A másik csoportba az ún. „*timopheevii* búzák” sorolódnak, úgymint a *T. timopheevii* Zhuk. subsp. *armeniicum*, *T. militinae*, *T. timopheevii* Zhuk. subsp. *timopheevii* ($2n=28$, A^tA^tGG). Ezek a B helyett G-genomot tartalmaznak.

Kialakulásukra vonatkozóan két elméletet állítottak fel: a monofiletikus elmélet szerint a *timopheevii* és a tönke vagy emmer búzák egy azonos hibridizációs folyamat végén keletkeztek, később pedig szétváltak, miután ismeretlen diploid fajokkal keveredtek ill. a kromoszómák átrendeződtek (Gill és Chen 1987). A difiletikus elmélet szerint a *timopheevii* és a tönke búzák egymástól teljesen különálló hibridizációs úton jöttek létre. Ezt az elméletet alátámasztja az, hogy különböző fajspecifikus transzlokációkat tartalmaznak (Jiang és Gill 1994c). Takahashi et al. (2010) által végzett legújabb kutatások szerint *T. timopheevii* ssp. *armeniicum* és a *T. timopheevii* ssp. *timopheevii* egymástól függetlenül alakultak ki. A *T. timopheevii* a heterokromatin- tartalom és- eloszlás tekintetében különbözik a tönke csoport tetra- és hexaploid fajaitól (Badaeva et al. 2010).

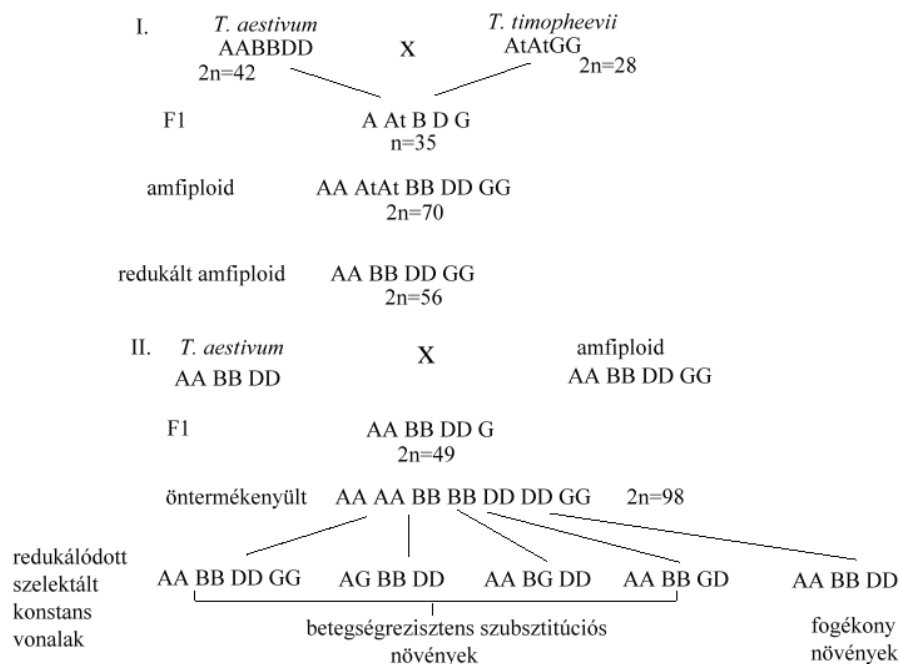
A *T. timopheevii* A^t -genomja a *T. urartu*-ból (A^uA^u) származik, de a G-genom eredetére vonatkozóan sokáig nem találtak megfelelő választ (Nath et al. 1983). A DNS-DNS hibridizációs vizsgálatok után bizonyosodott be, hogy a G-genom donora az *Ae. speltoides* volt (Feldman, 1966; Shands és Kimber, 1973; Jiang és Gill 1994a; Dvořák és Appels, 1982; Dvořák és Zhang, 1990; Dvořák et al. 1993; Takumi et al. 1993; Jiang és Gill 1994a; Tsunewaki et al. 1996; Feldman 2001; Dvořák 2002; Salina et al. 2006). A G-genom *Ae. speltoides*-től való származását alátámasztja az is, hogy az *Ae. speltoides* citoplazma DNS-e hasonló a *T. timopheevii* cpDNS-éhez, viszont az *Ae. speltoides*-ben nem találtak a *T. turgidum*-mal egyező cpDNS-t (Ogihara and Tsunewaki 1988; Jiang és Gill, 1994a). A tönke és *timopheevii* búzák közötti különbséget ezeken kívül a limitált kromoszómapárosodás, a hibrdek sterilítása valamint a rajtuk végzett biokémiai, immunológiai és molekuláris vizsgálatok is alátámasztották (Salina et al. 2006).

A kereszteződés után számos fajspecifikus transzlokáció ment végbe a tönke és *timopheevii* búzák csoportjába tartozó fajokban: a tönke búzában a 4A-5A-7B kromoszómák közötti átépülés, míg a *timopheevii* csoportban az 1G-4G-6A^t valamint az 3A^t-4A^t kromoszómák közötti átrendeződés volt jellemző (Liu et al. 1992; Jiang et al. 1994a; Dvořák 1998; Rodríguez et al. 2000; Dobrovolskaya et al. 2009, Badaeva et al. 2010). A tönke búzák csoportja evolúciós szempontból ősbibb, körülbelül 500.000-300.000 évvel ezelőtt alakult ki. A *timopheevii* búzák megjelenését későbbre teszik (Feldman et al. 1995; Huang et al. 2002; Levy és Feldman 2002). A *T. timopheevii* A^t és G-genomja közeli rokonságban van az ugyancsak tetraploid *T. turgidum*-mal (A^uB), ennek ellenére nehezen keresztezhető vele, valamint a kariotípusuk is különböző (Badaeva et al. 1986; Gill és Chen 1987; Jiang és Gill 1994a; Badaeva et al. 2010; Brown-Guedira et al. 1996).

Az egyes A^t és G-genom kromoszómák megkülönböztetésére több módszert használtak: a kromoszómasávok hasonlóságát (Badaeva et al. 1986), a kromoszómák párosodását az interspecifikus (fajok közötti) hibrdekben, valamint a kompenzációs képességet a spontán kialakult szubsztitúciós vonalakban (Badaeva et al. 1991; Gill és Chen, 1987; Gill 1988). Brown-Guedira et al. (1996) *T. timopheevii* kromoszóma szubsztitúciós törzseket állítottak elő Chinese Spring nulli-tetraszómás háttérben azért, hogy az egyes *T. timopheevii* kromoszómák szubsztitúciós ill. genetikai kompenzációs képességét vizsgálják.

Feldman (1966) a búza és a *T. timopheevii* hibrdek F₁ utódait vizsgálva kimutatta, hogy a B és G kromoszómák az esetek 30, míg az A és A^t kromoszómák 70%-ában konjugálódtak. Ezekben a hibrdekben a homeológ kromoszómák részleges párosodása révén lehetővé válik a búza és a *T. timopheevii* örökítőanyaga közötti kicserélődés (Gordeeva et al. 2009).

A *T. timopheevii*-ben rejlő értékes genetikai tartalékok búzenemesítésben való felhasználásának lehetőségeit hazánkban is kutatták. Betegségrezisztencia forrásként használta fel Belea (1976) a korábban Martonvásáron előállított *T. aestivum* × *T. timopheevii* allopoliploidokat. Az eredetileg $2n=70$ kromoszómás allopoliploid növények többsége $2n=56$ oktoploidra csökkent. A további nemzedékek mind alacsonyabb kromoszómaszámúra redukálódtak. Az előállítás során (1. ábra) Belea idegen monoszómás szubsztituált növényeket kapott és ezek közül csak a betegségekkel szemben rezisztens egyedeket keresztezte vissza búzával. A rezisztens törzsek a *T. timopheevii* 1G vagy 6G kromoszómáit tartalmazták a búza 2D ill. a 6B kromoszómapárja helyett. Sutka et al. (1999) a Fleischmann-481/*Triticum timopheevii* amfiploidot a Mironovszkaja-808 és Mv14 búzafajtaival visszakeresztelve egy stabil 42 kromoszómaszámú, lisztharmattal és levélrozsdával szemben rezisztens törzset választottak ki („AMP12”). Az „AMP12” elnevezés a 12. számú amfidiploid törzsrre utal.



1. ábra. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) kialakításának lépései.

Belea (1986) nyomán.

Molnár-Láng et al. (1996) C-sávozással kimutatták, hogy az amfidiploid vonalak közül kiválasztott törzs a búza 6B helyett a *T. timopheevii* 6G kromoszómáját hordozza.

A 6G – 6B kromoszómák közötti rekombinációk létrehozása céljából az „AMP12” törzset Lángné Molnár et al. (1999) az *Ae. speltoides*-ből származó *Ph1* szuppresszor gént hordozó, Chinese Spring alapú búzatörzsszel (Chinese Spring CO4) keresztezték.

Szubsztitúciós hibridek létrehozása céljából Sutka et al. (szóbeli közlés) az „AMP12” törzset a martonvásári Mv Magdaléna, Mv Palotás, Mv27-2000, Mv Emese, Mv Csárdás, Mv9 és Mv Mezőföld fajtákkal keresztezték.

2.3. A *T. timopheevii*-ből származó rezisztenciagének

A *T. timopheevii* betegségekkel szembeni ellenállósága régóta ismert. Azonosítottak már belőle szár- és levélrozsa valamint lisztharmat rezisztenciagéneket (1. táblázat), de további, eddig feltáratlan rezisztenciagén-tartalékokkal is rendelkezik.

A *T. timopheevii* (Zhuk.) subsp. *timopheevii* a forrásnövénye az *Sr36*, *Sr37* szárrozsa, illetve az előbbivel kapcsolatos öröklődő *Pm6* lisztharmat-rezisztenciagénnek (McIntosh és Gyárfás 1971). Az *Sr36* gén jelentősége különösen azóta nőtt meg, hogy az 1999-ben Ugandában azonosított, rendkívül virulens és gyorsan terjedő Ug99 szárrozsa rassz (Pretorius et al. 2000) az elterjedt és addig nagyon hatékony *Sr31* szárrozsa rezisztenciagént hordozó búzafajtákat is megfertőzte. Az *Sr36* rezisztenciáját később egy újabb, az Ug99-ből származó rassz letörte (Jin et al. 2007). Magyarországon az *Sr36/Pm6* génklasztert hordozó elsődleges szülőfajták - mint például az Arthur71 – nem terjedtek el a köztermesztésben (Purnhauser et al. 2011b). Elsősorban az Arthur71 felhasználásával jelentek meg Szegeden (GKI) és Martonvásáron az olyan búzatörzsek, amelyek hordozhatták az *Sr36/Pm6* géneket. Jelenleg a Szegeden (GKI) nemesített búzafajták hordozzák ezeket a géneket a nagyobb arányban (Purnhauser et al. 2011a, b).

Az *Lr18* levélrozsa rezisztenciagén szintén a *T. timopheevii*-ből származik, de hatékonysága ellenére használata nem terjedt el a nemesítésben (McIntosh 1983). Brown-Guedira et al. (2003) új, a *T. timopheevii*-ből származó levélrozsa rezisztenciagént azonosítottak egy *T. armeniacum* $\times$ *T. aestivum* keresztezésből létrehozott utódpopulációban. Az új gént (*Lr50*) a búza 2B kromoszómájának hosszú karjára térképezték. Bai et al. (1998) a levélrozsdával szembeni ellenállóképesség növelése céljából durum- és kenyérbúzát kereszteztek *T. timopheevii*-vel. Az utódokat levélrozsa-izolátumokkal fertőzték. A monoszómás analízis eredménye szerint a durum- és kenyérbúzában is hatásos levélrozsa rezisztenciagén az 1A kromoszómán helyezkedik el, amely az *Lr10* gén egyik allélja lehet.

Leonova et al. (2004) *T. aestivum* (Saratovskaya 29) $\times$ *T. timopheevii* ssp. *viticulosum* keresztezésével levélrozsdával szemben rezisztens introgressziós vonalakat hoztak létre. SSR

markerek segítségével megállapították, hogy a *T. timopheevii*-ből származó kromoszómaszakasz a recipiens búza 2A kromoszómájára transzlokálódott, és tartalmazta a levéltörzsda rezisztenciagént is (*LrTt1*). Egy testvérvonalban az 5B kromoszómán azonosítottak egy másik *Lr* gént (*LrTt2*) (Leonova et al. 2010; Leonova et al. 2011). Ebből az introgressziós vonalból válogatta ki Timonova et al. (2013) azokat az 5GL transzlokációt hordozó utódokat, amelyek monogénis levéltörzsda rezisztencia lokuszt hordoznak. Olyan növényeket is szelektált, amelyek a 2A és az 1A kromoszómára transzlokálódott *T. timopheevii* kromoszóma szegmentumot tartalmazzák és hatásukra az uredospórák terjedése lassult a fertőzött növényeken. Ezek a *T. timopheevii* kromoszómát vagy kromoszóma szegmentumot tartalmazó introgressziók nem voltak hátrányos hatással a termőképességre, sőt, a kalázonkénti szemszám mennyisége is nőtt (Timonova et al. 2012).

A *T. timopheevii*-ből származó lisztharmat- és szárrozsdá rezisztenciát már korábban kutatni kezdték (Allard és Shands 1954; Nyquist 1963). Habár a *Pm6*-on kívül (Tao et al. 2000) már több, a *T. timopheevii*-ből származó lisztharmat rezisztenciagént is azonosítottak búzában, még további, eddig nem azonosított *Pm* géneket is tartalmaz (Järve et al. 2002). Az eredetileg a *T. tauschii*-ből származónak vélt *Pm2* gént (Lutz et al. 1994, 1995) Peusha et al. (1995) úgy találták, hogy az a *T. timopheevii*-ből származik. Ezt a gént a recipiens búza 5D kromoszómájára térképezték. Mivel a *T. timopheevii* nem tartalmaz D-genomot, kicsi a valószínűsége annak, hogy spontán rekombináció megy végbe nem homeológ kromoszómák között, tehát az eredetre vonatkozó feltevés további vizsgálatokat igényelne.

Badaeva et al. (1995b) egy, a *T. timopheevii*-ből származó 6G kromoszómát hordozó, lisztharmattal szemben rezisztens búzatörzslet (146-155-T) hoztak létre. C-sávozással bizonyították a 6G kromoszóma jelenlétét a törzsben. Enno et al. (1998) a *T. timopheevii*, az eredeti, keresztezésre használt 146-155 és a 6G kromoszómát hordozó 145-155-T búzatörzs gliadin elektroforézises fehérjevizsgálata után arra a következtetésre jutottak, hogy a Badaeva et al. (1995b) által létrehozott 146-155-T szubsztitúciós vonal nem az egész kromoszómát, hanem 6G kromoszóma transzlokációt hordoz. A 146-155-T törzsben Järve et al. (2000) azonosították a *Pm27*-nek elnevezett, a 6G kromoszómán lokalizált lisztharmat rezisztenciagént.

További *T. timopheevii*-ből származó, a 7A kromoszómára térképezett *Pm* rezisztenciagént is azonosítottak: *T. timopheevii* subsp. *armeniicum*-ból az ideiglenesen M1AG12 (Maxwell et al. 2009) illetve *Pm37* (Perugini et al. 2008) elnevezéssel publikált rezisztenciagéneket.

Ma és Hughes (1995) *T. durum* és *T. timopheevii* keresztezéséből előállított utódokon vizsgálta a *Septoria nodorum* fertőzéssel szembeni rezisztenciát. A *T. timopheevii* volt a

rezisztenciaforrás, az *SnbTM* névvel jelzett gént a 3A kromoszómán lokalizálták (Ma és Hughes 1995; Feng et al. 2004) és a könnyebb követhetőség kedvéért a gén kimutatására használt RAPD markerekből SCAR markert fejlesztettek ki (Cao et al. 2001).

1. táblázat. A *T. timopheevii*-ben és annak változataiban azonosított, különféle betegségekkel szembeni ellenállóság gének.

Rezisztenciagén	Betegség	Kromoszóma	Leíró
<i>Sr36</i>	Szárrozsda	2B	McIntosh és Gyárfás 1971
<i>Sr 37</i>	Szárrozsda	4B	McIntosh és Gyárfás 1971
<i>Sr40</i>			
(<i>T. araraticum</i>)	Szárrozsda	2B	Brown-Guedira et al. 1996
<i>Pm6</i>	Lisztharmat	2B	McIntosh és Gyárfás 1971
<i>Pm2</i>	Lisztharmat	5D	Peusha et al. 1995
<i>Pm27</i>	Lisztharmat	6B	Järve et al. 2000
<i>Pm37</i>	Lisztharmat	7A	Perugini et al. 2009
<i>M1AG12</i>	Lisztharmat	7A	Maxwell et al. 2009
<i>Lr18</i>	Levélrozsda	5B	McIntosh, 1983
<i>Lr50</i>	Levélrozsda	2B	Brown-Guedira et al. 2003
<i>LrTt1</i>	Levélrozsda	2A	Leonova et al. 2010
<i>LrTt2</i>	Levélrozsda	5B	Leonova et al. 2010
<i>SnbTM</i>	<i>Septoria nodorum</i>	3A	Ma és Hughes 1995

A *T. timopheevii*-ből tehát introgressziós/szubsztitúciós vonalak létrehozásával próbálták meg átvinni a hasznos rezisztenciagéneket (Brown-Guedira et al. 1996; Badaeva et al. 2000; Gordeeva et al. 2009). Badaeva et al. (2000) kísérletében azokban a törzsekben volt észlelhető a lisztharmattal szembeni rezisztencia, amelyekben a 2B, a 6B és a *T. timopheevii* megfelelő homeológ kromoszómái közötti transzlokáció vagy szubsztitúció ment végbe. Azok a vonalak, amelyek levélrozsdával szemben rendelkeztek ellenállóképességgel, a 2A, 2B, 5B, 6B és a *T. timopheevii*-vel homeológ kromoszómák átrendeződéseit hordozták. Más szerzők által leírt eredmények is erősítették ezt a megállapítást (McIntosh és Gyárfás, 1971; McIntosh, 1983; Järve et al. 2000; Brown-Guedira et al. 2003; Gordeeva et al. 2009; Leonova et al. 2010).

2.4. Molekuláris és citogenetikai módszerek az idegen fajokból származó kromoszómák és kromoszóma-fragmentumok kimutatására

2.4.1. Molekuláris markerek

A molekuláris markerek a DNS meghatározott, általában nem kódoló szakaszai, amelyek a különböző genotípusokban eltérő szekvenciával rendelkeznek. Azonosítható a kromoszómális lokalizációjuk, öröklődésük a mendeli szabályoknak megfelelően követhető. A növénynemesítésben, ezen belül a betegségekkel szembeni ellenállóképesség növelésére irányuló kutatásokban a molekuláris markereknek igen jelentős szerepe és előnye van a hagyományos módszerekhez képest. A hatékony rezisztenciagént tartalmazó búzafajta nemesítésének ideje jelentősen megrövidül és a sikeresen alkalmazott markerek ezután a rezisztencia nemesítési programok nélkülözhetetlen eszközeivé válnak (Gál et al. 2007; Uhrin et al. 2008; Vida et al. 2009; Uhrin et al. 2009). Az adott marker akkor használható nemesítési célokra, ha a gén és a marker közötti távolság kicsi (1-10 cM) vagy nem mutatható ki (Purnhauser 2008) vagy a gén maga a marker.

A molekuláris markereket csoportosíthatjuk egyfelől aszerint, hogy kiértékelésük kodomináns vagy domináns-e. A kodomináns markerek esetében a polimorfizmus alapja a DNS fragmentumok közti méretkülönbség, amely lehetővé teszi a homo-és heterozigóta egyedek azonosítását. Ha a két szülő között méretbeli különbség adódik egy adott marker esetében, akkor a heterozigóta utódokban mindkét szülő fragmentum mérete kimutatható, míg a homozigóta egyedek csak az egyik szülőre jellemző méretű terméket mutatják. A domináns markerek ezzel szemben a „van-nincs” reakciókkal jellemezhetők. Ebben az esetben a heterozigóta egyedek nem különíthetők el a domináns markert hordozó homozigóta egyedeiktől. A különböző molekuláris marker módszerek jelentősen eltérnek egymástól a dominancia és a kodominancia mértékében. Az SNP alapú markerek minden esetben kodominánsak, míg a DArT markerek minden esetben dominánsak. Az RFLP, SSR, RAPD és az AFLP esetében mindkét mód előfordulhat, de különböző arányban. Az SSR markerek egy része kodomináns, míg a RAPD és az AFLP markerek többsége domináns.

A molekuláris markerek első típusainak növénynemesítésben való alkalmazása az 1980-as évek elején kezdődött el az RFLP módszer bevezetésével (Botstein et al. 1980; Burr et al. 1983) és ez maradt az egyetlen vizsgálati eszköz az évtized végéig. Az RFLP technika rendkívül megbízható, hátránya azonban a radioaktív anyagok használata, az idő- és anyagi költségek magas volta (Nagy 1999). Kary Mullis 1983-as felfedezése óta azonban robbanásszerű fejlődés ment végbe a PCR-alapú polimorfizmus-vizsgálatok területén (Mullis et al. 1986; Mullis és

Faloon, 1987). Ezek előnye, hogy a reakcióhoz kevés templát DNS szükséges, rövid idő alatt kiértékelhetők, valamint közepes műszerezettséget igényelnek. A random amplifikációs módszerek (RAPD, AP-PCR, DAF) esetében nem szükséges ismerni a szekvenciákat. A reakciókban csak egyféle, általában 10, vagy ennél kisebb bp hosszúságú oligonukleotidokat alkalmaznak. A genomi DNS-en ezek a primerek rengeteg helyen megtalálják a komplementer szekvenciát, és ha ezek az amplifikálható mérettartományon belül vannak, akkor a primerek által közrefogott DNS szakasz amplifikálódik. A random amplifikációs módszerek előnye tehát az, hogy nem igényelnek szekvenciaismeretet, igen kis mennyiségű DNS szükséges, valamint ugyanazokat a primereket több növényfaj-és fajta vizsgálatához lehet használni. Hátrányuk a nehéz reprodukálhatóság, a reakció paramétereinek változására, a DNS tisztaságára és minőségére való érzékenység. Ezek a markerek általában dominánsak, kodomináns kiértékelés előfordulásának valószínűsége nagyon kicsi (Nagy 1999) de elősegíthető azzal, ha polimorf termékek esetén a különbséget jelentő sávokat a gélből kivágják, szekvenálják ami után a szekvencia alapján a fragmentumra specifikus primerek tervezhetők (SCAR markerek). Ezek a primerek jól reprodukálható termékeket adnak és az esetek egy részében kodominánsak is lehetnek (Kiss 2005). Az esetenként előforduló kodominancia egyik oka az lehet, hogy a kiinduló RAPD marker is kodomináns volt így csak az egyik vizsgált genotípushoz kötődött. A képződött termék szekvenálása után tervezhető olyan primer, ami kötődik mindkét genotípushoz, de a két kötőhely távolsága különböző. Az eredetileg dominánsnak tűnő marker ezután hossz-polimorfizmust mutató kodomináns markerként vizsgálható.

A random amplifikációs technikák hátrányait igyekeztek javítani az ismert szekvenciákon alapuló PCR technikák bevezetésével. A módszerek során specifikus, a határszekvenciákra tervezett primereket és szigorúbb – de könnyebben reprodukálható – amplifikációs paramétereket használunk. Az ilyen módon amplifikált DNS szakasz lehet ismert szekvenciájú random DNS, részlegesen karakterizált cDNS, kódoló genomi DNS illetve nem kódoló szekvencia (Nagy 1999). A specifikus primerek alkalmazását is magába foglaló modern PCR technikák közé tartozik például a CAPS, SCAR, STS, a mikroszatellit-markerekkel végzett PCR (SSR) valamint a restrikciós enzimekkel random, majd ezt követően az adapterszekvenciákkal komplementer primerekkel alkalmazott szelektív amplifikációt magában foglaló AFLP módszer is. Ennél a technikánál a restrikciós enzimekkel random, majd ezt követően az adapterszekvenciákkal komplementer primerekkel alkalmazott szelektív amplifikáció történik, a folyamat végén kapott fragmentumok száma rendkívül nagy. Az AFLP reprodukálhatósága viszonylag jó, és alkalmazási területe széles.

Az eukarióta élőlények genetikai állománya néhány példányban előforduló szekvenciákat (fehérjéket kódoló szekvenciákat) és ún. repetitív (nem kódoló) szekvenciákat foglal magában. A legtöbb eukariótánál megfigyelhető, hogy a repetitív DNS szerveződése azonos elveken alapul, ezért feltételezhető, hogy az ismétlődő szakaszoknak fontos strukturális és funkcionális szerepük van. A mikroszatellitek, más néven egyszerű szekvenciaismétlődések a hat nukleotidnál rövidebb szekvenciamotívumok monoton, tandem szerű ismétlődése (Litt és Luty 1989). A növényeknél a (TA)_n szekvencia a leggyakoribb. A kódoló régiókhoz általában nincs szoros kötődésük (Metzgar et al. 2000). A tandem ismétlődő DNS mennyisége az egyes növényfajoknál a teljes genom 30-80%-át teszi ki és a genomban egyenletesen helyezkednek el, de a centroméra régiókban a többihez képest különösen nagy gyakorisággal fordulnak elő. A repetitív DNS szerkezetét tekintve igen nagy a változatosság a közeli rokonságban levő genotípusok között is, tehát alkalmazhatók akár fajták megkülönböztetésére is. Ezek a DNS szakaszok kodominánsak, nagy polimorfizmussal rendelkeznek, aminek forrása a régiók replikációja során bekövetkezett csúszás (slippage) (Kiss 2005).

Az új mikroszatellit markerek az előállításukat tekintve költségesek, de ez a hátrány csökkenthető azoknál a fajoknál, ahol a szekvenálási programoknak köszönhetően nagyszámú ismert szekvencia áll rendelkezésre nyilvános adatbázisokban. E markerek számos előnye közül kiemelkedő a genetikai és fizikai térképek összekapcsolására való lehetőség valamint a rokon fajokra történő konvertálhatóság (ld. 2.4.1.1 fejezet). A mikroszatellitek szomatikusan stabilak, hipervariabilisek, amely tulajdonságok ideális genetikai markerekké teszik őket a növényekben végzett genomtérképezéshez, gének kapcsolódásának tanulmányozásához, populációgenetikai vizsgálatokhoz, a fajok változatainak vizsgálatához és a genetikai diverzitásvizsgálatokhoz mind növény, mind pedig állatfajokban (Luty et al. 1990; Akkaya et al. 1992; Morgante és Olivieri 1993; Liu et al. 1996; Russell et al. 1997; Röder et al. 1998; Gupta és Varshney 2000; Prasad et al. 2000; Zhang et al. 2005).

2.4.1.1. A búzában térképezett mikroszatellit markerek konvertálhatósága a *T. timopheevi*-ben

Azokban a növényfajokban, amelyekben az azonosított mikroszatellit markerek száma kevés, nagy a jelentősége a velük rokon növényfajokban azonosított mikroszatellit markerek használatának. A konvertálhatóság ugyanis lehetővé teszi azt, hogy a búzában térképezett markereket olyan fajokban is használhassuk, amelyeknél nem áll rendelkezésünkre genetikai könyvtár és specifikus SSR markerek. Az EST markerek fehérjéket kódoló géneket

tartalmaznak, kifejlesztésük mRNS-ből történik. Az EST szekvenciák is tartalmazhatnak tandem ismétlődő régiókat (SSR), amelyekre primereket lehet tervezni (EST-SSR markerek). A polimorfizmus, amely az adott lókuszok különböző DNS ismétlődéseinek számán alapul, PCR-rel könnyen detektálható.

A búza kromoszómáira térképezett SSR markereket többen is alkalmazták már *T. timopheevii*-ből származó rezisztenciagének térképezésére illetve introgressziók meghatározására (Järve et al. 2000; Sherman et al. 2001; Leonova et al. 2002, 2004, 2007, 2008, 2010, 2011; Brown-Guedira et al. 2003; Perugini et al. 2008; Gordeeva et al. 2009; Maxwell et al. 2009).

Az SSR markerek mellett az utóbbi időben egyre nagyobb figyelmet kaptak az EST-SSR markerek, mivel expresszálo régióban helyezkednek el és így génekre alapozott térképeket lehet alkotni belőlük valamint használhatók összehasonlító térképezésre is. Többen vizsgálták a búzára térképezett SSR és EST-SSR markerek konvertálhatóságát a közelebbi illetve távoli rokon fajokra, mint például a *T. durum*, *T. monococcum*, *Ae. speltoides*, *Ae. tauschii*, *Secale cereale*, *Oryza sativa* (Zhang et al. 2005; Yu et al. 2004; Gupta et al. 2003; Sourdille et al. 2001; Guyomarc'h et al. 2002a, b).

A *T. timopheevii*-n is végeztek az SSR és EST-SSR markerek konvertálhatóságával kapcsolatos vizsgálatot: Salina et al. (2006) a búzáról a *T. timopheevii*-re konvertálható markerekkel az A¹A¹GG genomtérképet készítették el. Dobrovolskaya et al. (2009) szerint az EST-SSR markerek búzáról *T. timopheevii*-re való konvertálhatósága jóval eredményesebb, mint az SSR markereké, aminek oka lehet, hogy a konzervatív kódoló régiókban helyezkednek el. Nagyobb előfordulásuk okán az SSR markerek az EST-SSR markerekhez képest sokkal több genetikai különbséget fednek fel (Dobrovolskaya et al. 2009; Yu et al. 2004; Gupta et al. 2003; Gordeeva et al. 2009). Azok a markerek, amelyek csak a búzában amplifikálódnak és a *T. timopheevii*-ben nem, a hibrid genotípusokban null-alléleként használhatók, tehát így is értékelhető eredményt adnak (Leonova et al. 2002). Az SSR markerek az introgressziós vonalak vizsgálatára az EST-SSR markerek előretörése ellenére továbbra is sikeres.

2.4.2. *In situ* hibridizáció (ISH)

A hatvanas évek végén kifejlesztett *in situ* hibridizációs technika (Gall és Pardue 1969; John et al. 1969) lehetővé tette a gének illetve DNS szekvenciák tanulmányozását citológiai preparátumokon. Különböző változatai (pl. FISH és GISH) alkalmasak az egyes faj- és nemzetségkeresztezések növényhibridjeinek és azok utódainak vizsgálatára. Alkalmazásuk során azonosítható az idegen kromoszómarész beépülésének pontos helye, valamint a transzlokációs töréspontok meghatározása is segíthet megállapítani az integrálódott kromatin nagyságát. Az idegen transzlokációk azonosítására és jellemzésére több módszer is ismert.

Az ISH során eredetileg izotópokkal jelölt DNS próbákat alkalmaztak, amelyek ugyan igen hasznosnak bizonyultak a single-copy DNS-ek kimutatásában, de a folyamat hetekig vagy hónapokig tartott (McNeil et al. 1991). Ezen hátrányok elkerülésére dolgozták ki a nem izotópos ISH technikákat, amelyeket eleinte csak a politén kromoszómák repetitív DNS szekvenciáinak kimutatására alkalmaztak (Langer-Safer et al. 1982; Manuelidis et al. 1982), de azután a technika érzékenységét jelentősen megnövelték. A nem izotópos *in situ* technikákat növényi kromoszómákon először Rayburn és Gill alkalmazta (1985). Kezdetben a hibridizációs részek detektálására enzimátikus riporter molekulákat használtak, később a fluorokrómok használata terjedt el (Pinkel et al. 1986). A fluorokrómok alkalmazása megnyitotta az utat a multicolor FISH előtt, amivel az egyes kromoszómák azonosíthatók és a különböző szekvenciák fizikai térképezése is lehetővé válik (Leitch et al. 1992; Mukai et al. 1993; Jiang és Gill 1994a). Az ISH technika egyik figyelemreméltó típusa a GISH, azaz a genomi *in situ* hibridizáció volt. A GISH kiválóan alkalmas arra is, hogy introgressziós illetve addíciós vonalakban azonosítható legyen az idegen fajból származó kromoszóma jelenléte (Lapitan et al. 1986; Molnár-Láng et al. 2000a, b, 2002; D. Nagy et al. 2002; Sutka 2004; Szakács és Molnár-Láng 2007, 2010; Sepsi et al. 2008; Badaeva et al. 2010). A FISH alkalmazásával lehetővé válik az egyes kromoszómák elkülönítése valamint a fajtákra jellemző hibridizációs mintázatok közötti polimorfizmusok kimutatása. A búzával rokon vad növényfajok, így a *T. timopheevii* kromoszómák kariotípusa is meghatározható sávozásos és ISH módszerekkel.

2.4.2.1. A genomi *in situ* hibridizáció (GISH)

A GISH során a poliploid fajok egyik szülőjének teljes genomi DNS-ét jelölik próbaként, a másik szülő jelöletlen DNS-ét pedig blokkolóként használják a nem-specifikus hibridizáció

kizárása érdekében (Durnam et al. 1985; Schwarzscher et al. 1989; Le et al. 1989). A GISH technika igen érzékeny a blokkoló valamint a próba DNS minőségére, méretére illetve annak jelölési módszerére (random priming, nick-transzláció stb.). A GISH alkalmazásának határt szab a két megkülönböztetendő genom közötti homológia valamint a transzlokálódott szegmentum mérete (Lukaszewski et al. 2005). Ha a két genom túl közeli rokonságban áll egymással, akkor megkülönböztetésük nehezebbé válik.

A genomi *in situ* hibridizáció (GISH) segítségével láthatóvá válnak az egyes homológ csoportokhoz tartozó kromoszómák, illetve hibrid növények genomjában a különböző fajokhoz és nemzetségekhez tartozó kromoszómák. A búzával rokon fajokból származó idegen kromoszómát hordozó introgressziós vonalak is jól vizsgálhatók GISH-sel (Friebe és Gill 1994; Jiang és Gill 1994a, b; Le et al. 1989; Schwarzscher et al. 1989, 1992; Chhuneja et al. 2008). A GISH és a FISH együttes alkalmazása lehetővé teszi az egyes transzlokálódott kromoszóma-fragmentek azonosítását, méreteinek meghatározását (Friebe et al. 1991, 1992, 1993; Jiang et al. 1993, Jiang és Gill 1994a, Molnár-Láng et al. 2000). Emellett a transzlokációs töréspontok is meghatározhatók (Le et al. 1989; Ananthawat-Johnsson et al. 1990; Heslop-Harrison et al. 1990; Friebe et al. 1992; Mukai et al. 1993).

2.4.2.2. A sávozásos technikáktól a fluoreszcens *in situ* hibridizációig (FISH)

A növényi illetve állati kromoszómák mindegyike nem azonosítható egyértelműen csupán a morfológiai jellemzők alapján. Különböző módszereket dolgoztak ki azért, hogy minden egyes kromoszómát, majd a későbbiekben kromoszóma aberrációt a lehető legpontosabban ismerjenek fel. Caspersson et al. (1968) növényi és állati kromoszóma preparátumokat festettek meg kinakrin mustárral. A preparátumon ezután ultraibolya fényben világos és sötét sávokat tudtak elkülöníteni (Q-sávok). Később Gall és Pardue (1969) megfigyelte, hogy a kontrasztfestékként alkalmazott Giemsa festék a kromoszómák denaturációja majd renaturációja során a centroméra közelében intenzíven festődő sávok jelentek meg. A C-sávozást először állati szomatikus kromoszómákra dolgozták ki (Pardue és Gall 1970; Arrighi és Hsu 1971). Növényekre később kezdték el alkalmazni (Natarajan és Natarajan 1972; Vosa és Marchi 1972; Schweizer 1973). A Giemsa festési eljárásokat a búzán és annak rokon fajain ezekből a tapasztalatokból kiindulva dolgozták ki (Gill és Kimber, 1974 a,b,c). A különböző sávozási technikák közül (C-, N-, F-, G-, Hy-, Re-, AgNOR) a C- és az N-sávozás terjedt el. A C-sávozáskor a konstitutív heterokromatinok válnak láthatóvá, míg az N-sávozáskor a nukleusz organizáló régiók. Gerlach (1977) N-sávozással a 21 búza kromoszómapárból 9-et tudott azonosítani (4A, 7A és az összes B-genom kromoszóma)

emellett az A és D-genom donor fajait is vizsgálta. Az N-sávozással lehetővé vált a rozs transzlokációk kimutatása búza háttérben (Rayburn és Carver 1988). A specifikus sávmintázat alapján lehetővé vált az egyes kromoszómák azonosítása (Friebe et al. 1996). A C-sávozási módszereket a gabonafélék közül a rozson, tritikálén és búzán használták (Sarma és Natarajan 1973; Verma és Rees 1974; Vosa 1973, Gill és Kimber 1974a,b, Hadlaczký és Belea 1975), később pedig az egy fajon belüli polimorfizmust is vizsgálták ezzel a módszerrel (Friebe és Gill 1994; Dedkova et al. 2004). Transzlokációk azonosítására is alkalmazták a C-sávozást (Gill és Kimber 1977). A C-sávozás egyik nagy hátránya volt az, hogy a konstitutív heterokromatint festi – emiatt a különböző fajok, nemzetségek nagyfokú genetikai különbözőségük ellenére azonosnak tűnhetnek. Habár az egyes kromoszómák elkülöníthetőek voltak, az egyes nemzetségek vagy magasabb rendszertani kategóriák között már nehéz volt különbségeket találni. Másodsorban, nem mindegyik gabonaféle mutat sötétén festődő, könnyen elkülöníthető C-sávokat (Rayburn és Gill 1986). Újabb technika bevezetésére volt szükség, ezért napjainkra az *in situ* hibridizációs technikák használata terjedt el. Az első ilyen módszer még izotópok használatán alapult (Gall és Pardue 1969, John et al. 1969). E módszerrel May és Wray (1990) 1BL.1RS búza-rozs transzlokációt mutatott ki radioaktív próbákkal DNS nitrocellulóz membránon.

Az *in situ* hibridizáció fejlődése során a hosszadalmas és veszélyes radioaktív jelölési technikákat felváltotta a biotinnal jelölt próbák alkalmazása (Rayburn és Gill 1985). Ettől kezdve búzában is biotinilált repetitív DNS próbákat használtak kromoszóma és genom azonosításra illetve a búza és rokonai meghatározott szekvenciáinak fizikai térképezésére úgy, hogy jelölt DNS vagy RNS szekvenciát (próbát) hibridizálnak a kérdéses biológiai preparátum DNS vagy RNS molekuláihoz (Rayburn és Gill 1985, 1987; Lapitan et al. 1986; McIntyre et al. 1990; Mukai et al. 1991; Le és Armstrong 1991; Friebe et al. 1991). A repetitív DNS szekvenciákat [(GAA)₇, pSc119.2, Afa-family, pTa71 stb.] próbaként alkalmazva a FISH eredményeként az egyes kromoszómákon specifikus mintázat jelenik meg, amelyek alapján a kromoszómák azonosíthatók (Rayburn és Gill 1985, Leitch és Heslop-Harrison 1992; Mukai et al. 1993).

A D-genomra specifikus – de egyes A-kromoszómákon is jelet adó - Afa-family próba számos *Triticeae* fajban jelen van (Nagaki et al. 1995). A (GAA)₇ trinukleotidokból álló DNS szekvencia, ami nagyrészt a B-genomhoz kötődik, bár jelet ad az A és a D-genom kromoszómáin is (Dennis et al. 1980; Pedersen et al. 1996; Pedersen és Langridge 1997). A pSc119.2 próbát a rozból izolálták és a B-genomhoz, valamint néhány A és D-genomhoz is hibridizál (Bedbrook et al. 1980; McIntyre et al. 1990; Mukai et al. 1993). A pTa71 klón, ami a 18S·58S·26S riboszómális RNS szekvencia ismétlődéseit tartalmazza (Gerlach és Bedbrook 1979), leginkább a szatellites kromoszómák NOR régiójához hibridizál. Rayburn és Gill (1985) biotinnal jelölt

pSc119.2 repetitív DNS próbákat használt metafázisban levő búzakromoszómákon. A B-genomon valamint a 4A, 2D, 3D és 5D kromoszómán észleltek hibridizációt. Pedersen és Langridge (1997) a hexaploid búza összes kromoszómáját azonosítani tudta a pAs1 és az árpából klónozott pHvG38 próba segítségével. A hexaploid búza D-genomjának kromoszómáit az *Ae. tauschii*-ből izolált pAs1 próbával lehet azonosítani (Rayburn és Gill 1986). A megfelelő próbák kombinálásával mind a 21 pár búza kromoszóma azonosítható (Pedersen és Langridge 1997; Molnár et al. 2007). Több, a búzával közeli vagy távolabbi rokon faj FISH kariotípusát leírták már (Badaeva et al. 1991, 1994a; Jiang és Gill 1994a; Pedersen et al. 1996; Linc et al. 1999; Iqbal et al. 2000; Brasileiro-Vidal et al. 2003; Prieto et al. 2004; Schneider et al. 2005).

2.4.3. *T. timopheevii* faj kromoszómáin végzett citogenetikai vizsgálatok

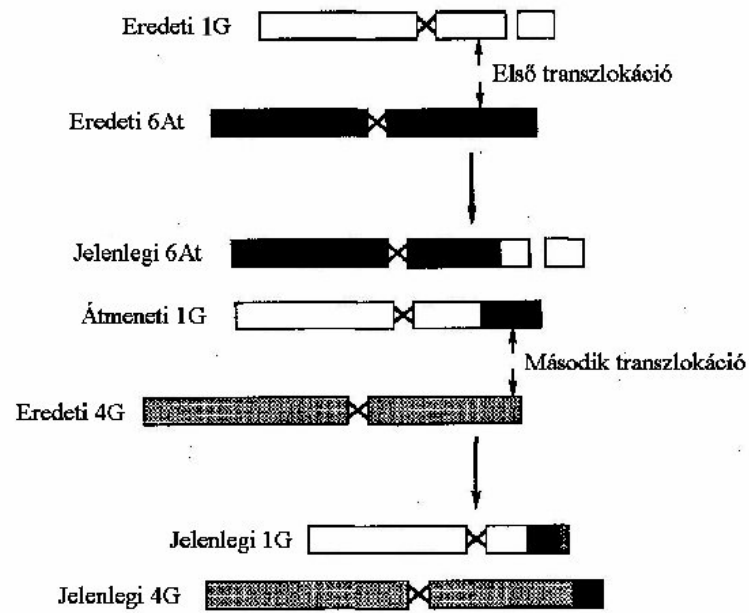
A *T. timopheevii* és a vele rokon búzafélék, valamint a *T. timopheevii* $\times$ *T. aestivum* hibridek utódai kariotípusának vizsgálatát a Giemsa festési eljárásokkal kezdték vizsgálni, ezen belül is az N-sávozás (Gill és Chen, 1987) illetve a C-sávozás módszereit alkalmazták (Zurabishvili et al. 1978; Belea és Fejér 1980; Hutchinson és Miller 1982; Badaeva et al. 1986, 1991, 1994a, 1995a, 2000, 2010). A Giemsa festési eljárások után Jiang és Gill (1994b) az N-sávozás mellett a GISH-t és a FISH-t alkalmazták a *T. timopheevii* kromoszómák azonosítására és az átrendeződések vizsgálatára. E megfigyelések alapján a B és a G-genom kromoszómái különböznek egymástól a heterokromatikus struktúra illetve a transzlokációk tekintetében (Feldman 1966; Hutchinson és Miller 1982; Gill és Chen 1987). Kiderült, hogy a *Poaceae* családban kétféle spontán transzlokáció típus létezik: az egyik a különböző populációkban különböző kromoszómák között végbemenő random, a másik pedig fajspecifikus, amely az adott fajon belül mindegyik populációban ugyanazon kromoszómák között megy végbe. Rodríguez et al. szerint (2000) egy harmadik típusú, ún. „szupraspecifikus” transzlokációról is beszélhetünk, amikor is ugyanazok a transzlokációk az azonos ősektől való öröklés miatt más-más fajoknál is megfigyelhetők.

A búzával rokon vad fajokban igen gyakran fordulnak elő a kromoszómák közötti átrendeződések. A tönke búzában és a kenyérbúzában közös a 4AL-5AL-7BS ciklikus transzlokáció, amely még a *T. urartu*-ból öröklődött (Naranjo et al. 1987; Naranjo 1990; Liu et al. 1992). Ugyanez megtalálható a *T. timopheevii*-ben is, legalábbis az rRNS génlókuszok elhelyezkedéséből következően (Jiang és Gill 1994c). A *T. timopheevii*-re jellemző fajspecifikus transzlokáció tulajdonképpen egy 4 transzlokációs lépésből álló ciklikus transzlokáció. Ennek első lépését Gill és Chen (1987) írta le. E közlemény szerint a *T. timopheevii* 4A^t és 3A^t

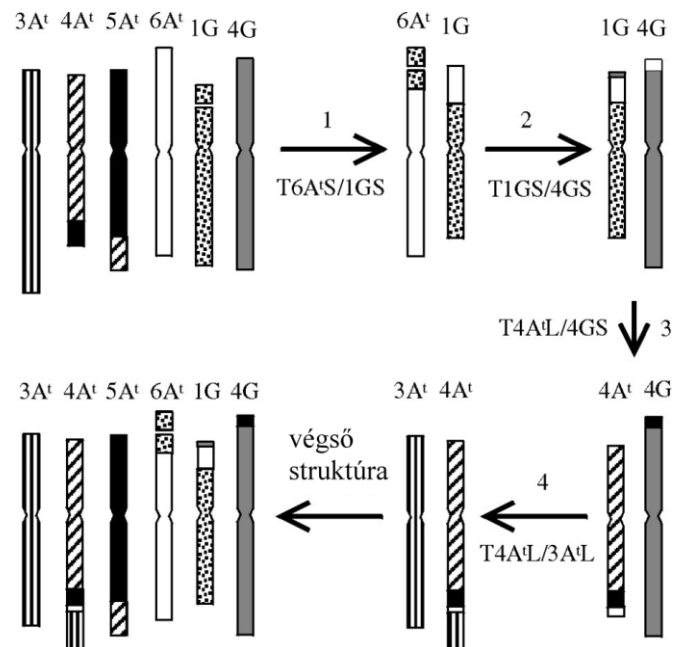
kromoszómája reciprok transzlokációban vesz részt illetve a $2A^t$, 1G, 2G és 5G kromoszóma transzlokálódik. Később a *T. timopheevii* fajspecifikus ciklikus transzlokációs folyamata tisztázottá vált az *in situ* hibridizációs módszerek alkalmazásával (Jiang és Gill 1994a; Badaeva et al. 1994a; Maestra és Naranjo 1999; Rodríguez et al. 2000). A ciklikus transzlokáció elmélete szerint az első reciprok transzlokáció az eredeti, még szatellites 1G és $6A^t$ kromoszóma között történt. Ennek eredményeképpen a jelenlegi $6A^t$ kromoszóma lett szatellites, az átmeneti 1G kromoszóma pedig a $6A^t$ egy kis darabját hordozta. A második transzlokáció eredményeként a jelenlegi 4G kromoszóma $6A^t$ szegmentumot hordoz a rövid karon, a jelenlegi 1G pedig a rövid karon intersticiálisan a $6A^t$ egy átépült részét, a terminális végen pedig egy kicsiny 4G kromoszóma-szegmentumot hordoz (2. ábra).

Rodríguez et al. (2000) szerint ebbe a ciklikus transzlokációs folyamatba kapcsolódik még a *T. urartu*-tól örökölt 4AL-5AL transzlokáció is. Ennek alapján a 4GS-5 A^tL -3 A^tL kromoszómák közötti transzlokáció útján a végleges 4G kromoszóma rövid karjának terminális végére az $5A^t$ kromoszóma kicsiny része épül át. A $4A^t$ kromoszóma hosszú karjának terminális részén az eredeti $6A^t$ kromoszóma egy darabja, a szubterminális részén a 4G és az $5A^t$ egy kicsi kromoszómarésze van (3. ábra). Ez a ciklikus transzlokáció az eddig vizsgált *T. araraticum* és *T. timopheevii* tételekben megtalálható volt, de ezen kívül előfordulnak még más transzlokációk is (Badaeva et al. 1994a; Maestra és Naranjo 1999; Rodríguez et al. 2000). A *T. araraticum*-ban még több transzlokációt azonosítottak már, ami összefüggésben lehet annak igen nagy genetikai diverzitásával is, szemben a termesztett *T. timopheevii*-vel, amelyre nem jellemző ez a genetikai változatosság még az alfajok ill. változatok között sem (Badaeva et al. 1994a, 1994b; Badaeva et al. 1995a).

Irodalmi áttekintés



2. ábra. A *T. timopheevii* fajspecifikus első intergenomikus ciklikus transzlokációja Jiang és Gill (1994a) nyomán.



3. ábra. A *T. timopheevii* fajspecifikus kromoszóma-átépülései Rodríguez et al. (2000) nyomán.

2.4.4. Búza tartalékfehérjék, mint biokémiai markerek

A búza endospermium fő fehérjéi a prolaminok, amelyek további csoportokra oszthatók: a gliadinokra és a gluteninekre. A gliadinok monomer, a gluteninek polimer szerkezetű fehérjék. A gliadin komponenseket eltérő elektroforetikus mozgékonyaságuk alapján α -, β -, γ - és ω -gliadinoknak nevezték el (Jones et al. 1959). Később Woychik et al. (1961) ezt a 4 csoportot megkülönböztették úgy is, mint gél elektroforézissel kapott speciális sávokat, amelyeket 4 csoportba lehetett sorolni. A γ - és ω -gliadinokat kódoló gének 3 lókuszon helyezkednek el, ezek a Gli-A1 (1A kromoszóma rövid karján), Gli-B1 (1B kromoszóma rövid karján) és Gli-D1 (1D kromoszóma rövid karján). Az α - és β -gliadinokat kódoló gének szintén 3 lókuszon találhatóak: Gli-A2 (6AS), Gli-B2 (6BS) és Gli-D2 (6DS). Mivel a gliadinok jelentős heterogenitást mutatnak és a gliadinösszetétel fajtára ill. fajra jellemző mintázatot ad, ezek a tartalékfehérjék alkalmazhatók búzafajták azonosítására, idegen fajokból származó kromoszómák kimutatására (Hajósné Novák 1999, Gupta és Shepherd 1992; Obukhova et al. 2009; Brown-Guedira et al. 1996; Enno et al. 1998), valamint különleges génbanki tételek (pl. szintetikus amfiploidok) tisztaságának ellenőrzésére (Goncharov et al. 2007). A fajtaazonosításban a leggyakrabban alkalmazott elválasztástechnika az A-PAGE (savas poliakrilamid gélelektroforézis), ami a molekuláris markereknél kevésbé hatékonyan ugyan, de használható a *Triticum* és *Aegilops* fajok rokonságának feltárására is (Haider et al. 2010).

2.5. A levélrozsdá (*Puccinia triticina*), és a levélrozsdával szembeni ellenállóképesség

A termesztett búza egyik legelterjedtebb és legjelentősebb betegsége a vörös vagy más néven levélrozsdá (*Puccinia triticina* Eriks.), amely hazánkban is gyakori kórokozó. Az okozott kár mértéke a környezeti körülmények mellett függ a gazdanövény genetikailag kódolt ellenállóképességétől is. A kórokozókkal szemben rezisztens búzafajták nemesítésében a búzával rokon idegen fajokat génforrásként használva több hatékony levélrozsdá rezisztenciagént is beépítettek a búza genomjába (pl.: *Lr37* – *Ae. ventricosa*; *Lr35* – *Ae. speltoides*; *Lr19*, *Lr24*, *Lr29* – *Agropyron elongatum*; *Lr9* – *Ae. umbellulata*). A tartós rezisztencia kialakítását nem kizárólagosan a rasszspecifikus géneket tartalmazó fajták jelenthetik, hiszen az ilyen géneket hordozó fajták nagy területen való termesztése néhány éven belül virulens rozsdarasszok felszaporodását válthatja ki (Seyfarth et al. 2000; Spielmeyer et al. 2005; Ayliffe et al. 2008). A rasszspecifikus/monogenikus rezisztenciagének mellett a nem rasszspecifikus védelmet adó, ún. lassú rozsdásodást előidéző gének vizsgálata is a kutatások előterébe került (Kolmer, 1996). Az

ilyen típusú gének által kódolt rezisztencia fenotípusos jegyei a hosszabb látens periódus, valamint az, hogy a levélfelületen kevesebb számú és kisebb méretű uredospóra telep képződik, melyek kevesebb spórát termelnek (Dyck et al. 1966). Az *Lr34* és az *Lr46* gén tartozik ebbe a csoportba (Dyck et al. 1966; Singh és Huerta-Espino 2003; Singh 1992). A levélrozsdával szembeni ellenállóképességet befolyásolják még a gének közötti interakciók, a rezisztencia genetikai háttere (Singh 1992). A rezisztenciagének egy része fiatal- és felnőttkorban is hatékony míg más részükénél a levélrozda ellenállóság kizárólag felnőtt korban manifesztálódik (APR= adult plant resistance).

A levélrozda-fertőzéssel szembeni fiataalkori, valamint jarovizáció után a felnőttkori rezisztencia üvegházban, mesterséges inokulációval sikeresen tesztelhető.

Az üvegházi mesterséges fertőzés értékelése a következő skála alapján történik (Stakman et al. 1962) :

0 – Immunis; a betegségnek nincsenek tünetei.

0; - Gyakorlatilag immunis; nincsenek uredotelepek, csak hiperszenzitív foltok.

1 – Nagyon ellenálló, igen apró és izolált rozsdatelepek éles vonalú és kiterjedt hiperszenzitív foltokkal.

2 – Ellenálló; a telepek apró vagy közepes méretűek és rendszerint a növény zöld szöveteivel körülvéve, szigetszerűen helyezkednek el. A zöld szigeteket klorotikus vagy elhalt szövetek veszik körbe.

3 – Mérsékelten fogékony; a telepek közepes méretűek, általában egymástól külön helyezkednek el. Nincsenek elhalt szövetek, előfordulhatnak klorotikus részek.

4 – Fogékony; számos nagy és összefüggő uredotelep, nincsenek elhalt szövetek. Klorózis csak kedvezőtlen körülmények között fordul elő.

X – Heterogén reakció; különböző méretű telepek jelennek egy levélen, több

reakciótípus

látható

egyszerre.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Növényi anyagok

- *T. timopheevii* /*T. aestivum* 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”)

Az „AMP12” búzatörzs a Fleischmann-481/*Triticum timopheevii* amfiploid Mironovszkaja-808 és Mv14 búzafajtával visszakeresztett 42 kromoszómaszámú, lisztharmattal és levélrozsdával szemben rezisztens utóda (Belea 1986).

- *T. timopheevii* genotípusok

Vizsgálataink során 12 *T. timopheevii* genotípust használtunk a különböző kísérletekben (2. táblázat). A genotípusok a Gatersleben, a Tápiószelei és a Martonvásári Génbankokból származtak.

2. táblázat. A vizsgálatban szereplő *T. timopheevii* genotípusok.

Génbanki tétel	száma	lelőhely	típus
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. var. <i>timopheevii</i>	MvGB573	n.a.	őszi
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. var. <i>timopheevii</i>	RCAT006794	Szovjetunió	tavaszi
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. var. <i>timopheevii</i>	TRI3433	Törökország	tavaszi
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk.	TRI13159	Grúzia	őszi
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. var. <i>timopheevii</i>	TRI28646	Szovjetunió	őszi
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. var. <i>viticulosum</i> Zhuk.	TRI4362	n.a.	tavaszi
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. var. <i>timopheevii</i>	TRI3407	n.a.	tavaszi
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. var. <i>timopheevii</i>	TRI7272	Etiópia	tavaszi
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. var. <i>timopheevii</i>	TRI5352	Szovjetunió	tavaszi
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. var. <i>timopheevii</i>	TRI4349	Magyarország	őszi
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. var. <i>timopheevii</i>	TRI12751	n.a.	tavaszi
<i>Triticum timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk. var. <i>timopheevii</i>	TRI677	Szovjetunió	tavaszi

- 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × CO4 keresztezések utódai

Az „AMP12” törzs és az *Ae. speltoides*-ből származó *Ph1* szuppresszor gént hordozó, Chinese Spring alapú búzatörzs (Chinese Spring CO4) keresztezéséből kapott utódnövények.

A különböző kísérletekben az „AMP12” × CO4 keresztezés különböző nemzedékeit használtuk, ahol a CO4 a *Ph1* szuppresszor gént hordozó, Chinese Spring alapú búzatörzs. A vizsgálatokat az F₃ nemzedékben levő növényekkel kezdtük, ezek utódait, valamint egy újabb F₃ nemzedéket vizsgáltunk tovább a következő évben, melyeket összevonva **F₄ nemzedék**nek neveztük el. Az ezeket követő utódokat **F₅** majd az ez utánit **F₆ nemzedék** elnevezés alatt

vizsgáltuk tovább (4. ábra). A nemzedékek és elnevezéseik összevonására a könnyebb áttekinthetőség és követhetőség miatt volt szükség.

- Az „AMP12” és egyes martonvásári búzafajták keresztezésének utódai

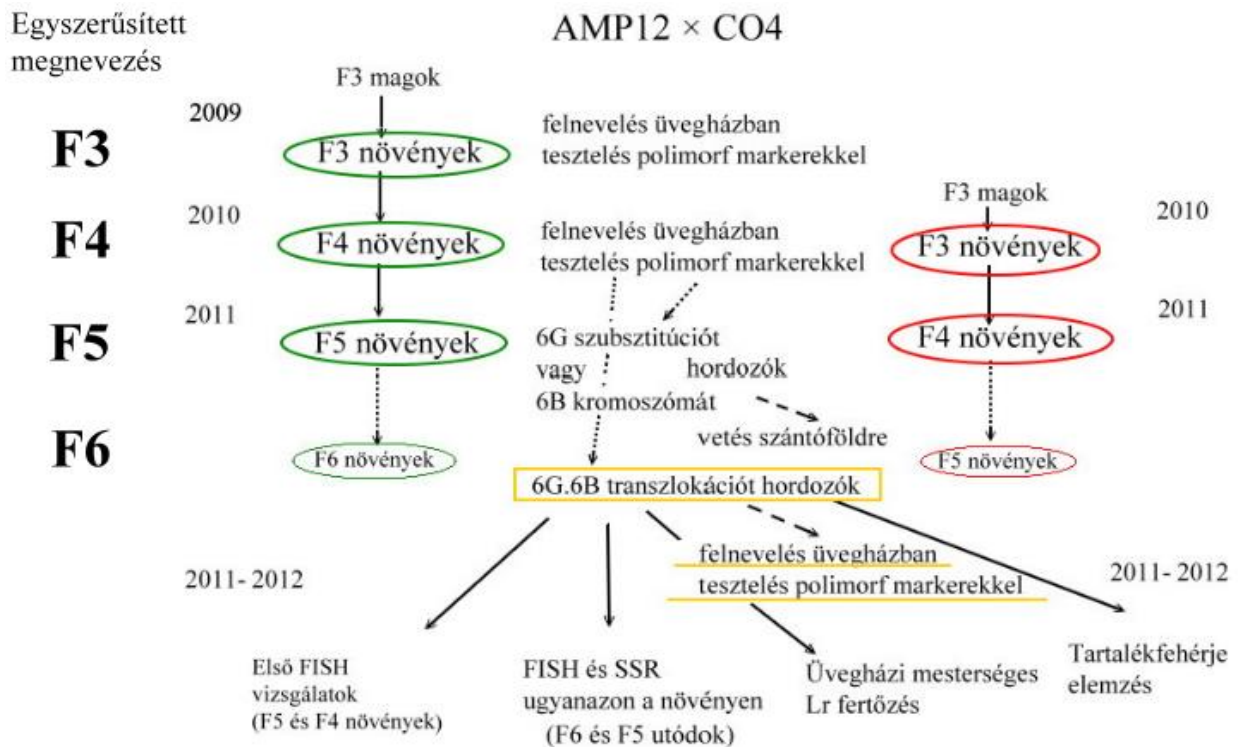
Az „AMP12” törzs és a martonvásári Mv Magdaléna, Mv Palotás, Mv27-2000, Mv Emese, Mv Csárdás, Mv9 és Mv Mezőföld búzafajták keresztezéséből kapott F₃ nemzedékű utódok vizsgálatát kezdtük el a kísérleteinkben.

- 6B nulli-tetraszóm vonalak

A Chinese Spring nulli 6B-tetra 6A és nulli 6B-tetra 6D vonalakat Prof. Adam Lukaszewski és Prof. Bernd Friebe bocsátotta a rendelkezésünkre.

- Kontroll növények

Elsősorban az „AMP12” törzs szülő fajtáit használtuk a különböző kísérletekben: Mv14, Fleischmann-481, Mironovszkaja-808, *T. timopheevii* (TRI677), *T. timopheevii* (MvGB573). Ezekén kívül a CS nulli 6B-tetra 6A, CS nulli 6B-tetra 6D vonalakat, a Chinese Spring CO4, Mv Magdaléna, Mv Palotás, Mv27-2000, Mv Emese, Mv Csárdás és Mv Mezőföld fajtákat használtuk a különböző vizsgálatok során.



4. ábra. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 utódok vizsgálatának vázlata. Az ugyanabban az évben, ugyanabba a kísérletbe vont különböző nemzedékek egyszerűsített elnevezésére a könnyebb áttekinthetőség és követhetőség miatt volt szükség.

3.2. Molekuláris markerek tesztelése

A *T. timopheevii*, az „AMP12” és a búza kontrollokon teszteltük a búza 6B kromoszómájára térképezett mikroszatellit markereket (3. táblázat).

3. táblázat. A vizsgálat során tesztelt, a 6B kromoszómára térképezett SSR markerek.

marker	T.ann. (C°)	referencia	marker	T.ann. (C°)	referencia
wmc786	61	Somers et al. 2004	barc24	53	Somers et al. 2004
wmc726	61	Somers et al. 2004	barc76	58	Somers et al. 2004
wmc397	61	Somers et al. 2004	barc146	52	Somers et al. 2004
wmc398	61	Somers et al. 2004	barc134	52	Somers et al. 2004
wmc494	51	Somers et al. 2004	barc178	52	Somers et al. 2004
wmc597	61	Somers et al. 2004	gwm644	60	Röder et al. 1998
wmc79	61	Somers et al. 2004	gwm133	60	Röder et al. 1998
wmc748	61	Somers et al. 2004	gwm132	60	Röder et al. 1998
wmc539	51	Somers et al. 2004	gwm193	60	Röder et al. 1998
wmc152	51	Somers et al. 2004	gwm191	60	Röder et al. 1998
wmc95	51	Somers et al. 2004	gwm88	60	Röder et al. 1998
wmc486	61	Somers et al. 2004	gwm219	60	Röder et al. 1998
wmc419	61	Somers et al. 2004	gwm361	60	Röder et al. 1998
wmc737	61	Somers et al. 2004	gwm508	50	Röder et al. 1998
wmc756	51	Somers et al. 2004	gwm70	60	Röder et al. 1998
wmc417	51	Somers et al. 2004	gwm518	55	Röder et al. 1998
wmc182	51	Somers et al. 2004	gwm613	60	Röder et al. 1998
wmc105	61	Somers et al. 2004	gwm626	50	Röder et al. 1998
wmc104	61	Somers et al. 2004	cf1	60	Somers et al. 2004
barc198	50	Somers et al. 2004	cf13	60	Somers et al. 2004
barc127	52	Somers et al. 2004	gdm113	55	Pestova et al. 2000

3.2.1. PCR reakciók

Teljes genomi DNS-t 14 napos növényekből izoláltunk a DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen) DNS izoláló kit használatával. Az egyes markerek megfelelő PCR körülményeinek beállításához a referenciákban leírt beállításokat vettük alapul. A PCR reakciók optimalizálását majd az SSR markerekkel végzett vizsgálatokat a Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems) készülékben végeztük.

A 13 µl mennyiségű PCR reakció oldat TE pufferben oldott 1,5 µl (20 ng/µl) genomi DNS-t tartalmazott, 2,5 µl 5 x PCR puffert, 1,5 µl mM MgCl₂-t, 0,2 µl 200 µM dNTP-t, 0,05 U Taq DNS polimerázt (Promega Corp., USA), valamint 0,15 µM mennyiséget a forward és reverse primerekből. Az oldatot steril MilliQ vízzel töltöttük 13 µl-re. A PCR ciklus lépései a következők voltak: elődenaturálás 94 °C – 3 percig, majd 45 cikluson át 94 °C - 1 perc, 54-61.5 °C - 1 perc (a primerek kapcsolódási hőmérsékletétől függően), 72 °C - 1 perc, végül 72 °C - 10 perc. A wmc486 ill. a gwm219 markerek esetében: 94 °C - 3 perc, 30 cikluson át 94 °C - 1 perc, 60 ill. 61 °C – 30 másodperc, 72 °C – 30 másodperc, és 72 °C - 10 perc. A PCR reakció termékeit 2%-os agaróz gélen választottuk el 0,5%-os TBE pufferben futtatva, a termékek méretét 100-bp DNS létra (Invitrogen) segítségével határoztuk meg. A sávok etídium-bromidos festéssel, UV fény felett váltak láthatóvá.

3.3. Citogenetikai módszerek

▪ Citológiai preparátumok készítése

A szemeket nedves szűrőpapíron csíráztattuk. A megduzzadt szemterméseket 72 órán keresztül +4 °C-on tároltuk, ezt követően 26 °C-on inkubáltuk. A csírázó szemek 1-1,5 cm-es gyökereit leszedtük és 24-26 óráig jeges vízbe helyeztük azért, hogy megakadályozzuk a metafázisos sejtek anafázisba lépését. A hidegkezelést követően 3:1 arányú abszolút etanol és jégcet keverékébe (Carnoy oldatba) helyeztük a gyökereket és 5 napon keresztül 37 °C-on inkubáltuk, majd 2 órán keresztül kármínecetsav 1%-os oldatába helyeztük. Ezután Carnoy oldatba visszahelyezve -20 °C-on tartottuk a felhasználásig. A dörzspreparátumokat a Jiang et al. (1994) által leírtakat alapul véve készítettük el.

A preparátum készítéséhez a gyökércsúcsokat levágtuk és 45%-os ecetsav oldatban a tárgylemezen szétnyomtuk. A mikroszkóp alatt ellenőrzött, megfelelő mitotikus indexszel rendelkező preparátumokról folyékony N₂-ben történt fagyasztás után lepattintottuk a fedőlemezt és kiszáritás után a felhasználásig -20 °C-on tároltuk a tárgylemezeket.

▪ A próbák jelölése

Az *in situ* hibridizációhoz teljes genomi DNS-t izoláltunk fiatal növények leveleiből fenol-kloroform alkalmazásával, a Sharp et al. (1988) által leírt módszer szerint. A GISH-hez teljes genomi DNS-t izoláltunk rozsából, *Ae. speltoides*-ből és *T. urartu*-ból. A rozs ($2n=14$, RR) és a *T. urartu* ($2n=14$, A^uA^u) DNS-t digoxigenin-11-dUTP-vel (Roche) jelöltük random priming módszerrel (Feinberg és Vogelstein 1983). Az *Ae. speltoides* Tausch. ($2n=14$, SS) DNS-t biotin-16-dUTP-vel (Roche) jelöltük szintén random priming módszerrel.

A FISH-hez a következő repetitív próbákat használtuk:

- *pSc119.2*, amely 120 bp hosszúságú, rozsából izolált repetitív szekvenciákat tartalmazó DNS szakasz (Bedbrook et al. 1980),
- *Afa family*, amely eredetileg az *Ae. squarrosa*-ból izolált pAs1 szekvencia egyik alcsaládjának klónja (Nagaki et al. 1995),
- $(GAA)_7$ trinukleotidokat tartalmazó próba (Pedersen et al. 1996),
- *pTa71*, búzából izolált 18S-5.8S-26S rDNS klón (Gerlach és Bedbrook 1979).

A multikolor FISH-hez a *pSc119.2* és *Afa-family* próbák kombinációjától függően azokat PCR segítségével amplifikáltuk és biotin-11-dUTP (Roche) vagy digoxigenin-16-dUTP (Roche) próbákkal jelöltük (Nagaki et al. 1995; Contento et al. 2005). A GAA szekvenciákat árpa (*Hordeum vulgare* L.) DNS-ből szaporítottuk fel és jelöltük kombinációtól függően a biotin-11-dUTP vagy digoxigenin-16-dUTP-vel (Vrana et al. 2000). A *pTa71* esetében minden alkalommal 50-50%-ban a biotin-11-dUTP-val és a digoxigenin-16-dUTP-vel jelöltük a felszaporított szekvenciákat.

3.3.1. Fluoreszcens *in situ* hibridizáció

A FISH-t Linc et al. (1999) leírását alapul véve végeztük el. A hibridizációt megelőzően a kiválasztott preparátumokat RN-ázzal (Sigma) kezeltük (5 µg/mL 2 x SSC-ben oldva, 37 °C, 45 perc), majd lemostuk (2 x SSC-ben, 37 °C, 2 x 5 perc) és frissen készített pepszin (Sigma-Aldrich) oldatban (1 mg/ml 10 mM HCl-ben) 37°C-on 3 percig emésztettük, majd lemostuk (2 x SSC-ben, 37 °C, 2 x 5 perc). Ezután a kromoszómákat utófixáltuk (4% paraformaldehidben, 25 °C, 10 perc), lemostuk (2 x SSC-ben, 37 °C, 2 x 5 perc). Végül a preparátumokat növekvő koncentrációjú, jéghideg etanol sorozatban dehidratáltuk (70%, 90% és 100%, 5-5 perc).

A hibridizációs keverék (preparátumonként 30 µl) 50% formamidot (100%-os), 2 x SSC-t (10%-os), 10% dextrán-szulfátot (25%-os), 0,1% SDS-t (10%-os), 40 ng jelölt próba DNS-t, 50

ng/μl blokkoló DNS-t (lazac sperma DNS) tartalmazott. A hibridizációs keveréket denaturáltuk és a kiszárított tárgylemezekre csepegtettük, ezután a kromoszómális DNS-t a hibridizációs keverékkel együtt tárgylemezzel lefedtük, és 80 °C-on denaturáltuk. A hibridizációt 37 °C-on egy éjszakán át hajtottuk végre. Másnap a tárgylemezeket 2 x SSC-ben (42 °C, 2 x 5 perc) mostuk. A biotinilált és digoxigeninnel jelölt szakaszok detektálhatósága érdekében TNB pufferben oldott 10 μg/ml streptavidin-FITC (Roche) és 10 μg/ml anti-digoxigenin-rodamin-nal (Roche) inkubáltuk a tárgylemezeket 25 percig, 37 °C-on. Az inkubálás után a lemezeket lemostuk 4 x SSC Tween-nel (37 °C, 2 x 5 perc) és kontrasztfestékként DAPI-t (2 μg/ml, Amersham) tartalmazó fakulást gátló keverékkel (Vectashield, Vector labororium) fedtük le. A FISH-t követően a preparátumokat Zeiss Axioskop-2 fluoreszcens mikroszkóppal (Zeiss, Germany) vizsgáltuk. A DAPI-val kimutatható hibridizáció Filterset 01 szűrő alkalmazásával lehetséges (Zeiss), kétsávos szűrővel (Filterset 24, Zeiss) pedig egyidőben a FITC és a Rodamin hibridizációs jelei is vizsgálhatóak. A hibridizáció eredményének képeit Spot CCD kamera (Diagnostic Instruments, USA) segítségével rögzítettük, a képeket pedig az Image-Pro Plus 5.1 szoftverrel (Media Cybernetics, USA) szerkesztettük.

3.3.2. Genomi *in situ* hibridizáció

A GISH-t a *T. timopheevii* kromoszóma preparátumokon a FISH hibridizációs jelek lemosása (4 x SSC Tween, egy éjszaka alatt) után végeztük el. Az „AMP12” törzsen külön végeztük el a FISH-t és a GISH-t is.

A GISH lépései a tárgylemezek etanolsorozatban történő lemosásáig megegyeznek a FISH-sel. Továbbiakban a Reader et al. (1994) és Molnár–Láng et al. (2000) leírásait követve kisebb változtatásokkal végeztük el a GISH-t. A hibridizációs keverék végtérfogata minden esetben 30 μl volt. Ebből 50% formamidot (100%-os), 2 x SSC-t (10%-os), 10% dextrán-szulfátot (25%-os), SDS-t (10%-os), a *T. timopheevii* preparátumok esetében 70 ng jelölt A-genom specifikus próbát (*T. urartu*) valamint a próbák mennyiségéhez képest 200 × koncentrációban blokkoló DNS-t (*Ae. speltoides*) tartalmazott a keverék. Az „AMP12” törzsek esetében teljes rozs (*Secale cereale* L.) genomi DNS-t jelöltünk digoxigenin-11-dUTP-vel. Blokkolóként genomi búza (Mv9kr1) DNS-t alkalmaztuk a jelölt próba mennyiségéhez képest 35× koncentrációban. A GISH hibridizáció eredményeit a FISH-nél használt eszközökkel vizsgáltuk, fényképeztük le és szerkesztettük.

3.4. Tartalékfehérje (gliadin) analízis egy dimenziós A-PAGE módszerrel

A gliadin analízist Jackson et al. (1996) módosított módszere alapján végezzük el. A fehérje izolálás során a búzaszemek csíra részét levágtuk, majd az endospermiumot tartalmazó részt mozsárban lisztté őröltük. Hozzáadtunk 125 µl 75% etanolt, alaposan felkevertük. Ezután 2 órán át 65 °C-os vízfürdőben extraháltuk, 5 percig 14000 rpm-en centrifugáltuk, majd a felülúszót új eppendorf csövekbe öntöttük át.

Hozzáadtunk 90 µl puffert, 5 percig vortexeltük majd 14000 rpm-en centrifugáltuk, és 7 µl mintát vittünk fel a gélre. A futtatáshoz készített oldathoz 35%-os akrilamid törzsoldatot és 0,91%-os bis-akrilamid törzsoldatot használtunk. A géloldathoz 68,6 ml akrilamid törzsoldatot, 82,4 ml bis-akrilamid törzsoldatot, 24,02 g karbamidot és 0,2 g aszkorbinsavat használtunk. Ezt 2,8 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -val, 1,5 ml jégecettel kevertük majd MilliQ vízzel 200 ml-re egészítettük ki. A katalizátor oldathoz frissen elkészített 0,7% H_2O_2 oldatot használtunk. A futtató puffer elkészítéséhez 451 ml-t használtunk az A (25%-os tejsav, NaOH-al pH 3,1-re állítva, 1000 ml-re kiegészítve) + 16 ml mennyiséget a B (7,75 g Al-laktát+50 ml 25% tejsav 100 ml-re kiegészítve) oldatból majd ezt 5000 ml-re egészítettük ki MilliQ vízzel.

A pufferhez 20 ml glicerolt és 12,5 mg pironineY-t használtunk, amelyet MilliQ vízzel 25 ml-re egészítettünk ki. Hoefer SE600 vertikális futtatókádban futtattuk a gél 10 °C-on, 10 percig 220V, 30mA 10W ellenállás mellett majd 2 óra 30 percig 550V, 70mA 38 W ellenállás mellett.

3.5. Üvegházi mesterséges rozsdafertőzés

Az üvegházi mesterséges rozsdafertőző kísérleteknél uredospóra szuszpenzióval mesterségesen fertőztük a kiválasztott genotípusokat az „AMP12” × CO4 keresztezés F_6 és F_5 nemzedékéből illetve az előzetes, molekuláris markerekkel végzett vizsgálatok eredménye alapján a 6G kromoszómát hordozó „AMP12” × Mv27-2000, „AMP12” × Mv Csárdás, „AMP12” × Mv Magdaléna, „AMP12” × Mv Emese, „AMP12” × Mv Pálma, „AMP12” × Mv9 keresztezések F_4 nemzedékéből. Kontrollnak a Chinese Spring CO4, az „AMP12”, az Mv14 búzafajtát valamint az Mv Emese, Mv27-2000, Mv Csárdás, Mv Pálma és Mv Magdaléna fajtákat használtuk. A mesterséges inokulációhoz szükséges levélrozda fertőzőanyagot Vida Gyula és munkatársai állították elő fogékony növényeken (Alcedo őszi búzafajta). A levélrozsdát 1-2 leveles növényeken szaporították fel. A levélrozda fertőzésre való fogékonyság vizsgálatát patotípus keverékkel végeztük. A fertőzéshez használt populáció avirulens az *Lr9* és *Lr19* gént hordozó differenciáló törzseken, nyomokban fertőzte az *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*-es génű Thatcher alapú

NIL-eket és virulens 31 *Lr* génre, vagy allélre (*Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr10*, *Lr11*, *Lr12*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr18*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr22*, *Lr23*, *Lr25*, *Lr26*, *Lr30*, *Lr32*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr38*, *Lr44*).

A fertőzést két fejlődési fázisban, két ismétlésben végeztük el. Az első kísérletben 2 leveles állapotban lévő fiatal növényeket fertőztünk. A másik kísérletben a már vernalizáción (4 °C, 6 héten keresztül) átesett, Zadoks skála szerinti 13-as fejlettségű (Zadoks et al. 1974) búzanövényeken végeztük el a fertőzést. A legalsó leveleket fertőztük meg uredospóra szuszpenzióval, majd a fertőzés után 48 órára a növényeket egyenként polietilén zacskóval takartuk be a kórokozó behatolásához optimális páratartalom fenntartása érdekében. A zacskó levétele után normál páratartalmú és 22 °C hőmérsékletű üvegházi kamrában tartottuk a növényeket. A növények fertőzöttségét a 12. és 20. napon értékeltük.

Az értékelésre Stakman et al. (1962) által kidolgozott és az irodalmi áttekintésben részletesen ismertetett skálát használtuk.

3.6. Szántóföldi természetes rozsfertőződés

Az „AMP12” törzset és számos „AMP12” × Chinese Spring CO4 utódot (F_4 és F_5 nemzedék) szántóföldön vetettünk el, hogy természetes körülmények között vizsgálhassuk a levélrozsdával szembeni ellenállóképességet. Közvetlenül az „AMP12” törzs mellé, valamint az egész vizsgált blokk köré fogékony búza genotípust vetettünk. A fertőzöttség mértékét 0-4 skála alapján felvételeztük (0=rezisztens, 4= teljesen fogékony)

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

4.1. Eredmények

4.1.1. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) és szülő fajtáinak fenotípusos jellemzése

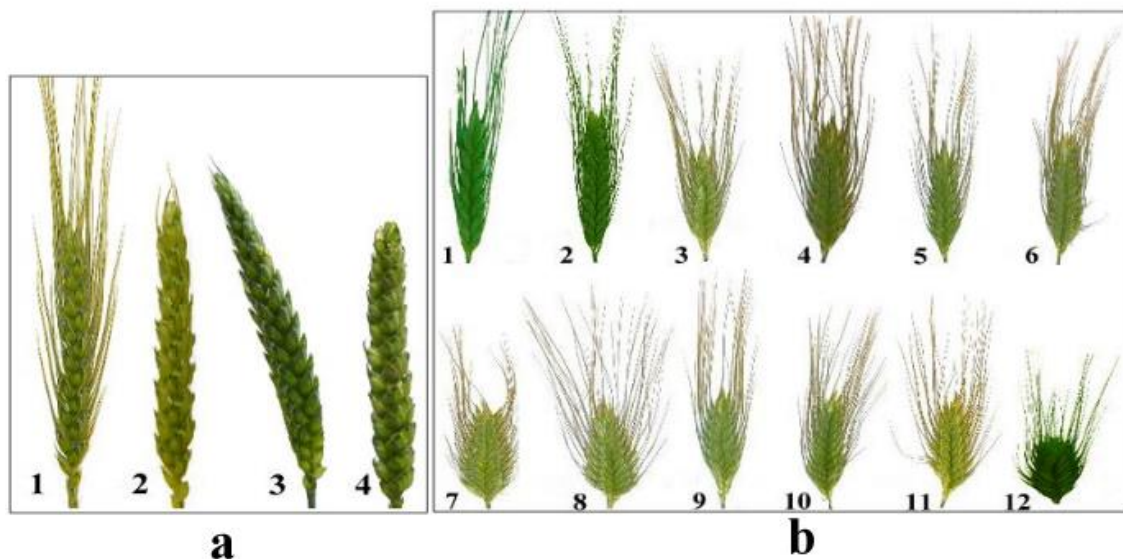
Az „AMP12” törzs kalásza jellemzően orsó alakú, közepesen tömött és a felső kalászkákon néhány rövid szálkacsonk jelenik meg (5. ábra).

Mironovszkaja-808 (MIR808): enyhén orsó alakú, közepesen vagy kevésbé tömött, a felső néhány kalászkán szálkacsonkokkal.

Fleischmann-481: hasáb alakú, kissé tömött, hosszú, legyezőszerűen szétterülő szálkával rendelkező kalász.

Mv14: hasáb alakú, tömött, tar kalász jellemzi.

Triticum timopheevii: széles, lapos kalászkák a jellemzőek igen hosszú szálkával. A kalász a vad búzafajokra jellemzően igen törékeny. Az egész növényt – különösen a levélzetet – finom szőr fedi be. A különböző földrajzi helyekről begyűjtött *T. timopheevii* genotípusok között a kalász alakjában (szélesség, hosszúság) kisebb különbségek adódhatnak (5. ábra b).



5. ábra. a: 1 – Fleischmann-481; 2 – Mironovszkaja-808; 3 – 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”); 4 – Mv14. b: 1- MvGB573 ; 2 – RCAT006794 ; 3 – TRI667; 4 – TRI12751; 5 – TRI3407; 6 – TRI13159; 7 - TRI3433; 8 - TRI4362; 9 - TRI4349; 10 - TRI5352; 11 - TRI28646; 12 - TRI7272 *T. timopheevii* genotípusok kalászáinak fényképe.

4.1.2. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) és a Chinese Spring CO4 keresztezéséből származó utódok fenotípusos jellemzése

Az „AMP12” × Chinese Spring CO4 utódok mindegyik nemzedékben igen változatos kalásztípust mutattak (6. ábra). A leggyakrabban előforduló tar kalásztípus mellett a szálcacsonkos (6. ábra. 6, 11), szálkás (6. ábra. 4), rövid szálkás (6. ábra. 9) és 2 esetben a megnyúlt pelyvalevelű („hooded” vagy „csuklyás”) (6. ábra 10.) típus is előfordult. A kalászok alakja független volt attól, hogy a növény 6G(6B) szubsztitúciót, 6B.6G transzlokációt hordozott vagy a búza 6B kromoszómáját tartalmazta. A kalászok legtöbbször az „AMP12” törzshöz hasonlóan orsó alakú (6. ábra 3) vagy a Chinese Spring típusához hasonló (6. ábra 5) formájú volt. Némelyik utód ún. „square-head” vagy bunkós kalásztípust mutatott (6. ábra 11, 15). A tömörséget illetően a legtöbb utód a közepesen tömött típusba tartozott, de előfordultak erősen tömött kalászuak is (6. ábra 12)



6. ábra. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 keresztezéséből származó F₅ nemzedék kalászeit alakja.

4.1.3. Mikroszatellit markerek polimorfizmus vizsgálata a 6B és 6G kromoszómákon

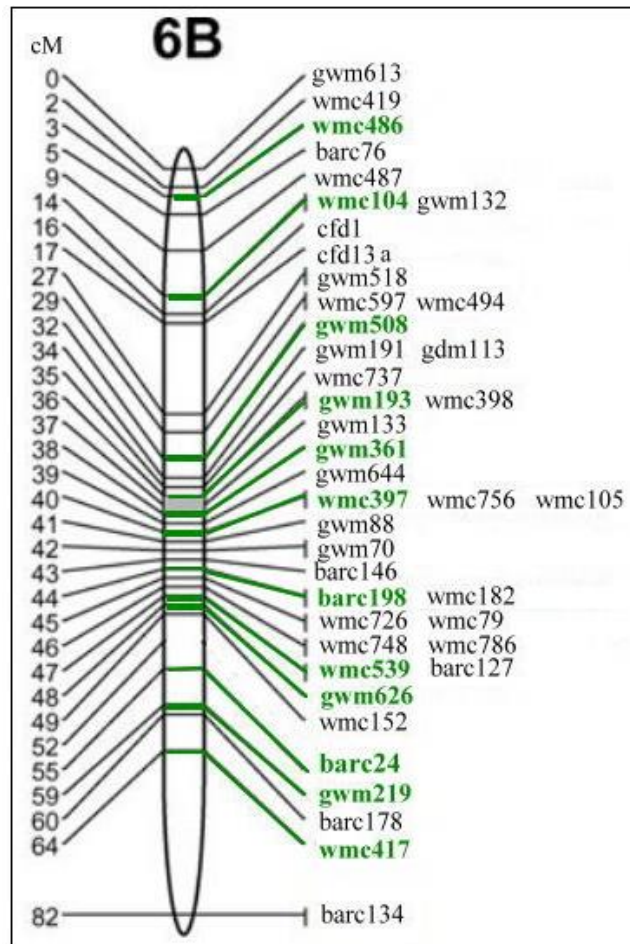
A 6G és a 6B kromoszómák közötti polimorfizmus megállapításához a 42 mikroszatellit markert az Mv14, a CO4, az „AMP12” és a Gaterslebeni (TRI 677) illetve a Tápiószelei Génbankból (RCAT006794) származó *T. timopheevii* genotípusokon teszteltük először. A PCR reakciók optimalizálása után a 42 mikroszatellit marker (7. ábra) közül 12 (wmc486, wmc104, gwm508, gwm193, gwm361, wmc397, barc198, wmc539, gwm626, barc24, gwm219, wmc417) bizonyult polimorfnak a búza 6B és a *T. timopheevii* 6G kromoszómája között (8. ábra). Ezek közül 3 markert a 6B kromoszóma rövid karjára (wmc486, wmc104, gwm508), hármat a centroméra környékére (gwm193, gwm361, wmc397), hatot (barc198, wmc539, gwm626, barc24, gwm219, wmc417) pedig a kromoszóma hosszú karjára térképeztek (7. ábra). A wmc417 esetében egyes mintáknál a 6B kromoszómára jellemző mintázat helyett (8. ábra c) a felső sáv lett igen erős és az alsó gyengébb.

A gdm113 marker ugyan polimorf termékeket adott a 6G és a 6B kromoszómák között, azonban a méretbeli különbség csak igen nehezen volt detektálható. Öt SSR marker azonos méretű terméket amplifikált a 6G kromoszómát hordozó mintákban (*T. timopheevii*, „AMP12”) és általában az irodalmi adatoknak megfelelő méretűt a 6B kromoszómát tartalmazó genotípusok mintáiban (gwm508, barc198, gwm193, gwm361, wmc417). A további 7 mikroszatellit marker (wmc486, wmc104, wmc397, wmc539, gwm626, barc24, gwm219) a 6G kromoszómát tartalmazó minták esetében nem szaporított fel terméket, tehát null-allékként volt jelen (4. táblázat).

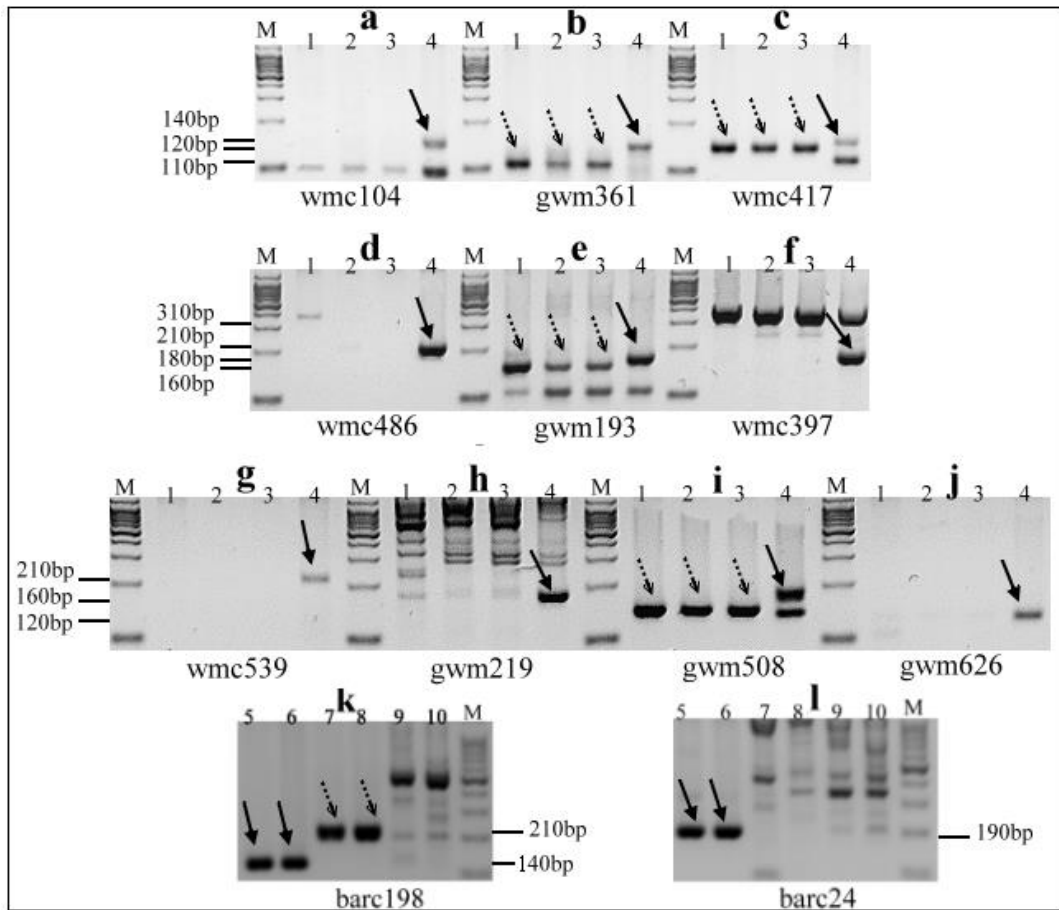
A többi markert a felszaporított termékeket tekintve 3 fő csoportba lehetett osztani:

1. Azonos méretű termékek a búza és az „AMP12” esetén, de különböző termék a *T. timopheevii* mintáknál (gwm613, barc76, wmc95, gwm191, wmc726, gwm133, wmc748, wmc786, barc127, wmc737, wmc419).
2. Különböző méretű termékek mind az Mv14, az „AMP12” és a *T. timopheevii* esetén (gwm132, cfd13a, gwm518, barc146).
3. Ugyanakkora méretű termékek az Mv14, az „AMP12” és a *T. timopheevii* mintákban (cfd1, wmc597, wmc494, wmc398, gwm644, wmc105, gwm88, wmc182, gwm70, wmc152, barc178, barc134, wmc79, wmc756).

A polimeráz láncreakciók optimalizálása során több marker esetében változtatni kellett az referenciákban feltüntetett kapcsolódási hőmérsékleten valamint a ciklus egyes lépéseinek időtartamán, ciklusszámán (4. táblázat).



7. ábra. A vizsgálat során alkalmazott mikroszatellit markerek sorrendje és elhelyezkedése a 6B kromoszómán (Somers et al. 2004 nyomán). Zöld színnel a polimorf markereket tüntettük fel.



8. ábra. A 6G és a 6B kromoszóma között polimorfizmust mutató mikroszatellit markerek gélelektroforézises képe. 1: *T. timopheevii* TRI677; 2, 3: 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”); 4: Mv14. 5: Mv14; 6: Fleischmann-481; 7: *T. timopheevii* TRI677; 8: 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”); 9: CS nulli 6B-tetra 6A; 10: CS nulli 6B-tetra 6D; M: 100bp marker. A fekete nyíl a 6B kromoszómára, a szaggatott nyíl a 6G kromoszómára specifikus sávot mutatja.

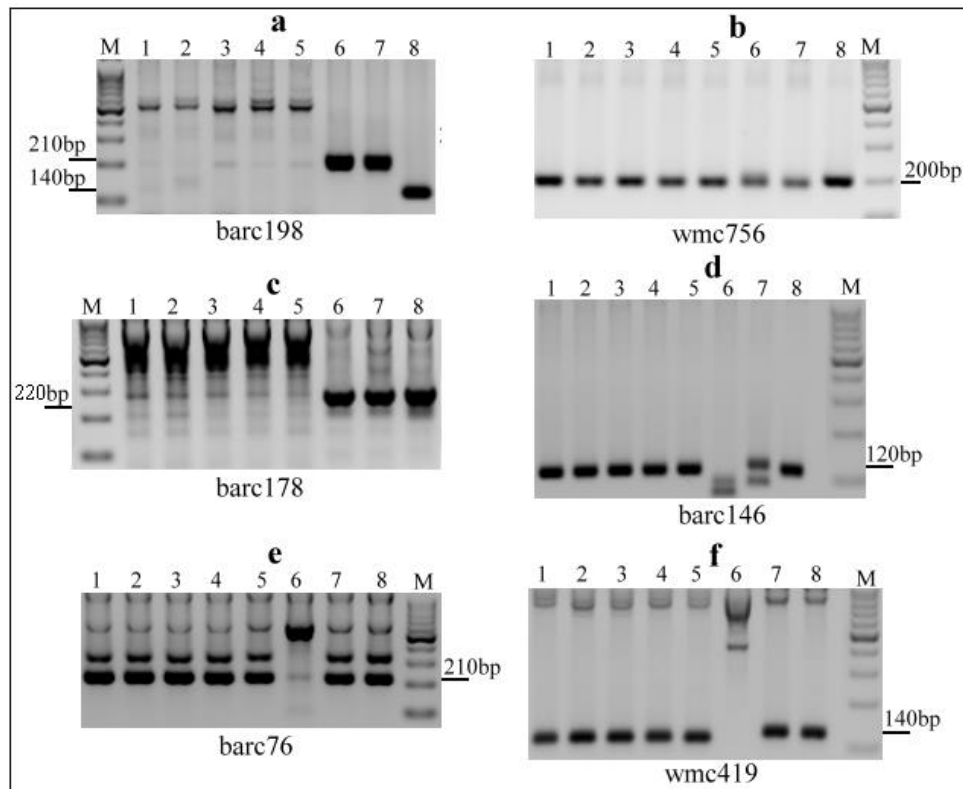
4. táblázat. A 6B kromoszómára térképezett mikroszatellit markerek PCR optimalizálása során beállított kapcsolódási hőmérséklete és a felszaporított termékek mérete.

	Marker	Elhelyezkedése a kromoszómán	Kapcsolódási hőmérséklet C°	Méret (bp) ~		
				búza	T. <i>timopheevii</i>	6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”)
1	wmc486	6BS	60	210	-	-
2	wmc104	6BS (1A)	60	140	-	-
3	gwm508	6BS	52	165	155	155
4	gwm193	CM	55	180	160	160
5	gwm361	CM	60	140	110	110
6	wmc397	CM	55	185	-	-
7	barc198	6BL	55	140	210	210
8	wmc539	6BL	55	210	-	-
9	gwm626	6BL	53	120	-	-
10	barc24	6BL	54	190	-	-
11	gwm219	6BL	53	160	-	-
12	wmc417	6BL (6A)	57	140+110	120	120
13	gwm613	6BS (4A)	61,5	450	-	450
14	barc76	6BS (7D, 2A)	56	210	-	210
15	gwm132	6BS	60	170	110	130
16	cf1	6BS (6A, 6D)	60	220	220	220
17	cf13a	6BS	60	250	200	200+250
18	wmc95	6BL (1A)	56	200	-	200
19	gdm113	6BS	55	180	175	175
20	gwm518	6BS	55	200	100	400
21	wmc597	6BS (2B)	57	250	250	250
22	wmc494	6BS	55	200	200	200
23	gwm191	6BS (1D, 2B, 3D, 5B)	61,5	150	200	150
24	wmc726	6BL	61	170	-	170
25	wmc398	CM (6A)	61	150	150	150
26	gwm133	CM (1B, 3A, 4D, 5B, 6D, 7B)	56	150	110	150
27	gwm644	CM (1B, 3B, 7B)	56	150	150	150
28	wmc756	na	61	200	200	200
29	wmc105	CM	61	250	250	250
30	gwm88	6BL (3B)	61	310	310	310
31	gwm70	6BS (3B)	61	190	190	190
32	barc146	6BL (6A, 6D)	60	150	-	160
33	wmc182	6BL (3B)	61	150	150	150
34	wmc79	6BL (4A, 3A)	61	150	150	150
35	wmc748	6BL (6D, 6A,)	61	180	110	180
36	wmc786	6BL (7A, 6A, 6D)	61	180	150	180
37	barc127	6BL (7A)	61	210	200	210
38	wmc152	6BL	54	260	260	260
39	barc178	6BL	52	220	220	220
40	wmc737	6BS	61	220	240	220
41	wmc419	6BS (1B, 4B)	61,5	150	-	150
42	barc134	6BL	57	180	180	180

4.1.3.1. A mikroszatellit markerek tesztelése 6B nulliszómás vonalakon

A 6B kromoszómára térképezett markereket 6B nulliszóm vonalakon is teszteltük abból a célból, hogy a 6B kromoszómára való specifikusságuk megállapítható legyen. A vizsgálathoz nulli 6B-tetra 6D illetve nulli 6B-tetra 6A Chinese Spring vonalakat használtunk. A nulliszómiát *in situ* hibridizációval ellenőriztük (2. melléklet). Azok a mikroszatellit markerek, amelyek polimorfnak bizonyultak a 6G és a 6B kromoszómákon, nem, vagy nem specifikus termékeket szaporítottak fel a nulliszóm vonalak mintáin. A többi mikroszatellit markert a PCR termékeknek megfelelően 5 csoportba lehetett osztani (9. ábra):

- | | |
|---|---|
| 1. Monomorf markerek (mindegyik termék azonos méretű) | wmc182, wmc79, wmc152, wmc398, wmc105, gwm88, gwm70, wmc494, gwm644, wmc597, cfd1 barc134, wmc756 |
| 2. Az Mv14, az „AMP12”, <i>T. timopheevii</i> mintákban azonos méretű termék, a nulliszóm mintákban nincs termék | barc178, wmc152 |
| 3. Az Mv14 és a nulliszóm mintákban azonos méretű termék, eltérőek az „AMP12” és a <i>T. timopheevii</i> minták termékeitől | gwm518, barc127, cfd13, barc146, gwm132 |
| 4. Az Mv14, a nulliszóm és az „AMP12” mintákban azonos, a <i>T. timopheevii</i> mintában ezektől eltérő méretű termék | wmc737, wmc726, barc76, wmc786, gwm133, wmc95, wmc748, gwm191, |
| 5. Az Mv14 és a „AMP12” mintákban azonos, a nulliszóm vonalak mintáinak termékei ettől eltérő méretűek, a <i>T. timopheevii</i> mintában nincs termék | wmc419 |



9. ábra. A nulli 6B-tetra 6A ill. nulli 6B–tetra 6D nulliszóm vonalakon tesztelt SSR markerekkel kapott mintázatok. **1, 3**: nulli 6B-tetra 6A vonal; **2, 4, 5**: nulli 6B-tetra 6D vonal; **6**: *T. timopheevii*; **7**: 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”); **8**: Mv14. **a**: a 6G és a 6B kromoszómára specifikus, polimorf mintázat; **b**: monomorf mintázat; **c**: a nulliszómokon nincs, a többi mintán azonos méretű mintázat; **d**: az Mv14 és a nulliszóm vonalak mintáiban azonos méretű termék; **e**: az Mv14, a „AMP12” és a nulliszóm vonalak mintáiban azonos méretű termék; **f**: az Mv14 és a „AMP12” mintákban azonos méretű termék, a *T. timopheevii*-ben nincs termék.

4.1.3.2. 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × CO4 utódnemzedékek elemzése mikroszatellit markerekkel

Az „AMP12” törzs és a Chinese Spring CO4 *Ph1* szuppresszor gént hordozó vonal keresztezésével lehetővé válik az „AMP12” törzs 6G és a Chinese Spring 6B kromoszómájának rekombinációja és ezáltal a 6B.6G transzlokációk indukálása. A vizsgálatot 51 db, az **F₃ nemzedék**ben levő utóddal kezdtük el. Az üvegházban elvetett és felnevelt növényeket az esetleges transzlokációk feltérképezése érdekében az előzetes vizsgálatok szerint polimorf mikroszatellit markerekkel teszteltük (3. melléklet). Ebben a nemzedékben a mikroszatellit markerekkel végzett elemzés szerint csupán három olyan genotípus volt, amely transzlokációt hordozott (20, 29 és 47 számú minta, 3. melléklet).

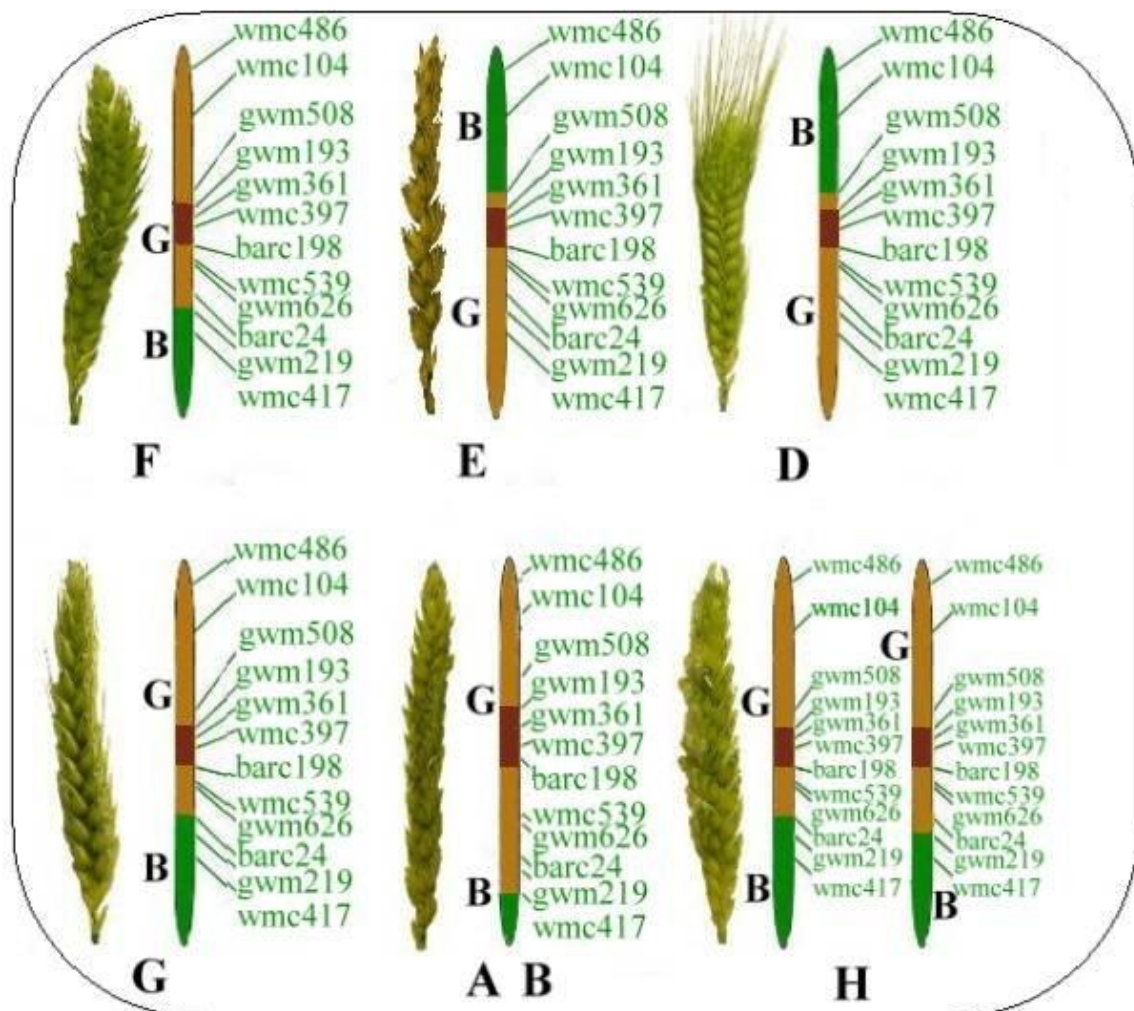
Az előzőekben tárgyalt F_3 nemzedéket követő F_4 illetve egy **újabb**, 93 szemből álló F_3 generációt vetettük el az üvegházba. E két csoport megnevezése a továbbiakban F_4 **nemzedék** lesz a könnyebb áttekinthetőség kedvéért (ld. 4. ábra). Az utódnövényeket szintén a polimorf mikroszatellit markerekkel teszteltük és kiválogattuk a markerekkel végzett vizsgálatok alapján transzlokációt tartalmazó példányokat (4. melléklet). A 165 elvetett búzaszem közül 9 hordozott transzlokációt. Ez a 9 növény háromféle transzlokáció-típust hordozott az SSR markerekkel kapott eredmények alapján (5. táblázat, 10. ábra). Az egyiknél a 6B kromoszóma-szegmentum a 6G kromoszóma hosszú karjának végére transzlokálódott (A és B), ezeknél a markerek a *T. timopheevii* 6G kromoszómájára jellemző sávot mutatták, és a wmc417 marker adott a búzára jellemző jelet. A C, D, I és E mintáknál a rövid kar egy része cserélődött ki a 6B kromoszómára. Ebben az esetben a wmc486, wmc104 és gwm508 markerek a búza 6B, a többi marker a *T. timopheevii* 6G kromoszómájára utaló mintázatokat mutatta. A harmadik típusnál (F, G, H) szintén a hosszú kar egy nagyobb darabja helyeződött át az eredeti 6G kromoszómára. Ezeknél a gwm219 és a wmc417 markerek a búza 6B kromoszómájára, a többi a *T. timopheevii* 6G kromoszómáján specifikus termékeket szaporítottak fel (5. táblázat).

5. táblázat. Az F_4 nemzedék 6B.6G transzlokációt hordozó genotípusainak polimorf mikroszatellit markerekkel feltérképezett kromoszóma-átrendeződései. A G a *T. timopheevii* 6G, a B a búza (Chinese Spring CO4) 6B kromoszómájára jellemző méretű terméket (vagy annak hiányát) jelzi. A genotípusok oszlopában a zárójeles szám a 2010-es, 6B.6G transzlokációt hordozó F_4 és F_3 generáció számát jelölik (4. melléklet), a betű transzlokációs utódok ezt követő nemzedékének (F_5 és F_4) későbbi elnevezését jelenti (5. melléklet).

Genotípus	Rövid kar			Centroméra			Hosszú kar					
	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
(77) A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B
(87) B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B
(102) C	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G
(109) D	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G
(112) E	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G
(116) F	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B
(132) G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B
(136) H	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B
(184) I	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G

Az **F₄ nemzedék** transzlokációt hordozó utódainak kalászeit izoláltuk majd a kalászutódok mindegyikét üvegházban, a transzlokációt nem tartalmazó növények magjait szántóföldi kísérletben vetettük el.

A mikroszatellit markerekkel való tesztelés után (4. melléklet) az utódok 40%-a hordozta valamelyik transzlokáció típusát. A G és H jelű mintáknál variálódik a transzlokálódott szegmentum nagysága. Az „AMP12” × CO4 keresztezés 6B.6G transzlokációt hordozó utódait (**F₅ nemzedék**, ld. 4. ábra) a polimorf mikroszatellit markerekkel teszteltük. Az A, E és F jelű utódok közül mindegyiket, míg a többi utódból csak 20-20 egyedet vizsgáltunk. A 20 egyed kiválasztása véletlenszerű volt. A 6B.6G transzlokációt hordozó utódok százalékos megjelenése a 6. táblázatban látható.



10. ábra. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × CO4 keresztezés 6B.6G transzlokációt hordozó utódai és kalászai. Az F₅ nemzedékben előforduló transzlokáció típusok. A kromoszómarajzokon a zöld rész a búzakromoszóma-szegmentumot, a barna a *T. timopheevii* kromoszómaszakaszt jelöli. F: 6GS.6GL-6BL; E: 6BS.6GS-6GL; D: 6BS.6GS-6GL; G: 6GS.6GL-6BL; B: 6GS.6GL-6BL; H: 6GS.6GL-6BL. Térkép: Somers et al. (2004) nyomán.

6. táblázat. Az F₅ nemzedékben mikroszatellit markerekkel azonosított 6B.6G transzlokációk százalékos megoszlása.

Genotípus	Transzlokációt hordozó utódok száma	Az adott genotípusokból vizsgált összes utódok száma	6B.6G transzlokációt hordozó utódok %-os aránya
(77) A	17	47	36
(87) B	15	20	75
(102) C	0	20	0
(109) D	10	20	50
(112) E	29	45	64
(116) F	24	40	60
(132) G	4	20	20
(136) H	15	20	75

A vizsgálataink során összesen 150, „AMP12” × Mv Magdaléna, „AMP12” × Mv Palotás, „AMP12” × Mv27-2000, „AMP12” × Mv Emese, „AMP12” × Mv Csárdás és „AMP12” × Mv Mezőföld fajták keresztezésből származó F₃ nemzedékű szemet is vetettünk az üvegházba. A 6B-6G kromoszómák között polimorf mikroszatellit markerekkel teszteltük, hogy a növények közül hány hordoz 6G(6B) szubsztitúciót. A 6G(6B) szubsztitúció a 7. táblázatban látható arányokban jelent meg.

7. táblázat. A 6G(6B) szubsztitúció megjelenése a 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) és több martonvásári búzafajta keresztezéséből származó F₃ nemzedékben.

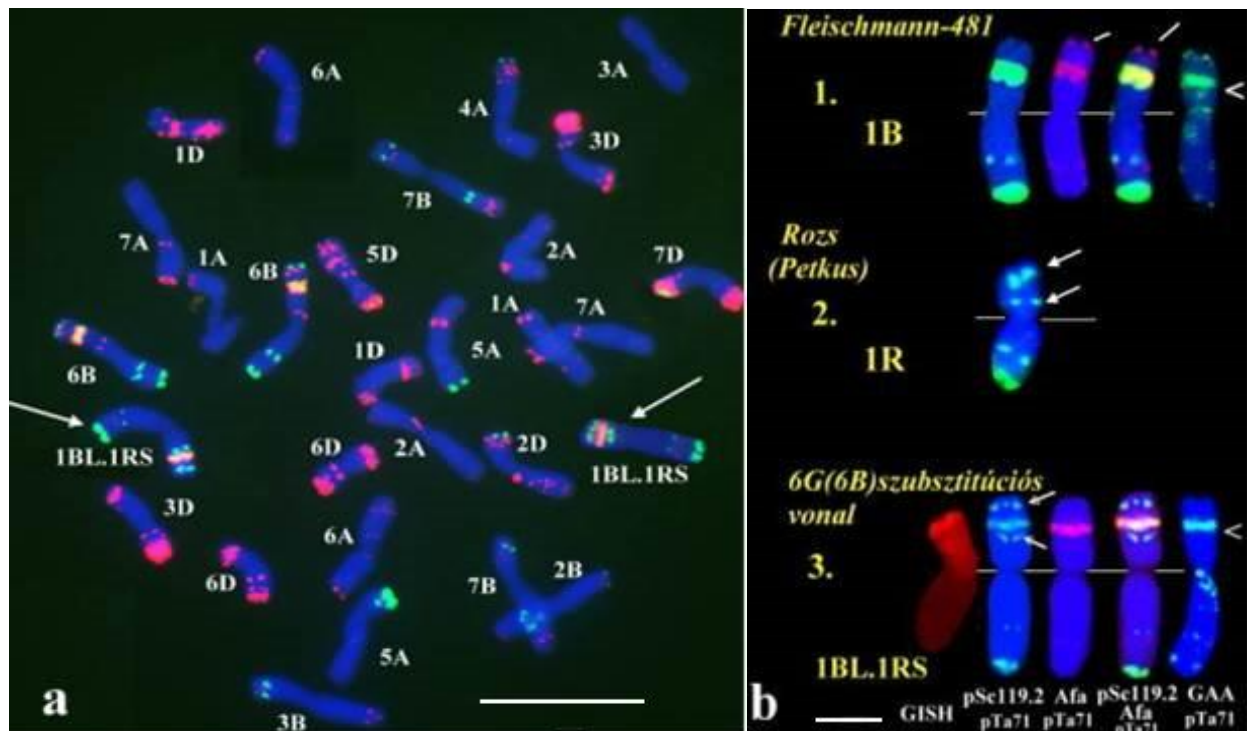
kombináció	6G(6B) szubsztitúciót hordozó utódok száma (db)	Vizsgált összes növény (db)	kombináció	6G(6B) szubsztitúciót hordozó utódok száma (db)	Vizsgált összes növény (db)
„AMP12” × Mv Csárdás	5	30	„AMP12” × Mv Pálma	3	33
„AMP12” × Mv27-2000	4	16	„AMP12” × Mv Magdaléna	7	28
„AMP12” × Mv Emese	3	15	„AMP12” × Mv Mezőföld	8	28

4.1.4. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”), az Mv14, a Fleischmann-481 búzafajta és a *T. timopheevii* citogenetikai jellemzése

Az „AMP12” kariotípusának meghatározása segít abban, hogy a 6G kromoszómát meg tudjuk különböztetni a búza 6B kromoszómájától. A különböző jelölt repetitív DNS próbákkal kapott fluoreszcens *in situ* hibridizációs mintázat az egyes kromoszómákra jellemző, így az követhető és azonosítható a későbbi nemzedékekben vagy más nemesítési alapanyagokban, valamint esetenként az előforduló egyes kromoszóma-átrendeződések is megfigyelhetők.

▪ Fleischmann-481, Mv14

A Fleischmann-481 és az Mv14 fajta FISH kariotípusát a pSc119.2, az Afa-family és a pTa71 repetitív próbával határoztuk meg Schneider et al. (2003) munkája alapján. Az Mv14 búzafajta – a Kavkaz fajta örökségként – hordozza az 1BL.1RS rozs transzlokációt (11. ábra a), amelyet gél elektroforézis vizsgálattal korábban is leírtak Bedő et al. (1993). Az 1B és az 1BL.1RS kromoszómák FISH hibridizációs mintázatai közötti különbségek a 11. ábra b képen láthatók. Az Afa-family az 1B kromoszóma rövid karjának terminális részére hibridizál (11. ábra b/1.), ami az 1BL.1RS-en nem jelenik meg. A pSc119.2 repetitív próba az 1B kromoszóma rövid karján nem ad jelet, az 1BL.1RS kromoszóma rövid karján – azaz a rozs transzlokáción – azonban jellegzetes terminális és intersticiális jelek láthatók (11. ábra b/3.). A (GAA)₇ az 1BL.1RS kromoszóma rövid karjára nem hibridizálódott, míg az 1B kromoszóma rövid karján számos (GAA)₇ jel látható.



11. ábra. (a): Az Mv14 szomatikus kromoszómáinak FISH kariotípusa (részleges sejt). A fehér nyilak jelölik az 1BL.1RS kromoszómákat. A hibridizációt pSc119.2 (zöld), Afa-family (piros) és pTa71 (sárga) repetitív próbával végeztük el. (b): A Fleischmann-481 (1) 1B, a Petkus fajtájú rozs (dr. Szakács Éva képe) (2) 1R és az „AMP12” (3) 1BL.1RS kromoszómája. A fehér vonal (1) az 1B kromoszómára jellemző Afa-family jelet mutatja, ez az 1BL.1RS-nél nem látható. A fehér nyilak a rozs 1R és a 1BL.1RS kromoszóma rövid karjának jellegzetes pSc119.2 hibridizációs jeleit mutatják. Az 1B kromoszóma rövid karján ezek nem jelennek meg. A nyílhegy a (GAA)₇ hibridizációs próba mintázatát jelöli. Látható, hogy az 1BL.1RS kromoszóma rövid karján nem hibridizált a próba.

A hibridizációt pSc119.2, (GAA)₇ (zöld), Afa-family (piros) és pTa71 (sárga) repetitív próbával végeztük el. A NOR-régióban látható sávok minden esetben a pTa71 hibridizációs jelei. Skála: 10µm

▪ *T. timopheevii* (TRI 677) FISH és GISH

A *T. timopheevii* kromoszómáinak azonosításához először FISH-t (12. ábra a) majd GISH-t (12. ábra b) alkalmaztunk ugyanazokon a tárgylemezeken. A pSc119.2, az Afa-family és a pTa71 próbával lehetővé vált a *T. timopheevii* kromoszómák azonosítása. A 6G kromoszóma a többtől könnyen elkülöníthető az erős pTa71 és pSc119.2 hibridizációs jelek alapján. A pSc119.2 próba a 6G kromoszóma rövid- és hosszú karjának terminális részére hibridizált. Afa-family jelek a 6G kromoszóma szatellitjének szubterminális részén jelentek meg (12. ábra a).

A *T. timopheevii* kariotípus pontos kidolgozásához a **(GAA)₇** repetitív próbát is felhasználtuk (13. ábra). A 6G kromoszóma centromérához közeli részén igen erős (GAA)₇ hibridizációs jelet lehetett megfigyelni, illetve mindkét kar disztális részén több diffúz jel jelent meg.

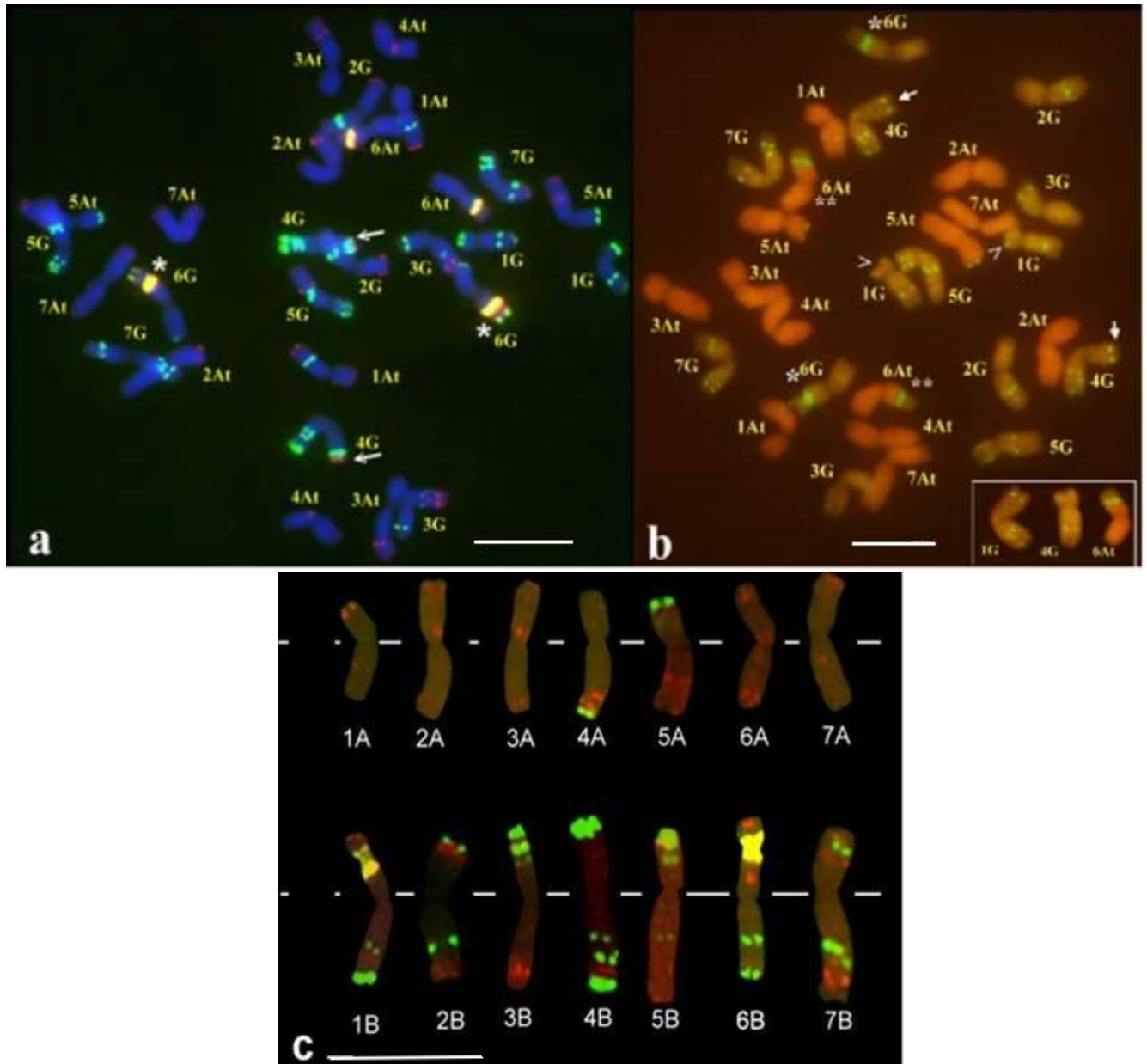
A **pSc119.2** próba leginkább a G-genomra, valamint az 1A^t és az 5A^t kromoszómára hibridizálódott. A (GAA)₇ próba szintén a G-genom kromoszómáira hibridizált és a mintázat mindegyik kromoszómán specifikus volt. Az A^t-genomot tekintve csak a 6A^t és a 7A^t kromoszómán volt látható (GAA)₇ jel.

Az **Afa-family** próba az A^t-genom kromoszómáihoz kapcsolódott illetve kisebb jeleket lehet megfigyelni egyes G-kromoszómákon is.

A 4G kromoszóma rövid karjának terminális végén egy pár igen erős Afa-family jel jelent meg.

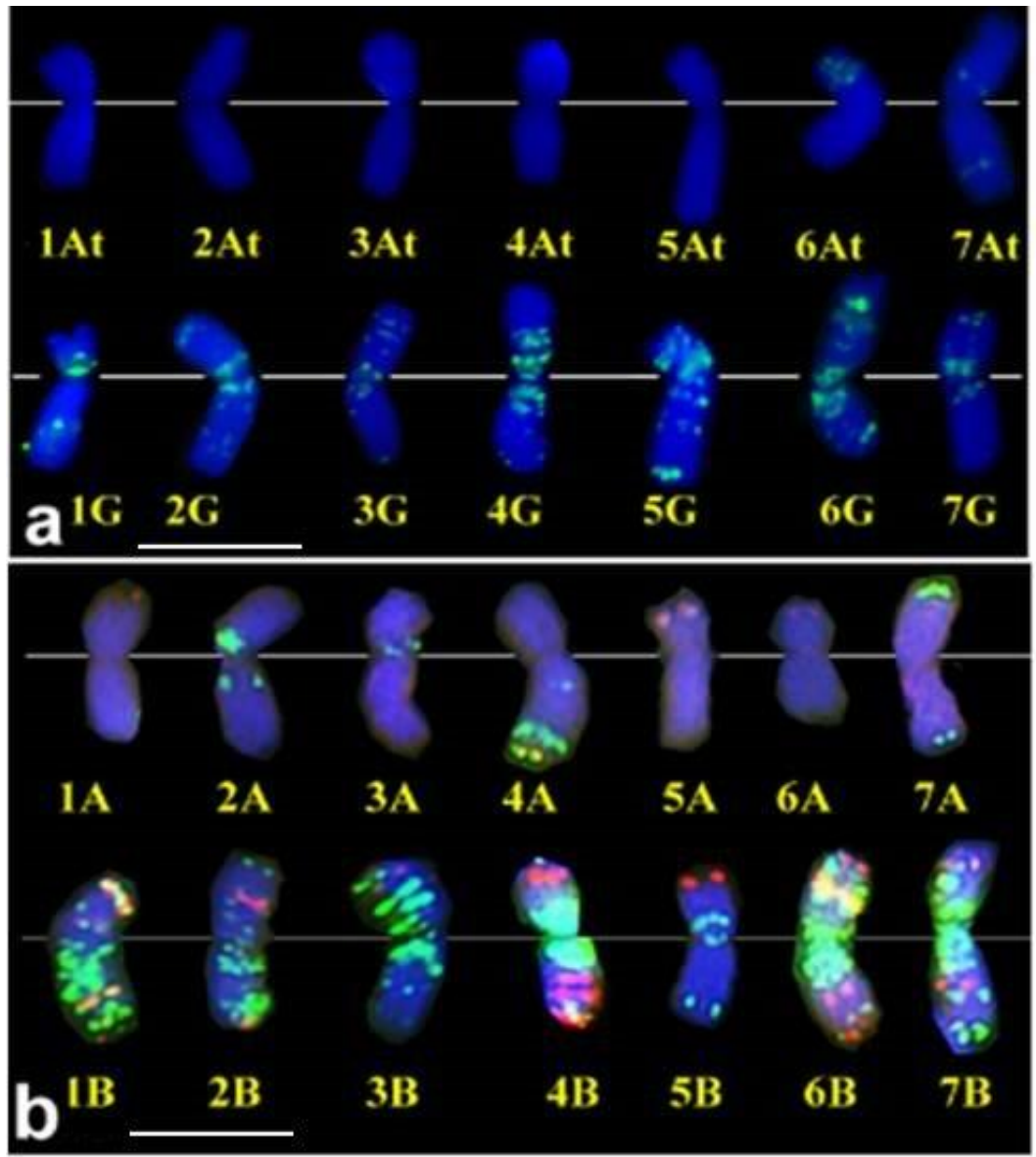
A *T. timopheevii* és a búza FISH pSc119.2, Afa-family és (GAA)₇ próbával kapott eredményeit az 8. táblázatban foglaltuk és hasonlítottuk össze.

A GISH lehetővé tette az A^t és G-genomok megkülönböztetését valamint a fajon belül előforduló transzlokációk kimutatását. A jelölt *T. urartu* DNS az A^t-genom kromoszómáihoz hibridizált, melynek eredményeképpen ezek a fluoreszcens mikroszkóp alatt piros színben váltak láthatóvá. A G-genom kromoszómái jelöletlenek, de az A^t-genomtól jól elkülöníthetők maradtak. A GISH alkalmazásával láthatóvá vált a 6A^t kromoszómára transzlokálódott 1G szegmentum. A 4G kromoszómán egy rövid 6A^t szakasz található (12. ábra b). Ezek az intergenomikus transzlokációk megerősítik a más szerzők által régebben leírt eredményeket (Jiang és Gill 1994a; Badaeva et al. 1995a; Maestra és Naranjo 1999; Rodríguez et al. 2000).



12. ábra. A *T. timopheevii* FISH (a) és GISH (b) valamint a búza (Mv9kr1) FISH (c) mintázatának képe. (a): a *T. timopheevii* 6G kromoszómákat csillaggal (*) jelöltük. A fehér nyíl a 4G kromoszómán megjelenő Afa-family jelet mutatja, ami bizonyítja a 4G kromoszóma rövid karján levő $6A^t$ transzlokációt. A repetitív próbák kombinált használatával mind a 28 kromoszóma azonosítható lett. A hibridizációt pSc119.2 (zöld), Afa-family (piros) és pTa71 (sárga) repetitív próbával végeztük el. (b): A *T. timopheevii* A^t és G-genomja GISH alkalmazásával egymástól elkülöníthető. A G-genom kromoszómái jelöletlenek maradtak, az A^t kromoszómák pedig piros színben látszanak. A csillag (*) a 6G kromoszómát jelöli. A vizsgált *T. timopheevii* genotípus hordozza a fajspecifikus $6A^t$ -1G-4G ciklikus transzlokációt, amelyben szerepel a $6A^t$ (kettős csillag), az 1G (nyílhegyek) és a 4G kromoszóma (nyilak). A jobb alsó sarokban láthatók a transzlokációt tartalmazó kromoszómák kivágott képei. (c): A közönséges búza (Mv9kr1) FISH mintázata az A és B genomon. A hibridizáció

során használt próbák: pSc119.2 (zöld), Afa-family (piros) és pTa71 (sárga). A képet Kruppa Klaudia bocsátotta rendelkezésünkre. Skála: 10 μ m



13. ábra. A *T. timopheevii* A^t és G kromoszómáinak (a) (GAA)₇, és a búza (Fleischmann-481) A és B kromoszómáinak (b) (GAA)₇ (zöld) és pSc119.2 (piros) repetitív próbával készült hibridizációs mintázata. A búza A és B kromoszómáin jóval több (GAA)₇ hibridizációs jel jelent meg. Skála: 10 μ m

8. táblázat. A *T. timopheevii* és a búza kromoszómák pSc119.2, Afa-family és (GAA)₇ próbával kapott FISH kariotípusának részletes leírása.

<i>Triticum timopheevii</i>					búza (Mv9kr1: pSc119.2, Afa-family; Fleischmann-481: (GAA) ₇)				
Kromoszóma	pSc119.2	Afa-family	(GAA) ₇		Kromoszóma	pSc119.2	Afa-family	(GAA) ₇	
1A^t	rövid kar	-	diffúz, igen gyenge jelek	-	1A	rövid kar	-	2 erős terminális jel	-
	hosszú kar	erős intersticiális jel	2 erős terminális jel	-		hosszú kar	-	Intersticiálisan 2 gyenge jel	-
2A^t	rövid kar	-	szubterminális jelek	-	2A	rövid kar	-	szubterminálisan gyenge diffúz, centroméra felett erősebb jel	erős jel a centroméra körül proximálisan
	hosszú kar	-	-	-		hosszú kar	-	-	
3A^t	rövid kar	-	-	-	3A	rövid kar	-	centroméra körül erős jel	erős jel a centroméra körül proximálisan
	hosszú kar	-	2 intersticiális jel	-		hosszú kar	-	terminálisan gyenge jelek	
4A^t	rövid kar	-	-	-	4A	rövid kar	-	-	-
	hosszú kar	-	centroméra körül erősebb jel	-		hosszú kar	terminálisan erős jel	szubterminálisan erős jelek	szubterminálisan erős jelek
5A^t	rövid kar	2 erős terminális jel	-	-	5A	rövid kar	terminálisan erős jel	-	-
	hosszú kar	-	intersticiálisan és terminálisan gyengébb jelek	-		hosszú kar	-	intersticiálisan és terminálisan gyenge jelek	-
6A^t	rövid kar	-	szubterminálisan igen gyenge jelek	erős jelek a szatelliten	6A	rövid kar	-	terminálisan nagyon gyenge diffúz jelek	-
	hosszú kar	-	-	-		hosszú kar	-	terminálisan nagyon gyenge diffúz jelek	-

8. táblázat. A *T. timopheevii* és a búza kromoszómák pSc119.2, Afa-family és (GAA)₇ próbával kapott FISH kariotípusának részletes leírása.

Őszi búza × *Triticum timopheevii* hibrid utódainak jellemzése

Eredmények és megvitatásuk

<i>Triticum timopheevii</i>					búza (Mv9kr1: pSc119.2, Afa-family; Fleischmann-481: (GAA) ₇)				
Kromoszóma		pSc119.2	Afa-family	(GAA) ₇	Kromoszóma		pSc119.2	Afa-family	(GAA) ₇
7A ^t	rövid kar	-	-	Proximálisan 2 jel	7A	rövid kar	-	-	Terminálisan erős jel
	hosszú kar	-	nagyon gyenge jelek intersticiálisan	intersticiálisan erősebb jelek		hosszú kar	-	-	Terminálisan erős jel
1G	rövid kar	terminális részen 2 erős jel	-	centroméra körül több jel	1B	rövid kar	-	gyenge terminális jelek	Diffúz jelek proximálisan
	hosszú kar	erős intersticiális és terminális jelek	-	néhány intersticiális és szubterminális jel		hosszú kar	erős intersticiális és terminális jelek	-	A kar egészén sűrűn elhelyezkedő erős jelek
2G	rövid kar	-	terminális részen néhány jel	terminális és a centroméra körül erősebb jelek	2B	rövid kar	erős terminális jel	terminális részen néhány jel	Diffúz jelek
	hosszú kar	intersticiális részen erős jel	-	centroméra körül erősebb, többi részen diffúz jelek		hosszú kar	intersticiális részen erős jel	terminális részen néhány jel	Erős jelek centroméra körül és a terminális részen
3G	rövid kar	szubterminálisan 2 erős jel	-	intersticiálisan több kis jel	3B	rövid kar	erős terminális, szubterminális, intersticiális jelek	-	Erős jelek a kar egész részén
	hosszú kar	intersticiálisan néhány kisebb jel	intersticiális és szubterminális jelek	centroméra körül több jel, gyengébbek a terminális végen		hosszú kar	-	gyenge terminális jelek	Erős jel a centroméra körül és kissé gyengébb intersticiálisan

8. táblázat. A *T. timopheevii* és a búza kromoszómák pSc119.2, Afa-family és (GAA)₇ próbával kapott FISH kariotípusának részletes leírása.

Őszi búza × *Triticum timopheevii* hibrid utódainak jellemzése

Eredmények és megvitatásuk

<i>Triticum timopheevii</i>					búza (Mv9kr1: pSc119.2, Afa-family; Fleischmann-481: (GAA) ₇)				
Kromoszóma		pSc119.2	Afa-family	(GAA) ₇	Kromoszóma		pSc119.2	Afa-family	(GAA) ₇
4G	rövid kar	terminálisan és szubterminálisan igen erős jel	terminálisan 2 erős jel	centromérától az intersticiális részig több erős jel	4B	rövid kar	terminálisan igen erős jel	-	centromérától az intersticiális részig több erős jel
	hosszú kar	igen erős intersticiális jelek jellegzetesen 2 sorban, valamint nagyon erős terminális jel	-	centromérától az intersticiális részig több erős jel, a terminális részen gyengébb jelek		hosszú kar	igen erős intersticiális jelek jellegzetesen 2 sorban, valamint nagyon erős terminális jel	nagyon gyenge szubterminális jel	centromérától az intersticiális részig több erős jel, a terminális részen gyengébb jelek
5G	rövid kar	terminális részen több jel	-	erős jelek a rövid kar minden részén	5B	rövid kar	terminális és intersticiális részen erős jelek	-	Erős jelek a centroméránál proximálisan
	hosszú kar	proximálisan 2 erős jel	intersticiális és gyengébb szubterminális jelek	proximális, intersticiális és terminális jelek		hosszú kar	intersticiális jelek	-	Erős jelek a centroméránál proximálisan valamint szubterminálisan

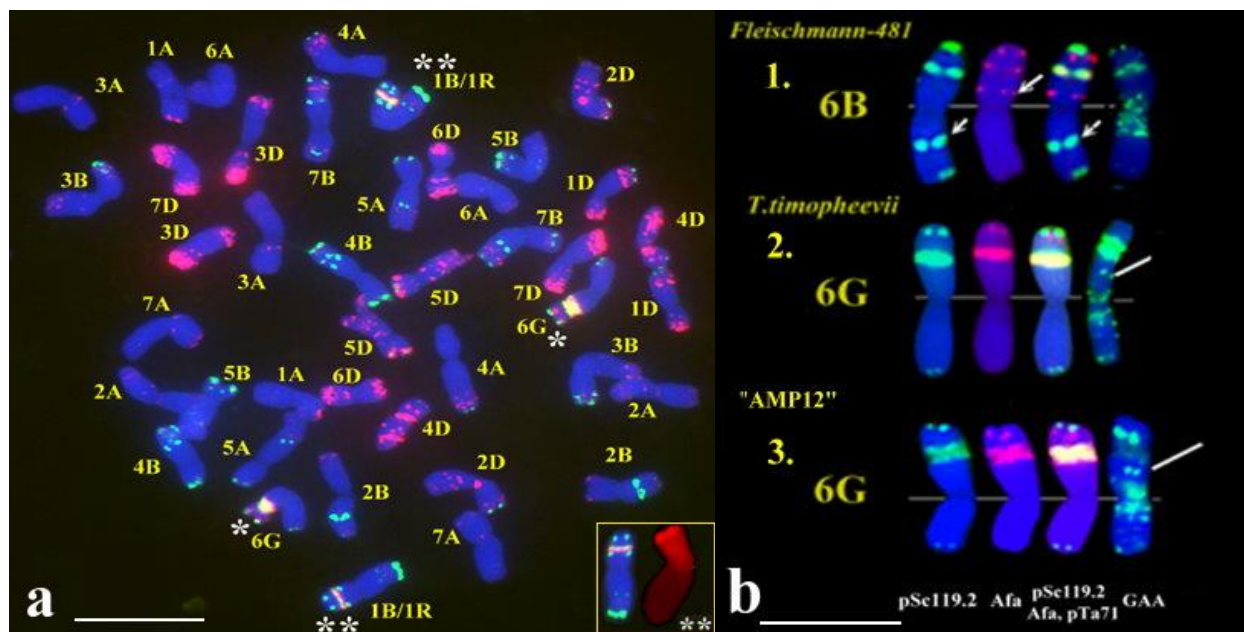
8. táblázat. A *T. timopheevii* és a búza kromoszómák pSc119.2, Afa-family és (GAA)₇ próbával kapott FISH kariotípusának részletes leírása.

<i>Triticum timopheevii</i>					búza (Mv9kr1: pSc119.2, Afa-family; Fleischmann-481: (GAA) ₇)				
Kromoszóma		pSc119.2	Afa-family	(GAA) ₇	Kromoszóma		pSc119.2	Afa-family	(GAA) ₇
6G	rövid kar	2 erős terminális jel	2 jellegzetes szubterminális jel	a szatellit terminális részén erős jel, a szatellit alatt jellegzetes kettős jel	6B	rövid kar	-	a rövid karon és a szatelliten jelek a proximális és szubterminális részen	Nagyon intenzív jelek a kar egészén, különösen a centroméra körül
	hosszú kar	2 terminális jel	-	centroméra körül igen erős jelek, intersticiálisan néhány gyengébb, terminálisan erős jelek		hosszú kar	erős intersticiális és terminális jelek	-	Nagyon intenzív jelek a kar egészén, különösen a centroméra körül, valamint gyenge szubterminális jelek
7G	rövid kar	intersticiálisan 2 erős jel	nagyon gyenge diffúz jelek	kisebb terminális jelek	7B	rövid kar	intersticiálisan 2 erős jel	terminálisan és intersticiálisan gyenge jelek	Intersticiálisan és a centroméra körül erős jelek
	hosszú kar	szubterminálisan 2 sorba rendeződött, erős jelek	-	centroméra alatti és feletti részen erősebb jelek		hosszú kar	intersticiálisan 2 erős jel	szubterminális jelek	Centroméra alatt és intersticiálisan erős jelek

▪ Az „AMP12” törzs citogenetikai jellemzése

Az „AMP12” a búza 6B kromoszómája helyett a *T. timopheevii* 6G kromoszómáját tartalmazza. A 6G kromoszómán a pSc119.2 repetitív próba a rövid- és hosszú karok terminális részén ad jelet, az Afa-family pedig a szatellitese régióban. A 6G kromoszómán a (GAA)₇ repetitív próba mintázata nagyon hasonló a *T. timopheevii* 6G kromoszómáján megfigyelhető (GAA)₇ hibridizációs jelekhez. Igen jellegzetes a két (GAA)₇ jel a kromoszómák rövid karjának intersticiális részén (14. ábra b). A 6G és 6B kromoszómák közötti FISH mintázat különbségeit (pSc119.2, Afa-family és pTa71 próbával) a 9. táblázatban foglaltuk össze.

Az „AMP12” genomjában GISH-sel azonosítottuk az 1BL.1RS rozs transzlokációt. A jelölt rozs genomi DNS az 1B kromoszóma rövid karjához hibridizált és így láthatóvá vált a transzlokálódott szakasz. Az 1B kromoszóma pSc119.2 mintázata szintén az 1BL.1RS transzlokációra utal. Az „AMP12” többi kromoszómája a pSc119.2 és az Afa-family próbák kombinálásával meghatározható (14. ábra a).



14. ábra. (a): A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) FISH kariotípusának mintázata. Csillag (*) jelöli a 6G kromoszómákat. A pSc119.2 (zöld), az Afa-family (piros) és a pTa71 próbák kombinálásával a kromoszómák azonosíthatók. A kettős csillaggal az 1BL.1RS transzlokációt hordozó kromoszómákat jelöltük. A jobb alsó sarokban látható a vörös színnel jelölődött rozs transzlokáció a rövid karon. (b): A Fleischmann-481 6B (1), a *T. timopheevii* 6G (2) és az „AMP12” törzs 6G kromoszómája (3). A fehér nyilak a 6B kromoszómára jellemző pSc119.2 és Afa-family jeleket mutatják (1), amelyek nem jelennek meg a 6G kromoszómán (2, 3).

A fehér vonalak a 6G kromoszómán tipikus intersticiális kettős (GAA)₇ hibridizációs jelet mutatják (2,3). Skála: 10µm

9. táblázat. A 6B és 6G kromoszómák közötti FISH mintázat különbségeinek összefoglalása

Próba	6B kromoszóma	6G kromoszóma
pSc119.2	intersticiális jel a hosszú karon	nincs intersticiális jel
Afa-family	a rövid karon és a szatelliten jelek a proximális és szubterminális részen	jelek csak a szatelliten vannak
(GAA) ₇	nincs intersticiális jel	intersticiális jelek a rövid karon

4.1.5. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × CO4 utódnemzedékeken végzett citogenetikai vizsgálatok

Az „AMP12” × CO4 keresztezések F₅ **nemzedékének** molekuláris markerekkel történő tesztelése után a transzlokációkat hordozó illetve transzlokációt nem hordozó (teljes 6G vagy 6B kromoszómát tartalmazó) növények F₆ **nemzedékét** FISH-sel vizsgáltuk. Kontrollnak a Chinese Spring CO4-et, a *T. timopheevii* (TRI677) genotípust és az Mv14 fajtát választottuk.

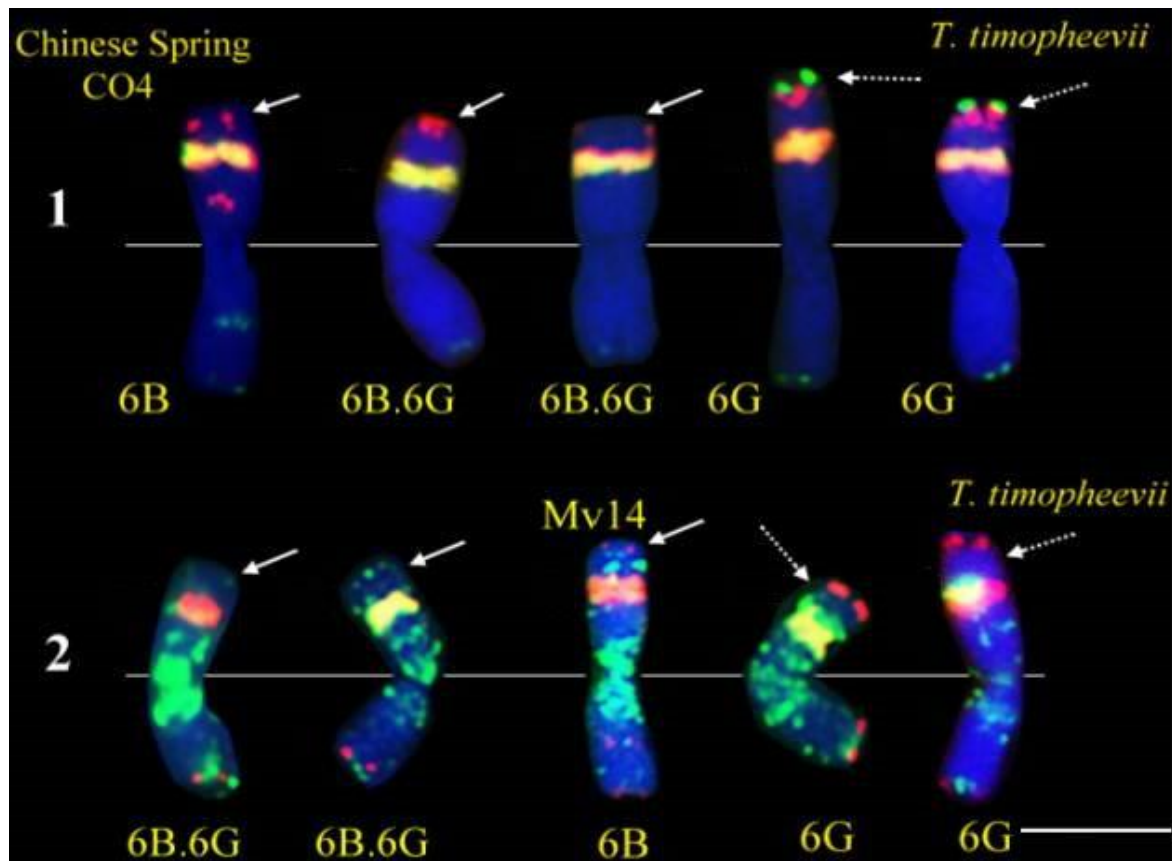
A FISH-hez a pSc119.2, az Afa-family, a pTa71 és a (GAA)₇ repetitív próbát használtuk.

Számos mintában a 6G-nek feltételezett kromoszómákon a pSc119.2 próba hibridizációs mintázatában különbség jelentkezik (15. ábra 1). A *T. timopheevii* 6G kromoszómájának szatellit részén terminálisan két pSc119.2 hibridizációs jel látható, de egyes mintáknál nem jelenik meg ez a jel. A kontrollként használt Chinese Spring CO4 6B kromoszómájának rövid karján szintén nem jelenik meg ez a terminális pSc119.2 jel (15. ábra 1/a), ami a búzafajták többségétől eltérő hibridizációs jegy. Tehát azoknál az „AMP12” × CO4 mintáknál, amelyeken a szatellit terminális részére a pSc119.2 próba nem hibridizálódott, vélhetően a 6G kromoszóma rövid karjának egy része a Chinese Spring CO4 6B karjára cserélődött ki (15. ábra 1/b, c). Ezeknek a kromoszómáknak a hosszú karján azonban nem látható a 6B kromoszómára jellemző intersticiális pSc119.2 jel (14. ábra b/1) ezért a hosszú kar a 6G kromoszómából származik. FISH-sel a 6B.6G transzlokáció töréspontját pontosan megállapítani nem lehet. Azokban a mintákban, amelyek nem a rövid, hanem a hosszú karokon hordozzák a transzlokációt, a pSc119.2 próba a szatellit terminális részén ugyanolyan hibridizációs jelet adott, mint a *T. timopheevii* esetében (15. ábra 1/d, e). Az Afa-family próba mintázata nem mutatott különbséget a 6G és a 6B.6G kromoszómák között.

A (GAA)₇ próba hibridizációs mintázata is különbségeket mutatott a különböző transzlokációt hordozó kromoszómák között (15. ábra 2). A rövid kar egy részén 6B szegmentumot tartalmazó

és kromoszómák szatellitesek részén – az Mv14 6B kromoszómájának szatellitjéhez hasonlóan - jóval több (GAA)₇ jel figyelhető meg (15. ábra 2/f, g), mint azokon a kromoszómákon, amelyek a 6B részt nem, vagy a hosszú karon hordozzák (15. ábra 2/i, j).

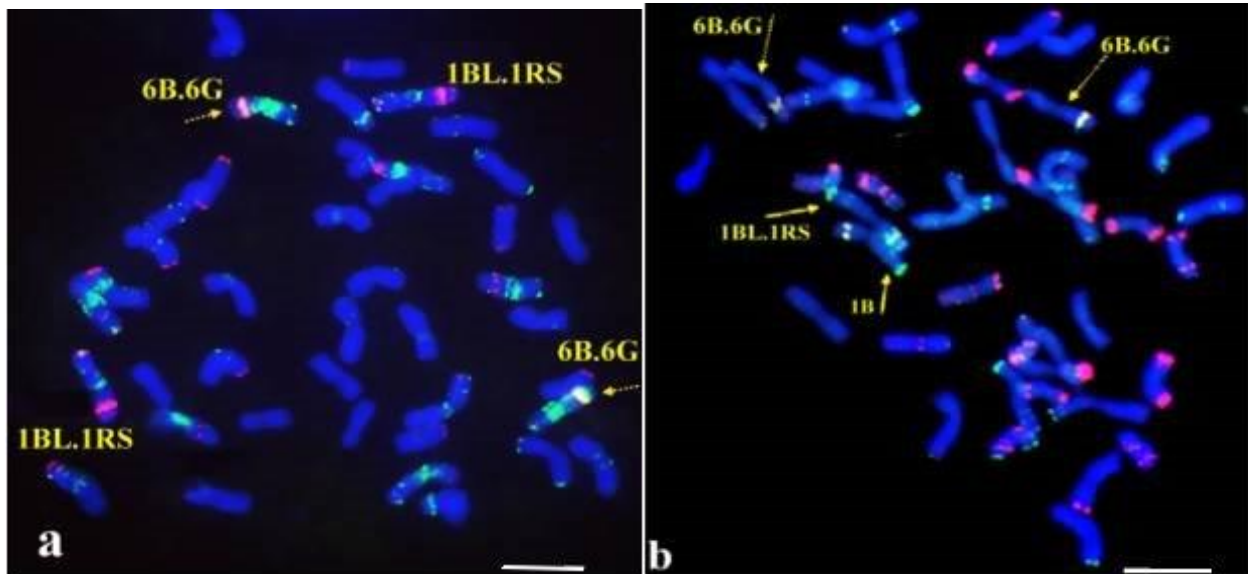
Az „AMP12” törzs az 1BL.1RS kromoszóma transzlokációt is hordozza. Ez a Chinese Spring CO4-gyel való keresztezés után is megmaradt (16. ábra a), vagy kiesett vagy heterozigóta formában jelentkezett az utódokban (16. ábra b). A transzlokációkat tartalmazó minták FISH-sel való elemzése során néhány minta nem csak az 1BL.1RS, hanem a 6BS.6GL transzlokációt is csak egy kromoszómán tartalmazta (10. táblázat).



15. ábra. A 6B, 6G és a 6B.6G transzlokációs kromoszómák FISH mintázata. **1. sor** balról jobbra: Chinese Spring CO4 (6B); D/7/1; D/12 (6B.6G); B/14 (6G); *T. timopheevii* (6G). **2. sor** balról jobbra D/17; E/4 (6B.6G); Mv14 (6B); B/16 (6G); *T. timopheevii* (6G).

1. sor: a szaggatott nyilak a 6G kromoszómára jellemző erős pSc119.2 jelet mutatják a szatelliten. A fehér nyilak ezek hiányát jelzik a 6B ill. 6B.6G kromoszómákon, ami a CS CO4 rövid karjának a 6G kromoszómára transzlokálódását jelenti. Hibridizációs jelek: pSc119.2 (zöld), Afa-family (piros), pTa71(sárga).

2. sor: a szaggatott nyilak a 6G kromoszómák szatellit régiójára specifikus (GAA)₇ mintázatot jelzik. A fehér nyilak a 6B ill. 6B.6G kromoszómák szatellitjének (GAA)₇ hibridizációs jeleit mutatják. A 6B.6G kromoszómák rövid karján diffúz hibridizációs jelek láthatók, amely szintén arra utal, hogy a kromoszóma rövid karjának egy része a CS CO4 egy részére cserélődött ki. Hibridizációs jelek: (GAA)₇ (zöld), Afa-family (piros), pTa71(sárga). Skála: 10µm



16. ábra. 6G(6B) szubsztitúciós törzs(„AMP12”) $\times$ CO4 keresztezésből származó F_6 utódok FISH hibridizációs képe. (a): D/13/1 számú minta. A szaggatott nyilak a 6B.6G transzlokációt jelzik, és megfigyelhető a feliratokkal jelölt 1BL.1RS szubsztitúció is. Hibridizációs jelek: (GAA)₇ (zöld), Afa-family (piros), pTa71(sárga). (b): E/4/1 számú minta. A szaggatott nyilak a 6G(6B) szubsztitúciót mutatják, a nyilak pedig az 1BL.1RS és az 1B kromoszómát. A vizsgált utódok között több heterozigótának bizonyult a 6G(6B) szubsztitúció és az 1BL.1RS transzlokáció jelenlétére vonatkozóan. Hibridizációs jelek: pSc119.2 (zöld), Afa-family (piros), pTa71(sárga). Skála: 10 μ m

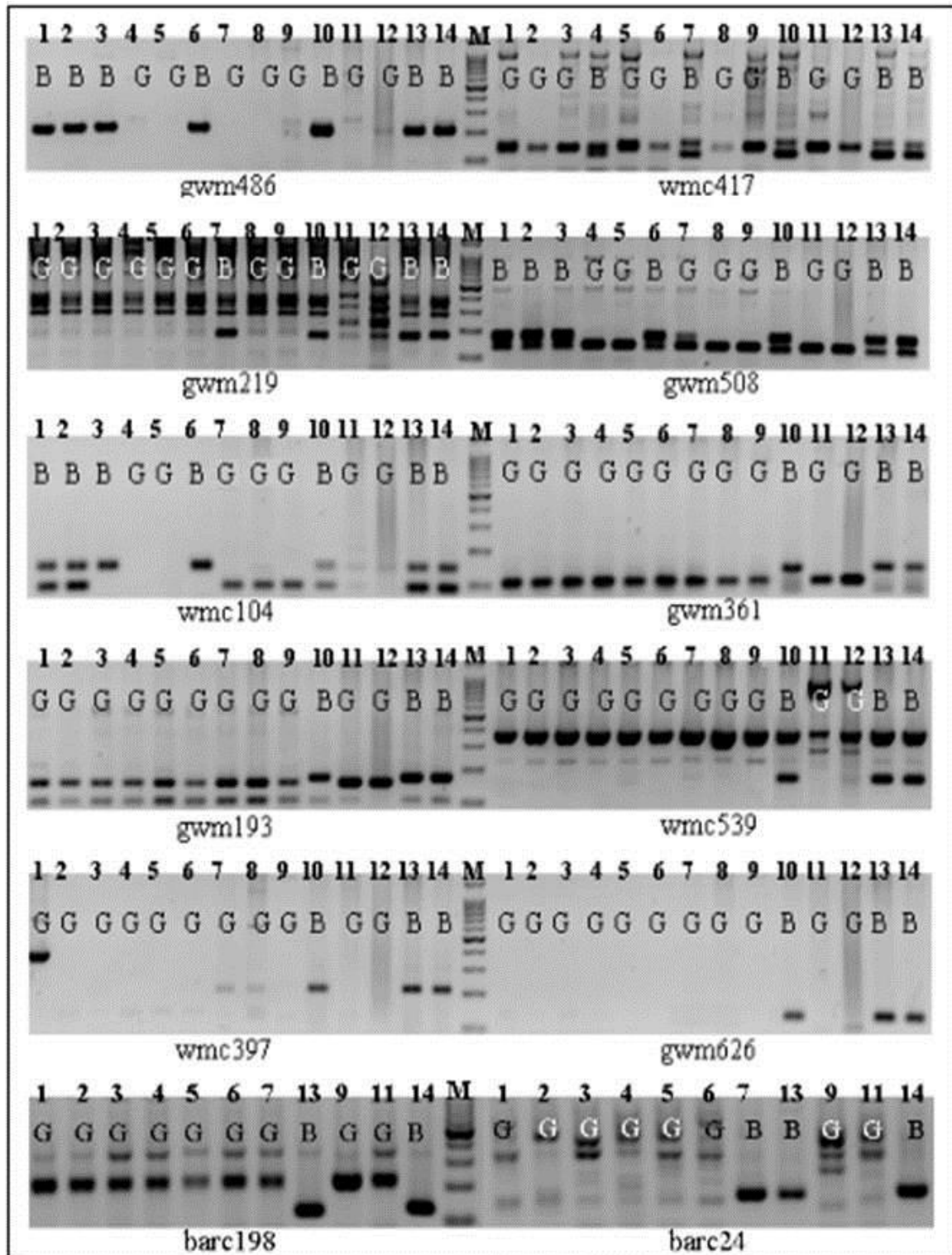
10. táblázat. A 6B.6G és 1BL.1RS transzlokációs kromoszómpárok előfordulása néhány vizsgált 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) $\times$ CO4 keresztezésből származó F₆ utódban.

Genotípus	Szatelliten terminális pSc119.2 jel, vagyis 6B.6G transzlokáció		1BL.1RS transzlokáció		Genotípus	Szatelliten terminális pSc119.2 jel, vagyis 6B.6G transzlokáció		1BL.1RS transzlokáció	
	van (6G)	nincs (6B)	van	nincs		van (6G)	nincs (6B)	van	nincs
E/ 23/1		+		+	E/ 32/2	+			+
D/13/1	+	+	+		E/41/1	+		+	
E/29/1		+	+	+	E/45/2	+	+	+	
E/31/2		+	+	+	E/26/2	+		+	
H/1/1	+		+		E/ 4/1		+	+	+
H/4/1	+		+		E/27/1		+		+
B/16/1	+			+	D/7/1		+		+
D/2/3		+	+		E/5/2		+		+
D/2/9		+	+		E/27/2	+	+		+
D/2/4		+	+		E/39/2	+	+		+
D/14/8		+	+		E/13/1		+	+	
D/12/2/2		+	+		E/26/1	+		+	
E/13/1		+		+	D/7/2		+	+	+
					E/4/2	+		+	+

4.1.6. A citogenetikai és a molekuláris markerekkel végzett elemzés összevetése

Az „AMP12” $\times$ CO4 keresztezés F_6 nemzedékéből citogenetikai módszerekkel tesztelt utódok közül (11. ábra, és 6. táblázat) kiválasztottunk a FISH eredmények szerint 6B.6G transzlokációt hordozó, illetve csak 6G(6B) szubsztitúciót vagy a 6B kromoszómát tartalmazó utódokat. Ezek magjait a FISH-hez szükséges gyökök levágása után tovább neveltük és a 14 napos csíranövénykékből DNS-t izoláltunk. A 12db, 6G és 6B kromoszómák között polimorf markerrel teszteltük a mintákat. A 6B.6G transzlokáció FISH-sel azokban a növényekben mutatható ki, amelyekben a transzlokáció a rövid kar egy részét érinti. Ezeknél a molekuláris markerekkel végzett vizsgálatok alátámasztották a FISH mintázat eredményeit. A 17. ábrán az 1, 2, 3 és 6-os számú minták esetében a rövid kar egy részére a búza 6B kromoszómája rövid karjának egy része épült. A rövid karra térképezett markerek (wmc486, wmc104, gwm508) a búzára jellemző méretű terméket adják, a többi marker (gwm193, gwm361, wmc397, barc198, wmc539, gwm626, barc24, gwm219, wmc417) pedig a *T. timopheevii* 6G kromoszómájára specifikus méretűt.

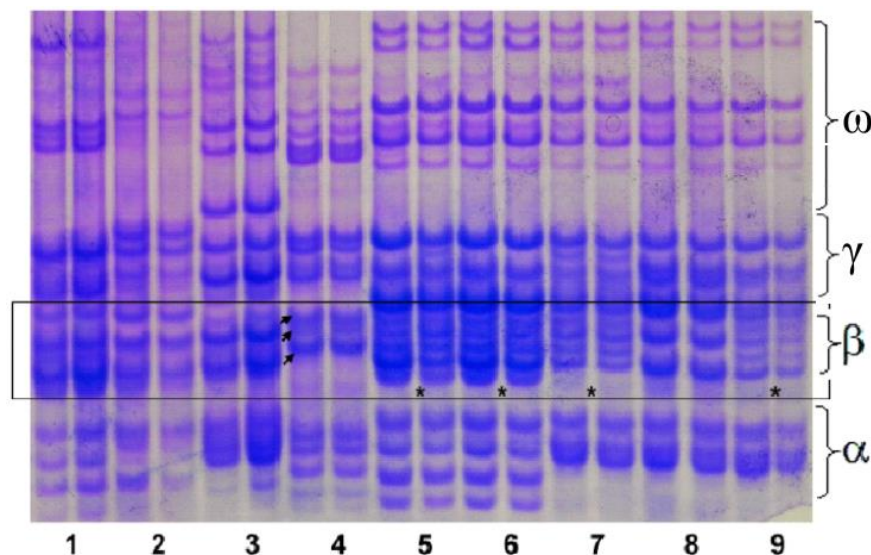
A 4-es minta esetében a kromoszóma végére térképezett wmc417 primer amplifikálta a búzára jellemző terméket. A 7-es mintánál az átépült búza kromoszóma-szegmentum feltehetőleg nagyobb, mert itt a gwm219 és a wmc417 mutatta a búza 6B kromoszómára specifikus sávot. Az 5-ös számú minta búza 6B-*T. timopheevii* 6G kromoszóma transzlokációt nem, csak 6G(6B) szubsztitúciót hordozott, amely a FISH-sel is kimutatható volt (vö. 6. táblázat).



17. ábra. A különböző transzlokáció típusokat hordozó 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × CO4 F₆ utódok polimorf mikroszatellit markerekkel kapott mintázatai. 1-E/4/1; 2-E/23/1; 3-E/26/1; 4-B/16/1; 5-E/32/2; 6-D/38/1; 7-H/4; 8-9-6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”); 10-CO4; 11-*T. timopheevii* TRI677; 12-*T. timopheevii* MvGB573; 13-Mv14; 14-MIR808; M-100bp marker.

4.1.7. Gliadin frakció elemzése

A savas poliakrilamid gélelektroforézis során összehasonlítottuk az „AMP12” törzs, a Chinese Spring CO4 illetve az ezek keresztezéséből származó 25, F₅ nemzedékű „AMP12” $\times$ CO4 utód tartalékfehérje mintázatát (11. táblázat). Emellett az „AMP12” törzs kialakítása során használt fajtaikat (MIR808, Fleischmann-481) illetve az „AMP12” $\times$ Mv Csárdás és „AMP12” $\times$ Mv27-2000 keresztezésének 6G(6B) szubsztitúciót hordozó utódait, összesen 38 mintát vizsgáltunk. Mivel a 6B kromoszómát érintő szubsztitúciót/transzlokációt jelző mintázatot kerestük, ezért az alfa/béta-gliadinok régióját vizsgáltuk. A *T. timopheevii* alfa/béta-gliadin mintázata jelentősen eltér a búzáétól (18. ábra). A biztosan 6G(6B) szubsztitúciót hordozó minta (18. ábra 7) alfa/béta-gliadin sávjai alapján azonosítható a 6G kromoszóma szubsztitúció. A 6B.6B transzlokáció azonosítása ennél összetettebb feladat, mert az α -és β -gliadin régió felbontása egy dimenziós karbamidos savas gélben nehézkes, valamint nem az „AMP12” kialakításában használt *T. timopheevii* genotípust használtuk a kísérletben *T. timopheevii* kontrollként. A kísérletekben a 6B nulliszómás vonalakat is vizsgáltuk. A nulliszómás vonalak A-PAGE felbontása a sávok közötti különbségek egyértelmű azonosításához nem megfelelő minőségű. Emellett 10, jelen dolgozatban használt, különböző begyűjtési helyről származó *T. timopheevii* gliadin mintázatát is elemeztük. Ezek között az RCAT006794, MvGB573 és TRI7272 génbanki számú tételt kivéve polimorfizmus nem volt (6. melléklet).



18. ábra. A-PAGE gélelektroforézis mintázatok. 1- Chinese Spring CO4; 2- MIR 808; 3- Fleischmann-481; 4- *T. timopheevii* 3407; 5- F/135; 6- F/28; 7- 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”); 8- Mv27-2000; 9- 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) $\times$ Mv27-2000. A nyilak a *T. timopheevii* 6G kromoszómájára jellemző mintázatot mutatják. A csillaggal jelölt mintákban 6G kromoszóma szubsztitúció vagy transzlokáció van.

11. táblázat. A gliadin tartalékfehérje analízis eredményeinek összevetése a mikroszatellit markerekkel és a savas gélelektroforézises (A-PAGE) vizsgálatok eredményeivel.

	Genotípus	SSR marker	A-PAGE		Genotípus	SSR marker	A-PAGE
1	Mv14	6B	6B	20	D/9	6B.6G	6B
2	CO4	6B	6B	21	D/17	6B.6G	6B
3	MIR808	6B	6B	22	D/13	6B.6G	6B
4	Fleischmann-481	6B	6B	23	F/15	6B.6G	6G
5	<i>T. timopheevii</i> 3407	6G	6G	24	F/34	6B.6G	6G
6	„AMP12”	6G	6G	25	F/29	6B.6G	6G
7	F/37	6B.6G	6G	26	B/1	6G	6G
8	F/28	6B.6G	6G	27	B/16	6G	6G
9	E/23	6B.6G	6B	28	B/9	6G	6G
10	E/26	6B.6G	6B	29	H/2	6B.6G	6G
11	E/4	6B.6G	6B	30	H/9	6B.6G	6G
12	E/5	6B.6G	6G	31	H/11	6B.6G	6G
13	E/39	6B.6G	6B	32	”AMP12” × Mv27-2000’984’	n.a.	6G
14	E/41	6B.6G	6B	33	”AMP12” × Mv27-2000’987’	n.a.	6G
15	E/21	6B.6G	6B	34	”AMP12” × Mv Csárdás 993	n.a.	6G
16	D/2	6B.6G	6B	35	”AMP12” × Mv Csárdás LH84	n.a.	6B
17	D/12	6B.6G	6B	36	Mv Csárdás	6B	6B
18	D/3	6G	6B	37	Mv27-2000	6B	6B
19	D/14	6B.6G	6B	38	Nulli6B-tetra6D	nem értékelhető	

4.1.8. A transzlokációt hordozó utódok levélrozsdával szembeni rezisztenciájának vizsgálata

4.1.8.1. Üvegházi mesterséges levélrozsdafertőzések

Kísérletünkben a transzlokációt hordozó „AMP12” $\times$ CO4 F₆ utódokat két eltérő fejlődési fázisban vizsgáltuk: az egyik csoportba a 6 hetes vernalizációs periódus után cserepekbe ültetett idősebb, a másik csoportba pedig 2 leveles fiatal növények tartoztak. Az „AMP12” és néhány martonvásári fajta keresztezéséből származó F₄ utódokat ugyanezzel a módszerrel vizsgáltuk.

▪ Nem vernalizált csoport

A nem vernalizált csoport növényei között rezisztens és fogékony egyedeket is megfigyeltünk. Felvételezéseinket a fertőzéstől számított 12. és 20. napon végeztük. Az „AMP12” törzs mindegyik ismétlésben nagyon ellenállónak bizonyult a levélrozsdával szemben. A spontán lisztharmat fertőződés első jelei azonban észlelhetők voltak a leveleken.

A *T. timopheevii* kontroll nagyon későn csírázott ki, ezért értékelhető eredményt nem adott. Az Mv14 és a Chinese Spring CO4 növények fogékonyak ill. mérsékelten fogékonyak bizonyultak. A 29 db, 6-féle 6B.6G transzlokáció típust (16. ábra) tartalmazó „AMP12” $\times$ CO4 utódok többsége nagyon ellenálló illetve ellenálló volt a fertőzéssel szemben a második felvételezési időpontban is (maximum 2-es értéket kaptak) (19. ábra), illetve 6 növény mérsékelten fogékony és fogékony volt. A 3 db, 6G(6B) szubsztitúciót hordozó utódok közül egy, továbbá valamennyi, kizárólag a 6B kromoszómát tartalmazó utód fogékony volt (12. táblázat, 19. ábra).

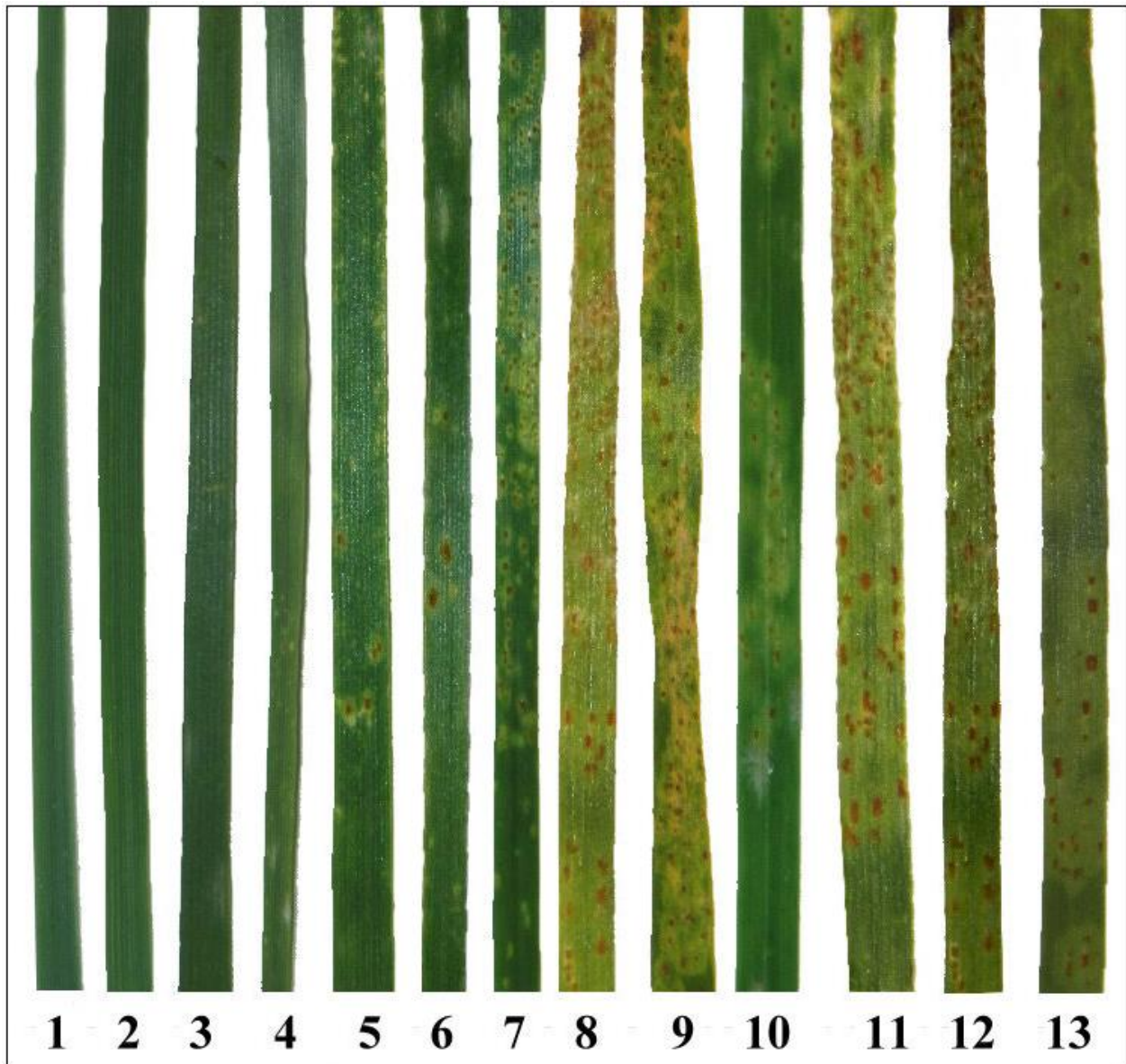
Az „AMP12” $\times$ Mv Emese, „AMP12” $\times$ Mv27-2000, „AMP12” $\times$ Mv Csárdás, „AMP12” $\times$ Mv Pálma, „AMP12” $\times$ Mv9 keresztezések utódai egy kivétellel [„AMP12” $\times$ Mv Emese (LH69)] mind ellenállónak vagy mérsékelten fogékonyak bizonyultak. A kontrollként használt martonvásári fajták közül az Mv Csárdás és az Mv Emese és az Mv Magdaléna fogékony volt.

▪ Vernalizált csoport

A vernalizált csoportban három kivétellel (B/16, H/1, H/11) ugyanazokat a genotípusokat vizsgáltuk, mint a nem vernalizált csoportban. Ennél a kísérletnél a levélrozsdá fertőzöttség értékeléseket szintén a 12. és a 20. napon végeztük. Az „AMP12” törzs nagyon ellenálló volt,

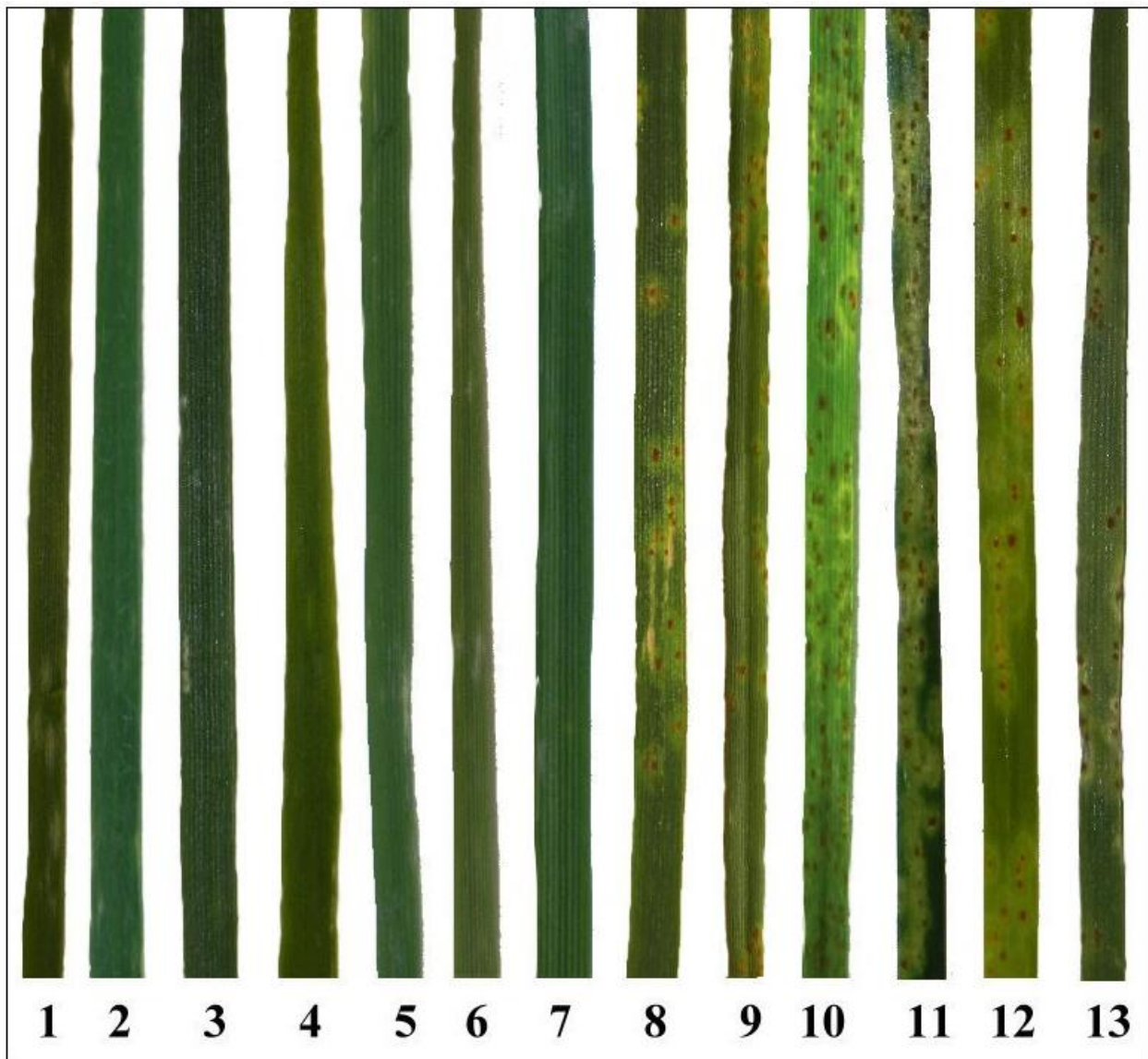
illetve az egyik növényen egy kisméretű rozsdatelepet jelent meg, ezért ez „ellenálló” értékelést kapott. A *T. timopheevii* kontrollok teljesen immunisnak bizonyultak. Az Mv14 és a Chinese Spring CO4 fogékony és mérsékelten fogékony volt. A 29db, 6B.6G transzlokációt hordozó genotípus közül 8 volt mérsékelten fogékony, vagy fogékony és 19 volt ellenálló, vagy nagyon ellenálló. A fogékony genotípusok esetében már az első felvételezési időpontnál erősebb fertőzöttség volt megfigyelhető. A 6G kromoszómát tartalmazó „AMP12” × CO4 utódok közül egy volt nagyon fogékony, a csak 6B kromoszómát hordozó törzsek szintén érzékenyebbnek bizonyultak a többi utódnál.

Az „AMP12” × Mv Emese, „AMP12” × Mv27-2000, „AMP12” × Mv Csárdás, „AMP12” × Mv Pálma, „AMP12” × Mv9 keresztezések utódai az „AMP12” × Mv Csárdás „997” növény kivételével mind ellenállónak bizonyultak. A kontrollként használt martonvásári fajtákon az Mv Magdaléna és az Mv Emese kivételével nem jelent meg a betegség (20. ábra, 12. táblázat).



19. ábra. A 6B.6G transzlokációt hordozó „AMP12” $\times$ CO4 F₆ utódok nem vernalizált csoportjának levélrozsdá fertőzöttsége az inokulálás után 20 nappal.

1 – 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) (0;); **2** – E/5/2 (0;); **3** – E/4/1 (0;); **4** – E/23/2 (1); **5** – D/7/1 (X); **6** – E/13/2 (2); **7** – G/11 (4); **8** – E/27/2 (4); **9** – A/4 (4); **10** – Chinese Spring CO4 (3); **11** – Mv14 (4); **12** – Mv Emese (4); **13** – Mv Magdaléna (3)



20. ábra. A A 6B.6G transzlokációt hordozó „AMP12” × CO4 F₆ utódok vernalizált csoportjának levélrozsdá fertőzöttsége az inokulálás után 20 nappal.

1 – 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) (0); **2** – *T. timopheevii* (0); **3** – E/13/2 (1); **4** – E/4/1 (0); **5** – E/5/2 (0); **6** – 14H/16 (0); **7** – E/23/2 (0-1); **8** – E/27/2 (2); **9** – E/5 (3); **10** – E/13/1 (4); **11** – A/4 (4); **12** – Chinese Spring CO4 (3); **13** – Mv14 (4).

12. táblázat. A nem vernalizált és a vernalizált "AMP12" × CO4 F ₆ utódok, valamint az "AMP12" és néhány martonvásári búzafajta keresztezéséből az F ₄ utódok levélrozsdával szembeni érzékenysége az üvegházi fertőzések során									
Nem vernalizált					Vernalizált				
sorsz.	Genotípus	Levélrozsdafertőzöttség		Szülőikben a markerek alapján 6G(6B) szubsztitúció vagy 6B.6G transzlokáció	sorsz.	Genotípus	Levélrozsdafertőzöttség		Szülőikben a markerek alapján 6G(6B) szubsztitúció vagy 6B.6G transzlokáció
		12. nap	20. nap				12. nap	20. nap	
1	AMP12 555	0;	0;	6G(6B)	1	AMP12 555	0;	0;	6G(6B)
2	AMP12 35	0;	0;	6G(6B)	2	AMP12 35	0;	0;	6G(6B)
3	AMP12 44	0;	0;	6G(6B)	3	AMP12 44	1	1	6G(6B)
4	AMP12sug 594	0;	0;	6G(6B)	4	AMP12sug 594	0;	0;	6G(6B)
5	<i>T. timoph.</i> TRI677	na	na	6G	5	<i>T. timoph.</i> TRI677	0	0	6G
6	<i>T. timoph.</i> TRI677	na	na	6G	6	<i>T. timoph.</i> TRI677	0	0	6G
7	Mv14	3	4	6B	7	Mv14	4	4	6B
8	Chinese Spring CO4	3	3	6B	8	Chinese Spring CO4	3	3	6B
9	E/13/1	1	2	6B.6G	9	E/13/1	1	2	6B.6G
10	E/13/1	2	3	6B.6G	10	E/13/1	3	4	6B.6G
11	E/40/1	1	1	6B.6G	11	E/40/1	0;	0;	6B.6G
12	E/40/1	0;	1	6B.6G	12	E/40/1	0;	0;	6B.6G
13	E/5/1	2	3	6B.6G	13	E/5/1	3	4	6B.6G
14	E/5/1	2	3	6B.6G	14	E/5/1	0;	3	6B.6G
15	E/27/2	3	4	6B.6G	15	E/27/2	0;	0;	6B.6G
16	E/27/2	3	3	6B.6G	16	E/27/2	2	3	6B.6G
17	E/13/2	1	2	6B.6G	17	E/13/2	1	1	6B.6G
18	E/13/2	2	2	6B.6G	18	E/13/2	1	1	6B.6G
19	E/4/1	0;	0;	6B.6G	19	E/4/1	0;	0;	6B.6G
20	E/4/1	0;	0;	6B.6G	20	E/4/1	1	1	6B.6G
21	D/7/1	1	X	6B.6G	21	D/7/1	0;	0;	6B.6G

12. táblázat. A nem vernalizált és a vernalizált "AMP12" × CO4 F ₆ utódok, valamint az "AMP12" és néhány martonvásári búzafajta keresztezéséből az F ₄ utódok levélrozsdával szembeni érzékenysége az üvegházi fertőzések során									
Nem vernalizált					Vernalizált				
sorsz.	Genotípus	Levélrozsdafertőzöttség		Szülőkben a markerek alapján 6G(6B) szubsztitúció vagy 6B.6G transzlokáció	sorsz.	Genotípus	Levélrozsdafertőzöttség		Szülőkben a markerek alapján 6G(6B) szubsztitúció vagy 6B.6G transzlokáció
		12. nap	20. nap				12. nap	20. nap	
22	D/7/1	1	X	6B.6G	22	D/7/1	0;	0;	6B.6G
23	D/13/1	0;	0;	6B.6G	23	D/13/1	0;	0;	6B.6G
24	D/13/1	0;	0;	6B.6G	24	D/13/1	1	X	6B.6G
25	D/7/2	1	1	6B.6G	25	D/7/2	0;	0;	6B.6G
26	D/7/2	0;	1	6B.6G	26	D/7/2	0;	0;	6B.6G
27	D/2/1	1	1	6B.6G	27	D/2/1	0;	0;	6B.6G
28	D/2/1	1	1	6B.6G	28	D/2/1	0;	0;	6B.6G
29	E/5/2	0;	0;	6B.6G	29	E/5/2	0;	0;	6B.6G
30	E/5/2	0;	0;	6B.6G	30	E/5/2	0;	0;	6B.6G
31	D/12	1	2	6B.6G	31	D/12	0;	0;	6B.6G
32	D/12	0;	1	6B.6G	32	D/12	0;	0;	6B.6G
33	B/6	2	2	6B.6G	33	B/6	2	2	6B.6G
34	E/33/2	2	2	6B.6G	34	B/16	0;	0;	6B.6G
35	H/14	1	1	6B.6G	35	14/2	0;	0;	6B.6G
36	E/40/1	1	1	6B.6G	36	14/16	0;	0;	6B.6G
37	H/11	1	1	6B.6G	37	14/34	1	1	6B.6G
38	G/5	1	1	6G(6B)	38	G/5	0;	0;	6G(6B)
39	G/11	1	4	6B	39	G/11	2	2	6B.6G
40	G/8	1	1	6B.6G	40	G/8	0;	0;	6B.6G
41	F/17	1	1	6B.6G	41	F/17	0;	0;	6B.6G
42	E/23/2	0	1	6B.6G	42	E/23/2	0	1	6B.6G

Eredmények és megvitatásuk

12. táblázat. A nem vernalizált és a vernalizált "AMP12" × CO4 F₆ utódok, valamint az "AMP12" és néhány martonvásári búzafajta keresztezéséből az F₄ utódok levélrozsda-val szembeni érzékenysége az üvegházi fertőzések során

Nem vernalizált						Vernalizált			
sorsz.	Genotípus	Levélrozsda fertőzőtttség		Szülőkben a markerek alapján 6G(6B) szubsztitúció vagy 6B.6G transzlokáció	sorsz.	Genotípus	Levélrozsda fertőzőtttség		Szülőkben a markerek alapján 6G(6B) szubsztitúció vagy 6B.6G transzlokáció
		12. nap	20. nap				12. nap	20. nap	
43	F/23	1	1	6B.6G	43	F/23	0;	0;	6B.6G
44	F/28	1	1	6G(6B)	44	F/28	0;	0;	6G(6B)
45	A/21	3	4	6B.6G	45	A/21	1	2	6B.6G
46	A/2	3	4	6B.6G	46	A/2	3	3	6B.6G
47	A/4	4	4	6B.6G	47	A/4	3	4	6B.6G
48	F/22	1	1	6B.6G	48	F/22	3	3	6B.6G
49	15	3	4	6B	49	15	2	3	6B
50	10	3	4	6B	50	10	3	3	6B
51	E/5	1	3	6B.6G	51	E/5	3	3	6B.6G
52	E/5	3	3	6B.6G	52	E/5	3	3	6B.6G
53	D/17	0;	1	6B.6G	53	D/17	0;	0;	6B.6G
54	D/17	0;	0;	6B.6G	54	D/17	0;	0;	6B.6G
55	Mv Csardas	2	3	6B	55	Mv Csardas	1	1	6B
56	Mv27-2000	0	2	6B	56	Mv27-2000	0;	0;	6B
57	Mv Magdalena	1	3	6B	57	Mv Magdalena	4	4	6B
58	Mv Palma	0	2	6B	58	Mv Palma	0;	1	6B
59	Mv Emese	4	4	6B	59	Mv Emese	2	2	6B
60	AMP12/Mv Magd LH69	na	na	-	60	AMP12/Mv Magd LH69	0;	0;	6B
61	AMP12/Mv Emese LH 75	3	3	6G(6B)	61	AMP12/Mv Emese LH 75	0;	0;	6G(6B)
62	AMP12/Mv Emese 978	1	1	?	62	AMP12/Mv Emese 978	0;	0;	?
63	AMP12/Mv27-2000 984	0;	0;	6G(6B)	63	AMP12/Mv27-2000 984	0;	0;	6G(6B)

12. táblázat. A nem vernalizált és a vernalizált "AMP12" × CO4 F ₆ utódok, valamint az "AMP12" és néhány martonvásári búzafajta keresztezéséből az F ₄ utódok levélrozsdával szembeni érzékenysége az üvegházi fertőzések során									
Nem vernalizált					Vernalizált				
sorsz.	Genotípus	Levélrozsdafertőzöttség		Szülőikben a markerek alapján 6G(6B) szubsztitúció vagy 6B.6G transzlokáció	sorsz.	Genotípus	Levélrozsdafertőzöttség		Szülőikben a markerek alapján 6G(6B) szubsztitúció vagy 6B.6G transzlokáció
		12. nap	20. nap				12. nap	20. nap	
64	AMP12/Mv27-2000 987	0;	0;	6G(6B)	64	AMP12/Mv27-2000 987	0;	0;	6G(6B)
65	AMP12/Mv Csardas LH84	0;	0;	6G(6B)	65	AMP12/Mv Csardas LH84	1	2	6G(6B)
66	AMP12/Mv Csardas 997	1	2	?	66	AMP12/Mv Csardas 997	1	3	?
67	AMP12/Mv Palma LH87	0;	0;	6G(6B)	67	AMP12/Mv Palma LH87	0;	0;	6G(6B)
68	AMP12/Mv Palma 1002	0;	0;	?	68	AMP12/Mv Palma 1002	0;	0;	?
69	AMP12/Mv9 19	0;	1	6G(6B)	69	AMP12/Mv9 19	0;	0;	6G(6B)
70	AMP12/Mv9 3	1	1	?	70	AMP12/Mv9 3	0;	0;	?

4.1.8.2. Szántóföldi természetes fertőződések

Szántóföldi körülmények között az „AMP12” törzs a bokrosodástól kezdve egészen a viaszérésig ellenálló volt a levélrozsdá fertőzéssel szemben. Az érés közeledtével ugyan néhány uredospóra telep megjelent az alsó leveleken, de a zászlós levélen nem jelentek meg a telepek, csak a levél öregedése idején (21. ábra 1, 2). Az „AMP12” törzs mellé ültetett fogékony genotípus az egész vegetációs időben erősen fertőzött volt levélrozsdával (21. ábra 3, 4)

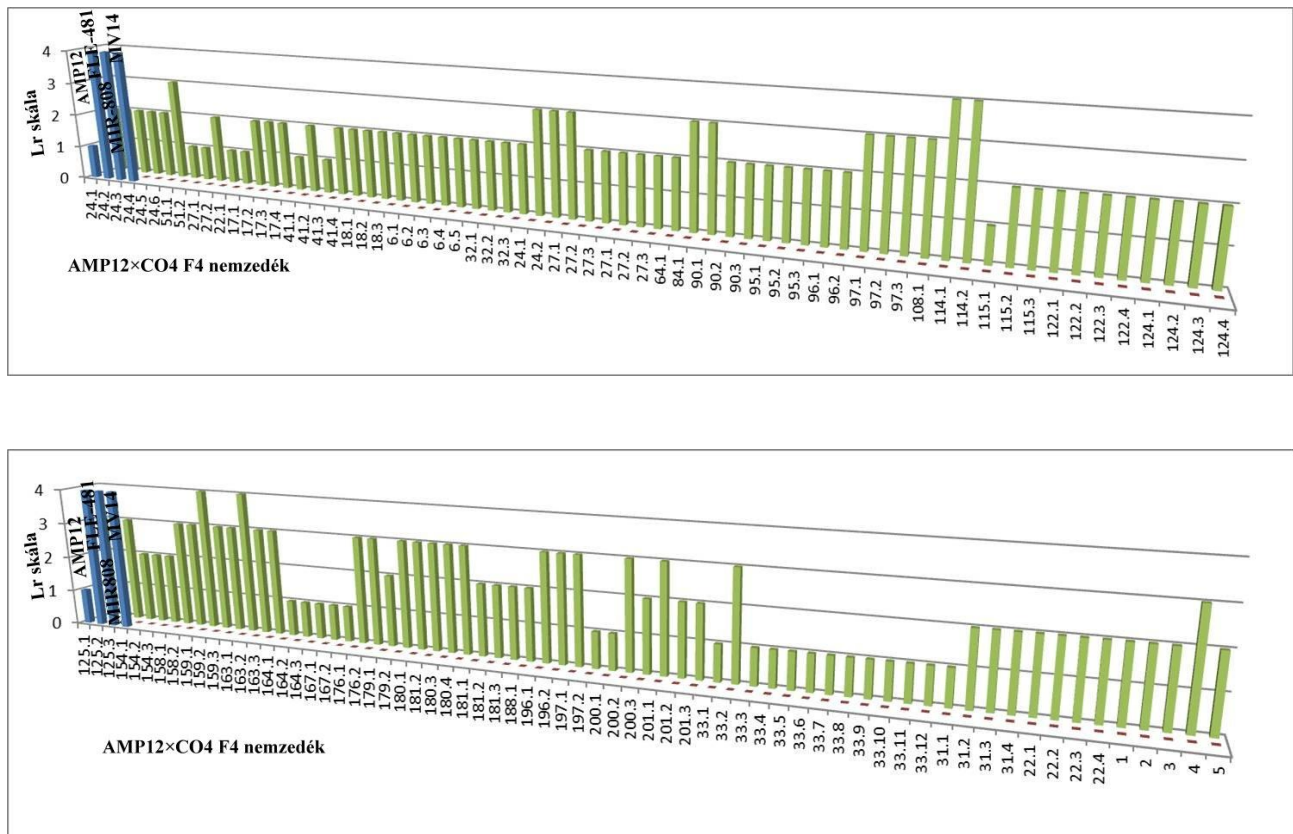


21. ábra. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) törzs és a közvetlenül mellé vetett, levélrozsdára fogékony genotípus fertőzöttsége szántóföldi körülmények között.

A kék nyíl az „AMP12” törzset, a piros nyíl a fogékony genotípus parcelláját mutatja. **1, 2:** az „AMP12” zászlós valamint egyik alsó levele; **3, 4:** fogékony genotípus zászlós illetve egyik alsó levele ugyanabban a fejlődési fázisban.

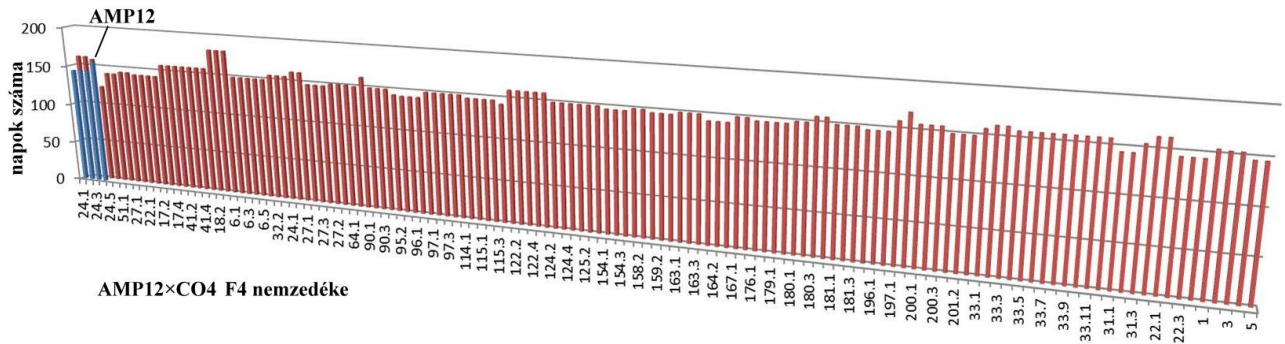
Az „AMP12” × CO4 keresztezés **F₅ nemzedékének** nagy része nem hordozott 6B.6G transzlokációt, hanem vagy 6B kromoszómát vagy 6G(6B) szubsztitúciót. E növényeknek az utódait szántóföldön vetettük el. A levélrozsdával szembeni ellenállóságot a kalászosítás idején határoztuk meg. A fertőzöttség megállapításához a 0 (nagyon ellenálló) – 4 (nagyon fogékony) skálát használtuk. Az utódok levélrozsdá ellenállóságának mértéke változó volt, és ugyanez elmondható a kalászosítási idő hosszára valamint a kalásztípusra is (7. melléklet). Előfordult, hogy ugyanazon a kalászutód soron belül variálódott mindegyik tulajdonság.

A szántóföldi levélrozsdával szembeni ellenállóképesség mértékét az AMP12 $\times$ CO4 keresztezés 6G(6B) szubsztitúciót hordozó F₄ nemzedéken vizsgáltuk. A 22. ábra oszlopdiagramjain hasonlítottuk össze az utódok rezisztenciáját a szülői búzafajtákkal. Az utódok többsége ellenállóbb volt a fogékony MIR808, Fleischmann-481 és Mv14 szülő búzafajtáknál, és számos egyed ellenállóképessége az „AMP12”-ével egyezett meg. A leggyakoribb ellenállósági szint 2-es volt.



22. ábra. A szántóföldön elvetett, 6G(6B) szubsztitúciót hordozó AMP12 $\times$ CO4 F₄ nemzedék utódai levélrozsdával szembeni ellenállóképességének mértéke az infekciós skálán, összehasonlítva a szülő búzafajtákkal. Az utódok többsége a fogékony szülő búzafajtáknál jóval rezisztensebb volt.

Eredmények és megvitatásuk



23. ábra. A szántóföldön elvetett, 6G(6B) szubsztitúciót hordozó AMP12×CO4 F₄ nemzedék utódainak kalászolási ideje összehasonlítva szülő búzafajtákkal (kék oszlopok: MIR808, Fleischmann-481, Mv14).

A szántóföldön elvetett 6G(6B) szubsztitúciót hordozó AMP12×CO4 F₄ nemzedék utódainak kalászolási ideje az „AMP12”-höz hasonlóan igen kései volt, sőt, néhány utód több nappal meg is haladta azt (23. ábra.).

A szántóföldre vetett, előző generációban molekuláris markerekkel a szubsztitúció meglétére vagy hiányára nem tesztelt „AMP12” × Mv Pálma, „AMP12” × Mv 27-2000, „AMP12” × Mv Magdaléna, „AMP12” × Mv Emese, „AMP12” × Mv Mezőföld, „AMP12” × Mv Csárdás utódainak fogékonysága szintén eltérő volt. Az Mv Pálma, Mv27-2000, Mv Magdaléna és Mv Emese keresztezéséből származó utódok között voltak a szülői búzafajtáknál ellenállóbb utódok.

4.2. Eredmények megvitatása

4.2.1. Fenotípusos jegyek

Az „AMP12” × CO4 keresztezés utódpopulációiban rendkívül változatos volt a kalászok formája. A transzlokálódott kromoszóma-szegmentum mérete és elhelyezkedése nem határozta meg a kalászok fenotípusát (10. ábra) tehát ez a tulajdonság a 6G kromoszómától függetlenül öröklődött. A szálkás kalászok azonban jóval kisebb számban fordultak elő, mint a tar vagy szálkacsonkos kalászok. 2 esetben megnyúlt és csavarodott pelyvalevelekkel rendelkező, az angol nyelvű irodalomban „hooded” elnevezésű, azaz „csuklyás” kalászok alakultak ki.

A leggyakrabban előforduló kalásztípus a szálkátlan, közepesen tömött, hengeres, inkább a Chinese Spring-re hasonlító forma volt. A kalásztípus kialakulását 3, eddig ismert domináns inhibitor szabályozza (McIntosh et al. 1998): *Hd* („hooded”, vagyis „csuklyás”) (4AS

kromoszóma: Sears 1954; Rao 1981), *B1* (5AL kromoszóma: Sears 1954) és *B2* (6BL kromoszóma: Sears 1954; 1966). A mutáns *hd* allélt hordozó kalászkok szálkái jellegzetesen megrövidülnek vagy spirális alakban helyezkednek el. A recesszív *b1* allél hatására a kalász alapi illetve középső részén nagyon rövid, a csúcsi részen viszont hosszabb, kb. 1cm-es szálkák jönnek létre. A recesszív *b2* allél átlagosan 6mm-nél rövidebb szálkákat alakít ki a kalász minden részén. Azok a genotípusok lesznek szálkásak, amelyek a három recesszív *hd*, *b1* és *b2* allélt hordozzák és azok lesznek tar kalászuak, amelyek a domináns *B1*, *B2* és *Hd* alléleket tartalmazzák. A recesszív és domináns allélek kombinációi a többi kalásztípust alakítják ki (Watkins és Ellerton 1940; Sourdille et al. 2002). Az „AMP12” törzsből hiányzik a 6B kromoszóma (így a *B2* allél) ezt a *T. timopheevii* 6B-vel homeológ 6G kromoszómája helyettesíti. A *T. timopheevii* egész kalásza szálkás, tehát a recesszív alléleket hordozza a 6B-vel homeológ 6G, valamint vélhetően az 5A^t és a 4A^t kromoszómán. A kalásztípusok kialakulásának genetikájáról – különösen, ha idegen fajból származó kromoszóma szubsztitúciót is hordoz az adott genotípus - viszonylag kevés adat áll rendelkezésünkre. A tar (szálkacsonkos) AMP12 és a szintén tar CO4 keresztezéséből kapott szálkás kalászu utódok megjelenésére magyarázatot adhat egyrészt a *T. timopheevii*-ből származó 6G kromoszóma jelenléte, másrészt feltételezzük, hogy a Chinese Spring CO4-ben levő *Ph1* gén újabb, a kalásztípust is érintő kromoszóma-átrendeződéseket is indukálhat.

4.2.2. Elemzés mikroszatellit markerekkel

A genetikai elemzésekhez a mikroszatellit markerek konvertálhatósága nagyon fontos olyan, búzával közeli (vagy távoli) rokon növények esetében, mint a *T. timopheevii*. Az ilyen növényfajok esetében általában nincsenek genomikus könyvtárak vagy specifikusan a fajra ill. annak változataira térképezett és kialakított SSR markerek. A rokon fajok között is alkalmazható mikroszatellit markerekkel kimutatható és követhető az idegen fajból beépült kromoszómaszakasz vagy maga a kromoszóma.

A munkánk során tesztelt, a búza 6B kromoszómájára térképezett 42 mikroszatellit marker 58%-a szaporított fel terméket a *T. timopheevii* genomban, ezek tehát konvertálhatók a *T. timopheevii* kromoszómára. Leonova et al. (2002) búza B-genomjára térképezett mikroszatellit markerek 55%-át tudták konvertálni a *T. timopheevii*-re. Egy későbbi munkájukban (Leonova et al. 2008) úgy találták, hogy az A-genomra térképezett markerek nagy része polimorf volt az A és A^t-genom között. Ez utóbbi annak is lehet köszönhető, hogy a B és G-genom közötti homeológia kisebb, mint az A és A^t-genom között (Mori et al. 1995; Maestra és Naranjo 1999) illetve, hogy a

B-genom egyes részei gyorsabb változáson mentek keresztül, mint az A és D-genomok (Sourdille et al. 2001). A búzára térképezett SSR markerek ha kevésbé polimorfak is a vele rokon növények tesztelésekor az EST-SSR markerekhez képest, hatékony eszközök a hibridek vizsgálatára (Leonova et al. 2008; Dobrovolskaya et al. 2009).

A munkánk során tesztelt 42 közül mindössze 5 olyan primer volt, amely kizárólag a *T. timopheevii*-re jellemző sávot mutatta, de mivel az „AMP12” törzs, azaz a 6G(6B) szubsztitúciós törzs mintáiban ez nem jelent meg, feltételezhetjük, hogy nem a 6G kromoszómára volt specifikus. A 12 db, a 6G és a 6B kromoszóma között polimorf marker – a null-alléleket is beleértve – alkalmas arra, hogy a különböző nagyságú 6G kromoszóma-szegmentumok kimutathatók legyenek búza háttérben. A töréspontok pontos meghatározásához nagyobb sűrűségű marker-telítettség lenne kívánatos. Gordeeva et al. (2009) szerint a gwm132, gwm361, gwm193 és gwm508 marker nem szaporított fel terméket a *T. timopheevii*-n, a mi eredményeink alapján a gwm132 kivételével a többi 3 marker a *T. timopheevii* 6G kromoszómájának kimutatására alkalmas, éppen a különböző méretű termékek miatt (8. ábra). A gwm613, gwm626, és gwm219 marker az említett szerzők eredményei szerint nem amplifikál terméket a *T. timopheevii*-n (Gordeeva et al. 2009; Leonova et al. 2002, 2008, 2011) ami megegyezik az általunk végzett vizsgálatok eredményeivel. A gdm113 marker szintén polimorf sávokat adott a 6G és 6B kromoszómák között, azonban az ilyen kis mértékű különbség agaróz gélen nem értékelhető, ezért vizsgálatainkban nem használtuk ezt a markert. Leonova et al. mikroszatellit markerekkel (gwm889, gwm1076, gwm219) a *T. timopheevii*-ből származó 6G kromoszóma transzlokációt azonosítottak egy introgressziós vonalban. Ebben a vonalban a 6B kromoszóma egész hosszú karja cserélődött ki a 6G kromoszómára. 6G(6B) szubsztitúció illetve 6B.6G transzlokáció kimutatását ezen kívül citogenetikai módszerrel (C-sávozás) (Badaeva et al.) vagy savas gélelektroforézissel végezték.

Mivel a vizsgálatainkban elsősorban a 6G és 6B kromoszómák közötti polimorf markereket kerestük a 6G-6B transzlokációk kimutatására, a munka e részére gyors, olcsó és megfelelő volt az agaróz gélen történő elválasztás. Az agaróz gélen monomorf termékeket produkáló markerek tesztelését tervezzük jobb felbontású géleken is a transzlokációs töréspontok pontosabb meghatározása érdekében.

Az „AMP12” $\times$ CO4 keresztezés F₅ nemzedékében a polimorf mikroszatellit markerekkel azonosított 6B.6G transzlokációk %-os eloszlása alapján látható, hogy a transzlokáció jelenléte még nem stabil az utódvonalakban. A „C”-vel jelölt növénycsoport esetében (F₄ nemzedék, 5. és 6. táblázat) a vizsgált 20 utód egyikében sem fordult elő transzlokáció (4. melléklet). Ez –

valamint a citogenetikai elemzések, ld. később – bizonyítják azt, hogy a utódok hasadnak (heterozigóták) erre a tulajdonságra nézve. Az F₄ nemzedékben és ezek utódaiban több, a 6B.6G transzlokációra heterozigóta (vagyis monoszómás szubsztitúciót hordozó) növény fordulhat elő. A 6G és a 6B kromoszóma között polimorf mikroszatellit markerek közül azok, amelyek csak a 6B kromoszómán szaporítanak fel terméket, nem mutattak heterozigótákra utaló eredményt. A 6G és a 6B kromoszóma között különböző méretű termékeket felszaporító mikroszatellit markerek közül csupán némely esetben volt tapasztalható a jellegzetes 6G vagy 6B kromoszómára jellemző sáv helyett más méretű termék megjelenése. Ezeket a wmc417 és három esetben a barc198 markerrel lehetett tapasztalni. A wmc417 markerrel észlelt eltéréseket az 5. mellékletben csillaggal jelöltük. A markerekről elmondható tehát, hogy a heterozigóta növényeket nem képesek teljes bizonyossággal kimutatni. A heterozigóták nehéz kimutathatóságának oka lehet a búzában kodomináns, búza-*T. timopheevii* hibrid növényekben azonban domináns markerek jelenléte. A kodomináns SSR markerek ugyanis erősen genom specifikusak, csak az adott genom adott kromoszóma marker lókuszában várható a kodominancia megjelenése az ugyanabba a fajba tartozó genotípusok között. Ebben az esetben viszont két különböző genomot, a 6G és a 6B genomot hasonlítjuk össze, viszont a genomként csak egy-egy genotípust. Így történhet meg az, hogy az adott genomot azonosító marker a másik genom mellett domináns markerként viselkedik.

A vizsgálat során használt markereket – polimorf és nem polimorf markereket egyaránt – 6B nulliszóm búzavonalakon teszteltük, hogy eldönthető legyen, mennyire kötődnek specifikusan a 6B kromoszómához. A 6G és 6B kromoszóma között polimorf mikroszatellit markerek a 6B nulliszóm vonalakon nem szaporítottak fel terméket (9. ábra) vagy nem specifikus sávok jelentek meg. Ennek oka, hogy az SSR primerek esetében az ismert kromoszomális helyzetű markernek a lókusza jellemző kodomináns allélvariánsai mellett megjelennek domináns (van-nincs reakció), csak egy-egy genotípusra jellemző fragmentumok is, amelyek a térképezés során egész máshová, más kromoszómára térképeződhetnek. Így előfordulhat, hogy azok a mikroszatellit primerek, amelyek a 6G és 6B kromoszómákat megkülönböztető markereket generálnak, olyan domináns markereket is felszaporítanak, amelyek nem erre a két kromoszómára kötődnek. Így jelenhetnek meg a nulliszóm vonalak mintáiban is nem az adott kromoszómára specifikus plusz polimorfizmusok. Azokat a markereket, amelyek a nulliszóm vonalakon nem jelentek meg, a leíró referenciában (Pedersen et al. 1996; Röder et al. 1998; Somers et al. 2004) mind csak a 6B kromoszómára térképezték. A többi marker nagy része más búza kromoszómákra is térképeződött, ezért ezek nem specifikusak a 6B-re. A mindegyik minta esetében agaróz gélen azonos méretű terméket felszaporító monomorf markerek között 15-ből 10 markert térképeztek

más kromoszómákra is, és ezek mindegyike konvertálható volt a *T. timopheevii* kromoszómákra is. A 2. csoportba tartozó markerek (barc178, wmc152) szintén konvertálhatók a *T. timopheevii*-re, de mind a 6B mind a 6G kromoszómán ugyanakkora terméket amplifikálnak.

A 12 polimorf mikroszatellit marker alkalmas volt arra, hogy az egymást követő generációkban azonosítsuk a 6B.6G transzlokációt. Az 4.1.6 fejezetben bemutatott 7 db, különböző méretű és elhelyezkedésű transzlokációt hordozó „AMP12” × CO4 keresztezésből származó F₆ mintát vizsgáltunk meg a 12 kiválasztott mikroszatellit markerrel (17. ábra). A felszaporított sávok jól mutatják, hogy melyik növény melyik típusú transzlokációt hordozza.

4.2.3. Citogenetikai elemzések

A szubsztitúciós törzsben levő 6G kromoszóma azonosításához a *T. timopheevii* kariotípusát kellett meghatároznunk. A *T. timopheevii* subsp. *timopheevii* illetve ennek vad őseinek, a *T. timopheevii* subsp. *araraticum*-nak a szomatikus kromoszómáit már azonosították és leírták N-sávozással (Gill és Chen 1987; Jiang és Gill 1994a) és C-sávozással (Hutchinson és Miller 1982; Badaeva et al. 1991, 1994b; Rodríguez et al. 2000). Fluoreszcens és genomi *in situ* hibridizációs módszereket is alkalmaztak már arra, hogy részletesebb leírást lehessen adni a *T. timopheevii* kromoszómákról (Jiang és Gill 1994a, b; Maestra és Naranjo 1999; Rodríguez et al. 2000). A *T. timopheevii* kromoszómákon végrehajtott FISH során a pSc119.2 repetitív próba hibridizációs mintázata szinte teljesen megegyezett a Jiang és Gill (1994a) által publikált mintázattal. Eredményeink azt mutatták, hogy a hibridizációs mintában eltérések az 1A^t kromoszómán voltak láthatók, ahol is egy erős sáv jelent meg a hosszú kar intersticiális részén. A 2G kromoszómán nem volt látható a rövid és a hosszú kar terminális végén hibridizációs jel. A 6G kromoszóma hosszú karjának terminális részén pedig 2 jel jelent meg (12. ábra a). Jiang és Gill szerint (1994c) a *T. timopheevii* 1A^t és 5A^t kromoszómáján is megtalálhatók a 18S·26S riboszómális RNS szekvenciák. Kísérleteink során csak a 6A^t és 6G kromoszómákon, illetve néhány mintában az 5A^t-n figyeltük meg ezeket a jeleket.

Az Afa-family próba mindegyik A^t és néhány G kromoszómához kapcsolódott. A 4G kromoszóma rövid karjának terminális részén igen erős Afa-family hibridizációs jelet lehetett megfigyelni, amely utalhat a 6A^t kromoszómáról a 4G-re transzlokálódott részre. A 4G kromoszómán ugyanis – a búza 4B kromoszómájához hasonlóan – alapvetően nem jelennek meg Afa-family jelek (12. ábra a). Az Afa-family inkább az A^t-genomhoz hibridizál, tehát ez az eredmény alátámasztja Jiang és Gill (1994a) feltételezését.

A *T. timopheevii* (GAA)₇ mintázata néhány kivétellel megegyezik a Gill és Chen (1987) által közölt N-sávozással végzett kísérlet mintázataival. Polimorfizmus az 1GS karon jelent meg, ahol nem voltak terminális (GAA)₇ jelek illetve csak nagyon gyenge mintázatot figyelhettünk meg a 2GS terminális részén. A 4G kromoszómának kiterjedt, erős hibridizációs jelet mutató centroméra régiója van. Az 5G kromoszóma hosszú karján pedig nincs intersticiális sáv. A *Triticeae* fajokra jellemző, hogy a (GAA)₇ hibridizációs jelek és a heterokromatikus N-sávok helyzete megegyezik (Pedersen et al. 1996). A 6A^t és 7A^t kromoszómák kivételével az A^t-genomon nem jelentek meg (GAA)₇ jelek.

A FISH után GISH-t végeztünk ugyanazokon a *T. timopheevii* preparátumokon amely segítségével elkülöníthettük egymástól az A^t és G-genom kromoszómáit. A GISH módszerrel az intergenomikus transzlokációkat is felfedhetjük.

A *T. timopheevii* genotípus, amelyen a GISH-t végeztük, hordozza a fajspecifikus ciklikus transzlokációt, amelyben a 6A^t, 1G és a 4G kromoszóma vesz részt (Jiang és Gill 1994a). A 12. ábra b részének jobb alsó részén kinagyítva láthatók az átrendeződések. A GISH vizsgálattal nem sikerült kimutatni az 1G kromoszómára épült igen kicsiny méretű 4G transzlokációt.

FISH-sel összesen 10, különböző helyről gyűjtött *T. timopheevii* génbanki tételt vizsgáltunk a pSc119.2, Afa-family és a pTa71 próbával, de polimorfizmust nem tapasztaltunk, ami megegyezik más szerzők C-sávozással végzett vizsgálatainak eredményeivel (Badaeva et al. 1995a, 1994b)

Az „AMP12” törzs 6G kromoszómáját sikerült kimutatnunk FISH-sel és ezzel megerősítettük Molnár-Láng et al. (1996) C-sávozással végzett vizsgálatát. Az alkalmazott próbák kombinálásával biztosan elkülöníthető egymástól a 6G és a 6B kromoszóma.

Citogenetikai módszerekkel azokat a „AMP12” × **Chinese Spring CO4** F₅ **nemzedékben** levő utódokat vizsgáltuk, amelyekről előzetesen a polimorf mikroszatellit markerekkel megállapítottuk, hogy 6B.6G transzlokációt hordoznak.

A vizsgált minták közül azokban, amelyekben a rövid kar egy része cserélődött ki a Chinese Spring CO4 rövid karjával (az „E” és „D” jelű minták, 16. ábra), a B-genom 6-os kromoszómáján a *T. timopheevii*-től és a búzafajtáktól (Mv14, Fleischmann-481, MIR808) eltérő mintázat volt megfigyelhető. A *T. timopheevii* és a búzafajták közül az Mv14, a Fleischmann-481 és a MIR808 6G illetve 6B kromoszómájának szatellites végén két igen erős pSc119.2 jel van. A Chinese Spring fajta 6B kromoszómájának szatellitjén azonban nincs ilyen kettős pSc119.2 jel (Schneider et al. 2003). A szatellites régióban megjelenő (GAA)₇ jelek intenzitása is a 6B kromoszómára jellemző ezekben a mintákban (15. ábra 2). Feltételezhető tehát, hogy ez a régió is része a 6G kromoszómára transzlokálódott Chinese Spring CO4 rövid karnak.

Azokban a mintákban, amelyekben a hosszú kar vége cserélődött ki a 6B kromoszómára („B”, „G” és „H” jelű minták, ld. 5. táblázat, 10. ábra), nem lehetett különbséget tenni a 6G, 6B, 6B.6G kromoszómák között. A búza és a *T. timopheevii* kromoszómákon ebben a régióban a felhasznált repetitív próbákkal nem volt kimutatható a különbség.

A csírázó búzaszemek egy részéből - amelyekről az előzőekben taglalt citogenetikai vizsgálathoz - mintát vettünk, felneveltük, DNS kivonást végeztünk és a 12 polimorf molekuláris markerrel teszteltük őket. Azon minták esetében, amelyekben a búza 6B kromoszómájának rövid karjának egy része cserélődött ki a *T. timopheevii*-ből származó 6G kromoszóma rövid karja egy részének helyére, a citogenetikai eredményeket alátámasztották a molekuláris markerekkel kapott mintázatok. Azoknál a mintáknál, ahol a transzlokációt FISH-sel kimutatni nem lehetett (a kromoszóma végén történt a kicserélődés) a markerek adott kromoszómára specifikus termékeinek megjelenéséből következtettünk a transzlokáció jelenlétére.

A különböző genomok kimutatására a GISH lehetne a legkönnyebben alkalmazható módszer, azonban a B és G-genom (bár a köztük levő homeológia kisebb, mint az A és A^t-genom között) között igen nehézkes a GISH módszerrel különbséget tenni. Egyes esetekben azonban a FISH-hez hasonló „finomabb” felbontású módszerek (pl. N-sávozás) is segíthetnek az idegen kromoszóma-szegmentum kimutatásában (Yamamori 1994).

A FISH elemzés felfedte azt is, hogy számos transzlokációt hordozó utód heterozigóta. Ugyanez az 1BL.1RS kromoszómák között is előfordult. Számos utód egyik kromoszómája 1BL.1RS volt, a másik 1B kromoszóma (16. ábra a, b; 10. táblázat). A transzlokációt hordozó szülők utódai közül néhány a hasadás miatt feltételezhetően egy 6B.6G és egy 6B kromoszómát hordoz. A mikroszatellit markerekkel ezeket a heterozigótákat nem lehet elkülöníteni. A transzlokációt hordozó egyedek kiválogatása csak a polimorf mikroszatellit markerek és a citogenetikai módszerek együttes alkalmazásával lehetséges.

4.2.4. Gliadin tartalékfehérjék elemzése

Az idegen fajból származó kromoszómát vagy kromoszóma-szegmentumot tartalmazó introgressziós vonalak vizsgálatához az egyik kiegészítő eszköz lehet a gliadin tartalékfehérjék gélelektroforézises vizsgálata. A-PAGE módszerrel végzett kísérletünk során a 10 *T. timopheevii* genotípus között 7 esetben nem lehetett polimorfizmust kimutatni (6. melléklet). Az alfa/béta-gliadinok régiójában alig észlelhető különbség mutatkozott a TRI7272 számú, eredetileg Etiópiából származó minta, valamint a martonvásári (MvGB573) ismeretlen helyről és a Tápiószéle-i Génbankból (RCAT006794) származó, a volt Szovjetunió területéről gyűjtött mintákban. E két utóbbi, a többi anyagtól eltérő mintázata igen hasonló volt egymáshoz (6. melléklet). A *T. timopheevii* genotípusok közötti kevés polimorfizmus az alfa/béta-gliadinok között is megmutatkozik (Goncharov et al. 2007; Obukhova et al. 2009).

Az „AMP12” és a szintén 6G(6B) szubsztitúciót hordozó „AMP12” $\times$ Mv Csárdás és „AMP12” $\times$ Mv27-2000 utódokban jól elkülöníthető a szubsztitúció a β -gliadinok régióját vizsgálva. A transzlokációt tartalmazó törzsekben magára transzlokációra utaló sávot nem találtunk. Enno et al. (1998) C-sávazással és gliadin gélelektroforézissel egy 6G(6B) szubsztitúciós törzsről megállapították, hogy valójában transzlokációt hordoz. Más szerzőknek szintén a szubsztitúciókat és nem a transzlokációkat (a *T. timopheevii* kromoszómákon belüli átrendeződéseket sem) sikerült kimutatni (Brown-Guedira et al. 1996).

A jelen dolgozatban vizsgált *T. timopheevii*-k egyike sem a szülői genotípus volt, de a genotípusok közötti alacsony polimorfizmus miatt ez az ok elhanyagolható. Az α -és β -gliadin régió értékelhető felbontása egy dimenziós savas karbamidos gélben a kitűzött célok eléréséhez nem megfelelő.

4.2.5. Levélrozsdával szembeni ellenállóképesség

A vizsgált „AMP12” törzs az üvegházi mesterséges és a szántóföldi spontán rozsdafertőzésekkel szemben ellenálló volt. A törzs az üvegházi kísérletekben egyértelműen rezisztens volt, míg a szántóföldi kísérletekben a szemek éréséig (Zadoks skála szerinti 70-79) csak az alsó levelek fertőződtek. Az érés előrehaladtával a fertőzés átterjedt a zászlós levélre is, de ott mindössze néhány pontszerű telep jelent meg. Mivel az „AMP12” előállításában felhasznált búzafajták fogékonynak bizonyultak az üvegházi mesterséges (Mv14) és a szántóföldi spontán (Mv14, Fleischmann-481, Mironovszkaja-808) fertőzések során, feltételezhető, hogy az „AMP12” rezisztenciája a 6G kromoszóma jelenlétével van összefüggésben. Más szerzők

leírása szerint a búza – *T. timopheevii* introgressziós törzsek között a lisztharmattal szemben rezisztens törzsek a 2G(2B), a levélrozsdával szemben ellenálló törzsek pedig a 6G(6B) szubsztitúciót hordozták (Badaeva et al. 1995b; Badaeva et al. 2010; Leonova et al. 2010). Az „AMP12” által hordozott rezisztencia feltehetőleg allélikus a más szerzők által leírt 6G(6B) eredetű rezisztenciával, de ezt csak a szekvencia információ ismeretében lehetne biztosan állítani. Ahhoz, hogy megállapítható legyen, hogy két gén azonos-e vagy egymás allélikus változatai, ismerni kell mindkettőnek a szekvenciáját és megállapítani azt, hogy bizonyos konzervatív szekvenciák jelen vannak-e mindkettőben vagy nem. A szekvencia ismeretében adatbázisból kereshető ki, hogy milyen fokú a homológia a két vizsgált gén szekvenciája – különös tekintettel a konzervatív régiókra – és más levélrozsdá rezisztenciagének között. Ha a homológia szignifikánsan nagyobb, akkor nevezhetők egymás alléljainak. Bizonyos esetekben nem molekuláris eljárás is alkalmazható a kérdésben. Az ún. komplementációs teszttel eldönthető, hogy az adott fenotípusos változás – jelen esetben a levélrozsdával szembeni rezisztencia – ugyanannak a génnek a mutációja-e vagy sem.

Az üvegházi mesterséges levélrozsdá fertőzéses kísérletbe vont törzsek közül azok, amelyek csírákorban ellenállóak voltak, a vernalizáció után is ellenállónak bizonyultak (12. táblázat). E növények többsége a „D” és az „E” jelű „AMP12” $\times$ CO4 utódokra (ld. 5. és 6. táblázat, 16. ábra) jellemző transzlokációkat tartalmazta, tehát a rövid kar egy részét búza 6B kromoszóma alkotja, a többi részét pedig a *T. timopheevii* 6G kromoszóma. Azok a növények, amelyek csíranövény korukban kevésbé voltak ellenállóak, a vernalizáció után szintén fogékonyabbak voltak a levélrozsdá fertőzésre. Ebbe a csoportba tartoztak leginkább az „A” és „B” jelű (ld. 5. és 6. táblázat, 16. ábra), a hosszú kar végén rövid búza 6B, a többi részen *T. timopheevii* 6G kromoszómát hordozó növények. A kontroll növények közül az Mv14 és a Chinese Spring CO4 fogékonyak voltak fiatal korban és vernalizációt követően is. Mivel a 6G kromoszómát vagy annak szegmentumát hordozó növények összességében ellenállóbbnak bizonyultak a vizsgált *T. aestivum* fajtáknál, kijelenthető, hogy a rezisztencia a 6G kromoszómához kötődik.

A *T. timopheevii* genotípusnak csak a vernalizáció utáni ellenállóságát vizsgálhattuk. E genotípuson a levélrozsdá tünetei gyakorlatilag nem jelentek meg.

Az „AMP12” $\times$ Mv Magdaléna, „AMP12” $\times$ Mv Emese, „AMP12” $\times$ Mv27-2000, „AMP12” $\times$ Mv Csárdás, „AMP12” $\times$ Mv Pálma, „AMP12” $\times$ Mv Mezőföld, „AMP12” $\times$ Mv9 keresztezéseiből származó utódok közül csak néhány egyedet vontunk be a mikroszatellit markerekkel való tesztelésbe, így több utódról nem volt információnk arról, hogy hordoznak-e 6G(6B) szubsztitúciót vagy sem. A kontrollok közül az Mv Magdaléna és az Mv Emese

bizonyult a legfogékonyabbnak. Az Mv27-2000 törzs önmagában is ellenálló a levélrozsdával szemben, amit a vizsgálatunk is alátámasztott. A többi, egyébként fogékony kontroll nem fertőződött olyan mértékben, mint a szántóföldi provokációs kísérletekben. Kísérletünkben az „AMP12” és vele keresztezett martonvásári genotípusok utódai egy kivételével mind az átlagosnál ellenállóbb genotípusok között szerepeltek a levélrozsdával szemben.

A levélrozda rezisztencia alaposabb elemzése érdekében tesztelni kell a vizsgálandó genotípusokat és kimutatni, hogy transzlokációt hordoznak-e homozigóta formában, vagy heterozigóták, és a vizsgált növények csak a 6B vagy a 6G kromoszómát hordozzák, esetleg újabb kromoszóma átrendeződés is történhetett. A mesterségesen fertőzött kísérletben megfigyelt változékonyság egyik oka is ez előbbi lehet.

Mivel az „AMP12” törzs – és némelyik utódja - az 1BL.1RS rozs transzlokációt is hordozza, felmerülhet a kérdés, hogy vajon nem a rozs transzlokáción található *Lr26* gén okozza-e az ellenállóságot. Mivel az *Lr26* gén már évtizedekkel ezelőtt elvesztette hatékonyságát a levélrozda fertőzéssel szemben, továbbá a vizsgálatba vont fogékony Mv Magdaléna és Mv Csárdás is hordozza ezt a gént, biztonsággal állítható, hogy az „AMP12” törzs és az rezisztens 6B.6G transzlokációs utódok ellenállóságát nem az *Lr26* gén okozza. Nem zárható azonban ki, hogy az ellenállóságot egy, a *T. timopheevii*-ből származó, eddig ismeretlen *Lr* gén (vagy gének) és az *Lr26* együttes hatása okozza. Leonova et al. (2011) által vizsgált búza – *T. timopheevii* introgressziós törzsekből betegségekkel szemben immunis, rezisztens és mérsékelt rezisztens növényeket szelektált. Leonova ezen ellenálló introgressziós törzsek rezisztenciáját az ún. felnőttkori rezisztencia (APR) típusba sorolta.

Vizsgálatainkban azok a növények, amelyek felnőtt korban ellenállóak voltak, csíranövény korukban sem voltak fogékonyak a betegséggel szemben. Ugyanakkor, egyes megfigyelések szerint a diploid növényekből származó, felnőttkori rezisztenciát meghatározó gének hexaploid háttérben kevésbé hatékonyak (Kerber és Dyck 1969; Dyck és Kerber 1970). Annak a lehetősége, hogy a tetraploid *T. timopheevii*-ből származó rezisztenciagének működése korlátozott-e a búzában, még további vizsgálatok része lehet.

A szántóföldön elvetett „AMP12” × CO4 keresztezés F₄ és F₅ növényeinek csupán az előző nemzedékét vizsgáltuk molekuláris markerekkel a 6G(6B) szubsztitúció meglétére vonatkozóan. A 6G(6B) szubsztitúció heterozigóta formában való jelenléte miatt egy generációváltás alatt is kromoszóma-kiesések történhetnek meg. Ezt példázza a 3. mellékletben látható 46-os számú törzs (sorszáma 42), amelynek öntermékenyítés után kapott utódai között a molekuláris markerekkel végzett vizsgálatok szerint vannak 6G(6B) szubsztitúciót, de csak 6B

kromoszómát hordozók is [(4. melléklet 57-es törzsszám (46E), 58-as törzsszám (46G), 134-es törzsszám (46F), 138-as törzsszám (46C) és 144-es törzsszám (46B)].

A szántóföldi levélrozsdával szembeni ellenállóképesség mértékét az AMP12×CO4 keresztezés 6G(6B) szubsztitúciót hordozó F₄ nemzedéken vizsgáltuk. Az utódok többsége a levélrozsdával szemben ellenállóbb volt, mint a szülő búzafajták (MIR808, Fleischmann-481, Mv14), ami szintén a 6G kromoszóma szerepét erősíti meg a rezisztencia növekedésében (22. ábra). Azoknál az utódoknál, ahol a levélrozsdával szembeni ellenállóképesség mértéke kisebb volt feltételezhető, hogy megváltozott a 6G(6B) szubsztitúció jelenléte, így előfordulhatott monoszómás szubsztitúció is vagy egyéb, az ellenállóképességet hátrányosan befolyásoló kromoszóma-átépülés is. A keresztezési partnerként használt Chinese Spring és a Chinese Spring CO4 betegségekkel szembeni ellenállósága önmagában is gyenge és az 5B kromoszómán levő *Ph1* szuppresszor gén további kromoszómatöréseket és/vagy átrendeződéseket indukálhat.

4.3. Új tudományos eredmények

1. A búza 6B kromoszómájára térképezett mikroszatellit markerek közül 42 marker konvertálhatóságát mértük fel a *T. timopheevii* 6G kromoszómáján. A 42 marker közül 12 polimorf volt a 6G és a 6B kromoszóma között, ezek használhatók a 6G kromoszóma vagy kromoszóma-szegmentum követésére az egymást követő nemzedékekben.
2. A *T. timopheevii* kromoszómákat azonosítottuk a pSc119.2 próba mellett az Afa-family és a (GAA)₇ repetitív próbával. A *T. timopheevii* 4G kromoszómáján Afa-family próbával azonosítottuk a ciklikus transzlokáció során a 4G rövid karjára épült 6A^t kromoszóma-szegmentumot.
3. FISH során használt pSc119.2, Afa-family és (GAA)₇ próbával elkülönítettük a 6G és 6B kromoszómákat.
4. A polimorf molekuláris markerek és a FISH használatával azonosítottuk a 6G kromoszómát búza genomi háttérben is.
5. A *T. timopheevii* 6G kromoszómáját hordozó 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) és a *Ph1* szuppresszor gént tartalmazó Chinese Spring CO4 keresztezéséből származó utódok közül a polimorf mikroszatellit markerekkel azonosítottuk a 6B.6G transzlokációt hordozó egyedeket.
6. FISH alkalmazásával is kimutattuk a 6B.6G transzlokációk közül a 6B és a 6G rövid karok kicserélődésével létrejött átrendeződéseket.
7. Üvegházban és szántóföldön végzett, a 6B.6G transzlokáció típusokat és a 6G(6B) szubsztitúciót hordozó utódok levélrozsdá fertőzéssel szembeni ellenállóképességét vizsgáló kísérletünkből kiderült, hogy a rezisztencia és a *T. timopheevii* 6G kromoszómájának jelenléte közötti kapcsolat egyértelmű.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

1. A búza 6B kromoszómájára térképezett mikroszatellit markerek nagy része konvertálható a *T. timopheevii* 6G kromoszómájára. A 42 marker közül 5 méretbeli különbséget mutat a 6B és a 6G kromoszómák között. A null-allélként jelen levő 7 másik markerrel együtt tehát 12 mikroszatellit marker alkalmas arra, hogy a *T. timopheevii* 6G kromoszómájának vagy kromoszóma-szegmentumának jelenlétét azonosítsuk búza genomi háttérben.
2. FISH-sel is azonosítható a 6G kromoszóma búza háttérben. A 6B.6G transzlokációkat a B és G-genomok közti homeológia miatt genomi *in situ* hibridizációval nehézkes kimutatni. Azokban a 6B.6G transzlokációs utódokban, amelyekben a 6G kromoszóma szatellitje és a rövid kar egy része cserélődött ki a 6B kromoszómára, FISH-sel is azonosítani lehetett a kromoszóma átrendeződését. Azonban több utód a transzlokációt tekintve heterozigóta volt, amit a domináns mikroszatellit markerekkel nem lehetett kimutatni. Az ilyen típusú transzlokációt homozigóta formában hordozó utódok elkülönítéséhez tehát a mikroszatellit markerek és a FISH együttes alkalmazása szükséges. A savas poliakrilamid gélelektroforézis során specifikus sávokat eredményező gliadin tartalékfehérjék elválasztásával vizsgálatainkban csak a szubsztitúciók kimutatása vált lehetővé. A pontosabb, transzlokációkat is kimutató eredményhez jobb felbontású gélen kell futtatni a mintákat illetve a tényleges szülőnövényekből vett növényi anyagokra van szükség.
3. A pSc119.2, Afa-family/(GAA)₇ és a pTa79 repetitív próbák kombinálásával azonosíthatók a *T. timopheevii* kromoszómák. A fajspecifikus intergenomikus transzlokációk közül a FISH-sel csupán a 4G kromoszómára épült 6A⁺ figyelhető meg. A mikroszatellit markerekkel és FISH-sel polimorfizmust nem mutató *T. timopheevii* génbanki tételek között a GISH-sel vizsgálhatók az esetleges eltérő kromoszóma-átépülések.
4. A Chinese Spring CO4 a kromoszómák homeológ párosodását erősen kontrolláló *Ph1* gén szuppresszorát tartalmazza, ezért a vele végzett keresztezések utódaiban a homeológ kromoszómák közti párosodás így lehetővé válik, valamint kialakulhatnak a 6G-6B kromoszómák közötti rekombináns utódok. Ezek utódnövények azonban hordozhatják ezt a szuppresszor gént, aminek következményeként további kromoszóma-átrendeződések jöhetnek létre. A hasznos gént hordozó transzlokációs törzsekben tehát

visszakeresztezésekkel illetve dihaploid vonalak kialakításával kell törekedni arra, hogy a transzlokáció stabil maradjon az utódokban.

5. Az „AMP12” törzs a mesterséges és szántóföldi levélrozsa fertőzésekkel szemben ellenálló volt. Mérsékelt fertőzés a kalászos ideje után alakult ki rajta. Mivel a nemesítésében felhasznált fajták (MIR808, Fleischmann-481, Mv14) szántóföldi körülmények között igen fogékonyak mutatkoztak, feltételezhető volt, hogy a 6G kromoszómához köthető megnövekedett ellenállóképesség. Ezt támasztották alá a *Triticum timopheevii*-ből származó 6G kromoszómát vizsgáló hasonló kutatások eredményeit publikáló más szerzők is. A Chinese Spring CO4-el történő keresztezésből származó utódok között változó volt a levélrozsdával szembeni ellenállóképesség vagy fogékonyág mértéke, de a kontroll fajták fogékonyágának szintjét csak nagyon kevés esetben érték el. Az üvegházi mesterséges fertőzéses kísérletekben a különböző méretű és elhelyezkedésű 6B.6G transzlokációt hordozó utódoknak ugyan több, mint 70%-a ellenálló volt a gombával szemben, de a fennmaradó 30% fogékony illetve nagyon fogékony volt. A szántóföldi kísérletben elvetett utódoknak csak az előző generációját vizsgáltuk és ezek között lehetnek heterozigóták a 6G kromoszóma jelenlétére vonatkozóan. A nagyon fogékony Chinese Spring CO4-gyel való keresztezés után a 6G-6B kromoszóma átrendeződés mellett más kromoszómák is kicserélődhetett, aminek eredményeként az ellenállóság csökkenése jelenhetett meg több esetben. Mivel fenotípusos jegyek alapján nem lehet megállapítani, hogy az adott növény melyik kromoszómát hordozza, ennek megállapítása csak utólag lehetséges. A FISH-sel és mikroszatellit markerekkel ellenőrzött 6B.6G és az 1BL.1RS transzlokációkra nézve homo- és heterozigóta utódok betegségekkel szembeni ellenállóképességét érdemes tovább tesztelni. Az „AMP12” törzs rezisztenciáját még vizsgálandó komplex hatások eredményezhetik. A Chinese Spring CO4 feltételezhető hátrányos hatásai kivédhetők lennének visszakeresztezésekkel vagy dihaploid vonalak előállításával. Ionizáló sugárzás alkalmazásával is előidézhető volna a 6G kromoszóma törése – és ezáltal 6G.6B transzlokációk kialakulása – azonban ennek a módszernek a hátránya az, hogy egyéb, nem homeológ kromoszómák közötti átrendeződések is létrejöhetnek.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A termesztett búza abiotikus stressztényezőkkel szembeni ellenállóképességének növelésére ez egyik lehetséges módszer a búzával rokon vad fajok előnyös tulajdonságainak búzába történő átvitele. Az egyébként hasznos géneket hordozó, vad fajból származó kromoszóma azonban tartalmazhat olyan géneket is, amelyek agronómiailag hátrányos tulajdonságokat határoznak meg. Ezek kiszűrése érdekében bizonyos módszerekkel (pl. *Ph* szuppresszor gént hordozó genotípusokkal való keresztezés, ionizáló sugárzás) interspecifikus kromoszóma átrendeződések hozhatók létre. Az ilyen módon létrejött utódok közül kiválogathatók azok az egyedek, amelyek a vad rokon fajból származó hasznos új tulajdonságot igen, de az esetlegesen előforduló hátrányos jellegzetességeket nem hordozzák. A *Triticum timopheevii* változatainak búzanemesítésben való alkalmazhatóságát már régóta vizsgálják betegségekkel szembeni kimagasló ellenállóképessége miatt.

A dolgozatban célul tűztük ki azt, hogy a Martonvásáron előállított, a *T. timopheevii* 6G kromoszómáját hordozó 6G(6B) szubsztitúciós búzatörzsből („AMP12”) olyan 6G transzlokációkat tartalmazó utódokat állítsunk elő, amelyek ellenállóak a levélrozsa fertőzéssel szemben, de bennük az „AMP12” kevésbé előnyös tulajdonságai nem fejlődnek ki (pl. nagyon kései kalászosítás). Vizsgálataink első lépésének eredményeként polimorf molekuláris markerekkel lehetővé vált a *T. timopheevii*-ből származó 6G kromoszóma követhetősége búza genomi háttérben. Az összesen 42, a 6B kromoszómára térképezett SSR markert 6B nulliszómás vonalakon is teszteltük a specifitás meghatározása céljából. A *T. timopheevii* kromoszómákat GISH-sel valamint FISH-sel azonosítottuk, és meghatároztuk a 6G és a 6B kromoszóma közötti FISH hibridizációs mintázatban mutatkozó különbségeket a pSc119.2, az Afa-family és a (GAA)₇ próba segítségével. A *T. timopheevii* kromoszómák hibridizációs mintázatát részletesen leírtuk. Az „AMP12” törzs és több martonvásári búzafajta keresztezéséből előállított utódokban is vizsgáltuk a 6G kromoszóma-szubsztitúció jelenlétét illetve annak a levélrozsa ellenállóságra gyakorolt hatását.

A 6G kromoszóma törése céljából az „AMP12” törzset korábban keresztezték a *Ph1* szuppresszor gént tartalmazó Chinese Spring CO4 törzsszel. A keresztezésből származó utódnemzedékekből polimorf mikroszatellit markerek alkalmazásával kiválogattuk a 6B.6G transzlokációt hordozó növényeket. A kiválasztott utódokban SSR markerekkel meghatároztuk a transzlokációs töréspontok lehetséges helyét. A 6B.6G transzlokációt tartalmazó növények utódait FISH-sel vizsgáltuk és a pSc119.2 valamint az Afa-family repetitív próba alkalmazásával kimutattuk a 6B és 6G kromoszóma rövid karjai közötti átrendeződéseket.

Savas gélelektroforézissel a 6G kromoszóma jelenlétét tudtuk kimutatni. A kutatás végső célja olyan 6B.6G transzlokációs „AMP12” $\times$ CO4 törzsek szelekciója, amelyek a *T. timopheevii*-re jellemző levélrozsdával szembeni ellenállóképességgel rendelkeznek.

Az „AMP12” törzs ellenállónak bizonyult a levélrozsdá fertőzés ellen szántóföldi körülmények között. A 6B.6G transzlokációs utódok levélrozsdával szembeni rezisztenciáját üvegházban, mesterséges fertőzéssel határoztuk meg vernalizált és nem vernalizált növényeken.

A 6B.6G transzlokációt és 6G(6B) szubsztitúciót hordozó növények nagy része ellenálló volt a levélrozsdá-fertőzéssel szemben, néhány utód kevésbé bizonyult rezisztensnek, de a kontroll fajták fertőzöttségének mértékét nem érték el. A szántóföldi kísérletünkbe elvetett „AMP12” $\times$ CO4 utódoknak az előző generációja a Chinese Spring CO4 6B kromoszómáját, vagy a 6G(6B) szubsztitúciót hordozta.

A 6B.6G transzlokációt hordozó, levélrozsdával szemben különböző fokú rezisztenciát mutató utódnemzedékekben a transzlokációk stabilitásának rögzítése és további vizsgálatok szükségesek.

7. SUMMARY

One possible way of improving the resistance of cultivated wheat to abiotic stress factors is to transfer favourable traits from related wild species into wheat. In addition to carrying useful genes, however, chromosomes originating from wild species may also contain genes coding for agriculturally undesirable traits. Various methods have been elaborated to eliminate these by inducing interspecific chromosome rearrangements (e.g. crossing with genotypes carrying the *Ph* suppressor gene, ionising radiation). The progeny produced in this manner can be selected for plants that carry useful new traits originating from the wild relative without any associated undesirable genes. The use of variants of *Triticum timopheevii* in wheat breeding has long been studied due to its outstanding resistance to a range of diseases.

The aim of the present work was to use the 6G(6B) substitution wheat line (AMP12) developed in Martonvásár, which carries the 6G chromosome from *T. timopheevii*, to produce 6G translocation lines that are resistant to leaf rust but do not possess the less favourable traits of AMP12 (e.g. very late heading). The first step in this procedure was to make it possible to trace the presence of the 6G chromosome from *T. timopheevii* in the genomic background of wheat through the use of polymorphic molecular markers. A total of 42 SSR markers mapped on the 6B chromosome were tested on 6B nullisomic lines in order to test their specificity. The *T. timopheevii* chromosomes were identified with GISH and FISH, and differences between the FISH hybridisation patterns of the 6G and 6B chromosomes were detected using the probes pSc119.2, Afa-family and (GAA)₇. A detailed description was given of the hybridisation patterns of the *T. timopheevii* chromosomes. The presence of the 6G chromosome substitution and its effect on leaf rust resistance were also tested in progeny produced by crossing the AMP12 line with a number of Martonvásár wheat varieties.

In order to induce breaks in the 6G chromosome, the AMP12 line was previously crossed with the CO4 line of Chinese Spring, which contains the suppressor gene *Ph1*. Polymorphic microsatellite markers were used to screen the progeny for plants carrying the 6B.6G translocation. The translocation breakpoints in the selected progeny were identified using SSR markers. The progeny of plants carrying the 6B.6G translocation were analysed with FISH, and rearrangements between the short arms of the 6B and 6G chromosomes were detected using the pSc119.2 and Afa-family repetitive probes. The presence of the 6G chromosome was demonstrated by means of acidic gel electrophoresis. The final aim of the work was to select AMP12 $\times$ CO4 progeny containing the 6B.6G translocation and possessing the leaf rust resistance characteristic of *T. timopheevii*. The AMP12 line proved to be resistant to leaf rust infection under field conditions. The leaf rust

resistance of the 6B.6G translocation progeny was tested in vernalised and non-vernalised plants after artificial inoculation in the greenhouse. The majority of plants carrying the 6B.6G translocation were resistant to leaf rust. The remainder were susceptible, but were not as severely infected as the control varieties. AMP12 $\times$ CO4 progeny carrying either the 6B chromosome of Chinese Spring CO4 or the 6G substitution were sown under field conditions. The resistance of the AMP12 $\times$ CO4 progeny to leaf rust infection could be influenced by the continued presence of the *Ph1* gene in Chinese Spring CO4, which could cause new chromosome rearrangements to take place in consecutive generations.

Further testing and the stabilisation of the 6B.6G translocation in progeny generations exhibiting various degrees of resistance to leaf rust will be required in the future.

MELLÉKLETEK JEGYZÉKE

M1. Irodalomjegyzék

M2. A Chinese Spring6B nulli-6A tetraszóm és a 6B nulli-6D tetraszóm Chinese Spring vonalak FISH hibridizációs képe.

M3. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₃ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M6. Tíz *T. timopheevii* genotípus gliadin tartalékfehérjéinek savas poliakrilamid gélen megjelenő mintázata.

M7. A szántóföldre elvetett, a 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 keresztezés F₄ nemzedékéből csak 6G(6B) szubsztitúciót vagy 6B kromoszómát hordozó utódok kalásztípusa és levélrozsdával szembeni ellenállóképessége.

M1. IRODALOMJEGYZÉK

- AKKAYA M.S., BHAGWAT A.A., CREGAT P.B. (1992): Length Polymorphisms of Simple Sequence Repeat DNA in Soybean. *Plant J* 3: 175-182. p.
- ALLARD R.W. (1949): A cytogenetic study dealing with transfer of genes from *Triticum timopheevii* to common wheat by backcrossing. *J Agr Res* 78: 33-64. p.
- ALLARD, R.W., SHANDS, R.G. (1954): Inheritance of resistance to stem rust and powdery mildew in cytologically stable spring wheats derived from *Triticum timopheevii*. *Phytopathology* 44: 266-274. p.
- ANAMTHAWAT-JÓNSSON K., SCHWARZACHER T., LEITH A.R., BENNETT M.D., HESLOP-HARRISON J.S. (1990): Discrimination between closely related *Triticeae* species using genomic DNA as a probe. *Theor Appl Genet* 79: 721-728. p.
- ARRIGHI F.E., HSU T.C. (1971): Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics* 10: 81-86. p.
- AYLIFFE M., SINGH R., LAGUDAH E. (2008): Durable resistance to wheat stem rust needed. *Curr Opin Plant Biol* 11: 187–192. p. doi:10.1016/j.pbi.2008.02.001
- BADAEVA E.D., SHKUTINA F.M., BOGDEVICH I.N., BADAEV N.S. (1986): Comparative study of *Triticum aestivum* and *T. timopheevii* genomes using C-banding techniques. *Plant Syst Evol* 154: 183-194. p.
- BADAEVA E.D., BUDASHKINA E.B., BADAEV N.S., KALININA N.P., SHKUTINA F.M. (1991): General features of chromosome substitutions in *Triticum aestivum* × *T. timopheevii* hybrids. *Theor Appl Genet* 82: 227-232. p.
- BADAEVA E.D., FILATENKO A.A., BADAEV N.S. (1994a): Cytogenetic investigation of *Triticum timopheevii* (Zhuk.) Zhuk. and related species using the C-banding technique. *Theor Appl Genet* 89: 622-628. p.
- BADAEVA E.D., BADAEV N.S., GILL B.S., FILATENKO A.A. (1994b): Intraspecific karyotype divergence in *Triticum araraticum* (Poaceae). *Plant Syst Evol* 192: 117-145. p.
- BADAEVA E.D., JIANG J., GILL B.S.: (1995a) Detection of intergenomic translocations with centromeric and noncentromeric breakpoints in *Triticum araraticum*: mechanism of origin and adaptive significance. *Genome* 38: 976-981. p.
- BADAEVA E.D., BADAEV N.S., ENNO T.M., ZELLER F.J., PEUSHA H.O. (1995b) Chromosome substitution in progeny of hybrids *Triticum aestivum* × *Triticum timopheevii*, resistant to brown rust and powdery mildew. *Russ J Genet* 31:75-77. p.
- BADAEVA E.D., PROKOFIEVA Z.D., BILINSKAYA E.N., BOLENKOVA L.A., SOLOMATIN D.A., ZELENIN A.V., PUKHALSKIY V.A. (2000): Cytogenetic Analysis of Hybrids Resistant to Yellow Rust and Powdery Mildew Obtained by Crossing Common Wheat (*Triticum aestivum* L., AABBDD) with Wheats of the Timopheevii Group (AtAtGG). *Russ J Genet* 1663-1673. p.
- BADAEVA E.D., BUDASHKINA E.B., BILINSKAYA E.N., PUKHALSKIY V.A. (2010): Intergenomic chromosome substitutions in wheat interspecific hybrids and their use in the development of a genetic nomenclature of *Triticum timopheevii* chromosomes. *Russ J Genet* 46: 769-785. p.
- BAI D., KNOTT D.R., ZALE J. (1998): The transfer of leaf rust resistance from *Triticum timopheevii* to durum and bread wheat and the location of one gene on chromosome 1A. *Can J Plant Sci* 78: 683-687. p.
- BEDBROOK J., JONES J., O'DELL M., THOMPSON R.D., FLAVELL R.B. (1980): A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species. *Cell* 19:545–560. p.
- BEDŐ Z., BALLA L., SZUNICS L., LÁNG L., KRAMARIKNÉ KISSIMON J. (1993): A martonvásári 1B/1R transzlokációs búzafajták agronómiai tulajdonságai.

- Növénytermelés* 42: 391-398. p.
- BELEA A. (1961): Cercetari privind amfidiploidul *Triticum aestivotimopheevi* in F2 si in generatiile urmatoare. *Probl Agric* 8:1-21. p.
- BELEA A. (1976): Fajkeresztezések citogenetikája a *Triticinae* alakkörben. Akad. dokt. ért. TMB. Budapest, 1-78. p.
- BELEA A. (1986): Faj-és nemzetségkeresztezések a növényvilágban. Budapest, Mezőgazda kiadó, 235 p.
- BELEA A., FEJÉR O. (1980): Evolution of wheat (*Triticum* L.) in respect to recent research. *Acta Agron Acad Sci Hung* 20: 306-315. p.
- BOTSTEIN D., WHITE R.L., SKOLNICK M., DAVIES R.W. (1980): Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Human Genet* 32: 314-331. p.
- BRASILEIRO-VIDAL A.C., CUADRADO A., BRAMMER S.P., ZANATTA A.A.C., PRESTES A.M., MORAES-FERNANDES M.I.B., GUERRA M. (2003): Chromosome characterization in *Thinopyrum ponticum* (*Triticeae*, *Poaceae*) using in situ hybridization with different DNA sequences. *Genet Mol Biol* 26: 505-510. p.
- BROWN-GUEDIRA G.L., BADAIEVA E.D., GILL B.S., COX T.S. (1996): Chromosome substitutions of *Triticum timopheevii* in common wheat and some observations on the evolution of polyploid wheat species. *Theor Appl Genet* 93: 1291-1298. p.
- BROWN-GUEDIRA G.L., SINGH S., FRITZ A.K. (2003): Performance and mapping of leaf rust resistance transferred to wheat from *Triticum timopheevii* subsp. *armeniicum*. *Phytopathology* 93: 784-789. p.
- BURR B., EVOLA S.V., BURR, F.A., BECKMANN J.S. (1983): The application of restriction fragment length polymorphism to plant breeding. In: SETLOW J.K. és HOLLAENDER A. (Szerk.): *Genetic Engineering: Principles and Methods*. Plenum Press, New York (5) p.45-59.
- CAO W., HUGHES G.R., MA H., DONG Z. (2001): Identification of molecular markers for resistance to *Septoria nodorum* blotch in durum wheat. *Theor Appl Genet* 102: 551-554. p.
- CASPERSSON T., FARBER S., FOLEY G.E., KUDYNOWSKI J., MODEST E.J., SIMONSSON E., WAGH U., ZECH L. (1968): Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Exp Cell Res* 49: 219-222. p.
- CHHUNEJA P., KAUR S., GOEL R.K., AGHAEE-SARBARZEH M., PRASHAR M., DHALIWAL H.S. (2008): Transfer of leaf rust and stripe rust resistance from *Aegilops umbellulata* Zhuk. to bread wheat. *Genet Resour Crop Evol* 55: 849-859 p.
- CONTENTO A., HESLOP-HARRISON J.S., SCHWARZACHER T. (2005): Diversity of a major repetitive DNA sequence in diploid and polyploid *Triticeae*. *Cytog Genome Res* 109: 34-42. p.
- D. NAGY E., MOLNÁR-LÁNG M., LINC G., LÁNG L. (2002): Identification of wheat-barley translocations by sequential GISH and two-colour FISH in combination with the use of genetically mapped barley SSR markers. *Genome* 45: 1238-1247. p.
- DEDKOVA O.S., BADAIEVA E.D., MITROFANOVA O.P., ZELENIN A.V., PUKHALSKIY V.A. (2004): Analysis of Intraspecific Divergence of Hexaploid Wheat *Triticum spelta* L. by C-Banding of Chromosomes. *Russ J Genet* 40:1111-1126. p.
- DENNIS E.S., GERLACH W.L., PEACOCK W.J. (1980): Identical polypyrimidine-polypurine satellite DNAs in wheat and barley. *Heredity*, 44: 349-366. p.
- DOBROVOLSKAYA O.B., SURDII P., BERNARD M., SALINA E.A. (2009): Chromosome Synteny of the A Genome of Two Evolutionary Wheat Lines, *Russ J Genet* vol. 45: 1368-1375. p.
- DURNAM D.M., GELINAS R. MYERSON D. (1985): Detection of species specific chromosomes in somatic cell hybrids. *Somat Cell Molec Genet*

- 11: 571-577. p.
- DVOŘÁK J. (1977): Transfer of leaf rust resistance from *Aegilops speltoides* to *Triticum aestivum*. *Can J Genet Cytol* 19:133-141 p.
- DVOŘÁK J. (1998): Genome analysis in the *Triticum-Aegilops* alliance. In: SLINKARD A. E. (Szerk.). University of Saskatchewan, Canada, University Extension Press *P 9th Int Wheat Genet Symp* 1: 8-11. p.
- DVOŘÁK J. (2002): Genome Analysis of the Polyploid Species in the *Triticum-Aegilops* Alliance, *P 9th Int Wheat Genet Symp* 1: 8-11. University of Saskatchewan, Canada, University Extension Press
- DVOŘÁK J., APPELS R. (1982): Chromosome and nucleotide sequence differentiation in genomes of polyploid *Triticum* species. *Theor Appl Genet* 63: 349–360. p.
- DVOŘÁK J., ZHANG H.B. (1990): Variation in repeated nucleotide sequences sheds light on the phylogeny of the wheat B and G genomes. *P Natl Acad Sci USA* 87: 9640–9644. p.
- DVOŘÁK J., DI TERLIZZI P., ZHANG, H.B., RESTA P. (1993) The evolution of polyploid wheat: identification of the A genome donor species. *Genome* 36: 21-31. p.
- DYCK P.L., SAMBORSKI D.J., ANDERSON R.G. (1966): Inheritance of adult-plant resistance derived from the common wheat varieties Exchange and Frontana. *Can J Genet Cytol* 8: 665-671. p.
- DYCK P.L., KERBER E.R. (1970): Inheritance in hexaploid wheat of adult-plant leaf rust resistance derived from *Aegilops squarrosa*. *Can J Genet Cytol* 12: 175-180. p.
- ENNO T.R., PEUSHA H., TIMOFEYEVA L., TOHVER M., YAKOBSON I., PRIILINN O. (1998): Identification of chromosomal translocations in common wheat, derivative of *Triticum timopheevii*. *Acta Agron Hung.* 46: 209-216. p.
- FEINBERG A.P., VOGELSTEIN B. (1983): A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal Biochem* 132: 6-13. p.
- FELDMAN M. (1966): Identification of Unpaired Chromosomes in F1 Hybrids Involving *T. aestivum* and *T. timopheevii*. *Can J Genet Cytol* 8: 144-151. p.
- FELDMAN M. (2001): Origin of Cultivated Wheat. In: BONJEAN A.P. és ANGUS W.J. (Szerk.) *The World Wheat Book. A history of wheat breeding*. Paris: Lavoisier 1131. p.
- FELDMAN M., LUPTON F.G.H., MILLER T.E. (1995): Wheats. In SMARTT J. és SIMMONDS N.W.(Szerk.): *Evolution of Crop Plants*. London: Longman, 184–192. p.
- FENG J., MA H., HUGHES G.R. (2004): Genetics of resistance to *Stagonospora nodorum* blotch of hexaploid wheat. *Crop Sci* 44: 2043-2048. p.
- FRIEBE B., ENDO T.R., GILL B.S. (1996): Chromosome banding methods. In: FUKUI K. és NAKAYAMA S. (Szerk.): *Plant chromosomes: Laboratory methods*. CRC press, Boca Raton, New York, London, Tokio, 123-153. p
- FRIEBE B., MUKAI Y., DHALIWAL H.S., MARTIN T.J. (1991): Identification of alien chromatin specifying resistance to wheat streak mosaic and greenbug in wheat germplasm by C-banding and *in situ* hybridization. *Theor Appl Genet* 81:381–389. p.
- FRIEBE B., ZELLER F.J., MUKAI Y., FORSTER B.P., BARTOS P. McINTOSH R.A. (1992): Characterization of rust-resistant wheat-*Agropyron intermedium* derivatives by C-banding, *in situ* hybridization and isozyme analysis. *Theor Appl Genet* 83: 775-782. p.
- FRIEBE B., JIANG J., GILL B.S. DYCK P.L. (1993): Radiation induced nonhomoeologous wheat – *Agropyron intermedium* chromosomal translocations conferring resistance to leaf rust. *Crop Sci* 34:400-404. p.
- FRIEBE B., GILL B.S. (1994): C-band polymorphism and structural rearrangements detected in common wheat. *Euphytica* 78: 1-5. p.
- GÁL M., VIDA G., UHRIN A., BEDŐ Z., VEISZ O. (2007): Incorporation of leaf rust resistance genes into wheat genotypes using marker-assisted selection. *Acta Agron* 55:149-156. p.

- GALL J. G. PARDUE M. L. (1969): Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 63: 378–383. p.
- GARCIA-RADA G., VALLEGA J., LOEGERING W.Q., STAKMAN E.C. (1942): An unusually virulent race of wheat stem rust. *Phytopathology* 32: 720-726. p.
- GERLACH W.L. (1977): N-banded karyotype of wheat species. *Chromosoma* 62:49-56. p.
- GERLACH W.L., BEDBROOK J.R. (1979): Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. *Nucleic Acids Res* 7:1869–1885.p.
- GILL B.S. (1988): Chromosome banding methods, standard chromosome band nomenclature, and application in cytogenetic analysis. In: HEYNE (Szerk.): *Wheat and wheat improvement*. Madison, Wisconsin 243-254. p.
- GILL B.S.CHEN P.D. (1987): Role of cytoplasm-specific introgression in the evolution of the polyploid wheats. *P Natl Acad Sci USA* 84: 6800-6804. p.
- GILL B. S., KIMBER G. (1974a) The Giemsa C-banded karyotype of rye. *P Natl Acad Sci USA* 71: 1247-1249. p.
- GILL B.S., KIMBER G. (1974b): Giemsa C-banding and the evolution of wheat. *P Natl Acad Sci USA* 71: 4086-4090. p.
- GILL B. S., KIMBER G. (1974c): A Giemsa C-banding technique for cereal chromosomes. *Cereal Res Commun* 2: 87-94. p.
- GILL B.S., KIMBER G. (1977): Recognition of translocations and alien chromosome transfers in wheat by the Giemsa C-banding technique. *Crop Sci* 17: 264-266. p.
- GONCHAROV N.P., BANNIKOVA S.V., KAWAHARA T. (2007): Wheat artificial amphiploids involving the *Triticum timopheevii* genome: their studies, preservation and reproduction. *Genet Resour Crop Ev* 54: 1507-1516. p.
- GORDEEVA E.I., LEONOVA I.N., KALININA N.P., SALINA E.A. BUDASHKINA E.B. (2009): Comparative Cytological and Molecular Analysis of Common Wheat Introgression Lines Containing Genetic Material of *Triticum timopheevii*. *Russ J Genet* 45: 1428-1437. p.
- GUYOMARC'H H., SOURDILLE P., EDWARDS K.J., BERNARD M. (2002a): Characterization of polymorphic microsatellite markers from *Aegilops tauschii* and transferability to the G-genome of bread wheat. *Theor Appl Genet* 104: 1164-1172. p.
- GUYOMARC'H H., SOURDILLE P., EDWARDS K.J., BERNARD M. (2002b): Studies of the transferability of microsatellites derived from *Triticum tauschii* to hexaploid wheat and to diploid related species using amplification, hybridization and sequence comparisons. *Theor Appl Genet* 105: 736-744. p.
- GUPTA R. B., SHEPHERD K. W. (1992): Identification of rye chromosome 1R translocations and substitutions in hexaploid wheats using storage proteins as genetic markers. *Plant Breeding* 109: 130-140. p.
- GUPTA P.K., VARSHNEY R.K. (2000): The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica* 113:163–185. p.
- GUPTA P.K., RUSTGI S., SHARMA S., SINGH R., KUMAR N., BALYAN H.S. (2003): Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat. *Mol Genet Genom* 270: 315–323. p.
- HADLACZKY G., BELEA A. (1975): C-banding in wheat evolutionary cytogenetics. *Plant Sci Lett* 4:85-88. p.
- HAIDER N., NABULKSI I., MIRALI N. (2010): Comparison of the efficiency of A-PAGE and SDS-PAGE, ISSRs and RAPDs in resolving genetic relationships among *Triticum* and *Aegilops* species. *Genet Resour Crop Evol* 57:1023-1039 p.
- HAJÓSNE Dr. NOVÁK M. (1999): Genetikai variabilitás a növénynevelésben. Budapest, Mezőgazda Kiadó, 142 p.

- HART H. (1943): Stem rust on *Triticum timopheevi*. *Phytopathology* 33: 335-337. p.
- HESLOP-HARRISON J.S., LEITCH A.R., SCHWARZACHER T., ANAMATHWAT-JÓNSSON K. (1990): Detection and characterization of 1B/1R translocations in hexaploid wheat. *Heredity* 65, 385-92. p.
- HESZKY L. (1970): Fajkeresztezések a *Lolium* és *Festuca* nemzetségeken belül és a nemzetségek között. I. A nemzetséghibridiek vizsgálata. *Agrobotanika* XII: 71-86. p.
- HESZKY L. (1971): Fajkeresztezések a *Lolium* és *Festuca* nemzetségeken belül és a nemzetségek között. I. A keresztezések módszere és eredményei. *Agrobotanika* XII: 69-77. p.
- HUANG S., SIRIKHACHORNKIT A., SU X., FARIS J., GILL B., HASELKORN R., GORNICKI P. (2002): Genes Encoding Plastid Acetyl-CoA Carboxylase and 3-Phosphoglycerate Kinase of the *Triticum/Aegilops* Complex and the Evolutionary History of Polyploid Wheat. *P Natl Acad Sci USA* 99: 8133–8138. p.
- HUTCHINSON J., MILLER T.E. (1982): Comparison of the chromosomes of *Triticum timopheevi* with related wheat using the techniques of C-banding and *in situ* hybridization. *Theor Appl Genet* 64: 31-40.p.
- IQBAL N., READER S.M., CALIGARI P.D.S., MILLER T.E. (2000): Characterization of *Aegilops uniaristata* chromosomes by comparative DNA marker analysis and repetitive DNA sequence *in situ* hybridization. *Theor Appl Genet* 101:1173–1179.p.
- JACKSON E.A., MOREL M.H., SONTAG-STROHM T., BRANLARD G., METAKOVSKY E. V., RADELLI R. (1996): Proposal for combining the classification systems of alleles Gli-1 and Glu-3 loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Genet & Breeding* 50: 321-336. p.
- JÄRVE K., PEUSHA H.O., TSYMBALOVA J. (2000): Chromosomal Location of a *Triticum timopheevii*-Derived Powdery Mildew Resistance Gene Transferred to Common Wheat. *Genome*, 43: 377-381. p.
- JÄRVE K, JAKOBSON I., ENNO T. (2002): Tetraploid wheat species *Triticum timopheevii* and *Triticum militinae* in common wheat improvement. *Acta Agron Hung* 50: 463-477. p.
- JIN Y., PRETORIUS Z.A., SINGH R.P. (2007): New virulence within race TTKS (Ug99) of the stem rust pathogen and effective resistance genes. *Phytopathology* 97: S137. p.
- JIANG J., GILL B.S. (1994a): Different species-specific chromosome translocations in *Triticum timopheevii* and *T. turgidum* support the diphyletic origin of polyploid wheats, *Chromosome Res* 2: 59–64. p.
- JIANG J. GILL B.S. (1994b): Nonisotropic *in situ* hybridization and plant genome mapping: the first 10 years. *Genome* 37: 717-725. p.
- JIANG J., GILL B.S. (1994c): New 18S ·26S ribosomal RNA gene loci: chromosomal landmarks for the evolution of polyploid wheats. *Chromosoma* 103: 179-185. p.
- JIANG J, FRIEBE B, GILL B.S. (1994): Chromosome painting of Amigo wheat. *Theor Appl Genet* 89: 811–813. p.
- JIANG J., FRIEBE B., DHALIWAL H.S., MARTIN T.J., GILL B.S. (1993): Molecular cytogenetic analysis of *Agropyron elongatum* chromatin in wheat germplasm specifying resistance to wheat streak mosaic virus. *Theor Appl Genet* 86: 41-48. p.
- JOHN H., BIRNSTEIL M.L., JONES K.W. (1969): RNA-DNA hybrids at cytological levels. *Nature* 223: 582-587. p.
- JONES R.W., TAYLOR N.W., SENTI F.R. (1959): Electrophoresis and fractionation of wheat gluten. *Arc Biochem Biophys* 84, 363-376. p.
- KERBER E.R., DYCK P.L. (1969): Inheritance in hexaploid wheat of leaf rust resistance and other characters derived from *Aegilops squarrosa*.

- Can J Genet Cytol* 12: 175-180. p.
- KIHARA H., LILIENFELD F. (1934): Kerneinwanderung und Bildung syndiploider Pollenmutterzellen bei dem F1-Bastard *Triticum aeolipoides* × *Aegilops squarrosa*. *Jpn J Genet.* 10: 1-28. p.
- KISS E. (2005): Molekuláris növénynevelítés. Egyetemi jegyzet. SZIA-MKK Genetika és Növénynevelítés Tanszék. 45 p.
- KOLMER J.A. (1996): Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annu Rev Phytopathol* 34: 435-455. p.
- LAPITAN N.L.V., SEARS R.G., RAYBURN A.L., GILL B. S. (1986): What-rye translocations. Detection of chromosome breakpoints by *in situ* hybridization with a biotin-labeled DNA probe. *J Hered* 77:415-419. p.
- LÁNG L., BEDŐ Z. (2008): A hazai búzanemesítés stratégiai jelentősége. 19-25 p. In: DUDITS D. (szerk.) *A búza nevelítésének tudománya*. Szeged, MTA Szegedi Biol. Központ, 334 p.
- LANGER-SAFER P.R., LEVINE M. WARD D. (1982): Immunological method of mapping genes on *Drosophila* polytene chromosomes. *P Natl Acad Sci USA* 79: 4381-4385. p.
- LÁNGNÉ MOLNÁR M., LINC G., KŐSZEGI B., D. NAGY E. SUTKA J. (1999): Idegen fajú kromoszómák, kromoszóma-szegmentumok beépítése a búzába és kimutatásuk molekuláris citogenetikai módszerekkel. 100-106 p. In: BEDŐ Z. (szerk.) *Ötven éves a Magyar Tudományos Akadémia Mezőgazdasági Kutatóintézete*. Jubileumi Tudományos Ülés 1999. június 2-3. 215 p.
- LE H.T., ARMSTRONG K.C., MIKI B. (1989): Detection of rye DNA in wheat-rye hybrids and wheat translocation stocks using total genomic DNA as a probe. *Plant Mol Biol Rep* 7: 150-158. p.
- LE H. T., ARMSTRONG K.C. (1991). *In situ* hybridization as a rapid means to assess meiotic pairing and detection of alien DNA transfers in interphase cells of wide crosses involving wheat and rye. *Mol Gen Genet* 225: 33-37. p
- LEITCH I.J., LEITCH A.R., HESLOP-HARRISON J.S. (1991): Physical mapping of plant DNA sequences by simultaneous *in situ* hybridization of two differently labelled fluorescent probes. *Genome* 34: 329-333. p.
- LEITCH I.J., HESLOP-HARRISON J.S. (1992): Physical mapping of the 18S-5.8S-26S rRNA genes in barley by *in situ* hybridization. *Genome* 35:1013-1018. p.
- LEONOVA I.N., RÖDER M.S., BUDASHKINA E.B., KALININA N.P., SALINA E.A. (2002): Molecular Analysis of Leaf Rust Resistant Introgression Lines Obtained by Crossing of Hexaploid Wheat *Triticum aestivum* with Tetraploid Wheat *Triticum timopheevii*. *Russ J Genet* 38: 1648-1655. p.
- LEONOVA I.N., BÖRNER A., BUDASHKINA E.B., KALININA N.P., RÖDER M.S. SALINA E.A. (2004): Identification of microsatellite markers for leaf rust resistance gene introgressed into common wheat from *Triticum timopheevii*. *Plant Breeding* 123: 93-95. p.
- LEONOVA I.N., LAIKOVA L.I., POPOVA O.M., UNGER O., BÖRNER A., RÖDER M.S. (2007): Detection of quantitative trait loci for leaf rust resistance in wheat -*T. timopheevii*/*T. tauschii* introgression lines. *Euphytica* 155: 79-86. p.
- LEONOVA I.N., RÖDER M.S., KALININA N.P. BUDASHKINA E.B. (2008): Genetic Analysis and Localization of Loci Controlling Leaf Rust Resistance of *Triticum aestivum* × *Triticum timopheevii* Introgression Lines. *Russ J Genet* 44: 1431-1437. p.
- LEONOVA I.N., BUDASHKINA E.B., FLATH K., WEIDNER A., BÖRNER A. RÖDER M.S. (2010): Microsatellite Mapping of a Leaf Rust Resistance Gene transferred to Common Wheat from *Triticum timopheevii*. *Cereal Res Commun* 38: 211-219. p.

- LEONOVA I.N., BUDASHKINA E.B., KALININA N.P., RÖDER M.S., BÖRNER A., SALINA E.A. (2011): *Triticum aestivum*-*Triticum timopheevii* Introgression Lines as a Source of Pathogen Resistance Genes. *Czech J. Genet. Plant Breed.* (Special issue) 47: S49-S55. p.
- LEVY A.V., FELDMAN M. (2002): The impact of polyploidy on grass genome evolution. *Plant Phys* 130: 1587-1593. p.
- LINC G., FRIEBE B., KYNAST R.G., MOLNÁR-LÁNG M., KŐSZEGI B., SUTKA J. GILL B.S. (1999): Molecular cytogenetic analysis of *Aegilops cylindrica* Host. *Genome* 42: 497-503. p.
- LITT M., LUTY J.A. (1989): A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet* 44: 388-396. p.
- LIU C.J., ATKINSON M.D., CHINOY C.N., DEVOS K.M., GALE M.D. (1992): Non-homoeologous Translocations between Group 4, 5 and 7 Chromosomes within Wheat and Rye, *Theor Appl Genet* 83: 305–312. p.
- LIU Z.W., BIYASHEW R.M., SAGHAI MAROOF M.A. (1996): Development of simple sequence repeat markers and their integration into a barley linkage map. *Theor Appl Genet* 93: 869–876. p.
- LUKASZEWSKI A.J., LAPINSKI B. RYBKA K. (2005): Limitations of *in situ* hybridization with total genomic DNA in routine screening for alien introgressions in wheat. *Cytogen Genome Res* 109: 373-377. p.
- LUTY J.A., GUO Z., WILLORD H.F., LEDBETTER D.H., LEDBETTER S. LITT M. (1990): Five polymorphic microsatellite VNTRs on the human X chromosome. *Am J Hum Genet* 46: 776-783. p.
- LUTZ J., HSA S.L.K., LIMPET E., ZELLER F.J. (1994) Powdery mildew resistance in *Aegilops tauschii* Coss. and synthetic hexaploid wheats. *Genet Resour Crop Ev* 41: 151-158. p.
- LUTZ J., HSAM S.L.K., LIMPET E., ZELLER F.J.: (1995) Chromosomal location of powdery mildew resistance genes in *Triticum aestivum* L. (common wheat). 2. Genes *Pm2* and *Pm19* from *Aegilops squarrosa* L. *Heredity* 74: 152-156. p.
- MA H., HUGHES G.R. (1995): Genetic control and chromosomal location of *Triticum timopheevii*-derived resistance to *Septoria nodorum* blotch in durum wheat. *Genome* 38: 332-338. p.
- MAESTRA B., NARANJO T. (1999): Structural chromosome differentiation between *Triticum timopheevii* and *T. turgidum* and *T. aestivum*. *Theor Appl Genet* 98: 744-750. p.
- MANUELIDIS L. LANGER-SAFER P.R., WARD D. (1982): High resolution mapping of satellite DNA using biotin labeled DBA probes. *J Cell Biology* 95: 619-625. p.
- MAXWELL J.J., LYERLY J.H., COWGER C., MARSHALL D., BROWD-GUEDIRA G., MURPHY J.P. (2009): *MIAG12*: a *Triticum timopheevii*-derived powdery mildew resistance gene in common wheat on chromosome 7AL. *Theor Appl Genet* 119: 1489-1495. p.
- MAY C.E., WRAY F. (1990): A rapid technique for the detection of wheat–rye translocation chromosomes. *Genome*, 1991, 34: 486-488. p.
- McINTOSH R.A., GYARFAS J. (1971) *Triticum timopheevii* as a source of resistance to wheat stem rust. *Z. Pflanzenzücht* 66: 240-248. p.
- McINTOSH R.A. (1983): Genetic and cytogenetic studies involving *Lr18* for resistance to *Puccinia recondita*. In: SAKAMOTO S. (Szerk.): *Proceedings of the Sixth International Wheat Genetics Symposium*. Fac. of Agriculture, Kyoto Univ., Japan, 777-783. p.
- McINTOSH R.A., HART G.E. Gale M.D. (1988): Catalogue of gene symbols for wheat: 1988 Supplement. *Cereal Res Commun* 16: 121-137. p.

- McINTYRE C.L., PEREIRA S., MORAN L.B., APPELS R. (1990): New *Secale cereale* (rye) DNA derivatives for the detection of rye chromosome segments in wheat. *Genome* 33: 635–640. p.
- McNEIL J.A., JOHNSON C.V., CARTER K.C., SINGER R.H. LAWRENCE J.B. (1991): Localizing DNA and RNA within nuclei and chromosomes by fluorescence *in situ* hybridization. *Genet Anal Tech Appl* 8: 41–58. p.
- METZGAR D., BYTOF J., WILLS C. (2000): Selection against frameshift mutations limits microsatellite expansion in coding DNA. *Genome Res* 10: 72–80. p.
- MOLNÁR-LÁNG M., KŐSZEGI B., LINC G., SUTKA J. (1996): Búza (*Triticum aestivum* L.)/*Triticum timopheevii* Zhuk. addíció, szubsztitúció és búza/rozs transzlokáció kimutatása C-sávzóással és *in situ* hibridizációval. *Növénytermelés* 45: 237–245. p.
- MOLNÁR-LÁNG M., LINC G., FRIEBE B., SUTKA J. (2000a): Detection of wheat-barley translocations by genomic *in situ* hybridization in derivatives of hybrids multiplied *in vitro*. *Euphytica* 112: 117–123. p.
- MOLNÁR-LÁNG M., LINC G., LOGOJAN, A., SUTKA, J. (2000b): production and meiotic pairing behaviour of new hybrids of winter wheat (*Triticum aestivum*) x winter barley (*Hordeum vulgare*). *Genome* 43: 1045–1054. p.
- MOLNÁR-LÁNG M., LINC G., NAGY E.D., SCHNEIDER A., MOLNÁR I. (2002): Molecular cytogenetic analysis of wheat-alien hybrids and derivatives. *Acta Agron Hung* 50: 303–311. p.
- MOLNÁR I., LINC G., DULAI S., NAGY E.D., MOLNÁR-LÁNG M. (2007): Ability of chromosome 4H to compensate for 4D in response to drought stress in a newly developed and identified wheat-barley 4H(4D) disomic substitution line. *Plant Breeding* 126: 369–374. p.
- MORGANTE M., OLIVIERI A.M. (1993): PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J* 3: 175–182. p.
- MORI N., LIU, Y.G., TSUNEWAKI, K. (1995): Wheat Phylogeny Determined by RFLP Analysis of Nuclear DNA: 2. Wild Tetraploid Wheats, *Theor Appl Genet* 90: 129–134. p.
- MUKAI Y., FRIEBE B., HATCHETT J.H., GILL B.S (1991): Detection of barley chromatin added to wheat by *in situ* hybridization. *Genome* 34: 448–452. p.
- MUKAI Y., NAKAHARA Y., YAMAMOTO M. (1993): Simultaneous discrimination of the three genomes in hexaploid wheat by multicolor fluorescence *in situ* hybridization using total genomic and highly repeated DNA probes. *Genome* 36: 489–494. p.
- MULLIS K. B., FALOONA S., SCHARF R., SAIKI G., HORN G. ERLICH H. (1986): Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp* 51: 263–273. p.
- MULLIS K.B., FALOONA F.A. (1987): Specific Synthesis of DNA *in vitro* via a Polymerase-Catalyzed Chain Reaction. *Method Enzymol* 155: 335–350. p.
- NAGAKI K., TSUJIMOTO H., ISONO K., SASAKUMA T. (1995): Molecular characterization of a tandem repeat, Afa-family, and its distribution among *Triticeae*. *Genome* 38: 479–486. p.
- NAGY I. (1999): Továbbfejlesztett PCR-alapú polimorfizmus-vizsgálati technikák. *Növénytermelés* 48: 421–433. p.
- NARANJO T., ROCA A., GOICOECHA P.G., GIRALDEZ R. (1987): Arm homeology of wheat and rye chromosomes. *Genome* 29: 873–882. p.
- NARANJO T. (1990): Chromosome structure of durum wheat. *Theor Appl Genet* 79: 397–400. p.
- NATARAJAN A.T., NATARAJAN S. (1972): The heterochromatin of *Rhoeo discolor*. *Hereditas* 72: 323–330. p.
- NATH J., THOMPSON J.P., GULATI S.C. (1983): Identification of the G-genome donor

- Triticum timopheevii* by DNA:DNA hybridizations. *Biochem Genet* 23:125-137. p.
- NEWTON M., JOHNSON T., PETURSON B. (1940): Seedling reactions of wheat varieties to stem rust and leaf rust and of oat varieties to stem rust and crown rust. *C Jour Res Sec C* 18: 489-506. p.
- NYQUIST N. E. (1963): Inheritance of powdery mildew resistance in hybrids involving a common wheat strain derived from *Triticum timopheevii*. *Crop Sci* 3: 40-43. p.
- OBUKHOVA L.V., BUDASHKINA E.B., SHUMNY V.K. (2009): A study of the storage proteins in the introgression lines of common wheat (*Triticum aestivum* L. × *T. timopheevii* Zhuk.) resistant to brown leaf rust. *Russ J Genet* 45: 313-321. p.
- OGIHARA T., TSUNEWAKI K. (1988): Diversity and evolution of chloroplast DNA in *Triticum* and *Aegilops* as revealed by restriction fragment analysis. *Theor Appl Genet* 76: 321-332. p.
- PARDUE M., GALL J.G. (1970): Chromosomal localization of mouse satellite DNA. *Science* 168: 1356-1358. p.
- PEDERSEN C., LANGRIDGE P. (1997): Identification of the entire chromosome complement of bread wheat by two-colour FISH. *Genome* 40: 589-593. p.
- PEDERSEN C., RASMUSSEN S.K., LINDE-LAURSEN I. (1996): Genome and chromosome identification in cultivated barley and related species of the *Triticeae* (*Poaceae*) by *in situ* hybridization with the GAA satellite sequence. *Genome* 39: 93-104. p.
- PERUGINI L.D., MURPHY J.P., MARSHALL D., BROWN-GUEDIRA G. (2008) *Pm37*, a new broadly effective powdery mildew resistance gene from *Triticum timopheevii*. *Theor Appl Genet* 116: 417-425. p.
- PESTSOVA E., GANAL M.W., RÖDER M.S. (2000): Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43: 689-697. p.
- PEUSHA H.O., STEPHAN U., HSAM S. L. K., FELSENSTEIN F. G., ENNO T. M., ZELLER F. J. (1995): Identification of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L.). IV. Breeding lines derived from wide crosses of Russian cultivars with species *T. timopheevii* Zhuk., *T. militinae* Zhuk. et Migush., *T. dicoccum* (Schrank.) Schuebl., *Aegilops speltoides* Taush. *Russ J Genet* 31: 1-7. p.
- PINKEL D., STRAUME T., GRAY J.W. (1986): Cytogenetic analysis using quantitative, high sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 2934-2938. p.
- PRASAD M., VARSHNEY R.K., ROY J.K., BALYAN H.S., GUPTA P.K. (2000): The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theor Appl Genet* 100: 584-592. p.
- PRIDHAM J. T. (1939): A successful cross between *Triticum vulgare* and *Triticum timopheevii*. *J Aust Inst Sci* 5: 160-161. p.
- PRIETO P., MARTÍN A., CABRERA A. (2004): Chromosomal distribution of telomeric and telomeric-associated sequences in *Hordeum chilense* by *in situ* hybridization. *Hereditas* 141: 122-127. p.
- PRETORIUS Z.A., SINGH R.P., WAGOIRE W.W., PAYNE T.S. (2000): Detection of virulence to wheat stem rust gene *Sr36* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda. *Phytopathology* 84: 203. p.
- PURNHAUSER L. (2008): Molekuláris markerek a rezisztenciagének nyomon követéséhez. 287-300 p. In: DUDITS D. (szerk.) *A búza nemesítésének tudománya*. Szeged, MTA Szegedi Biol. Központ, 334 p.
- PURNHAUSER L., BÓNA L., LÁNG L. (2011a): Identification of *Sr31* and *Sr36* Stem Rust Resistance Genes in Wheat Cultivars registered in Hungary. *Cereal Res Commun*

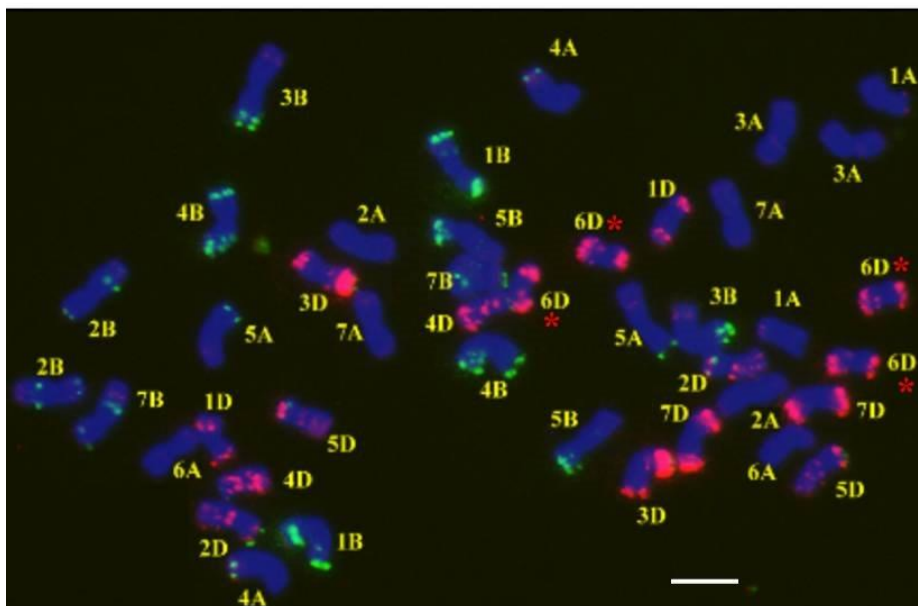
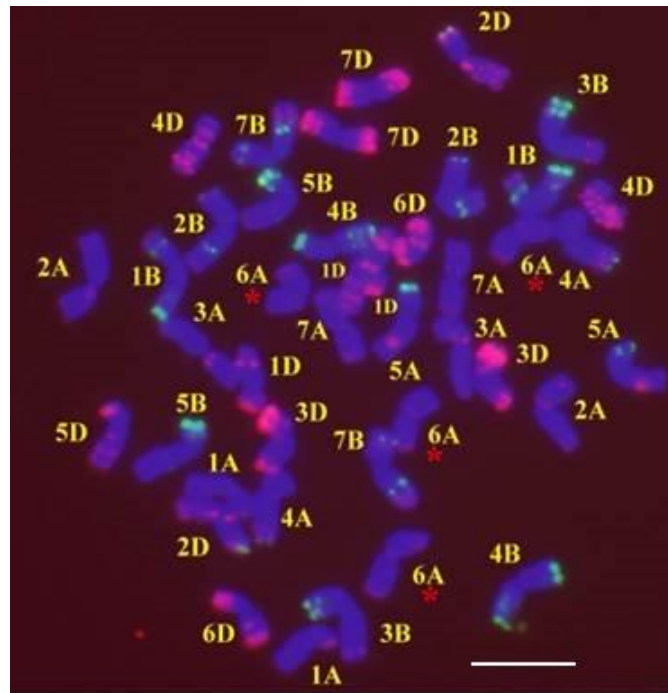
- 39: 53-66. p.
- PURNHAUSER L., BÓNA L., LÁNG L. (2011b): Occurrence of 1BL.1RS wheat-rye chromosome translocation and of *Sr36/Pm6* resistance gene in wheat cultivars registered in Hungary. *Euphytica* 179: 287-295. p.
- RAO M.V.P. (1981): Telocentric mapping of the awn inhibitor gene *Hd* on chromosome 4B of common wheat. *Cereal Res Commun* 9: 335-337. p.
- RAYBURN A.L., CARVER B.F. (1988): Cytological identification of 1B/1R wheat-rye translocations in winter wheat breeding lines. *Euphytica* 38:237-240. p.
- RAYBURN A.L., GILL B.S. (1985): Use of biotin-labeled probes to map specific DNA sequences on wheat chromosomes. *J Hered* 76: 78-81. p.
- RAYBURN A.L., GILL B.S. (1986): Molecular identification of the D-genome chromosomes of wheat. *J Hered* 77: 263-255. p.
- RAYBURN A.L., GILL B.S. (1987): Isolation of a D-genome specific repeated DNA sequence from *Aegilops tauschii*. *Plant Mol Biol Rep* 4: 102-109. p.
- RILEY R., CHAPMAN V., JOHNSON R. (1968): The incorporation of alien disease resistance to wheat by genetic interference with regulation of meiotic chromosome synapsis. *Genet Res* 12: 199-219. p.
- READER S.M., ABBO S., PURDIE K.A., KING I.P., MILLER T.E. (1994): Direct labelling of plant chromosomes by rapid *in situ* hybridization. *Trend Genet* 10:265-266. p. PMID: 7940753
- RODRÍGUEZ S., PERERA E., MAESTRA B., DÍEZ M., NARANJO T. (2000): Chromosome Structure of *Triticum timopheevii* relative to *T. turgidum*, *Genome* 43: 923–930. p.
- RÖDER M.S., KORZUN V., WENDEHAKKE K., PLASCHE J. (1998): A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007-2023. p.
- RUSSELL J.R., FULLER J.D., MACAULAY M., HATZ B.G., JAHOR A., POWELL W., WAUGH R. (1997): Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor Appl Genet* 95: 714-722. p.
- SALINA E.A., LEONOVA I.N., EFREMOVA T.T., RÖDER M.S. (2006): Wheat Genome Structure: Translocations during the Course of Polyploidization. *Funct Integr Genomics* 6: 71-80. p.
- SANDO W.J. (1935): Intergeneric hybrids of *Triticum* and *Secale* with *Haynaldia villosa*. *Jour Agr Res.* 51: 759-800. p.
- SARMA N.P., NATARAJAN A.T. (1973): Identification heterochromatic regions in the chromosomes of rye. *Hereditas* 74: 233-238. p.
- SCHNEIDER A., LINC G., MOLNÁR-LÁNG M. (2003): Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) polymorphism with two repetitive DNA clones (pAs1, pSc119.2) in different wheat cultivars. *Plant Breeding* 122: 396-400. p.
- SCHNEIDER A., LINC G., MOLNAR I., MOLNÁR-LÁNG M. (2005): Molecular cytogenetic characterization of *Aegilops biuncialis* and its use for the identification of 5 derived wheat – *Aegilops biuncialis* disomic addition lines. *Genome* 48: 1070-1082. p.
- SCHWARZACHER T., LEITCH A.R., BENNETT M.D., HESLOP-HARRISON J.S. (1989): *In situ* localization of parental genomes in a wild hybrid. *Ann Bot (Lond)* 64: 315–324. p.
- SCHWARZACHER T., ANAMTHAWAT-JÓNSSON K., HARRISON G. E., ISLAM A.K.M.R., JIA J.Z., KING I.P., LEITCH A.R., MILLER, T.E., READER S.M., ROGERS W.J., SHI M., HESLOP-HARRISON J.S. (1992): Genomic *in situ* hybridization to identify alien chromosomes and chromosome segments in wheat. *Theor Appl Genet* 84: 778-786. p.
- SCHWEIZER D. (1973): Differential staining of plant chromosomes with Giemsa.

- Chromosoma* 40: 307-320. p.
- SEARS E.R. (1954): The aneuploids of common wheat. *Univ Missouri Res Bull* 572: 1-58. p.
- SEARS E.R. (1956): The transfer of leaf rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat. *Brookhaven Symp Biol* 9: 1-22. p.
- SEARS E.R. (1966): Chromosome mapping with the aid telocentrics. Proc. 2nd Int. Wheat Genet. Symp. Lund. *Hereditas Suppl* 2: 370-381. p.
- SEARS E.R., (1977): An induced mutant with homoeologous pairing in common wheat. *Can J Genet Cytol* 19: 585-593. p.
- SEPSI A., MOLNAR I., SZALAY D., MOLNÁR-LÁNG M. (2008): Characterization of a leaf rust-resistant wheat–*Thinopyrum ponticum* partial amphiploid BE-1, using sequential multicolor GISH and FISH. *Theor Appl Genet* 116: 825-834. p.
- SEYFARTH R., FEUILLET C., SCHACHERMAYR G., MESSMER M., WINZELER M., KELLER B. (2000): Molecular mapping of the adult-plant leaf rust resistance gene *Lr13* in wheat (*Triticum aestivum* L.) *J Genet and Breed* 54: 193-198. p.
- SHANDS R.G. (1941): Disease resistance of *Triticum timopheevii* transferred to common winter wheat. *Am Soc Agron Jour* 33: 709-712. p.
- SHANDS H., KIMBER G. (1973): Reallocation of the genomes of *Triticum timopheevii* Zhuk. *P IV Int Wheat Genet Symp* 101-108. p.
- SHARP P.J., KREIS M., SHEWRY P.R., GALE D. (1988): Location of beta.amylase sequences in wheat and its relatives. *Theor Appl Genet* 75: 286-290. p.
- SHERMAN J.D., SMITH L.Y., BLAKE T.K., TALBERT L.E. (2001): Identification of barley genome segments introgressed into wheat using PCR markers. *Genome* 44: 38-44. p.
- SINGH R.P. (1992): Expression of leaf rust resistance gene *Lr34* in seedling and adult plants. *Plant Dis* 76: 489-491. p.
- SINGH R.P., HUERTA-ESPINO J. (2003): Effect of leaf rust resistance gene *Lr34* on components of slow rusting at seven growth stages in wheat. *Euphytica* 129: 371-376.p.
- SOMERS D.J., ISAAC P., EDWARDS K. (2004): A high-density wheat microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.) *Theor Appl Genet* 109: 1105-1114. p.
- SOURDILLE P., TAVAUD M., CHARMET G., BERNARD M. (2001): Transferability of wheat microsatellites to diploid *Triticeae* species carrying the A, B and D genomes. *Theor Appl Genet* 103: 346-352. p.
- SOURDILLE P., CADALEN T., GAY G., GILL B., BERNARD M. (2002): Molecular and physical mapping of genes affecting awning in wheat. *Plant Breeding* 121: 320-324. p.
- SPIELMEYER W., McINTOSH R.A., KOLMER J., LAGUDAH E.S. (2005): Powdery mildew resistance and *Lr34/Yr18* genes for durable resistance to leaf and stripe rust cosegregate at a locus on the short arm of chromosome 7D of wheat. *Theor Appl Genet* 111: 731-735. p.
- STAKMAN E.C., STEWART D.M., LOEGERING W.Q. (1962): Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. U.S. Dept. Agric., *Agric Res Serv* E-617. 53 p.
- SUTKA J. (1999): Növénygenetikai kutatások 50 éve Martonvásáron. p 36-42 In: BEDŐ Z. (szerk.) *Ötven éves a Magyar Tudományos Akadémia Mezőgazdasági Kutatóintézete. Jubileumi Tudományos Ülés* 1999. június 2-3. 215 p.
- SUTKA J. (2004): Növényi citogenetika. Mezőgazda Kiadó, 252 p.
- SZAKÁCS É., MOLNÁR-LÁNG M. (2007): Development and molecular cytogenetic identification of new winter wheat – winter barley ('Martonvásári 9 kr1' – 'Igri') disomic addition lines. *Genome* 50: 43-50. p.
- SZAKÁCS É., MOLNÁR-LÁNG M. (2010): Identification of new winter wheat –

- winter barley addition lines (6HS and 7H) using fluorescence *in situ* hybridization and the stability of the whole 'Martonvásári 9kr1' – 'Igri' addition set. *Genome* 53: 35-44. p.
- TAKAHASHI H., RAI B., KATO K., NAKAMURA I. (2010): Divergent evolution of wild and cultivated subspecies of *Triticum timopheevii* as revealed by the study of *PolA1* gene. *Genet Resour Crop Evol* 57: 101-109 p.
- TAKUMI S., NASUDA S., LIU Y., TSUNEWAKI K. (1993): Wheat phylogeny determined by RFLP analysis of nuclear DNA. 1. Einkorn wheat. *Jpn J Genet* 68: 73-79. p.
- TAO W., LIU D., LIU J. (2000): Genetic Mapping of the Powdery Mildew Resistance gene *Pm6* in Wheat by RFLP Analysis. *Theor Appl Genet* 100: 564-568. p.
- TIMONOVA E.M., LEONOVA I.N., BELAN I.A., ROSSEEVA L.P., SALINA E.A. (2012): The influence of particular chromosome regions of *Triticum timopheevii* the formation of resistance to diseases and quantitative traits in common wheat. *Russ Journ of Gen* 2: 330-343 p.
- TIMONOVA E.M., LEONOVA I.N., RÖDER M.S., SALINA E.A. (2013): Marker-assisted development and characterization of a set of *Triticum aestivum* lines carrying different introgressions from the *T. timopheevii* genome. *Mol Breeding* 31: 123-136 p.
- TSUNEWAKI K. (1995): Plasmon differentiation in *Triticum* and *Aegilops* revealed by the cytoplasmic effects on wheat genome manifestation. In: RAUPP W.J. és GILL B.S. (szerk.) *Classical and molecular cytogenetic analysis. P US-Jpn Symp Kansan Agric Exp Sta Rep* 95: 38-48. p.
- TSUNEWAKI K., WANG G.Z., MATSUOKA Y. (1996): Plasmon analysis of *Triticum* (wheat) and *Aegilops*. I. Production of alloplasmic common wheats and their fertilities. *Genes Genet Syst* 71: 293-311. p.
- UHRIN A., SZAKÁCS É., VIDA GY., SEPSI A., LÁNGNÉ-MOLNÁ M., LÁNG L., BEDŐ Z. (2009): Levélrozsa-ellenállóságért felelős géneket hordozó idegen fajú kromoszómaszegmentumok kimutatása a martonvásári nemesítési programban. *Növényvédelem* 45: 681-687 p.
- UHRIN A., LÁNG L., BEDŐ Z. (2008): Comparison of PCR-based DNA markers for using different *Lr19* and *Lr24* leaf rust resistance. *Cereal Res Commun* 36: 533-541p.
- VERMA S.C., REES H. (1974): Giemsa staining and the distribution of heterochromatin in rye chromosomes. *Heredity* 32: 118-121. p.
- VIDA G., GÁL M., UHRIN A., VEISZ O., SYED N.H., FLAWELL A.J., WANG Z., BEDŐ Z. (2009): Molecular markers for the identification of resistance genes and marker-assisted selection in breeding wheat for leaf rust resistance. *Euphytica* 170:67-76.p.
- VOSA C.G., MARCHI P. (1972): Quinacrine fluorescence and Giemsa staining in plants. *Nature New Biol* 237: 191-192. p.
- VOSA C.G. (1973): Heterochromatin recognition and analysis of chromosome variation in *Scilla sibirica*. *Chromosoma* 43: 269-278. p.
- VRANA J., KUBÁLÁKOVÁ M., SIMKOVÁ H., CIHALIKOVÁ J., LYSÁK M.A., DOLEZEL J. (2000): Flow sorting of mitotic chromosomes in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetics*, 156: 2033-2041. p.
- WATKINS A.E., ELLERTON S. (1940): Variation and genetics of the awn in *Triticum*. *J Genet* 40: 243-270. p.
- WOYCHIK J.H., BOUNDY J.A., DIMLER R.J. (1961): Starch gel electrophoresis of wheat gluten proteins with concentrated urea. *Arc Biochem Biophys* 94: 477-482. p.
- YAMAMORI M. (1994): An N-band marker for gene *Lr18* for resistance to leaf rust in wheat. *Theor Appl Genet* 89: 643-646. p.
- YU J.K., DAKE T., SINGH S., BENSCHER D., LI W., GILL B., SORRELLS M.E. (2004): Development and mapping of EST-derived simple sequence repeat markers for hexaploid wheat. *Genome* 47: 805-818. p.
- ZADOKS J.C., CHANG T.T., KONZAK C.F. (1974): A decimal code for the growth

- stages of cereals. *Weed Res* 14: 415-421. p.
- ZHANG L.Y., BERNARD M., LEROY P., FEUILLET C., SOURDILLE P. (2005): High transferability of bread wheat EST-derived SSRs to other cereals. *Theor Appl Genet* 111: 677-687. p.
- ZHUKOVSKY P.M. (1923): *Triticum dicoccum* Schrank. *dicoccoides* Körn. in Georgia. *B Appl Bot Genet Plant Breeding* 13: 91-94. p.
- ZHUKOVSKY P.M. (1928): A new species of wheat. *B Appl Bot Genet Breed* 19: 59-66. p.
- ZHUKOVSKY P.M. (1971): Cultivated plants and their wild relatives. Systematics, geography, cytogenetics, immunity, origin and use. Kolos, Leningrad, 121p.
- ZURABISHVILI T.G., IORDANSKY A.B., BADAEV N.S. (1978): Linear differentiation of cereal chromosomes II polyploid wheats. *Theor Appl Genet* 51: 201-210.p.

M2. melléklet



- 1. melléklet.** A Chinese Spring 6B nulli-6A tetra szóm (felső ábra) és a Chinese Spring 6B nulli-6D tetraszóm (alsó ábra) FISH hibridizációs képe. Piros csillaggal az extra kromoszómákat jelöltük.

M3. melléklet

M3. melléklet

Sorsz.	Törzsek száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
30	33	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
31	34	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
32	35	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
33	36	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
34	38	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
35	39	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
36	40	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
37	41	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
38	42	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
39	43	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
40	44	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
41	45	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
42	46	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
43	47	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	G
44	48	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
45	49	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
46	50	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
47	51	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
48	52	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
49	4	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
50	10	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
51	37	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
52	<i>T. timopheevii</i> MvGB573	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
53	<i>T. timopheevii</i> TRI677	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
54	<i>T. timopheevii</i> RCAT006794	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
55	Chinese Spring CO4	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
56	6G(6B)szubszt. törzs	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
57	6G(6B)szubszt. törzs	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
58	Mv14	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
59	MIR808	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

3. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₃ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. melléklet

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
53	24B	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
54	42B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
55	9	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
56	50	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
57	46E	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
58	46G	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
59	10	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
60	24A	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
6G(6B)szubszt. törzs "AMP12"	AMP12	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
62	51	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
63	34	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
64	11B	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
65	15B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
66	7A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
67	36C	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
68	15A	S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
69	46D	SZ	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
<i>T.timopheevii</i> MvGB573	<i>T.timopheevii</i>	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
70	26	S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
71	27D	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
72	40	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
73	8A jel	SZ	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
74	19C	S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
75	22	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
76	17A	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
77 (A)	20A	T	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G

4. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
78	35	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
79	19B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
80	27C	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
81	3	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
82	11A	S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
83	41A	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
84	2.34A	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
85	19A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
86	2.33A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
87 (B)	20B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B
88	2.3A	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
89	2.43B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
90	2.14A	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
91	2.39A	SZ	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
92	2.1A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
93	2.1B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
94	2.40A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
95	2.7B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
96	2.8A	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
97	2.40B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
98	2.8B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
99	2.14D	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
100	2.14C	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
101	2.11A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
102 ©	2.5A	T	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G
103	2.26A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
104	2.34B	SZ	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
105	2.5A	SZ	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

4.melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
106	2.27A	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
107	2.26B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
108	2.5B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
109 (D)	2.16A	T	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G
Fleischmann 481	Fleischmann	S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
110	2.35A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
111	2..24	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
112 (E)	2.45A	T	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G
<i>T.timopheevii</i> MvGB573	<i>T. timopheevii</i>	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
113	2.49A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
114	2.38C	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
115	2.31B	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
<i>T.timopheevii</i> MvGB573	<i>T. timopheevii</i>	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
<i>T.timopheevii</i> MvGB573	<i>T. timopheevii</i>	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
116 (F)	2.9A	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B
117	2.31A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
118	2.9B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
<i>T.timopheevii</i> MvGB573	<i>T. timopheevii</i>	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
120	2.29B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
121	2.29C	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
122	2.36A	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
123	2.30F	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
124	2.28A	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
125	2.28B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
126	36B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
127	21	S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
128	42A	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
6G(6B)szubszt. törzs "AMP12"	AMP12	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G

4. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
129	6C	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
130	39	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
6G(6B)szubszt. törzs "AMP12"	AMP12	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
131	12B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
132 (G)	8B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B
133	18B	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
134	46F	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
135	42B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
136 (H)	14	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B
137	8C	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
138	46C	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
139	27A	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
140	7B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
141	1A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
142	25	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
143	42C	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
<i>T.timopheevii</i> MvGB573	<i>T. timopheevii</i>	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
144	46B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
145	6	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
146	21	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
147	28	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
148	6/B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
149	32A	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
150	47	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
151	17B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
152	1B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
153	2.50C	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
154	2.21C	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G

4. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
155	36D	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
156	2.51A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
157	2.6B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
158	2.21B	SZ	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
159	2..18	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
160	2..42	S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
161	26	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
162	2.21A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
163	2.18C	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
164	2..20	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
165	27A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
166	2.51A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
167	2.50B	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
168	2.19A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
169	2.22A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
170	2.51B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
171	2.50A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
172	2.19B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
173	2.22B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
174	2.44C	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
175	2.30B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
176	2.39A	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
177	2.39B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
178	2.48A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
179	2.39C	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
180	2.44A	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
181	2.44B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
182	2.12A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

4. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
183	2.40E	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
184 (I)	2.15B	T	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G
185	2.12A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
186	2.38A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
187	2.15C	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
188	2.25B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
189	2.25A	S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
190	2.38B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
191	2.43A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
192	2.36A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
193	2.15A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
194	2.34C	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
195	2.17A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
196	2.29A	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
197	2.35B	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
198	2.13A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
199	2.17B	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
200	2.32B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
201	2.45B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
202	2.41C	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
203	2.32A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
204	2.46X	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
205	2.31C	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
206	2.41B	T	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
207	2.46Y	S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
208	2.29B	S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
209	2.41A	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

4. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
<i>T.timopheevii</i> MvGB573	<i>T.timopheevii</i>	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
<i>T.timopheevii</i> MvGB573	<i>T.timopheevii</i>	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
<i>T.timopheevii</i> MvGB573	<i>T.timopheevii</i>	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
210	AMP/Csárdás F3	1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
211	AMP/Csárdás F3	2	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
212	AMP/Csárdás F3	3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
213	AMP/Csárdás F3	4	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
214	AMP/Csárdás F3	5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
215	AMP/Csárdás F3	6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
216	AMP/Csárdás F3	7	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
217	AMP/Csárdás F3	8	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
218	AMP/Csárdás F3	9	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
219	AMP/Csárdás F3	10	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
220	AMP/Csárdás F3	11	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
221	AMP/Csárdás F3	12	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
222	AMP/Csárdás F3	13	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
223	AMP/Csárdás F3	14	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
224	AMP/Csárdás F3	15	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
225	AMP/Csárdás F3	16	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
226	AMP/Csárdás F3	17	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
227	AMP/Csárdás F3	18	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
228	AMP/Csárdás F3	19	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
229	AMP/Csárdás F3	20	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
230	AMP/Csárdás F3	21	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
231	AMP/Csárdás F3	22	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
232	AMP/Csárdás F3	23	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
233	AMP/Csárdás F3	24	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

4. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
234	AMP/Csárdás F3	25	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
235	AMP/Csárdás F3	26	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
236	AMP/Csárdás F3	27	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
237	AMP/Csárdás F3	28	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
238	AMP/Csárdás F3	29	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
239	AMP/Csárdás F3	30	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
240	AMP/27-2000 F3	16	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
241	AMP/Pálma F3	1	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
242	AMP/Pálma F3	2	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
243	AMP/Pálma F3	3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
244	AMP/Pálma F3	4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
245	AMP/Pálma F3	5	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
246	AMP/Pálma F3	6	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
247	AMP/Pálma F3	7	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
248	AMP/Pálma F3	8	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
249	AMP/Pálma F3	9	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
250	AMP/Pálma F3	10	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
251	AMP/Pálma F3	11	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
252	AMP/Pálma F3	12	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
253	AMP/Pálma F3	13	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
254	AMP/Pálma F3	14	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
255	AMP/Pálma F3	15	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
256	AMP/Pálma F3	16	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
257	AMP/Pálma F3	17	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
258	AMP/Pálma F3	18	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
259	AMP/Pálma F3	19	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
260	AMP/Pálma F3	20	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
261	AMP/Pálma F3	21	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
262	AMP/Pálma F3	22	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

4.melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
263	AMP/Pálma F3	23	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
264	AMP/Pálma F3	24	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
265	AMP/Pálma F3	25	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
266	AMP/Pálma F3	26	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
267	AMP/Pálma F3	27	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
268	AMP/Pálma F3	28	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
269	AMP/Pálma F3	29	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
270	AMP/Pálma F3	30	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
271	AMP/Pálma F3	31	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
272	AMP/Pálma F3	32	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
273	AMP/Pálma F3	33	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
274	AMP/27-2000 F3	1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
275	AMP/27-2000 F3	2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
276	AMP/27-2000 F3	3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
277	AMP/27-2000 F3	4	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
278	AMP/27-2000 F3	5	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
279	AMP/27-2000 F3	6	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
280	AMP/27-2000 F3	7	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
281	AMP/27-2000 F3	8	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
282	AMP/27-2000 F3	9	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
283	AMP/27-2000 F3	10	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
284	AMP/27-2000 F3	11	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
285	AMP/27-2000 F3	12	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
286	AMP/27-2000 F3	13	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
287	AMP/27-2000 F3	14	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
288	AMP/27-2000 F3	15	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
289	AMP/Magdaléna F3	1	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
290	AMP/Magdaléna F3	2	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
291	AMP/Magdaléna F3	3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

4. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
292	AMP/Magdaléna F3	4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
293	AMP/Magdaléna F3	5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
294	AMP/Magdaléna F3	6	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
295	AMP/Magdaléna F3	7	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
296	AMP/Magdaléna F3	8	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
297	AMP/Magdaléna F3	9	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
298	AMP/Magdaléna F3	10	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
299	AMP/Magdaléna F3	11	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
300	AMP/Magdaléna F3	12	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
301	AMP/Magdaléna F3	13	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
302	AMP/Magdaléna F3	14	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
303	AMP/Magdaléna F3	15	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
304	AMP/Magdaléna F3	16	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
305	AMP/Magdaléna F3	17	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
306	AMP/Magdaléna F3	18	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
307	AMP/Magdaléna F3	19	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
308	AMP/Magdaléna F3	20	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
309	AMP/Magdaléna F3	21	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
310	AMP/Magdaléna F3	22	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
311	AMP/Magdaléna F3	23	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
312	AMP/Magdaléna F3	24	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
313	AMP/Magdaléna F3	25	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
314	AMP/Magdaléna F3	26	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
315	AMP/Magdaléna F3	27	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
316	AMP/Magdaléna F3	28	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
317	AMP/Emese F3	1	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
318	AMP/Emese F3	2	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

4. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
319	Emese/AMP F3	3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
320	Emese/AMP F3	4	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
321	Emese/AMP F3	5	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
322	Emese/AMP F3	6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
323	Emese/AMP F3	7	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
324	Emese/AMP F3	8	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
325	Emese/AMP F3	9	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
326	Emese/AMP F3	10	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
327	Emese/AMP F3	11	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
328	Emese/AMP F3	12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
329	Emese/AMP F3	13	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
330	Emese/AMP F3	14	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
331	Emese/AMP F3	15	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
332	AMP/Mezőföld F3	1	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
333	AMP/Mezőföld F3	2	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
334	AMP/Mezőföld F3	3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
335	AMP/Mezőföld F3	4	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
336	AMP/Mezőföld F3	5	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
337	AMP/Mezőföld F3	6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
338	AMP/Mezőföld F3	7	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
339	AMP/Mezőföld F3	8	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
340	AMP/Mezőföld F3	9	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
341	AMP/Mezőföld F3	10	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
342	AMP/Mezőföld F3	11	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
343	AMP/Mezőföld F3	12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
344	AMP/Mezőföld F3	13	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
345	AMP/Mezőföld F3	14	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
346	AMP/Mezőföld F3	15	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

4. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M4. melléklet

törzs száma	törzsek eredeti száma	KT	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
347	AMP/Mezőföld F3	16	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
348	AMP/Mezőföld F3	17	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
349	AMP/Mezőföld F3	18	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
350	AMP/Mezőföld F3	19	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
351	AMP/Mezőföld F3	20	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
352	AMP/Mezőföld F3	21	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
353	AMP/Mezőföld F3	22	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
354	AMP/Mezőföld F3	23	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
355	AMP/Mezőföld F3	24	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
356	AMP/Mezőföld F3	25	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
357	AMP/Mezőföld F3	26	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
358	AMP/Mezőföld F3	27	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
359	AMP/Mezőföld F3	28	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

4. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₄ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

M5. melléklet

	sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosításig eltelt napok száma
1	1	T	A/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	8	91
2	2	T	A/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	8	91
3	3	T	A/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	25	108
4	4	T	A/4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	8	91
5	5	T	A/5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	21	92
6	6	T	A/6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
7	7	T	A/7	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	112
8	8	T	A/8	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
9	9	T	A/9	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
10	10	T	A/10	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	22	105
11	11	T	A/11	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	2	85
12	12	T	A/12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	2	85
13	13	T	A/13	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	3	86
14	14	T	A/14	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	18	101
15	15	T	A/15	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	11	94
16	16	T	A/16	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
17	17	T	A/17	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
18	18	T	A/18	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	8	91
19	19	T	A/19	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	11	94
20	20	T	A/20	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	3	114
21	21	T	A/21	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	5	88
22	22	T	A/22	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	23	106
23	23	T	A/23	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	30	82
24	24	T	A/24	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
25	25	T	A/25	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

	sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosulásig eltelt napok száma
26	26	T	A/26	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
27	27	T	A/27	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	4	87
28	28	T	A/28	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98
29	29	T	A/29	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	11	94
30	30	T	A/30	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	27	110
31	31	T	A/31	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105
32	32	T	A/32	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	15	98
33	33	T	A/33	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	11	94
34	34	T	A/34	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	15	98
35	35	T	A/35	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	7	90
36	36	T	A/36	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
37	37	T	A/37	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	1	112
38	38	T	A/38	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	10	121
39	39	T	A/39	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	17	100
40	40	SZ	A/40	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
41	41	T	A/41	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	4	87
42	42	T	A/42	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	11	94
43	43	T	A/43	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
44	1	T	A/44	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B*	22	105
45	2	T	A/45	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105
46	3	T	A/46	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
47	4	T	A/47	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
1	1	T	B/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
2	22	T	B/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	3	86
3	33	T	B/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	3	86

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

	sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosításig eltelt napok száma
4	4	T	B/4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	3	86
5	5	T	B/5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	3	86
6	6	T	B/6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	3	86
7	7	T	B/7	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	23	106
8	8	T	B/8	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	28	111
9	9	T	B/9	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	8	91
10	10	T	B/10	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	28	111
11	11	T	B/11	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	8	91
12	12	T	B/12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	8	91
13	13	T	B/13	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	28	111
14	14	T	B/14	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	2	85
15	15	T	B/15	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	2	85
16	16	T	B/16	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	3	86
17	17	T	B/17	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	1	84
18	19	T	B/18	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	3	86
19	20	T	B/19	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	2	85
20	26	T	B/20	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
1	1	T	C/1	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	25	108
2	2	T	C/2	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	17	100
3	3	T	C/3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	15	98
4	4	T	C/4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105
5	5	T	C/5	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	1	112
6	6	T	C/6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105
7	7	T	C/7	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	22	105
8	8	T	C/8	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	18	101

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

	sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosításig eltelt napok száma
9	9	T	C/9	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	17	100
10	10	T	C/10	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	11	94
11	11	T	C/11	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	17	100
12	12	T	C/12	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	22	105
13	13	T	C/13	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	12	95
14	14	T	C/14	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	18	101
15	15	T	C/15	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98
16	16	T	C/16	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	23	106
17	17	T	C/17	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	23	106
18	18	T	C/18	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98
19	19	T	C/19	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	15	98
20	117	T	C/20	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	19	102
1	1	T	D/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
2	5	T	D/2	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
3	10	SZ	D/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
4	11	T	D/4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	18	101
5	14	T	D/5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
6	16	T	D/6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
7	17	T	D/7	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
8	18	T	D/8	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	11	94
9	28	S	D/9	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	119
10	30	S	D/10	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
11	31	S	D/11	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	112
12	35	T	D/12	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	114
13	38	S	D/13	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	114

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

	sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosulásig eltelt napok száma
14	41	T	D/14	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	28	80
15	42	SZ	D/15	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	4	115
16	53	T	D/16	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	9	92
17	17	T	D/17	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	20	103
18	18	SZ	D/18	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
19	20	T	D/19	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	20	103
1	1	T	E/1	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
2	2	T	E/2	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	16	99
3	3	T	E/3	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	2	85
4	4	SZ	E/4	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	11	94
5	5	T	E/5	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	84
6	6	T	E/6	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	84
7	7	T	E/7	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	84
8	8	S	E/8	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	20	103
9	9	T	E/9	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
10	10	T	E/10	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105
11	11	T	E/11	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	2	85
12	12	T	E/12	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	14	97
13	13	T	E/13	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
14	14	T	E/14	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
15	15	T	E/15	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
16	16	T	E/16	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	17	100
17	17	T	E/17	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98
18	18	T	E/18	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	27	79
19	19	T	E/19	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

	sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosításig eltelt napok száma
20	20	T	E/20	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	18	101
21	21	T	E/21	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98
22	22	S	E/22	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
23	23	T	E/23	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	84
24	24	T	E/24	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
25	25	T	E/25	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	29	81
26	26	T	E/26	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	27	79
27	27	T	E/27	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
28	28	T	E/28	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
29	29	T	E/29	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	29	81
30	30	T	E/30	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	74
31	31	T	E/31	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
32	32	T	E/32	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
33	33	T	E/33	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
34	34	T	E/34	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	10	93
35	35	T	E/35	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	114
36	36	T	E/36	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
37	37	T	E/37	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98
38	38	T	E/38	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	5	88
39	39	SZ	E/39	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
40	40	T	E/40	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
41	41	T	E/41	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
42	42	T	E/42	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
43	43	T	E/43	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	12	95
44	44	T	E/44	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	17	100

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

	sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosításig eltelt napok száma
45	45	T	E/45	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	84
1	1	T	F/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98
2	2	T	F/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105
3	3	T	F/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
4	4	T	F/4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	26	109
5	5	T	F/5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
6	6	T	F/6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B*	22	105
7	7	T	F/7	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
8	8	T	F/8	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105
9	9	T	F/9	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	21	104
10	10	T	F/10	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	21	104
11	11	T	F/11	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	25	108
12	12	T	F/12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	3	114
13	13	T	F/13	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105
14	14	S	F/14	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	28	111
15	15	SZ	F/15	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	22	105
16	16	T	F/16	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	26	109
17	17	T	F/17	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	24	107
18	18	T	F/18	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105
19	19	T	F/19	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	19	102
20	20	T	F/20	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	28	111
21	21	T	F/21	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	25	108
22	22	S	F/22	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	25	108
23	23	T	F/23	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	22	105
24	24	S	F/24	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	8	119

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

	sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosításig eltelt napok száma
25	25	T	F/25	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
26	26	T	F/26	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	8	119
27	27	S	F/27	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	119
28	28	T	F/28	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	26	109
29	29	T	F/29	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	26	109
30	131	T	F/30	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	119
31	132	S	F/31	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	25	108
32	31	T	F/32	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	22	105
33	32	SZ	F/33	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	18	101
34	33	T	F/34	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	18	101
35	133	SZ	F/35	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	3	114
36	134	T	F/36	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	3	114
37	135	T	F/37	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	3	114
38	26	T	F/38	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	11	94
39	27	T	F/39	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	11	94
40	28	T	F/40	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	11	94
1	1	T	G/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	26	109
2	2	T	G/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	26	109
3	3	T	G/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	26	109
4	4	S	G/4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B	23	106
5	6	T	G/5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	112
6	7	T	G/6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	20	103
7	9	T	G/7	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	119
8	11	S	G/8	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B	8	119
9	17	T	G/9	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	8	119

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

	sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosulásig eltelt napok száma
10	18	T	G/10	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	28	111
11	19	T	G/11	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	2	113
12	27	T	G/12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105
13	28	T	G/13	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
14	30	T	G/14	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	20	103
15	32	T	G/15	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	22	105
16	33	T	G/16	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	22	105
17	34	T	G/17	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	28	111
18	45	S	G/18	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B	18	101
19	46	T	G/19	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B	18	101
20	51	T	G/20	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
1	2	S	H/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B*	15	98
2	16	T	H/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B*	11	94
3	19	T	H/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
4	20	S	H/4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B	15	98
5	23	S	H/5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B*	3	86
6	24	T	H/6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B	3	114
7	27	T	H/7	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	11	94
8	28	T	H/8	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	20	103
9	31	S	H/9	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B	11	94
10	33	T	H/10	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B*	15	98
11	34	S	H/11	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B*	11	94
12	35	T	H/12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B*	25	108
13	37	SZ	H/13	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B	11	94
14	40	S	H/14	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B*	23	106

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

	sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosításig eltelt napok száma
15	41	T	H/15	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	15	98
16	43	S	H/16	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
17	45	T	H/17	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
18	36	T	H/18	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B	28	111
19	39	T	H/19	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	B	12	95
20	40	T	H/20	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	2	85
	5	T	AMP12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	114
	10	T	AMP12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	114
	2	T	29/a parc	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	8	119
	7	T	29/b parc	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	B	8	119
	6	T	5/a parc	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	15	98
	9	T	5/b parc	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	15	98
	1	T	108	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98
	3	T	108	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	11	94
	8	SZ	108	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	12	95
	3	T	187	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	8	91
	5	T	187	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	25	108
	2	T	13	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	119
	7	T	13	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	119
	7	T	52/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	114
	16	T	52/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	10	121
	1	T	30/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	4	115
	1	T	52/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	4	115
	3	S	52/4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	112
	1	T	52/5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	112

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosításig eltelt napok száma
4	T	52/6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	10	121
2	T	30/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	11	122
3	T	30/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	11	122
3	T	30/4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
5	T	30/5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	28	111
10	T	30/6	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	24	107
3	T	15/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	24	107
9	T	15/2	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	7	118
13	T	15/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	10	121
3	T	10/1	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	25	108
10	T	10/2	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	8	119
2	T	46/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	119
3	T	46/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	119
1	T	45/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	25	108
7	T	45/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	114
9	T	45/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	24	107
1	T	49/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	84
3	T	49/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	30	113
9	T	49/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	24	76
2	T	26/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	10	93
3	T	26/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
1	T	AMP12/Magdal 16	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	22	74
2	T	AMP12/Magdal 5	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	23	106
69	T	AMP12/Magdal 5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
3	T	AMP12/Mezof	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	24	107

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosításig eltelt napok száma
5	T	AMP12/Mezof	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	13	96
74	T	AMP12/Mezof	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	26	78
3	T	AMP12/Emese 14	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	29	81
6	S	AMP12/Emese 3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	11	94
75	S	AMP12/Emese 3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
1	T	AMP12/27-2000	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	2	113
4	S	AMP12/27-2000 1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	112
79	T	AMP12/27-2000 1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
81	S	AMP12/27-2000 1	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	21	104
2	S	AMP12/Csardas 24	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	112
84	S	AMP12/Csardas 24	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	20	103
85	S	AMP12/Csardas 2	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	20	103
2	T	AMP12/Palma 12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	84
87	T	AMP12/Palma 12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	26	78
88	S	AMP12/Palma 21	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	81
2	T	88	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
1	S	64/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
2	S	64/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	114
3	S	64/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98
1	T	89/1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
2	T	89/2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
3	T	89/3	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
1	S	194	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98
4	S	194	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	15	98
57	T	AMP12/Mv9	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	18	101

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417	kalsegédész	jarovizációtól kalászosításig eltelt napok száma
52	T	AMP12/Mv9	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	1	84
61	T	AMP12/Mv9	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	24	107
20	T	AMP12/Mv9	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	15	98
17	T	AMP12/Mv9	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	15	98
18	T	AMP12/Mv9	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	8	91
19	T	AMP12/Mv9	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	86
16	T	AMP12/Mv9	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	91
64	T	AMP12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	114
28	T	AMP12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	114
50	T	AMP12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
45	T	AMP12	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	3	114
12	S	AMP5	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	8	91
49	S	AMP5	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	23	106
	T	CO4	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	20	72
	S	Fleischmann481	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	11	94
	T	Mv14	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	15	98
	T	D/21	B	B	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	8	119
573	T	M1sug	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G		
28646	S	<i>T. timopheevii</i>	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G		
4349	S	<i>T. timopheevii</i>	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G		
12751	S	<i>T. timopheevii</i>	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G		
677	S	<i>T. timopheevii</i>	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G		
3407	S	<i>T. timopheevii</i>	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G		
5352	S	<i>T. timopheevii</i>	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G		
7272	S	<i>T. timopheevii</i>	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G		

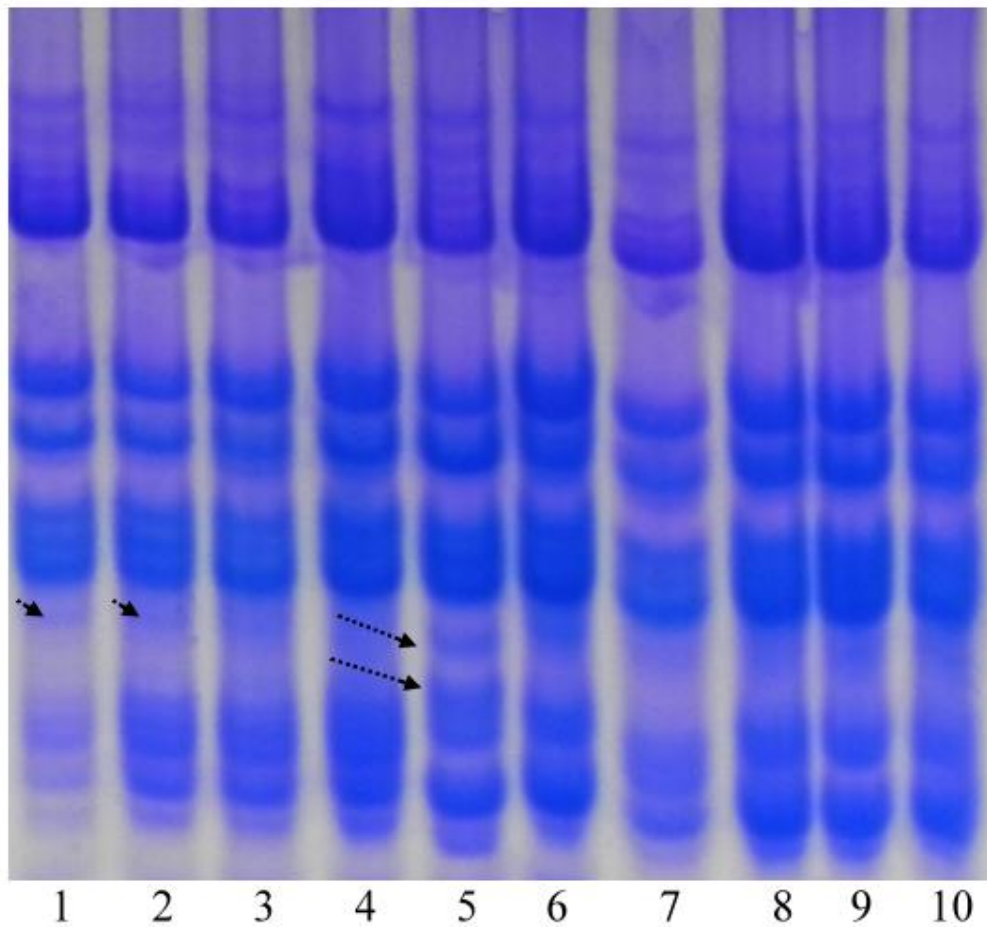
5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M5. melléklet

sorszám	KT	Vizsgált törzsek neve/száma	wmc486	wmc104	gwm508	gwm193	gwm361	wmc397	barc198	wmc539	gwm626	barc24	gwm219	wmc417
13159	S	<i>T. timopheevii</i>	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
3433	S	<i>T. timopheevii</i>	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
4362	S	<i>T. timopheevii</i>	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G

5. melléklet. A 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 F₅ utódok polimorf markerekkel való tesztelésének eredményei.

M6. melléklet



6. melléklet. Tíz *T. timopheevii* genotípus gliadin tartalékfehérjéinek savas poliakrilamid gélen megjelenő mintázata. 1-RCAT006794; 2-MvGB573; 3- TRI28646; 4-TRI677; 5- TRI7272; 6-TRI12751; 7-TRI4349; 8-TRI3433; 9-TRI12159; 10-TRI4362. A nyilak a polimorf sávokat mutatják.

M7. melléklet

M7. melléklet

	Kombináció (genotípus)	Törzs száma	Sor	Kalászás (hónap/nap)	Kalásztípus	Levéltrozsa	Előző nemzedékben 6G vagy 6B kromoszóma
1	AMP12/CO4	24	1	6.11	S	2	6G
			2	6.11	S	2	
			3	6.7	T	2	
			4	5.2	T	2	
			5	5.20	T	2	
			6	5.20	T	3-4	
2	AMP12/CO4	9	1	6.25	T	4	6B
			2	6.25	T	4	
3	AMP12/CO4	46	1	6.30	T	1	6B
			2	6.30	T	1	
			3	6.10	T	1	
4	AMP12/CO4	51	1	5.23	S	1	6G
			2	5.23	S	1	
5	AMP12/CO4	15	1	5.22	S	3	6B
			2	5.22	S	1	
			3	5.22	S	1	
6	AMP12/CO4	27	1	5.21	S	2	6G
			2	5.21	S	1	
7	AMP12/CO4	40	1	5.21	S	1	6B
			2	5.21	S	1	
8	AMP12/CO4	22	1	5.21	T	1	6G
9	AMP12/CO4	17	1	5.21	T	2	6G
			2	6.6	S	2	
			3	6.6	S	2	
			4	6.6	S	1	
10	AMP12/CO4	41	1	6.6	T	2	6G
			2	6.6	T	1	
			3	6.6	T	2	
			4	6.6	T	2	
11	AMP12/CO4	42	1	6.8	S	2	6B
			2	6.4	S	2	
12	AMP12/CO4	18	1	6.30	S	2	6G
			2	6.30	S	2	
			3	6.30	S	2	
13	AMP12/CO4	8	1	5.23	T	2	6B
			2	5.23	T	2	
14	AMP12/CO4	6	1	5.28	T	2	6G
			2	5.28	T	2	
			3	5.28	T	2	
			4	5.28	T	2	
			5	5.28	T	2	

7. **melléklet.** A szántóföldre elvetett, a 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 keresztezés F₄ nemzedékéből csak 6G(6B) szubsztitúciót vagy 6B kromoszómát hordozó utódok kalásztípusa és levéltrozsdával szembeni ellenállóképessége.

M7. melléklet

Parc	Kombináció (genotípus)	Törzs száma	Sor	Kalászás (hónap/nap)	Kalásztípus	Levélrozda	Előző nemzedékben 6G vagy 6B kromoszóma
15	AMP12/CO4	21	1	6.4	T	2	6B
			2	6.4	T	2	
16	AMP12/CO4	32	1	6.4	S	2	6G
			2	6.4	S	2	
			3	6.4	S	2	
17	AMP12/CO4	24	1	6.10	T	3	6G
			2	6.10	T	3	
18	AMP12/CO4	46	1	5.24	S	2	6B
			2	5.26	S	3	
19	AMP12/CO4	27	1	5.26	S	3	6G
			2	5.26	S	2	
			3	5.26	S	2	
20	AMP12/CO4	42	1	6.9	T	2	6B
			2	6.9	T	2	
21	AMP12/CO4	46	1	6.4	T	2	6B
			2	6.4	T	2	
			3	5.25	T	2	
22	AMP12/CO4	27	1	5.29	S+T	2	6G
			2	5.29	S+T	2	
			3	5.29	S+T	2	
23	AMP12/CO4	64	1	5.28	S	2	6G
24	AMP12/CO4	35	1	5.28	S	2	6B
25	AMP12/CO4		1	5.25	S+T	2	
			2	6.10	S+T	2	
26	AMP12/CO4	84	1	6.10	S+T	3	6G
27	AMP12/CO4	90	1	5.28	S+T	3	6G
			2	5.28	S+T	2	
			3	5.28	S+T	2	
28	AMP12/CO4	95	1	5.22	SZ	2	6G
			2	5.21	SZ	2	
			3	5.21	T	2	
29	AMP12/CO4	96	1	5.21	T	2	6G
			2	5.28	T	2	
30	AMP12/CO4	97	1	5.28	T	3	6G
			2	5.28	T	3	
			3	5.28	T	3	
31	AMP12/CO4	108	1	5.28	S+T	3	6G
32	AMP12/CO4	114	1	5.25	S+T	4	6G
			2	5.25	S	4	
33	AMP12/CO4	115	1	5.25	S	1	6G
			2	5.25	S	2	

7. melléklet. A szántóföldre elvetett, a 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 keresztezés F₄ nemzedékéből csak 6G(6B) szubsztitúciót vagy 6B kromoszómát hordozó utódok kalásztípusa és levélrozdával szembeni ellenállóképessége.

M7. melléklet

Parc	Kombináció (genotípus)	Törzs száma	Sor	Kalászás (hónap/nap)	Kalásztípus	Levéltörsda	Előző nemzedékben 6G vagy 6B kromoszóma
			3	5.21	S+T	2	
34	AMP12/CO4	122	1	6.8	S	2	6G
			2	6.8	S	2	
			3	6.8	S	2	
			4	6.8	S	2	
35	AMP12/CO4	124	1	6.8	S	2	6G
			2	5.28	S+T	2	
			3	5.28	S+T	2	
			4	5.28	S+T	2	
36	AMP12/CO4	125	1	5.28	S+T	3	6G
			2	5.28	S+T	3	
			3	5.28	S+T	3	
37	AMP12/CO4	154	1	5.25	S+T	2	6G
			2	5.25	S+T	2	
			3	5.25	SZ	2	
38	AMP12/CO4	158	1	5.28	SZ	3	6G
			2	5.28	SZ	3	
39	AMP12/CO4	159	1	5.25	S	4	6G
			2	5.25	S	3	
			3	5.25	S	3	
40	AMP12/CO4	163	1	5.28	T	4	6G
			2	5.28	T	3	
			3	5.28	T	3	
41	AMP12/CO4	164	1	5.21	S	1	6G
			2	5.21	S	1	
			3	5.21	S	1	
42	AMP12/CO4	167	1	5.28	SZ	1	6G
			2	5.28	S	1	
43	AMP12/CO4	176	1	5.25	T	3	6G
			2	5.25	T	3	
44	AMP12/CO4	179	1	5.25	T	2	6G
			2	5.25	T	3	
45	AMP12/CO4	180	1	5.28	T	3	6G
			2	5.28	T	3	
			3	6.5	T	3	
			4	6.5	T	3	
46	AMP12/CO4	181	1	5.28	SZ	2	6G
			2	5.28	SZ	2	
			3	5.28	T	2	
47	AMP12/CO4	188	1	5.25	T	2	6G
48	AMP12/CO4	196	1	5.25	T	3	6G

7. melléklet. A szántóföldre elvetett, a 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 keresztezés F₄ nemzedékéből csak 6G(6B) szubsztitúciót vagy 6B kromoszómát hordozó utódok kalásztípusa és levéltörsdával szembeni ellenállóképessége.

M7. melléklet

Parc	Kombináció (genotípus)	Törzs száma	Sor	Kalászosítás (hónap/nap)	Kalásztípus	Levéltrozdsda	Előző nemzedékben 6G vagy 6B kromoszóma
			2	5.25	T	3	
49	AMP12/CO4	197	1	6.7	S	3	6G
			2	6.7	S	1	
50	AMP12/CO4	200	1	6.5	T	1	6G
			2	6.5	T	3	
			3	6.5	T	2	
51	AMP12/CO4	201	1	5.28	T	3	6G
			2	5.28	T	2	
			3	5.28	T	2	
52	AMP12/CO4	207	1	5.28	T	4	6B
53	AMP12/CO4	19	1	6.6	T	2	6B
			2	6.6	T	1	
54	AMP12/CO4	33	1	6.6	T	1	6G
			2	6.10	T	3	
			3	6.10	T	1	
			4	6.6	T	1	
			5	6.6	T	1	
			6	6.6	T	1	
			7	6.6	T	1	
			8	6.6	T	1	
			9	6.6	T	1	
			10	6.6	T	1	
			11	6.6	T	1	
			12	6.6	T	1	
55	AMP12/CO4	31	1	5.23	S	1	6G
			2	5.23	T	2	
			3	6.3	T	2	
			4	6.11	T	2	
56	AMP12/CO4	22	1	6.11	T	2	6G
			2	5.23	T	2	
			3	5.23	T	2	
			4	5.23	T	2	
57	AMP12		1	6.10	T	1	6G
			2	6.10	T	1	
58	FLEISCHMANN-481		1	5.23	S	4	6B
			2	5.23	S	4	
59	MIRONOVSKAJA-808		1	5.24	T	4	6B
			2	5.24	T	4	
60	MARTONVASARI-14		1	5.23	T	4	6B
			2	5.23	T	4	
			3	5.23	T	4	

7. melléklet. A szántóföldre elvetett, a 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 keresztezés F₄ nemzedékéből csak 6G(6B) szubsztitúciót vagy 6B kromoszómát hordozó utódok kalásztípusa és levéltrozdsdával szembeni ellenállóképessége.

M7. melléklet

Parc	Kombináció (genotípus)	Törzs száma	Sor	Kalászás (hónap/nap)	Kalásztípus	Levélrozsda	Előző nemzedékben 6G vagy 6B kromoszóma
63	AMP12		1	6.5	T	1	6G
			2	6.5	T	1	
			3	6.5	T	2	
64	AMP12		1	6.5	T	1	6G
			2	6.5	T	2	
			3	6.5	T	2	
66	AMP12		1	5.31	T	3	6G
			2	5.31	T	2	
			3	5.31	T	2	
71	AMP12/CSARDAS		1	5.25	T	3	
			2	5.28	T	3	
			3	5.28	T	3	
72	AMP12/CSARDAS		1	5.28	T	4	
			2	5.28	S	4	
73	AMP12/PALMA		1	5.25	T	2	
			2	5.25	T	2	
			3	5.25	T	2	
74	AMP12/PALMA		1	6.9	T	4	
75	AMP12/PALMA		1	5.23	T	4	
76	AMP12/PALMA		1	5.20	T	4	
77	AMP12/PALMA		1	5.23	T	3	
78	AMP12/MV27-2000		1	6.10	S	2	
79	AMP12/MV27-2000		1	6.20	T	2	
			2	6.20	T	2	
80	AMP12/MAGDALENA		1	6.20	S	2	
81	AMP12/MAGDALENA		1	6.28	S	3	
82	AMP12/MAGDALENA		1	6.20	S+T	3	
83	AMP12/MAGDALENA		1	6.20	T	3	
84	AMP12/MAGDALENA		1	6.20	S	3	
85	AMP12/MAGDALENA		1	6.20	S+T	4	
86	AMP12/MAGDALENA		1	6.20	S	3	
87	AMP12/MAGDALENA		1	6.20	T	4	
88	AMP12/MAGDALENA		1	6.20	S	4	
89	MAGDALENA/AMP12		1	6.20	S	2	
90	MAGDALENA/AMP12		1	6.20	S	4	
91	MAGDALENA/AMP12		1	6.20	S+T	2	
92	MAGDALENA/AMP12		1	6.20	T	2	
93	AMP12/EMESE		1	5.24	S	2	
94	AMP12/EMESE		1	5.23	S	2	
95	AMP12/EMESE		1	5.24	T	2	
96	AMP12/EMESE		1	5.21	T	2	

7. melléklet. A szántóföldre elvetett, a 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 keresztezés F₄ nemzedékéből csak 6G(6B) szubsztitúciót vagy 6B kromoszómát hordozó utódok kalásztípusa és levélrozsdával szembeni ellenállóképessége.

M7. melléklet

Parc	Kombináció (genotípus)	Törzs száma	Sor	Kalászás (hónap/nap)	Kalásztípus	Levélrozsda	Előző nemzedékben 6G vagy 6B kromoszóma
	AMP12/EMESE		2	5.21	T	2	
97	AMP12/MEZOFOLD		1	5.21	T	4	
98	AMP12/MEZOFOLD		1	5.21	T	4	
99	AMP12/MEZOFOLD		1	5.21	T	3	
100	AMP12/MEZOFOLD		1	5.21	T	3	
101	AMP12/MEZOFOLD		1	5.21	T	4	
102	AMP12/MEZOFOLD		1	5.21	T	4	
103	AMP12/MEZOFOLD		1	5.21	T	4	
104	MV-CSARDAS		1	5.21	S	4	6B
			2	5.21	S	4	
105	MV-PALMA		1	5.21	T	4	6B
			2	5.21	T	4	
106	MV-MAGDALENA		1	5.28	S	4	6B
			2	5.28	S	4	
107	MV-EMESE		1	5.21	S	4	6B
			2	5.21	S	4	
108	MV-MEZOFOLD		1	5.23	T	4	6B
109	MV27-2000		1	6.1	S	2	6B
110	AMP12/CO4	6	1	6.3	T	2	6G
111	AMP12		1	6.9	T	2	6G
			2	6.9	T	2	
112	MV27-2000/AMP12		1	6.1	S	2	
113	MV27-2000/AMP12		1	6.1	S	2	
114	AMP12/CO4		1	6.2	S	2	
115	AMP12/CO4		1	6.2	S	2	
116	AMP12/CO4		1	5.25	T	3	
117	AMP12/CO4		1	5.25	S	2	

7. melléklet. A szántóföldre elvetett, a 6G(6B) szubsztitúciós törzs („AMP12”) × Chinese Spring CO4 keresztezés F₄ nemzedékéből csak 6G(6B) szubsztitúciót vagy 6B kromoszómát hordozó utódok kalásztípusa és levélrozsdával szembeni ellenállóképessége.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Kutatómunkámhoz és dolgozatom elkészítéséhez nyújtott szakmai irányításukért köszönetemet fejezem ki témavezetőimnek, Lángné Molnár Mártának és Láng Lászlónak. Köszönöm az MTA Agrártudományi Kutatóközpont Mezőgazdasági Intézet vezetőségének, különösen Bedő Zoltán igazgatónak, hogy támogatta munkámat, és PhD tanulmányaim elvégzését.

A Kalászos Gabona Nemesítési Osztály minden dolgozóját őszinte köszönet illeti a kisebb-nagyobb segítségeikért valamint a kutatáson kívüli, sokszor fizikailag is kimerítő feladatok alatt nyújtott kölcsönös támaszért is. Kiemelten köszönöm Illés Klára asszisztensnek valamint Mészáros Klára és Tóth Viola munkatársaimnak azt, hogy minden esetben számíthattam precíz munkájukra.

A Kalászos Gabona Rezisztencia Nemesítési Osztály minden dolgozójának is köszönöm a közreműködését, és ki kell emelnem munkatársaim Vida Gyula, Kristin Péterné, Kiss Tibor, Karsai Ildikó és Varga-László Emese nevét, akik az egyes részmunkákhoz nyújtottak segítséget.

A Génmegőrzési és Organikus Nemesítési Osztály dolgozói közül külön köszönöm Szakács Évának, Kruppa Klaudiának, Molnár Istvánnak, Farkas Andrásnak és Sepsi Adélnak az útmutatásait.

Sági Lászlónak köszönöm a vizsgálatokhoz fűzött a hasznos ötleteit. Juhász Angélának az A-PAGE elkészítéséhez és elemzéséhez adott segítségével hálás vagyok.

Nem utolsó sorban köszönöm Férjemnek és a családom többi tagjának a türelmet és támogatást, amire a dolgozat elkészülte alatt igen nagy szükség volt.