

Szent István Egyetem

***Triticum timopheevii* eredetű új genetikai anyagok
előállítása és jellemzése**

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Mikó Péter

Gödöllő

2015

A doktori iskola

megnevezése: Növénytudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Prof. Dr. Helyes Lajos
intézetigazgató, egyetemi tanár, az MTA doktora
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Kertészeti Technológiai Intézet

Témavezető: Dr. Lángné dr. Molnár Márta
tudományos tanácsadó, az MTA doktora
MTA ATK Mezőgazdasági Intézet,
Génmegőrzési Osztály

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

1 A MUNKA ELŐZMÉNYEI, KITŰZÖTT CÉLOK

A búza (*Triticum aestivum* L.) az emberiség egyik legfontosabb gabonanövénye, ezért a búzanemesítők kiemelt feladata e faj termésszintjének és termésbiztonságának folyamatos növelése. Ennek egyik hatékony módja a búzával rokon vad fajok rezisztencianemesítésben történő felhasználása. Az egyik ilyen vad faj, a *Triticum timopheevii* Zhuk., mely nagymértékben ellenáll a búzát fertőző fontosabb gombabetegségeknek (levél-, sárga- és szárrozsdá, lisztharmat, fuzárium). A fajok közötti közvetlen keresztezés mellett ugyancsak sikeres génátvitelt tesz lehetővé egy keresztezési hídként használt szintetikus amfiploid előállítás és használata is. A hexaploid búzával azonos kromoszómaszámú amfiploid előállítására a tetraploid *T. timopheevii*-t a diploid alakokkal (*Triticum monococcum* L.) célszerű keresztezni, mivel ez utóbbi is kiemelkedő biotikus és abiotikus rezisztenciával rendelkezik. A hibridekben az idegen kromatin mennyiségének csökkentése hatékonyan érhető el visszakereszteзésekkel (BC: back-cross). Az előnemesítés során az idegen kromatin nyomonkövetésének hatékony módja a DNS (deoxiribonukleinsav) *in situ* hibridizáció, melynek során ismert szekvenciákat hordozó repetitív DNS szakaszokat (FISH: fluoreszcens *in situ* hibridizáció), vagy az azonosítani kívánt genom teljes DNS-ét (GISH: genomi *in situ* hibridizáció) használjuk fluoreszcens próbaként.

Kutatómunkánk célja a *T. timopheevii* vad rokon búzafaj hasznos tulajdonságainak kiaknázása a búzanemesítésben, amit a következő feladatok kidolgozásával kívántunk megvalósítani:

- Az MTA Agrártudományi Kutatóközponthoz (MTA ATK) tartozó Martonvásár Gabona Génbankban tárolt *T. timopheevii* tételek jellemzését követően kiválasztani azt a genotípust, amivel búza előnemesítési programot indíthatunk, mely során vizsgáljuk a hibridek ellenállóságát is a búza főbb gombakórokozóival szemben,
- A kiválasztott *T. timopheevii* genotípus és a martonvásári MTA ATK Mezőgazdasági Intézetében korábban nemesített alakor törzs felhasználásával új *T. timopheevii* × *T. monococcum* amfiploid létrehozása, részletes morfológiai, agronómiai és molekuláris citogenetikai jellemzése, valamint a búza előnemesítési programba történő bevezetése,
- A martonvásári intézetben korábban előállított, *T. timopheevii* kromoszómát hordozó addíciós búza genetikai anyag létrehozását eredményező előnemesítési program folytatása,
- Az előnemesítési program során a búzába beépült *T. timopheevii* és *T. monococcum* kromoszómák, kromoszómaszakaszok nyomonkövetésére alkalmas molekuláris citogenetikai módszerek (FISH, GISH) fejlesztése és optimalizálása, továbbá, az idegen kromoszómák azonosításának érdekében a *T. timopheevii* FISH kariotípusának elkészítése.

2 ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1 Növényi anyagok és keresztezések

Összesen 56 *T. timopheevii* gébanki tétel (MVGB) közül választottunk ki egyet (*T. timopheevii* subsp. *timopheevii* var. *rubiginosum* (MVGB845)) a további előnemesítési munkákhoz.

Az amfiploid (*T. timococcum* Kost., nom. nud.) előállításához, pollenadóként egy Martonvásáron előnemesített féltörpe alakortörzset (*T. monococcum* subsp. *monococcum* '1T-1') használtunk.

Búza genotípusok közül a *kr1kr1* recesszív keresztezhetőségi allélpárt hordozó – ezért az idegen fajú keresztezésekben jól kombinálódó – *T. aestivum* 'Mv9kr1' búzatörzset, valamint normál búzafajtákat ('Mv Karizma', 'Mv Marsall', 'Mv Nádor', 'Mv Suba') használtunk.

A *T. timococcum* és szülői betegségrezisztenciájának vizsgálatánál kontrollok voltak:

- Levélrozsda: 'Mv9kr1' (fogékony), *T. aestivum* 'Alcedo' (fogékony), szülők (rezisztens),
- Lisztharmat: fogékony ('Mv9kr1', 'Carstens V.') és rezisztens ('Nannong 02Y23') búza genotípusok, *T. monococcum* 'Mv Alkor' (rezisztens), *T. zhukovskyi* MVGB650 (fogékony),
- Kalászfuzárium: fogékony ('Mv222-13') és mérsékelten rezisztens ('Mv213-11') búzatörzs.

T. timopheevii kromoszómát hordozó, Martonvásáron korábban előállított búza vonalakat teszteltünk, köztük egy *T. aestivum* × *T. timopheevii* 6G diszómás addíciós búzatörzset.

A GISH vizsgálatához a *Triticum urartu* – MVGB115 (A genom), valamint az *Aegilops speltoides* – MVGB905 (S genom, a B és G genom őse) teljes genomi DNS-ét használtuk.

Keresztezési kombinációk:

- *T. timopheevii* MVGB845 × *T. monococcum* '1T-1', *Triticum timococcum* néven jelölt hibridje. Az amfiploid további n-edik generációját 'F_n' helyett 'C_n' jelzéssel láttuk el,
- Tesztkeresztezésből származó, egyéb *T. timopheevii* × *T. monococcum* '1T-1' hibridek,
- 'Mv9kr1' × *T. timococcum*, majd ennek 'Mv9kr1' alapú BC₁, BC₂, BC₃ nemzedéke,
- *T. timococcum* × búza genotípusok ('Mv9kr1', 'Mv Marsall', 'Mv Nádor', 'Mv Suba'),
- *T. zhukovskyi* MVGB650 × *T. timococcum*,
- 'Mv9kr1' × *T. timopheevii* MVGB845, majd ennek BC₁ és BC₂ nemzedéke,
- *T. timopheevii* MVGB845 × búza genotípusok ('Mv9kr1', 'Mv Karizma', 'Mv Marsall', 'Mv Nádor', 'Mv Suba'),
- *T. aestivum* 'Rannaja' 6B monoszóma MVGS1117 × *T. aestivum* 6G diszómás addíció.

2.2 Fajhibridek előállítása

A keresztezési kombinációk anyai partnereinek kalászait kikasztráltuk, melyeket 2-4 nap elteltével a pollenadó partnerek levágott kalászaiból származó pollenekkel megporoztunk. A növénynevelést és keresztezéseket szántóföldön és fitotronban is végeztük.

Az aratást követően a szemkötést a feldolgozás során számolt, egy kalászban lévő szemek és a megporzott virágok számának hányadosával határoztuk meg.

A *T. timopheevii* × *T. monococcum* F₁ hibrid triploid genomját 0,04%-os kolhicin-oldattal dupláztuk meg a 3-5 leveles növények gyökereinek áztatásos kezelésével.

2.3 Molekuláris citogenetikai vizsgálatok

2.3.1 Kromoszómapreparátum készítése és előkezelése

A csíráztatott búzaszemekről leszedett gyökércsúcsokat jeges vízben majd abszolút etil alkohol : 100%-os ecetsav 3:1 arányú keverékében fixáltuk, melyet 1%-os kárminecetsavas festési eljárás követett. Az ebből készített mitotikus kromoszómapreparátumot fáziskontrasztos mikroszkóppal vizsgáltuk, majd ezt követően az *in situ* hibridizációig –20 °C-on tároltuk.

A fluoreszcens *in situ* hibridizációt (FISH és GISH) megelőzően ribonukleáz enzimmel és pepszinnel távolítottuk el az RNS-t és a citoplazmát a preparátumokról, majd (mosási lépések közbeiktatásával) a kromoszómákat paraformaldehides oldattal fixáltuk. A preparátumokat -20 °C-os etanol sorozatban dehidratáltuk. FISH-t követő GISH esetén a preparátumokat 4× SSC-Tween-ben mostuk az újrahibridizálás előtt.

2.3.2 Fluoreszcens *in situ* hibridizáció

A fluoreszcens *in situ* hibridizáció során használt DNS próbákat digoxigenin-11-dUTP-vel és/vagy biotin-16-dUTP-vel jelöltük nick transzlációval, hogy a hozzájuk kapcsolódó fluorokrómok segítségével detektálhassuk azok hibridizációs helyeit a vizsgált kromoszómákon.

A 30 µl/preparátum mennyiségű hibridizációs keverék törzsoldata (~28 µl) formamidot, 25 v/v%-os dextranszulfátot, 20× SSC-t és 10 v/v%-os SDS-t 50:33:10:1 arányban tartalmazott. Ehhez blokkoló DNS-ként hozzáadtunk még 5 ng (50 ng/µl sűrűségű) lazac sperma DNS-t (FISH), illetve 2 µg (a jelölt S genomi próba 50-szeres mennyisége) S genomi DNS-t (GISH). Preparátumonként a következő mennyiségben adtuk hozzá a jelölt próbákat a törzsoldatokhoz:

- FISH: 20 ng (0,4 µl) Afa-family (digoxigenin), 30 ng (0,6 µl) pSc119.2 (biotin) és 30 ng (0,6 µl) pTa71 (biotin és digoxigenin 1:1 arányú keveréke)
- GISH: 40 ng (0,8 µl), biotinnal jelölt A genomi próba és 40 ng (0,8 µl), digoxigeninnel jelölt S genomi próba

Az összeállított hibridizációs keverékben lévő DNS-t 85 °C-on 12 percig (FISH), illetve 99 °C-on 10 percig (GISH) denaturáltuk, majd a keveréket a preparátumokra juttatva, a kromoszómákat a próba jelenlétében denaturáltuk 75 °C-on 6 percig (FISH), illetve 80 °C-on 2 percig (GISH). A denaturációt követően a preparátumokat 16 órán keresztül 37 °C-on (FISH), illetve 42 °C-on (GISH) inkubáltuk, majd több lépésben, SSC sorozattal lemostuk.

A digoxigeninnel jelölt próbák hibridizációs helyeit vörös fluoreszcens jelet adó anti-digoxigenin-rhodamine Fab (antigén kötő) fragmentekkel, míg a biotinnal jelölt próbákét zöld fluoreszcens jelet adó streptavidin-FITC Fab fragmentekkel jelöltük egy 20 perces, 37 °C-os hibridizáció során (50 µl/preparátum). Ezt követően 2 mg/ml DAPI/Vecta Shield keverékkel (20 µl/preparátum) végeztünk kontrasztfestést. Ezt követően a preparátumokat Zeiss AxioImager.M2 fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk, majd Zeiss AxioCam MRm CCD fényképezőgéppel fotóztuk és kiértékelésükhöz az AxioVision 4.8.2 szoftvert használtuk.

2.4 Fiatalkori rezisztencia-vizsgálat

2.4.1 Mesterséges levélrozsa-fertőzés

Az üvegházi levélrozsa-fertőzéshez optimális körülményeket az inokulációt követő két napban polietilén fóliás borítással biztosítottuk. A táphengerben nevelt, kétleveles növények fertőzését követő 10. napon egy hatos skálán (0, ; , 1-4) értékeltük a fertőzöttség mértékét.

2.4.2 Mesterséges lisztharmat-fertőzés

Az üvegfalú izolátor dobozokban történt vetést követő 6. napon fertőztünk az 51-es és 76-os lisztharmatrasszok konídiumaival, majd az ezt követő 7. napon 0-4 skálán pontoztuk a tüneteket. Emellett a kórokozó és gazdanövény közötti interakciók időbeni alakulását is elemeztük genotípusonként, anilinkékkel és DAB-bal kezelt, ecetsavval fehérített levélpreparátumokon. A 9 időpontból (inokuláció után 8 óránként, majd a 3., 4. és 7. napon) származó, Zeiss AxioScope.A1 fénymikroszkóppal vizsgált preparátumokat Canon digitális fényképezőgéppel dokumentáltuk.

2.5 Kalászfuzárium rezisztencia vizsgálata

A kalászfuzáriummal (*F. graminearum* 'IFA-66' és *F. culmorum* 'IFA-104' izolátumok) szembeni rezisztenciát permetezést követő 26. napon, valamint kalászkainjektálást követő 21. napon kétféle módszerrel értékeltük (%). A kalászkainjektálásos eljárás (II. típusú rezisztencia) során genotípusonként öt kalászt kezeltünk, melyek eredményét statisztikailag is elemeztük.

2.6 Fenotípusos tulajdonságok meghatározása

A szántóföldi felvételezés során meghatároztuk a genotípusok életformáját, növekedési típusát, kalászolási idejét, magasságát és ezerszemtömegét, valamint a fontosabb búza gombabetegségekkel (lisztharmat, levélrozsa, sárgarozsa) szembeni fogékonyságukat természetes kórokozó nyomás mellett, 0-9 skálán pontozva (0 = tünetmentes, 9 = fogékony).

A szántóföldi vizsgálatokkal párhuzamosan az amfiploidot és szülőtörzseit fitotronban is vizsgáltuk 2012-ben és 2013-ban. E két év során vizsgáltuk a kalászmorfológiai tulajdonságokat is. A felvételezett adatokat statisztikailag (ANOVA és post hoc teszt) is elemeztük.

3 EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

3.1 *Triticum timococcum* előállítása

3.1.1 *Triticum timopheevii* génbanki tételek jellemzése és tesztkeresztezése

Jellemeztük a Martonvásár Gabona Génbankban fenntartott 56 *T. timopheevii* tételt. A felvételezett adatok alapján megállapítottuk, hogy agronómiaiilag a legcélszerűbb a természetett alfajhoz (subsp. *timopheevii*) tartozó 38 génbanki tétel közül kiválasztani az új amfiploid anyai szülőpartnerét. A vad alfajhoz (subsp. *armeniicum*) tartozó génbanki tételek az előnyös korai kalászolási- és virágzási idejük ellenére, a törékeny kalászorsójuk és a viszonylag kis ezerszemtömegük miatt nehezebben használhatók fel az előnemesítésben.

Az eredmények alapján kiválasztott 11 korai kalászolású *T. timopheevii* tétellel szántóföldön végzett tesztkeresztezéshez az amfiploid pollenadójának kiválasztott féltörpe alakor törzset ('1T-1') használtuk. A legjobb szemkötést (16%) eredményező, viszonylag jó agronómiai értékekkel bíró génbanki tételt (*Triticum timopheevii* Zhuk. subsp. *timopheevii* var. *rubiginosum* (MVGB845)) választottuk ki, melyet, mint előszelektált génforrást nemcsak az amfiploid előállításánál tudtuk használni, hanem a búzával végrehajtott közvetlen keresztezéseknél is.

3.1.2 *Triticum timopheevii* × *Triticum monococcum* amfiploid előállítása

A felvételezési és keresztezési kísérletek eredménye alapján kiválasztott *T. timopheevii* MVGB845 és a féltörpe alakor ('1T-1') keresztezésével 255 F₁ hibrid szemet állítottunk elő. Az ezekből nevelt triploid növények kolhicinkezelését követően állítottuk elő a duplázott genomú, fertilis hexaploid amfiploid, a *Triticum timococcum* első generációját (C₁).

A *T. timopheevii* × *T. monococcum* amfiploid szülői fajnevekből alkotott elnevezése még hivatalosan (botanikailag) nem elfogadott, ezért a tudományos publikációkban első említésénél *Triticum timococcum* Kost., nom. nud. elnevezéssel szükséges jelölni ezt a szintetikus fajt.

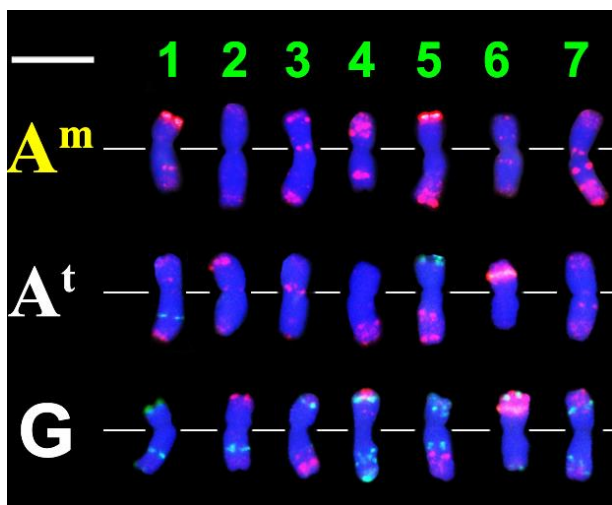
A jelen kutatásban szereplő hibrid-előállítás a korábbi *T. timococcum* előállítások során tapasztalt nagyon gyenge szemkötéshez viszonyítva sokkal hatékonyabbnak bizonyult, és arra is rávilágított, hogy jó agronómiai tulajdonságokkal rendelkező amfiploidok előállításához csak szigorúan szelektált, előnemesített növényi anyagot érdemes használni.

3.2 *Triticum timococcum* molekuláris citogenetikai jellemzése

3.2.1 Szülői genomok kariotipizálása és GISH optimalizálása

Az amfiploid genomszerkezetének meghatározásának első lépéseként a szülői genomok FISH kariotípusát készítettük el a búzakutatásban széles körben használt repetitív DNS próbák (Afa-

family, pTa71 és pSc119.2) segítségével, mellyel a hexaploid hibrid, a *T. timococcum* összes kromoszómája azonosíthatóvá vált a későbbiekben (1. ábra).



1. ábra Az A^m , A^t és G genomok FISH kariogramja: a *Triticum monococcum* subsp. *monococcum* '1T-1' (A^m) és a *Triticum timopheevii* subsp. *timopheevii* var. *rubiginosum* MVGB845 (A^t és G) kromoszómáin pSc 119.2 (zöld), Afa-family (piros) és pTa71 (narancssárga) repetitív DNS próbákkal kapott fluoreszcens *in situ* hibridizációs mintázat. A kromoszómák genomok és homeológ-csoportok szerint rendezve (Skála = 10 μ m)

A G és B genommal rendelkező tetraploid *Triticum* fajok különböző evolúciós útját támasztja alá az a megfigyelésünk, hogy a *T. timopheevii* $4A^tL$ kromoszómakarján nem sikerült a *T. turgidum* (és a *T. aestivum*) $4A$ kromoszómáján meglévő pSc119.2 jeleket detektálnunk, mely hiányzó szakasz valószínűleg a $4A^tL/4GS$ transzlokáció során kerülhetett át a $4G$ kromoszóma rövid karjának terminális részére. Ugyancsak ennek a transzlokációnak a következménye, hogy a $4GS$ terminális részén erős Afa-family FISH jeleket is detektáltunk. Az összes G kromoszóma nagy biztonsággal elkülöníthető egymástól és a búza B kromoszómáitól azok FISH mintázata alapján. Az amfiploid G és A genomjainak elkülönítését többszínű GISH (mcGISH) alkalmazásával végeztük el, melyet megelőzött a *T. timopheevii* MVGB845 genotípuson végzett optimalizálási eljárás. Ennek során a próbák és blokkoló DNS mennyiségét és arányát állítottuk be, melynek paraméterei a 2.3.2 fejezetben találhatóak. A G és A kromoszómák elkülönítése mellett a *T. timopheevii* faj fajspecifikus intergenomikus transzlokációját is azonosítottuk ($T6A^tS/1GS$).

3.2.2 *Triticum timococcum* genomszerkezete

Az optimalizált FISH és mcGISH technikák egymást követő használatával megállapítottuk, hogy az amfiploid 42 kromoszómával rendelkezik és hordozza mindkét szülő teljes kromoszómakészletét, valamint a *T. timopheevii* fajspecifikus intergenomikus transzlokációját is. Ezek alapján az újonnan előállított szintetikus amfiploid, a *Triticum timococcum* hexaploid genommal rendelkezik, mely a következőképpen írható fel: $2n=6x=42$, $GGA^tA^tA^mA^m$.

Eredményeink hozzájárultak a *T. timopheevii* kromoszómáinak fluoreszcens *in situ* hibridizációs technikákkal (FISH, mcGISH) történő azonosításának javításához, továbbá elsőként igazoltuk ezen optimalizált eljárások használhatóságát a *T. timococcum* genomjának vizsgálata során.

Az amfiploidban és az előnemesítés során előállítandó búza alapú hibridekben az ősi diploid *T. monococcum* faj legtöbb A^m kromoszómája nagy biztonsággal megkülönböztethető az A^l és a búza A^u kromoszómáitól azok FISH mintázata alapján. Ettől eltérően azonban a búza megfelelő homeológ kromoszómáitól csak a *T. timopheevii* $1A^l$, $3A^l$, $4A^l$ és $6A^l$ kromoszómái különböztethetőek meg a faj evolúciója során végbement transzlokációk miatt.

Eredményeink alapján a *T. timococcum* és *T. timopheevii* búza előnemesítési programba való bevezetését követő utóvizsgálatok (FISH és mcGISH) alkalmával a búza genetikai háttérben megfelelő hatékonysággal azonosíthatóvá vált mindkét faj átépült kromatinja.

3.3 A *Triticum timococcum* fenotípusos és agronómiai jellemzése

3.3.1 Morfológiai jellemzők

A kétéves részletes szántóföldi kísérletben a *Triticum timococcum* a legtöbb vizsgált tulajdonságban szignifikánsan eltért a szülői genotípusoktól. Ezzel szemben a fitotronban kevesebb szignifikáns különbséget találtunk, sőt a szántóföldi eredményekkel (80 cm) ellentétben az amfiploid növénymagassága (100 cm) nagyobb hasonlóságot mutatott a *T. timopheevii* szülővel, mint a féltörpe alakor törzsszel. Őszi vetést követően, a *T. timococcum* átlagosan június közepén kalászott. Az amfiploid szálkás kalászkái és kalászkái átmeneti típust képviselnek a szülők kalász(ka)formái között, emellett hosszabb és kevésbé tömött kalászokat fejlesztett a szüleihez képest, mely tulajdonság a későbbi generációkban végzett szelekció hatására még inkább megnyilvánult (2. ábra).



2. ábra *Triticum timopheevii* MVGB845 (bal), *T. monococcum* '1T-1' (közép) és *T. timococcum* C₅ generáció (jobb) szántóföldről gyűjtött kalászkái (Martonvásár, 2015; Skála = 1 cm)

A *T. timococcum* a szülői genotípusokhoz hasonlóan fakultatív életformájú, továbbá a *T. timopheevii* szülőnél erőteljesebben szőrözött, mely növelheti a vírusvektor rovarok és a szárazság elleni védekezőképességet. Fénymikroszkópos vizsgálattal igazoltuk, hogy a szüleihez viszonyítva a duplázott genomú amfiploidnak van a leghosszabb gázcserenyílása (100 μ m).

3.3.2 Betegség-ellenállóság

Az amfiploid levélrozsdával szembeni fiatalkori és felnőttkori, valamint a sárgarozsdával szembeni felnőttkori immunitása (értékelési pontszám: 0) annak mindkét szülői genotípusa által hordozott nagyhatású rezisztenciagéneknek köszönhető.

Az ide vonatkozó szakirodalomban azonban nem található adat sem a *T. timopheevii*, sem pedig a *T. monococcum* lisztharmattal szembeni fiatalkori fogékonyságáról. Ezek a fajok és a belőlük előállított amfiploid valószínűleg más gének által vezérelt, felnőttkori rezisztenciával is rendelkeznek, melyet az általunk (erős kórokozó nyomás mellett) megfigyelt lassú lefolyású (az alakor esetében atipikus csírázást mutató) fiatalkori lisztharmat fertőződés, valamint a szántóföldön megfigyelt felnőttkori immunitás is igazol. A fiatalkori fertőzés során a *T. zhukovskyi* és a *T. timopheevii* fajokon mérsékelt hiperszenzitív reakciót is megfigyeltünk (értékelési pontszám: ;), továbbá ellenálló egyedeket is szelektáltunk a *T. timopheevii* és az amfiploid populációiból.

A lisztharmat – növény interakció vizsgálata során a gomba fejlődését és terjedését (anilinkék), valamint a növény esetleges védekező válaszreakcióját (DAB-bal jelölt hidrogén-peroxid (H_2O_2) felhalmozódás, papilla képződés) vizsgáltuk. Öt genotípusnál, genotípusonként változó lefolyású, kompatibilis kórokozó-gazdanövény interakciót figyeltünk meg, míg az 'Mv Alkor' és a 'Nannong 02Y23' genotípusok ellenállóak voltak. A *T. timococcum* annak ellenére, hogy fogékony volt, már az elsődleges csíratömlő kialakulásra is erőteljes lokális hidrogén-peroxid termeléssel válaszolt, míg a többi genotípus nem mutatott ilyen korai reakciót. Később az alakor az egész érintett sejtre kiterjedő DAB festődést mutatott, mely összefügghet annak mérsékelt ellenállóságával is. A fogékony búzafajtán a lisztharmat már a 4. napon sporulált, míg az amfiploidon és annak szülein csak az inokulációt követő 7. napon találtunk sporuláló telepeket.

A felnőttkorban végzett fuzáriumteszt eredményeként a *T. timopheevii* genotípus (MVG845) mérsékelt ellenállónak (*F. graminearum*: 5%; *F. culmorum*: 25%; II. típusú rezisztencia: 12% mindkét esetben) bizonyult, míg a pollenadóként használt féltörpe alakor genotípus ('1T-1') nem (100%-os fertőzöttség). Ezért e két fajból előállított amfiploid a szántóföldi (*F. graminearum*: 5%; *F. culmorum*: 15%) és a II. típusú fertőződéssel (*F. graminearum*: 15%; *F. culmorum*: 5%) szembeni, jó ellenállóságát bizonyosan az anyai szülőtől örökölte. Mindkét fuzárium izolátum esetében a *T. timococcum* a kontrollként használt mérsékelt rezisztens búzatörzsnél ('Mv213-11') jelentősen jobb szántóföldi ellenállóságot mutatott. Azonban a II. típusú rezisztencia vizsgálata során szignifikáns különbséget nem sikerült kimutatni e búzatörzsszel szemben.

3.4 *Triticum timopheevii* kromatint hordozó búza előnemesítési anyag előállítása

3.4.1 *Triticum timococcum* amfiploidokkal végzett keresztezések

Az amfiploid felhasználásával 2012 nyarán indítottunk el egy előnemesítési programot, melyben az 'Mv9kr1' búzatörzset használtuk fő keresztezési partnerként. Mindkét kombinációban végzett F_1 hibrid előállítás eredményeként megállapítottuk, hogy az közel háromszor hatékonyabbá tehető, ha a búza partnert anyaként használjuk (szemkötés: 19,5%).

Az 'Mv9kr1'-gyel végzett visszakereszteзések során az F₁ növények első visszakereszteзése bizonyult a legnehezebbnek, elsősorban akkor, ha az amfiploidot használtuk anyai szülőpartnerként (szemkötés: 0,64%). Lényegesen hatékonyabbnak bizonyult a búza citoplazmával rendelkező F₁ hibridek visszakereszteзése. Az első generációban, ebben az esetben is rossz volt a szemkötés, azonban a harmadik visszakereszteзést követően ez az érték már a 18%-os értéket is meghaladta. A programból származó BC₃ utódokat üvegházban szaporítottuk fel 2015 nyarára a jövőbeni szántóföldi kísérletekhez.

Az amfiploiddal azonos genomszerkezetű *T. zhukovskyi* (MVGB650) faj genetikai diverzitását szélesítettük, melynek során a *T. zhukovskyi* × *T. timococcum* F₃ nemzedék genomszerkezetét mcGISH segítségével vizsgáltuk és a *T. timopheevii* fajspecifikus transzlokációját a hibridben is azonosítottuk. Ez a hibrid rezisztens volt a fiatalkori levélrozsa fertőzéssel szemben.

3.4.1.1 Utódnemzedékek genomvizsgálata

A búza és az amfiploid kereszteзéséből származó F₁ hibrid növények citológiai vizsgálata során megállapítottuk, hogy mindkét irányú kombináció esetén a növények 75%-a 42 kromoszómával rendelkezett, melyeket a további visszakereszteзéseknél használtuk fel.

A búza citoplazmát hordozó BC₁ növények FISH vizsgálatánál több *T. timopheevii* eredetű G kromoszómát, továbbá egy *T. monococcum* eredetű kromoszómát (1A^m) is azonosítottunk. Leggyakrabban az 1G, 2G és 6G kromoszómák fordultak elő, melyek minden esetben pár nélkül álltak, és a legtöbb esetben a velük homeológ egyik B kromoszóma helyére épültek be (monoszómás szubsztitúció). A BC₂ utódok körülbelül 30%-a lett normál 42 kromoszómás, ami a viszonylag nagy arányú idegen kromatin normál sejtosztódást zavaró hatásával magyarázható. Az előző generációhoz hasonlóan, G kromoszómák monoszómás szubsztitúcióját azonosítottuk, azonban egy növényben átlagosan már kevesebb idegen kromoszóma fordult elő, mint a BC₁ generáció növényeiben. A harmadik visszakereszteзés eredményeként a BC₃ növényekben már transzlokációk előfordulását feltételezzük a monoszómás szubsztitúciókat alkotó, egymással homeológ B és G kromoszómák között.

3.4.1.2 Utódnemzedékek fenotípusos vizsgálata és üvegházi rozsdafertőzése

Az idegen kromatin jelenlétét jelző tulajdonság, hogy az egymást követő generációk növényei változatos alakú kalászokat fejlesztettek, melyek között a BC₃ nemzedékben már a tar 'Mv9kr1'-hez hasonlóak is előfordultak. A visszakereszteзések hatására az F₁ hibridek átlagos növénymagassága (100 cm) közel a felére csökkent.

A *T. timococcum* citoplazmával rendelkező F₁ hibrid visszakereszteзett generációi abnormális, csökkent fertilitású kalászokat fejlesztettek, és növénymagasságuk sem haladta meg a 40 cm-t.

A BC₂ nemzedéket csíranövénykorban mesterségesen fertőztük levélrozsdával, melynek eredményeként az egyedek több mint fele mutatott immunitást, míg 25%-uk különböző mértékben (értékelési pontszám: 1 vagy 2) ellenállt a kórokozó támadásának. Ezeket az immunis és ellenálló egyedeket használtuk fel a további keresztezéseknél.

3.4.2 A *Triticum timopheevii* fajjal végzett keresztezések

A korábban kiválasztott *T. timopheevii* génbanki tétellel (MVGB845) is megkezdjük az előnemesítési munkát 2012/2013 telén. A közvetlen *T. timopheevii* génátvitel során 'Mv9kr1'-gyel hoztunk létre hibrideket, majd ezek 'Mv9kr1'-gyel visszakeresztett utódait. Az F₁ hibridek előállításánál tapasztalt 40%-os szemkötés az első visszakeresztés (BC₁) során nagymértékben csökkent (5%), azonban a BC₂ nemzedékben már nagyszámú utódot kaptunk. Ezek felszaporítása 2015 nyarára megtörtént, és szántóföldi tesztelésüket a közeljövőben végezzük el.

3.4.2.1 Visszakeresztett utódnemzedék genomvizsgálata

A hexaploid búza és a tetraploid *T. timopheevii* eltérő kromoszómaszáma miatt először a BC₁ nemzedéket vizsgáltuk FISH segítségével, melynek során az utódok közel 30%-át 42 kromoszómásnak azonosítottuk. Ezeket használtuk fel a következő visszakeresztésnél. Legnagyobb gyakorisággal az 1G kromoszómát tudtuk azonosítani. Ezen kívül azonosítottunk 2G, 6G és 5A¹ kromoszómát hordozó utódokat is, melyek az 1G kromoszómához hasonlóan, leginkább monoszómás szubsztitúció formájában fordultak elő. A következő generációkban feltételezhetően már a *T. timopheevii* kromatin transzlokációját is tudjuk majd azonosítani.

3.4.2.2 Utódnemzedékek fenotípusos vizsgálata és üvegházi rozsdafertőzése

Az idegen kromatin jelenlétét jól mutatta az utódnemzedékeknél tapasztalt változatos kalászalak, azonban a BC₂ nemzedékben már a búzához hasonlóakat is azonosítottunk, miközben magasságuk (51 cm) is közelített a búza szülőjéhez.

A tisztán 'Mv9kr1' alapú BC₁ utódokat, valamint martonvásári búzafajtákat is a pedigréjükben hordozó BC₁-jellegű utódokat csíranövény korban levélrozsdával fertőztük, melynek eredménye szerint a vizsgált növények kétharmada immunis volt vagy hiperszenzitív módon reagált a levélrozsdafertőzésre (értékelés: 0 vagy ;). Ezek a rezisztens növények adták a következő visszakeresztés anyai partnerét.

3.4.2.3 *Triticum timopheevii* citoplazmát hordozó búzatörzsek előállítása

A *T. aestivum* citoplazmával rendelkező BC utódok mellett a fordított kombinációjú, *T. timopheevii* MVGB845 citoplazmával rendelkező hibridek búzával való visszakeresztését is elindítottuk, hogy citoplazmás hímsteril (CMS) búzatörzseket állítsunk elő martonvásári

búzafajták felhasználásával. Az 'Mv9kr1' búzatörzset pollenadóként használva több mint háromszoros hatékonysággal (20%) tudunk hibrid szemet előállítani, mint a normál búzafajtákkal (6,5%). A *T. timopheevii* citoplazmával előállított hibridek szemkötési aránya viszonylag jónak tekinthető, azonban a hibrid szemek csírázási százaléka nagyon alacsony volt, és az első visszakeresztezés sem járt eredménnyel. A fennmaradó F₁ és F₂ szemekkel folytatjuk a programot, kiegészítve a hibridkombinációk pollenadó törzseinek előállítása során végzendő (a fertilitást visszaállító géneket célzó) genetikai marker alapú szelekcióval (MAS).

3.4.3 6B/6G monoszómás szubsztitúciós búza vonal (20^{II} + 1^I 6B + 1^I 6G) előállítása

Monoszómás kromoszóma-szubsztitúciót létre lehet hozni egy idegen kromoszómára diszómás addíciós búzatörzs és egy monoszómás búza vonal felhasználásával is. Ehhez első lépésben felszaporítottuk a *T. timopheevii* vad alfajának kromatinját tartalmazó, Martonvásáron korábban előállított búza vonalak több mint 10 éves szemeit, és 2013 elején csíranövénykori levélrozda vizsgálattal kiválogattuk az immunis egyedeket, melyek FISH vizsgálatát követően azonosítottunk egy 44 kromoszómás vonalat, mely a búza genom mellett 2 db 6G kromoszómát hordoz (21^{II} + 1^{II} 6G).

A *T. aestivum* 'Rannaja' 6B monoszómás (20^{II} + 1^I 6B) búza vonalat (génbanki szám: MVGS1117) használtuk anyaként, melyet ezzel a 6G diszómás addíciós búzatörzsszel poroztunk be. E két szelektált genetikai anyag F₁ hibridjei között FISH segítségével azonosítottunk olyan 42 kromoszómás növényeket, melyek 1 db 6B és 1 db 6G kromoszómát hordoznak (20^{II} + 1^I 6B + 1^I 6G). Ezek 2015 őszi befűzését követően az F₂ utódok felnevelésekor már a 6B és a 6G kromoszómák párosodása és transzlokációk kialakulása is bekövetkezhet.

3.5 Új tudományos eredmények

1. Felmértük és jellemeztük a Martonvásár Gabona Génbankban fenntartott *Triticum timopheevii* génbanki tételek főbb fenotípusos és agronómiai tulajdonságait, valamint alakorral való kombinálódó képességét. Az eredmények alapján kiválasztottunk egy genotípust (*Triticum timopheevii* subsp. *timopheevii* var. *rubiginosum* – MVGB845), melyet célszerű felhasználni a búza-előnemesítésben.
2. *Triticum timococcum* Kost., nom. nud. néven szintetikus amfiploidot hoztunk létre a kiválasztott *T. timopheevii* genotípus (MVGB845) és egy féltörpe alakor törzs (*T. monococcum* subsp. *monococcum* '1T-1') felhasználásával. A keresztezhetőségi vizsgálatok eredményeként további 9 *T. timococcum* törzset állítottunk elő, és szaporítottuk tovább szántóföldön, mely eredmény világviszonylatban is kiemelkedő.

3. Jellemeztük a *T. timococcum* és szülői genotípusainak fenotípusos és rezisztencia tulajdonságait. Megállapítottuk, hogy a *T. timopheevii* és a *T. monococcum* egyes tételeinek csíranövényei mesterséges lisztharmat fertőzés során fogékonyak, ezért a szántóföldi rezisztenciájukat valószínűleg felnőttkori rezisztencia is biztosítja.
4. Kidolgoztuk a *T. timopheevii* kromatinjának kimutatására alkalmas fluoreszcens *in situ* hibridizációs (FISH) eljárást, mellyel elkészítettük a G és A¹ genomok, pSc119.2, Afa-family és pTa71 repetitív DNS próbákon alapuló FISH kariotípusát. A kariotípusokat eredményesen használtuk a *T. timococcum* genomvizsgálatánál, illetve e fajok búzával alkotott hibridjeiben az idegen kromatin azonosításánál.
5. Többszínű genomi *in situ* hibridizációs (mcGISH) eljárást dolgoztunk ki, mellyel a G genom és az A genomok elkülöníthetővé váltak egymástól. Ennek segítségével a *T. timopheevii* fajspecifikus intergenomikus átrendeződését is azonosítottuk az utódokban. Az egymást követő FISH és mcGISH eljárás alkalmazásával hatékonyabbá tettük az új amfiploid kromoszómáinak azonosítását az utódnemzedékekben.
6. Kimutattuk, hogy a tetraploid *T. timopheevii* eredményesebben keresztezhető mindkét irányban a búzával, mint a hexaploid *T. timococcum*. A recesszív keresztezhetőségi allélpárt hordozó búza genotípus ('Mv9kr1') hagyományos búzafajtákkal szembeni kiemelkedő keresztezhetőségét is igazoltuk.
7. Búza előnemesítési programot indítottunk visszakeresztezéses (BC) módszerrel a *T. timopheevii* MVGB845 és a *T. timococcum* felhasználásával elsősorban azok kiemelkedő betegség-ellenállóságának hasznosítása céljából. Az 'Mv9kr1'-en alapuló BC program során csíranövénykorban levélrozsda-ellenálló utódokat szelektáltunk.
8. A Martonvásáron korábban előállított, *T. timopheevii* kromatint hordozó aneuploid anyagok között azonosítottunk egy 6G diszómás addíciót (*T. aestivum* 'Mv9kr1' háttérben), mely az általunk végzett csíranövénykori levélrozsda tesztben rezisztensnek bizonyult. Ebből az addícióból és a *T. aestivum* 'Rannaja' 6B monoszómás búza vonalból (MVGS1117) 6B/6G monoszómás szubsztitúciós növényeket állítottunk elő. Az 1 db 6B és 1 db 6G kromoszómát hordozó növények kromoszóma-összetételét FISH technikával is igazoltuk.
9. *T. timopheevii* citoplazmát hordozó hibrideket hoztunk létre martonvásári búzafajtákkal hímsteril búzatörzs előállítására céljából, mely egy hibridbúza nemesítési program számára fontos kiindulási anyag lehet.
10. A *T. zhukovskyi* beszűkült genetikai diverzitásának szélesítése érdekében sikeresen hoztuk létre e faj MVGB650 jelzésű génbanki tétele és a *T. timococcum* közötti hibridet, majd jellemeztük annak utódjait.

4 KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

4.1 *Triticum timococcum* előállítása

A Martonvásár Gabona Génbankban található *T. timopheevii* tételek több éves vizsgálata eredményeként sok értékes információ halmozódott fel, ami hasznos lehet a jövőbeni keresztezéseknél a megfelelő partner célzott kiválasztásához. Ezeket a fenotípusos és rezisztencia eredményeket azonban a jövőben mindenképpen javasolt kiegészíteni a különböző abiotikus stresszérzékenységi mutatókkal is.

Megállapítottuk, hogy az amfiploid előállításához kiválasztott MVGB845 azonosítójú *T. timopheevii* tételen kívül van még néhány, amelyet célszerű bevonni a búza előnemesítési programokba, így növelve a nemesítési alapanyagok genetikai bázisát, akár újabb típusú *T. timococcum* törzsek előállításán keresztül. A dolgozatban részletesen jellemzett amfiploiddal együtt összesen 10 különböző *T. timopheevii* genotípusból származó *T. timococcum* amfiploidot állítottunk elő, melyek negyedik generációja (C_4) jelenleg szántóföldi szelekciós programban vesz részt, és utódaik búza előnemesítési programokba történő bevonása a közeljövőben várható. A természetben előforduló, azonos genomszerkezettel rendelkező *T. zhukovskyi* erősen beszűkült genetikai diverzitásának szélesítése céljából előállított *T. zhukovskyi* × *T. timococcum* hibrid jelenleg F_5 nemzedéknél tart és szaporítását a jövőben is folytatjuk.

Triticum timococcum szintetikus amfiploidot már korábban is előállítottak, azonban azokat minden esetben vad *T. timopheevii* és hagyományos típusú *T. monococcum* genotípusok felhasználásával hozták létre, melyek több hátrányos tulajdonságot (pl. kalásztörékenység, gyenge szárszilárdság) is átörökítettek az utódaikba. Eredményeink bizonyították, hogy az amfiploidok előállításához csak részletesen ismert, előzetesen szigorú szelekción átesett növényi anyagot érdemes használni.

4.2 *Triticum timococcum* molekuláris citogenetikai jellemzése

Munkánk során elkészítettük a *T. timopheevii* (A^t és G) és a *T. monococcum* (A^m) genomjainak FISH kariotípusát a pSc119.2, pTa71 és Afa-family repetitív DNS próbák használatával. Az amfiploid molekuláris citogenetikai vizsgálata során azonos próbák hibridizálásával mind a hét G, hét A^t és hét A^m kromoszómapárt el tudtuk különíteni egymástól azok FISH mintázata alapján. Az általunk optimalizált többszínű genomi *in situ* hibridizációval (mcGISH) nagy biztonsággal el tudtuk különíteni a hexaploid *T. timococcum* G genomját a két A genomjától.

Vizsgálataink eredményeként a *T. timococcum* és *T. timopheevii* búza előnemesítési programba való bevezetését követő utódvizsgálatok alkalmával, a búza genetikai háttérben is nagy határfokkal azonosíthatók az átépült idegen kromoszómák. A kariotipizálási munkánk

eredményét nemcsak a búza előnemesítési programokban lehet hasznosítani, hanem az általunk kidolgozott kariotípusok elősegíthetik a gének térképezését, izolálását, kromoszóma-specifikus markerek tervezését, valamint az áramlásos (flow) citometriai eljárás során a szeparált kromoszómák azonosítását is.

4.3 *Triticum timococcum* fenotípusos és agronómiai jellemzése

Az amfiploid megjelenésében átmenetet képvisel a szülői genotípusok között, azonban felszínének sűrű szőrözöttsége értékes morfológiai bélyeg, mely a hasznos rezisztenciagének mellett szintén beépíthető a búzafajtákba vírusvektor rovarok és a szárazság elleni védekezőképesség javítása céljából. Azonban ennek vizsgálata még a jövő feladata.

A *T. timococcum* nagyfokú rozsdarezisztenciája (levélrozsa, sárgarozsa) mellett kiemelkedően ellenálló volt a lisztharmattal szemben is. Ennek háttérében felnőttkori rezisztencia kialakításáért felelős gének jelenlétét feltételezzük, mivel csíranövénykori mesterségesen fertőzött kísérletben – az irodalomban eddig rezisztensként nyilvántartott szülői genotípusokhoz hasonlóan – fogékonynak bizonyult. A hasonló témájú kutatások hiánya miatt e feltételezések igazolásához további vizsgálatok elvégzése szükséges. Az amfiploid viszonylag korai generációjának lisztharmat-rezisztencia tesztelését követően lehetőségünk nyílt arra is, hogy ellenálló egyedeket szelektáljuk ki a populációból, melyeket felneveltünk és továbbszaporítottunk.

Reményeink szerint a *T. timococcum* általunk megfigyelt kalászfuzárium-ellenállósága is beépíthető lesz búza genotípusokba. Az ezirányú előnemesítési munka már elkezdődött, és a többszörösen visszakeresztezett utódok tesztelése a közeljövőben várható.

Gázcsereenyíltások vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy az amfiploid vízhasznosítási képessége és szárazságtűrése valószínűsíthetően nem különbözik a jó szárazságtűréssel rendelkező szülői genotípusokétól, azonban ennek célirányos tesztelése is még jövőbeni feladat.

A *T. timococcum* fenntartó nemesítése során, évente elvégzett szelekció látványos eredménye (pl. produktivitás 50%-os növekedése) tükrében mindenképpen érdemes folytatni a C₅ generáció növényeinek további szelekcióját, hogy pár éven belül egy agronómiai szempontból is kiemelkedő, egyöntetű genetikai anyag álljon a nemesítők rendelkezésére.

4.4 *Triticum timopheevii* kromatint hordozó búza előnemesítési anyag előállítás

Egy többirányú előnemesítési programot indítottunk, mely során visszakeresztezéses (BC) módszerrel állítunk elő minél jobb tulajdonságokkal rendelkező hibrideket, amik hordozzák a *T. timopheevii* hasznos génjeit. Emellett a korábban előállított, martonvásári genetikai anyagok közül sikerült azonosítanunk egy 6G diszómás addíciós búzatörzset, melyet a *T. timococcum* amfiploidhoz hasonlóan génátviteli hídként használtunk fel, és hoztunk létre (monoszómás búza

genetikai anyagot használva) 6B/6G monoszómás kromoszóma-szubsztitúciót hordozó genotípust.

Előzetes méréseink alapján a *T. timopheevii* MVGB845 genotípus kiemelkedő α -tokoferol-, α -tokotrienol- és mikroelem (Se, Mn, K) tartalommal rendelkezik a búzához képest, mely részletes vizsgálata és a búzába való átvitele a jövőbeli feladatok egyik kiemelt részét fogja képezni.

Az előnemesítés során végzett többszörös visszakeresztezés megfelelő módszernek bizonyult az idegen kromatin átvitelére. E munka végső eredménye azonban csak évek múlva realizálódhat olyan búza genotípusokban, melyek csak a hasznos gén(ek)e)t tartalmazó kromoszómaszakaszt hordozzák. Ezen időigényes folyamat kezdeti eredményei mindképpen biztatóak, és a BC generációk jövőbeni szántóföldi tesztelése további eredményeket ígér.

Az idegen kromatin BC utódokban történő pontosabb kimutatására és nyomonkövetésére általunk kidolgozott *T. timococcum* FISH kariotípus hatékony eszköznél bizonyult és ajánlható a *T. timopheevii* alapú egyéb búzanemesítési programok molekuláris citogenetikai értékeléséhez is. A vizsgált utódnövények nagy többségében idegen fajú monoszómás kromoszóma-szubsztitúciót találtunk, ezért a további visszakeresztezések hatására egyre növekvő számú transzlokáció kialakulása várható a monoszómás szubsztitúciót alkotó homeológ kromoszómák között. A jövő feladata még a B és G kromoszómák, valamint a különböző eredetű A kromoszómák elkülönítése, ami az intergenomikus transzlokációk azonosítását segítené. Ezért fontos jövőbeli feladat a *T. timopheevii*-specifikus (polimorf) molekuláris markerek kiválogatása, melynek egy konkrét példáját már jelenleg is módunkban áll használni. A 6B/6G szubsztitúciós növényeink öntermékenyítése eredményeként a közeljövőben vélhetően idegen transzlokációt hordozó utódnövényeket tudunk majd vizsgálni a Martonvásáron kidolgozott mikroszatellit marker alapú eljárással (MAS), amely során meghatározható lesz az átépült 6G kromoszómaszakasz, annak hossza és elhelyezkedése a 6B kromoszómán.

A SZERZŐ FONTOSABB PUBLIKÁCIÓI

Tudományos publikációk:

Nemzetközi tudományos folyóiratokban megjelent publikációk:

Mikó P., Megyeri M., Farkas A., Molnár I., Molnár-Láng M. (2015): Molecular cytogenetic identification and phenotypic description of a new synthetic amphiploid, *Triticum timococcum* (A^tA^tGGA^mA^m). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 62(1): 55-66. p.

Mikó P., Löschenberger F., Hiltbrunner J., Aebi R., Megyeri M., Kovács G., Molnár-Láng M., Vida G., Rakszegi M. (2014): Comparison of bread wheat varieties with different breeding origin under organic and low input management. *Euphytica*, 199(1-2): 69-80. p.

Hazai tudományos folyóiratokban megjelent publikációk:

Mikó P., Megyeri M., Molnár-Láng M., Kovács G. (2013): Characterization of *Triticum timopheevii* Zhuk. gene bank accessions for development of synthetic amphiploid wheat lines. *Acta Agronomica Hungarica*, 61(2): 113-121. p.

Megyeri M., **Mikó P.**, Molnár I., Kovács G. (2011): Development of synthetic amphiploids based on *Triticum turgidum* x *T. monococcum* crosses to improve the adaptability of cereals. *Acta Agronomica Hungarica*, 59(3): 267-274. p.

Egyéb tudományos művek:

Konferencia kiadványok (Proceedings):

Mikó P., Löschenberger F., Megyeri M., Vida G., Rakszegi M., Molnár-Láng M. (2014): Responses of bread wheat varieties to different environments. In: *Chable et al. (eds.): Diversity strategies for organic and low input agricultures and their food systems. Book of abstracts of Solibam final congress, 7-9. July 2014.* SOLIBAM, Nantes, France, 35-36. p.

Megyeri M., **Mikó P.**, Molnár I., Taborská J., Pálfi X., Dulai S., Rapi S., Korózs M., Forgó P., Molnár-Láng M. (2014): Functional compounds of einkorn and emmer genotypes. In: *Chable et al. (eds.): Diversity strategies for organic and low input agricultures and their food systems. Book of abstracts of Solibam final congress, 7-9. July 2014.* SOLIBAM, Nantes, France, 96-97. p.

Mikó P., Megyeri M., Molnár-Láng M. (2014): Novel utilization of wild relatives in bread wheat prebreeding. In: *Kőszegi, I. (ed.): Advances in plant breeding and biotechnology techniques – book of abstracts, 27-29. April 2014.* Pannonian Plant Biotechnology Association, Mosonmagyaróvár, Hungary, 59-61. p.

Mikó P., Megyeri M., Molnár I., Molnár-Láng M. (2014): *Triticum timococcum*: vad fajok egyidejű kiaknázása a búzanemesítésben. In: *Veisz, O. (ed.): Növénynevelés a megújuló mezőgazdaságban: XX. Növénynevelési Tudományos Nap – 2014. március 18.* MTA Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Tudományos Bizottsága, Budapest, 314-318. p.

Mikó P., Megyeri M., Molnár-Láng M. (2013): Development of *Triticum timopheevii* derived synthetic amphiploid lines for wheat improvement. In: *Kőszegi, I. and Pósa, T. (eds.): Our Future – book of abstracts. – Pannonian Plant Biotechnology Conference for PhD Students in Plant Biology in Connection to the EPSO Fastination of Plants Day, 15. May 2013.* Pannonian Plant Biotechnology Association, Keszthely, Hungary, 25-26. p.

Mikó P., Megyeri M., Kovács G. (2011): Characterization of *Triticum timopheevii* gene bank accessions to gain useful materials for organic wheat breeding. In: *Veisz, O. (ed.): Climate change: Challenges and opportunities in agriculture. – AGRISAFE final conference, 21-23. March 2011.* Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, 90-93. p.

Konferencia összefoglalók (Abstracts):

- Mikó P.**, Megyeri M., Molnár-Láng M., Kovács G., Rakszegi M., Hiltbrunner J., Löschenberger F. (2013): Comparison of different breeding strategies of cereals through different environments. In: Joint Meeting of EUCARPIA Section Organic and Low-Input Agriculture and EU NUE-CROPS Project, 24-26 September 2013. Georg August Universität, Göttingen, Germany, 23. p.
- Mikó P.**, Megyeri M., Kovács G., Molnár-Láng M. (2013): Tetraploid wheat wild relatives as tools of wheat improvement. In: Ortiz, R. (ed.): Pre-breeding-fishing in the gene pool. Abstracts of oral presentations and posters of the European Plant Genetic Resources Conference 2013, 10-13 June 2013. NordGen and SLU, Alnarp, Sweden, 135. p.
- Mikó P.**, Megyeri M., Kovács G. (2012): Development of *Triticum timococcum* to improve wheat breeding materials. EUCARPIA 19th General Congress. 21-24 May 2012, Budapest, 263. p.
- Kovács G., Megyeri M., **Mikó P.**, Rakszegi M., Láng L. (2012): Organic breeding of einkorn (*Triticum monococum* ssp. *monococcum*): Development of semidwarf variety and its possible use in evolutionary plant breeding. EUCARPIA 19th General Congress. 21-24 May 2012, Budapest, 444. p.
- Megyeri M., **Mikó P.**, Kovács G. (2012): A termesztett búza genetikai diverzitásának növelése alternatív gabona fajok felhasználásával. In: *Veisz, O. (ed.): XVIII. Növénynevelési Tudományos Napok – Összefoglalók – 2012. március 6.* MTA Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Bizottsága, Magyar Növénynevelők Egyesülete, MAE Genetikai Szakosztálya, Budapest, 108. p.
- Mikó P.**, Megyeri M., Kovács G. (2011): Improvement of organic wheat breeding materials with the use of *Triticum timopheevii* gene bank accessions. ECO-PB Breeding Conference 2011: Organic Plant Breeding: What makes the difference? 3-4. November, 2011. Frankfurt am Main, Germany. *Abstract in proceedings: Lammerts van Bueren, E.T. et al. (eds.): Organic Plant Breeding: What makes the difference? 10 year's Anniversary Conference 2011.* Research Institute for Organic Agriculture (FiBL), Frankfurt, 44-45. p.
- Mikó P.**, Megyeri M., Kovács G. (2011): Különböző *Triticum timopheevii* génbanki tételek vizsgálata organikus nevelésre alkalmas alapanyagok előállítása céljából. In: *Matuz, J. et al. (eds.): XVII. Növénynevelési Tudományos Napok – Összefoglalók – 2011. április 27.* MTA Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Bizottsága, Magyar Növénynevelők Egyesülete, MAE Genetikai Szakosztálya, Budapest, 139. p.
- Mikó P.**, Megyeri M., Kovács G. (2011): Increasing the genetic variability of *Triticum zhukovskyi* genetic resources via its reconstruction from the original genome donor species. EUCARPIA conference of the Genetic Resources Section, 5-7. April, 2011. Wageningen, The Netherlands. *Abstract in proceedings: van Hintum, T.J.L. (ed.): To serve and conserve, Abstracts of oral presentations and posters of the European Plant Genetic Resources Conference 2011,* CGN, Wageningen, 92. p.
- Megyeri M., **Mikó P.**, Molnár-Láng M., Kovács G. (2011): Utilization of einkorn (*Triticum monococum* L. ssp. *monococcum*) to widen the genetic diversity of cereals. EUCARPIA conference of the Genetic Resources Section, 5-7. April, 2011. Wageningen, The Netherlands. *Abstract in proceedings: van Hintum, T.J.L. (ed.): To serve and conserve, Abstracts of oral presentations and posters of the European Plant Genetic Resources Conference 2011,* CGN, Wageningen, 90. p.
- Megyeri M., **Mikó P.**, Kovács G. (2010): Az alakor (*Triticum monococum* ssp. *monococcum*) keresztezhetőségének vizsgálata tetraploid x diploid fajok interspecifikus hibridjeinek előállítása céljából. In: *Veisz, O. (ed.): XVI. Növénynevelési Tudományos Napok – Összefoglalók – 2010. március 11.* MTA Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Bizottsága, Magyar Növénynevelők Egyesülete, MAE Genetikai Szakosztálya, Budapest, 99. p.