

SZENT ISTVÁN EGYETEM

Idegen fajú kromoszómák azonosítása a búza (*Triticum aestivum* L.)
és egyes rokon nemzetségek (*Hordeum*, *Agropyron*) keresztezéséből
származó hibridek utódaiban
molekuláris citogenetikai módszerekkel

Doktori (PhD) értekezés

KRUPPA KLAUDIA KATALIN

Gödöllő

2015

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 Intézet

Témavezető: Dr. Szakács Éva
tudományos főmunkatárs
a mezőgazdasági tudomány kandidátusa
MTA Agrártudományi Kutatóközpont
Mezőgazdasági Intézet
Génmegőrzési Osztály

.....
Dr. Helyes Lajos
iskolavezető

.....
Dr. Szakács Éva
témavezető

Tudományos tanácsadó Dr. Lángné Dr. Molnár Márta
az MTA doktora
MTA ATK Mezőgazdasági Intézet
Génmegőrzési Osztály

TARTALOMJEGYZÉK

Alkalmazott rövidítések jegyzéke	5
1. BEVEZETÉS – célkitűzések	7
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	11
2.1 A termesztett búzába történő génátvitel lehetséges forrásai	11
2.2 Árpából a búzába történő génátvitel	12
2.2.1 Árpa/búza és búza/árpa hibridek előállítása	12
2.2.2 Búza/árpa addíciós és szubsztitúciós vonalak előállítása	13
2.3 A <i>Thinopyrum</i> genus.....	15
2.3.1 Búza/ <i>Thinopyrum</i> hibridek és részleges amfiploidok előállítása	18
2.3.2 Búza/ <i>Thinopyrum</i> introgressziós vonalak és jeletőségük a növénynevelésben... 22	22
2.3.3 <i>Agropyron glael: Thinopyrum intermedium/Thinopyrum ponticum</i> szintetikus hibrid.....	26
2.4 Transzlokációk indukálása.....	27
2.4.1 Ionizáló sugárzás	28
2.4.2 Szövettenyésztés által indukált kromoszóma-rendellenességek	30
2.4.3 Indukált homeológ kromoszómánpárosodás a <i>Ph1</i> lokusz kiiktatásával	31
2.5 Kromoszómák azonosítása <i>in situ</i> hibridizációval (ISH)	32
2.5.1 Genomi <i>in situ</i> hibridizáció (GISH), multicolour genomi <i>in situ</i> hibridizáció (mcGISH)	33
2.5.2 Fluoreszcens <i>in situ</i> hibridizáció (FISH).....	34
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	37
3.1 Növényi anyag	37
3.2 Molekuláris citogenetikai vizsgálatok	38
3.2.1 Citológiai preparátum készítése	38
3.2.2 Próbajelölés	39
3.2.3 Genomi <i>in situ</i> hibridizáció (GISH és mcGISH).....	40
3.2.4 Fluoreszcens <i>in situ</i> hibridizáció (FISH).....	41
3.3 SSR marker analízis.....	42
3.3.1 A 7D kromoszóma fizikai térképezése.....	42
3.3.2 Búza/ <i>A. glael</i> utódvonalak molekuláris marker analízise	43
3.4 Növénynevelés, keresztezések.....	44
3.5 Szemek γ -besugárzása	45
3.6 Felvételezés, statisztikai analízis	45
3.7 Mesterséges lisztharmat-fertőzések	45
4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK.....	47
4.1 Árpagenotípusok kromoszóma-polimorfizmusának vizsgálata mcFISH technikával.....	47
4.1.1 Árpagenotípusok kromoszóma-polimorfizmus vizsgálatainak megvitatása	50
4.2 Új búza/árpa transzlokációk elemzése	51
4.2.1 'Asakazekomugi'/'Manasz' 4BS.7HL transzlokációs vonal citológiai jellemzése	51
4.2.1.1 A 4BS.7HL transzlokációs vonal citológiai jellemzésének megvitatása	53

4.2.2	Besugárzott búza/árpa 4H(4D) szubsztitúció citogenetikai vizsgálata	54
4.2.2.1	Besugárzott 4H(4D) szubsztitúció citogenetikai vizsgálatának megvitatása...	55
4.2.3	'Chinese Spring' <i>ph1b</i> mutánsal létrehozott búza/árpa transzlokáció jellemzése	56
4.2.3.1	'Chinese Spring' <i>ph1b</i> mutánsal létrehozott búza/árpa transzlokáció jellemzésének megvitatása	59
4.2.4	Mv9kr1/'Igri' 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal jellemzése és a 7D kromoszóma fizikai térképezése	60
4.2.4.1	Az 5HS-7DS.7DL vonal jellemzésének és a 7D kromoszóma fizikai térképezésének megvitatása	64
4.2.5	Búza/árpa hibridizáció eredményeinek általános megvitatása	66
4.3	<i>Thinopyrum ponticum</i> és <i>Thinopyrum intermedium</i> kromoszómák mcGISH analízise	68
4.3.1	<i>Thinopyrum ponticum</i>	68
4.3.2	<i>Thinopyrum intermedium</i>	69
4.3.3	A <i>Thinopyrum ponticum</i> és a <i>Th. intermedium</i> genomelemzésének megvitatása ...	70
4.4	Búza/ <i>Agropyron glael</i> keresztezésből származó utódok jellemzése	73
4.4.1	Mv9kr1/ <i>Agropyron glael</i> BC ₁ nemzedékének öntermékenyített utódai	73
4.4.1.1	Morfológiai és rezisztencia-megfigyelések	73
4.4.1.2	Molekuláris citogenetikai vizsgálatok eredményei	77
4.4.1.3	Részleges amfiploid: levélrozsa- és sárgarozsa rezisztens vonal	79
4.4.1.4	56 kromoszómaszómás részleges amfiploid nulli-tetraszómás vonal	82
4.4.2	Az Mv9kr1/ <i>Agropyron glael</i> BC ₂ nemzedékének öntermékenyített utódai	84
4.4.3	Búza/ <i>Agropyron glael</i> hibridizáció eredményeinek megvitatása	88
4.5	Új tudományos eredmények	92
5.	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	93
6.	ÖSSZEFOGLALÁS	95
7.	SUMMARY	97
8.	MELLÉKLETEK	99
M1.	Irodalomjegyzék	99
M2.	<i>Agropyron glael</i> növény, szem és kalász	118
M3.	A búzakromoszómák azonosításához alkalmazott FISH kariogram	119
M4.	Rezisztenciátípusok osztályozása Stakman-skála alapján	120
M5.	Az Mv9kr1/ <i>Agropyron glael</i> hibrid visszakeresztett (BC ₁), majd öntermékenyített utódvonalainak eredete parcella- és citológiai számokkal 2005-2015	121
	Köszönetnyilvánítás	122

Rövidítések jegyzéke

- BC** – visszakeresztezés, back cross
bp – bázispár
biotin – biotin-11-dUTP
Cf – centrikus fúzió
CS $ph1b$ – a 'Chinese Spring' $ph1b$ mutáns genotípusa
DAPI – 4',6'-diamidino-2-fenilindol
DS – dextrán-szulfát (25%-os)
digoxigenin – digoxigenin-11-dUTP
EDTA – etilén-diamin-tetraecetsav
FISH – fluoreszcens *in situ* hibridizáció
FITC – fluoreszcein-5-izotiocianát
FL – a deléciós kar- és a teljes kar hosszának hányadosa (fraction length)
GISH – genomi *in situ* hibridizáció
Gy – gray, az elnyelt sugárzás energiáját jellemző mennyiség
Th. – *Thinopyrum* genus
ISH – *in situ* hibridizáció
Kb – kilobázis
kr – kromoszóma
Lr – levélrozsda-rezisztenciagén
mcGISH – többszínű genomi *in situ* hibridizáció
MQ víz – Milli-Q víz, ioncserélő gyantán megszürt desztillált víz
MvGB – Martonvásári Génbank
NOR – nukleolusz organizáló régió
PCR – polimeráz láncreakció (polymerase chain reaction)
Ps. – *Pseudoroegneria* genus
QTL – mennyiségi jelleget meghatározó lokuszok (quantitative trait loci)
SDS – nátrium-dodecil-szulfát (10%-os)
SF50 – formamid 50%-os oldata (solution formamide)
Sr – szárrozsda rezisztenciagén
SSC – trinátrium-citrát és nátrium-klorid oldat keveréke (saline-sodium citrate)
SSR – egyszerű szekvenciaismétlődés (simple sequence repeats)
szv – szabadon virágzott kalász, nem öntermékenyített
TNB – trisz-NaCl blokkoló puffer
tr – transzlokáció
TRIS – trisz(hidroxi-metil)-amino-metán
U – egység (unit)
⊗ – öntermékenyítés

Törzsoldatok

20×SSC: 3M NaCl, 0,3M C₆H₅Na₃O₇·2H₂O (trinátrium-citrát dihidrát) (pH 7,0)

10×PBS: 137 mM NaCl, 27 mM KCl, 80 mM Na₂HPO₄, 15 mM KH₂PO₄ (pH 7,0)

TNB: 0,1M Tris-HCl, 150mM NaCl, 0,5% Blocking Reagent (Roche)

Munkaoldatok (mindig frissen készítve):

2×SSC (1000ml): 900 ml MQvíz + 100 ml 20×SSC

4×SSC-Tween (500ml): 400 ml MQvíz + 100 ml 20×SSC +2,5 ml 10% Tween20

1×PBS (1000 ml): 900 ml MQ víz + 100 ml 10×PBS

paraformaldehid (50 ml): 50 ml MQ víz + 2g paraformaldehid, + 8 µL 8M NaOH (pH 7,4)

etanol sorozat: 70% - 90% - 100% etanol

pepszin: 1 mg/ml 10 mM HCl-ben oldva (pH 7,5)

RNáz: 5 mg/ml 2xSSC-ben oldva

1. BEVEZETÉS

Bolygónk lakossága a XX. század eleje óta 1,65 milliárdról 7,3 milliárdra emelkedett. A Föld lélekszámának további növekedése miatt a rendelkezésre álló élelmiszer-mennyiségnek is növekednie kellene. A világon ma előállított élelmiszer jelenleg elegendő volna az emberiség számára, mégis sok millióan éheznek. Ennek oka napjainkban nem a megtermelt élelmiszerek alacsony mennyisége, hanem egyéb komplex szociológiai és gazdasági problémák, elsősorban az élelmiszerek egyenlőtlen eloszlása (fejlődő államok szegénysége szemben a nyugati államok pazarló életmódjával). A növénynemesítőknek mégis szembesülniük kell a népességnövekedéssel és az egyre csökkenő termőterületekkel és azok minőségével. A következő évtizedek igazi kihívása emiatt abban áll, hogy miként fokozható a mezőgazdaság hatékonysága. A terméshozamok emelésének környezeti szempontból is elfogadható módja olyan új, modern növényfajták nemesítése, amelyek esetleg kisebb környezeti terheléssel is biztonságosan termesztethetők.

A kenyérbúza (*Triticum aestivum* L.) a mérsékelt övi régió - így Magyarország - legfontosabb gabonanövénye, melyet hazánkban kb. 1,1 millió hektáron termesztnek. A termés mennyisége azonban évről évre jelentősen változik főleg az abiotikus (pl. a téli fagyok, a szárazság) és biotikus stresszek (pl. gombabetegségek és rovarkártevők) hatására. A hagyományos nemesítési módszerek mellett a rokon fajokban rejlő potenciál felhasználása is kialakulóban van a problémák enyhítésére. Egyik módja hagyományos nemesítési módszerrel, a búzával rokon, jó adaptációs képességgel rendelkező természetett vagy vad fajok hasznos agronómiai tulajdonságainak átvitele. A másik lehetőség a genetikailag módosított növények előállítása transzformációval, ez az eljárás azonban Magyarországon jelenleg nem használható fajtaelőállítási célra.

A búza terméshozamának és termésbiztonságának növelése mellett egyre nagyobb szerepet kap a beltartalmi tulajdonságok módosítása. Ahogyan a búza feldolgozóipari felhasználási köre egyre szélesedik, úgy egyre több speciális összetételű fajta előállítására van igény.

A búza árpával való keresztezésének egyik célja az árpa kedvező beltartalmi tulajdonságainak (nagyobb élelmi rost, esszenciális aminosav) beépítése a búzába. A különböző fajok keresztezésével már a XVII. században is próbálkoztak, azonban csak a biotechnológiai módszerek és kromoszómafestési eljárások kidolgozását követően tudták elvégezni a létrehozott hibridek és utódjaik citogenetikai elemzését az utódok genomösszetételének vizsgálata céljából.

Tudományos és gyakorlati szempontból is fontosnak tekinthető a búza rokonsági körébe tartozó vad fajokból történő génátvitel. A vad *Thinopyrum* nemzetségbe tartozó tarackbúzafajok abiotikus és biotikus stresszfaktorokkal szemben rendkívül ellenállóak. A legszélsőségesebb klimatikus viszonyok között is megtalálhatók, genetikai diverzitásuk jelentős. Több fajukat is

felhasználták a búza betegség-ellenállóságának javítására. Napjainkig különböző levélrozsdá-, szárrozsdá- és lisztharmatrezisztencia-géneket vittek át belőlük sikeresen a búzába. A *Thinopyrum* fajokban rejlő lehetőségek feltárása azonban korántsem ért még véget, nemesítési programokban történő felhasználásuk továbbra is újabb sikerekkel kecsegtet.

A búza idegen fajokkal történő keresztezésének végső célja olyan stabilan öröklődő transzlokációk előállítása, melyek agronómiailag értékes kromoszómaszakaszokat hordoznak. Az idegen fajok kromatinjának búzába történő eredményes átviteléhez elengedhetetlen feltétel, hogy az idegen genom kimutatására és a beépült kromoszóma, vagy kromoszómaszakasz azonosítására alkalmas molekuláris genetikai és citogenetikai módszerek álljanak rendelkezésre. Az *in situ* hibridizációs technikák fejlődésével egyre több fajban írják le a kromoszómák azonosításához szükséges egyedi mintázatokat, azonban a *Thinopyrum* nemzetségbe tartozó vad fajok többségének kromoszóma szinten történő azonosítása egyelőre még megoldásra vár.

Célkitűzések

A búza harmadlagos génforrásai közül a *Hordeum vulgare* L. és a *Thinopyrum intermedium/Thinopyrum ponticum* szintetikus hibrid (*Agropyron glael*) agronómiailag előnyös tulajdonságainak búzába történő beépítése érdekében a következő célokat tűztük ki:

- A Martonvásáron korábban elkezdődött búza/árpa hibridizációs programok utódvonalaiából olyan intergenerikus transzlokációk kiválogatása, melyek nemesítési alapanyagként felhasználhatók a természetett búza minőségének vagy biotikus/abiotikus stresszrezisztenciájának javítására.
- Az árpagenotípusok közötti polimorfizmus kimutatásához különböző ökológiai eredetű fajták háromszínű fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH) történő kariotipizálása.
- A 4BS.7HL búza/árpa transzlokációs vonal citogenetikai módszerekkel történő elemzése.
- A 4H(4D) búza/árpa szubsztitúciós vonal besugárzásával, valamint a 'Chinese Spring' *ph1b* mutáns genotípussal történő keresztezésével árpa 4H kromoszómaszakaszokat hordozó transzlokációs vonalak kiválogatása és azonosítása.
- Az Mv9kr1/'Igri' keresztezésből származó, spontán létrejött és korábban kimutatott 5HS-7DS.7DL búza-árpa transzlokációs vonal részletes citogenetikai elemzése és a 7D kromoszóma SSR markerekkel történő fizikai térképezése.

◆ A *Thinopyrum intermedium*/*Thinopyrum ponticum* szintetikus fajhibriddel (*Agropyron glael*) létrehozott Mv9kr1/*A. glael* utódok vizsgálata során célunk levél-, és sárgarozsdafertőzéssel szemben ellenálló introgressziós vonalak kiválogatása volt, továbbá e genetikai anyagok molekuláris citogenetikai elemzését terveztük a következő kutatási területeken:

- A *Thinopyrum intermedium* és *Thinopyrum ponticum* genomanalízise
- Az Mv9kr1 búza/*A. glael* hibrid búzával visszakeresztett utódvonalaiból genetikailag stabil levélrozsdarezisztens vonalak kiválogatása, és azonosítása molekuláris citogenetikai technikákkal.
- A búza/*A. glael* hibrid utódok Mv9kr1 genotípussal és 'Mv Karizma' fajtával történő visszakeresztésével az *Agropyron* kromoszómák számának csökkentése az utódnövényekben.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 A termesztett búzába történő génátvitel lehetséges forrásai

A termesztett búza terméshozzáadásának növelése érdekében új abiotikus és biotikus stressz-rezisztenciáért felelős géneket szükséges a búzagenomba beépíteni. Minél szélesebb a felhasználható génforrások köre, annál nagyobb mértékű a genetikai sokféleség, ezért napjainkban ismét előtérbe kerültek az interspecifikus és intergenerikus hibridizáció által kiaknázható lehetőségek. A *Triticeae* törzsön belül kb. 500 faj található, melyből mintegy 400 évelő (WANG és LU 2014). A törzs fajai a világon szinte minden élőhelyen megtalálhatók, a legextrémebb időjárási és talajminőségi feltételekhez alkalmazkodtak. A rokon fajok értékes tulajdonságainak búzába történő bevitelére még viszonylag új kutatási területnek számít. A termesztett növények génforrásait HARLAN és DE WET (1971) javaslatára három csoportba osztották genomösszetételük alapján. A termesztett búza - *Triticum aestivum* L. (BBAADD)- elsődleges génforrásai közé a búzával homológ genomokat tartalmazó fajokat soroljuk, melyek között megtalálhatók hexaploid tájfajták, termesztett tetraploidok (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*, BBAA), valamint a durum és a termesztett búza A és D genomjának diploid donor fajai [*Triticum monococcum* L. (A^mA^m), *T. urartu* Tumanian ex Gandilyan (A^uA^u), *T. boeoticum* Boiss. (AA), *Aegilops tauschii* Coss. (DD)]. Az ezekkel a fajokkal létrehozott hibridek általában fertilizálnak, a bennük lezajló homológ kromoszómapárosodás során végbemenő „crossing over”-rel spontán rekombinációk jöhetnek létre. A másodlagos génforrások közé allopoliploid *Triticum* fajok (pl. *T. timopheevii* Zhuk., GGAA) és a búza B genomjával hasonlóságot mutató S genommal rendelkező *Aegilops* (*Sitopsis* szekció) fajok tartoznak (*Ae. speltoides*, *Ae. longissima*, *Ae. sharonensis*, *Ae. searsii*, és *Ae. bicornis*). A csoport tagjai a búzával közeli rokonságban állnak, azonban a létrejött hibridben problémák adódhatnak a kromoszómapárosodás során. Egyes kombinációkban az endospermium nem fejlődik ki, ezért szükség lehet embriómentésre. A hexaploid búza genomösszetételének AABBDD jelölése helyett FELDMAN (2001) javasolta a BBAADD jelölést, melynek alapja WANG et al. (1997) citoplazma analízise, amelyben a poliploidizáció során a tetraploid és hexaploid búzafajok eredeti anyai szülőpartnerre (ezáltal citoplazmadonorja) a B genom (*Aegilops speltoides*), ezért ezt pedigrek és genomjelölések esetén előre kell írni. A búza harmadlagos génforrásai igen távoli rokonságban állnak az elsődleges génforrásokkal, a búzával homológ genomot nem tartalmaznak, az idegenfajú kromoszómák búzakromoszómával való párosodása nem történik meg, ezért a géntranszfer csak speciális technikák alkalmazásával valósítható meg. A hibrid utódok előállításához elengedhetetlen az embrió mentése és a steril hibrid növény kromoszómaszámának kolchicinkezeléssel történő megkétszerezése, vagy búza szülőpartnerrel történő visszakeresztezése. Ebbe a csoportba tartoznak többek között a H, R, J, St, P, V stb. genomokkal

rendelkező *Hordeum*, *Secale*, *Thinopyrum*, *Pseudoroegneria*, *Agropyron*, *Dasypyrum* stb. fajok, amelyek a búzanemesítés jövőjében egyre nagyobb szerephez juthatnak.

2.2 Árpából a búzába történő génátvitel

A búza és az árpa közötti intergenerikus hibridizáció régóta áll a növény-nemesítők, a citogenetikusok és az evolúciókutatók érdeklődésének középpontjában. A búzanemesítés szempontjából a cél elsősorban az árpa kedvező beltartalmi paramétereinek (jelentős élelmi rost-, esszenciális aminosavtartalom) átvitele a természetett búzába, valamint minden olyan egyéb előnyös tulajdonság (só- és szárazságtűrés, télállóság, bokrosodás stb.) beépítése, amivel a természetett búza termésbiztonsága növelhető.

2.2.1 Árpa/búza és búza/árpa hibridek előállítása

A búza árpával való keresztezése nem egyszerű, mivel a két faj nem közeli rokon. Az árpa genommérete (C-értéke) 5,3 Gb (INTERNATIONAL BARLEY GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2012), a kenyérbúzáé 17 Gb (BRENCHLEY et al. 2012). Búza/árpa hibridizációról már a XX. század elejéről találunk leírást (FARRER 1904), azonban SHEPHERD és ISLAM (1981) szerint nem valószínű, hogy az előállított növény igazi hibrid lett volna, mivel sem a hibrid, sem az utódnemzedékei nem mutattak árpajelleget. A hibridelőállítás során az első akadály az idegen pollennel történő megtermékenyülés. Ha létre is jön, a szemkötés nagyon kismértékű és a fejlődésnek indult embriók a táplálósövet (endospermium) hiányában hamar abortálódnak. A probléma megoldására az 1970-es évek elején a Dániában kutató Anthon Kruse alkalmazta búza/árpa hibrideken az embriómentést (KRUSE 1973). A megporzás utáni 12. napon a hibrid embriókat steril körülmények között eltávolította, majd 1 perc 0,1%-os HgCl₂-kezelés után 14 napos árpa-endospermiumba helyezte. Ezzel a technikával létrehozta az első árpa/búza hibrid növényeket. Beporzóként a *T. aestivum* mellett a *T. dicoccum* és a *T. monococcum* fajt használva szintén sikeres hibridizációt hajtott végre. Kruse munkássága nyomán megnőtt az érdeklődés a hibridelőállítási programok iránt. A 'Betzes' árpa és a 'Chinese Spring' búzafajta felhasználásával ISLAM et al. (1975) és FEDAK (1977a, b) hozott létre életképes hibrideket. A 'Chinese Spring' az egyik legjobban keresztezhető búzagenotípus, mert keresztezhetőségi gének találhatók az ötös homeológ kromoszómákon (JIANG et al. 1994). Tetraploid búza felhasználásával THOMAS et al. (1977) állított elő hibrid növényt két kombinációban. Ezen hibridek esetében mindig árpa volt az anya. Árpa/búza hibrideket az 1980-as években több kutatócsoport is előállított (CLAUSS 1980, MUJEEB-KAZI 1981, CHEN et al. 1984, MOLNÁR-LÁNG et al. 1985, SHIMADA et al. 1987). A hibrid növények sterilek voltak és a kromoszómakészletük megkettőzésének céljából alkalmazott kolchicinkezelés sem volt

eredményes, ezért a hibridek búzával történő visszakeresztezésével próbálkoztak. Az utódnövényekben azonban az árpacitoplazma és a búzasejtmag interakciója miatt a porzók bibeszerű képletekké alakultak (*pistilloidia*), ezért a növények sterilek voltak. Később XUE et al. (1988) tudott egy 43 kromoszómával rendelkező utódnövényt felnevelni. PERSHINA et al. (1993) árpa/búza hibridek és BC₃- BC₅ nemzedékük jellemzését publikálta. AKSYONOVA et al. (2005) olyan hibridet és fertilis rekombináns utódokat állított elő, melyekben a mitokondriális és kloroplasztisz-DNS kizárólag apai eredetű volt. A *pistilloidia* elkerülésére FEDAK (1980) anyai partnerként a búzát használta, azonban az életképes hibrid növény előállításának sikeressége a felére (7,9%-ról 3,3%-ra) csökkent az árpa/búza kombinációhoz viszonyítva. Ennek ellenére a módszer elterjedt és napjainkig számos búza/árpa hibridet állítottak elő (ISLAM et al. 1978, ISLAM és SHEPHERD 1990, SETHI et al. 1986, KOBÁ et al. 1991, WOJCIECHOWSKA és PUDELSKA 1993, MOLNÁR-LÁNG és SUTKA 1994, JAUHAR 1995, TAKETA et al. 1998, MOLNÁR-LÁNG et al. 2000a, MALYSHEVA et al. 2003, POLGÁRI et al. 2014).

2.2.2 Búza/árpa addíciós és szubsztitúciós vonalak előállítása

Addíciónak azt a kromoszómaszám-változást nevezzük, amikor a búza teljes kromoszómakészletébe egy vagy egy pár idegen kromoszómát építünk be. Amennyiben csak egyetlen árpakromoszómával egészül ki a búzagenom, akkor monoszómás, ha egy homeológ kromoszómával, akkor diszómás addícióról beszélünk. Az első addíciós vonalak létrehozásának idején a beépített kromoszómák azonosításához C-sávozást alkalmaztak, majd előtérbe kerültek a molekuláris markerek és a fluoreszcens *in situ* hibridizáció. A szakirodalom feldolgozását nehezíti, hogy az árpakromoszómák mai, a búzával való homeológián alapuló számozása nem egyezik a korábbi citológiai alapú kromoszómaszámozással. A 7th International Barley Genetics Symposium-on 1996-ban történt megegyezés alapján LINDE-LAURSEN et al. (1997) publikálta az árpakromoszómák új számozási rendszerét, mely alapján az 1H megfelel a korábbi citológiai 5-ös kromoszómának, az 5H a 7-es, a 7H pedig az 1-es kromoszómának felel meg. A többi kromoszóma számozása változatlan maradt. A továbbiakban a ma elfogadott számozást fogom használni az 1997 előtti irodalmak említésekor is.

Elsőként ISLAM et al. (1981) számolt be a 'Chinese Spring'/'Betzes' kombinációból származó diszómás addíciós sorozat előállításáról, mely az 1H kivételével valamennyi addíciós vonalat tartalmazta. Az 1H kromoszóma a búza genetikai háttérben extrém citológiai abnormalitásokat okoz a meiózis során, ami sterilitáshoz vezet. A sterilitásért felelős *Shw* (sterility in hybrids with wheat) gént TAKETA et al. (2002) az 1H hosszú kar centromérához közeli részére térképezte. A hosszú kart nem tartalmazó 1H-t hordozó, fertilis 1HS teloszómás addíciós vonalat állított elő és azonosított ISLAM (1983) és SZAKÁCS és MOLNÁR-LÁNG

(2007). Az utóbbi, Mv9kr1/'Igri' addícióban az 1HS kar izokromoszómás formában volt jelen a búza genetikai háttérben. TAKETA és TAKEDA (1998) szerint a 6H kromoszóma hosszú karján található gén(ek) enyhítheti(k) az 1HL okozta sterilitást. Ezt ISLAM és SHEPHERD (2000) is bizonyította, amikor olyan addíciós vonalat válogatott ki, amelyben egy teljes 1H és egy 1HS teloszóma mellett diszómásan a 6H kromoszóma is jelen volt. A 'Chinese Spring' és az árpával közeli rokon *Hordeum chilense* keresztezésből MILLER et al. (1981) fertilis diszómás 1H addíciós vonalat állított elő, mely alapján valószínűsíthető, hogy a *H. chilense* 1H kromoszómáján nem található a természetű árpához hasonló sterilitási gén.

A 'Shinchunaga' búza és a 'Nyugoruden' árpafajta hibridjéből KOKA et al. (1997) 5H és 6H diszómás addíciós vonalat állítottak elő, valamint öt olyan addíciót, amelyben transzlokációs kromoszómák voltak jelen. Az öt transzlokációból kettőt azonosítottak 5BL.5HS-ként, a további három transzlokációt nem tudták azonosítani C-sávozással. A 'Chinese Spring' búzafajta búza/árpa hibridekben megmutatkozó előnytelen agronómiai tulajdonságainak kiküszöbölése céljából annak recesszív *kr1* keresztezhetőségi allélját MOLNÁR-LÁNG et al. (1996a) beépítette az Mv9 búzagenotípusba, majd ennek felhasználásával SZAKÁCS és MOLNÁR-LÁNG (2007, 2010) új őszi búza/őszi árpa (Mv9kr1/'Igri') addíciós sorozatot állított elő. A sorozat az 1HS izokromoszómás, a 2H, 3H, 4H, 7H diszómás és a 6HS diteloszómás addícióból áll. A 'Manasz' ukrán árpával létrehozott addíciós sorozat (MOLNÁR-LÁNG et al. 2012) a közép-európai környezeti viszonyokhoz jobban alkalmazkodott, mint a német árpafajtákkal létrehozott addíciós vonalak. Termőképességük többnyire kisebb, mint a búzaszülőé. Jelentőségük elsősorban az, hogy alapanyagként szolgálnak a genetikailag stabilabb szubsztitúciós és transzlokációs vonalak előállításához, illetve segítségükkel tanulmányozható, hogy az adott kromoszóma jelenléte hogyan befolyásolja a búza tulajdonságait.

A szubsztitúciós vonalak (a búza valamely kromoszómapárját egy másik genotípusból származó homeológ kromoszómapár helyettesíti) addíciós vonalakkal történő előállításának módszerét UNRAU et al. (1956), valamint RILEY és KIMBER (1966) írta le. Egy adott árpa diszómás addíció (44 kr) és egy megfelelő homeológ (A, B vagy D) búza monoszómás vonal (41 kr) keresztezése után azokat a növényeket válogatják ki, melyekben mind az árpa, mind a búza adott kromoszómájára nézve monoszómás (20 pár búza + 1 árpa + 1 búza). Ezen növények önmegporzásával állított elő ISLAM és SHEPHERD (1992a, 1995), valamint YA-PING et al. (2003) búza/árpa szubsztitúciós vonalakat. MOLNÁR et al. (2007) szövettanban fenntartott 'Chinese Spring'/'Betzes' BC₂ utódok között spontán létrejött 4H(4D) szubsztitúciót azonosított. A szubsztitúciók rendszerint genetikailag stabilak, fertilesek. Az elmúlt 40 évben a búza/árpa keresztezés területén elért eredményeket MOLNÁR-LÁNG et al. (2014) összefoglaló cikke részletesen tartalmazza.

2.3 A *Thinopyrum* genus

A *Thinopyrum* genust LÖVE (1980) vezette be a J genomot hordozó fajokkal, melyek a búza harmadlagos génforrásai közé tartoznak. E nemzetségbe szárazságtűrő fűfajok tartoznak, melyek élőhelyül és táplálékként szolgálnak a tengerparti és belső területeken Európában (főként a mediterrán régiókban), Nyugat-Ázsiában, Afrika északi részén és Észak-Amerikában. A görög eredetű szavakból összerakott *Thinopyrum* elnevezés (thino-tengerpart, pyros- búza) is a dűnéken előforduló fajokra utal. Megközelítőleg 20 faj alkotja a nemzetséget (DEWEY 1984), melyek közül főként a *Th. intermedium* és a *Th. ponticum* fajt tanulmányozták. Szaporodásuk elsősorban vegetatív úton történik, viszont lassú növekedésű tarackjuknak köszönhetően nem invazívak. Szerepet játszanak a talajerózió megelőzésében, a talaj rehabilitációjában, egyes fajok szikes talajokon csökkentik a sótartalmat a levelükbe történő akkumulációval (GORHAM et al. 1985; WANG 2011). A *Thinopyrum* genus fajai számos értékes tulajdonsággal rendelkeznek. Ezek közül kiemelkedik a fokozott vitalitás, valamint a széles spektrumú abiotikus és biotikus stresszrezisztencia, ezért már a XIX. század végén felvetődött a *Triticum* és akkor még *Agropyron* genusba sorolt fajok keresztezésének gondolata.

A genus nagy arányban tartalmaz élő fajokat, melyek ploidszintje diploidtól dekaploidig terjed. A taxonból a diploid ($2n=2x=14$) *Th. elongatum* (Host D.R.) Dewey és *Th. bessarabicum* (Savul. & Rayss) Löve, valamint a hexaploid ($2n=6x=42$) *Th. intermedium* (Host) Barkworth & D.R. Dewey és a dekaploid ($2n=10x=70$) *Th. ponticum* (Podp.) Z.-W. Liu & R.-C. Wang fajt hasznosították leginkább a búzanemesítésben (CEOLONI et al. 2014). Több mint 50 éve kezdődött a fajok bevonása a búza genetikai variabilitásának gazdagítására, a betegségek és kórokozók elleni rezisztencia (LI és WANG 2009) javításával. Napjainkig a *Thinopyrum* fajokat a sótűrés növelésére (COLMER et al. 2006), szemtelítődési fázisban a magas hőmérséklet, erős fényintenzitás és szárazság okozta stresszválasz erősítésére (LI et al. 2008), valamint minőségi paraméterek javítására (LIU et al. 2008) használták.

A fajokat sokszor különböző taxonokra utaló szinonimákkal illetik, a legtöbb *Thinopyrum* fajnak *Agropyron* szinonimája is van. Ennek oka az, hogy a taxonómusok a múltban kizárólag morfológiai bélyegeik alapján osztályozták a fajokat és ez alapján a két nemzetség sok hasonlóságot mutatott. BENTHAM (1882) és HITCHCOCK (1951) az *Agropyron* genusba sorolta az összes élő fűféléket, amelynek magányos kalászkája van (a virágzat minden nódusán 1 kalászka található), így ebbe a heterogén genusba több mint 100 faj tartozott. NEVSKI (1934) volt az első kutató, aki oly módon szervezte át a *Triticeae* nemzetségeit, hogy azok jobban tükrözzék az evolúciós kapcsolatokat. Így az *Agropyron* nemzetséget is 4 genusra (*Agropyron*, *Antosachne*, *Eremopyrum*, *Roegneria*) osztotta fel. Az egyre nagyobb számú citogenetikai adat

elemzését követően LÖVE (1984) és DEWEY (1984) is genomösszetételén alapuló rendszerezést javasoltak és az évelő fűféléket így több nemzetségbe sorolták: *Agropyron*, *Australopyrum*, *Dasypyrum*, *Peridictyon*, *Festucopsis*, *Psathyrostachys*, *Pascopyrum*, *Leymus*, *Elymus*, *Pseudoroegneria*, *Thinopyrum*, *Elytrigia* (BARKWORTH és DEWEY 1985). Az osztályozási rendszer alapján egy genusba tartoznak az azonos genommal rendelkező fajok, és azok a hasonló fajok, amelyek az adott genomot is tartalmazzák. Az *Agropyron* genusban Dewey javaslatára már csak a P genommal rendelkező poliploid sorozat fajai találhatóak. A nemzetség jellegzetes képviselője a taréjos búzafű (*Agropyron cristatum*).

A napjainkban elterjedt molekuláris genetikai technikák eredményeinek integrálása a taxonómiába folyamatban van. A *Thinopyrum* genus diploid (14 kr), szegmentális allotetraploid (28 kr), szegmentális allohexaploid (42 kr), oktoploid (56kr) és dekaploid (70 kr) fajokat tartalmaz (1. táblázat).

A genusba tartozó fajok genomösszetételének jelölése a mai napig nem egységes. A *Thinopyrum*-ok mindegyike tartalmaz J (=E?) genomot, és néhány faj P vagy St genomot vagy abból származó részletet (LIU és WANG 1993). A *Th. elongatum* E (E^e, J^e) és a *Th. bessarabicum* J (E^b, J^b) genomja DEWEY (1984) szerint homológ (J=E), azonban más szerzők szerint (JAUHAR 1990, WANG 1992, 2011) nagyon közeli, de mégsem teljesen azonos. Ez utóbbi megállapítást támasztják alá ENDO és GILL (1984a) által végzett C-sávozás eredményei is. A kariotípuselemzések és a genomanalízisek alapján ugyanakkor a J és az E genom elég közelinek bizonyult ahhoz, hogy azonos genomi jelölést kapjon. Mivel a J genomot hamarabb leírták, mint az E genomot (ÖSTERGEN 1940, CAUDERON és SAIGNE 1961) ezért WANG (1985) az E genom J^e-re történő módosítását javasolta. Wang véleményének helyességét a DEWEY (1984) által módosított taxonómiai újítások is megerősítették, mivel az új rendszerezés alapján mindkét faj a *Thinopyrum* genusba került, így J genomi jelölést kaptak. DVOŘÁK (1981) már 1981-ben a J genom E^b-re történő módosítását tartotta célszerűnek. A II. International *Triticeae* Symposium Genomjelölési bizottsága is az E^b és E^e jelölést fogadta el a *Th. bessarabicum* és a *Th. elongatum* genomjának jelölésére (WANG et al. 1995). Ezekkel a fajokkal foglalkozó kutatók közül azonban többen is a J^b és J^e jelölést használják a mai napig (CHEN et al. 1998, LI et al. 2003), ezért ugyanannak a fajnak 2-3 féle genomjelölésével találkozhatunk a publikációkban (2. táblázat). WANG et al. (2014) összefoglalója alapján a témában eddig megjelent publikációk közül 32 vizsgálat a J és E genomot azonos klaszterbe, 14 vizsgálat egymás melletti- és 9 vizsgálat pedig egymástól távoli klaszterbe csoportosította. Jelenleg ugyanazon alapgenom különböző verzióinak tekinthetők.

1. táblázat Fontosabb *Thinopyrum* fajok, azok szinonímái, kromoszómaszámuk és genomjelölésük

Jelenlegi fajnév	Szinoníma	2n	Genom
<i>Thinopyrum bessarabicum</i> (Savul. & Rayss) A. Löve	<i>Agropyron bessarabicum</i> Savul. & Rayss <i>Elytrigia bessarabica</i> (Savul. & Rayss) Dubovik	14	J vagy E ^b
<i>Thinopyrum caespitosum</i> (C. Koch) Z.W. Liu & R.C. Wang	<i>Agropyron caespitosum</i> C. Koch <i>Lophopyrum caespitosum</i> (C. Koch) A. Löve	28	ESt
<i>Thinopyrum curvifolium</i> (Lange) D.R. Dewey	<i>Elymus curvifolium</i> (Lange) Melderis	28	EE vagy J ^c J ^e
<i>Thinopyrum distichum</i> (Thunb.) A. Löve	<i>Agropyron distichum</i> (Thunb.) P. Beauv <i>Elytrigia disticha</i> Prokudin ex Á. Löve	28	JE vagy E ^b E ^e
<i>Thinopyrum elongatum</i> (Host) D.R. Dewey	<i>Agropyron elongatum</i> (Host) P. Beauv <i>Lophopyrum elongatum</i> (Host) A. Löve <i>Elytrigia elongata</i> (Host) Nevski	14	E vagy E ^e
<i>Thinopyrum flaccidifolium</i> (Boiss. & Heldr.) Moustakas	<i>Agropyron elongatum</i> var. <i>flaccidifolium</i> Boiss. & Heldr. <i>Elytrigia flaccidifolia</i> (Boiss. & Heldr.) Holub	28	EE vagy E ^e E ^e
<i>Thinopyrum gentryi</i> (Melderis) D.R. Dewey	<i>Agropyron gentry</i> Melderis <i>Elytrigia intermedia</i> ssp. <i>gentryi</i> (Melderis) Á. Löve	42	EE St St vagy ESt
<i>Thinopyrum intermedium</i> (Host) Barkworth & D.R. Dewey	<i>Elytrigia intermedia</i> (Host) Nevski ssp. <i>intermedia</i> <i>Agropyron glaucum</i> (Desf. ex DC.) Roem. & Schult. <i>Agropyron intermedium</i> (Host) P. Beauv.	42	EE St St, JJ St St, ESt
<i>Thinopyrum junceiforme</i> (A. Löve & D. Löve)	<i>Agropyron junceum</i> ssp. <i>boreoatlanticum</i> Simonet & Guinochet	28	JE vagy E ^b E ^e
<i>Thinopyrum junceum</i> (L.) A. Löve	<i>Agropyron junceum</i> (L.) P. Beauv <i>Thinopyrum runemarkii</i> A. Löve	42	JJE vagy E ^b E ^b E ^e
<i>Thinopyrum nodosum</i> (Nevski) D.R. Dewey	<i>Agropyron nodosum</i> Nevski <i>Lophopyrum nodosum</i> (Nevski) A. Löve	28	ESt
<i>Thinopyrum podperae</i> (Nábelek) D.R. Dewey	<i>Agropyron podperae</i> Nábelek <i>Elytrigia intermedia</i> subsp. <i>podperae</i> (Nábelek)	42	
<i>Thinopyrum pycnanthum</i> (Godr.) Barkworth	<i>Agropyron pycnanthum</i> (Godr.) Godr. & Gren. <i>Elytrigia pycnantha</i> (Godr.) A. Löve	42	SP ^s E ^s
<i>Thinopyrum ponticum</i> (Podp.) Z.-W. Liu & R.-C. Wang	<i>Agropyron elongatum</i> (Host) P. Beauv. <i>Elytrigia pontica</i> (Podp.) Holub ssp. <i>pontica</i> <i>Lophopyrum elongatum</i> (Host) Á. Löve <i>Elytrigia elongata</i> (Host) Nevski	70	EEESTSt JJJ St J St
<i>Thinopyrum pungens</i> (Pers.) Á. Löve	<i>Agropyron pungens</i> (Pers.) Roem. & Schult. <i>Elytrigia pungens</i> (Pers.) Tutin	56	EStStP EStLP
<i>Thinopyrum sartorii</i> (Boiss. & Heldr.) A. Löve	<i>Agropyron sartorii</i> (Boiss. & Heldr.) <i>Elytrigia sartorii</i> (Boiss. & Heldr.)	28	JE vagy E ^b E ^e
<i>Thinopyrum scirpeum</i> (K. Presl) D.R. Dewey	<i>Agropyron scirpeum</i> K. Presl <i>Lophopyrum scirpeum</i> (K. Presl) A. Löve	28	EE vagy J ^c J ^e

2. táblázat Genomjelölések változásai és leírójuk a diploid *Thinopyrum bessarabicum* és *Thinopyrum elongatum* fajoknál

genomjelölés leírója	<i>Th. bessarabicum</i> genomjelölése	<i>Th. elongatum</i> genomjelölése
ÖSTERGEN (1940)	J	
CAUDERON és SAIGNE (1961)		E
DVOŘÁK (1981)	E ^b	E
LÖVE (1984)	J	E
DEWEY (1984)	J	J
WANG (1985)	J	J ^e
WANG et al. (1995)	E ^b	E ^e
CHEN (1998)	J ^b	J ^e

2.3.1 Búza/*Thinopyrum* hibridek és részleges amfiploidok előállítása

A búza és a *Thinopyrum* fajok közötti keresztezési programok az 1920-as és 1930-as években kezdődtek a Szovjetunióban, az Egyesült Államokban, Kanadában és Németországban. Az első sikeres eredményekről közel egyidőben szovjet nemesítők számoltak be (CICIN 1933, VERUSHKINE és SHECHURDINE 1933). Magyarországon az első búza/tarackbúza hibrideket Kiss és Rajháthy állította elő 1953-ban, az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézetében (KISS és RAJHÁTHY 1956, BELEA 1964).

A kanadai préirin a búza/*Agropyron glaucum* (*Th. intermedium*) hibridek előállításának fő célja jó termőképességű, a talajt megkötő, évelő takarmánynövény létrehozása volt (ARMSTRONG 1936). Az F₁ hibridek minden esetben az *Agropyron* szülőre hasonlító hosszú, vékony, laza kalászt hordoztak (VERUSHKINE és SHECHURDINE 1933, CICIN 1933). Az évelő búza előállítására irányuló kutatások az 1930-as években legalább akkora érdeklődésre tartottak számot, mint a tritikálé fejlesztése területén végzettké az 1980-90-es évektől. Évelő, 70 és 56 kromoszómás teljes vagy részleges amfiploidokat hoztak létre, de csak részben váltották be a hozzájuk fűzött reményeket (CAUDERON 1979). CICIN (1960) egyik hibridje *Trititrigia cziczinii* Tsvet taxonómiai néven vált ismertté (CVELJOV 1973).

A *Th. intermedium* (2n=6x=42, JJStSt) hexaploid pázsitfű-féle. Speciális genomjában a J mellett a valószínűleg *Pseudoroegneria* fajból származó St és egy harmadik genom is megtalálható, amely a kromoszómák centromérájánál St genomi DNS-sel hibridizáló szakaszokat tartalmaz, ezért JSt genomnak is nevezik, de ennek eredetét és jelölését vitatják (MAHELKA et al. 2011). Elsősorban levélrozsa- és szárrozsa-rezisztenciája miatt vonták be búza- és durumbúza nemesítési programokba. A búza stresszrezisztenciájának javítására a *Th.*

intermedium mellett a dekaploid *Th. ponticum* ($2n=10x=70$, JJJJStJSt) a másik eredményesen használt faj, melynek egyes kromoszómáin szintén található St genommal hibridizálódó centroméra körüli szakaszok.

Az idegen fajú géntranszfer egyik legfontosabb lépése a hibridekből életképes utódnemzedék előállítása búzával történő visszakeresztezéssel vagy a steril hibrid kolhicinkezeléssel történő kromoszóma-megduplázásával, amfidiploidok létrehozásával. Az amfiploidokban a homeológ kromoszómák magas száma instabilitást okoz, szubsztitúciók, deléciók jönnek létre, ennek következtében a növények kromoszómaszáma lecsökken, a genom végül részleges amfiploid szinten stabilizálódik (3. táblázat). Hibrid- és amfiploid-előállítás elsősorban a Szovjetunióban, Kanadában, Kínában történt (CHI et al. 1979, CICIN 1981, FEDAK et al. 2000), de az USA-ból, Ausztráliából, Bulgáriából és Magyarországról is számoltak be részleges amfiploidok kiválogatásáról (CAI et al. 1998, SEPSI et al. 2008, GEORGIEVA et al. 2011). A legtöbb esetben búza/*Th. intermedium* és búza/*Th. ponticum* kombinációból származnak ezek a növények, de durumbúza/*Th. intermedium* (ZENG et al. 2013), búza/*Th. bessarabicum*, búza/*Th. elongatum* és búza/*Th. scirpeum* amfiploidokról is található publikációk (AKHTAR et al. 1994).

A *Th. ponticum* és a *Th. intermedium* eredetű részleges amfiploidok általában egyaránt 56 kromoszómával rendelkeznek annak ellenére, hogy az előbbi faj kromoszómaszáma eredetileg 70, az utóbbié 42. A durumbúzával létrehozott részleges amfiploidok 42 kromoszómaszámúak. Az 56 kromoszómás növényekben nem minden esetben van jelen a teljes búza kromoszóma garnitúra, ez esetben búza-*Thinopyrum* transzlokációk vagy homeológ *Thinopyrum* kromoszómák helyettesítik a hiányzó búza kromoszómákat (OLIVER et al. 2006, SEPSI et al. 2008). Az esetek nagy részében a genomok között transzlokációk figyelhetők meg, főleg a *Th. intermedium* fajjal létrehozott részleges amfiploidok esetén, melynek egyik lehetséges oka a növényben megtalálható összesen 6 különböző homeológ genom (A, B, D, J, JSt, St) jelenléte (HAN et al. 2004).

A részleges amfiploidok a kiinduló alapanyagai a transzlokációs vonalak előállításának, melyeken keresztül a búza fajták biotikus és abiotikus stressz elleni rezisztenciája javítható, ezáltal nagyobb termésbiztonság érhető el.

3. táblázat Búza/*Thinopyrum intermedium* és búza/*Thinopyrum ponticum* részleges amfiploidok elnevezése, kromoszómaszáma, genomösszetétele, biotikus rezisztenciája, a létrehozásukat ismertető irodalmi források (W: búza, Ag: *Agropyron* kromoszóma, S-Js: S és Js kromoszómák között létrejött transzlokáció)

Részleges amfiploid vonal	Kr-szám	Genomösszetétel	Immunitás, rezisztencia	Irodalmi forrás
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> Zhong1	52	42W + 10 Ag	Búza csíkos mozaik (WSMV); <i>Eriophyes tulipae</i> (WCM) WSMV, levélrozsdá, sárgarozsdá, Árpa sárga törpülés (BYDV) BYDV, WSMV	CHI et al. (1979) HAN et al. (2004)
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> Zhong2	54	42W + 12Ag		
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> Zhong3	56	42W + 4S + 4J ^s + 2S-J ^s + 2S-J + 2J ^s -J ^s -S		
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> Zhong4	56	42W + 4S + 4J ^s + 2S-J ^s + 2S-S-J ^s + 2S-J		
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> Zhong5	56	40W + 4S + 2J ^s + 2J ^s -W + 2S-J ^s + 2S-S-J ^s + 2S-J + 2W-J ^s		
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> Otrastayushchaya	56	42W + 14 Ag	nem rezisztens a vizsgált kórokozókra	BANKS et al. (1993)
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> PGR-18752A	56	42W + 14 Ag		
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> TAF46	56	42W+ 6St + 8J	nincs adat	CAUDERON et al. (1973) FEDAK et al. (2000)
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> TE-3	52-56	40W + 8St + 4J ^s + 2J + 2 J-St	sárgarozsdá, lizstharvat	YANG et al. (2006)
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> TE253	54-56	42W + 2St + 8J ^s + 2J + 2J-St	lizstharvat, sárgarozsdá	BAO et al. (2009)
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> TAI8335	54- 56	42 W + 14 Ag	levél-,sárga,-szár-rozsdá,lizstharvat	CHANG Z.J. et al. (2010)
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> H95	56	44W + 6S + 2J + 4W-J	levélrozsdá, sárgarozsdá, lizstharvat	GEORGIEVA et al. (2011)
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> 55(1-57)	56	42W+ 12Ag + 4 W-Ag		
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> TE253-I	56	42W + 2St+ 8J ^s + 2satJ + 2 J-St	lizstharvat, sárgarozsdá	BAO et al. (2014)
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> TE257	56	42W + 2St+ 8J ^s + 2satJ + 2J		
<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> TE267	56	42W+ 10J ^s + 2satJ + 2J		

<i>T. aestivum/Th. intermedium</i> TE346	56	2St+ 8J ^S +2satJ +2J		
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> Agrotana	56	40W + 8J + 8Js	WSMV	CHEN et al. (1995)
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> PWM206	56	38W + 10J + 8J ^S	nincs adat	CICIN (1981) FEDAK et al. (2000)
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> PWM209	56	37W + 9J + 8J ^S + 2J-W		
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> PWMIII	56	40W + 10J + 6J ^S		
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> PWM706	56	42W + 6-8J + 6J ^S		
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> OK7211542	56	40W + 8J + 8J ^S		
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> Ag-búza hibrid	56	40W + 8J + 8J ^S		
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> 693	56	40W + 8J + 8J ^S	levélrozsdá	LI et al. (2003)
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> BE-1	56	40W + 8J + 7St + 1J ^S	levélrozsdá	SEPSI et al. (2008)
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> SS5	56	42 W + 14 Ag	kalászfuzárium, Hálózatos levélfoltosság	OLIVER et al. (2006)
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> SS156	56	42 W + 14 Ag		
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> SS363	56	40W + 14 Ag + 2W-Ag		
<i>T. aestivum/Th. ponticum</i> SS660	56	40W + 16 Ag		
<i>T. aestivum/Thinopyrum</i> AT3425	56	36W + 14Ag + 6W-Ag	Fekete csíkoltság	CAI et al. (1998)
<i>T.aestivum/ Th. ponticum</i> Xiaoyan 68	56	42W + 2A-D + 12 Ag	9 szárrozsdá rassz, köztük TTKSK (Ug99)	ZHENG et al. (2014)
<i>T.aestivum/ Th. ponticum</i> Xiaoyan 784	56	42W + 14Ag		
<i>T.aestivum/ Th. ponticum</i> Xiaoyan 7430	56	44W + 12 Ag		
<i>T.aestivum/ Th. ponticum</i> Xiaoyan 693,	56	40W +16 Ag	szárrozsdá	

2.3.2 Búza/*Thinopyrum* introgressziós vonalak és jelentőségük a növénynevelésben

A *Thinopyrum* fajok értékes agronómiai tulajdonságait hordozó forrás genotípusok a búzanemesítésben is megjelentek. A diploid *Th. elongatum* fajt búzával keresztezve DVOŘÁK és KNOTT (1974) addíciós vonalakat (21^{''}ABD + 1^{''} 1-7E^c) hozott létre, a CIMMYT *Wheat Wide Crosses Program*-ja keretében pedig a szintén diploid *Th. bessarabicum* faj genetikai anyagát tartalmazó addíciós vonalakat (21^{''}ABD + 1^{''} 1-7J) állítottak elő (WILLIAM és MUJEEB-KAZI 1995). Az INRA-ban (Institut National de la Recherche Agronomique) 11 *Th. junceum* eredetű addíciós vonal született (CHARPENTIER 1992). Az addíciós vonalak genetikai anyagát használva írta le LINC et al. (2012) az E (E^c) kromoszómák FISH mintázatát, ami nélkülözhetetlen a búza/*Thinopyrum* transzlokációk azonosításához. A genetikailag kevésbé stabil addíciós vonalakhoz képest a transzlokációs vonalak nagyobb értéket képviselnek a búzanemesítésben, mivel nem teljes kromoszóma, hanem rövidebb-hosszabb DNS- szakasz épül be stabilan a búzagenomba. Az 1920-as évektől kezdődő keresztezési programoknak köszönhetően napjainkra számos értékes, elsősorban a *Th. ponticum* és a *Th. intermedium* fajokból származó új génnel gazdagodott a búzagenom (4. táblázat, WANG 2011 nyomán).

A búzanemesítésben eddig hasznosított *Thinopyrum* eredetű gének közül a legjelentősebbek közé tartozik az *Lr24* levélrozsda- és az *Sr24* szárrozsda-rezisztenciagén, melyek a *Th. ponticum* 3JSt kromoszómáján helyezkednek el kapcsoltan (LI et al. 2003). E géneket különböző transzlokációs vonalak közvetítésével világszerte több búzanemesítési programban is felhasználták (FRIEBE et al. 1996a, BARIANA et al. 2007, KOLMER et al. 2007).

Egy másik, széleskörűen alkalmazott *Th. ponticum* eredetű gén a 6-os homeológ csoport kromoszómáján, a hosszú karon elhelyezkedő *Sr26*, amely igen hatékony védelmet biztosít a szárrozsdával szemben (FRIEBE et al. 1994), még az 1999-ben azonosított és jelentős gazdasági kárral fenyegető TTKSK (Ug99) rassz ellen is (LIU et al. 2010). Az *Lr19/Sr25* géneket *Th. ponticum* fajtól ionizáló besugárzást követően (KNOTT 1968) sikerült a búza 7DL karjára beépíteni. A transzlokációval beépült kromoszómaszakaszon a két rezisztenciagénhez sárga pigment termelést szabályzó gén is kapcsolódott, ezért a búzanemesítésben eredeti formájában nem lehetett hasznosítani az értékes betegség-ellenállóságot. Később sikerült szétválasztani a hasznos és a nemkívánatos géneket (PRINS et al. 1997), így az *Lr19*-alapú rezisztencia hasznosítása lehetségessé vált a közönséges búzában. Meg kell jegyezni, hogy durumbúzában az *Lr19* és az *Yp* gének közötti kapcsoltság előnyös tulajdonságnak számít, hiszen a szárartésztagyártás során a nagy sárga pigment tartalom növeli a végtermék esztétikai értékét. CEOLONI et al. (1996) és LUKASZEWSKI (2006) egymástól függetlenül a durumbúza 7A kromoszómájára is beépítette a két gént, a forrásokat több nemesítési programban is

hasznosítják. Az *Sr43* gént a 7-es homeológ csoport kromoszómáiról vitték át homeológ rekombinációval búzába (KNOTT et al. 1977). Hátránya, az eredeti *Lr19/Sr25* génkombinációt tartalmazó transzlokációhoz hasonló, a hasznos génhez kapcsoltn itt is jelen van a sárga pigment képzésért felelős kódoló régió (KNOTT 1980). Lisztharmat és sárgarozsda rezisztenciát meghatározó *Th. intermedium* eredetű kromoszómaszakaszt hordozó vonal létrehozásáról számolt be ZHAN et al. (2015).

Ezt a két *Thinopyrum* fajt felhasználták még szárazsággal, magas hőmérséklettel és nagy sótartalommal (CHEN et al. 2004, TRETOWAN és MUJEEB-KAZI 2008) szembeni tolerancia növelésére, évelő jelleg kialakítására (TSITSIN 1965, CAI et al. 2001) és fehérjetartalom növelésére (FENG et al. 2004, CHEN et al. 2007, GEORGIEVA et al. 2011). Ezen poliploid fajok egymástól nagy távolságra lévő területeken jöhettek létre, különböző progenitorokból, eltérő időpontban (WANG 2011), ezért a genetikai variabilitásuk és molekuláris polimorfizmusuk igen nagyfokú, mely nemesítők és biológusok számára egyaránt nagy jelentőséggel bír.

4. táblázat Búzába beépített, *Thinopyrum* fajokból származó rezisztenciagének, eredetük és a búzagenomba történő beépülésük helye, egy-egy jellegzetessége (WANG 2011 nyomán)

kórokozó	gén	gén eredete	helyzete az idegen kromoszómán és a beépülés helye a búzakromoszómán, jellegzetesség, fajta, marker	publikáció
Levéltrozsdá	Lr19	<i>Th. ponticum</i> , <i>Th. distichum</i>	7Ae kromoszómán, 7D hosszú karján lévő transzlokációban Agatha, Indis, Sunnan, Oasis 86 stb. fajtában marker: <i>STSLr19₁₃₀</i>	SHARMA ÉS KNOTT (1966) FRIEBE et al. (1994) PRINS et al. (2001)
	Lr24	<i>Th. ponticum</i>	3Ae kromoszómán, 3DL kromoszómán a Cody, Osage, Payne, 1BL-en az Amigo fajtában; Ausztrál genotípusok (Fox, stb.), <i>Sr24</i> génnel kapcsolt marker: <i>J09-STS</i>	McINTOSH et al. (1977) SCHACHERMAYR et al. (1995)
	Lr29	<i>Th. ponticum</i>	7Ae kromoszómán, 7D hosszú karján lévő transzlokációban, Thatcher*6//CS7D/Ag#11 vonalban marker: SCAR marker Lr29F18- Lr29R18 primerekkel	PROCUNIER et al. (1995) PROCUNIER: http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr29/
	Lr38	<i>Th. intermedium</i>	7Ai kromoszómán, 1DL, 2AL, 3DS, 5AS, 6DL kromoszómán transzlokációban RL6097 = Thatcher*6/T7 vonalban	FRIEBE et al. (1992a)
Szárrozsdá	Sr24	<i>Th. ponticum</i>	3Ae kromoszómán, 3DL karon és 1BL-en az Amigo fajtában, Agent, Blueboy II, stb. <i>Lr24</i> -gyel és vörös maghéjszínnel kapcsoltan fordul elő marker: <i>J09-STS</i>	SEARS (1973) McINTOSH et al. (1977) SCHACHERMAYR et al. (1995)
	Sr25	<i>Th. ponticum</i>	7Ae kromoszómán, búzában 7DL és 7AL kromoszómán, Sears CS 7D/7Ag transzlokációs vonalaiban, sokszor <i>Lr19</i> -cel kapcsolatan marker: <i>BF145935</i> kodomináns EST eredetű marker	McINTOSH et al. (1977) FRIEBE et al. (1994) LIU et al. (2010)
	Sr26	<i>Th. ponticum</i>	6Ae kromoszómán, búza 6AL kromoszómán Avocet, Flinders, Takari, Bass stb. 6A kromoszómán Teacher fajtában, Ug99 rassz ellen is hatékony gén marker: multiplex PCR: <i>Sr26#43</i> (domináns STS marker <i>Sr26</i> kimutatására) és <i>BE518379</i> (6AL-specifikus, <i>Sr26</i> hiányára)	FRIEBE et al. (1994) MAGO et al. (2005) LIU et al. (2010)

	Sr43	<i>Th. ponticum</i>	7Ae kromoszómán, búzában 7DL vagy 7DS kromoszómán KS10-2; KS23-9; KS24-1; KS24-2 vonalakban marker: <i>Xcfa2040</i> SSR és <i>Xrwgs30</i> EST markerek	KIM et al. (1993) NIU et al. (2014)
	Sr44	<i>Th. intermedium</i>	7Ai kromoszómán, 7DS vagy 7A kromoszómán a 86.187- es vonalban marker: <i>Xbe404728</i> és <i>Xbe473884</i> CAPS markerek	FRIEBE et al. (1996a) LIU W. et al. (2013)
Árpa sárga törpülés	Bdv2	<i>Th. intermedium</i>	7St kromoszómán, 7D hosszú karján lévő transzlokációban, Glover, Mackellar genotípusokban marker: <i>Xgwm37</i> , <i>Xpsr129-7D</i> , <i>Xpsr548-7D</i> , <i>XksuD2-7D</i> , <i>XcslH81-7D</i>	BANKS et al. (1995), ZHANG et al. (2004)
	Bdv3	<i>Th. intermedium</i>	7E kromoszómán, búza 7DL-en, Ohahe fajtában marker: <i>gdm67</i> , <i>wmc121</i> , <i>gdm46</i> SSR, <i>BE442572</i> , <i>S253737</i> STS	SHARMA et al. (1995) AYALA-NAVARRETE et al. (2009)
	Bdv4	<i>Th. intermedium</i>	2Ai kromoszómán, 2D vagy 2B kromoszómán TAI-27, DH549 és DH554 addíciós vonalakban, N431, N452, HG295 szubsztitúciós vonalakban marker: BF145935 EST alapú	LIN et al. (2006) LIU et al. (2010)
Sárgarozsda	Yr50	<i>Th. intermedium</i>	4BL kromoszómakaron CH223 vonalban marker: <i>Xgwm540</i> , <i>Xbarc1096</i> , <i>Xwmc47</i> , <i>Xwmc310</i> , <i>Xgpw7272</i> SSR	LIU J. et al. (2013)
Búza csíkos mozaik	Wsm1	<i>Th. intermedium</i>	4Ai kromoszómán, 4AL vagy 4D, 6AS, 6AL kromoszómán marker: <i>STSJ15</i>	LIANG et al. (1979) TALBERT et al. (1996)
<i>Eriophyes tulipae</i> kolonizáció	Cmc2	<i>Th. ponticum</i>	6Ae kromoszómán, búzában 6AS, vagy 5BL, 6DL kromoszómán, WSMV-t terjesztő levélatka	WHELAN (1988)

2.3.3 *Agropyron glael*: *Thinopyrum intermedium*/*Thinopyrum ponticum* szintetikus hibrid

Az *A. glael* szintetikus fajhibrid, melyet az 1930-as években állítottak elő a volt Szovjetunióban. Nikolai V. Cicin, szovjet botanikus, genetikus és növénynevelő, Moszkvában a Tudományos Akadémia keretein belül távoli hibridizációval, azon belül *Triticum/Agropyron* hibridek előállításával és *Agropyron/Agropyron* keresztezésekkel foglalkozott. Az *Agropyron glaucum* (Desf. ex DC.) Roem. & Schult. ($2n=6x=42$) és az *Agropyron elongatum* (Host) P. Beauv. ($2n=10x=70$) keresztezésével mindkét kombinációban hibrideket hozott létre *Agropyron glael* és *Agropyron elgla* néven, melyek a *glaucum* és *elongatum* első szótagjának összevonásából születtek és utalnak a szülőpartnerek kombinációjára. Az *A. glael*-ben az *A. glaucum* volt az anya, az *A. elongatum* pedig a pollenadó partner. CICIN (1979) mindkét kombinációban azonosított aneuploid növényeket, melyek a szülőpartnernél 1-3 kromoszómával kevesebbet vagy többet tartalmaztak. Tapasztalatai alapján az *A. glaucum* és *A. elongatum* könnyen keresztezhetőek egymással, a szemkötés elérte a 40-50%-ot. A hibridek aszott szemmel, de jól fejlett embrióval rendelkeztek. Megfelelő csírázási feltételek mellett majdnem mindegyik kicsírázott, és nagy termőképességgel és jó bokrosodással rendelkeztek. Az F_1 hibridek többségénél heterogenitás volt megfigyelhető a bokrosodásban, a növénymagasságban és a kalázméretben. A kalászok más interspecifikus hibridekhez viszonyítva tömöttebbek voltak, néhány növény kalásza különbözött a szülői típusokétól. A CICIN (1979) által jellemzett *A. glael* hibridnövények magassága 126-149 cm, kaláshosszuk 19,2- 25,2 cm volt, a kalászaik 15-17 kalázkából épültek fel és egy kalázkában átlagosan 1,5-2,6 szem termett. Az utódok magassága a két szülő közötti volt, a szülőpartnerek átlagához viszonyítva lazább és gyenge fertilitású kalászuk 4-5 cm-rel hosszabbra nőtt. CICIN 1979-es publikációjában megjelent rajza az *A. glael* hibridnövényről, kalászáról és szemeiről az M2 mellékletben megtalálható. A Cicin által elemzett 3 *glael* klón és az *elgla* növények is 56 kromoszómával rendelkeztek (CICIN 1979). A meiózis során a sejtmagok 21-28 bivalens kromoszómát tartalmaztak. A hibridek ugyanúgy, mint a szülői formák évelők voltak, jól tűrték az átültetést és a klónozást. A hibridek többsége a leírójuk szerint több mint 20 évig is fennmaradt.

A DEWEY (1984) által történt taxonómiai változások eredményeként az *Agropyron glaucum* átkerült a *Thinopyrum* genusba *Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth & D.R. Dewey néven; az *Agropyron elongatum* pedig *Thinopyrum ponticum* (Podp.) Z.-W. Liu & R.-C. Wang néven. Az *Agropyron glael* hibrid elnevezésének megváltoztatására nem található szakirodalmi említés, ezért dolgozatomban is így szerepel.

A szülőpartnereket, az *A. tichoporum*, *A. repens*, *A. junceum* fajt és az *A. glael*-t is felhasználták kenyér- és durum búzával történő keresztezésekhez a volt Szovjetunióban, mely kombinációkból értékes alapanyagokat állítottak elő (BELOV et al. 2011), köztük a *Triticum*

agropyrotriticum perenne Cicin és a *Triticum agropyrotriticum submittans* Cicin évelő búzát. Az *Agropyron glael* Dr. Szalay Dezső martonvásári kutató közreműködésével került az MTA Mezőgazdasági Intézetének évelő tenyészkertjébe.

A Martonvásáron előállított Mv9kr1 búzagenotípust 2001-ben keresztezte a molekuláris citogenetika csoport az évelő tenyészkertben fenntartott, betegségekkel szemben rezisztens *Agropyron glael* 8-as számú klónnal. A negyvenöt beporzott kalász közül harminc kalászban összesen 255 db F₁ szem fejlődött. Nyolc F₁ növény kalászkezdeményét mesterséges körülmények között szaporították, majd belőlük növényeket regeneráltak. A regenerált növények 'Chinese Spring' búzafajtaival történt első sikeres visszakeresztesésével 2004-ben 5 db BC₁ szemet állítottak elő, melyek közül kettőből életképes növényt sikerült felnevelni 2005-ben. A 0566 citológiai számú, 49 kromoszómával rendelkező törpe növény Mv9kr1 genotípussal visszakeresztezett kalászain összesen 11db BC₂ szem fejlődött ki, ezekből azonban további nemzedékeket nem sikerült előállítani, mert vagy kipusztultak még kalászosítás előtt vagy sterilek voltak.

A 0567 citológiai számú, 62 kromoszómát hordozó növény három kalászát szintén visszakeresztezték az Mv9kr1-gyel, ami 19 db BC₂ szemet eredményezett, a negyedik kalász öntermékenyítésével pedig 46 db szemet kaptak. A 0567-es növény BC₁ és BC₂ utóvonalainak egy részét 2006-tól tenyészkerti körülmények között nevelték, öntermékenyítették és szelektálták. Ehhez a programhoz 2008-ban csatlakoztam.

2.4 Transzlokációk indukálása

A transzlokációk előállításának célja minél rövidebb, legjobb esetben már csak az adott előnyös tulajdonságokért felelős kromoszómaszakasz átvitele a búza genomjába. A fentebb bemutatott addíciós és szubsztitúciós vonalak teljes idegen kromoszómát hordoznak. Ezzel szemben a transzlokációk létrejöttének feltétele a kromoszóma törése, majd egy másik kromoszóma tört végével történő újraegyesülése. Kromoszómatörések létrejöhetnek spontán, illetve a kromoszóma-szerkezeti változásokat mesterségesen is előidézhethetjük.

Gyakori jelenség, hogy a meiózis I. metafázisában az univalensek a centroméránál törnek. Az így létrejött két telocentrikus kromoszóma a tört végeknél képes újra összekapcsolódni (centrikus fúzió). A homeológ kromoszómákon a gének sorrendje közel azonos, ezért jól kompenzálják egymás hatását. Így abban az esetben, ha az újraegyesülés egy idegen fajból származó és egy homeológ búza telocentrikus kromoszóma között jön létre, kompenzáló transzlokáció alakul ki (LUKASZEWSKI 1993). A kompenzáló transzlokációk genetikailag általában stabilak, így nagyobb agronómiai potenciállal rendelkeznek, mint a nem kompenzáló transzlokációk (FRIEBE et al. 1996a). A legismertebb példa a kompenzáló típusú centrikus

fúzióra a liztharmat-, sárgarozsda-, szároztsda- és levélroztsda-rezisztenciát hordozó búza/rozs 1BL.1RS transzlokáció, mely számos termesztett búzafajtában megtalálható. KOBA et al. (1997) spontán létrejött, nem kompenzáló típusú transzlokációkat írt le a 7HS árpa és az 5BL búza kromoszómakar között. A rendkívül ritkán kialakuló spontán terminális transzlokációra példa az *Lr24* levélroztsda rezisztenciagént hordozó 3D/3Ae búza/*Th. ponticum* transzlokáció (SMITH et al. 1968).

Amennyiben a kromoszómák strukturális változásai a faj különböző vonalaiban egyaránt előfordulnak, fajspecifikus kromoszóma-átrendeződésekről beszélünk. A tönke búzában (*Triticum turgidum* L.) és a kenyérbúzában közös a 4AL-5AL-7BS ciklikus transzlokáció, amely még a *T. urartu*-ból öröklődött (NARANJO et al. 1987; NARANJO 1990). A 6At-1G-4G ciklikus transzlokációt a *Triticum timopheevii* Zhuk. fajban (JIANG és GILL 1994a) és vad donor fajában, a *T. araraticum* Jakubz. fajban (BADAIEVA et al. 1995) egyaránt kimutatták.

A transzlokációk – mivel az idegen fajú DNS a recipiens genom valamely kromoszómájába épül be – az idegen fajú génátvitel legstabilabb formáinak tekinthetők. Spontán transzlokációk igen kis gyakorisággal jönnek létre, azonban random kromoszómatorések indukálásával vagy homeológ rekombináción alapuló eljárásokkal (SUTKA 2004, LÁNGNÉ MOLNÁR 2006) a kromoszóma-átépülések mesterségesen indukálhatók. A homeológ rekombináció az azonos homeológ csoportba, de különböző genomokhoz tartozó kromoszómák között alakul ki a meiózis során. A következő fejezetben a számos módszer közül csak a dolgozat témájához kapcsolódó technikákat foglaltam össze.

2.4.1 Ionizáló sugárzás

Amióta felfedezték, hogy a röntgensugarak mutációt indukálnak ecetmuslicában (MULLER 1927) és árpában (STADLER 1928), növénynemesítők és genetikusok kezdték el vizsgálni a besugárzás által indukált mutációk hatását a növények tulajdonságainak megváltozására. Ionizáló sugárzás bármilyen sugárzás lehet, amely elegendő energiával rendelkezik ahhoz, hogy a vele kölcsönhatásba lépő atomból eltávolítson egy elektront. Ide tartozik az elektromágneses sugárzás (ultraibolya-, röntgen- és gamma-sugárzás) és a részecskesugárzás (proton-, elektron-, alfa-sugárzás). A felsorolt sugárfajták mind mutagének, de a mutációk mesterséges előidézéséhez a röntgen- és a gamma-sugarakat használják, mert forrásai (^{60}Co , ^{137}Cs) viszonylag könnyen kezelhetők, kevésbé veszélyesek. A kezelések hatására a kromoszómák kétszálú törést szenvednek, de nem azonos pozícióban, ezáltal ragadós végek keletkeznek, melyek hasonló ragadós végekkel újra egyesülhetnek.

SEARS (1956) *Aegilops umbellulata* izokromoszómát hordozó, levélrozsdával szemben rezisztens búzanövényeket kezelt röntgensugárzással, majd ezek pollenjével kezeletlen

növényeket keresztezett vissza. A sikeres géntranszfert követően széleskörűen elterjedt az ionizáló sugárzás alkalmazása intergenerikus kromoszóma-átrendeződések indukálása céljából (FRIEBE et al. 1991, FORSBERG et al. 1998, RIERA-LIZARAZU et al. 2000). A 2004. évig 2252 besugárzott mutáns fajtát állítottak elő, melyek közül közel 1100 gabonaféle (AHLOOWALIA et al. 2004). A módszer hátránya, hogy az ionizáló sugárzás nem irányított, a létrejött kromoszómatorések és -újraegyesülések általában nem homeológ kromoszómák között jönnek létre, ami genomi instabilitást okozhat.

Nem intergenomikus átépülések indukálása céljából is alkalmazták ezt az eljárást. Rizsfajták besugárzásával alacsonyabb növénymagasságú, korai és hidegtűrő fajtákat állítottak elő és termesztettek több millió hektáron Ázsia érintett országaiban (Kína, India, Pakisztán, Japán, Thaiföld, Vietnam, Mianmar). Mutációs nemesítéssel állították elő Skóciában a sör és whisky gyártáshoz használt sőtűró 'Golden Promise' árpafajtát (FORSTER 2001), valamint Csehországban a 'Diamant' árpafajtát (LIPAVSKY et al. 2002). Gyakorlati szempontból igen jelentős a Peruban, az Andok 3000 méter felett fekvő fennsíkjain termesztendő két árpafajta ('UNA La Molina 95' és 'Centenario II'), melyek az extém magasság ellenére is 5,5 t/ha körüli termést és jó minőséget adnak (GÓMEZ-PANDO et al. 2009, <http://www-naweb.iaea.org/nafa/news/pbg-barley-peru.html>). Szintén besugárzással hozták létre 1974-ben Olaszországban a 'Creso' durum búzafajtát, melynek termésnövekedése a 'Cappelli' kiinduló fajtához képest 0,9 t/ha is lehetett (SCARASCIA-MUGNOZZA et al. 1993).

SEARS (1977) a 'Chinese Spring' búzafajta kalászait röntgensugárzással kezelte, majd a besugárzott növények pollenjével 5B monoszómás vonalakat keresztezett. Az utódok közül egy olyan növényt sikerült kiválogatnia, mely mutáns *Ph* gént hordozott. A létrehozott 'Chinese Spring' *ph1b* deléciós mutáns (*CSph1b*) alkalmazása a nemesítési gyakorlatban mára széleskörűen elterjedt. Normál 'Chinese Spring' és a *CSph1b* mutáns keresztezéséből származó F_1 hibrid besugárzásával AL-KAFF et al. (2008) öt új *ph1b* deléciós vonalat azonosított az utódok között. SEARS (1977) kísérletével egyidőben, de attól függetlenül, GIORGI (1978) a tetraploid 'Cappelli' durum búza fajtában indukált röntgensugárzással deléciós mutációt a *Ph1* génben. A *ph1c* deléció a *ph1b*-hez hasonló pozícióban helyezkedik el az 5B kromoszóma hosszú karján. Mindkét mutáció rövid, kb. 3 Mb DNS-szakaszt érint és átfedik egymást (GILL et al. 1993).

Magyarországi vonatkozásban jelentős a Gödöllői Agrártudományi Egyetemen 1965-ben létesített sugárkert, ahol BÁLINT és SUTKA (1966) a világon először állított elő nagy lizintartalmú kukoricamutánsokat az 'F korai' fajtából. Később technikájukat az USA-ban szemescirokra (*Sorghum bicolor* L.) is alkalmazták. DUDITS és SUTKA (1970) 200 borsó mutánst állított elő a 'Petit Provençal' és az 'Iregi P₁' fajtából. A gamma-sugárzás kvantitatív

tulajdonságokra gyakorolt hatását MÁZIK-TŐKEI és FÜREDI (1991) tanulmányozta különböző borsófajtákon, HAJÓS és KŐRÖSI (2001) pedig szója mutánsokat szelektált.

Az ionizáló sugárzással létrehozott kromoszóma-átrendeződések előnye a rekombinációhoz kötött módszerekkel szemben, hogy elméletileg bármilyen DNS-szakasz beépíthető a búzába, valamint a beépülés hatékonysága független a búza és az idegen faj közötti rekombinációs gyakoriságtól.

2.4.2 Szövettenyésztés által indukált kromoszóma-rendellenességek

A búza és távoli rokon fajai közötti keresztezéskor gyakran előfordul, hogy a hibrid szem nem tartalmaz endospermiumot, így az embrió tápanyag hiányában abortálódik. A probléma elkerülésére alkalmazzák az embriómentési technikát (KRUSE 1974, SHARMA és GILL 1983), melynek során a hibrid embriót eltávolítják a fejlődő szemtermésből és *in vitro* körülmények között, mesterséges táptalajon nevelik fel. Növényregeneráláskor a szövettenyészetekben általánosan fordulnak elő genetikai rendellenességek: kromoszómaszám-változások, a kromoszómák strukturális megváltozása, például deléciók, transzlokációk és inverziók (HESZKY 2003), valamint DNS metiláció és mutációk (PHILLIPS et al. 1994). A genetikai változások valószínűleg stresszre adott válaszreakciók, melyeket az alkalmazott táptalajban található ásványi anyagok, növekedésszabályozók, valamint a szövettenyésztés környezeti feltételei (hőmérséklet, fotoperiódus, fény spektrum stb.) indukálnak. Az *in vitro* szövettenyészetekben a gibberellinek és citokininek mellett növekedésserkentőként mesterséges auxinokat is alkalmaznak, melyek közül a 2,4-diklór-fenoxiecetsavat (2,4-D) többször összefüggésbe hozták kromoszómamutációk létrejöttével. A 2,4-D rendellenességeket idéző elő a mitózis és a meiózis folyamatában (KHALATKAR és BHARGAVA 1982), valamint kromatin- és kromoszómatöréseket okoz (MOHANDAS és GRANT 1972). Mogyoróhagymával végzett kísérletekkel igazolták a 2,4-D citotoxikus és mutagén hatását (PAVLICA et al. 1991). A sejtosztódás ana- és telofázisában kromoszómahidakat figyeltek meg, illetve kimutatták a 2,4-D kötődését a mitotikus orsók mikrotubulusainak tubulin-fehérjéihez. Ennek következményeként az anafázis elmaradásával kromoszómaszám-megduplázódást (c-mitózis) tapasztaltak. A 2,4-D valószínűleg nem közvetlenül károsítja a DNS-t. LINNAINMAA (1984) elmélete szerint a peroxiszómák érési folyamatának indukálásában játszik szerepet, ezáltal a hidrogén-peroxid és más reaktív oxigén gyökök sejten belüli koncentrációját növeli. A DNS-törések az oxidatív stressz hatására következnek be. Az említett kromoszómaátrendeződések nemesítési szempontból előnyösek is lehetnek. LAPITAN et al. (1984) embriókultúrában regenerált búza/rozs hibridnövény kolchicinkezelésével állított elő oktoploid tritikálét, melyben C-sávozással búza/rozs transzlokációkat azonosított. További, szövettenyésztés által indukált

transzlokációkról számoltak be *Hordeum* interspecifikus hibridekben (PICKERING 1989, JØRGENSEN és ANDERSEN 1989), valamint búza/árpa (MOLNÁR-LÁNG et al. 1991), búza/*Agropyron desertorum* (LI és DONG 1994) és búza/*Dasypyrum villosum* (LI et al. 2000) intergenerikus hibridek utódaiban. MOLNÁR-LÁNG et al. (2000a) meióziszvizsgálatok során genomi *in situ* hibridizációval kimutatta, hogy a szövettényészetben regenerált búza/árpa hibrid utódnövényekben a búza-árpa kromoszómapárosodások száma jelentősen megnőtt az eredeti hibridekhez képest. BANKS et al. (1995) a *Th. intermedium* árpa sárgatörpeség vírus (BYDV) rezisztenciagénjét vitte át sikeresen a búzába, amikor transzlokációs növényeket válogatott ki egy, a *Th. intermedium* 7-es kromoszómáját hordozó, szövettényészetben fenntartott addíciós vonalból. Hasonló módon építettek be rozsból a búzába zab fonálféreg-rezisztenciát (LARKIN et al. 1989).

2.4.3. Indukált homeológ kromoszómapárosodás a *Ph1* lokusz kiiktatásával

A hexaploid kenyérbúza (BBAADD) és a tetraploid durumbúza (BBAA) genomja poliploidizáció eredménye, melynek során több százezer év leforgása alatt különböző diploid genomok egyesültek. A több genom jelenlétének ellenére ezek a fajok citológiai diploidként viselkednek a meiózis során, azaz csak a homológ kromoszómák (A-A, B-B, D-D) párosodnak és rekombinálódnak, a homeológok (A-B, A-D, B-D) nem (RILEY és LAW 1965). Ez biztosítja a genom stabilitását. A helyes kromoszómapárosodást elsősorban a domináns *Ph1* (pairing homologous 1) szupresszív lokusz irányítja, melynek létezését először az 1950-es évek végén írták le (OKAMOTO 1957, RILEY és CHAPMAN 1958), és melyet WALL et al. (1971) nevezett el. A diploid fajok 5-ös homeológ kromoszómáin hasonló a gének sorrendje, azonban a *Ph1* lokusz csak a tetraploid és hexaploid búzafajok 5B kromoszómáján aktív, a diploidokban nem. KIMBER és RILEY (1963) összekeresztezte a búza diploid őseit és a kromoszómák párosodásánál 5,7-szer nagyobb gyakoriságot figyelt meg, mint euhaploid búzában; ez közel olyan érték, mint az 5B nulliszómás haploidokban búzában. Ez azt sejteti, hogy a *Ph1* aktivitás a poliploidizáció során létrejövő strukturális változások eredménye (CHAPMAN és RILEY, 1970). Az 5B kromoszómán található *Ph1* lokuszt GRIFFITHS et al. (2006) egy 2,5 Mb méretű szakaszra térképezte a hosszú karon. A lokusz esszenciális komponense a 3A kromoszóma hosszú karjáról származó szubtelomérás szakasz, amely az 5B kromoszómán található *cdk*-szerű pszeudogén-klaszterek közé ékelődött be a fajképződés során. Bioinformatikai analízis alapján a *cdk*-szerű gének homológiát mutatnak az ember checkpoint kináz *Cdk-2* génjével, amely a replikáció iniciációjakor és a korai meiózisban játszik szerepet (MARSTON és AMON 2004). Deléciós mutánsokkal és génexpressziós vizsgálatokkal AL-KAFF et al. (2008) bizonyította,

hogy a *cdk*-szerű lokusz egyedi és a *Ph1* aktivitásért felelős. Az 5B kromoszómán hét, az 5A-n legalább öt, az 5D-n két ilyen gén található, de csak az 5B-n aktívak.

A *Ph1* lokusz működésének kiiktatásával a homeológ kromoszómapárosodás indukálható. Ennek egyik módja az 5B kromoszóma teljes eltávolításával létrehozott 5B nulli- 5D tetraszómás (N5BT5D) vonallal történő keresztezés (RILEY 1960, RILEY és KEMPANA 1963). A módszer hátránya, hogy az 5BS karon található párosodást elősegítő gének hiányában kisebb gyakorisággal tapasztalható a kromoszómák párosodása, mint a *CSph1b* mutáns alkalmazásával (SEARS 1977). Másik lehetőség, ha 5B monoszómás vonalat porzunk be a kívánt idegen fajjal. Ekkor az utódok akár 75%-ából is eliminálódhat az 5B kromoszóma (SEARS 1981). Ezzel az eljárással RILEY (1966a) *Triticum bicorne*, JOSHI és SINGH (1979) rozs kromoszómaszakaszokat vitt át sikeresen a búzába.

A *Ph1* lokusz hatásának kiküszöbölése az 5B kromoszóma eltávolítása nélkül is megvalósítható. RILEY et al. (1961) tetra- és hexaploid búzák *Ae. speltoides* fajjal létrehozott hibridjeiben homeológ kromoszómapárosodást figyelt meg, melynek gyakorisága hasonló volt, mint az 5B nulliszómás vonallal történt keresztezéskor kapott gyakoriság. Megállapították, hogy az *Aegilops speltoides* egy episztatikus vagy domináns gént hordoz, mely szupresszálja a *Ph1* gén hatását. Ezt a *Ph¹* (Ph inhibiting) gént CHEN et al. (1994) az *Ae. speltoides* fajból átvitte a 'Chinese Spring' búzafajtába. Az így előállított búzagenotípus alkalmas arra, hogy genetikai háttérben idegen fajú rekombinánsokat állítsanak elő. Hasonló gént találtak az *Aegilops mutica* fajban is (RILEY 1966b).

A kromoszómapárosodások indukálásának napjainkban legelterjedtebb módja a korábban említett, SEARS (1977) által előállított *CSph1b* deléciós mutánsval való keresztezés. Ezzel az eljárással LUKASZEWSKI (2000) új búza/rozs, ISLAM et al. (1992b) új búza/árpa rekombinációkat hozott létre, CEOLONI et al. (1992) pedig az *Ae. longissima* lisztharmatrezisztencia génjét (*Pm13*) vitte át a termesztett búzába.

2.5 Kromoszómák azonosítása *in situ* hibridizációval (ISH)

A humán kromoszómákéhoz hasonló jelentős méret- és kararánybeli különbségek a gabonafélék többségében nem figyelhetők meg, a legtöbb kromoszóma meta- vagy szubmetacentrikus, ami megnehezíti a morfológián alapuló kromoszómaazonosítást. A különböző ISH technikákkal biológiai preparátumokon (pl. mikroszkópi tárgylemezen fixált kromoszóma-, interfázisos sejtmag-, DNS-szál-preparátumok, szöveti metszetek) teljes genomok, kromoszómák, kromoszómaszakaszok és specifikus DNS-szekvenciák azonosíthatók, ill. különböztethetők meg egymástól, így alkalmasak a faj- és nemzetségkereszteзések növényhibridjeinek és azok utódnemzedékeinek jellemzésére. Gabonafélék esetében,

kromoszómaméret-tartományuknak köszönhetően, a gyökércsúcs osztódó szövetéből készített metafázisos kromoszómapreparátumok ideális objektumok az *in situ* hibridizációval történő vizsgálatokhoz.

2.5.1 Genomi *in situ* hibridizáció (GISH), multicolour genomi *in situ* hibridizáció (mcGISH)

PARDUE és GALL 1969-ben radioaktívan jelölt DNS-szakaszt hibridizált *Xenopus* béka megtermékenyítetlen petesejtjeiből készített kromoszómapreparátumra. DNS-DNS hibridizációt már korábban is végeztek (SCHILDKRAUT et al. 1961), az újdonságot a sejtben *in situ* történő hibridizáció jelentette. A radioaktív izotópok alkalmazása azonban veszélyes volt, a jelek láthatóvá tételéhez szükséges autoradiográfia több hetet is igénybe vett, térbeli felbontóképessége gyenge volt (McNEIL et al. 1991). Az első növényi mintán végzett genomi *in situ* hibridizáció SCHWARZACHER et al. (1989) nevéhez fűződik, ami lehetővé tette szülői genomok és genomátrendeződések direkt kimutatását intergenerikus és interspecifikus hibridekben, introgressziós vonalakban, valamint allopoliploid fajokban (JIANG és GILL 1994b).

A hibridizáció során a kimutatni kívánt faj vagy genom direkt-, ill. újabban indirekt módon jelölt teljes genomi DNS-ét használják próbaként és a recipiens faj vagy genom jelöletlen genomi DNS-ét blokkolóként. A technika alkalmas a búzába beépült idegen fajú genomok detektálására (LE et al. 1989, FRIEBE et al. 1996b), hibridekben a búza és az idegen faj kromoszómáinak meiózisban történő párosodásának tanulmányozására (MILLER et al. 1994, FERNANDEZ-CALVÍN et al. 1995, MOLNÁR-LÁNG et al. 2000a), valamint az eltérő genomok közötti transzlokáció töréspontjának pontos kimutatására és a recipiens faj genomjába beépült idegen fajból származó DNS-szakasz méretének meghatározására (LE et al. 1989). Martonvásáron, a Génmegőrzési és Organikus Nemesítési Osztályon évtizedek óta folyó előnemesítési kutatásokban sikeresen alkalmazzák a GISH-t idegen fajú kromatin kimutatására búza/árpa (MOLNÁR-LÁNG et al. 2000a,b) búza/rozs (MOLNÁR-LÁNG et al. 1996b) és búza/*Aegilops* (SCHNEIDER et al. 2005) introgressziós vonalakban.

A GISH eredményességét befolyásolja a DNS-próba mérete, a próba és a blokkoló DNS aránya, és a jelölésnél alkalmazott eljárás (PCR, nick transzláció, random priming stb.). Direkt jelöléskor a DNS-próbához kapcsolódik a fluorokróm (fluoreszcein, rodamin stb.). Indirekt jelölés esetén a DNS-próbához közvetlenül egy nem fluoreszkáló haptén (biotin, digoxigenin stb.) kötődik, amelyhez a fluorokróm specifikus antitestten keresztül kapcsolódik a hibridizációt követő detektálási lépésben.

Közeli rokon genomok GISH-sel történő kimutatásakor a genomok közötti homeológia kereszthibridizációt eredményez, azaz a próba a blokkolni kívánt genomhoz is hibridizálódik,

ezért minél közelebbi rokonságban vannak a kimutatni kívánt genomok, annál nehezebb a megkülönböztetésük. A GISH újabb változata, a multicolour GISH (mcGISH) igen precíz genomanalízist tesz lehetővé. Két vagy több, eltérő színű fluorokrómmal jelölt genomi DNS-próba alkalmazásával és a hibridizációs körülmények finomításával lehetőség nyílik az allopoliploid fajok nagyon közeli rokonságban lévő genomjainak megkülönböztetésére is. A hexaploid búza A, B és D genomját először MUKAI et al. (1993) különböztette meg kettős jelöléssel (A és D genom), melyet SÁNCHEZ-MORÁN et al. (1999) fejlesztett tovább FISH és mcGISH kombinálásával. MOLNÁR et al. (2009) az mcGISH technikával gamma-sugárzás indukálta, U és M kromoszómák közötti transzlokációkat mutatott ki búza-*Aegilops biuncialis* amfiploidokban. Az mcGISH-t búza/*Thinopyrum* hibridek és származékaik jellemzésére is adaptálták (HAN et al. 2003, JAUHAR és PETERSON 2006). SEPSI et al. (2008, 2009) levélrozsda rezisztens búza/*Thinopyrum ponticum* részleges amfiploid, MAHELKA et al. (2011) pedig az allohexaploid *Thinopyrum intermedium* genomjait jellemezte a módszerrel.

2.5.2 Fluorescens *in situ* hibridizáció (FISH)

A GISH-sel ellentétben a FISH technika néhány száz bázispár méretű, általában repetitív DNS- vagy RNS-szekvenciák hibridizálásával és specifikus hibridizációs mintázatuk detektálásával (PEDERSEN és LANGRIDGE 1997) a kromoszómák azonosítását teszi lehetővé (SCHWARZACHER és HESLOP-HARRISON 2000). A módszert először *Drosophila* politén kromoszómákon alkalmazták (LANGER-SAFER et al. 1982). Az enzimatis detektáláshoz képest nagy előrelépést jelentett a fluorokrómokkal konjugált antitestekkel történő detektálás, mely lehetővé tette egyszerre többféle DNS-próba különböző hapténokkal történő jelölését, hibridizálását és detektálását, azaz a többszínű mcFISH technika kidolgozását. A mcFISH-sel a repetitív szekvenciák elhelyezkedése a kromoszómákon láthatóvá tehető, fizikailag térképezhető (LEITCH et al. 1991, LEITCH és HESLOP-HARRISON 1992, MUKAI et al. 1993, JIANG és GILL 1994a). Az 1980-as és '90-es években számos repetitív szekvencia fizikai térképezését publikálták, melyről JIANG és GILL (1994b) összefoglaló cikke ad bővebb áttekintést. A leírt mintázatok sok esetben a konstitutív heterokromatinra jellemző C-sávok mintázatával mutattak hasonlóságot, melyek elemzése hozzájárulhat a heterokromatinról alkotott ismereteink bővítéséhez.

A 120 bp hosszú pSc119.2 próba (McINTYRE et al. 1990) a BEDBROOK et al. (1980) által izolált telomérás heterokromatin eredetű rozsszekvenciát tartalmazza. Ez a próba minden rozskromoszómán ad specifikus hibridizációs jelet, a búzakromoszómák közül azonban csak 12 páron - a B kromoszómákon, valamint a 4A, 5A, 1D, 2D és 4D kromoszómán (SCHNEIDER et al. 2003) -, ezért önmagában nem elegendő a búzakromoszómák megkülönböztetésére. A búza 7 pár D genomhoz tartozó kromoszómája az *Aegilops squarrosa* fajból izolált 1Kb hosszú pAs1

ismétlődő szekvenciával egyértelműen azonosítható (RAYBURN és GILL 1986). A két próba eltérő színű jelölésével és egyidejű hibridizálásával a 21 pár búzakromoszómából 17, köztük az összes B és D kromoszóma, azonosítható (MUKAI et al. 1993). A GAA mikroszatellit DNS-szekvencia elsősorban a B-genomhoz kötődik, de jelet ad az A és a D-genom kromoszómáin is (DENNIS et al. 1980, PEDERSEN et al. 1996, PEDERSEN és LANGRIDGE 1997). A pAs1 és a GAA szekvencia kombinálásával már mind a 21 pár búzakromoszóma megkülönböztethető egymástól (PEDERSEN és LANGRIDGE 1997, MOLNÁR et al. 2007). Különböző *Triticeae* fajokból izolált és AfaI endonukleázzal emésztett pAs1 szekvenciák (Afa-family) előállításával (NAGAKI et al. 1995) egyes A genomhoz tartozó kromoszómák is azonosíthatóvá váltak.

A 18S-5.8S-25S rRNS gének ismétlődő szekvenciáit tartalmazó 45S rDNS lokuszok a kromoszómák másodlagos befűződéseiben (NOR régióiban) helyezkednek el a legtöbb növény- és állatfajban (ROA és GUERRA 2012). A 18S-5.8S-25S rRNS gének 100-1000 kópiában ismétlődnek és nagyon konzervatívak, ezért a búza 45S rDNS-ét hordozó pTa71 DNS-próbát (GERLACH és BEDBROOK 1979) gyakran használják a *Triticeae* törzsbe tartozó fajok- (BADAIEVA et al. 1996a, b), köztük a *Hordeum* nemzetség törzsfelődésének, rokoni kapcsolatainak tanulmányozására (de BUSTOS et al. 1996, TAKETA et al. 1999, 2001, 2005). A pTa71 repetitív szekvencia a szatellittel rendelkező kromoszómák aktív NOR-régióhoz, valamint a szatellittel nem rendelkező kromoszómák inaktív NOR-régióhoz is hibridizálódik, ezáltal az 1B és 6B szatellites kromoszóma mellett a 3D és 5D kromoszóma is azonosítható. A pSc119.2, az Afa-family és a pTa71 próba kombinálásával az *Aegilops umbellulata* U és az *Aegilops comosa* M genomját hordozó fajok kromoszómái is megkülönböztethetők (MOLNÁR et al. 2011).

A termesztett árpa genomjának körülbelül 84%-a ismétlődő DNS-szekvencia (INTERNATIONAL BARLEY GENOME SEQUENCING CONSORTIUM 2012), mely jól jellemezhető repetitív DNS-próbákkal, a búzakromoszómákon sikeresen alkalmazott DNS-próbák közül azonban nem mindegyik alkalmas az árpakromoszómák azonosítására. Rajtuk pl. a pSc119.2 repetitív szekvencia csak nem specifikus, szórt jeleket ad. BROWN et al. (1999) a 18S és 5S rDNS-szekvenciával az összes árpakromoszómát meg tudta különböztetni, de csak a kromoszómaméreték és kararányok ismeretében. A 118 bp hosszú, G+C bázispárban gazdag (53%) (BELOSTOTSKY és ANANIEV 1990), árpaspecifikus HvT01 szubtelomérás repetitív DNS-próba (SCHUBERT et al. 1998) a búzakromoszómákhoz nem hibridizálódik (BELOSTOTSKY és ANANIEV 1990), ezért kiválóan alkalmazható búza/árpa addíciós (SZAKÁCS és MOLNÁR-LÁNG 2007, 2010) és szubsztitúciós vonalak kiválogatására, ill. azonosítására. A pTa71 az árpa-kromoszómák közül a szatellites 5H és 6H valamint a szatellittel nem rendelkező 1H, 2H és 7H kromoszómán is ad hibridizációs jelet (LEITCH és HESLOP-

HARRISON 1992). A GAA mikroszatellit-szekvenciával történő hibridizációkor az árpakromoszómák centroméra körüli régiójában az N-sávozáshoz hasonló mintázat figyelhető meg (PEDERSEN et al. 1996). Az Afa-family-próba hibridizációs mintázatát TSUJIMOTO et al. (1997) közölte árpán. CARMONA et al. (2013) az $(AG)_n$, $(AAG)_n$, $(ACT)_n$ és az $(ATC)_n$ mikroszatellit-próba FISH mintázatát jellemezte, és segítségével árpafajták közötti polimorfizmust írt le. A búza és az árpa mellett megfelelő repetitív DNS-szekvenciák alkalmazásával egyes rokon fajok (rozs, néhány *Aegilops* faj, *Elytrigia elongata*) FISH kariotípusát is leírták (LAPITAN et al. 1986, PEDERSEN et al. 1996, BADAIEVA et al. 1996a,b, LINC et al. 1999, 2012; MOLNÁR et al. 2005).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 Növényi anyag

Kísérleteinkben búza/árpa transzlokációs vonalakat és szülőpartnereit, árpa és búza genotípusokat és búza/*Agropyron glael* hibrid utódvonalakat és szülőpartnereit vizsgáltuk (5. táblázat).

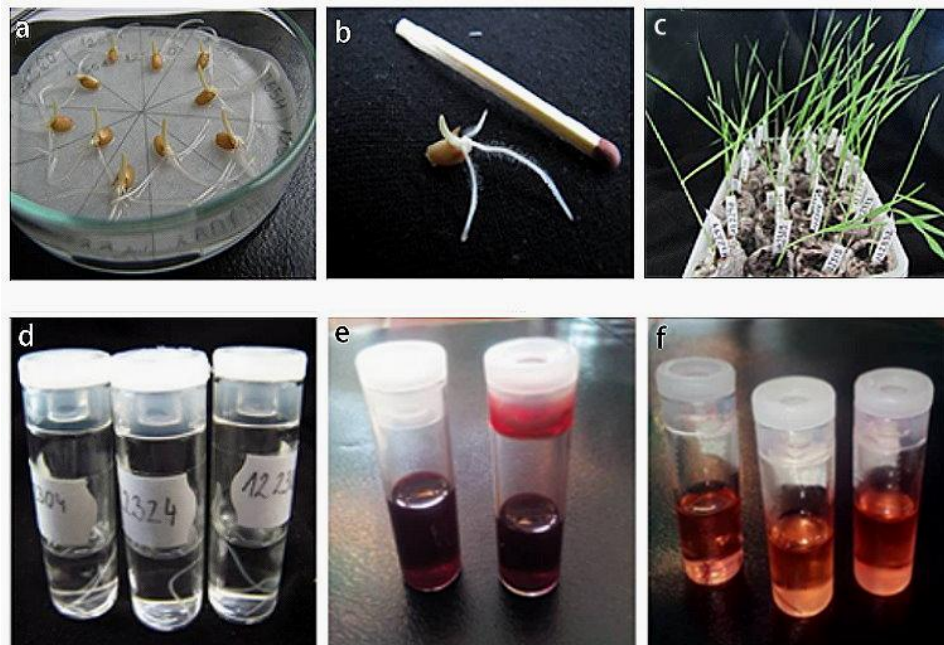
5. táblázat A kísérletekben felhasznált növényi anyagok

név	genomösszetétel, kromoszómaszám	származás	jellemzők
<i>Triticum aestivum</i> L. subsp. <i>aestivum</i>			
Martonvásári 9 kr1 (Mv9kr1)	BBAADD, 2n=6x=42	Martonvásár	őszi, jól keresztezhető idegen fajokkal, tar
'Asakazekomugi'		Japán	fakultatív, szálkás
'Chinese Spring'		Kína	tavaszi, tar
'Chinese Spring' <i>ph1b</i> mutáns		Kína	tavaszi, <i>ph1b</i> mutációt hordoz
'MvKarizma'		Martonvásár	járóbúza, szálkás
<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> (Desf.) Husnot			
'GK Novodur'	BBAA, 2n=4x=28	Magyarország	őszi
Búza progenitor			
<i>Aegilops tauschii</i> Coss.	DD, 2n=2x=14		génbanki sz: MvGB589
<i>Hordeum vulgare</i> L. subsp. <i>vulgare</i>			
'Manasz'	HH, 2n=2x=14	Ukrajna	őszi, hatsoros
'Igrí'		Németország	őszi, kétsoros
'Betzes'		Németország	tavaszi, kétsoros
'GK Sztáromea'		Magyarország	őszi, kétsoros
'Olte's'		Mexikó	tavaszi, kétsoros
WI2291		Ausztrália	tavaszi, kétsoros
AZ-8501		Észak-Amerika	őszi, hatsoros
CNE-16		Spanyolország	őszi, hatsoros
CNE-73		Spanyolország	őszi, hatsoros
CNE-91		Spanyolország	őszi, hatsoros
'Golden Promise'		Anglia	tavaszi, kétsoros
Búza/árpa ('Chinese Spring'/'Betzes') szubsztitúciós vonal			
4H(4D) szubsztitúció	2n=6x=42	Martonvásár	őszi
Búza/árpa transzlokációs vonalak			
'Asakazek.'/'Manasz' 4BS.7HL	2n=6x=42	Martonvásár	őszi
'Mv9kr1'/'Igrí' 5HS-7DS.7DL	2n=6x=42	Martonvásár	őszi
Tarackbúza fajok, búza/<i>Agropyron glael</i> utódvonalak			
<i>Pseudoroegneria spicata</i>	StSt, 2n=2x=14	Kanada	T914 (USDA)
<i>Thinopyrum bessarabicum</i>	JJ, 2n=2x=14	Oroszország	W6 10232 (USDA)
<i>Thinopyrum intermedium</i>	JJJ St J St StSt, 2n=6x=42	Oroszország	VIR-33860 (Oroszo.) PI565004 (Oroszo)
<i>Thinopyrum ponticum</i>	JJJJJJ ^s J ^s J ^s , 2n=10x=70	Argentína, Oroszország	D3494 (Arg), PI531737 (Arg), VIR-44486 (Rus)
<i>Agropyron glael</i>	2n=8x=56	Oroszország	MvGB1181
Mv9kr1/A. <i>glael</i> BC ₁ -BC ₂ utódok	ismeretlen	Martonvásár	nem évelők

3.2 Molekuláris citogenetikai vizsgálatok

3.2.1 Citológiai preparátum készítése

A vizsgált növényi anyagok szemeit Petri-csészébe helyeztük, csapvíz és desztillált víz 1:1 arányú keverékével benedvesített szűrőpapíron csíráztattuk (1. ábra/a). A csírázásnak indult szemeket kb. 72 órán keresztül 4°C-on tároltuk a gyökércsúcs-merisztémasejtek osztódásának leállítására, ill. a sejtosztódások szinkronizálása céljából. Az osztódás újraindításához a Petri-csészéket 26°C-ra állított termosztátba helyeztük. Növényi anyagtól függően 24-26 óra múlva az 1-1,5 cm-es hosszúságú gyökereket (1. ábra/b) jeges desztillált vízbe tettük minimum 26 órára. A gyökérvégek eltávolítása után a szemeket citológiai számmal ellátott tápkockákba ültettük a növények felnevelése céljából (1. ábra/c). A gyökereket a hidegkezelést követően 4-5 napig abszolút alkohol és jégecet 3:1 arányú keverékében, 37°C-on fixáltuk (1. ábra/d), majd 90-120 percre 1%-os kármínecetsavba helyeztük át, hogy a gyökércsúcsok megfestődjenek (1. ábra/e). A gyökereket felhasználásig frissen készített fixáló oldatban, -20°C-on tároltuk (1. ábra/f). Preparátumkészítéskor a sejteket a gyökércsúcsokból kiszabadítottuk, 45%-os ecetsavoldatban, előzetesen zsírtalanított tárgylemezen szétnyomtuk és fáziskontraszt-mikroszkóp alatt vizsgáltuk. A vélhetően teljes kromoszómaszámú sejteket tartalmazó preparátumokról a fedőlemezt folyékony N₂-ben történt fagyasztás után eltávolítottuk, majd etanol sorozatban történt dehidratálás után a tárgylemezeket felhasználásig -20°C-on tároltuk.



1. ábra Citológiai preparátumkészítés előkészületei

- a.** Benedvesített szűrőpapíron a szemek csíráztatása **b.** Optimális hosszúságú (kb 1,5cm) gyökerek leszedése jeges vízbe **c.** A szemek elültetése, növények felnevelése **d.** Gyökerek abszolút alkohol és jégecet 3:1 arányú keverékében **e.** A gyökerek kármínecetsav 1%-os oldatában **f.** Tárolás fixáló oldatban

3.2.2 Próbajelölés

- *GISH próbák jelölése nick translációval*

Az árpa kromoszómák kimutatásához teljes árpa genomi DNS-t jelöltünk nick-transzlációval. Fiatal növények leveléből SHARP et al. (1988) módszere szerint nagy koncentrációjú (>1000 μ g/ml) DNS-t izoláltunk. A jelöléshez 1 μ g DNS-t tartalmazó oldatot steril MQ vízzel 16 μ l-re egészítettünk ki, majd 4 μ l Biotin-Nick Translation Mix-et (Roche) adtunk hozzá, melynek összetétele: 50% glicerinben stabilizált puffer, DNS-polimeráz I, DNáz I, 0,25 mM dATP, 0,25mM dCTP, 0,25mM dGTP, 0,17mM dTTP és 0,08 mM Biotin-16-dUTP. A nick translációt PCR készülékben (Eppendorf Mastercycler) 15°C-on, 90 percig végeztük. A folyamat leállítása 1 μ l 0,5M EDTA hozzáadásával 10 percig, 65°C-on történt. A próbát felhasználásig -20°C-on tároltuk. A D genom kimutatásához *Aegilops tauschii* genomi DNS-t jelöltünk Digoxigenin-Nick Translation Mix Kit (Roche) alkalmazásával az árpánál ismertetett módon.

- *GISH próbák jelölése random priming módszerrel*

A *Th. intermedium* és *Th. ponticum* kromoszómák kimutatásához a próbajelölést random priming módszerrel végeztük a Roche által forgalmazott High Prime DNA Labeling Kit-tel. Az ehhez szükséges genomi DNS-eket a diploid *Pseudoroegneria spicata* (St genom) és *Th. bessarabicum* (J =E^b genom) fajból izoláltuk. A DNS-eket 10 percig kuktában forraltuk, majd 2 μ g DNS-t tartalmazó oldatot 12 μ l-re egészítettünk ki steril MQ vízzel. A 12 μ l DNS-ből, 5 μ l (biotint vagy digoxigenint tartalmazó) dNTP mixből, 2 μ l Hexanucleotide Mix-ből (Roche) és 1 μ l Klenow enzimből (Roche) álló keveréket PCR készülékben 37°C-on, 16-20 órán keresztül inkubáltuk. A kész próbákat -20°C-on tároltuk és felhasználás előtt 5 percig kuktában forraltuk. A J genomot biotinnal, az St genomot digoxigeninnel jelöltük.

- *FISH próbák jelölése PCR reakcióval*

A búza- és árpakromoszómák azonosítását repetitív DNS-próbákkal végeztük. A szükséges szekvenciákat a megfelelő primerpárokat használva PCR-reakcióval felszaporítottuk, majd a reakciótermékeket templátként használva egy újabb PCR-reakcióval biotint (Biotin-11-dUTP - Roche) vagy digoxigenint (Digoxigenin-11-dUTP - Roche), illetve azok 1:1 arányú keverékét beépítettük a próbákba.

Árpakromoszómák azonosításához használt FISH próbák:

- HvT01: árpaspecifikus, szubtelomérás repetitív szekvencia (SCHUBERT et al. 1998); digoxigeninnel vagy kettősen (biotin+digoxigenin) jelölve

- pTa71: NOR-régióra specifikus rDNS klón (GERLACH és BEDBROOK 1979) vagy szekvencia (CHANG K.D. et al. 2010); biotin+digoxigeninnel jelölve
- (GAA)₇: centroméra körüli heterokromatinra specifikus szekvencia (PEDERSEN et al. 1996); biotinnal jelölve
- (AGGGAG)₄: árpacentroméra-specifikus szekvencia (HUDAKOVA et al. 2001); digoxigeninnel jelölve

Búzakromoszómák azonosításához használt FISH próbák:

- Afa-family: heterokromatin-specifikus pAs1 szubklón (NAGAKI et al. 1995); digoxigeninnel jelölve
- pSc119.2: szubtelomérás repetitív szekvencia (McINTYRE et al. 1990); biotinnal jelölve
- pTa71: biotin+digoxigeninnel jelölve

3.2.3 Genomi *in situ* hibridizáció (GISH és mcGISH)

A citológiai preparátumokat a hibridizáció előtt előkezelésnek vetettük alá. Ennek lényege az RNS, valamint a felesleges citoplazma és egyéb fehérjék eltávolítása, ezt követően fixálás. Az előkezelések lépései:

1. RNáz-kezelés: 45 perc, 37°C (ribonukleáz A (Sigma-Aldrich); 5 mg/mL 2xSSC-ben)
2. Mosás: 2xSSC oldatban 2x3 perc, 37°C
3. Pepszinkezelés: 1 perc, 37°C (1 mg/mL pepszin 10 mM HCl-ben oldva)
4. Mosás: 2xSSC oldatban 2x3 perc, 37°C
5. Utófixálás: 4%-os paraformaldehidben 1x10 perc, szobahőmérséklet
6. Dehidratálás jéghideg alkoholsorozatban (70% - 90% -100%): 5-5perc
7. A lemezek szárítása szobahőmérsékleten

A 30µl hibridizációs keverék 20ng jelölt próbát, 600ng blokkoló DNS-t (a kimutatni nem kívánt genomok DNS-e), valamint 100%-os formamidot (Sigma-Aldrich), 20xSSC-t, 10%-os SDS-t tartalmazott (5:1:0,1arányban), melyet 10%-os dextrán-szulfáttal (Amresco) egészítettünk ki a végtérfogat (30µl) eléréséhez preparátumonként. A hibridizációs keveréket a preparátumra cseppentettük és fedőlemezzel buborékmentesen lefedtük. A hibridizáció lépései a következők voltak:

1. A kromoszóma-DNS és a hibridizációs keverék denaturálása PCR-készülékben: 6 perc, 75°C
2. Hibridizáció vízpárás környezetben, hibridizációs kamrában: kb. 18 óra (egy éjszaka), 42°C
3. Poszthibridizációs mosás a nem specifikusan hibridizálódott szekvenciák eltávolítása céljából: 4xSSC-Tween, 5 perc, 42°C

4. A biotinnal vagy digoxigeninnel jelölt szekvenciák detektálása TNB-ben oldott 10 µg/ml streptavidin-FITC (Roche) ill. antidig-rhodamine (Roche) antitesttel: 37°C, 30 perc, sötétben
5. Mosás: 4×SSC-Tween, 2×5 perc, szobahőmérsékleten
6. A kromoszómák kontrasztfestése fakulást gátló VectaShield-ben (Vector Laboratories) oldott 2 µg/ml DAPI-val (Amersham)

mcGISH

Az *Agropyron glael* kromoszómáinak kimutatásához a technikát optimalizálni kellett. Az ismertetett protokoll a módosítások utáni változat. A preparátumokat 100%-os formamid, 10%-os DS és 20×SSC 5:1:1 arányú keverékével 75°C-on 6 percig denaturáltuk, majd jéghideg etanolsorozatban dehidratáltuk. A tárgylemezenként 15 µl hibridizációs mix összetétele a következő volt: 100ng (biotinnal jelölt) J és 100ng (digoxigeninnel jelölt) St genomi próba, 6µg búzablokkoló, valamint formamid:DS:20×SSC=5:4:1 arányban (a *Th. intermedium* és a *Th. ponticum* kromoszómáinak kimutatásához nem használtunk blokkolót). A hibridizációs keveréket PCR készülékben szintén 75°C-on és 6 percig denaturáltuk, majd a már előzetesen denaturált kromoszóma-preparátumra cseppentettük. Az előkezelés, a hibridizáció és a detektálás lépései kisebb módosításokkal megegyeztek a GISH-nél leírtakkal.

A hibridizációk eredményét Plan Neofluar 63x olajos objektívvel felszerelt Zeiss Axioscope 2 epifluoreszcens mikroszkóppal (Zeiss, Germany) vizsgáltuk. A DAPI kontrasztfestést Zeiss Filterset 01 szűrővel, a jelölt próbák hibridizációs mintázatát a FITC és a Rhodamine emissziós spektrumára egyaránt érzékeny kétsávós szűrőn (Zeiss filter set 24) keresztül, Spot CCD kamerával (Diagnostic Instruments, USA) fényképeztük. A képek kiértékelése, szerkesztése Image-Pro Plus 5.1 szoftverrel (Media Cybernetics, USA) történt. A GISH képeken a nagyítás mértékét nem tüntettük fel, mivel a digitális technikának köszönhetően tetszőleges mértékben nagyíthatók a képek. A nagyítás mértékének szemléltetéséhez a képeken elhelyezett skálát alkalmaztunk.

3.2.4 Fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH)

Amennyiben a FISH-t megelőzően a preparátumon GISH-t vagy mcGISH-t végeztünk, a hibridizációs jeleket eltávolítottuk. A jelölődések lemosása SF50 oldatban (50%-os formamidban) 42°C-on történt (2×5perc), melyet 2×5 perces 4×SSC-Tween-ben végzett lemosás követett. A preparátumonként 30 µl hibridizációs keverék 50% formamidot, 10% 20×SSC-t, 1% SDS-t, 50 ng/µl lazac sperma (blokkoló) DNS-t és az azonosítani kívánt kromoszómától függően

2-3 különböző FISH próbát (próbánként 40 ng) tartalmazott. A keveréket szükség szerint DS-sel egészítettünk ki 30 µl-re.

A hibridizáció során alkalmazott próbakombinációk a következők voltak:

- HvT01 (piros), (GAA)₇ (zöld), pTa71 (sárga)
- Afa-family (piros), pSc119.2 (zöld); pTa71 (sárga)
- (AGGGAG)₄ (piros), pSc119.2 (zöld), HvT01 (sárga)
- Afa-family (piros), HvT01 (zöld), pTa71 (sárga)
- HvT01 (piros), GAA (zöld)
- GAA (piros), HvT01 (zöld)

A előkezelések és a detektálási lépések kis módosításokkal megegyeztek a GISH-nél leírtakkal. A hibridizáció 37°C-on történt, a poszthibridizációs mosást 4xSSC-ben (37°C, 2×5 perc) végeztük. A biotinnal, digoxigeninnel vagy a kettő keverékével jelölt szekvenciákat TNB-ben oldott 10 µg/ml Streptavidin-FITC és 10 µg/ml Antidig-rhodamine antitestekkel tettük fluoreszcensen jelöltté és biotin esetén zöld, digoxigenin esetén piros, kettős jelölés esetén sárga hibridizációs jeleket detektáltunk.

3.3 SSR marker analízis

3.3.1 A 7D kromoszóma fizikai térképezése

Az Mv9kr1 búza genotípus, az 'Igr1' árpafajta és az Mv9kr1/'Igr1' keresztezésből származó 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal 2 hetes növényeinek leveleiből genomi DNS-t izoláltunk DOYLE és DOYLE (1990) módszere szerint. A polimeráz lánreakciókat GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) és Eppendorf Mastercycler (Eppendorf) készülékeken végeztük. A 25 µl végtérfogatú reakcióelegy a következő összetevőket tartalmazta:

- 20 ng templát DNS,
- 0,1-0,1 µM primer,
- 0,2 mM dATP, 0,2 mM dCTP, 0,2 mM dGTP, 0,2 mM dTTP,
- 5µL of 5× Green GoTaq reaction buffer (MgCl₂ koncentrációja 1,5 mM), (Promega)
- 0,625 unit Taq polymerase (Promega).

A PCR-t az alábbi reakciókörülmények között végeztük (RÖDER et al. 1998; GANAL és RÖDER 2007):

1. elődenaturáció 92°C-on, 3 perc
2. 45 cikluson keresztül
 - denaturáció 92°C-on, 1 perc
 - primerkapcsolódás (annealing) primerpártól függően 50, 55 vagy 60°C-on, 1 perc

a komplementer szál szintézise 72°C-on, 2 perc

3. az összes DNS-szintézis befejezésére szolgáló extenzió 72°C-on, 10 perc

A 7D kromoszóma fizikai térképezéséhez összesen 45 db 7D specifikus primerpárt alkalmaztunk. Az Xgwm (Gatersleben wheat microsatellite) jelzésűeket Marion S. Röder (IPK-Gatersleben, Németország) helybeni felhasználásra bocsájtotta rendelkezésünkre, melyeket a GrainGenes 2.0 adatbázis megfelelő SSR markereivel (<http://wheat.pw.usda.gov/CG2/index.shtml>) egészítettünk ki.

Az alkalmazott SSR markerek:

Xbarc0184, *Xbarc0126*, *Xgwm0044*, *Xwmc0506*, *Xgdm0130*, *Xgwm0350*, *Xbarc0214*, *Xgdm0086*, *Xgwm111*, *Xgwm0735b*, *Xgwm1258a*, *Xgwm1123*, *Xgwm1250*, *Xgwm1000a*, *Xgwm1055*, *Xgwm0635a*, *Xgwm1014*, *Xgwm0885*, *Xgwm1220*, *Xgwm0295*, *Xgwn1002*, *Xwmc0437*, *Xwmc0094*, *Xbarc1046*, *Xbarc0172*, *Xbarc0111*, *Xgdm0046*, *Xgdm0067*, *Xbarc0053*, *Xgwm0428*, *Xgwm0037*, *Xcfd0069*, *Xgdm0142*, *Xgdm0150*, *Xgdm0084*, *Xgwm0974*, *Xgwm1044*, *Xgwm0780*, *Xgwm1007*, *Xgwm1154*, *Xgwm1242*, *Xgwm1168*, *Xgwm0121a*, *Xgwm1276*, és *Xgwm1102*.

A PCR termékek futtatása kétféle módon történt. A keletkezett fragmentek szétválasztása automated laser sequencer ALFexpressII (Amersham Biosciences) készülékben történt a rövidebb gélkazetta alkalmazásával (40minta/ alkalom). A 0,35mm vastagságú elválasztó gél 8% (w/v) akrilamid/biszakrilamid monomereket tartalmazott (ReproGel High Resolution -GE Healthcare Bio-Sciences AB, Svédország). A gélek 0,75 x TBE pufferben futottak 850V, 50mA, 50W és 50 °C beállítási paraméterekkel 50-80 percig. A mintákhoz adott ismert fragmenthosszúságú molekulák (internal standard) és a soronként alkalmazott (external standard) létrák alkalmazásával történt a fragmenthosszok meghatározása Fragment Analyzer 1.02 (Amersham Biosciences) programmal. A PCR termékek egy részét ethidium-bromidot tartalmazó 2%-os agaróz gélen, 50bp-os DNS létra (Fermentas, Litvánia) jelenlétében futtattuk. A DNS-fragmentek láthatóvá tétele és a kapott fragmenthosszúságok becslése SynGene GelDoc system (SynGene, Cambridge, Anglia) készülékben történt.

3.3.2 Búza/*A. glael* utódvonalak molekuláris marker analízise

A búza/*A. glael* utódokon (194, 195, 196-os parcellaszámú vonalak), az Mv9kr1 búza genotípuson, az *A. glael*en és szülői genotípusain (*Th. intermedium*, *Th. ponticum*) a következő rezisztenciagénekkel kapcsolt molekuláris markereket és kontroll genotípusokat alkalmaztuk:

Lr19: *STSLr19₁₃₀* (PRINS et al. 2001), kontroll genotípus: SO91-1027

Lr24: *J09-ST5* (SCHACHERMAYR et al. 1995), kontroll genotípus: TC24 (Thatcher*6/Agent)

Lr29: SCAR marker Lr29F18-Lr29R18 (PROCUNIER et al. <http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr29/>), kontroll genotípus: TC29 (Thatcher*6//CS7D/Ag#11)

Sr26: Multiplex PCR, *Sr26#43* (*Sr26* jelenlétének kimutatására), *BE518379* (6AL-specifikus, *Sr26* hiányának kimutatására) (LIU et al. 2010), kontroll genotípus: Sunelg

A PCR reakciókat Applied Biosystem 9700 PCR (Life Technologies, California, USA) készülékben végeztük az adott markernek optimális primerkapcsolódási hőmérsékletek alkalmazásával. A 20 µl végtérfogatú reakcióelegy a következő összetevőket tartalmazta:

200 ng templát DNS,

0,1-0,1 µM primer,

0,9 µM dATP, 0,9 µM dCTP, 0,9 µM dGTP, 0,9 µM dTTP,

2,34 mM MgCl₂

1 unit goTaq DNS polimeráz (5 U/µ, Promega)

5× Green GoTaq flexi buffer, (Promega) a végtérfogat eléréséhez szükséges mennyiségben.

A PCR termékeket ethidium-bromidot tartalmazó 1,5%-os SeaKem agaróz gélen (Lonza, Rockland, ME, USA), 100bp-os DNS létra (GelPilot 100 bp Plus Ladder, Qiagen, Germany) jelenlétében futtattuk. A DNS-fragmentek láthatóvá tétele és a kapott fragmenthosszúságok becslése SynGene GelDoc system (SynGene, Cambridge, Anglia) készülékben történt.

3.4 Növénynevelés, keresztezések

A molekuláris citogenetikai úton elemzett, tápkockában nevelt növényeket 6-8 hétig 4°C-on vernalizáltuk, majd cserepekbe ültettük át és fitotroni, Conviron PGR-15 típusú növénynevelő szekrényben helyeztük el. A növénynevelés TISCHNER et al. (1997) által kidolgozott módszer szerint történt. Bokrosodásig 12 óra megvilágítást (200 µmol m⁻² s⁻¹), valamint 15°C nappali és 10°C éjszakai hőmérsékletet alkalmaztunk, majd szárba induláskor, virágzáskor és a szemfejlődés kezdetén 2°C-kal növeltük a hőmérsékleteket és 2 órával a megvilágítás hosszát. A learatott növények szemeit 4 °C-os génbanki kamrában tároltuk.

A búza/árpa és a búza/*A. glael* eredetű introgressziós vonalakat a szülői genotípusokkal együtt tenyészkertben tartottuk fenn, szaporítottuk és szelektáltuk. Öntermékenyítés céljából a kalászokat izolátorzacskóval láttuk el. A búza/*A. glael* BC₁ nemzedékéből származó utódvonalak visszakeresztezésekor apai partnerként a szintén tenyészkertben nevelt Mv9kr1 búzagenotípust

és az 'Mv Karizma' búzafajtát használtuk. Az anyanövényeket 3-5 nappal a kasztrálás után pörgetéssel módszerrel poroztuk.

3.5 Szemek γ -besugárzása

A 'Chinese Spring'/'Betzes' kombinációból származó 4H(4D) szubsztitúciós vonal száraz szemeinek sugárkezelését (100Gy dózisu ^{60}Co γ -sugárzás) az MTA Energiatudományi Kutatóközpontban végezték el. A besugárzott M_0 nemzedékben a létrejött intergenomikus transzlokációkat, az M_1 nemzedékben a búza/árpa transzlokációk stabilitását vizsgáltuk GISH-sel.

3.6 Felvételezés, statisztikai analízis

A búza/árpa addíciós és transzlokációs vonalak, a búza/A. *glael* utódvonalak, valamint a szülői genotípusok statisztikai elemzéséhez 10-10 kijelölt növényen az alábbi fenotípusos paramétereket mértük:

- növénymagasság (cm)
- bokrosodás: növényenkénti kalászkaszám (db)
- főkalász hossza (cm)
- kalásonkénti kaláskaszám (db)
- fertilitás: kaláskánkénti szemszám (db)
- főkalásonkénti szemszám (db)
- növényenkénti szemszám (db)
- ezerszemtömeg (g)

A kapott értékeket a búza szülőpartnerhez hasonlítottuk. A statisztikai elemzést Student-féle kétmintás t-próbával (Microsoft Excel adatelemző csomag), $P = 0,05$ szignifikancia szinten végeztük el. A búza/A. *glael* utódok spontán levélrozsda- és sárgarozsda-fertőzöttségének mértékét tenyészkerti körülmények között, 0-4 skálán bonitáltuk, ahol a 0 a tünetmentes, rezisztens, 4 a nagyon fogékony kategóriát jelöli (STAKMAN et al. 1962).

3.7 Mesterséges lisztharmat fertőzések

A búza/A. *glael* introgressziós vonalak csiranövénykori mesterséges lisztharmat fertőzését üvegházban végeztük. A vetést követő 10. napon, 1-2 leveles korban fertőztük 3 ismétlésben a random elrendezéssel elvetett genotípusok, ismétlésenként 10-10 növényét a 'Carsten V.' fajtán felszaporított izolátummal (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici* P07-14; virulens a *Pm1*, *Pm2*, *Pm3a*, *Pm3d*, *Pm4a*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm7*, *Pm8*, *Pm17* vagy *Pm1,2,9*, *Pm2,4b,8*, *Pm2,6*, *Pm2,Mld* génkombinációt hordozó differenciáló fajtákon, avirulens a *Pm3b*, *Pm3c*, *Pm3f* allélt hordozó

búza genotípusokon). A konídiumokat a növények levélfelületére ráztuk. Az üvegház hőmérséklete a kísérletek idején 18°C, az izolátorládák alatt a levegő relatív páratartalma 80-90% volt. A természetes megvilágítást mesterséggel egészítettük ki (6-12óra, 9-12 klux/nap).

Vizsgált genotípusok:

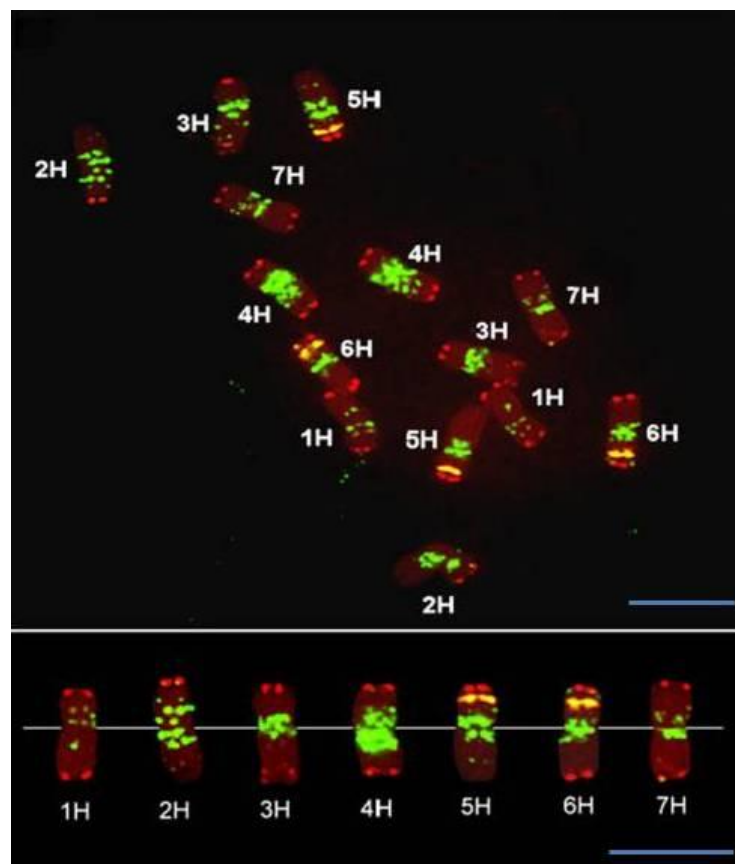
- 2014-ben aratott Mv9kr1/*Agropyron glael* BC₁ 10 alkalommal öntermékenyített utódok (4 minta): 194, 195, 196, 197
- 9 alkalommal öntermékenyített, egyszer szabadon virágzott utódvonal: 198. parcellaszám
- Mv9kr1/*Agropyron glael* BC₂ öntermékenyített utód: 222 parcellaszám
- szülőpartnerek: Mv9kr1, 'Chinese Spring', 'Mv Karizma',
- Carsten V. fogékony kontroll

A fertőzést követő 10. napon a fertőzés típusát NOVER (1957) módszere alapján határoztuk meg. A rezisztens genotípusok 0-2, a fogékonyak 3-4 értékekkel jellemezhetők.

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

4.1 Árpagenotípusok kromoszóma-polimorfizmusának vizsgálata mcFISH technikával

A kromoszómákon más-más pozícióban specifikus mintázatot adó, a molekuláris citogenetikai vizsgálatokban általánosan használt repetitív DNS-próbákkal - (GAA)₇, HvT01 és pTa71 - végeztünk mcFISH-t annak megállapítására, hogy kimutatható-e polimorfizmus a termesztett árpa (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*) eltérő földrajzi eredetű, növekedési típusú és kalászszerkezetű fajtái, illetve genotípusai (továbbiakban egységesen genotípusok) között. A hibridizációs mintázatok összehasonlításához először beazonosítottuk az egyes genotípusok kromoszómáit, majd kariogramokat készítettünk. A 2. ábrán példaként az 'Igri' kariotípusát és kariogramját mutatjuk be.



2. ábra Az 'Igri' árpafajta mcFISH-mintázaton alapuló kariotípusa szomatikus, mitotikus sejtben (fent), valamint a segítségével alkotott kariogram (lent). Az alkalmazott próbakombináció: (GAA)₇ - zöld, HvT01 – piros, pTa71 - sárga. Skála: 10μm

A (GAA)₇ mikroszatellit DNS-próba a szekvenciára jellemző módon elsősorban a kromoszómák centroméra körüli, heterokromatikus régiójához hibridizálódott. Feltételezhetően ez is hozzájárult ahhoz, hogy az egyes árpagenotípusok (GAA)₇ mintázatában nem tudtunk különbséget kimutatni, valamennyi kariogram teljes azonosságot mutatott az 'Igri' fajtáéval (3.

ábra/a). A hibridizációs sávok szimmetrikus eloszlást mutattak a centroméra körül, ami alól csak az 5H kromoszóma volt kivétel, melynek a rövid karján egyetlen gyenge jel volt detektálható.

A 45S rDNS-t tartalmazó pTa71 és az árpspecifikus szubtelomérás HvT01 DNS-próba FISH mintázatának elemzésekor a hibridizációs sávok pozíciójában és/vagy intenzitásában eltéréseket tapasztaltunk a tíz vizsgált árpagenotípus között (3. ábra/b-f).

A kromoszómák közül az 1H bizonyult a legváltozatosabbnak, azonban a polimorfizmus kizárólag a pTa71 próba hibridizációs helyeire korlátozódott. A 45S rDNS-szekvencia kromoszómális elhelyezkedése alapján az árpagenotípusok négy csoportját különböztettük meg. (3. ábra/b) Az 'A' csoportba soroltuk az 'Igri', 'Olte's' és WI2291 genotípust, melyekben a kromoszóma rövid karján interkalárisan elhelyezkedő sáv intenzitása a legerősebb volt. A 'B' csoport (AZ8501, CNE-16 és 'GK Sztáromege') egész halvány fluoreszcens jelet mutatott ugyanebben a pozícióban, ugyanakkor a 'C' jelű csoportban (CNE-73, CNE-91 és 'Manasz') pTa71 jel nem volt detektálható. A 'D' csoport egyedüli tagja a 'Golden Promise', melynek (meglepő módon) mindkét karján detektáltunk a 45S rDNS-szekvencia jelenlétére utaló hibridizációs sávot.

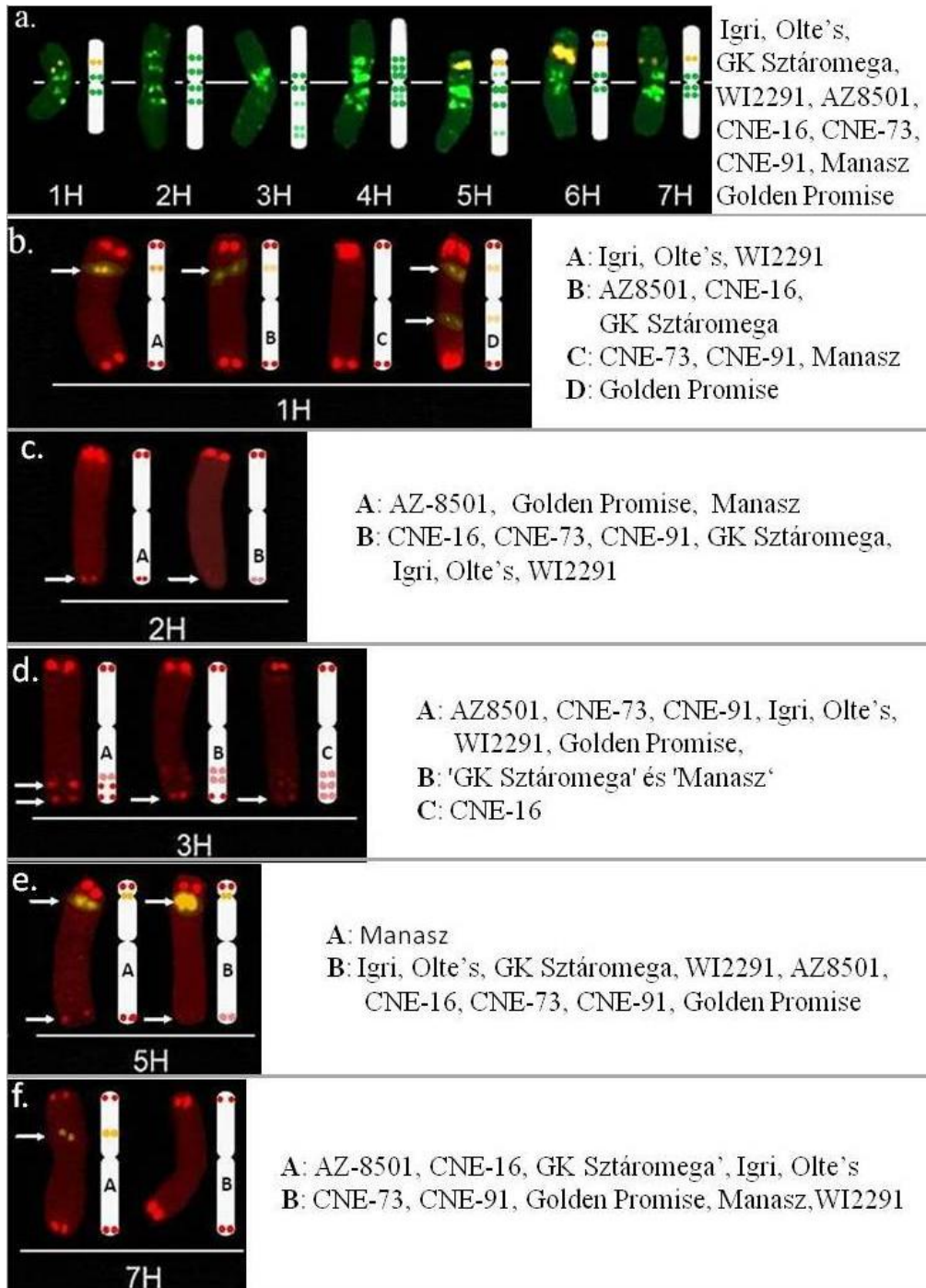
A 2H kromoszóma kisebb variabilitást mutatott. Az rDNS jelenlétére utaló pTa71 jelet a vizsgált genotípusokban nem detektáltunk. A HvT01 próba valamennyi genotípusban azonos helyre és azonos intenzitással térképeződött a rövid karon, azonban a hosszú karhoz eltérő erősséggel hibridizálódott. Határozott szubterminális jelet adott az AZ-8501, a 'Golden Promise' és a 'Manasz' árpagenotípusokban ('A' csoport), ugyanakkor a 'B' csoportban (CNE-16, CNE-73, CNE-91, 'GK Sztáromege', 'Igri', 'Olte's' és WI2291) csak egy nagyon halvány, sokszor alig észrevehető HvT01 sáv volt megfigyelhető (3. ábra/c).

A 3H kromoszómán, a 2H-hoz hasonlóan, pTa71 jelet nem detektáltunk. A HvT01 próba a 3HS rövid karon nem mutatott polimorfizmust, az egyetlen szubtelomérás jel genotípusonként azonos erősségű volt. A 3HL az egyetlen árpa-kromoszómakar, amelyen ez a szekvencia egynél több helyre térképeződött. Ennek alapján három genotípuscsoportot különítettünk el. Az 'A' csoportban (AZ8501, CNE-73, CNE-91, 'Golden Promise', 'Igri', 'Olte's' és WI2291) disztálisan két erős és proximálisan egy nagyon halvány, a 'B' csoportban ('GK Sztáromege' és 'Manasz') disztálisan egy erős, proximálisan két gyenge jelet detektáltunk. A CNE-16 spanyol árpa vonalban ('C' csoport) csak három nagyon halvány HvT01 hibridizációs hely volt kimutatható (3. ábra/d).

A 4H kromoszómák között nem tapasztaltunk polimorfizmust. A HvT01 szekvencia mindkét kromoszómakar szubterminális régiójában erős hibridizációs sávot adott.

A szatellites 5H kromoszóma polimorf jellege csak a hibridizációs jelek intenzitásában nyilvánult meg. Az 5H rövid kar másodlagos befűződésében egy halvány, rDNS jelenlétére utaló

pTa71 jelet és a hosszú kar szubterminális részén egy közepes intenzitású HvT01 hibridizációs helyet kizárólag a 'Manasz' árpafajtában ('A' csoport) detektáltunk. A többi genotípus ('B' csoport) NOR-régiójában intenzív pTa71 sávot, a hosszú karon pedig nagyon halvány HvT01 jelet kaptunk (3. ábra/e).



3. ábra a. A $(GAA)_7$ mikroszatellit-szekvencia (zöld) és a pTa71 próba (sárga) hibridizációs mintázatának kariogramja és ideogramja az 'Igrí' árpafajta kromoszómáin. Jobb oldalon a GAA hibridizációs mintázatot mutató árpa genotípusok

b-f. A pTa71 (sárga) és a HvT01 (piros) repetitív DNS-próbával polimorfizmust mutató árpakromoszómák kariogramja és ideogramja valamint az adott csoportot (A-D) jellemző árpa genotípusok. A hibridizációs jelek közötti pozíció- és/vagy intenzitásbeli különbségeket nyilak jelölik

A szintén szatellittel rendelkező 6H kromoszóma, a 4H-hoz hasonlóan, nem mutatott polimorfizmust. A kromoszómák másodlagos befűződésében intenzív pTa71 sávot, a rövid és hosszú karon szubterminális pozícióban erős HvT01 jelet detektáltunk.

A 7H kromoszómák két típusát lehetett elkülöníteni a 45S rDNS-szekvencia jelenléte ('A' csoport: AZ-8501, CNE-16, 'GK Sztáromega', 'Igri', és 'Olte's') vagy hiánya ('B' csoport: CNE-73, CNE-91, 'Golden Promise', 'Manasz' és WI2291) alapján. A HvT01 DNS-próba térképeződésében nem tapasztaltunk polimorfizmust (3. ábra/f).

4.1.1 Árpagenotípusok kromoszóma-polimorfizmus vizsgálatainak megvitatása

Az autogám (önmegporzó) termesztett árpában a megporzás zárt virágban, saját pollennel történik (kleisztogámia), ezért genetikai variabilitása alacsony szintű. Az árpában kromoszóma-szinten megnyilvánuló polimorfizmusról kevés adat áll rendelkezésünkre. A hagyományos egyszínű C- és N-sávozási technika csak a konstitutív heterokromatinra jellemző sávok - főleg méretbeli - különbözőségeinek kimutatására volt alkalmas (LINDE-LAURSEN 1978, KAKEDA 1991) és segítséggel elsősorban fajok közötti rokonsági kapcsolatokat tanulmányoztak (VOSA 1976, LINDE-LAURSEN et al. 1992, VAHIDY és JAHAN 1995). Vizsgálataink során FISH polimorfizmust mutattunk ki tizenegy árpagenotípus homológ kromoszómái között. A háromszínű FISH mintázat alapján a 4H és a 6H kromoszóma bizonyult a legkonzervatívabbnak PEDERSEN és LINDE-LAURSEN (1994) megfigyelésével ellentétben, akik a 4H kromoszóma rövid karján rDNS-klaszterek jelenlétét mutatták ki, de vizsgálataink során pTa71 jelet egyik genotípusban sem figyeltünk meg. A 4H kromoszómák közötti polimorfizmus hiánya ugyanakkor jó egyezést mutatott az INTERNATIONAL BARLEY GENOME SEQUENCING CONSORTIUM (2012) vizsgálataival, mely szerint a többi árpakromoszómához képest a 4HS karon szignifikánsan kisebb az SNV (single-nucleotide variation) gyakoriság, ami valószínűleg a 4HS rendkívül alacsony rekombinációs gyakoriságnak a következménye.

A GAA mintázat elhelyezkedése jó egyezést mutatott a KAKEDA et al. (1991) által Wright-oldattal detektált C- és N-sávokkal, azonban az erősebb jelek összeolvadtak. Az 'Emir' árpafajta 1H hosszú karján szubterminális régióban PEDERSEN et al. (1996) által leírt (GAA)₇ jel az általunk vizsgált genotípusokban nem jelent meg. Vizsgálatainkkal nagyjából egyidőben CARMONA et al. (2013) négy mikroszatellit- szekvencia (AG, ACT, ATC és GAA) fizikai térképezését végezte el tizenkét, a 'Golden Promise' kivételével az általunk tanulmányozottól eltérő árpafajtán nem-denaturáló FISH technikával. Az (GAA)₅ szekvenciával a (GAA)₇ mintázatával csaknem teljesen megegyező hibridizációs jeleket detektáltak, azonban megfigyeléseinkkel ellentétben a 3H kromoszóma hosszú karján polimorfizmust tapasztaltak.

A pTa71 próba a 'Golden Promise' fajtán jellegzetes mintázatot mutatott. Ezt a fajtát a 'Maythorpe' fajtából mutációs nemesítéssel állították elő, ami magyarázatot adhat a más fajtákban eddig még nem megfigyelt jelenségre. Elképzelhető, hogy a gamma-sugárzás hatására az 1HS kromoszómakaron található rDNS-szakasz duplikálódott, majd az 1HL karra transzlokálódott, de az sem kizárható, hogy a szekvencia a 7H kromoszómáról transzlokálódott az 1H-ra, mivel a 'Golden Promise' 7H kromoszómájára nem térképeződik a 45S rDNS-szekvencia. Úgy véljük, hogy a későbbiek során érdemes lenne tanulmányozni, hogy a kimutatott kromoszóma-átrendeződés milyen mértékben és milyen módon járult hozzá a 'Golden Promise' fajta minőségének javulásához.

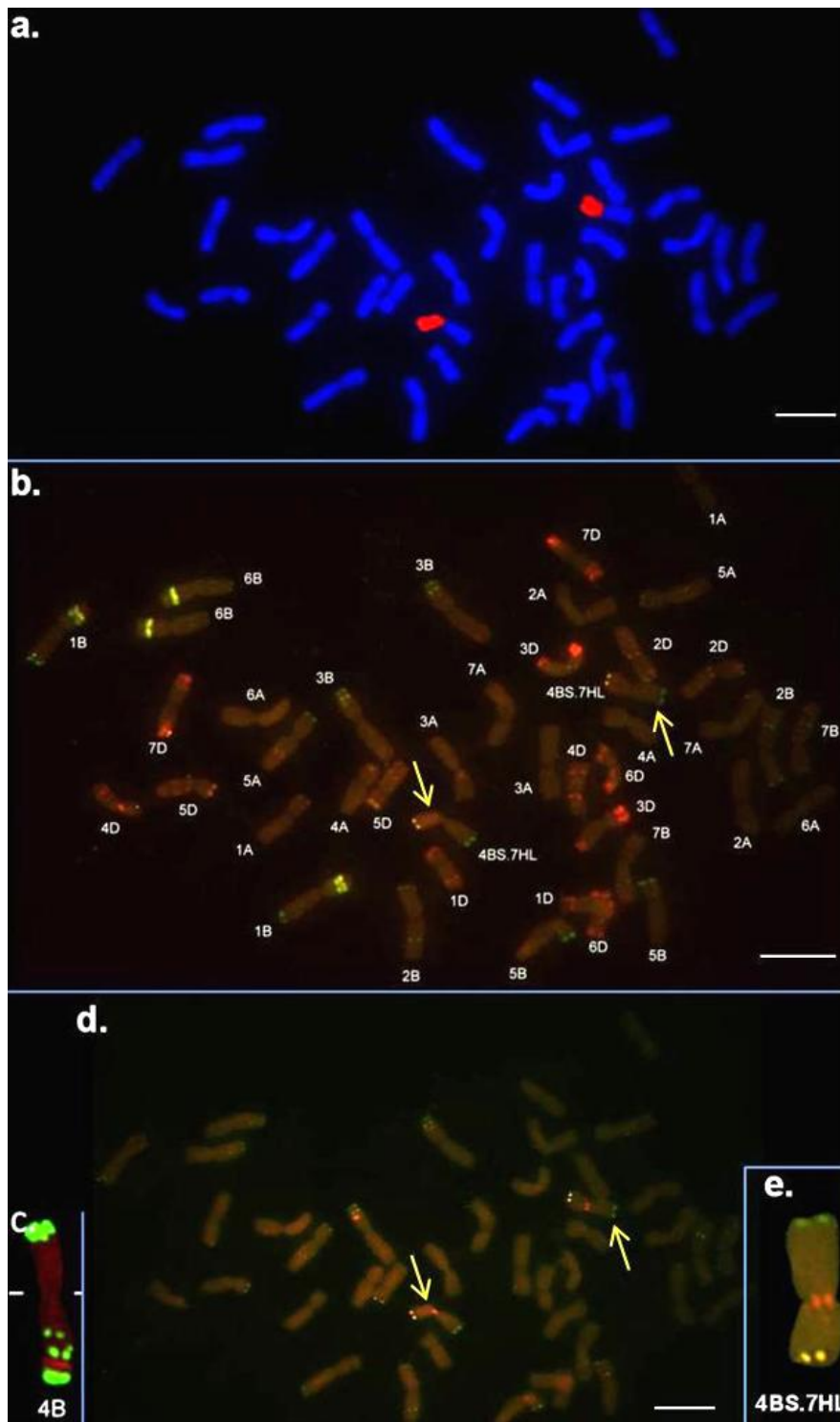
A HvT01 szubtelomérás DNS-szekvencia hibridizációs mintázata alapján a 3H kromoszóma hosszú karját találtuk a legvariábilisabbnak. Hipervariábilis DNS-próbákkal végzett vizsgálatok kimutatták, hogy a növényi genom evolúciósan leggyorsabban változó része a kromoszómák szubtelomérás régiója (BROUN et al. 1992).

Eredményeink igazolják, hogy az intenzív nemesítés hatására beszűkült genetikai állományú, öntermékenyülő termesztett árpaiban is létezik kromoszómaszinten kimutatható polimorfizmus a genotípusok között.

4.2 Új búza/árpa transzlokációk elemzése

4.2.1 'Asakazekomugi'/'Manasz' 4BS.7HL transzlokációs vonal citológiai jellemzése

Először a transzlokációs vonal diszómás jellegét ellenőriztük GISH-sel (4. ábra/a). A két transzlokációs kromoszómát hordozó növények preparátumain a GISH hibridizációs jeleinek lemosása után ugyanazon a tárgylemezen a kromoszómák azonosításához FISH-t végeztünk Afa-family, pSc119.2, pTa71 és HvT01 próbával. A HvT01 próbát a transzlokáció kimutatásának megkönnyítésére használtuk a kromoszómaazonosítás során. A pTa71-et és a HvT01-et digoxigenin és biotin keverékével jelöltük, így mind a két próba sárga színű hibridizációs jelet adott. A HvT01 csak az árpa kromoszómakarhoz, a pTa71 pedig ebben az esetben csak a búzakromoszómák NOR-régióihoz hibridizál, ezért volt lehetséges ugyanazt a szintet használni a két különböző próbához zavaró hatás nélkül. Ezzel a próbakombinációval 20 pár teljes búzakromoszómát és 1 pár 4BS rövid kart azonosítottunk, a 4BL hosszú kromoszómakar hiányzott (4. ábra/b). Összehasonlításként a teljes 4B kromoszóma FISH képét csatoltuk (4. ábra/c). A búzakromoszómák azonosítását az M3 mellékletben található ábra alapján végeztük.



4. ábra a. Az 'Asakazekomugi'/'Manasz' 4BS.7HL transzlokáció kimutatása GISH-sel. Digoxigenninnel jelölt teljes árpa genomi DNS-sel történt hibridizálás után a 7HL kromoszómakarok pirosan jelölődtek, a jelöletlen búzakromoszómák kékek (DAPI kontrasztfestés) **b.** A kromoszómák azonosítása Afa-family (piros), pSc119.2 (zöld), HvT01 (sárga) és pTa71 (sárga) FISH próbával. A 4BS.7HL kromoszómát nyilak jelölik **c.** Búza teljes 4B kromoszóma FISH mintázata pSc119.2 (zöld) és Afa-family (piros) próbákkal **d.** FISH HvT01 (sárga), (AGGGAG)₄ (piros) és pSc119.2 (zöld) próbákkal. A árpa centromérával rendelkező transzlokációs kromoszómákat nyilak jelölik **e.** A felnagyított transzlokációs kromoszóma FISH mintázata HvT01 (sárga), (AGGGAG)₄ (piros) és pSc119.2 (zöld) próbákkal.

Skála: 10µm

A tárgylemez FISH jeleinek lemosása után egy második FISH vizsgálatot is végeztünk az árpacentromérára-specifikus (AGGGAG)₄ repetitív szekvenciával, valamint a HvT01 és a pSc119.2 próbával. Az árpacentroméra- és teloméra-specifikus próbák teljes árparak jelenlétét igazolták a transzlokációs kromoszómában. Az (AGGGAG)₄ próba az árpacentromérán kívül a 3BS kromoszómakaron (közel egy pSc119.2 jelhez) és az 5BS kromoszómakar centromérához közeli részén is hibridizációt mutatott, melyek intenzitása hasonló volt az árpacentromérában detektált jelhez (4. ábra/d). A transzlokációs kromoszóma kinagyított képe a 4/e. ábrán látható.

4.2.1.1. A 4BS.7HL transzlokációs vonal citológiai jellemzésének megvitatása

A búza/árpa hibrid utódnemzedéken végzett GISH és FISH kiváló vizsgálati módszerek bizonyult transzlokáció detektálására és azonosítására. Sikerült meghatározni a diszómás transzlokációban résztvevő búza kromoszómakart, valamint kimutatni a teljes 7HL árpa kromoszómakar jelenlétét különös figyelemmel az árpa centromérára, mely szakaszon β -glükán szintéziséért felelős gének helyezkednek el (BURTON et al. 2008).

Számos genetikai alapanyagot alkalmaztak növényi kromoszómák centromerájának kimutatására pl. transzlokációs vonalakat (WEBER és HELENTJARIS 1989), izokromoszómákat (SCHNEERMAN et al. 1998) és besugárzott addíciós vonalakat (RIERALIZARAZU et al. 2000). A 4BS.7HL transzlokációban az árpa centroméra specifikus DNS szekvenciát tartalmazó (AGGGAG)₄ próbával igazoltuk a 7H centroméra jelenlétét és két búzakromoszómán is erős jelet detektáltunk (CSEH et al. 2011). Ez megerősíti azt a korábbi megfigyelést, hogy a (AGGGAG)₄ próba alkalmas a 3BS és az 5BS búza kromoszómakar azonosítására is (NASUDA et al. 2005). A 7HL centromerikus régió transzlokációs vonalban való jelenléte emelkedett β -D-glükán szintézist eredményezett (CSEH et al. 2011). Vizsgálataik során STS markerrel kimutatták a *HvCslF6* gén jelenlétét a 4BS.7HL transzlokációs vonalban, majd vizsgálták a β -D-glükán grammonkénti szárazanyag-tartalmát, ami szignifikánsan meghaladta a búza szülőpartnerekben mért értékeket. Ennek alapján feltételezik, hogy a *HvCslF6* gén a β -D-glükán szintézis egyik fő komponense. SSR vizsgálatokkal pontosították a gén fizikai pozícióját a 7H kromoszóma hosszú karján.

A 7H hosszú karját hordozó búza/árpa transzlokációs vonalakat állított elő SHI és ENDO (2000) 7H addíciós vonal búza/*Ae. cylindrica* 2C monoszómás addíciós vonallal történő keresztezésével. A 29 7H hosszú kart érintő transzlokációs vonalból 7 tartalmazta az árpa centromérát is. Jelenleg folyamatban van a 4BS.7HL vonalból olyan transzlokációs vonal előállítása (monoszómával történő visszakeresztezéssel), melyben homeológ kromoszómák között történik a transzlokáció, így a megnövekedett β -D-glükán szintézis jobb vitalitású, esetleg nagyobb termőképességű genotípusban történik. A spontán létrejött és azonosított 4BS.7HL

transzlokáció lehetőséget nyújt további, a 7HL-en található gének búza genetikai háttérben történő vizsgálatához.

4.2.2 Besugárzott búza/árpa 4H(4D) szubsztitúció citogenetikai vizsgálata

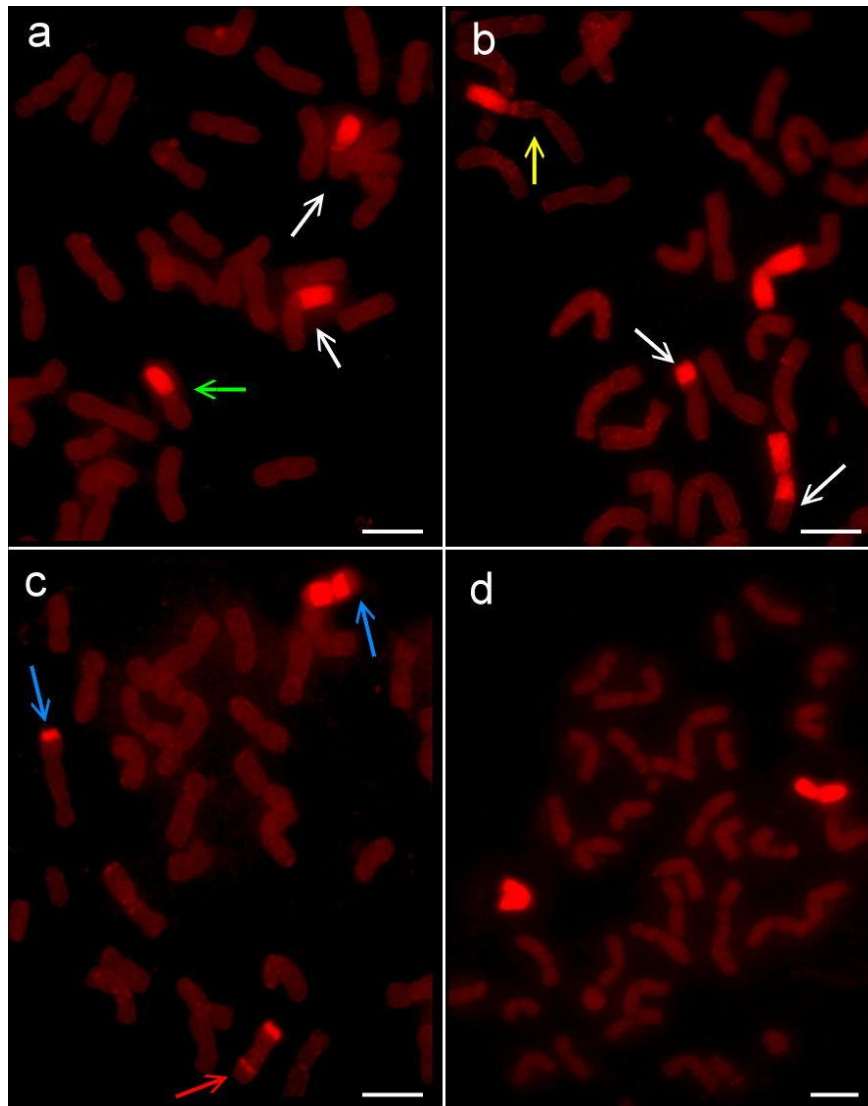
A spontán létrejött transzlokációk igen ritkák, ezért célszerűbb valamilyen indukáló ágens alkalmazása az idegen kromoszómák párosodásának elősegítése céljából. A Martonvásáron előállított 'Chinese Spring'/'Betzes' hibridből származó 4H(4D) szubsztitúciós vonalat használtuk alapanyagként a 4H árpakromoszóma egyes szakaszainak búzába történő beépítéséhez. Transzlokáció indukálására 100 Gy dózisu ^{60}Co izotóppal, sugároztuk be a vonal érett szemeit. A besugárzott M_0 szemek csíráztatása után GISH vizsgálatot végeztünk a transzlokációk kimutatására. Digoxigeninnel jelölt árpa DNS-t hibridizáltunk a preparátumokhoz és 9 növény 35 metafázisban lévő sejtjét elemeztük részletesen. Nagyszámú búza/árpa transzlokációt detektáltunk, azonban nem találtunk olyan növényt, melynek minden sejtje kormoszóma-átépülést hordozott volna. A vizsgált esetek felében az árpakromoszómák nem törtek (6. táblázat, 5. ábra/a, b, c). Mivel egy növényen belül többféle kormoszóma-átrendeződés is található, a transzlokációk utódnemzedékekben való fennmaradása bizonytalan.

6. táblázat 100 Gy dózisu ^{60}Co izotóppal besugárzott 4H(4D) szubsztitúció 9 növényében GISH-sel megfigyelt transzlokációk típusa és száma

Elemzett sejt (db)	Transzlokációk száma (db)				Transzlokáció nélküli sejt (db)
	Terminális transzlokáció	Reciprok transzlokáció	Centrikus fúzió	Intersticiális transzlokáció	
35	4	11	4	1	17

A transzlokációk típusa nagyrészt a kromoszómakar egy ponton való törésének következtében kialakuló terminális vagy reciprok transzlokáció és centrikus fúzió volt. A kromoszóma két ponton történő törésével keletkező intersticiális transzlokációt csak egy sejtben figyeltünk meg.

Az M_0 nemzedék öntermékenyítése után 345 M_1 szemet kaptunk. Az M_1 nemzedék növényeinek minden vizsgált sejtjében az eredeti szubsztitúciót mutattuk ki, búza/árpa transzlokációs kromoszómával rendelkező növényt nem sikerült azonosítanunk (5. ábra/d).



5. ábra Besugárzott 'Chinese Spring'/'Betzes' 4H(4D) szubsztitúció M_0 (a, b, c) és M_1 (d) nemzedékének GISH analízise **a.** Centrikus fúziót (zöld nyíl) és reciprok transzlokációt (fehér nyilak) tartalmazó sejt **b.** Teljes árpakromoszómát, dicentrikus kromoszómát (sárga nyíl) és reciprok transzlokációt (fehér nyilak) hordozó sejt **c.** Terminális transzlokációk (kék nyilak) és intersticiális transzlokáció (piros nyíl) az M_0 nemzedékben **d.** Teljes 4H kromoszómapár az M_1 nemzedékben. Az árpagenom piros, a búzagenomok nem jelölődtek. Skála: 10 μ m

4.2.2.1 Besugárzott 4H(4D) szubsztitúció citogenetikai vizsgálatának megvitatása

A besugárzott búza/árpa transzlokáció M_0 nemzedékében olyan transzlokációkat azonosítottunk, melyek a kromoszóma 1 ponton való törésének következtében alakulnak ki (terminális transzlokáció, reciprok transzlokáció, centrikus fúzió). Ez alátámasztja SYBENGA (1992) megállapítását, miszerint az egy ponton történő kromoszómatörés sokkal gyakoribb, mint a két helyen való törés. FRIEBE et al. (1996a), BADAIEVA et al. (2007) és MOLNÁR et al. (2009) is a terminális transzlokációk és centrikus fúziók gyakoribb előfordulását tapasztalta más transzlokáció típusokhoz képest. Megfigyelésünkkel ellentétben SZAKÁCS et al. (2010) az intersticiális transzlokációk gyakori előfordulását tapasztalta Mv9kr1/'Igri' keresztezési

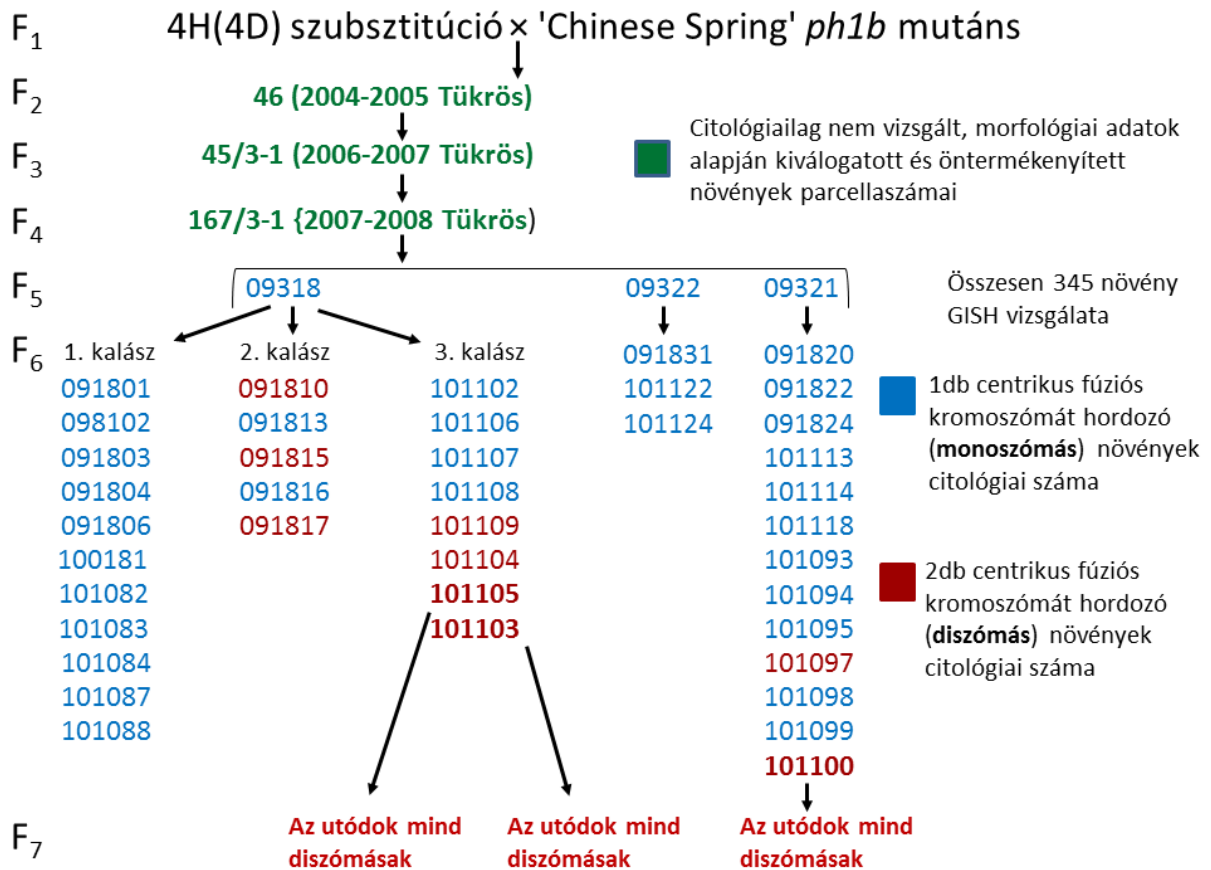
kombinációból származó búza/árpa addíciós vonalak besugárzával kapott növényekben. A SEARS (1956) által előállított levélrozsdarezisztens búza/*Aegilops umbellulata* eredetű transzlokációs vonalban is intersticiálisan helyezkedik el a rezisztenciáért felelős *Aegilops* kromoszómaszegment.

A búza-árpa transzlokációk hiánya az M_1 nemzedékben nem jelenti a besugárzás teljes eredménytelenségét. A besugárzás hatása nem csupán az árpakromoszómákat érinti, búzakromoszómák közötti transzlokációk is előfordulhattak az M_0 és M_1 nemzedékben. Az árpakromoszómák kimutatására alkalmas GISH vizsgálattal ezek nem detektálhatók.

4.2.3 'Chinese Spring' *ph1b* mutánssal létrehozott búza/árpa transzlokáció jellemzése

A besugárzással indukált kromoszómatörések random módon jönnek létre, és általában nem kompenzáló típusú transzlokációkat eredményeznek. A homeológ kromoszómák közötti párosodások indukálása céljából Martonvásáron az előző pontban említett 4H(4D) szubsztitúciós vonalat keresztezték a 'Chinese Spring' *ph1b* mutációt hordozó búzagenotípussal, majd a szülőkétől eltérő kalásztípusú növényegyedeket szelektáltak az F_2 - F_4 generációból. Ezt követően kapcsolódtam be a kísérleti munkába, feladatomban a különböző kalásztípusú növényekből származó utódok citogenetikai vizsgálata volt.

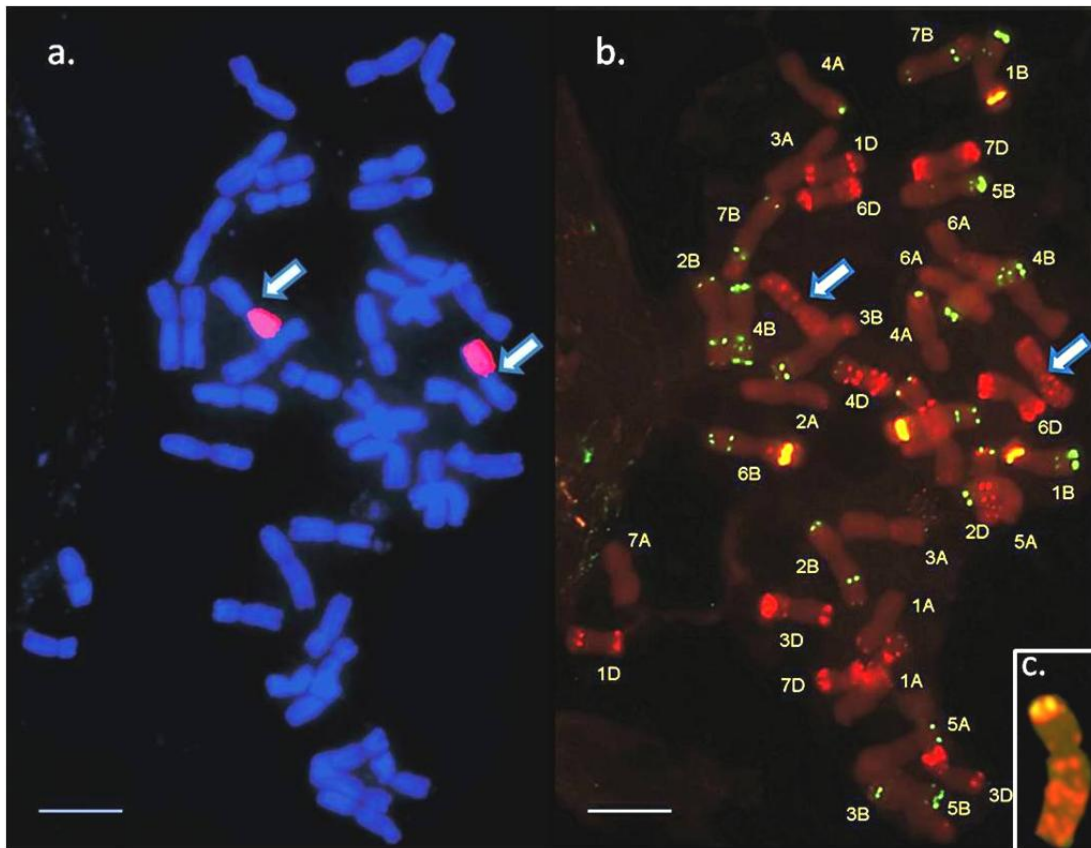
Az egyik F_4 növény utódai között 3 növényben 4H kromoszómakart hordozó centrikus fúziót detektáltunk GISH-sel. A monoszómás növények öntermékenyített utódgenerációjában 31 monoszómás mellett 9 diszómás növényt azonosítottunk (6. ábra).



6. ábra A diszómás centrikus fúzió eredete és kiválogatása a 4H(4D) szubsztitúció/'Chinese Spring' *ph1b* mutáns keresztezéséből. A 167/3-1 számú F₄ növény utódai között 3 monoszómás centrikus fúzió található (09318, 09322, 09321), melyek közül kettő utódnemzedékében (F₆) megjelentek a diszómás növények. A vizsgált 101105, 101103 és 101100 citológiai számú növények utódai már mind diszómásak voltak

A diszómás növényekben (7. ábra/a) a centrikus fúzió búza kromoszómakarjának FISH-sel történő azonosításához a pSc119.2, az Afa-family és a pTa71 próba kombinációját alkalmaztuk. Az 5D kivétel minden búzakromoszóma jelen volt a sejtekben (7. ábra/b, c). Az 5D kromoszóma rövid karja hiányzott, jellegzetes Afa-family mintázatot mutató hosszú karja azonban azonosítható volt a transzlokációban. A 4H kromoszóma két karjának FISH mintázata szimmetrikus, így ezzel a módszerrel nem lehetett megállapítani, hogy melyik kar kapcsolódott az 5DL kromoszómakarhoz.

Molekuláris markerekkel kimutattuk, hogy a transzlokáció árpa kromoszómakarja a 4HL. A két technika kombinálásával a transzlokációs vonalat 4HL.5DL vonalként azonosítottuk. A diszómás centrikus fúzió genetikailag stabil, a vizsgált növények utódaiba 100%-ban tovább öröklődött az összes kromoszóma.



7. ábra 4HL.5DL diszómás centrikus fúzió kimutatása GISH-sel és azonosítása FISH-sel **a.** A digoxigeninnel jelölt árpa genomi DNS az árpa kromoszómakarhoz hibridizálódott (rózsaszín), a búza kromoszómák kékek **b.** A centrikus fúzió FISH mintázata ugyanazon a sejten az Afa-family (piros), pSc119.2 (zöld) és pTa71 (sárga) próbakombinációval. A transzlokációs kromoszómákat nyilak jelölik. **c.** teljes 5D búzakromoszóma FISH kariotípusa. Skála: 10µm

A transzlokációs vonal morfológiai jellemzőit növénynevelő kamrában vizsgáltuk és az Mv9kr1 búzaszülőhöz illetve a 4H(4D) szubsztitúciós vonalhoz hasonlítottuk (7. táblázat).

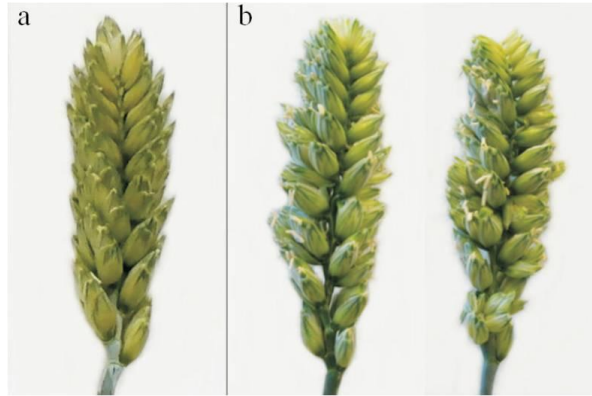
7. táblázat Növénynevelő kamrában nevelt Mv9kr1 búzagenotípus, a búza/árpa 4H(4D) szubsztitúciós vonal és a 4HL.5DL centrikus fúzió morfológiai jellemzői (Martonvásári fitotron, 2010)

Genotípus	Növény- magasság (cm)	Főkalász hossza (cm)	Kalász/ növény (db)	Kalászka/ főkalász (db)	Szem/ főkalász (db)
Mv9kr1	41,89 ± 7,93	8,78 ± 0,71	2,33 ± 0,50	19,44 ± 1,01	39,33 ± 5,20
4H(4D)	59,20 ± 3,56	4,40 ± 0,36	5,00 ± 1,00	12,77 ± 1,03	20,63 ± 3,81
4HL.5DL	38,83 ± 5,91 [†]	5,03 ± 0,41*	2,00 ± 1,26 [†]	15,78 ± 2,71* [†]	9,83 ± 7,47* [†]

*: Mv9kr1 búzához viszonyítva szignifikánsan különbözik a $P < 0,05$ szinten

[†]: 4H(4D) szubsztitúciós vonalhoz viszonyítva szignifikánsan különbözik a $P < 0,05$ szinten

A búza 5DL kromoszómakarjának transzlokációja az árpa 4HL karjára változásokat eredményezett a növénymorfológiában és fertilitásban. A 4H(4D) szubsztitúcióhoz képest szignifikánsan alacsonyabb növénymagasság, bokrosodás, kalászka/kalász és szem/kalász értékeket mértünk. Egyedül a kalászhossz nem tért el a 4H(4D) szubsztitúciótól, azonban az Mv9kr1-étől szignifikánsan rövidebb volt. A vonal jellegzetessége az extra kalászkákat hordozó kalásztípus (8. ábra).



8. ábra a. A Chinese Spring/Betzes/Mv9kr1 keresztezésből származó 4H(4D) szubsztitúció kalásza **b.** a 4HL.5DL transzlokációt hordozó vonal extra kalászkákat tartalmazó kalászai

4.2.3.1 'Chinese Spring' *ph1b* mutánsal létrehozott búza/árpa transzlokáció jellemzésének megvitatása

A 4H(4D) szubsztitúciós vonal *CSp_{h1b}* mutánsal történő keresztezésének eredményeképpen előfordulhatott valamely F_1 hibrid növényben, hogy a 4H és az 5D kromoszómák monoszómás állapotba kerültek. A duplán monoszómás genotípusokban (egy búza és egy idegen kromoszóma), a centrikus fúziók magas frekvenciával történő létrejöttét tapasztalta LUKASZEWSKI (1997). A centrikus fúzió létrejötte magyarázható a meiózis során fellépő kromoszómapárosodási rendellenességgel, vagy az univalensek centroméránál történő eltörésének következményeként is. Molekuláris citogenetikai technikával és SSR markerekkel azonosítottuk a centrikus fúziós vonalat 4HL.5DL-ként (KRUPPA et al. 2013a).

A 4HL.5DL transzlokáció nem kompenzáló jellegével, az 5DS búza-kromoszómakar hiányával, valamint a keresztezés által a vonalba bekerült 'Chinese Spring' kromoszómák jelenlétével magyarázhatók a vonal hátrányos morfológiai és termésadatai.

A 4HL és 5DL karokat hordozó centrikus fúziós vonal genetikailag stabil, mivel 42 kromoszómával rendelkezik, valamint morfológiai bélyegeiben és kalásztípusában nem tapasztaltunk szegregációt a vizsgált utódgenerációban. Ez a genetikai stabilitás alkalmassá teszi a vonalat arra, hogy a 4HL kromoszómakar búza genetikai háttérben kifejtett hatását tanulmányozzuk. Ezen a kromoszómakaron számos agronómiailag előnyös tulajdonságokért felelős gént azonosítottak, mint pl. a rubisco-aktiváz (*Rca*, BECKER és HEUN 1995), β -amiláz gén (KREIS et al. 1988), *Vrn-H2* lokusz (TAKAHASHI és YASUDA 1971), a szemek nyugalmi

periódusát szabályzó *Sd4* gén (OBERTHUR et al. 1995) és az alumínium toleranciáért felelős *Alp* gén (TANG et al. 1999). HANDLEY et al. (1994) a vízfelhasználás hatékonyságát befolyásoló géneket azonosított ezen a kromoszómakaron.

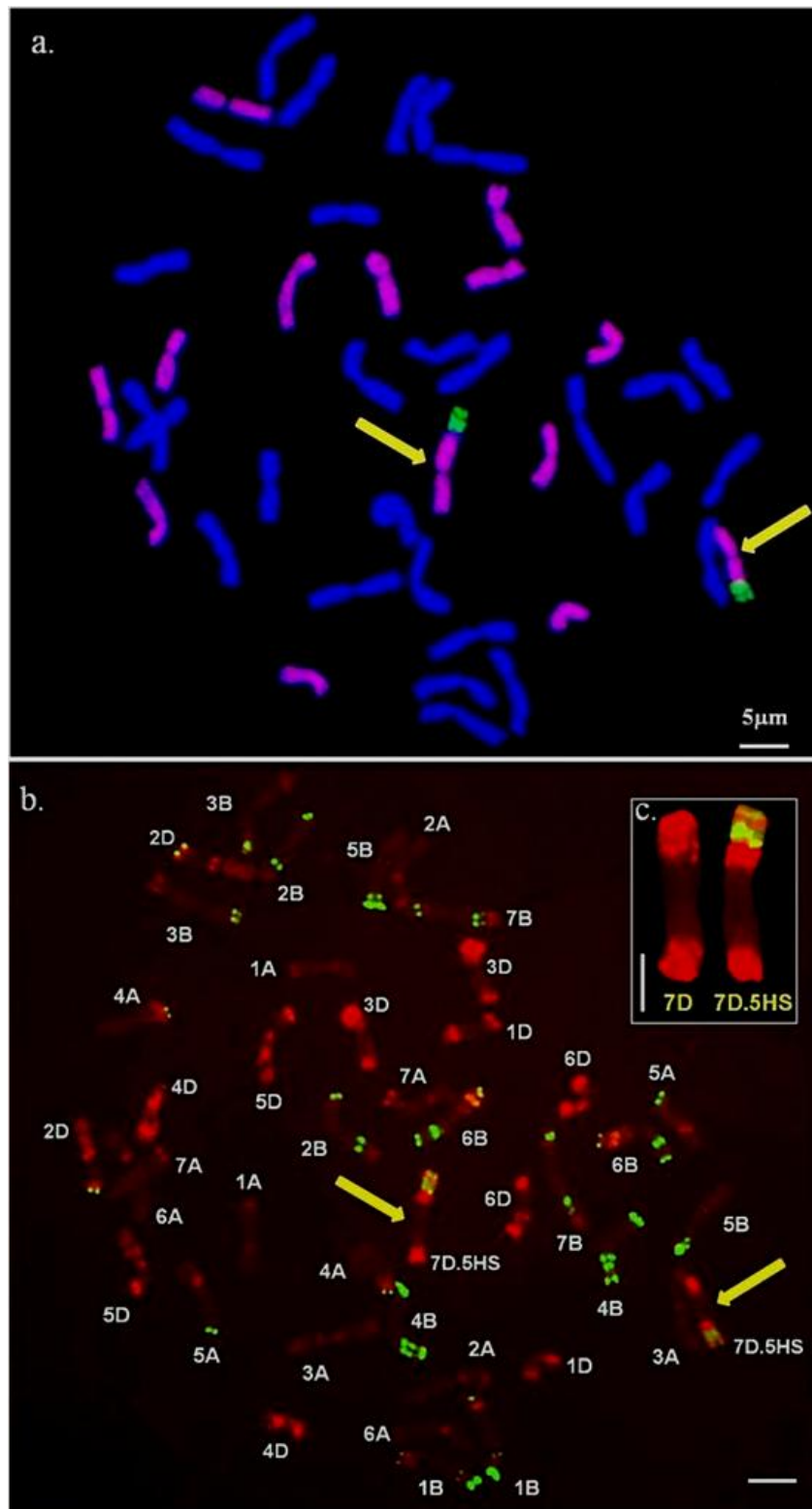
A számfeletti kalászkajellel nem növelte meg a kalásonkénti szemszámot, amihez a kalásban megfigyelt nagyszámú steril virág jelentősen hozzájárult. FRIEBE et al. (1999) a búza/*Aegilops geniculata* addíciós vonalak közül a 4M^e kromoszómát hordozó genotípusban szintén megfigyelte az extra kalászkákat hordozó kalásztípust és a felső kalászkák steril jellegét is leírta. A számfeletti kalászkajellel kialakulásának genetikai hátterében SUN et al. (2009) két domináns gén komplement hatását írta le az általa vizsgált 51885-ös búzavonalban.

4H és az 5D kromoszóma nem homeológ, amiből arra következtethetünk, hogy a 4HL.5DL transzlokáció nem a homeológ rekombinációkat indukáló *CSph1b* mutánssal történt keresztezés eredményeként jött létre, hanem spontán. A 3M^b kromoszómát hordozó búza/*Ae. biuncialis* addíciós vonalat *CSph1b* mutánssal keresztezve FARKAS et al. (2014) 3M.4B transzlokációt hordozó vonalat azonosított, mely szintén nem magyarázható homeológ rekombinációval.

A 4HL.5DL centrikus fúziós vonal keresztezési partnerként értékes génforrás lehet a jövőben a búzanemesítés számára.

4.2.4 Mv9kr1/'Igri' 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal jellemzése és a 7D kromoszóma fizikai térképezése

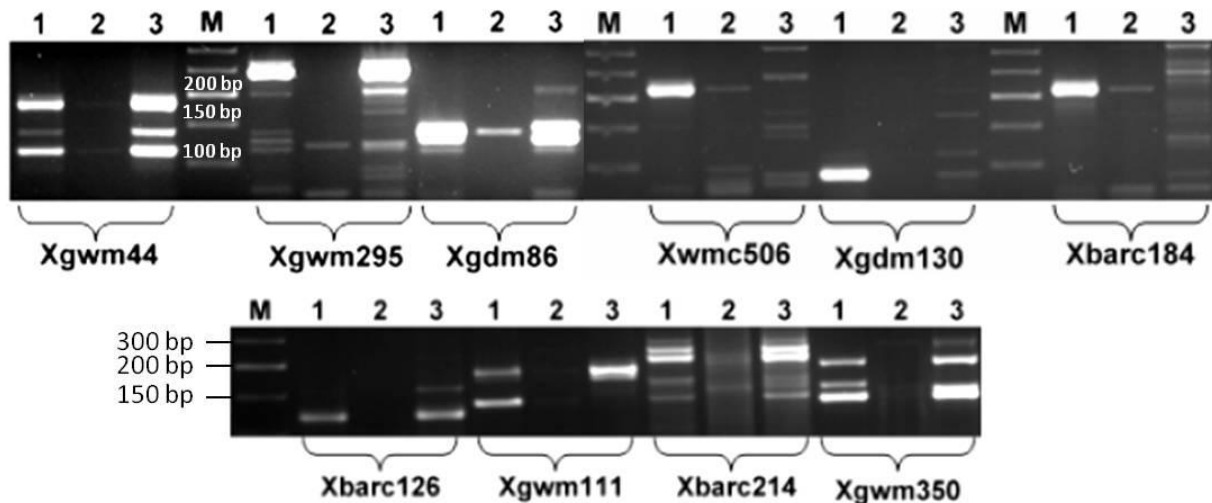
A Martonvásáron előállított és szövettenyészetben fenntartott Mv9kr1/'Igri' hibrid Mv9kr1-gyel történt többszöri visszakeresztezése után az utódok közül kiválogatott 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal részletes molekuláris citogenetikai jellemzését és a 7D kromoszóma SSR markerekkel történő fizikai térképezését végeztük el. Az mcGISH-hez digoxigeninnel jelölt *Aegilops tauschii* (D genom) és biotinnal jelölt teljes árpa genomi DNS-t használtunk, melyekkel a transzlokációs vonalban mind a 14 D-genomhoz tartozó kromoszómát sikerült detektálnunk. Az egyik kromoszómáron egy terminálisan elhelyezkedő, rövid, szatelittel rendelkező árpakromoszóma-szegmentumot mutattunk ki (9. ábra/a). Az Afa-family, a pSc119.2 és a pTa71 FISH próba kombinációjával azonosítottuk a búzakromoszómákat (9. ábra/b). A transzlokációs töréspont fizikai meghatározásához az Mv9kr1 búzagenotípuson is elvégeztük a FISH elemzést ugyanezekkel a próbákkal és a transzlokációban részt vevő 7D kromoszómaszakaszt összehasonlítottuk a teljes 7D kromoszómával (9. ábra/c).



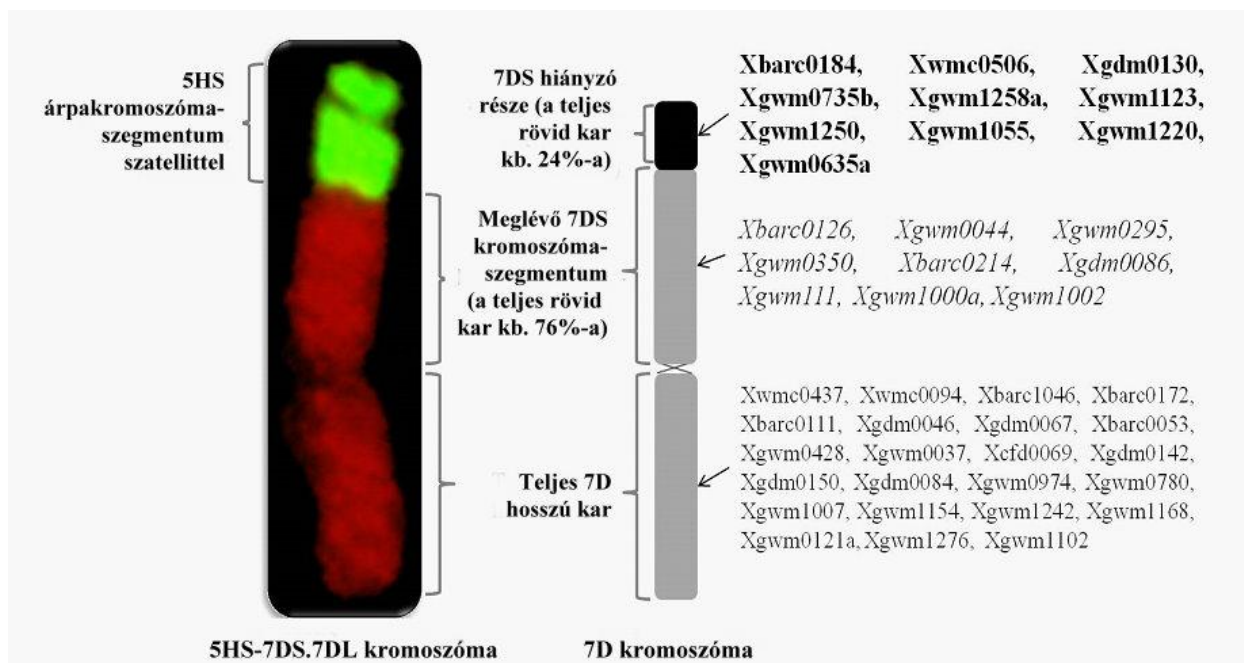
9. ábra Az Mv9kr1/'Igri' 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal mcGISH és FISH vizsgálata. **a.** *Aegilops tauschii* teljes genomi DNS-ével detektált 14 D genomhoz tartozó kromoszóma (rózsaszín), melyek közül az egyik párra árpa kromoszóma-szegmentum (zöld) épült át. Nyilak jelzik a transzlokációs kromoszómákat. Az A és B genomhoz tartozó kromoszómák nem jelölődtek (kék DAPI kontrasztfestés) **b.** Az Afa-family (piros), a pSc119.2 (zöld) és a pTa71 (sárga) DNS-szekvencia FISH hibridizációs mintázata ugyanazon a sejten. A transzlokációs kromoszómákat nyilak jelzik. Skála: 5 μ m **c.** A teljes 7D búza kromoszóma és a búza/árpa transzlokációs kromoszóma FISH mintázata. Skála: 5 μ m

A transzlokációs töréspont helyzetének meghatározására a 7D és a transzlokációs kromoszóma kararányainak meghatározására volt szükség. Vizsgálataink során 10-10 sejtben mértük a teljes és a transzlokációs 7D kromoszóma kararányait. Az Mv9kr1 7D kromoszóma rövid (fizikailag hosszabb) karjának hossza 108 ± 3 %-a a hosszú karnak. A transzlokációs kromoszómában a GISH alapján jól elkülöníthető volt a búza- és árpa-kromoszómaszakaszok határa. Így határoztuk meg, hogy a deléciós 7D rövid kar mérete 82 ± 2 %-a a hosszú karénak. Mivel a kar 76 ± 5 %-a maradt meg, a transzlokációs töréspont helyzete (FL) a 7D kromoszóma rövid karján: $0,76 \pm 0,05$.

Ennek ismeretében végeztünk fizikai térképezést a transzlokációs vonalon. Az általunk használt negyvenöt SSR marker közül negyvenegy volt alkalmas a transzlokációs kromoszóma jellemzésére. A vizsgált 7DL markerek mindegyike a várt fragmenthosszúságú terméket adta az Mv9kr1 búzatörzsben és az 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonalban is, ami a teljes 7DL kromoszómakar meglétét igazolja. Tíz marker (*Xbarc0184*, *Xwmc0506*, *Xgdm0130*, *Xgwm0735b*, *Xgwm1258a*, *Xgwm1123*, *Xgwm1250*, *Xgwm1055*, *Xgwm635a*, *Xgwm1220*) kivételével a 7DS-specifikus markerek PCR-termékei a transzlokációs vonalban is jelen voltak (10. ábra). A terméket nem amplifikáló markerek a 7D rövid kar terminális szakaszának hiányát jelzik. Az eredmények összesítését a 11. ábra szemlélteti.



10. ábra 7DS-specifikus SSR markerek agaróz gélelektroforézissel adott mintázata az Mv9kr1 búzatörzsön (1), az 'Igrí' árpán (2) és az 5HS-7DS.7DL vonalban (3). A transzlokációs vonalban az Xwmc506, az Xgdm130 és az Xbarc184 markerrel nem jelent meg a várt fragmenthosszúságú PCR termék. M: DNS létra



11. ábra Balra: Az 5HS-7DS.7DL transzlokációs kromoszóma mcGISH mintázata *Hordeum vulgare* (zöld) és *Aegilops tauschii* (piros) genomi DNS próbával. Jobbra: A 7D kromoszóma sematikus ábrája a hiányzó terminális szegmentummal (fekete), valamint a 7D-specifikus SSR markerek fizikai térképezésének eredményei

A tenyészkertünkben 2012-ben felnevelt szülői genotípusok és az 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal 10-10 növényének részletes feldolgozása során morfológiai megfigyeléseket végeztünk és elemeztük az egyes vonalak terméskeponenseit (8. táblázat). Az 5HS-7DS.7DL vonal szignifikánsan alacsonyabb (56,6 cm) volt mind a búza- (69,7 cm), mind az árpa-szülőpartnernél (62,2 cm). Kalásza az Mv9kr1 búzatörzsére hasonlít, azonban attól szignifikánsan rövidebb (12. ábra). Míg az Mv9kr1 főkalászának átlagos hossza 10,4 cm, addig a transzlokációs vonalé csak 8,1 cm.

8. táblázat Az Mv9kr1, az 'Igr1' és az 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal növénymagassága, főkalászhossza és termést meghatározó komponensei tíz-tíz növény részletes feldolgozása alapján (Martonvásár, tenyészkert 2012)

Genotípus	Növény- magasság (cm)	Főkalász hossza (cm)	Bokrosodás (kalász/növény) (db)	Kalászka/ főkalász (db)	Szem/ növény (db)	Szem/ főkalász (db)	Fertilitás (szem/kalászka) (db)
Mv9kr1	69,7	10,4	5,7	20,3	244,4	42,05	2,66
'Igr1'	62,2	8,3	8,9	25,3	187,9	21,11	1,02
5HS- 7DS.7DL	56,60*	8,10*	4,7	17,20*	113,40*	24,71*	2,01*

Megjegyzés *: Szignifikánsan különbözik az Mv9kr1 szülőpartnertől P<0,01 szinten



12. ábra Az Mv9kr1 búzagenotípus, az 'Igri' árpafajta és a keresztezésükből származó 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal méretarányos kalászfotója

A bokrosodás kivételével a többi terméskomponens (fertilitás, főkalászhossz, a kalásonkénti kalászkák száma, a főkalász szemszáma és a növényenkénti szemszám) értéke a transzlokációs vonalban szignifikánsan kisebb volt, mint a búzaszülőben. Kedvezőtlen tulajdonságai ellenére a genetikailag stabil, jó bokrosodóképességű és az 5HS kromoszómaszegmentumon agronómiailag jelentős géneket hordozó 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal értékes nemesítési alapanyagként szolgálhat.

4.2.4.1 Az 5HS-7DS.7DL vonal jellemzésének és a 7D kromoszóma fizikai térképezésének megvitatása

A vonal nagy jelentősége az 5HS kromoszómaszegmentum búza genetikai háttérbe történt stabil beépítése. A búza/árpa keresztezések utódaiból ez a kromoszóma eliminálódott a leggyakrabban. Erre jó példa KOBA et al. (1991) tavaszi búza/tavaszi árpa, valamint LINDELAURSEN és von BOTHMER (1988) *Hordeum lechleri/H. vulgare* utódok vizsgálata során tett megfigyeléseinek eredménye. Az 5H addíció volt a legkevésbé stabil a 'Chinese Spring'/'Betzes' addíciós vonalak között is (ISLAM et al. 1981). A *H. marinum* Huds./*H. vulgare* keresztezések során is az 5H kromoszóma gyors eliminációját figyelték meg (FINCH 1983). A Martonvásáron előállított 'Asakazekomugi'/'Manasz' és Mv9kr1/'Igri' addíciós vonalak előállításakor sem sikerült 5H vonalat kiválogatni a hibrid utódok közül (MOLNÁR-LÁNG et al. 2005, SZAKÁCS és MOLNÁR-LÁNG 2010, MOLNÁR-LÁNG et al. 2012). Az 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonalban nem egy teljes 5H kromoszóma, hanem csak a rövid kar egy darabja van jelen (D. NAGY et al. 2002). A vonal nagy előnye, hogy genetikailag stabil, így tanulmányozni lehet az 5HS kromoszómaszegmentum génjeinek kifejeződését a búza genetikai háttérben. A búza minőségét meghatározó egyik tulajdonság a szemkeménység, melynek szabályozói az 5DS

kromoszómán található *Ha* (hardness) lokusz puroindolin génjei. Ezek valójában nem a búzaszem keménységét, hanem a puhaságát határozzák meg (MATTERN et al. 1973, DAY et al. 1999). Az 5A és 5B kromoszómán is megtalálhatók, de nem fejeződnek ki, ezért keményebbek a D genommal nem rendelkező tetraploid durumbúzák. Az árpa puroindolin génekkel homológ hordindolin génjei szintén az 5-ös kromoszóma rövid karján lokalizáltak és búza genetikai háttérben csökkentik a szemkeménységet (YANAKA et al. 2011).

SOURDILLE et al. (2004) ENDO és GILL (1996) búza deléciós vonalait használta a 7D kromoszóma fizikai térképezéséhez. A 7DS kromoszóma gametocid rendszerrel végzett törését követően ENDO és GILL (1996) 6 deléciós vonalat azonosított 7DS-1, 7DS-2, 7DS-3, 7DS-4, 7DS-5 és 7DS-6 néven, ezek közül kettőt, a 7DS-4 és a 7DS-5 vonalat alkalmazták EST (QI et al. 2003) és SSR markerek (SOURDILLE et al. 2004) fizikai térképezésére. A 7DS-4 vonal deléciójának helyzete (FL) 0,61, a 7DS-5 vonalé 0,36. Az 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal egyik jelentősége az, hogy új határjelzőként szolgál a 7D kromoszóma fizikai térképezéshez, mivel a 0,76 FL töréspont a centromérától távolabb található, mint a térképezésekhez használt 7DS-4 deléciós vonal 0,61 FL helyzetű töréspontja.

A búza deléciós vonalak fontos szerepet játszanak a gének és markerek fizikai térképezésében. A 7-es homeológ kromoszómákon WERNER et al. (1992) RFLP markerek fizikai helyzetét határozta meg. Ugyanezen csoport genetikai és fizikai térképének összehasonlításáról számolt be HOHMANN et al. (1994). A 21 búzakromoszómát lefedő 84 deléciós vonal segítségével SOURDILLE et al. (2004) 725 mikroszatellit-marker fizikai térképét készítette el. Az SSR markerek más markerrendszerekhez (RFLP, AFLP) viszonyított előnye a magasabb szintű polimorfizmusa, és általában kodomináns öröklődése (RÖDER et al. 1995). A genetikai és fizikai térképeket összehasonlítva eltérések tapasztalhatók a markerek sorrendjében és a markerek közötti távolságban. A rekombinációs forrópontok jelenléte miatt (a telomérákhoz közeli, génekben gazdag régióban fordulnak elő gyakrabban) a genetikai térképek csak megbecsülni tudják a markerek pozícióját (GUSTAFSON et al. 1990, LUKASZEWSKI és CURTIS 1993). Különösen nehéz a markerek sorrendjét meghatározni a genetikai térképezés során, amikor nagy a markerek sűrűsége és nagyon kicsi a genetikai távolság (SOURDILLE et al. 2004).

Az 5HS-7DS.7DL vonal fizikai térképezésére használt markerek sorrendje jól egyezik SOMERS et al. (2004) genetikai térképével, kivéve az *Xgwm0350*-et, mely a genetikai térképen a legdisztálisabban helyezkedik el a 7DS kromoszómakaron. Vizsgálataink során ezt a markert az *Xbarc0184*, *Xwmc0506* és *Xgdm0130* markerhez képest a centromérához közelebb térképeztük (KRUPPA et al. 2013b). SOMERS et al. (2004) az *Xgwm044* és az *Xgwm0295* markert egymáshoz közelebbi kapcsoltsággal ábrázolta, az *Xgwm0635*-höz képest pedig

távolabb. Ezzel jó egyezést mutatnak eredményeink, mivel a két előbbi marker jelen volt, az utóbbi pedig hiányzott az 5HS-7DS.7DL vonalból.

Négy markert (*Xbarc0126*, *Xgwm0044*, *Xgwm0295*, *Xbarc0214*) korábban a 7DS terminális binre (FL 0,61-1,00) térképeztek (SOURDILLE et al. 2004), amelyek azonban jelen vannak a transzlokációs vonalunkban. Ennek alapján a négy marker fizikai helyzetét pontosítani tudtuk: a terminális bin-en az FL 0,61-0,76 között helyezkednek el. SPIELMEYER et al. (2005) az *Lr34* és az *Yr18* gént a 7DS terminális binen az *Xgwm1220*, *Xgwm0130* és *Xgwm0295* marker által közrefogott lokuszra térképezte. Ez a lokusz egybeesik korábban publikált levélrozsa és sárgarozsa QTL-ek helyzetével (SUENAGA et al. 2003, RAMBURAN et al. 2004, SCHNURBUSCH et al. 2004). Az *Xgwm1220* és az *Xgwm0130* lokuszok kimutatására alkalmas primerpárok nem amplifikáltak terméket az 5HS-7DS.7DL vonalon, de az *Xgwm0295* igen, mely alapján valószínűsíthető, hogy az *Lr34* és *Yr18* gén sem található meg teljes hosszában a transzlokációs kromoszómán. Ennek a három markernek a helyzetét is pontosítottuk, a korábban meghatározott FL 0,61-1,00 helyett az FL 0,76 körüli régióra térképeztük.

Az agronómiai tulajdonságok romlásának lehetséges oka az 5HS szegmentum jelenléte, a 7DS kromoszómakar kb. 24%-ának hiánya vagy mindkettő együttes hatása. Az eredmények, a 4HL.5DL transzlokációhoz hasonlóan, jól szemléltetik a nem kompenzáló típusú transzlokációk hátrányait.

4.2.5 Búza/árpa hibridizáció eredményeinek általános megvitatása

Az árpából búzába történő génátvitel nyomon követéséhez kidolgoztuk az árpakromoszómák kariotípusát FISH technikával. Három különböző fluorokróm kombinációjával jelölt DNS próbákkal a természetű árpafajták közötti kromoszómaszinten megnyilvánuló polimorfizmust vizsgáltunk. Azonosítottuk a különböző búza genomba beépült árpakromoszómákat vagy szegmentekeket GISH, FISH és SSR markert alkalmazó technikákkal. A búza kromoszómákat az Afa-family, pSc119.2 és pTa71 próbák kombinációjával határoztuk meg, melyhez korábbi munkák eredményeit használtuk fel (RAYBURN és GILL 1986, MUKAI et al. 1993, NAGAKI et al. 1995). Az árpa kromoszómák esetén a GAA, HvT01 és pTa71 próbák kombinációja biztosította az azonosítás sikerességét az egyes próbák hibridizációs mintázatát leíró publikációk ismeretében (SCHUBERT et al. 1998, GERLACH és BEDBROOK 1979, PEDERSEN et al. 1996). Munkánkat sokszor nehezítette, hogy a legtöbb esetben transzlokációs kromoszómát kellett elemeznünk, melynél a FISH mintázat alapján a kromoszómaszegment azonosítása nem volt lehetséges, ezért árpa kromoszómakar-specifikus SSR markereket hívtunk segítségül (MOLNÁR-LÁNG et al. 2012).

A búza/árpa 4H(4D) szubsztitúciós vonalban *CSph1b* mutánssal indukált transzlokációk előállítására törekedtünk, mely technika kivitelezésekor a SEARS (1977) által létrehozott mutáns genotípust alkalmaztunk pollenadó partnerként, és amelynek segítségével többen is sikeresen indukálták homeológ rekombináció létrejöttét (CEOLONI et al. 1992, LUKASZEWSKI 2000). Azonban esetünkben az utódok analízise során olyan genotípus jött létre (4HL.5DL), amelynek kialakulása nehezen magyarázható a homeológ rekombináció segítségével és a keresztezéshez használt *CSph1b* vonal genetikai instabilitását valószínűsíti, melyet FARKAS et al. (2014) is tapasztalt.

A mutációs nemesítésben számos esetben sikerrel alkalmazott besugárzásos technika alkalmazásával számos különböző búza/árpa transzlokációt azonosítottunk a 4H(4D) szubsztitúció ionizáló sugárzásnak kitett szemeiben, mely interspecifikus transzlokációk az utódokba a vizsgált egyedek esetén nem adódtak tovább. Besugárzással intergenerikus transzlokációkat hoztak létre FRIEBE et al. (1991), FORSBERG et al. (1998), és RIERALIZARAZU et al. (2000). SZAKÁCS et al. (2010) Mv9kr1/Igri búza/árpa addíciós vonalak besugárzásával szintén kimutattak az M_0 generációban számos transzlokációt, melyek eddig még nem publikált eredmények alapján az utódokba is továbbadódtak.

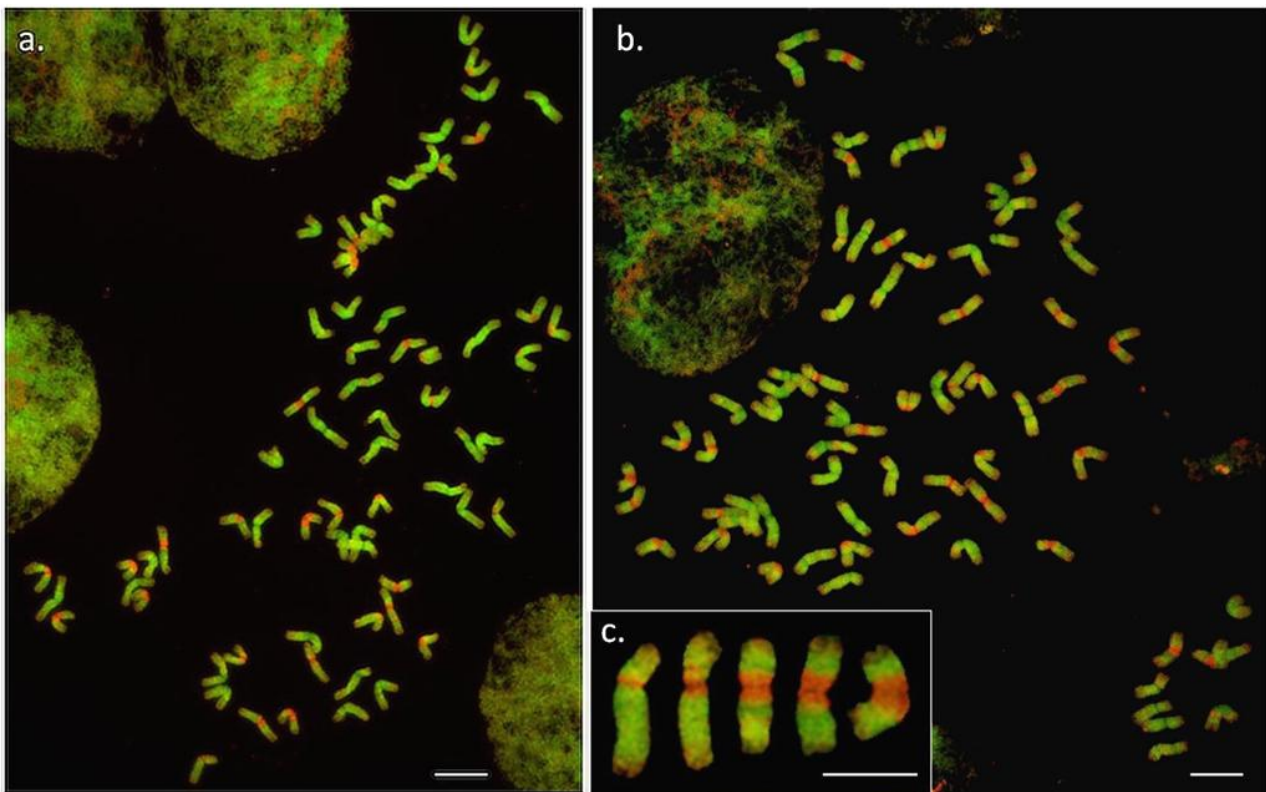
Az árpa eredetű 7H centroméra kimutatására irányuló munkában a HUDAKOVA et al. (2001) által leírt (AGGGAG)₄ DNS próbát alkalmaztuk a FISH során a 4BS.7HL transzlokációs vonalban. CSEH et al. (2011) publikálták a vonal búza szülőpartneréhez képest szignifikánsan emelkedett β -glükán tartalmát, melynek szintéziséért felelős egyik gént a 7H centroméra körüli régióra térképezték (BURTON et al. 2008). Az árpa centroméra kimutatása mellett a vonal részletes molekuláris citogenetikai jellemzését is elvégeztük.

A 7D kromoszóma rövid karjának SSR markerekkel történő fizikai térképezéséhez az 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonalat alkalmaztuk. A kutatócsoportunk által létrehozott vonal a szakirodalomból eddig ismert és fizikai térképezésre használt búza deléciós vonalakhoz képest új, a centromérától disztálisabban elhelyezhető fizikai törésponttal rendelkezik (FL $0,76 \pm 0,05$) (SOURDILLE et al. 2004, ENDO és GILL 1996). A fizikai térképezés mellett a vonalat mcGISH és FISH technikával jellemeztük. A búza/árpa hibridizációs során számos szakirodalom alapján az 5H kromoszóma eliminálódik leghamarabb (ISLAM et al. 1981, FINCH 1983, KOBAYASHI et al. 1991, MOLNÁR-LÁNG et al. 2005, SZAKÁCS és MOLNÁR-LÁNG 2010, MOLNÁR-LÁNG et al. 2012), így jelentős eredmény a könnyen eliminálódó 5H kromoszóma egy szegmentumának búza genetikai háttérbe történő stabil beépítése.

4.3 *Thinopyrum ponticum* és *Th. intermedium* kromoszómák mcGISH analízise

4.3.1. *Thinopyrum ponticum*

Az *Agropyron glael* kromoszómáinak búza genetikai háttérben történő detektálásához először az *A. glael* szülőpartnerein alkalmaztuk az mcGISH technikát. A *Th. ponticum* ($2n=10x=70$, JJJJJJStJStJStJSt) kromoszómák kimutatása biotinnal jelölt J és digoxigeninnel jelölt St genomi DNS-sel történt. A 70 kromoszómás vonalakban (PI531737 és D-3494 - Argentína, VIR-44486 - Oroszország) kétféle kromoszómamintázatot detektáltunk (13. ábra). A J genomi DNS-sel élénkzöld, a teloméránál hibridizációs jelet nem mutató kromoszómákat J genomhoz tartozó kromoszómaként, a centroméra körüli régióiban St genomi DNS-sel pirosan jelölődő, egyébként a J genommal megegyező mintázatú kromoszómákat JSt kromoszómaként azonosítottuk.



13. ábra A 70 kromoszómát hordozó *Thinopyrum ponticum* (JJJJJJStJStJStJSt) génbanki tételek mcGISH mintázata biotinilált *Th. bessarabicum* (J genom, zöld) és digoxigeninnel jelölt *Ps. spicata* (St genom, piros) DNS hibridizálása után. A J kromoszómák zöldek, a JSt kromoszómák a centroméránál St genomi DNS-sel pirosan, a többi szakaszon J genomi DNS-sel zölden jelölődtek **a.** A 40 J + 30 JSt genomösszetételű *Th. ponticum* (VIR-44486) kariotípusa **b.** A 38 J és 32 JSt kromoszómát tartalmazó *Th. ponticum* (D-3494) kariotípusa **c.** Különböző mértékben St genomi DNS-sel hibridizálódott JSt kromoszómák. Skála: 10μm

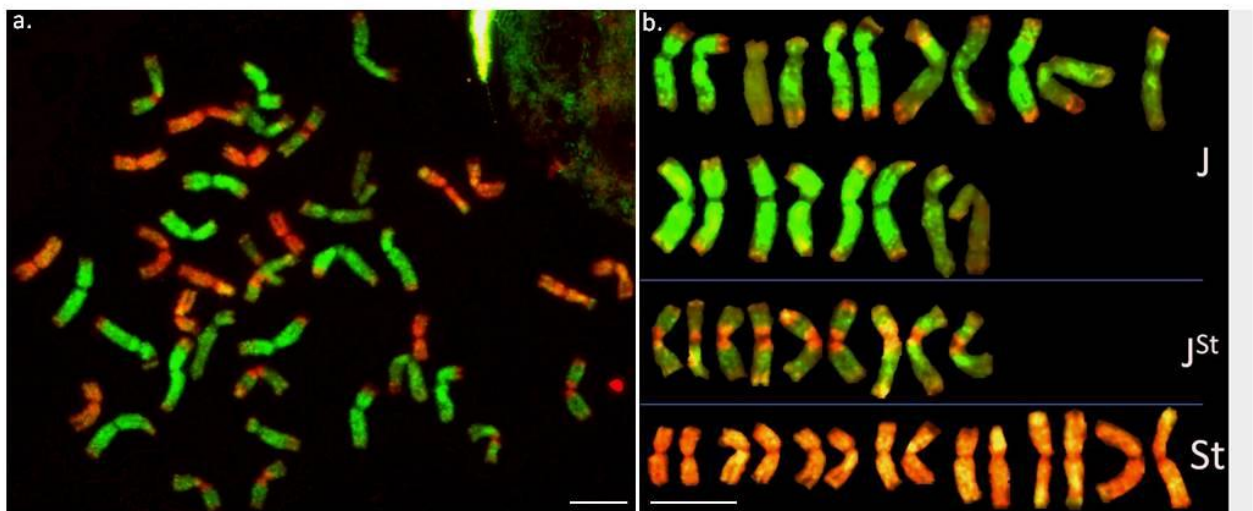
Az egyes genomokhoz tartozó kromoszómák száma nem egységes a vizsgált genotípusokban. 43 J + 27 JSt (PI531737), 40 J + 30 JSt (VIR-44486) és 38 J + 32 JSt (D-3494) genomösszetételt figyeltünk meg (13. ábra). A *Th. ponticum* genomjelölése (JJJJJJStJStJStJSt)

alapján várható 42 J + 28 JSt kromoszómaösszetételt egy esetben sem detektáltunk, azonban a tapasztalt eltérések nem voltak olyan mértékűek, hogy zavarták volna a fajszintű azonosítást.

4.3.2. *Thinopyrum intermedium*

A *Th. ponticum* fajnál alkalmazott próbákat használtuk a *Th. intermedium* ($2n=6x=42$, JJStSt?) mai napig nem teljesen tisztázott genomösszetételének mcGISH-sel történő elemzéséhez is. Kiindulásként a CHEN et al. (1998) által javasolt JJsS formulához igazodtunk. (A *Pseudoroegneria* S genomját az *Aegilops* fajok S genomjától való megkülönböztetésként St-nek jelöljük, a régebbi irodalmakban találkozhatunk az S jelöléssel.) Ez a faj a *Th. ponticum*fajtól eltérően St genomot is tartalmaz, mely a *Pseudoroegneria* fajokra jellemző, és csak néhány *Thinopyrum* fajban (*Th. gentryi*, *Th. nodosum*, *Th. intermedium*) található meg.

Az mcGISH-t követően a pirosan jelölődött St kromoszómák jól elkülöníthetők voltak a JSt (zöld + piros) és J (zöld) kromoszómáktól (14. ábra). Általában a méretük is kisebb volt, mint a J és JSt genomhoz tartozó kromoszómáké. A hibridizációs jel intenzitása nem volt egységes. A JSt kromoszómák J genomja kevésbé fluoreszkált, mint a J kromoszómák többsége. Az általunk vizsgált *Th. intermedium* vonalban (PI565004) 19 J, 9 JSt és 14 St kromoszómát tudtunk megkülönböztetni (9.táblázat).

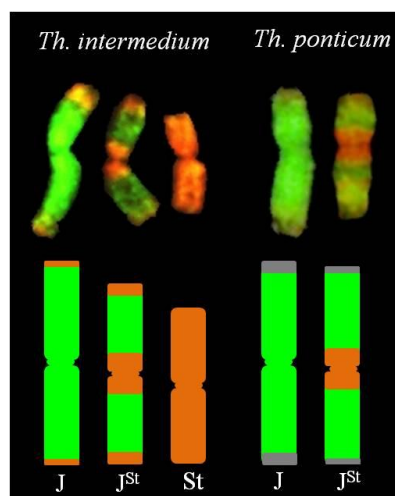


14. ábra A 42 kromoszómát hordozó *Thinopyrum intermedium* (PI565004) mcGISH mintázata biotinizált *Th. bessarabicum* (J genom, zöld) és digoxigeninnel jelölt *Ps. spicata* (St genom, piros) DNS próba egyidejű hibridizálásával **a.** A *Th. intermedium* kariotípusa **b.** A *Th. intermedium* kromoszómakészletének kariogramja. Skála: 10 μ m

9. táblázat Különböző eredetű *Th. intermedium* genotípusok kromoszómaszáma, eredete, génbanki száma és a kromoszómák genomonkénti eloszlása a publikáció megnevezésével

2n	<i>Th. intermedium</i> génbanki szám, fajta, eredet	Kromoszómák száma			Leíró
		J	J St	St	
42	PI565004 Oroszország	19	9	14	ez a tanulmány
42	'Chef', 'Clarke', USA	20	8	14	CHEN et al. (1998)
41	PI249145, Portugália	18	10	13	CHEN et al. (1998)
49	Y. Cauderon, Franciaó.	18	10	21	CHEN et al. (1998)
42	PI317406, Afganisztán	18	10	14	CHEN et al. (1998)
42	P1547333, Kína	21	7	14	CHEN et al. (1998)
42	Kína	21	7	14	TANG S et al. (2000)
42	PI 469214 USA, PI 578698 Oroszország, Z 1141 Kanada		28	14	DA-YAONG et al. (2004)

A *Th. intermedium* és a *Th. ponticum* kromoszómáit összehasonlítva jól látható különbség, hogy a *Th. ponticum* JSt kromoszómáiban az St genom csak a centroméra körüli régióban mutatható ki, míg a *Th. intermedium* J és JSt kromoszómáihoz terminális pozícióban is hibridizálódik az St genomi próba (15. ábra).



15. ábra A *Thinopyrum intermedium* (J, JSt, St) és a *Th. ponticum* (J, JSt) genomjait reprezentáló kromoszómatípusok mcGISH technika eredményével készült kariogramja *Thinopyrum bessarabicum* (zöld) és *Pseudoroegneria spicata* (piros) DNS próbák alkalmazásával (fent), és a kariogram alapján készült ideogramja (lent)

4.3.3 A *Thinopyrum ponticum* és a *Thinopyrum intermedium* genomelemzésének megvitatása

A *Thinopyrum* fajok, nemesítési alapanyagként történő széleskörű felhasználásuknak köszönhetően, gyakran kerültek a citogenetikusok érdeklődésének középpontjába. Kezdetben a meiózis vizsgálatok (DVOŘÁK 1981, MURAMATSU 1990), majd a részletes kariotípus elemzés (HSIAO et al. 1986) és a Giemsa sávozási technika szolgált információval a

genomösszetétel vizsgálatában (FRIEBE et al. 1992b). A *Th. ponticum* fajon végzett genomi *in situ* hibridizációs vizsgálatról CHEN et al. (1998) számolt be először. Az E (*Th. elongatum*), a J (*Th. bessarabicum*) és az St (*Ps. strigosa*) genomot eltérő kombinációkban használta próbaként, illetve blokkolóként. A J és E genomot megkülönböztethetetlennek írta le. A *Th. ponticum* 70 kromoszómája közül sikerült 28-ban kimutatnia az St genom jelenlétét. A centroméra körüli régió St genommal történt erős jelölődése alapján CHEN et al. (1998) JJJJ^S-re változtatta a MURAMATSU (1990) és WANG et al. (1991) által javasolt JJJJ formulát. A későbbiekben búza/*Th. ponticum* részleges amfiploidok vizsgálatával mutattak ki *Th. ponticum* kromoszómákat (ZHANG et al. 1996, FEDAK et al. 2001). McGISH technikát SEPSI et al. (2008), GEORGIEVA et al. (2011) és ZHENG et al. (2014) alkalmazott búza/*Th. ponticum* utódvonalak jellemzésére. Csak a fajt érintő multicolour GISH vizsgálatot a jelen disszertáció kivételével még nem publikáltak.

A *Th. ponticum* kromoszómák mcGISH-sel nem detektálható telomérás régiója elvileg jelezheti egy harmadik, eddig nem ismert genom jelenlétét, de erre vonatkozó megfigyelésekről nem számoltak be a szakirodalomban. Valószínűbb, hogy a poliploidizációs folyamatok eredményeként az evolúciósan leggyorsabban változó szubtelomérás kromoszómarégióban (BROUN et al. 1992) olyan mértékben megváltozott DNS-szakaszok alakultak ki az új fajban, melyek a diploid ősök DNS-ével már nem képesek hibridizációra a GISH során.

A *Th. intermedium* szegmentális auto-allohexaploid természetét DEWEY (1962) írta le először. DVOŘÁK (1981) a fajban két nagyon hasonló, E genomhoz közeli és egy harmadik, akkor még ismeretlen eredetű genom jelenlétére utalt. LÖVE (1984) a fajt az *Elytrigia* genusba sorolta, ahol vizsgálatai alapján a poliploid fajokban 3 különböző genom található: J, E és S, amelyek nagyon hasonlóak a *Thinopyrum*, a *Lophopyrum* és a *Pseudoroegneria* genomjaihoz. A J és E genomot DEWEY (1984) azonosnak tekintette. A *Pseudoroegneria* genommal való kapcsolatot LIU és WANG (1993) megerősítette és a J^bJ^sS jelölést javasolta. Az 1990-es évektől a genomi *in situ* hibridizációs technika lehetővé tette a lehetséges ősök azonosítását a *Th. intermedium* fajban. CHEN et al. (1998) GISH vizsgálata három jól elkülöníthető genom jelenlétét igazolja (J, Js és S). A J genomot *Th. elongatum* és *Th. bessarabicum* fajhoz közelinek, a Js genomot S genomi szekvenciával gazdagított *Th. elongatum/Th. bessarabicum* genomnak, az S genomot *Ps. strigosa* eredetűnek vélte. Az általunk alkalmazott mcGISH technika során is ezeket a fajokat használtuk a kromoszómák kimutatására vonatkozóan.

A 14J + 14JSt + 14St genomformulától eltérő kromoszómaösszetételt több *Th. intermedium* vonalban is leírták (9. táblázat). A J és JSt kromoszómák együttes száma minden esetben 28 volt (de nem 14+14), és a J kromoszómák voltak többségben, gyakran páratlanul. A 42

kromoszómaszámú genotípusokban 14 St kromoszómát mutattak ki. Ahol ez a szám eltért, ott az összkromoszómaszám is ugyanannyival változott. A J és JSt kromoszómák aránya miatt a CHEN et al. (1998) által javasolt JJ^S formula nem írja le megfelelően a faj genomösszetételét.

A 9. táblázatban 2004-es az utolsó forrás, mivel a későbbiekben a genomkompozíció említése nélkül, evolúciós vizsgálatok alapján új elméletekkel álltak elő a *Th. intermedium* kialakulására. Első nagy újításnak KISHII et al. (2005) munkáját tekinthetjük, akik GISH vizsgálataik alapján úgy vélték, hogy a *Dasypyrum* (V genom) is része lehet a *Th. intermedium* genomnak és még néhány potenciális progenitor azonosításra vár. MAHELKA et al. (2011) a faj keletkezésének bonyolultabb kialakulására utal, mint amire az allohexaploiditásból következtetnénk. Kloroplasztisz *trnL-F* szekvenciák vizsgálatával *Pseudoroegneria* fajt azonosítottak legvalószínűbb anyaként, mellyel *Elymus* és *Pascopyrum* fajokkal mutat hasonlóságot. Sejtmagi GBSSI (keményítőszemcséhez kötődő keményítő szintetáz I) szekvenciák elemzésével és mcGISH technikával távoli kapcsolatot igazoltak a *Pseudoroegneria*, a *Dasypyrum*, a *Taeniatherum*, az *Aegilops* és a *Thinopyrum* genus elődeivel. A hexaploid faj két genomját *Pseudoroegneria* (előzőleg St-nek jeölt) és *Dasypyrum* (előzőleg JSt-nek jelölt) genushoz közelinek írták le és ezzel igazolták KISHII et al. (2005) elméletét. A harmadik genomot nem tudták azonosítani, de felvetették annak *Thinopyrum/Aegilops* hibrid eredetét. Későbbi publikációjukban (MAHELKA et al. 2013) 5S riboszómális RNS szekvencia vizsgálatokkal igazolták *Aegilops* genomok fajképződésben betöltött részvételét. WANG és LU et al. (2014) összefoglaló cikkében a *Th. intermedium* genomösszetételéről eddig ismert eredményeket hasonlította össze. Véleményük szerint a JSt genom nem egyezik meg a V (*Dasypyrum*) genommal, amire DNS tartalom és kariotípus analízisek eredményei alapján következtetett. A V specifikus szekvenciák *Th. intermedium* fajban kimutatható jelenlétének legvalószínűbb magyarázata, hogy a JSt genom progenitora a V genomból származó repetitív szekvenciákkal rendelkezett. E feltételezés a kenyérbúza evolúciójához hasonló fajkeletkezés lehetőségét veti fel. Genomjai közül a JSt genom tér el legnagyobb mértékben a mai J genomtól (mint a búza B genom az *Ae. speltoides* S genomjához hasonlóan). Legkevésbé az St genom különbözik a mai *Ps. spicata* genomjától (hasonlóan a búza D genom és *Aegilops tauschii* kapcsolatához).

A különböző *Th. intermedium* vonalak között nagymértékű heterogenitást tapasztaltak a genetikai anyag mennyiségében (VOGEL et al. 1999, BENNETT et al. 2000). Ennek az lehet az oka, hogy az idegentermékenyülő, évelő faj más *Triticeae* fajokkal, köztük fűfélékkel és a búzával is képes kereszteződni, így a beépülő fajidegen DNS szekvenciák számottevően gyarapíthatják a *Th. intermedium* genetikai alapanyagát. GALE és DEVOS (1998) valamint SORRELS et al. (2003) szerint a gabonafélék fajképződése során egyes kromoszómák

változatlanok maradnak, míg mások jelentős szerkezeti változásokon mennek át. Az egyes vonalak változatos genomösszetételét tekintve ez a megállapítás fokozottan igaz lehet erre a fajra.

A kutatási eredmények alaposan felborították a *Th. intermedium* fajról alkotott eddigi összképet, viszont magyarázatot adhatnak pl. a mcGISH elemzés során tapasztalt intenzitásbeli különbségekre. Munkánkat ez annyiban befolyásolhatja, hogy mivel ezt a fajt nem teljesen azok a genomok alkotják, amelyeket a hibridizáció során alkalmaztunk, próbáink nem alkalmasak a *Th. intermedium* genomjainak pontos azonosítására. Ugyanakkor kiválóan megfelelnek az eltérő genomokhoz tartozó kromoszómák kimutatására és ezáltal a *Th. intermedium* és *Th. ponticum* fajtól származó kromoszómák detektálására a búza/*A. glael* hibrid utódnemzedékeiben.

4.4 Búza/*Agropyron glael* keresztezésből származó utódok jellemzése

4.4.1 Mv9kr1/*A. glael* BC₁ nemzedékének öntermékenyített utódai

4.4.1.1 Morfológiai és rezisztencia-megfigyelések

Az Mv9kr1/*A. glael* F₁ hibrideket a molekuláris citogenetika csoport tagjai 2004-ben visszakeresztették a 'Chinese Spring' búzafajtaival. A BC₁ növény 62 kromoszómát tartalmazott, ami a teljes búzagenom mellett 10 pár idegen kromoszóma jelenlétét feltételezi. A tenyészkertben 2013-ban vizsgált vonalak a BC₁ növény nyolcadik öntermékenyített nemzedékei. A genetikai hasadás következtében morfológiailag jelentős különbségeket tapasztaltunk a genotípusok közt (16. ábra).

A genotípusok jelentős részét az Mv9kr1 szülőnél hosszabb és vékonyabb, kihegyesedő kalásztípus jellemezte. A pelyvalevelek az *A. glael* szülőhöz hasonlóan kemények, nehezebben csépelhetők. Egyes genotípusok kalászain rövid szálcacsonkok találhatóak, de a vonalak nagy része tar. A növények színe sötétzöld vagy kékes hamvaszöld, egyes genotípusoké a visszakeresztetéshez használt 'Chinese Spring' búzához hasonló sárgászöld. Az egyes genotípusok még nem stabilak, a parcellákon belül több esetben hasadást figyeltünk meg. A búza/*A. glael* utódvonalak a búzához képest lassabban fejlődtek, 10-15 nappal később kalásztak és virágoztak, ami a további visszakeresztést is nehezítette. Fertilitási problémák is előfordultak. A virágzást követően a növények sokáig zöldek maradtak, lassabban értek, ezeket a búzánál két héttel később lehetett aratni és még ekkor is láttunk a töveken zöld sarjkalászokat. A növények jellemzően magasabbak voltak az Mv9kr1 búzapartnernél (organikus körülmények között 2014-ben: Mv9kr1: 90-100 cm, BC₁ a búza/*A. glael* utódok: 95-115 cm) de találtunk törpe (55-60 cm), és nagyon magas, könnyen megdőlő, 'Chinese Spring'-hez hasonló genotípusokat is (kb. 120-130 cm). Az érett szemek a búzáétól sötétebbek, kisebbek, néha aszottak.



16. ábra Az Mv9kr1/*A. glael* keresztezésből származó utódok kalásza nyolc éven át tartó öntermékenyítést követően (kombináció: Mv9kr1/*A. glael*/Chinese Spring/8, parcellaszám: 226-245/2013, tenyészkert). Az ábra bal oldalán a szülő Mv9kr1 és az *A. glael*-re nagyon hasonlító *Thinopyrum* sp. méretarányos kalászképe látható

Az utóbbi öt év (2010-2014) spontán levélrozsa fertőzöttségének megfigyeléseit a 10. táblázatban foglaltuk össze.

Az Mv9kr1/*A. glael* utódvonalak kiváló levélrozsa rezisztenciával rendelkeztek. Az Mv9kr1 minden évben jelentős fertőzödést szenvedett (Stakman-skála, 4-es típus, M4 melléklet) (17. ábra/a), kivéve a 2012-es évet, amikor az időjárás nem kedvezett a kórokozók terjedésének. Levélrozsa- fertőzödést 2014-ben nem tapasztaltunk, a többi évben jellemzően rezisztensek voltak az utódvonalak (17. ábra/b), kivéve a 195, 197, 210 és 215 genotípus egyes években tapasztalt enyhe fertőzödését. A 2014. évben súlyos sárgarozsa-fertőzödés jellemezte az egész régiót, az Mv9kr1 és a 'Chinese Spring' szülői genotípus igen intenzíven megbetegedett (4-es típus) (17. ábra/c). A búza /*A. glael* utódok többsége e kórokozóval sem fertőződött (17. ábra/d; a

205-ös, 206-os és 210-es parcella állománya volt fogékony, a többi rezisztens). A legígéretesebb utódvonalakat az elmúlt 3 évben a Kalászos Gabona Nemesítési Osztály tenyészkertjeiben is elvetettük, ahol a jobb tápanyagellátásnak és agrotechnikának köszönhetően a növények jobban bokrosodtak, magasabbra nőttek, nagyobb kalászokkal rendelkeztek és fertilisebbek lettek, mint az osztályunk organikus tenyészkertjében.

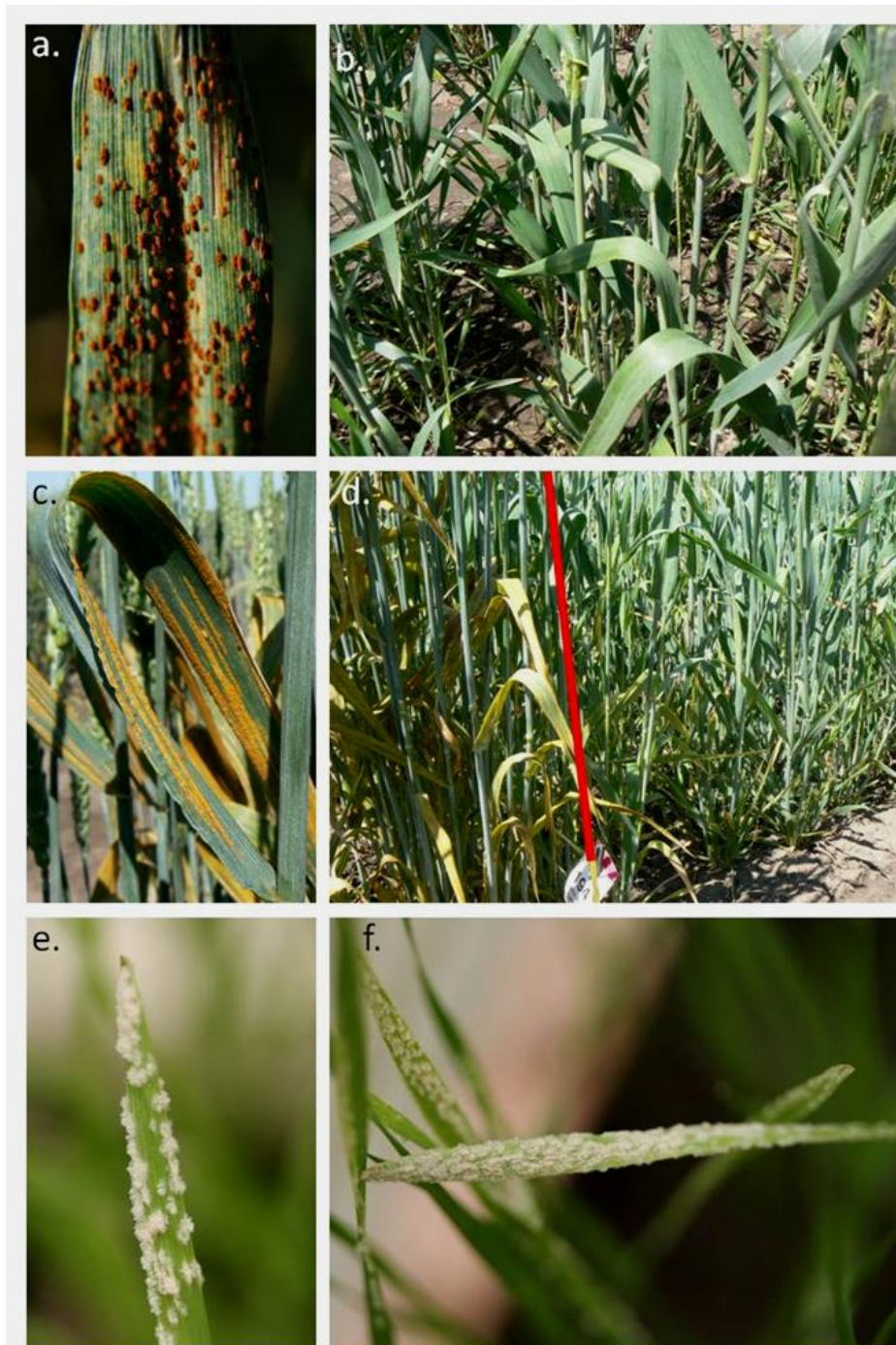
10. táblázat Az Mv9kr1/*Agropyron glael* utódvonalak martonvásári tenyészkertben 5 éven át megfigyelt rozsdafertőzöttsége (LR: levélrozsa, YR: sárgarozsa) és jellegzetes tulajdonságai (levélszőrőzöttség, levélszín). 0: nincs fertőződés; 4: erős fertőződés

Parcellaszám (2014, Tükrös)	Tenyészkertben megfigyelt jellegzetességek és a rozsdafertőzöttség mértéke (0-4)				
	2010	2011	2012*	2013	2014
194	0	0	0	0	0, szőrözött
195	0	0	0	LR:1	0, széles, kékeszöld, szőrözött
196	0	0	0, törpe	0	0, törpe, szőrözött
197	0	0	0, sok steril	LR:1	0, szőrözött
198	0	0	0	0	0, szőrözött
199	0	0	0	0	0, szőrözött
200	0	0	0	0	0, szőrözött
201	0	0	0	0	0, szőrözött
202	0	0, sárgul	0	0	0, sárgul, nem szőrözött
203	0	0, sok steril	0	0	0, sárgul, szőrözött
204	0	0, sárgul	0	0	0, sárgul, szőrözött
205	0	0, törékeny	0, sárgul	0, steril, sárgul	YR: 2, sárgul, szőrözött
206	0	0, sárgul	0, sárgul	0, sárgul	YR: 1, sárgul, szőrözött
207	0	0	0	0, sárgul	sárgul, szőrözött
208	0	0	sárga	0	sárgul, fekete pöttyök, szőrözött
209	0	0, sötét, hamvas	0, hamvas	0, kékeszöld	0, kékeszöld, szőrözött
210	LR:1	0	0, hamvas	0	YR: 2
211	0	0	0	0	0
213	0	0	0, hamvas	0	0
214	0	0	0	0	0
215	LR:1	0	0	0	0
Mv9kr1	LR:4	LR: 4	2	LR: 4	YR:4
'Chinese Spring'	1	0	0	LR:1 YR:1	YR:4

*2012-ben nem volt jelentős spontán rozsdafertőződés a tenyészkertben

Az egyéb tulajdonságok alapján is ígéretesnek tűnő vonalakat mesterséges lisztharmat-fertőzésnek vetettük alá három ismétlésben. Minden vizsgált genotípus fogékonyak (4-es típus) bizonyult. A 196-os parcellaszámú törpe genotípus növényein mindhárom ismétlésben csak a levelek felső harmadán jelent meg a betegség, a levél alsóbb részein nem. A vizsgált 194, 195, 197 és 198 parcellaszámú vonal a szülőpartnerekkel együtt a levelek teljes felületén fertőződött

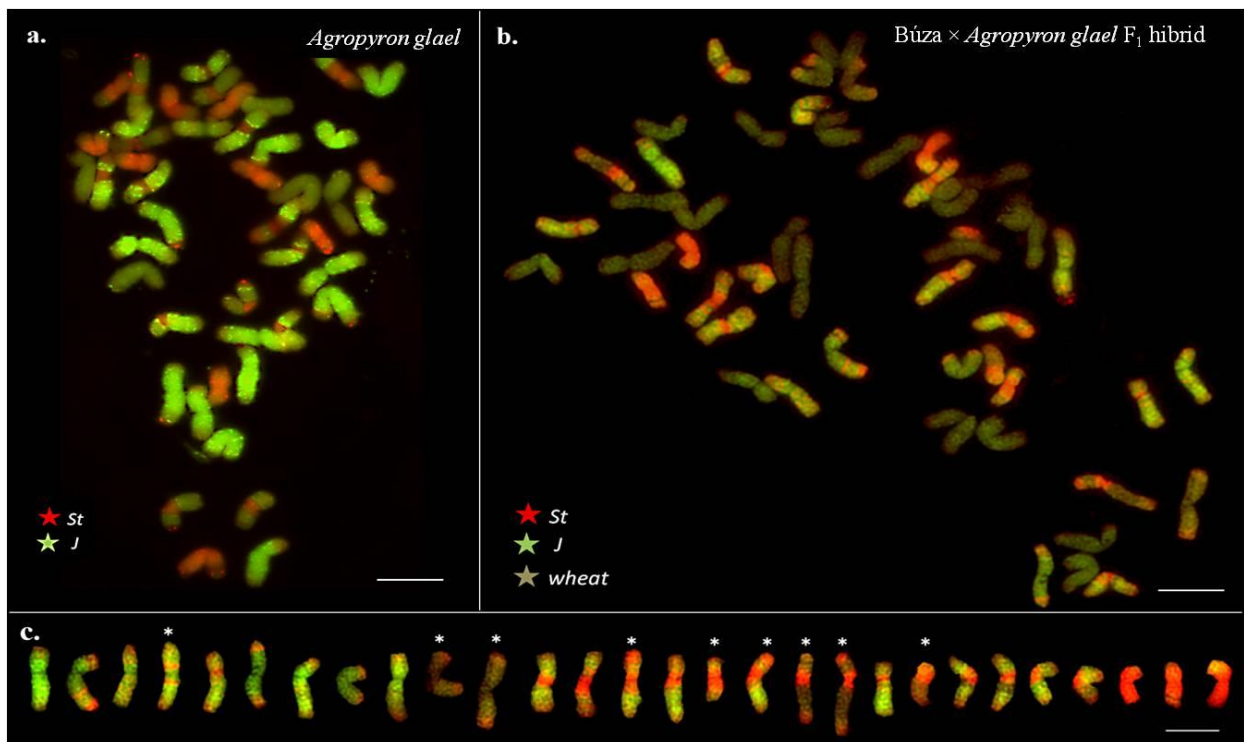
(17. ábra/e, f). Az Mv9kr1/*A. glael* hibrid utódvonalai tehát kiváló génforrások lehetnek a búza levéltet- és sárgarozsda-rezisztenciájának növelésében, de lisztharmat-rezisztencia átvitelére nem alkalmasak.



17. ábra Az Mv9kr1 (a,c,e) és az Mv9kr1/*Agropyron glael* utódvonalak (b, d, f) levéltet-, sárgarozsda- és lisztharmat-fertőződése **a.** Levéltettel fertőződött Mv9kr1 **b.** Levéltettel szemben rezisztens Mv9kr1/*A. glael* utódvonal (195/2014) **c.** Sárgarozsdával fertőződött Mv9kr1 **d.** Sárgarozsdával fertőződött búza (piros vonaltól balra) és rezisztens Mv9kr1/*A. glael* utódvonal (piros vonaltól jobbra) (194/2014) **e.** Lisztharmattal mesterségesen fertőzött búza **f.** Lisztharmatra fogékony Mv9kr1/*A. glael* utódvonal

4.4.1.2 Molekuláris citogenetikai vizsgálatok eredményei

Az Mv9kr1/*A. glael* utódvonalak idegen kromoszómaszámának meghatározásához és genom szintű azonosításához a *Th. ponticum* és *Th. intermedium* fajra is alkalmazott mcGISH protokolt használtuk azzal a változtatással, hogy a búzakromoszómák blokkolásához jelöletlen búza genomi DNS-t is használtunk. Ezekon a vonalakon korábban nem végeztek genomi *in situ* hibridizációt, ezért a próba DNS:blokkoló DNS arányt és a próba DNS-ek mennyiségét optimalizálni kellett. Az *A. glael* egy sejtjének részletét, a búza/*A. glael* F₁ hibridet és a hibridben előforduló *A. glael* kromoszómák kariogramját a 18. ábrán mutatjuk be. Az utódvonalakban is ezek a kromoszómatípusok várhatók. Több esetben talákoztunk egyik szülőpartnernél sem tapasztalt mintázattal. Genomok közötti átrendeződéseket és egyik genommal sem jelölődő hosszú DNS-szakaszokat detektáltunk, amelyek elsősorban a JSt kromoszómákat érintették.



18. ábra a. *Agropyron glael* kromoszómakészlete (részlet) a *Thinopyrum bessarabicum* (J genom, zöld) és a *Pseudoroegneria spicata* (St genom, piros) DNS próbákkal végzett multicolour genomi *in situ* hibridizáció (mcGISH) eredményeként **b.** Az Mv9kr1/*A. glael* F₁ hibrid kromoszómáinak mcGISH mintázata *Th. bessarabicum* (J, zöld) és *Ps. spicata* (St, piros) genomi DNS próbák és búza blokkoló DNS (BBAADD) egyidejű alkalmazásával **c.** Az Mv9kr1/*Agropyron glael* F₁ hibridben kimutatott *A. glael* kromoszómák mcGISH alapján készített kariogramja. A hibridizációs mintázat a *Thinopyrum bessarabicum* (JJ - zöld) és *Pseudoroegneria spicata* (StSt - piros) genomi DNS hibridizálásának eredménye. A csillaggal jelzett kromoszómák sem a *Th. intermedium*, sem a *Th. ponticum* fajban (az *A. glael* szülőpartnerei) nem fordultak elő. skála: 10 µm

A 62 kromoszómás BC₁ növény öntermékenyített utódai között változatos kromoszómaszámú és genomösszetételű genotípusokat figyeltünk meg. A búzagenom mellett J

és St genomhoz tartozó kromoszómákat is kimutattunk az 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 60, 61 és 62 kromoszómaszámú növényekben (11. táblázat). Ezek közül néhány példát a 19. ábrán mutatunk be. A citológiai vizsgált növényeket minden esetben egyedi azonosítóval, citológiai számmal láttuk el és felneveltük, az aratás után a szemeket génbanki tárolóban megőriztük. A vonalak többségét tenyészkerti körülmények között is felszaporítottuk.

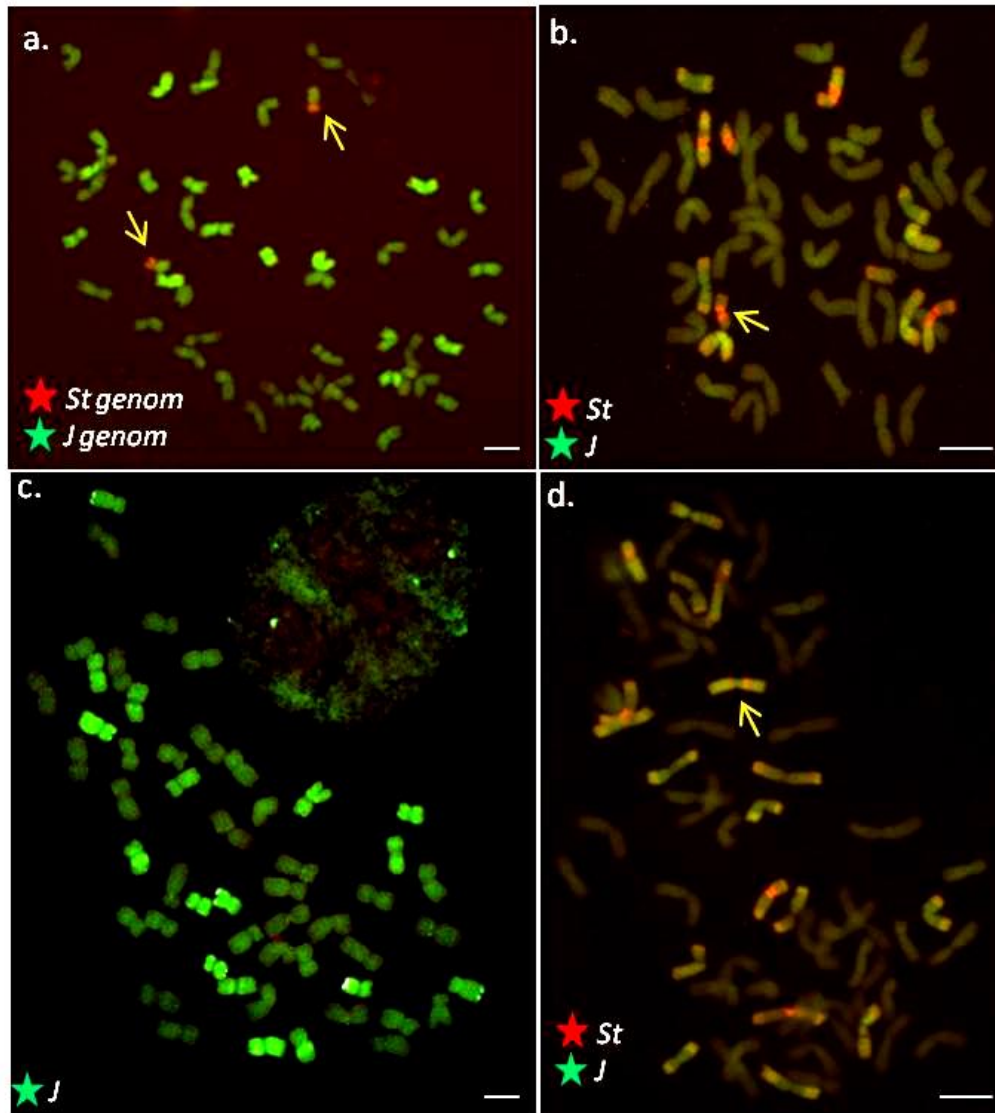
11. táblázat Az Mv9kr₁/Agropyron glael keresztezésből származó különböző genomösszetételű utódvonalak citológiai száma, kombinációja, kromoszómaszáma és az idegen kromoszómák száma a genomok megnevezésével. CS: 'Chinese Spring', Ag: *A. glael*, CF: centrikus fúzió, 2-8: kétszer-nyolcszor öntermékenyített, r. amfi: részleges amfiploid

Citológiai szám*	Kombináció	Kr.szám	Idegen kromoszómák száma
09559	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/2	51	9 Ag
09560	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/2	58	18 Ag
09565	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/2	53	13 Ag
09567	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/2	60	17 Ag
09569	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/2	54	16 Ag
091033	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/2	54	12 Ag: 7 J + 5 J St
10128	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/3	61	19 Ag: 14 J + 5 J St
10147, 10148, 10150	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/5	62	22 Ag: 18 J + 4 J St
12389, 12390	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/5	54	16 Ag: 14 J + 2 St
12407, 12408, 12409	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/5	56	17 Ag: 15 J + 2 St
122297, 122298, 122300, 122301	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/5	56	12 Ag: 2 búza/St CF
122314	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/5	52	14 Ag: 10 J + 4 búza/St CF
122704-122707	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/8	56	14 Ag: 2 búza/St CF
13627	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/8	56	14 Ag
13632, 13633	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/8	58	14 J + J St , 2 St, 2 J St telocentrikus kr.
13636	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/8	54	14 Ag: 2 St, 5 J St
13662	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/8	56	2 St, 10 J, J St /búza CF
132954	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/8	58	r. amfi 18 Ag: 8 J, 2 J St , 8 St
132956	Mv9kr ₁ /A. glael/CS/8	56	r. amfi 14 Ag: 4 St, 10 J,

*:Citológiai szám: első két számjegye a csíráztatás éve, a többi számjegye a növény sorszáma az adott évben, pl 09559: 2009-ben az 559. csíráztatott szem.

A 2-8 öntermékenyítésen átesett utódnövények genomösszetétele változatos képet mutatott. Az 51-62 kromoszómaszámú növényekben 12-22 az idegen kromoszómák száma, egy esetben detektáltunk 9 idegen kromoszómát. Több vonalból az St genom eliminálódott, máshol intergenomi átrendeződéseket tapasztaltunk búza-St és J-St genomok között (19. ábra). Az

idegen kromoszómák száma a többszöri öntermékenyítés után sem csökkent. A 132954 és 132956 citológiai számú növényeket részleges amfiploidként azonosítottuk, melyek elemzését a következő fejezetekben részletezzük.

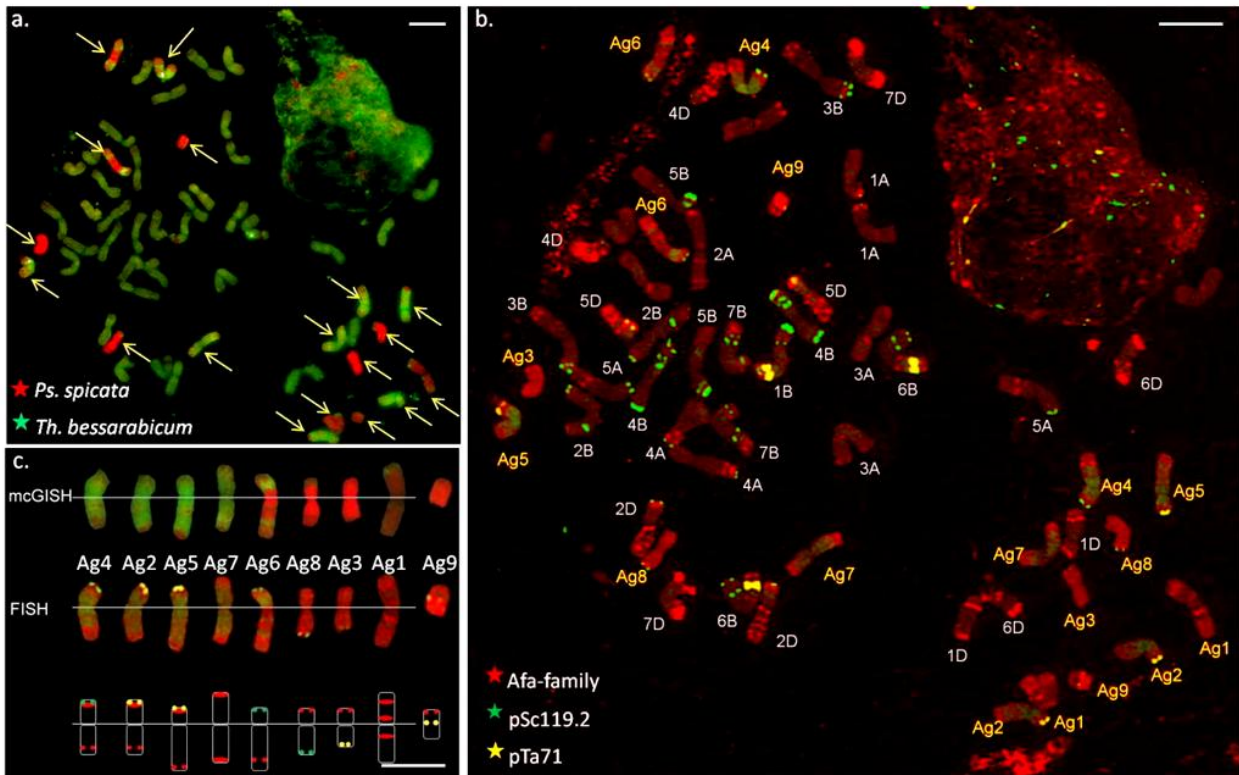


19. ábra Eltérő kromoszómaszámú Mv9kr1/*Agropyron glael* utódvonalak GISH, illetve mcGISH kariotípusa *Thinopyrum bessarabicum* (a-d) és *Pseudoroegneria spicata* (a,b,d) teljes genomi DNS próbával **a.** 56 kromoszómás vonal J és St genom közötti centrikus fúzióval (nyilak) (citológiaszám:122707) **b.** 54 kromoszómás utódvonal *Thinopyrum* szülői kromoszómákétól eltérő hibridizációs mintázattal (nyíl) (091033) **c.** 63 kromoszómás genotípus GISH elemzése J genomi próbával (09565) **d.** 61 kromoszómás utódvonal J/St átrendeződéssel amely a *Thinopyrum* szülői kromoszómákétól eltérő (nyíl) (10128). Skála: 10 μ m

4.4.1.3 Részleges amfiploid: levélrozsdá- és sárgarozsdá rezisztens vonal

A molekuláris citogenetikai vizsgálatok során az Mv9kr1/*A. glael* hibrid Chinese Spring búzával egyszerűen visszakeresztelt, majd öntermékenyített utódvonalai között 56 egész + 2 telocentrikus kromoszómát hordozó részleges amfiploidokat detektáltunk. A martonvásári tenyészkertben 2012-ben elvetett 226-os számú parcella (194/2014) számos növényében ugyanezt a kromoszómaösszetételt figyeltük meg, így megállapítottuk, hogy ez a részleges

amfiploid genetikailag stabil. Ebben a vonalban 9 pár *Agropyron* (melyből 1 pár telocentrikus) és 20 pár búzákromoszómát mutattunk ki mcGISH-sel. A próba DNS:blokkoló DNS nem megfelelő aránya miatt enyhe hibridizációt tapasztaltunk az egyik búza genom kromoszómáin, melyet a FISH azonosítás után D genomként azonosítottunk. Igazoltuk, hogy a 18 *Agropyron* kromoszóma közül négy pár (köztük az 1 pár telocentrikus) az általunk St-ként detektált genomhoz tartozik (20. ábra), mely csak a *Th. intermedium* fajból származhat (Ag1, Ag3, Ag8, Ag9).

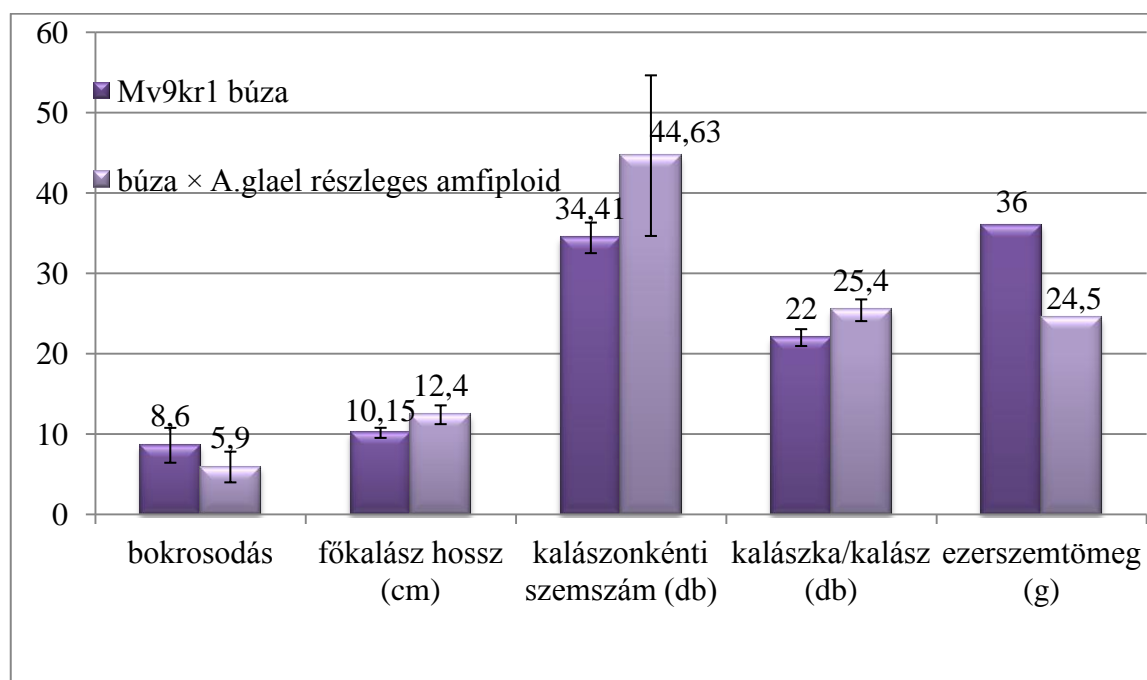


20. ábra a. Búza/*Agropyron glael* utódok közül kiválogatott részleges amfiploid vonal mcGISH mintázata a *Thinopyrum bessarabicum* (J genom) és *Pseudoroegneria spicata* (St genom) hibridizációja során. Az idegen kromoszómákat nyilak jelzik. **b.** A részleges amfiploid vonal FISH kariotípusa a pSc119.2, Afa-family és pTa71 próbák kombinációjával. A DNS próbák színjelölését a képeken tüntettük fel. **c.** Az mcGISH és a FISH mintázat alapján készített *A. glael* kromoszómák kariogramja és ideogramja. Skála: 10 μ m

A vonalban négy pár J (Ag2, Ag4, Ag5, Ag7). és egy pár JSt (Ag6) kromoszómát is kimutattunk. Utóbbiban a centroméra körüli régiók az St genommal, a disztálisabb szakaszok a J genommal hibridizálódtak, a terminális régiók pedig egyik genom DNS-sel sem jelölődtek. Ilyen típusú kromoszómák a *Th. intermedium* és a *Th. ponticum* fajra is jellemzőek, azonban a kromoszómák terminális részéről hiányzó hibridizációs jel miatt ezek a *Th. ponticum* fajtól származhatnak. A centroméra körüli régióban detektált nagy kiterjedésű, St genommal jelölődött kromoszómaszegmentumot korábban egyik *Thinopyrum* fajnál sem mutattuk ki.

Az mcGISH alapján 1 pár búzakromoszóma hiányzott az amfiploid vonalból. A búzakromoszómák azonosításához használt próbakombinációval (Afa-family, pSc119.2, pTa71) elvégzett FISH és kariotípuselemzés alapján a 3D kromoszómapár hiányát állapítottuk meg. (20. ábra/b) Az *Agropyron* kromoszómákat FISH mintázatuk és morfológiájuk alapján párokba rendeztük és beszámoltuk (Ag1-Ag9). Az mcGISH és FISH hibridizációs mintázat összehasonlításához a kromoszómák kariogramját és idiogramját is elkészítettük (20. ábra/c).

A vonalon morfológiai paramétereket is mértünk, melyeket az Mv9kr1 búza genotípussal hasonlítottunk össze (21. ábra). A főkalászhossz, a kalásonkénti szemszám és a kalásonkénti kalászkaszám értéke a búza szülőhöz képest szignifikánsan nagyobb volt a $P < 0,05$ szignifikancia szinten. Bokrosodás tekintetében a részleges amfiploid vonal elmaradt az Mv9kr1-től. A növénymagasságban nem volt szignifikáns eltérés (Mv9kr1: $99,00 \pm 3,77$ cm, részleges amfiploid: $100,60 \pm 6,82$ cm). Az Mv9kr1 ezerszemtömege 36 g, az amfiploidé 24,5 g volt. Az eltérést az magyarázza, hogy a részleges amfiploid szemei sokkal kisebb méretűek.



21. ábra Az Mv9kr1 búzagenotípus és az 58 kromoszómás Mv9kr1/*Agropyron glael* részleges amfiploid bokrosodásának, főkalászhosszának, kalásonkénti szemszámának, kalásonkénti kalászkaszámának és ezerszemtömegének összehasonlítása a szórás jelölésével 10-10 növény részleges feldolgozása alapján (Martonvásár, 2014)

A vonal kalásza a búzához hasonlóan tömött, azonban attól hosszabb, ami valószínűleg az *Agropyron* kromoszómák hatásának köszönhető (22. ábra/a-b). Tenyészkerti megfigyeléseink szerint a részleges amfiploid vonal levélrozsdával és sárgarozsdával szemben rezisztens volt. A vonal a 2014. évi szokatlanul erős sárgarozsda járvány során sem fertőződött, a növényeken a betegség semmilyen jelét nem tapasztaltuk (22. ábra/c). A molekuláris markerekkel végzett

ellenőrzés során a tesztelt *Lr19*, *Lr24*, *Lr29* és *Sr24* rezisztenciagénekkel kapcsolt markerek közül egyik sem amplifikálódott a 194. parcellaszámú részleges amfiploid növényekben.



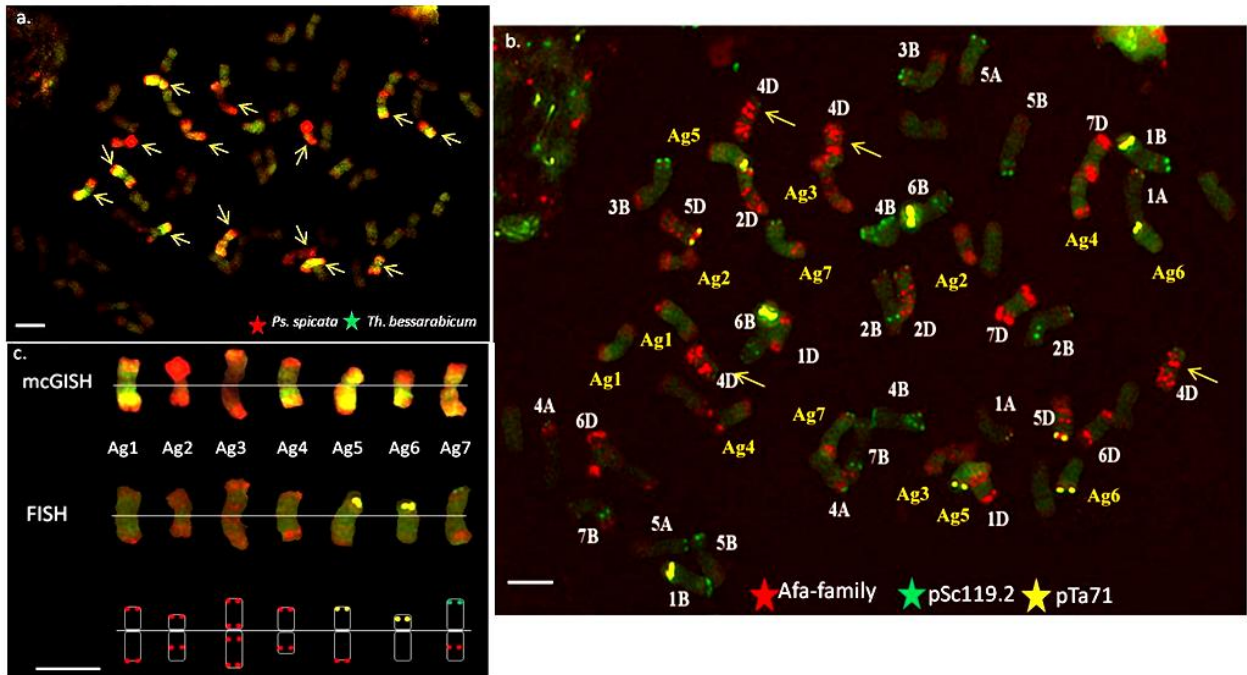
22. ábra a. Az Mv9kr1/*Agropyron glael* keresztezésből származó részleges amfiploid vonal májusban készült kalászfotója (2014, tenyészkert) **b.** Aratás után készült kalászfotó és a vonal egy kalászából kicsépelt szemek. Skála: 1cm **c.** Az Mv9kr1 és a 'Chinese Spring' búzagenotípus 2014 májusában fotózott, sárgarozsdával fertőződött, valamint a rezisztens részleges amfiploid vonal egészséges levele

4.4.1.4 56 kromoszómás részleges amfiploid nulli-tetraszómás vonal

A 2012-ben elvetett 424-es parcellaszámú növények (kombináció: Mv9kr₁/A. glael/ CS/8) szemei között 56 kromoszómával rendelkező utódokat azonosítottunk mcGISH-sel és ugyanilyen kromoszómaszámú növényeket találtunk a 227/2013 parcella állományában. A növények sejtmagjában mcGISH-sel 14 *Agropyron* és 42 búzakromoszóma jelenlétét mutattuk ki (23. ábra/a). Ugyanazon a sejten FISH-t is végeztünk (23. ábra/b). Ezzel a technikával két pár St és öt pár J genomhoz hasonló *Agropyron* kromoszómát detektáltunk, de hibridizációs mintázatuk sajátos jellegeket mutatott. Az Ag2, Ag6 és Ag7 rövid karján igen intenzív St genomi hibridizáció volt megfigyelhető (23. ábra/c), az Ag1, Ag5 és Ag6 hosszú karjához pedig mindkét genomi DNS azonos helyen hibridizálódott. Az Ag3 kromoszómán nagyon gyenge volt az St próba fluoreszcens jelének intenzitása. A 42 búzakromoszóma FISH elemzésekor a hibridizációs mintázat alapján 2 pár 4D kromoszómát azonosítottunk (23. ábra/b nyilak), azonban a 3D kromoszómapár (az előző amfiploidhoz hasonlóan) hiányzott. Ennek megfelelően az 56 kromoszómás részleges amfiploid egy 3D nulli-4D tetraszómás (N3DT4D) vonal.

A 2014-ben 195-ös parcellaszámmal elvetett részleges amfiploid vonal, több évi megfigyelés alapján, ellenáll a levélrozsdá- és sárgarozsdá fertőzésnek. Levelei nagy felületűek,

igen szélesek, kékeszöld színűek és erősen szőrözöttek (24. ábra). Kalásza a 194. parcella részleges amfiploidjához képest hosszabbak és keskenyebbek.

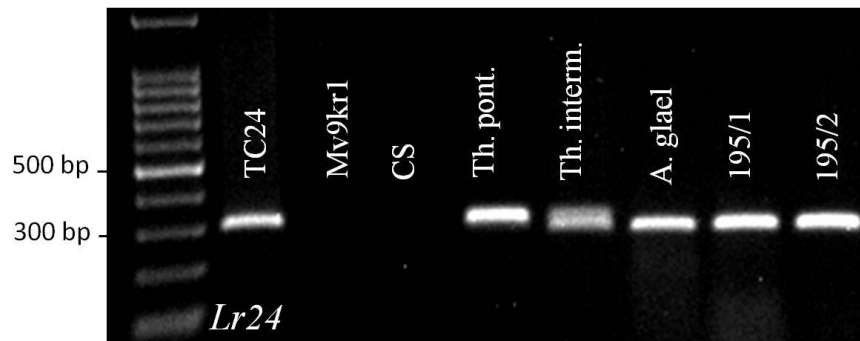


23. ábra Az Mv9kr1/*Agropyron glael* hibrid utódgenerációiból kiválogatott 56 kromoszómás részleges amfiploid vonal molekuláris citogenetikai elemzése **a.** McGISH kariotípus *Pseudoroegneria spicata* (piros) és *Thinopyrum bessarabicum* (zöld) genomi DNS próbával. A sárga fluoreszcens jel a két DNS próba (piros + zöld) azonos kromoszómaszakaszhoz történt hibridizációjának a következménye. A 14 db idegen kromoszómát nyilak jelzik **b.** Ugyanazon a sejten végzett FISH analízis a búzakromoszómák azonosításához használt repetitív DNS próbákkal **c.** Az mcGISH és a FISH kariotípus alapján készített kario- és ideogram. Skála: 10µm



24. ábra a. Az Mv9kr1/*Agropyron glael* keresztezésből származó 56 kromoszómás részleges amfiploid vonal hosszú, vékony kalásza **b.** amfiploid egészséges (sárgarozsda-fertőzésnek ellenálló), széles levelei **c.** kinagyított levélrészlet levélszőrökkel. Martonvásár, 2014

A molekuláris markerekkel végzett ellenőrzés során a tesztelt *Lr19*, *Lr24*, *Lr29* és *Sr24* rezisztenciagénekkel kapcsolt markerek közül az *Lr24* esetleges jelenlétére utaló fragmentet detektáltunk a részleges amfiploid növényekben J09-STS markerrel. A kb. 310 bp hosszúságú fragment a pozitív kontroll TC24-ben, a *Th. ponticum*-ban, a *Th. intermedium*-ban és az *A. glael*-ben is jelent volt (25. ábra).



25. ábra Az *Lr24* rezisztenciagénnel kapcsolt J09-STS marker agaróz gélelektroforézis mintázata a TC24 pozitív kontroll búza genotípuson, az Mv9kr1 és 'Chinese Spring' (CS) búzákon, a *Thinopyrum ponticum*, *Thinopyrum intermedium* tarackbúza fajokon és azok hibridjén (*Agropyron glael*), valamint az Mv9kr1/*A. glael* hibrid utódból kiválogatott 195. parcellaszámú részleges amfiploidon (195/1, 195/2). Az Mv9kr1 és a 'Chinese Spring' kivételével a J09-STS marker esetén minden vizsgált genotípusban megjelent a várt fragmenthosszúságú PCR termék

A kiválogatott részleges amfiploidok esetleges élelő jellegét nem vizsgáltuk, de a növények habitusa sokkal inkább búzaszerű, mint az élelő *Thinopyrum* fajokéhoz hasonló. A 2011. évben végeztünk arra vonatkozó megfigyelést, hogy a 2010 nyarán nagyon jól bokrosodó, későn kalászó és virágzó BC₁ vonalak áttelelnek-e, de a növények nem maradtak életben.

A bemutatott részleges amfiploid vonalak (mint keresztezési partnerek) kiváló génforrásként szolgálhatnak a búzafajták levél-és sárgarozsda rezisztenciájának növelésére.

4.4.2 Az Mv9kr1/*Agropyron glael* BC₂ nemzedékének öntermékenyített utódai

A BC₂ növényeket 2005-ben hozták létre, előállításához az Mv9kr1 búzagenotípust használták beporzóként (kombináció: Mv9kr1/*A. glael*/Chinese Spring/3/Mv9kr1. A 2006. évtől kezdve a martonvásári tenyészkertben végeztünk öntermékenyítéseket. A BC₁ nemzedékből származó utódokkal ellentétben ezek a vonalak elvesztették kiváló rezisztenciájukat és az Mv9kr1 szülőpartnerhez hasonlóan erősen fertőződtek levélrozsdával (4-es bonitálási érték) a szántóföldi kísérletek éveiben. A kalászok morfológiája a redukálódott idegen kromoszómaszámnak köszönhetően inkább a búza szülőpartnerekre hasonlított (26. ábra). A levélrozsdával és egyéb betegségekkel fertőződő, könnyen megdőlő ('Chinese Spring' jellegű) genotípusokat 2013-ban és 2014-ben már nem vetettük el.



26. ábra Az Mv9kr1/*Agropyron glael* keresztezésből származó BC₂ utódvonalak kalászhai (2010, Tükrösi tenyészker, Martonvásár)

A levélrozsdá-rezisztencia BC₁ eredetű vonalokból BC₂ utódokba történő átviteléhez és az idegen kromoszómák számának csökkentéséhez új keresztezéseket végeztünk az Mv9kr1 genotípussal és az 'Mv Karizma' martonvásári járó típusú búzafajtával. Az 'Mv Karizma' választásának elsődleges oka az volt, hogy tavaszi vetésű növényei egyszerre virágoztak az anyavonalakkal. Lisztharmattal szemben az ellenállóbb fajták közé tartozik, azonban levélrozsdával az átlagosnál erősebben fertőződhet, így az *A. glael*-ből származó levélrozsdá-rezisztencia kifejeződése könnyen nyomon követhető volt az utódokban.

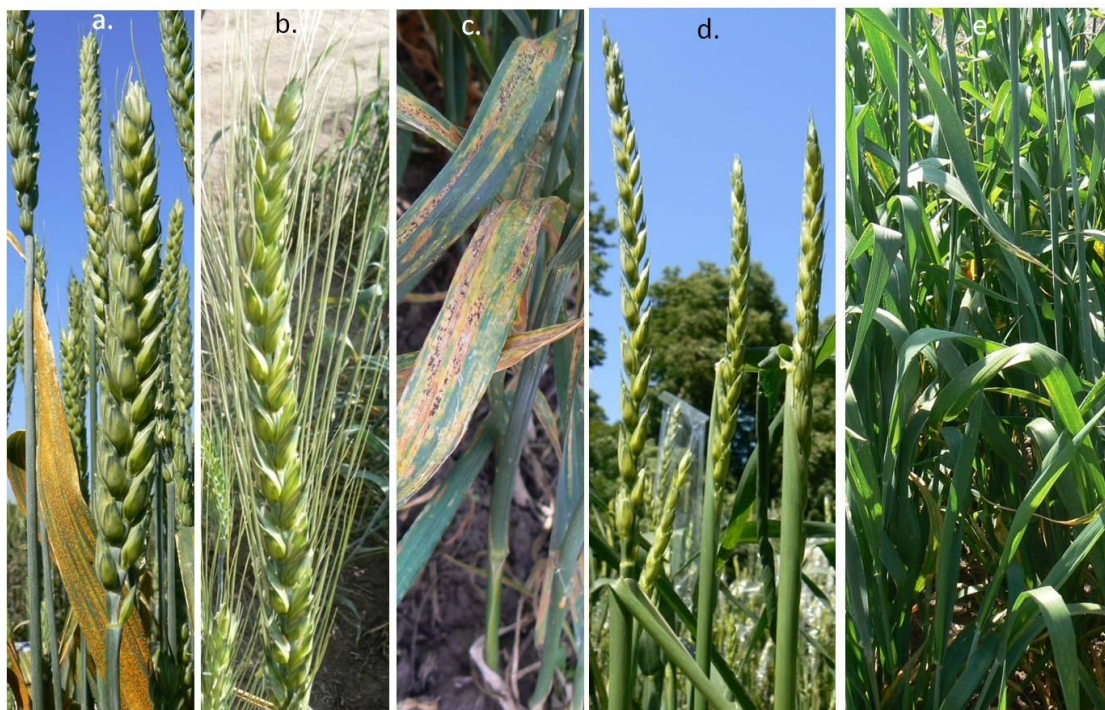
A 2010 és 2014 közötti keresztezések eredményeit a 12. táblázatban összesítettük. Az Mv9kr1 genotípussal megporzott virágok száma és a megporzás sikeressége az egyes években nem mutatott korrelációt. Míg pl. 2011-ben 734 virágban összesen 2 (0,27%), addig 2012-ben 484 virágban 35 szemkötés (7,23%) történt. A legnagyobb mértékű (18,6%) szemkötést 2014-ben érték el. A táblázatból adatai közül kiemelkedik az 'Mv Karizma' búzafajtával végzett 2013. évi keresztezés nagy szemkötési százaléka (25,34 %).

A 2013/2014-es vegetációs időszakban 36 kalászutódsort vetettünk az 'Mv Karizmával' végzett keresztezéssel előállított BC₂ szemekből (222-230/2014). Az Mv9kr1 búzagenotípus 2014. május 10-től virágozott, ezzel szemben a BC₂ növények május 23-tól, 3 nappal a BC₁ eredetű utódvonalak virágzása előtt. Valamennyi kalászutódsorban nagyon hosszú, de vékony kalászu, sötétzöld és szőrözött levelű, magas növények nőttek (27. ábra). A 225, 226 és 227 parcellaszámú növényei sárgarozsdával gyengén fertőződtek (1-es bonitálási érték), a többi növényen a betegség tünetei nem jelentek meg.

12. táblázat BC₂ szemek előállítása az Mv9kr1/*Agropyron glael* első visszakeresztett nemzedékének (BC₁) öntermékenyített utódvonalaiból az Mv9kr1 genotípussal és az 'Mv Karizma' búzafajtaival végzett keresztezéssel (2010-2014, Martonvásár)

Év	Anyavonalak kombinációja	Pollenadó búza	Megporzott virág	Szem-szám	Szemkötés %	Helyszín
2010	Mv9kr1/ <i>A. glael</i> /CS/2-5	Mv9kr1	2652	301	11,35	Tükrös
2011	Mv9kr1/ <i>A. glael</i> /CS/6	Mv9kr1	734	2	0,27	Tükrös
2012	Mv9kr1/ <i>A. glael</i> /CS/4-7	Mv9kr1	484	35	7,23	Tükrös
2013	Mv9kr1/ <i>A. glael</i> /CS/8	Mv9kr1	834	43	5,16	Tükrös
		MvKarizma	2632	667	25,34	Lászlópuszta
2014	Mv9kr1/ <i>A. glael</i> /CS/6-9	Mv9kr1	2467	459	18,60	Tükrös

Virágzásakor sok növény főkalásza steril volt, ezért a mellékalászokat ismételten 'Mv Karizmával' kereszteltük (BC₃ előállítás). A sterilitás hatása erősen megnyilvánult az aratott szemek számában. Legkevesebb, átlagosan 8 szemet a 227-es parcella BC₂ növényeiről arattunk, a legjobban termékenyülő BC₂ növényeken (226-os parcella) 75-80 szem termett. A keresztelt mellékalászok szemkötése 18,34 % (2698 beprozott virágban 495 szem) volt.

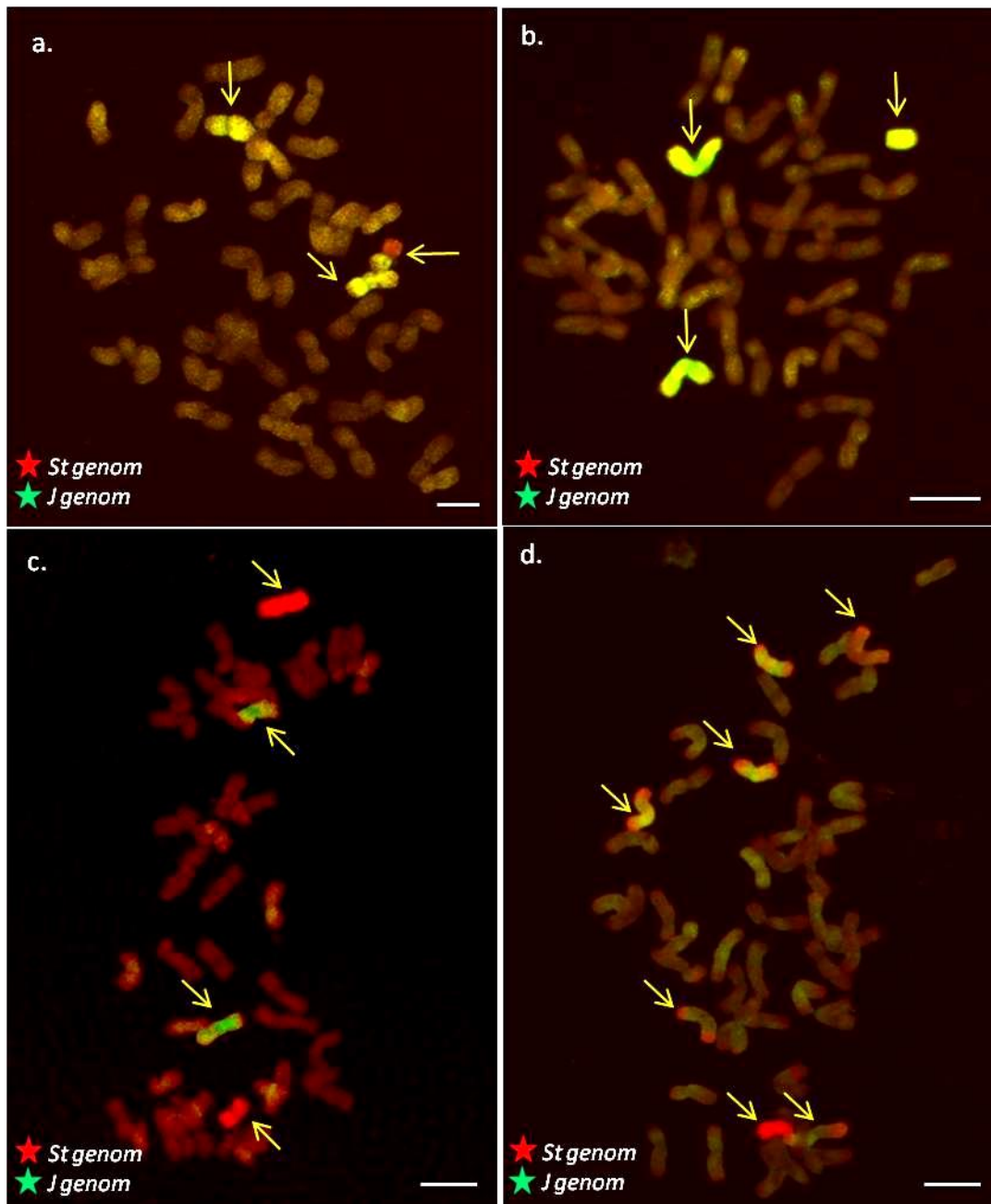


27. ábra a. Az Mv9kr1 genotípus kalásza és levele b-c. Az 'Mv Karizma' búzafajta kalásza és levele d-e. Az Mv9kr1/*Agropyron glael* hibrid először 'Chinese Spring', majd 'MvKarizma' búzafajtaival visszakeresztett BC₂ növényeinek kalásza és levele (2014. május)

Az Mv9kr1 búzagenotípussal végzett visszakeresztelésből származó BC₂ nemzedék öntermékenyített utódvonalait molekuláris citogenetikai vizsgálatnak vetettük alá, melynek során 42-49 kromoszómaszámú növényeket azonosítottunk (13. táblázat). Néhány vonal mcGISH képét a 28. ábrán mutatjuk be.

13. táblázat Az Mv9kr1/*Agropyron glael* keresztezésből származó BC₂ nemzedék különböző genomösszetételű öntermékenyített utódvonalainak citológiai száma, kombinációja, kromoszómaszáma és az idegen kromoszómák száma a genomok megnevezésével. CS: 'Chinese Spring', Ag: *A. glael*, CF: centrikus fúzió, szv: szabadon virágzott

Citológiai szám	Kombináció	Kr. szám	Kr. összetétel
132960,132961, 132963, 132969	Mv9kr1/A. glael/CS/3//Mv9kr1/1	42	40 búza + 2 J
132975	Mv9kr1/A. glael/CS/3//Mv9kr1/1	45	40 búza + 5 J
14926	Mv9kr1/A. glael/CS/3//Mv9kr1/1	43	38 búza + 2 búza/St CF + 1 J
14927	Mv9kr1/A. glael/CS/3//Mv9kr1/1	42	40 búza, +2 J (St végekkel)
14940	Mv9kr1/A. glael/CS/3//Mv9kr1/1	46	42 búza + 4 Ag
14944	Mv9kr1/A. glael/CS/3//Mv9kr1/1	49	42 búza + 7 Ag
14952	Mv9kr1/A. glael/CS/3//Mv9kr1/1	44	42 búza + 1 J + 1 J/St CF
13609	Mv9kr1/A. glael/CS/5//Mv9kr1/1	45	42 búza + 3 St
13610	Mv9kr1/A. glael/CS/5//Mv9kr1/1	46	42 búza + 2 St +2 J
13611	Mv9kr1/A. glael/CS/5//Mv9kr1/1	44	40 búza + 4 Ag
13614	Mv9kr1/A. glael/CS/5//Mv9kr1/1	45	42 búza + 2 J + 1 J/St CF



28. ábra Az /Mv9kr1/*Agropyron glael*/Chinese Spring//Mv9kr1 kombinációjú BC₂ nemzedék öntermékenyített utódainak mcGISH elemzése *Thinopyrum. bessarabicum* (J) és *Pseudoroegneria spicata* (St) genomi DNS próbával. Az *Agropyron* kromoszómákat nyilak jelölik **a.** 2 J és 1 J/St genomok közötti transzlokációs kromoszómát hordozó vonal **b.** 2 teljes J és egy J telocentrikus kromoszóma a búza genetikai háttérben **c.** 2 J + 2 St kromoszóma a nem jelölődött búzakromoszómák mellett **d.** 5 J + 2 St kromoszóma a teljes búzagenomban. Skála: 10µm

4.4.3 Búza/*Agropyron glael* hibridizáció eredményeinek megvitatása

Közel 15 évvel ezelőtt Martonvásáron Mv9kr1 (búza)/*Agropyron glael* (szintetikus hibrid: *Th. intermedium*/*Th. ponticum*) keresztezési program indult, melynek célja az *A. glael* kiváló levélrozda rezisztenciájának a búzába építése hagyományos nemesítési módszerrel (keresztezéssel), és az idegen kromatin nyomonkövetése az utódvonalakban molekuláris

citogenetikai technikákkal (GISH, FISH). Az anyai partnerként használt Mv9kr1 recesszív *kr1* keresztezhetőségi allélt hordoz, ezért keresztezésekben ezzel a búzagenotípussal az átlagosnál nagyobb mértékű szemkötés érhető el (MOLNÁR-LÁNG et al. 2010). Az Mv9kr1 másik (ez esetben előnyös) fontos tulajdonsága, hogy levélrozdára fogékony, így az *A. glael* rezisztenciájának búzába történt sikeres átvitele fenotípusosan könnyen felismerhető. A búza/*A. glael* hibrid 'Chinese Spring' búzafajtával végzett visszakeresztezésével egyetlen életképes BC₁ növényt sikerült előállítani, így minden utódvonalunk ennek az egy növénynek a leszármazottja (M5 melléklet). A 2010 és 2014 közötti, BC₂ szemek előállítása céljából az Mv9kr1 búzagenotípussal végzett keresztezések kismértékű (0,27-18,6%) szemkötést eredményeztek. Ennek oka a BC₁ eredetű vonalak nagyon gyenge termékenyülése volt, amihez jelentősen hozzájárulhatott, hogy a beporzóként használt Mv9kr1 genotípus sokkal hamarabb virágzott, így megporzást csak a későn virágzó, gyenge sarjkalászokkal tudtunk végezni. Az 'Mv Karizma' búzafajtával kapott 2013. évi nagy szemkötési százalék (25,34 %) részben azzal magyarázható, hogy a keresztezéseket a Kalászos Gabona Nemesítési Osztály tenyészkertjében elvetett vonalakon végeztük, ahol a növények jobb agrotechnikai és tápanyagellátottsági körülmények között fejlődtek. Amíg osztályunk organikus tenyészkertjében (Tükrös) a kalászonként kikasztrált virágok száma átlagosan 30-32, addig a nemesítőknél 38-40 volt. A jobb szemkötési százalék másik lehetséges oka, hogy azokat a genotípusokat vetettük el, amelyek a tükrösi tenyészkertben is évről évre a legjobb agronómiai tulajdonságúak voltak.

Az évelő *Triticeae* fajok genomjai közül a *Thinopyrum* fajok J (E) genomja áll a búzához a legközelebb (HSIAO et al. 1995, LIU et al. 2007). A J genom a búza D genomjával mutatja a legnagyobb homológiát (LIU et al. 2007), amit az is alátámaszt, hogy búza/*Thinopyrum* szubsztitúciós és transzlokációs vonalak gyakrabban hordoznak D, mint A vagy B genomhoz tartozó kromoszómát, ill. kromoszómakart (QI et al. 2007). A J és D genom közötti szoros rokonságot a mcGISH optimalizálásakor magunk is tapasztaltuk. Egyes esetekben a D kromoszómák és a *Thinopyrum* kromoszómák egyidejű jelölődése zavarta az idegen kromoszómák számának meghatározását. Az optimálistól eltérő körülmények között az St genomi DNS gyakran hibridizálódott az 1B és a 6B szatellites búzakromoszóma NOR régiójához. Ezt a jelenséget TANG et al. (2000) a *Th. intermedium* 3 szatellittel rendelkező kromoszómáján figyelte meg.

CICIN (1979) szerint az *A. glael* 56 kromoszómájából 21 *A. glaucum* (*Th. intermedium*), 35 pedig *A. elongatum* (*Th. ponticum*) eredetű, azonban a hasonló morfológia és méret miatt a kromoszómák nehezen megkülönböztethetők.

Az *A. glael* szülőfajaiban (*Th. intermedium* és *Th. ponticum*) *Th. bessarabicum* és *Ps. spicata* genomi DNS *in situ* hibridizálásával a J, JSt és St genom fajspecifikus mintázatát

mutattuk ki a kromoszómákon. Az Mv9kr1/A. *glael* hibrid visszakeresztezett és öntermékenyített utódnemzedékeiben ezektől sokszor nagyon eltérő mcGISH mintázatokat és intenzitásbeli különbségeket is megfigyeltünk, aminek oka az lehet, hogy a keresztezéshez használt *A. glael* genomösszetétele eltért annak szülői fajaitól. Előállításánál során a vonal növényei visszakeresztelkedhettek egyéb fajjal, vagy fajokkal és ennek következtében már nem tekinthető kizárólag a *Th. ponticum* és *Th. intermedium* hibridjének.

Az 58 kromoszómaszámú amfiploid vonalban a J kromoszómákat összevetettük LINC et al. (2012) *Elytrigia elongata* (E genom) kariotípusával, és megállapítottuk, hogy az Ag4 FISH mintázata nagyon hasonlít a *Th. elongatum* 3E kromoszómájára, az Ag7-é pedig a 2E kromoszómáéra. Riboszómális DNS szekvenciára utaló pTa71 jelet az Ag2 és Ag5 kromoszómán detektáltunk, LINC et al. (2012) publikációja alapján az 5E kromoszómán van hasonló jel. Az Ag1 kromoszóma mcGISH jelének intenzitása sokkal gyengébb, mint a többi St kromoszómáé, és a mérete is nagyobb. Ilyen kromoszómát a *Th. intermedium* fajban is kimutattunk. Az rDNS szekvenciát hordozó Ag9 telocentrikus (?) kromoszómapárról az általunk használt FISH DNS próbákkal nem lehetett megállapítani, hogy tartalmaz-e centromérát, így bizonytalan, hogy egy kisméretű kromoszóma vagy csupán egy kromoszómakar jelenlétét mutattuk ki.

Az utódvonalak kromoszómaszáma jelentősen eltért. A BC₁ eredetű vonalakat 54 feletti, a BC₂ vonalakat 50 alatti kromoszómaszám jellemezte. A kromoszómák genomok szerinti megoszlása is nagyon változatos volt, több vonalban az St kromoszómák eliminációját tapasztaltuk. A jelenséget búza/*Th. intermedium* részleges amfiploidokban is leírták. Ezekben a növényekben a 7 pár St kromoszómából csak 1 pár (BAO et al. 2009, 2014), 2 pár (HAN et al. 2004), illetve 3 pár (FEDAK et al. 2000) volt kimutatható.

Kezdetben a búza/*Agropyron* hibridizáció célja évelő búza előállítása volt a szélsőséges időjárási viszonyoknak és talajerózióknak kitett területeken a károk csökkentésére. LARKIN és NEWELL (2014) összefoglalója alapján az évelő jelleg kialakulásához legalább 7 pár, nem feltétlenül azonos genomhoz tartozó *Thinopyrum* kromoszóma búzagenomba történő integrálása az alapfeltétel, azaz teljes vagy részleges (legalább 56 kromoszómás) amfiploid növények létrehozására van szükség.

Az Mv9kr1/A. *glael* BC₁ eredetű utódvonalai több éves tenyészkerti megfigyelés alapján levélrozsdára, 2014-2015-ben sárgarozsdára is rezisztensek voltak. Az Mv9kr1 és a visszakeresztetéshez használt 'Chinese Spring' minden évben fertőződött, tehát a rezisztencia csak az *A. glael* fajból származhat. MESTERHÁZY et al. (2000) 1996-1999 közötti vizsgálatai szerint az *Lr19* génnel rendelkező növényeket egyetlen vizsgált levélrozsdá-populáció sem fertőzte meg az európai országokban. Az *Lr24* gén szintén hatékony volt a legtöbb populációval

szemben. Az 56 kromoszómás részleges amfiploidban az *Lr24* rezisztenciagénnel kapcsolt molekuláris marker jelenlétét kimutattuk. A szakirodalomban publikált búza/*Thinopyrum* amfiploid és részleges amfiploid utódvonalak legelőnyösebb tulajdonsága szintén a levélrozsdá rezisztencia (LI et al. 2003, SEPSI et al. 2008, CHANG Z.J. et al. 2010, GEORGIEVA et al. 2011), a rezisztenciáért felelős géneket a legtöbb esetben nem azonosították. *T. aestivum* és *Th. intermedium* részleges amfiploid ($2n=56$) búzával visszakeresztezett utódgenerációiból LARKIN et al. (1995) levélrozsdával szemben rezisztens diszómás addíciós vonalakat ($2n=44$) válogatott ki. SHARMA és KNOTT (1966) besugárzást használva építette be a hexaploid búza genomjába a később *Lr19*-ként katalogizált gént. Visszakeresztezéssel a transzlokációt a 'Yecora' mexikói fajtába vitték át és 1986-ban 'Oasis 89' néven új búzafajtát jelentettek (RAJARAM 2001). A fajtában található 7DL.7Ag transzlokáció hatására a rezisztencia mellett a terméskomponensek is javultak (MONNEVEUX et al. 2003). Az *Lr19*-et az Xwmc273 és XBE404744 jelű markerek közé térképezték (ZHANG et al. 2011).

Sárgarozsdával (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*) szembeni rezisztenciát 2014-ben és 2015-ben tudunk felvételezni, hazánkban 2013-ban is volt járvány, de tenyészkertünkben nem okozott megbetegedést. Messzemenő következtetést két év megfigyelése alapján nem lehet levonni, de korábbi szakirodalmi beszámolók ismeretében várható, hogy az Mv9kr1/A. *glael* genetikai alapanyagokból is megvalósítható kiváló rezisztenciaforrások kiválogatása. XUE-GUI et al. (2006) sárgarozsda rezisztenciáért felelős, korábban még nem azonosított géneket mutatott ki búza/*Th. ponticum* utódvonalakban *YrTp1* és *YrTp2* ideiglenes jelöléssel. További sárgarozsda rezisztens búza/*Thinopyrum* introgressziós vonalakat állított elő YANG et al. (2006), BAO et al. (2009), CHANG et al. (2010) és GEORGIEVA et al. (2011), mely jól rávilágít a *Thinopyrum* fajokban rejlő, a rezisztencianemesítésben még ki nem aknázott potenciálra. Az eddig ismert 55 sárgarozsda rezisztenciagén többségét búzában azonosították, de a következő, búzával rokon fajokból is származnak ilyen gének: *Secale cereale* (*Yr9*), *Aegilops* spp. (*Yr8*, *Yr17*, *Yr37*, *Yr38*, *Yr40* és *Yr42*), *T. spelta* (*Yr5*), *T. dicoccoides* (*Yr15*, *Yr35* és *Yr36*), *T. turgidum* (*Yr24/Yr26*, *Yr53*) (CHEN et al. 2014). A *Thinopyrum* fajokban eddig csupán az *Yr50* gént azonosították (*Th. intermedium*) (LIU et al. 2013).

A két genetikailag stabil részleges amfiploid vonal levél- és sárgarozsda rezisztenciájának köszönhetően értékes alapanyag a rezisztencia búza genetikai háttérben történő hasznosítására. Célirányos keresztezési programokkal a levélrozsdá-rezisztenciagén(ek) gazdaságilag értékes búzafajtákba építhető(k) és így növelheti(k) az egyre nagyobb értéket jelentő termésbiztonságot.

4.5 Új tudományos eredmények

1. Elkészítettük a *Hordeum vulgare* ssp. *vulgare* fluoreszcens *in situ* hibridizációs kariotípusát és kariogramját a (GAA)₇, HvT01 és pTa71 DNS próbával, ami alapján az összes árpakromoszóma egyértelműen azonosítható volt. Tíz termesztett árpafajta kariogramjának összehasonlításával kimutattuk, hogy a szigorúan öntermékenyülő árpában molekuláris markerekkel feltárt polimorfizmus kromoszómaszinten is megnyilvánul.
2. Azonosítottunk egy új búza/árpa transzlokációs vonalat (4HL.5DL)
3. Az 'Asakazekomugi'/'Manasz' 4BS.7HL centrikus fúziós kromoszómában *in situ* hibridizációs technikákkal árpacentromérát azonosítottunk, ezáltal a 7H kromoszóma centromérához közeli DNS-szakaszára térképezett, β -glükán szintézisért felelős gént (géneket) hordozó kromoszómaszakasz meglétét igazoltuk.
4. Az Mv9kr1/'Igri' 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal segítségével pontosítottuk a 7D kromoszóma rövid karjának disztális régiójára térképezett molekuláris markerek helyzetét. A transzlokációs töréspont meghatározásával (FL $0,76 \pm 0,05$) az eddig ismert deléciós vonalak töréspontjához képest disztális irányban elhelyezkedő töréspontot azonosítottunk.
5. A többszínű GISH (mcGISH) technika optimalizálásával a *Thinopyrum intermedium* és a *Thinopyrum ponticum* faj kromoszómáinak kimutatására és genomjainak megkülönböztetésére alkalmas módszert dolgoztunk ki.
6. Búza/*Agropyron glael* keresztezésből két különböző genomösszetételű levél- és sárgarozsda-rezisztens részleges amfiploidot szelektáltunk és azonosítottunk.
7. Az Mv9kr1/*Agropyron glael* keresztezés BC₁ eredetű utódvonalainak 'Mv Karizma' búzafajtaival végzett visszakeresztezésével megkezdtük a levél- és sárgarozsda-rezisztencia modern fajtákba történő átvitelét.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Búza/árpa introgressziós vonalak

1. Agronómiailag előnyös búza/árpa transzlokációs vonalak előállítására a 'Chinese Spring' *ph1b* mutánsal végzett keresztezés a leggyorsabb módszer, mivel kompenzáló típusú kromoszómaátépüléseket indukál, melyek nem befolyásolják hátrányosan a búza morfológiai és minőségi tulajdonságait. A meglévő nem kompenzáló transzlokációk, mint pl. a 4BS.7HL transzlokációs vonal, viszont olyan egyéb tulajdonságokkal rendelkeznek, melyek által értékes genetikai alapanyagoknak tekinthetők. Ezeket érdemes további, pl. monoszómás vonalakkal történő keresztezésekkel kompenzáló típusú transzlokációkká alakítani.

2. A búza/árpa transzlokációk előállítása elsősorban valamilyen előnyös agronómiai tulajdonság átvitele céljából történik. A gyenge agronómiai paraméterekkel rendelkező 4BS.7HL introgressziós vonal ugyan nem hasznosul közvetlenül a növénynevelésben, azonban nagy jelentőségű lehet az alapkutatásban vagy minőségi paraméterek vizsgálatában. Felhasználhatók fizikai térképezésre vagy mint pl. az 5HS-7DS.7DL transzlokációs vonal, gyorsan eliminálódó kromoszómák megőrzésére, ezért fenntartása mindenképpen ajánlott. A 4H(4D) szubsztitúció × 'Chinese Spring' *Ph1b* mutáns keresztezésének utódnemzedékeiből kiválogatott és azonosított 4HL.5DL transzlokációs vonalban nem homeológ kromoszómák között történt a rekombináció, így valószínűbb a spontán eredetű keletkezés, mint a *ph1b* mutáció hatása.

Búza/*Agropyron* (*Thinopyrum*) keresztezések

3. Az évelő *Triticeae* fajok abiotikus és biotikus stresszekkel szembeni kiváló rezisztenciájuknak köszönhetően értékes genetikai alapanyagot jelentenek a növénynevelés számára. A legtöbb *Agropyron* (*Thinopyrum*) faj genomösszetétele nem tisztázott, a progenitorok csak részben vagy egyáltalán nem ismertek. A vizsgálatokat megnehezíti a fajok idegentermékenyülő természete, a nagyfokú heterogenitás és a természetben előforduló természetes hibridek nagy száma. Egy fajon belül eltérő ploidszintű formák is léteznek és a kromoszómák gyakran hordoznak ismeretlen eredetű DNS-szekvenciákat. A probléma megoldásában segítséget nyújtanak, ha ezeknek a fajoknak a DNS-szekvenciaadatai bioinformatikai adatbázisokban rendelkezésünkre állnának, azonban szekvenálásuk még nem történt meg. Az Mv9kr1/A. *glael* keresztezésből származó amphiploidok búzával történő többszöri visszakeresztezésével stabil addíciós vagy szubsztitúciós vonalak állíthatók elő. Az idegen kromoszóma GISH-sel detektálható, fluoreszcenciája alapján áramlási citometriával a búzagenomtól elkülöníthető és szekvenálható. A szekvenciaadatok ezután összevethetők más búzával rokon fajok már ismert szekvenciájával és az esetleges

homológiák alapján információkat kaphatunk az adott kromoszómára vonatkozóan. DNS-szekvenciák ismeretében kromoszóma-specifikus molekuláris markerek és/vagy *in situ* hibridizációs próbák tervezhetők.

4. Az Mv9kr1/A. *glael* hibridből származó utódnemzedékek egyedszáma exponenciális mértékben növekszik. A dolgozatban említett és elemzett vonalak csak egy kis hányadát jelentik a rendelkezésünkre álló összes utódnak. A vonalak nagy részét még nem azonosítottuk. A jövőben célunk a tenyészkerti megfigyelések alapján további, agronómiailag előnyös tulajdonsággal rendelkező vonalak azonosítása. A biotikus és abiotikus stresszrezisztencia-vizsgálatok mellett az utódvonalak élelmiszeripari minőségi paramétereit is vizsgálni kellene a jövőben, elsősorban fehérje- és rosttartalom, valamint ásványianyag-összetétel tekintetében.

5. Az *Agropyron glael* hibrid egyedi genetikai alapanyag, a két szülő faj (*Th. intermedium* és *Th. ponticum*) előnyös tulajdonságainak kombinációját ötvözi. A martonvásári génbankban található szemekből általunk felnevelt *A. glael* növény genetikailag eltérhet az eredetitől. Szabadon virágzott kalász szemeiből csíráztattuk, így előfordulhat, hogy valamilyen idegen fajjal kereszteződött hibridnövényt rendelkezünk. Amennyiben hozzáférhető, tervezzük az Oroszországban fenntartott eredeti *A. glael* klónból is felszaporítani ezt a szintetikus hibridet.

6. Az idegen fajú rezisztenciagének búzába történő beépítésére irányuló előnemesítés sikerességének érdekében célszerű további, ismert eredetű és citológiai úton ellenőrzött, jó rezisztenciával rendelkező harmadlagos génforrások begyűjtése, fenntartása és génbanki megőrzése.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A XXI. században a növénynevelés egyik fő feladata a termésbiztonság javítása. A mai modern fajták kiváló termőképességűek, egyes nézetek szerint a genomjukban rejlő potenciál majdnem elérte maximumát. A búzagenom által kódolt termésmennyiséget azonban különböző abiotikus és a biotikus stresszfaktorok kedvezőtlenül befolyásolhatják. A búza genomjában számos rezisztenciagént azonosítottak, de napjainkban egyre nagyobb az igény arra, hogy a közeli, vagy távoli rokon fajokból új, hatékony rezisztenciagéneket vigyünk át a búzába. A búza terméshozamának és termésbiztonságának növelése mellett fontos szerepet kap a beltartalmi tulajdonságok (pl. élelmi rost, esszenciális aminosavak) módosítása is. Munkánk célja olyan búza introgressziós vonalak előállítása volt, melyek búzával rokon fajtából származó, agronómiaiilag előnyös tulajdonságokkal rendelkeznek és genetikai alapanyagként, keresztezési partnerként szolgálhatnak a búzanemesítés számára.

Célkitűzéseink megvalósításához kísérleti anyagként búza/árpa és búza/*Agropyron glael* keresztezésekből származó utódvonalakat választottunk. Az *A. glael* a szárrozsdával és levélrozsdával szemben rezisztens *Thinopyrum intermedium* és *Th. ponticum* mesterségesen létrehozott hibridje, melyet Oroszországban állítottak elő. Mind az árpa, mind az *A. glael* a búza harmadlagos génforrásai közé tartozik, a búzával közös genomot egyik faj sem tartalmaz. A termesztett árpára jellemző a koraiság, a jó só- és szárazságtűrés, valamint kedvezőek a beltartalmi paraméterei.

A búzagenomba beépült kromoszómákat, kromoszómaszakaszokat korszerű molekuláris citogenetikai technikákkal mutattuk ki (genomi *in situ* hibridizáció – GISH, mcGISH) és határoztuk meg (fluoreszcens *in situ* hibridizáció – FISH). A molekuláris citogenetikai eszközökkel nem azonosítható genetikai változásokat molekuláris markerekkel (SSR) vizsgáltuk. Az idegen kromatinnak a búza morfológiájára, terméskomponenseire és rezisztenciájára kifejtett hatását növénynevelő kamrákban és tenyészkerti körülmények között teszteltük.

Árpa eredetű DNS-szakaszok búzába juttatására és stabilitásának megőrzésére transzlokációt indukáló ágenseket alkalmaztunk. Ionizáló sugárzással (^{60}Co izotóp) a 'Chinese Spring' (búza)/'Betzes' (árpa) keresztezésből származó 4H(4D) szubsztitúciós vonalban számos búza/árpa intergenomikus kromoszómaátépülést hoztunk létre, azonban a következő generációba ezek a kromoszómák nem öröklődtek tovább. A 4H(4D) szubsztitúció 'Chinese Spring' *ph1b* mutánsal végzett keresztezésének utódnemzedékeiből egy 4HL.5DL-ként azonosított nem

kompenzáló típusú transzlokációs vonalat válogattunk ki, így valószínű, hogy keletkezése nem a *ph1b* mutáns hatásának tulajdonítható, hanem spontán eredetű. A szintén spontán létrejött 4BS.7HL 'Asakazekomugi'/'Manasz' transzlokációba beépült árpa-kromoszómakar centoméráját FISH próbával mutattuk ki. Az 5HS-7DS.7DL Mv9kr1/'Igri' introgressziós vonal transzlokációs töréspontjának meghatározásával pontosítottuk a 7D kromoszóma rövid karjára térképezett SSR markerek fizikai helyzetét. Az 5HS szegmentum beépülésével lehetővé vált a hibridekből gyorsan eliminálódó 5H kromoszóma egy részének stabil fenntartása a búza háttérben. Az árpakromoszómák FISH azonosításához használt három repetitív DNS-szekvencia egyidejű hibridizációjával elkészítettük tíz termesztett árpafajta kariogramját és ezek összehasonlításával kimutattuk, hogy a szigorúan öntermékenyülő *Hordeum vulgare* ssp. *vulgare* fajban molekuláris markerekkel feltárt polimorfizmus kromoszóma szinten is megnyilvánul.

Az Mv9kr1/A. *glael* hibrid visszakeresztezett és öntermékenyített utódnemzedékeiből tenyészkerti körülmények között levél- és sárgarozsda rezisztens vonalakat szelektáltunk. A BC₁ eredetű vonalakban molekuláris citogenetiai eszközökkel különböző kromoszómaszámú és genomösszetételű utódokat figyeltünk meg, melyek között egy 56 és egy 58 kromoszómaszámú részleges amfiploidot azonosítottunk. Ezek a búza genom mellett 7, illetve 9 pár *Agropyron* kromoszómát hordoznak és kiváló rezisztenciát biztosítanak a búzának. A 2005-ben előállított BC₂ nemzedékben az *Agropyron* kromoszómák száma redukálódott, de ezzel együtt a rezisztencia is elveszett. Az értékes BC₁ eredetű utódokból új keresztezési programot indítottunk, melyben beporzónak az Mv9kr1 búzagenotípust és az 'Mv Karizma' búzafajtát választottuk. Az újonnan előállított BC₂ növények között levél- és sárgarozsda rezisztensek is előfordultak. Az évente elvetett többszáz kalászutódsor majdnem 15 éves múlttal rendelkezik és mind egyetlen BC₁ növénytől származik. Eredményeink egyértelműen rámutatnak arra, hogy az Mv9kr1/A. *glael* hibrid utódvonalai értékes források a rezisztencianemesítés számára.

7. SUMMARY

The main task facing plant breeding in the 21st century will be to improve yield reliability. Today's modern cultivars have excellent yielding ability; in fact, many people feel that they have almost reached the maximum potential latent in their genomes. However, the yield quantity coded by the wheat genome may be negatively influenced by various abiotic and biotic stress factors. Numerous resistance genes have been identified in the wheat genome, but nowadays it is becoming increasingly necessary for new, effective resistance genes to be transferred to wheat from closely or more distantly related species. In addition to achieving an increase in yields and yield reliability, the modification of chemical traits (e.g. dietary fibre, essential amino acids) also plays an important role. The aim of the present work was to develop wheat introgression lines possessing agronomically favourable traits derived from species related to wheat, which could be used as basic genetic materials or crossing partners in wheat breeding.

In order to achieve this aim, progeny lines were selected from wheat/barley and wheat/*Agropyron glael* crosses. *A. glael* is a hybrid between *Thinopyrum intermedium* and *Th. ponticum*, artificially developed in Russia, and is resistant to stem and leaf rust. Both barley and *A. glael* belong to the tertiary gene sources of wheat, as neither species has a common genome with wheat. Cultivated barley is characterised by earliness, good salt and drought tolerance, and favourable chemical parameters.

The chromosomes or chromosome segments incorporated into the wheat genome were detected and identified using up-to-date molecular cytogenetic techniques (genomic *in situ* hybridisation, or GISH, and fluorescence *in situ* hybridisation, FISH, respectively). Genetic changes that cannot be identified using molecular cytogenetic tools were analysed with molecular markers (SSR). The effect of alien chromatin on the morphology, yield components and resistance of wheat was tested in plant growth chambers and in the nursery.

In order to transfer DNA segments of barley origin into wheat and to preserve their stability, translocation-inducing agents were applied. Numerous types of intergenomic wheat/barley chromosome incorporation were developed by means of ionising radiation (⁶⁰Co isotope) in a 4H(4D) substitution line arising from the 'Chinese Spring' (wheat) × 'Betzes' (barley) cross, but these chromosomes were not retained in the next generation. A translocation line of the non-compensating type, identified as 4HL.5DL, was selected from the progeny generations of crosses between the 4H(4D) substitution and a *ph1b* mutant of 'Chinese Spring', so this probably arose spontaneously, not as the result of the *ph1b* mutation. The centromere of the barley chromosome arm incorporated into a spontaneously arising 4BS.7HL

'Asakazekomugi'/'Manas' translocation was detected with a FISH probe. The physical positions of SSR markers mapped on the short arm of the 7D chromosome were pinpointed by determining the translocation breakpoint of the 5HS-7DS.7DL Mv9kr1/'Igri' introgression line. The incorporation of the 5HS segment made it possible to stabilise part of the 5H chromosome, which is usually rapidly eliminated from hybrids, in the wheat background. Karyograms were prepared for ten cultivated barley cultivars via the simultaneous hybridisation of the three repetitive DNA sequences used for the FISH identification of the barley chromosomes. These were then compared to demonstrate that the polymorphism revealed using molecular markers in the strictly self-fertilised *Hordeum vulgare* ssp. *vulgare* species is also manifested at chromosome level.

Lines resistant to leaf and yellow rust were selected under nursery conditions from backcrossed, self-fertilised progeny generations of the Mv9kr1/A. *glael* hybrid. Progeny with various chromosome numbers and genome compositions were identified using molecular cytogenetic tools in lines of BC₁ origin, including two partial amphiploids with chromosome numbers of 56 and 58. In addition to the wheat genome these carried 7 or 9 *Agropyron* chromosomes and lent the wheat excellent resistance. In the BC₂ generation, developed in 2005, there was a reduction in the number of *Agropyron* chromosomes, resulting in the loss of this resistance. A new crossing programme was commenced using the valuable BC₁ progeny, with the wheat genotype Mv9kr1 and the wheat cultivar 'Mv Karizma' as pollinators. Plants with leaf and yellow rust resistance were identified in the BC₂ generation. Several hundred spike progeny rows have been sown annually for almost 15 years, all originating from a single BC₁ plant. These results clearly demonstrate that the progeny lines of the Mv9kr1/A. *glael* hybrid are valuable sources for resistance breeding.

8. MELLÉKLETEK

M1. IRODALOMJEGYZÉK

- AHLOOWALIA B.S., MALUSZYNSKI M., NICTERLEIN K. (2004): Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica*, 135: 187-204. p.
- AKSYONOVA E., SINYAVSKAYA M., DANILENKO N., PERSHINA L., NAKAMURA C., DAVYDENKO O. (2005): Heteroplasmy and paternally oriented shift of the organellar DNA composition in barley–wheat hybrids during backcrosses with wheat parents. *Genome*, 48: 761-769. p.
- AKHTAR J., GORHAM J., QURESHI R.H. (1994): Combined effect of salinity and hypoxia in wheat (*Triticum aestivum* L.) and wheat-*Thinopyrum* amphiploids. *Plant Soil*, 166: 47-54. p.
- AL-KAFF N., KNIGHT E., BERTIN I., FOOTE T., HART N., GRIFFITHS S., MOORE G. (2008): Detailed dissection of the chromosomal region containing the Ph1 locus in wheat *Triticum aestivum*: with deletion mutants and expression profiling. *Ann Bot- London*, 101: 863-872. p.
- ARMSTRONG J.M. (1936): Hybridization of *Triticum* and *Agropyron*, crossing results and description of the first generation hybrids. *Can J Res*, 14: 190-202. p.
- AYALA-NAVARRETE L., TOURTON E., MECHANICOS A.A., LARKIN P.J. (2009): Comparison of *Thinopyrum intermedium* derivatives carrying barley yellow dwarf virus resistance in wheat. *Genome*, 52: 537-546. p.
- BADAEVA E.D., JIANG J., GILL B.S. (1995): 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., FRIEBE B., GILL B.S. (1996a): Genome differentiation in *Aegilops*. 1. Distribution of highly repetitive DNA sequences on chromosomes of diploid species. *Genome*, 39: 293-306. p.
- BADAEVA E.D., FRIEBE B., GIL, B.S. (1996b): Genome differentiation in *Aegilops*. 2. Physical mapping of 5S and 18.26S ribosomal RNA gene families in diploid species. *Genome*, 39: 1150-1158. p.
- BADAEVA E.D., DEDKOVA O.S., GAY G., PUKHALSKYI V.A., ZELENIN A.V., BERNARD S., BERNARD M. (2007): Chromosomal rearrangements in wheat: their types and distribution. *Genome*, 50: 907-926. p.
- BÁLINT A., SUTKA J. (1966): Variability of quantitative characters in maize as affected by gamma irradiation. *Acta Agron Hung*, 15: 285-290. p.
- BANKS P.M., XU S.J., WANG R.R.C., LARKIN P.J. (1993): Varying chromosome composition of 56 chromosomes wheat-*Thinopyrum intermedium* partial amphiploids. *Genome*, 36: 207-215. p.
- BANKS P.M., LARKIN P.J., BARIANA H.S., LAGUDAH E.S., APPELS R., WATERHOUSE P.M., BRETTELL R.I.S., CHEN X., XU H.J., XIN Z.Y., QIAN Y.T., ZHOU X.M., CHENG Z.M., ZHOU G.H. (1995): The use of cell culture for subchromosomal introgressions of barley yellow dwarf virus resistance from *Thinopyrum intermedium* to wheat. *Genome*, 38: 395-405. p.
- BAO Y., LI X., LIU S., CUI F., WANG H. (2009): Molecular cytogenetic characterization of a new wheat- *Thinopyrum intermedium* partial amphiploid resistant to powdery mildew and stripe rust. *Cytogenet Genome Res*, 126: 390-395. p.
- BAO Y., WU X., ZHANG C., LI X., HE F., QI X., WANG H. (2014): Chromosomal constitutions and reactions to powdery mildew and stripe rust of four novel wheat-*Thinopyrum intermedium* partial amphiploids. *J Genet Genomics*, 41: 663-666. p.

- BARIANA H.S., BROWN G.N., BANSAL U.K., MIAH U.K., STANDEN G.E., LU M. (2007): Breeding triple rust resistant wheat cultivars for Australia using conventional and marker-assisted selection technologies. *Austr J Agric Res*, 58: 576-587. p.
- BARKWORTH M.E., DEWEY D.R. (1985): Genomically based genera in the perennial *Triticeae* of North America: Identification and membership. *Am J Bot*, 72: 767-776. p.
- BECKER J., HEUN M. (1995): Barley microsatellites: allele variation and mapping. *Plant Mol Biol*, 27: 835-845. 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.
- BELEA A. (1964): Néhány *Triticum* L. fajhibrid genetikai elemzése és nemesítési értékelése. Doktori disszertáció, Budapest, 1-277. p.
- BELOSTOTSKY D.A., ANANIEV E.V. (1990): Characterization of relic DNA from barley genome. *Theor Appl Genet*, 80: 374-380. p.
- BELOV V.I., IVANOVA L.P., UPELNIK V.P. (2011): Diversity of botanical varieties of hybrids wheat / couch grass (2n=56). 50-54. p. In: DEMIDOV AS (Szerk.): *Botanical Gardens in the Modern World: Theoretical and Applied Investigations*. Moszkva: KMK Scientific Press Ltd. 765 p.
- BENNETT M.D., BHANDOL P., LEITCH I.J. (2000): Nuclear DNA amounts in Angiosperms and their modern uses -807 new estimates. *Ann Bot-London*, 86: 859-909. p.
- BENTHAM G. (1882): Notes on *Gramineae*. *J Linn Soc Bot*, 19: 14-134. p.
- BRENCHLEY R., SPANNAGL M., PFEIFER M., BARKER G.L., D'AMORE R., ALLEN A.M., MCKENZIE N., KRAMER M., KERHORNOU A., BOLSER D., KAY S., WAITE D., TRICK M., BANCROFT I., GU Y., HUO N., LUO M.C., SEHGAL S., GILL B., KIANIAN S., ANDERSON O., KERSEY P., DVORAK J., MCCOMBIE W.R., HALL A., MAYER K.F., EDWARDS K.J., BEVAN M.W., HALL N. (2012): Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing. *Nature*, 491: 705-710. p.
- BROUN P., GANAL M.W., TANKSLEY S.D. (1992): Telomeric arrays display high levels of heritable polymorphism among closely related plant varieties. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89: 1354-1357. p.
- BROWN S.E., STEPHENS J.L., LAPITAN N.L., KNUDSON D.L. (1999): FISH landmarks for barley chromosomes (*Hordeum vulgare* L.). *Genome*, 42: 274-281. p.
- BURTON R.A., JOBLING S.A., HARVEY A.J., SHIRLEY N.J., MATHER D.E., BACIC A., FINCHER, G.B. (2008): The genetics and transcriptional profiles of the cellulose synthase-like *HvCslF* gene family in barley. *Plant Physiol*, 146: 1821-1833. p.
- de BUSTOS A., CUADRADO A., SOLER C., JOUVE N. (1996): Physical mapping of repetitive DNA sequences and 5S and 18S-26S rDNA in five wild species of the genus *Hordeum*. *Chromosome Res*, 4: 491-499. p.
- CAI X., JONES S.S., MURRAY T.D. (1998): Molecular cytogenetic characterization of *Thinopyrum* and wheat-*Thinopyrum* translocated chromosomes in a wheat-*Thinopyrum* amphiploid. *Chromosome Res*, 6: 183-189. p.
- CAI X., JONES S.S., MURRAY T.D. (2001): Molecular cytogenetic characterization of *Thinopyrum* genomes conferring perennial growth habit in wheat-*Thinopyrum* amphiploids. *Plant Breed*, 120: 21-26. p.
- CARMONA A., FRIERO E., de BUSTOS A., JOUVE N., CUADRADO A. (2013): Cytogenetic diversity of SSR motifs within and between *Hordeum* species carrying the H genome: *H. vulgare* L. and *H. bulbosum* L. *Theor Appl Genet*, 126: 949-961. p.
- CAUDERON Y. (1979): Use of *Agropyron* species for wheat improvement. In: *Proc. Conf. Broadening Genet. Base Crops*, Wageningen, Hollandia 175-186. p.
- CAUDERON Y., SAIGNE B. (1961): New interspecific and intergeneric hybrids involving *Agropyrum*. *Wheat Inf Serv*, 12: 13-14. p.

- CAUDERON Y., SAIGNE B., DAUGE M. (1973): The resistance to wheat rusts of *Agropyron intermedium* and its use in wheat improvement. In: *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.*, University of Missouri, Columbia, USA 401-407. p.
- CEOLONI C., BIAGETTI M., CIAFFI M., FORTE P., PASQUINI M. (1996): Wheat chromosome engineering at the 4x level: the potential of different alien gene transfers into durum wheat. *Euphytica*, 89: 87-97 p.
- CEOLONI C., DEL SIGNORE G., ERCOLI L., DONINI P. (1992): Locating the alien chromatin segment in common wheat-*Aegilops longissima* mildew resistant transfers. *Hereditas*, 116: 239-245. p.
- CEOLONI C., KUZMANOVIC L., GENNARO A., FORTE P., GIORGI D., GROSSI M.R., BITTI A. (2014): Genomes, chromosomes and genes of the wheatgrass genus *Thinopyrum*: the value of their transfer into wheat for gains in cytogenomic knowledge and sustainable breeding. 333-358. p. In: TUBEROSA R. (Szerk.): *Genomics of Plant Genetic Resources Volume 2. Crop Productivity, Food Security and Nutritional Quality*. Dordrecht: Springer Science+Business Media, 507 p.
- CHANG K.D., FANG S.A., CHANG F.C., CHUNG M.C. (2010): Chromosomal conservation and sequence diversity of ribosomal RNA genes of two distant *Oryza* species. *Genomics*, 96: 181-190. p.
- CHANG Z.J., ZHANG X.J., YANG Z.J., ZHAN H.X., LI X., LIU C., ZHANG C.Z. (2010): Characterization of a partial wheat-*Thinopyrum intermedium* amphiploid and its reaction to fungal diseases of wheat. *Hereditas*, 147: 304-312. p.
- CHAPMAN V., RILEY R. (1970): Homoeologous meiotic chromosome pairing in *Triticum aestivum* in which chromosome 5B is replaced by an alien homoeologue. *Nature*, 226: 376-377. p.
- CHARPENTIER A. (1992): Production of disomic addition lines and partial amphiploids of *Th. junceum* on wheat. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Series 3, Sciences de la Vie*, 315: 551-557. p.
- CHEN F.G., LUO Z., ZHANG Z.G., XIA G.M., MIN H.X. (2007): Variation and potential value in wheat breeding of low-molecularweight glutenin subunit genes cloned by genomic and RTPCR in a derivative of somatic introgression between common wheat and *Agropyron elongatum*. *Mol Breed*, 20: 141-152. p.
- CHEN P.D., TSUJIMOTO H., GILL B.S. (1994): Transfer of *PhI* genes promoting homoeologous pairing from *Triticum speltoides* to common wheat. *Theor Appl Genet*, 88: 97-101. p.
- CHEN S.Y., XIA G.M., QUAN T.Y., XIANG F.N., JIN Y., CHEN H.M. (2004): Introgression of salt-tolerance from somatic hybrids between common wheat and *Thinopyrum ponticum*. *Plant Sci*, 167: 773-779. p.
- CHEN Q., CONNER R.L., LAROCHE A. (1995): Identification of the parental chromosomes of the wheat-alien amphiploid Agrotana by genomic *in situ* hybridization. *Genome*, 38: 1163-1169. p.
- CHEN Q., CONNER R.L., LAROCHE A., THOMAS J.B. (1998): Genome analysis of *Thinopyrum intermedium* and *Thinopyrum ponticum* using genomic *in situ* hybridization. *Genome*, 41: 580-586. p.
- CHEN W., WELLINGS C., CHEN X., KANG Z., LIU T. (2014): Wheat stripe (yellow) rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Mol Plant Pathol*, 15: 433-446. p.
- CHEN X., DU Z.H., ZHANG W.X., YIN F.Y., XU H.J. (1984): The barley x wheat crosses and their offspring plants. *Acta Agron Sin*, 10: 65-71. p.
- CHI S.Y., YU S.S., CHANG Y.H., YU K.H., SONG F.Y. (1979): Studies on wheat breeding by distant hybridization between wheat and *Agropyron glaucum*. *Sci Agric Sin*, 2: 1-11. p.
- CICIN N.V. (1933): Проблема озимых и многолетних пшениц. Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства . Омск, 101 p.

- CICIN N.V. (1960): Новый вид и новые разновидности пшеницы (A búza új fajja és új fajtái). *Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР*, 38: 38-41. p.
- CICIN N.V. (1979): Цитогенетические исследования виды пырея и пшенично-пырейных гибридов (A búzafajok és interspecifikus hibridjeik citogenetikai tanulmányozása). 48-53. p. In: CICIN N.V. (Szerk.): *Проблемы отдаленной гибридизации* (A távoli hibridizáció problémái). Москва: Наука, 278 p.
- CICIN N.V. (1981): Теория и практика отдаленной гибридизации (A távoli hibridizáció elmélete és gyakorlata). Москва: Главный ботанический сад АН СССР– Наука, 159 p.
- CLAUSS E. (1980): Trigenic hybrids between barley, wheat and rye. *Cereal Res Commun*, 2: 341-347. p.
- COLMER T.D., FLOWERS T.J., MUNNS R. (2006): Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *J Exp Bot*, 57: 1059-1078. p.
- CSEH A., KRUPPA K., RAKSZEGI M., DOLEŽEL J., MOLNÁR-LÁNG, M. (2011): Characterization of a new 4BS.7HL wheat–barley translocation line using GISH, FISH, and SSR markers and its effect on the β -glucan content of wheat. *Genome*, 54: 1-10. p.
- CVELJOV N.N. (1973): Обзор видов трибы Triticeae Dum. семейства злаков (Poaceae) во флоре СССР [A Szovjetunió Triticeae Dum. törzs, pászitfűfélék családjába (Poaceae) tartozó növényfajainak áttekintése]. *Новости систематики высших растений*, 10: 19-59. 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.
- DAY L., GREENWELL P., LOCK S., BROWN H. (1999): Analysis of wheat flour proteins related to grain hardness using capillary electrophoresis. *J Chromatogr A*, 836: 147-152. 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.
- DEWEY D.R. (1962): The genome structure of intermediate wheatgrass. *J Hered*, 53 282-290. p.
- DEWEY D.R. (1984): The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization in the perennial *Triticeae*. 209-279. p. In: GUSTAFSON JP (Szerk.): *Gene manipulation in plant improvement*. New York: Plenum Press, 668 p.
- DOYLE J.J., DOYLE J.L. (1990): Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15. p.
- DUDITS D., SUTKA J. (1970): Genetical change of characters by mutation in peas. 129-173. p. In: BÁLINT A. (Szerk.): *Protein growth by plant breeding*. Budapest: Akadémiai Kiadó, 179 p.
- DVOŘÁK J. (1981): Genome relationships among *Elytrigia* (=Agropyron) *elongata*, *E. stipifolia*, “*E. elongata* 4x,” *E. caespitosa*, *E. intermedia* and “*E. elongata* 10x”. *Can J Genet Cytol*, 23: 481-492. p.
- DVOŘÁK J., KNOTT D.R. (1974): Disomic and ditelosomic additions of diploid *Agropyron elongatum* chromosomes to *T. aestivum*. *Can J Genet Cytol*, 16: 399-417. p.
- ENDO T.R., GILL B.S. (1984a): The heterochromatin distribution and genome evolution in diploid species of *Elymus* and *Agropyron*. *Can J Genet Cytol*, 26: 669-678. p.
- ENDO T.R., GILL B.S. (1996): The deletion stocks of common wheat. *J Hered*, 87: 295-307. p.
- FARKAS A., MOLNÁR I., DULAI S., RAPI S., OLDAL V., CSEH A., KRUPPA K., MOLNÁR-LÁNG M. (2014): Increased micronutrient content (Zn Mn) of wheat in the 3Mb(4B) wheat-Aegilops biuncialis substitution and 3Mb.4BS translocation identified by GISH and FISH. *Genome*, 57: 61-67. p.
- FARRER W. (1904): Some notes on the wheat “Bobs”; its peculiarities, economic value, and origin. *Agric Gaz NSW*, 15: 849-854. p.
- FEDAK G. (1977a): Increased homoeologous chromosome pairing in *Hordeum vulgare* x *Triticum aestivum* hybrids. *Nature*, 266: 529-530. p.

- FEDAK G. (1977b): Barley-wheat hybrids. In: *Interspecific hybridization in plant breeding. Proc. 8th Cong. EUCARPIA*, Madrid. European Association for Research in Plant Breeding, 261-267. p.
- FEDAK G. (1980): Production, morphology and meiosis of reciprocal barley-wheat hybrids. *Can J Genet Cytol*, 22: 117-123. p.
- FEDAK G., CHEN Q., CONNER R.L., LAROCHE A., PETROSKI R., ARMSTRONG K.W. (2000): Characterization of wheat-*Thinopyrum* partial amphiploids by meiotic analysis and genomic *in situ* hybridization. *Genome*, 43: 712-719. p.
- FEDAK G., CHEN Q., CONNER R.L., LAROCHE A., COMEAU A., ST-PIERRE C.A. (2001): Characterization of wheat-*Thinopyrum* partial amphiploids for resistance to barley yellow dwarf virus. *Euphytica*, 120: 373- 378. p.
- FELDMAN M. (2001): Origin of cultivated wheat. 3-58. p. In: BONJEAN AP, ANGUS WJ (Szerk.): *The world wheat book: A history of wheat breeding*. Paris: Larossier Publishing, 1131 p.
- FENG D.S., XIA G.M., ZHAO S.Y., CHEN F.G. (2004): Two quality-associated HMW glutenin subunits in a somatic hybrid line between *Triticum aestivum* and *Agropyron elongatum*. *Theor Appl Genet*, 110: 136-144. p.
- FERNANDEZ-CALVÍN B., BENAVENTE E., ORELLANA J. (1995): Meiotic pairing in wheat-rye derivatives detected by genomic *in situ* hybridization and C-banding - a comparative analysis. *Chromosoma*, 103: 554-558. p.
- FINCH R.A. (1983): Tissue-specific elimination of alternative whole parental genomes in one barley hybrid. *Chromosoma*, 88: 386-393. p.
- FORSBERG J., DIXELIUS C., LAGERCRANTZ U., GLIMELIUS K. (1998): UV dose-dependent DNA elimination in asymmetric somatic hybrids between *Brassica napus* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci*, 131: 65-76. p.
- FORSTER B.P. (2001): Mutation genetics of salt tolerance in barley: An assessment of Golden Promise and other semi-dwarf mutants. *Euphytica*, 120: 317-328. p.
- FRIEBE B., HATCHETT J.H., GILL B.S., SEBESTA E.E. (1991): Transfer of hessian fly resistance from rye to wheat via radiation-induced terminal and intercalary chromosomal translocations. *Theor Appl Genet*, 83: 33-40. p.
- FRIEBE B., ZELLER F.J., MUKAI Y., FORSTER B.P., BARTOS P., McINTOSH R.A. (1992a): Characterization of wheat-*Agropyron intermedium* derivatives carrying resistance against leaf, stripe and stem rust by C-banding, *in situ* hybridization and isozyme analysis. *Theor Appl Genet*, 83: 775-782. p.
- FRIEBE B., MUKAI Y., GILL B.S., CAUDERON Y. (1992b): C-banding and *in situ* hybridization analyses of *Agropyron intermedium*, a partial wheat / *Ag. intermedium* amphiploid, and six derived chromosome addition lines. *Theor Appl Genet*, 84: 899-905. p.
- FRIEBE B., JIANG J., KNOTT D.R., GILL B.S. (1994): Compensation indices of radiation-induced wheat-*Agropyron elongatum* translocations conferring resistance to leaf rust and stem rust. *Crop Sci*, 34: 400-404. p.
- FRIEBE B., JIANG J., RAUPP W.J., McINTOSH R.A., GILL B.S. (1996a): Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. *Euphytica*, 91: 59-87. p.
- FRIEBE B., TULEEN N.A., BADAIEVA E.D., GILL B.S. (1996b): Cytogenetic identification of *Triticum peregrinum* chromosomes added to common wheat. *Genome*, 39: 272-276. p.
- FRIEBE B.R., TULEEN N.A., GILL B.S. (1999): Development and identification of a complete set of *Triticum aestivum* – *Aegilops geniculata* chromosome addition lines. *Genome*, 42: 374-380. p.
- GALE M., DEVOS K. (1998): Comparative genetics in the grasses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 1971-1974. p.
- GANAL M.W., RÖDER M.S. (2007): Microsatellite and SNP markers in wheat breeding. 1–24. p. In: VARSHNEY RK, TUBEROSA R (Szerk.): *Genomics assisted crop improvement*,

vol II: *Genomics applications in crops*. Dordrecht: Springer Science and Business Media, 529 p.

- GERLACH W.L., BEDBROOK J.L. (1979): Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. *Nucleic Acids Res*, 7: 1869-1885. p.
- GEORGIEVA M., SEPSI A., TYANKOVA N., MOLNÁR-LÁNG M. (2011): Molecular cytogenetic characterization of two high protein wheat-*Thinopyrum intermedium* partial amphiploids. *J Appl Genet*, 52: 269-277. p.
- GIORGI B. (1978): A homeologous pairing mutant isolated in *Triticum durum* cv. Cappelli. *Mutat Breed Newsl*, 11: 4-5. p.
- GILL K.S., GILL B.S., ENDO T.R., MUKAI Y. (1993): Fine physical mapping of *Ph1*, a chromosome pairing regulator gene in polyploid wheat. *Genetics*, 134: 1231-1236. p.
- GÓMEZ-PANDO L., EGUILUZ A., JIMENEZ J., FALCONÍ J., HEROS AGUILAR E. (2009): Barley (*Hordeum vulgare*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*) improvement by mutation induction in Peru. 330-332. p. In: SHU QY (Szerk.): *Induced Plant Mutations in the Genomics Era*. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 458 p.
- GORHAM J., McDONNELL M., BUDREWITZ E., WYN JONES R.G. (1985): Salt Tolerance in Triticeae: Growth and Solute Accumulation in Leaves of *Thinopyrum bessarabicum*. *J Exp Bot*, 36: 1021-1031. p.
- GRIFFITHS S., SHARP R.N., FOOTE T., BERTIN I., WANOUS M., READER S., COLAS I., MOORE G. (2006): Molecular characterization of *Ph1* as a major chromosome pairing locus in polyploid wheat. *Nature*, 439: 749-752. p.
- GUSTAFSON J.P., BUTLER E., McINTYRE C.L. (1990): Physical mapping of a low-copy DNA sequence in rye (*Secale cereale* L.). *Proc Natl Acad Sci USA*, 87: 1899-1902. p.
- HAJÓS-NOVÁK M., KÖRÖSI F. (2001): Mutants obtained by chronic gamma irradiation from a Kárpátalja local soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) variety: II. M4 and M5 generations. *Cereal Res Commun*, 49: 215-220. p.
- HAN F.P., FEDAK G., BENABDELMOUNA A., ARMSTRONG K., OUELLET T. (2003): Characterization of six wheat-*Thinopyrum intermedium* derivatives by GISH, RFLP, and multicolor GISH. *Genome*, 46: 490-495. p.
- HAN F., LIU B., FEDAK G., LIU Z. (2004): Genomic constitution and variation in five partial amphiploids of wheat-*Thinopyrum intermedium* as revealed by GISH, multicolor GISH and seed storage protein analysis. *Theor Appl Genet*, 109: 1070-1076. p.
- HANDLEY L.L., NEVO E., RAVEN J.A., MARTINEZ-CARRASCO R., SCRIMGEOUR C. M., PAKNIVAT H., FORSTER B.P. (1994): Chromosome 4 controls potential water use efficiency ($\delta^{13}C$) in barley. *J Exp Bot*, 45: 1661-1663. p.
- HARLAN J.R., de WET M.J. (1971): Toward a Rational Classification of Cultivated Plants. *Taxon*, 20: 509-514. p.
- HESZKY L. (2003): A szövettényészetek *in vitro* variabilitásának okai. 134-137. p. In: DUDITS D, HESZKY L (Szerk.): *Növényi biotechnológia és géntechnológia*. Agroinform Kiadó, Budapest, 312 p.
- HITCHCOCK A.S. (1951): Descriptions of genera and species. 27-980. p. In: CHASE A (Szerk.): *Manual of Grasses of the United States*, 2nd edition. Washington: Government Printing Office, 1001 p.
- HOHMANN U., ENDO T.R., GILL K.S., GILL B.S. (1994): Comparison of genetic and physical maps of group 7 chromosomes from *Triticum aestivum* L. *Mol Gen Genet*, 245: 644-653. p.
- HSIAO C., WANG R.R.C., DEWEY D.R. (1986): Karyotype analysis and genome relationships of 22 diploid species in the tribe *Triticeae*. *Can J Genet Cytol*, 28: 109-120. p.
- HSIAO C., CHATTERTON N.J., ASAY K.H., JENSEN K.B. (1995): Phylogenetic relationships of the monogenomic species of the wheat tribe, *Triticeae* (*Poaceae*), inferred from nuclear rDNA (internal transcribed spacer) sequences. *Genome*, 38: 211-223.p.

- HUDAKOVA S., MICHALEK W., PRESTING G., TEN HOOPEN R., DOS SANTOS K., JASENCAKOVA Z., SCHUBERT I. (2001): Sequence organization of barley centromeres. *Nucleic Acids Res*, 29: 5029-5035. p.
- INTERNATIONAL BARLEY GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, MAYER K.F., WAUGH R., BROWN J.W., SCHULMAN A., LANGRIDGE P., PLATZER M., FINCHER G.B., MUEHLBAUER G.J., SATO K., CLOSE T.J., WISE R.P., STEIN N. (2012): A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature*, 491: 711-716. p.
- ISLAM A.K.M.R. (1983): Ditelosomic additions of barley chromosomes to wheat. In: *Proc. 6th Int. Wheat Genet. Symp.*, Kyoto, Japan: Maruzen Co. Ltd. 233-238. p.
- ISLAM A.K.M.R., SHEPHERD K.W., SPARROW D.H.B. (1975): Addition of individual barley chromosomes to wheat. Barley Genetics III. In: *Proc. 3rd Int. Barley Genet. Symp.*, Garching, W. Germany. 260-270. p.
- ISLAM A.K.M.R., SHEPHERD K.W., SPARROW D.H.B. (1978): Production and characterization of wheat -barley addition lines. In: *Proc. 5th Int. Wheat Genet. Symp.*, New Delhi, India, 365-371. p.
- ISLAM A.K.M.R., SHEPHERD K.W., SPARROW D.H.B. (1981): Isolation and characterization of euplasmic wheat-barley chromosome addition lines. *Heredity*, 46: 161-174. p.
- ISLAM A.K.M.R., SHEPHERD K.W. (1990): Incorporation of barley chromosomes into wheat. 128-151. p. In: BAJAJ YPS (Szerk.): *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 13. Wheat*, Berlin: Springer-Verlag, 688 p.
- ISLAM A.K.M.R., SHEPHERD K.W. (1992a): Substituting ability of individual barley chromosomes for wheat chromosomes. 1. Substitutions involving barley chromosomes 1, 3 and 6. *Plant Breeding*, 109: 141-150. p.
- ISLAM A.K.M.R., SHEPHERD K.W. (1992b): Production of wheat-barley recombinant chromosomes through induced homoeologous pairing. *Theor Appl Genet*, 83: 489-494. p.
- ISLAM A.K.M.R., SHEPHERD K.W. (1995): Substitution of barley chromosome 4 for group 4 homoeologous of wheat. In: *Proc. 8th Int. Wheat Genet. Symp.* Peking, Kina, China Agricultural Sciencetech Press, 141-144. p.
- ISLAM A.K.M.R., SHEPHERD K.W. (2000): Isolation of a fertile wheat-barley addition line carrying the entire barley chromosome 1H. *Euphytica*, 111: 145-149. p.
- JAUHAR P.P. (1990): Multidisciplinary approach to genome analysis in the diploid species, *Thinopyrum bessarabicum* and *Th. elongatum* (*Lophopyrum elongatum*), of the *Triticeae*. *Theor Appl Genet*, 80: 523-536. p.
- JAUHAR P.P. (1995): Morphological and cytological characteristics of some wheat / barley hybrids. *Theor Appl Genet*, 90: 872-877. p.
- JAUHAR P.P., PETERSON T.S. (2006): Cytological analyses of hybrids and derivatives of hybrids between durum wheat and *Thinopyrum bessarabicum*, using multicolour fluorescent GISH. *Plant Breeding*, 125: 19-26. p.
- JIANG J., FRIEBE B., GILL B.S. (1994): Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica*, 73: 199-212.
- 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): Nonisotopic *in situ* hybridization and plant genome mapping: the first 10 years. *Genome*, 37: 717-725. p.
- JOSHI B.D., SINGH D. (1979): Introduction of alien variation into bread wheat. In: *Proc. 5th Int. Wheat Genet. Symp.*, New Delhi, India, 342-348. p.
- JØRGENSEN R.B., ANDERSEN B. (1989): Karyotype analysis of regenerated plants from callus cultures of interspecific hybrids of cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet*, 77: 343-351. p.

- KAKEDA K., FUKUI K., YAMAGATA H. (1991): Heterochromatic differentiation in barley chromosomes revealed by C- and N-banding techniques. *Theor Appl Genet*, 81: 144-150. p.
- KHALATKAR A.S., BHARGAVA Y.R. (1982): 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid - a new environmental mutagen. *Mutation Res*, 103: 111-114. p.
- KIM N.S., ARMSTRONG K., KNOTT D.R. (1993): Molecular detection of *Lophopyrum* chromatin in wheat-*Lophopyrum* recombinants and their use in the physical mapping of chromosome 7D. *Theor Appl Genet*, 85: 561-567. p.
- KIMBER G., RILEY R. (1963): The relationships of the diploid progenitors of hexaploid wheat. *Can J Genet Cytol*, 5: 83-88. p.
- KISHII M., WANG R.R.C., TSUJIMOTO H. (2005): GISH analysis revealed new aspect of genomic constitution of *Thinopyrum intermedium*. *Czech J Genet Plant Breed*, 41: 91-95. p.
- KISS Á., RAJHÁTHY T. (1956): Untersuchungen über die Kreuzbarkeit innerhalb des Subtribus Triticinae. *Züchter*, 26: 127-136. p.
- KNOTT D.R. (1968): Translocations involving *Triticum* chromosomes and *Agropyron* chromosomes carrying rust resistance. *Can J Genet Cytol*, 10: 695-696. p.
- KNOTT D.R. (1980): Mutation of a gene for yellow pigment linked to *Lr19* in wheat. *Can J Genet Cytol*, 22: 651-654. p.
- KNOTT D.R., DVOŘÁK J., NANDA J.S. (1977): The transfer to wheat and homology of an *Agropyron elongatum* chromosome carrying a resistance gene to stem rust. *Can J Genet Cytol*, 19: 75-79. p.
- KOBA T., HANDA T., SHIMADA T. (1991): Efficient production of wheat-barley hybrids and preferential elimination of barley chromosomes. *Theor Appl Genet*, 81: 285-292. p.
- KOBA T., TAKUMI S., SHIMADA T. (1997): Isolation, identification and characterization of disomic and translocated barley chromosome addition lines of common wheat. *Euphytica*, 96: 289-296. p.
- KOLMER J.A., JIN Y., LONG D.L. (2007): Wheat leaf and stem rust in the United States. *Austr J Agric Res*, 58: 631-638. p.
- KREIS M., WILLIAMSON M.S., SHEWRY P.R., SHARP P., GALE M. (1988): Identification of a second locus encoding β -amylase on chromosome 2 of barley. *Genet Res*, 51: 13-16. p.
- KRUPPA K., TÜRKÖSI E., SZAKÁCS É., CSEH A., MOLNÁR-LÁNG M. (2013a): Development and Identification of a 4HL.5DL Wheat/Barley Centric Fusion Using GISH, FISH and SSR Markers. *Cereal Res Commun*, 41: 221-229. p.
- KRUPPA K., SEPSI A., SZAKÁCS É., RÖDER M.S., MOLNÁR-LÁNG M. (2013b): Characterization of a 5HS-7DS.7DL wheat/barley translocation line using mcGISH and FISH and physical mapping of the 7D chromosome using SSR markers. *J Appl Genet*, 54: 251-258. p.
- KRUSE A. (1973): *Hordeum* × *Triticum* hybrids. *Hereditas*, 73: 157-161. p.
- KRUSE A. (1974): An *in vivo/vitro* embryo culture technique. *Hereditas*, 77: 219-224. p.
- de LAAT A.M.M., GOHD W., VOGELZANG M.J.D.C. (1987): Determination of ploidy of single plants and plant populations by flow cytometry. *Plant Breed*, 99: 303-307. p.
- LANGER-SAFER P.R., LEVINE M., WARD D.C. (1982): Immunological method for mapping genes on *Drosophila* polytene chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 79: 4381-4385. p.
- LÁNGNÉ MOLNÁR M. (2006): Idegen fajú addíciók, szubsztitúciók és transzlokációk létrehozása a búzában. 33-43. p. In: DUDITS D. (Szerk.): *A búza nemesítésének tudománya. A funkcionális genomikától a vetőmagig*. Szeged: MTA Szegedi Biológiai Központ – Winter Fair Kft. 334 p.
- LAPITAN N.L.V., SEARS R.G., GILL B.S. (1984): Translocations and other karyotypic structural changes in wheat x rye hybrids regenerated from tissue culture. *Theor Appl Genet*, 68: 547-554. p.

- LAPITAN N.L.V., SEARS R.G., RAYBURN A.L., GILL B.S. (1986): Wheat-rye translocations. Detection of chromosome breakpoints by *in situ* hybridization with a biotin-labeled DNA probe. *J Hered*, 77: 415-419. p.
- LARKIN P.J., BANKS P.M., BHATI R., BRETTELL R.I.S., DAVIES P.A., RYAN S.A., SCOWCROFT W.R., SPINDLER L.H., TANNER G.J. (1989): From somatic variation to variant plants: Mechanisms and applications. *Genome*, 31: 705-711. p.
- LARKIN P.J., BANKS P.M., LAGUDAH E.S., APPELS R., XIAO C., ZHINYONG X., OHM H.W., McINTOSH R.A. (1995): Disomic *Thinopyrum intermedium* addition lines in wheat with barley yellow dwarf virus resistance and with rust resistances. *Genome*, 38: 385-394. p.
- LARKIN P.J., NEWELL M.T. (2014): Perennial wheat breeding: current germplasm and a way forward for breeding and global cooperation. In: *Perennial Crops for Food Security, Proceedings of the FAO expert workshop*. 28-30 August, 2013, Róma Olaszország. 39-53. 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.
- LE H.T., ARMSTRONG K.S., 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 Report*, 7: 150-158. p.
- LI H., WANG X. (2009): *Thinopyrum ponticum* and *Thinopyrum intermedium*: the promising source of resistance to fungal and viral diseases of wheat. *J Genet Genomics*, 36: 557-565. p.
- LI H.J., GUO B.H., LI Y.W., DU L.Q., JIA X., CHU C.C. (2000): Molecular cytogenetic analysis of intergeneric chromosomal translocations between wheat (*Triticum aestivum* L.) and *Dasypyrum villosum* arising from tissue culture. *Genome*, 43: 756-762. p.
- LI H.J., CHEN Q., CONNER R.L., GUO B., ZHANG Y., GRAF R.J., LAROCHE A., JIA X., LIU G., CHU C. (2003): Molecular characterization of a wheat –*Thinopyrum ponticum* partial amphiploid and its derivatives for resistance to leaf rust. *Genome*, 46: 906-913. p.
- LI L.H., DONG Y.S. (1994): Somaclonal variation in tissue culture of *Triticum aestivum* × *Agropyron desertorum* F₁ hybrid. *Plant Breed*, 112: 160-166. p.
- LI Z., LI B., TONG Y. (2008): The contribution of distant hybridization with decaploid *Agropyron elongatum* to wheat improvement in China. *J Genet Genomics*, 35: 451-456. p.
- LIANG G.H., WANG R.R.C., NIBLETT C.L., HEYNE E.G. (1979): Registration of B-6-37-1 wheat germplasm. *Crop Sci*, 19: 421. p.
- LIN Z.S., HUANG D.H., DU L.P., YE X.G., XIN Z.Y. (2006): Identification of wheat-*Thinopyrum intermedium* 2Ai-2 ditelosomic addition and substitution lines with resistance to barley yellow dwarf virus. *Plant Breed*, 125: 114-119. 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.
- LINC G., SEPSI A., MOLNÁR-LÁNG M. (2012): A FISH karyotype to study chromosome polymorphisms for the *Elytrigia elongata* E genome. *Cytogenet Genome Res*, 136: 138-144. p.
- LINDE-LAURSEN B. (1978): Giemsa C-banding of barley chromosomes. I. Banding pattern polymorphism. *Hereditas*, 88: 55-64. p.
- LINDE-LAURSEN I., VON BOTHMER R. (1988): Elimination and duplication of particular *Hordeum vulgare* chromosomes in aneuploid interspecific *Hordeum* hybrids. *Theor Appl Genet*, 76: 897-908. p.

- LINDE-LAURSEN I., VON BOTHMER R., JACOBSEN N. (1992): Relationships in the genus *Hordeum*: Giemsa C-banded karyotypes. *Hereditas*, 116: 111-116. p.
- LINDE-LAURSEN I., HESLOP-HARRISON J.S., SHEPHERD K.W., TAKETA S. (1997): The barley genome and its relationship with the wheat genomes. A survey with an internationally agreed recommendation for barley chromosome nomenclature. *Hereditas*, 126: 1-16. p.
- LINNAINMAA K. (1984): Induction of sister chromatid exchange by the peroxisome proliferators 2,4-D, MCPA, and clofibrate *in vivo* and *in vitro*. *Carcinogenesis*, 5: 703-707. p.
- LIPAVSKY J., PETR J., HRADECKÁ D. (2002): Production Process in Old and Modern Spring Barley Varieties. *Die Bodenkultur*, 53: 19. p.
- LIU J., CHANG Z., ZHANG X., YANG Z., LI X., JIA J., ZHAN H., GUO H., WANG J. (2013): Putative *Thinopyrum intermedium*-derived stripe rust resistance gene *Yr50* maps on wheat chromosome arm 4BL. *Theor Appl Genet*, 126: 265-274. p.
- LIU S., GAO X., XIA G. (2008): Characterizing HMW-GS alleles of decaploid *Agropyron elongatum* in relation to evolution and wheat breeding. *Theor Appl Genet*, 116: 325-334. p.
- LIU S., YU L.X., SINGH R.P., JIN Y., SORRELLS M.E., ANDERSON J.A. (2010): Diagnostic and co-dominant PCR markers for wheat stem rust resistance genes *Sr25* and *Sr26*. *Theor Appl Genet*, 120: 691-697. p.
- LIU W., DANILOVA T.V., ROUSE M.N., BOWDEN R.L., FRIEBE B., GILL B.S., PUMPHREY M.O. (2013): Development and characterization of a compensating wheat-*Thinopyrum intermedium* Robertsonian translocation with *Sr44* resistance to stem rust (Ug99). *Theor Appl Genet*, 126: 1167-1177. p.
- LIU Z., LI D.Y., ZHANG X.Y. (2007): Genetic relationships among five basic genomes St, E, A, B and D in *Triticeae* revealed by genomic southern and *in situ* hybridization. *J Integr Plant Biol*, 49: 1080-1086. p.
- LIU Z.W., WANG R.R.C. (1993): Genome analysis of *Elytrigia caespitosa*, *Lophopyrum nodosum*, *Pseudoroegneria geniculata* ssp. *scythica*, and *Thinopyrum intermedium*. *Genome*, 36: 102-111. p.
- LÖVE A. (1980): Chromosome number reports LXVI. *Poaceae-Triticeae-Americanae*. *Taxon*, 29: 163-169. p.
- LÖVE A. (1984): Conspectus of the *Triticeae*. *Feddes Repert*, 95: 425-521. p.
- LUKASZEWSKI A.J. (1993): Reconstruction in wheat of complete chromosomes 1B and 1R from the 1RS/1BL translocation of Kavkaz origin. *Genome*, 36: 821-824. p.
- LUKASZEWSKI A.J. (1997): Further manipulation by centric misdivision of the 1RS.1BL translocation in wheat. *Euphytica*, 94: 257-261. p.
- LUKASZEWSKI A.J. (2000): Manipulation of the 1RS.1BL translocation in wheat by induced homoelogenous recombination. *Crop Sci*, 40: 216-225. p.
- LUKASZEWSKI A.J. (2006): Registration of three germplasms of durum wheat with introgressions from *Agropyron elongatum* and *Secale cereale*. *Crop Sci*, 46: 1404-1405. p.
- LUKASZEWSKI A.J., CURTIS C.A. (1993): Physical distribution of recombination in B-genome chromosomes of tetraploid wheat. *Theor Appl Genet*, 86: 121-127. p.
- MAGO R., BARIANA H.S., DUNDAS I.S., SPIELMEYER W., LAWENCE G.J., PRYOR A.J., ELLIS J.G. (2005): Development of PCR markers for the selection of wheat stem rust resistance genes *Sr24* and *Sr26* in diverse wheat germplasm. *Theor Appl Genet*, 111: 496-504. p.
- MAHELKA V., KOPECKÝ D., PAŠTOVÁ L. (2011): On the genome constitution and evolution of intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*: *Poaceae*, *Triticeae*). *BMC Evol Biol*, 11: 127
- MAHELKA V., KOPECKÝ D., BAUM B.R. (2013): Contrasting patterns of evolution of 45S and 5S rDNA families uncover new aspects in the genome constitution of the

- agronomically important grass *Thinopyrum intermedium* (Triticeae). *Mol Biol Evol*, DOI: 10.1093/molbev/mst106.
- MALYSHEVA L., SJAKSTE T., MATZK F., RÖDER M., GANAL M. (2003): Molecular cytogenetic analysis of wheat-barley hybrids using genomic *in situ* hybridization and barley microsatellite markers. *Genome*, 46: 314-322. p.
- MARSTON A.L., AMON A. (2004): Meiosis: cell-cycle controls shuffle and deal. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 5: 983-997. p.
- MATTERN P.J., MORRIS R., SCHMIDT J.W., JOHNSON V.A. (1973): Location of genes for kernel properties in the wheat variety 'Cheyenne' using chromosome substitution lines. In: *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.*, University of Missouri, Columbia, MO, USA, 703-707. p.
- MÁZIK-TÓKEI K., FÜREDI J. (1991): Studies on quantitative characters of pea varieties affected by acute and recurrent gamma irradiation. *Acta Agron Hung*, 40: 129-138. p.
- McINTOSH R.A., DYCK P.L., GREEN G.J. (1977): Inheritance of leaf rust and stem rust resistances in wheat cultivars Agent and Agatha. *Aust J Agric Res*, 28: 37-45. 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.
- MESTERHÁZY A., BARTOŠ P., GOYEAU H., NIKS R., CSŐSZ M., ANDERSEN O., CASULLI F., ITTU M., JONES E., MANISTERSKI J., MANNINGER K., PASQUINI M., RUBIALES D., SCHACHERMAYR G., STRZEMBICKA A., SZUNICS L., TODOROVA M., UNGER O., VANCO B., VIDA GY., WALTHER U. (2000): European virulence survey for leaf rust in wheat. *Agronomie*, 20: 793-804. p.
- MILLER T.E., READER S.M., CHAPMAN V. (1981): The addition of *Hordeum chilense* chromosomes in wheat. In: *Induced Variability in Plant Breeding, Proc. EUCARPIA Symp.*, Wageningen, Hollandia, 79-81. p.
- MILLER T.E., READER S.M., PURDIE K.A., KING I.P. (1994): Determination of the frequency of wheat-rye chromosome pairing in wheat-rye hybrids and without chromosome 5B. *Theor Appl Genet*, 89: 255-258. p.
- MOHANDAS T., GRANT W.F. (1972): Cytogenetic effects of 2,4-D and amitrole in relation to nuclear volume and DNA content in some higher plants. *Can J Genet Cytol*, 14: 773-783. p.
- MOLNÁR I., SCHNEIDER A., MOLNÁR-LÁNG M. (2005): Demonstration of *Aegilops biuncialis* chromosomes in a wheat background by genomic *in situ* hybridization (GISH) and identification of U chromosomes by FISH using GAA sequences. *Cereal Res Commun*, 33: 673-680. p.
- MOLNÁR I., LINC G., DULAI S., D-NAGY E., 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.
- MOLNÁR I., BENAVENTE E., MOLNÁR-LÁNG M. (2009): Detection of intergenomic chromosome rearrangements in irradiated *Triticum aestivum* – *Aegilops biuncialis* amphiploids by multicolour genomic *in situ* hybridization. *Genome*, 52: 156-165. p.
- MOLNÁR I., KUBALÁKOVÁ M., ŠIMKOVÁ H., CSEH A., MOLNÁR-LÁNG M., DOLEŽEL J. (2011): Chromosome isolation by flow sorting in *Aegilops umbellulata* and *Ae. comosa* and their allotetraploid hybrids *Ae. biuncialis* and *Ae. geniculata*. *PLoS ONE*, 6: e27708
- MOLNÁR-LÁNG M., SUTKA J., BARNABÁS B., SÁGI L., BELEA A. (1985): Production of barley (*Hordeum vulgare* L.) × wheat (*Triticum aestivum* L.) hybrids. *Növénytermelés*, 34:

257-262. p.

- MOLNÁR-LÁNG M., GALIBA G., KOVÁCS G., SUTKA J. (1991): Changes in the fertility and meiotic behaviour of barley (*Hordeum vulgare*) × wheat (*Triticum aestivum*) hybrids regenerated from tissue cultures. *Genome*, 34: 261-266. p.
- MOLNÁR-LÁNG M., SUTKA J. (1994): The effect of temperature on seed set and embryo development in reciprocal crosses of wheat and barley. *Euphytica*, 78: 53-58. p.
- MOLNÁR-LÁNG M., LINC G., SUTKA J. (1996a): Transfer of the recessive crossability allele *kr1* from Chinese Spring into the winter wheat variety Martonvásári 9. *Euphytica*, 90: 301-305. p.
- MOLNÁR-LÁNG M., KŐSZEGI B., LINC G., SUTKA J. (1996b): Búza (*Triticum aestivum* L.)/*Triticum timopheevii* Zhuk. addíció, szubsztitúció és búza/rozs transzlokáció kimutatása C-sávzással és *in situ* hibridizációval. *Növénytermelés*, 45: 237-245. p.
- MOLNÁR-LÁNG M., LINC G., LOGOJAN A., SUTKA J. (2000a): 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., FRIEBE B.R., SUTKA J. (2000b): 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., NOVOTNY C., LINC G., D. NAGY E. (2005): Changes in the meiotic pairing behaviour of a winter wheat – winter barley hybrid maintained for a long term in tissue culture, and tracing the barley chromatin in the progenies using GISH and SSR markers. *Plant Breeding*, 124: 247-252. p.
- MOLNÁR-LÁNG M., CSEH A., SZAKÁCS É., MOLNÁR I. (2010): Development of a wheat genotype combining the recessive crossability alleles *kr1kr1kr2kr2* and the 1BL.1RS translocation, for the rapid enrichment of 1RS with new allelic variation. *Theor Appl Genet*, 120: 1535-1545. p.
- MOLNÁR-LÁNG M., KRUPPA K., CSEH A., BUCSI J., LINC G. (2012): Identification and phenotypic description of new wheat – six-rowed winter barley disomic additions. *Genome*, 55: 302-311. p.
- MOLNÁR-LÁNG M., LINC G., SZAKÁCS É. (2014): Wheat-barley hybridization: the last 40 years. *Euphytica*, 195: 315-329. p.
- MONNEVEUX P., REYNOLDS M.P., GONZALEZ-AGUILAR J., SINGH R.P. (2003): Effect of the 7DL.7Ag translocation from *Lophopyrum elongatum* on wheat yield and related morphological traits under different environments. *Plant Breeding*, 122: 379-384. p.
- MUJEEB-KAZI A. (1981): Apomictic progeny derived from intergeneric *Hordeum-Triticum* hybrids. *Heredity*, 72: 284-285. 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 as probes. *Genome*, 36: 489-494. p.
- MULLER H.J. (1927): Artificial transmutation of the gene. *Science*, 66: 84-87. p.
- MURAMATSU M. (1990): Cytogenetics of decaploid *Agropyron elongatum* (*Elytrigia elongata*) (2n = 70). I. Frequency of decavalent formation. *Genome*, 33: 811-817. 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.
- 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.
- NASUDA S., HUDAKOVA S., SCHUBERT I., HOUBEN A., ENDO T.R. (2005): Stable barley chromosomes without centromeric repeats. *Proc Nati Acad Sci USA*, 102: 9842-9847. p.

- NEVSKI S.A. (1934): Агростологические этюды. IV. О системе трибы *Hordeae* Benth. (Агростологические этюды. IV. А *Hordeae* Benth. törzs rendszertanáról). Trudy Botanicheskogo Instituta Adakademii Nauk SSSR. Ser. 1, *Flora I Sistematika Vysshikh Rastenii*, 1: 9-32. p.
- NIU Z., KLINDWORTH D. L., YU G., FRIESEN T.L., CHAO S., JIN Y., CAI X., OHM J.-B., RASMUSSEN J.B., XU S.S. (2014): Development and characterization of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr43* derived from *Thinopyrum ponticum*. *Theor Appl Genet*, 127: 969-980. p.
- NOVER I. (1957): Sechsjährige Beobachtungen über die physiologische Spezialisierung des echten Mehltaus (*Erysiphe graminis* DC.) von Weizen und Gerste in Deutschland. *Phytopathologische Zeitschrift*, 31: 85-107. p.
- OBERTHUR L., DYER W., ULLRICH S.E., BLAKE T.K. (1995): Genetic analysis of seed dormancy in barley (*Hordeum vulgare* L.). *J Quant Trait Loci*, 1.5.
- OKAMOTO M. (1957): Asynaptic effect of chromosome V. *Wheat Inf. Serv.* 5: 6. p.
- OLIVER R.E., XU S.S., STACK R.W., FRIESEN T.L., JIN Y., CAI X. (2006): Molecular cytogenetic characterization of four partial wheat–*Thinopyrum ponticum* amphiploids and their reaction to *Fusarium* head blight, tan spot, and *Stagonospora nodorum* blotch. *Theor Appl Genet*, 112: 1473-1479. p.
- ÖSTERGREN G. (1940): Cytology of *Agropyron junceum*, and *A. repens* and their spontaneous hybrids. *Hereditas*, 26: 305-316. p.
- PARDUE M.L., GALL J.G. (1969): Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 64: 600-604. p.
- PAVLICA M., PAPEŠ D., NAGY B. (1991): 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid causes chromatin and chromosome abnormalities in plant cells and mutation in cultured mammalian cells. *Mutation Research*, 263: 77-81. 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., LINDE-LAURSEN I. (1994): Chromosomal locations of four minor rDNA loci and a marker microsatellite sequence in barley. *Chromosome Res*, 2: 65-71. 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.
- PERSHINA L.A., NUMEROVA O.M., BELOVA L.I., DEVYATKINA E. P. (1993): Production and characterization of barley - wheat alloplasmic and additional lines. *Cereal Res Commun*, 21: 277-283. p.
- PHILLIPS R.L., KAEPLERT S.M., OLHOFT P. (1994): Genetic instability of plant tissue cultures: Breakdown of normal controls. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91: 5222-5226. p.
- POLGÁRI D., CSEH A., SZAKÁCS É., JÄGER K., MOLNÁR-LÁNG M., SÁGI L. (2014): High-frequency generation and characterization of intergeneric hybrids and haploids from new wheat–barley crosses. *Plant Cell Rep*, 33: 1323-1331. p.
- PICKERING R.A. (1989): Plant regeneration and variants from calli derived from immature embryos of diploid barley (*Hordeum vulgare* L.) and *H. vulgare* L. × *H. bulbosum* L. crosses. *Theor Appl Genet*, 78: 105-112. p.
- PRINS R., MARAIS G.F., PRETORIUS Z.A., JANSE B.J.H., MARAIS A.S. (1997): A study of modified forms of the *Lr19* translocation of common wheat. *Theor Appl Genet*, 95: 424-430. p.
- PRINS R., GROENEWALD J.Z., MARAIS, G.F., SNAPE, J.W., AND KOEBNER, R.M.D. (2001): AFLP and STS tagging of *Lr19*, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. *Theor Appl Genet*, 103: 618-624. p.
- PROCUNIER J.D., TOWNLEY-SMITH T.F., FOX S., PRASHAR S., GRAY M., KIM W.K., CZARNECKI E., DYCK P.L. (1995): PCR-based RAPD/DGGE markers linked to leaf

- rust resistance genes *Lr29* and *Lr25* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Genet Breed*, 49: 92-97. p.
- PROCUNIER J.D.: Disease resistance. Leaf Rust Resistance: *Lr29* - *Lr25*. Marker assisted selection in wheat. <http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr29/> Keresőprogram: Google. Kulcsszavak: *Lr29* MASwheat, lekérdezés időpontja: 2015.11.04.
- QI L.L., ECHALIER B., FRIEBE B., GILL B.S. (2003): Molecular characterization of a set of wheat deletion stocks for using in chromosome bin mapping of ESTs. *Funct Integr Genomics*, 3: 39-55. p.
- QI L., FRIEBE B., ZHANG P., GILL B.S. (2007): Homoeologous recombination, chromosome engineering and crop improvement. *Chromosome Res*, 15: 3-19. p.
- RAJARAM S. (2001): Prospects and promise of wheat breeding in the 21st century. *Euphytica*, 119: 3-15. p.
- RAMBURAN V.P., PRETORIUS Z.A., LOUW J.H., BOYD L.A., SMITH P.H., BOSHOFF W.H.P., PRINS R. (2004): A genetic analysis of adult plant resistance to stripe rust in the wheat cultivar Kariega. *Theor Appl Genet*, 108: 1426-1433. p.
- RAYBURN A.L., GILL B.S. (1986): Molecular identification of the D-genome chromosomes of wheat. *J Hered*, 77: 253-255. p.
- RIERA-LIZARAZU O., VALES M.I., ANANIEV E.V., RINES H.W., PHILLIPS R.L. (2000): Production and characterization of maize chromosome 9 radiation hybrids derived from an oat–maize addition line. *Genetics*, 156: 327-339. p.
- RILEY R. (1960): The diploidization of polyploid wheat. *Heredity*, 15: 407-429. p.
- RILEY R. (1966a): Cytogenetics and wheat breeding. *Contemp Agric*, 11-12: 107-117. p.
- RILEY R. (1966b): The genetic regulation of meiotic behaviour in wheat and its relatives. In: *Proc. 2nd Int. Wheat Genetics Symp.*, Lund, Svédország, *Hereditas (Suppl)*, 2: 395-408. p.
- RILEY R., CHAPMAN V. (1958): Genetic control of cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. *Nature*, 182: 713-715. p.
- RILEY R., KIMBER G., CHAPMAN V. (1961): Origin of the genetic control of the diploid-like meiotic behaviour of polyploid wheat. *Heredity*, 52: 22-26. p.
- RILEY R., KEMPANA C. (1963): The homoeologous nature of the non-homologous meiotic pairing in *Triticum aestivum* deficient for chromosome V (5B). *Heredity*, 18: 287-306. p.
- RILEY R., LAW C.N. (1965): Genetic variation in chromosome pairing. *Adv Genet*, 13: 57-114. p.
- RILEY R., KIMBER G. (1966): The transfer of alien genetic variation to wheat. Rep. Plant Breed. Inst. Cambridge 6-36. p.
- ROA F., GUERRA M. (2012): Distribution of 45S rDNA sites in chromosomes of plants: Structural and evolutionary implications. *BMC Evol Biol*, 12: 225.
- RÖDER M.S., PLASCHKE J., KÖNIG S.U., BÖRNER A., SORRELS M.E., TANKSLEY S.D., GANAL M.W. (1995): Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol Gen Genet*, 246: 327-333. p.
- RÖDER M.S., KORZUN V., GILL B.S., GANAL M.W. (1998): The physical mapping of microsatellite markers in wheat. *Genome*, 41: 278-283. p.
- SÁNCHEZ-MORÁN E., BENAVENTE E., ORELLANA J. (1999): Simultaneous identification of A, B, D and R genomes by genomic *in situ* hybridization in wheat-rye derivatives. *Heredity*, 83: 249-252. p.
- SCARASCIA-MUGNOZZA G.T., D'AMATO F., AVANZI S., BAGNARA D., BELLI M.L., BOZZINI A., BRUNORI A., CERVIGNI T., DEVREUX M., DONINI B., GIORGI B., MARTINI G., MONTI L.M., MOSCHINI E., MOSCONI C., PORRECA G., ROSSI L. (1993): Mutation breeding for durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum* Desf.) improvement in Italy. *Mut Breed Rev*, 10: 1-28. p.
- SCHACHERMAYR G.M., MESSMER M.M., FEUILLET C., WINZELER H., WINZELER M., KELLER B. (1995): Identification of molecular markers linked to the *Agropyron*

- elongatum*-derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat. *Theor Appl Genet*, 90: 982-990. p.
- SCHILDKRAUT C.L., MARMUR J., DOTY P. (1961): The formation of hybrid DNA molecules and their use in studies of DNA homologies. *J Mol Biol*, 3: 595-617. p.
- SCHNEERMAN M.C., LEE W.S., DOYLE G., WEBER D.F. (1998): RFLP mapping of the centromere of chromosome 4 in maize using isochromosomes for 4S. *Theor Appl Genet* 96: 361-366. p.
- SCHNEIDER A., LINC G., MOLNÁR-LÁNG M. (2003): Fluorescence *in situ* hybridization polymorphism using two repetitive DNA clones in different cultivars of wheat. *Plant Breeding*, 122: 396-400. p.
- SCHNEIDER A., LINC G., MOLNÁR 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.
- SCHNURBUSCH T., PAILLARD S., SCHORI A., MESSMER M., SCHACHERMAYR G., WINZELER M., KELLER B. (2004): Dissection of quantitative and durable leaf rust resistance in Swiss winter wheat reveals a major resistance QTL in the *Lr34* chromosomal region. *Theor Appl Genet*, 108: 477-484. p.
- SCHUBERT I., SHI F., FUCHS J., ENDO T.R. (1998): An efficient screening for terminal deletions and translocations of barley chromosomes added to common wheat. *Plant J*, 14: 489-495. p.
- SCHWARZACHER T., HESLOP-HARRISON P. (2000): Practical *in situ* hybridization. BIOS Scientific Publishers, Oxford. 203 p.
- SCHWARZACHER T., LEITCH A.R., BENNETT M.D., HESLOP-HARRISON J.S. (1989): *In situ* localization of parental genomes in a wide hybrid. *Ann Bot-London*, 64: 315-324. 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. (1973): *Agropyron*-wheat transfers induced by homoeologous pairing. In: *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.* University of Missouri, Columbia MO, USA, 191- 199. p.
- SEARS E.R. (1977): An induced mutant with homeologous pairing in common wheat. *Can J Genet Cytol*, 19: 585-593. p.
- SEARS E.R. (1981): Transfer of alien genetic material to wheat. 75-89. p. In: EVANS LT, PEACOK WJ (Szerk.): *Wheat science – Today and Tomorrow*. Cambridge: Cambridge University Press, 304 p.
- SEPSI A., MOLNÁR 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.
- SEPSI A., MOLNÁR I., MOLNÁR-LÁNG M. (2009): Physical mapping of a 7A.7D translocation in the wheat–*Thinopyrum ponticum* partial amphiploid BE-1 using multicolour genomic *in situ* hybridization and microsatellite marker analysis. *Genome*, 52: 748-754. p.
- SETHI G.S., FINCH R.A., MILLER T.E. (1986): A bread wheat (*Triticum aestivum*) × cultivated barley (*Hordeum vulgare*) hybrid with homoeologous chromosome pairing. *Can J Genet Cytol*, 28: 777-782. p.
- SHARMA D., KNOTT D.R. (1966): The transfer of leaf rust resistance from *Agropyron* to *Triticum* by irradiation. *Can J Genet Cyt*, 8: 137-143. p.
- SHARMA H., GILL B.S. (1983): Current status of wide hybridization in wheat. *Euphytica*, 32: 17-31. p.
- SHARMA H.C., OHM H., GOULART L., LISTER R., APPELS R., BENLHABIB O. (1995): Introgression and characterization of barley yellow dwarf virus resistance from *Thinopyrum intermedium* into wheat. *Genome*, 38: 406-413. p.
- SHARP P.J., KREIS M., SHEWRY P.R., GALE D. (1988): Location of β -amylase sequences in wheat and its relatives. *Theor Appl Genet*, 75: 286-290. p.

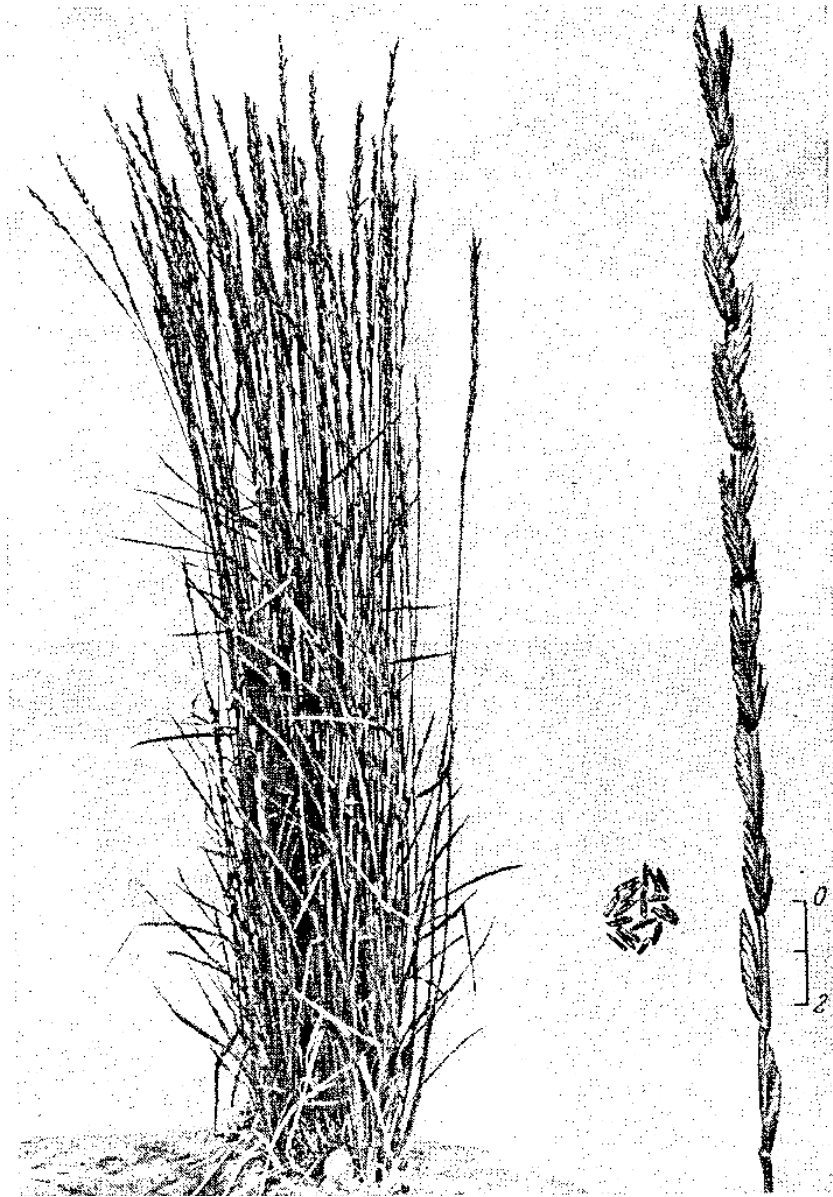
- SHEPHERD K.W., ISLAM A.K.M.R. (1981): Wheat: barley hybrids - The first eighty years. 107-128. p. In: EVANS LT, PEACOCK WJ (Szerk.): *Wheat science -Today and tomorrow*, Cambridge: Cambridge University Press, 304 p.
- SHI F., ENDO T.R. (2000): Genetic induction of chromosomal rearrangements in barley chromosome 7H added to common wheat. *Chromosoma*, 109: 358-363. p.
- SHIMADA T., KOBA T., OTANI M., NIIZEKI H. (1987): Morphology, meiosis, and *in vitro* propagation of barley-wheat hybrids. In: *Barley genetics V. Proc. 5th Int. Barley Genet. Symp.* Okayama Japán, 343-350. p.
- SMITH E.L., SCHLEHUBER H.C., YOUNG J.R., EDWARDS L.H. (1968): Registration of Agent wheat. *Crop Sci*, 8: 511-512. p.
- SOMERS D.J., ISAAC P., EDWARDS K. (2004): A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 109: 1105-1114. p.
- SORRELLS M.E., La ROTA M., BERMUDEZ-KANDIANIS C.E., GREENE R.A., KANTETY R., MUNKVOLT J.D. et al. (2003): Comparative DNA sequence analysis of wheat and rice genomics. *Genome Res*, 13: 1818-1827. p.
- SOURDILLE P., SINGH S., CADALEN T., BROWN-GUEDIRA G.L., GAY G., QI L., GILL B.S., DUFOUR P., MURIGNEUX A., BERNARD M. (2004): Microsatellite based deletion bin system for the establishment of genetic-physical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Funct Integr Genomics*, 4: 12–25. 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.
- STADLER L.J. (1928): Mutations in barley induced by X-rays and radium. *Science*, 68: 186-187. p.
- STAKMAN E.C., STEWART D.M., LOEGERING W.Q. (1962): Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service., Washington DC, USA. E617 53. p.
- SUENAGA K., SINGH R.P., HUERTA-ESPINO J., WILLIAM H.M. (2003): Microsatellite markers for genes *Lr34/Yr18* and other quantitative trait loci for leaf and stripe rust resistance in bread wheat. *Phytopathology*, 93: 881-890. p.
- SUN D., FANG J., SUN G. (2009): Inheritance of genes controlling supernumerary spikelet in wheat line 51885. *Euphytica*, 167: 173-179. p.
- SUTKA J. (2004): Növényi citogenetika. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 232 p.
- SYBENGA J. (1992): *Cytogenetics in Plant Breeding. Monographs on Theoretical and Applied Genetics, Vol. 17.* Springer, Berlin, Heidelberg, and New York. 469 p.
- SZAKÁCS É., MOLNÁR-LÁNG M. (2007): Development and molecular cytogenetic identification of new winter wheat – winter barley ('Martonvásári 9 kr1'-'Igr1') 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 9 kr1' – 'Igr1' addition set. *Genome*, 53: 35-44. p.
- SZAKÁCS É., KRUPPA K., MOLNÁR I., MOLNÁR-LÁNG, M. (2010): Induction of wheat/barley translocations by irradiation and their detection using fluorescence *in situ* hybridization *Acta Agron Hung*, 58: 203-209. p.
- TAKAHASHI R., YASUDA S. (1971): Genetics of earliness and growth habit in barley. In: *Proc. 2nd Int. Barley Genet. Symp.* Washington State University Press, Pullmann WA, USA, 388-408. p.
- TAKETA S., TAKEDA K. (1998): Sterility of wheat caused by the addition of barley chromosome 1H and its genetic analysis. In: *Cytogenetics and Evolution, Proc. 9th Int. Wheat Genet. Symp.*: University of Saskatchewan, University Expression Press, Saskatoon, Kanada, 72-74. p.

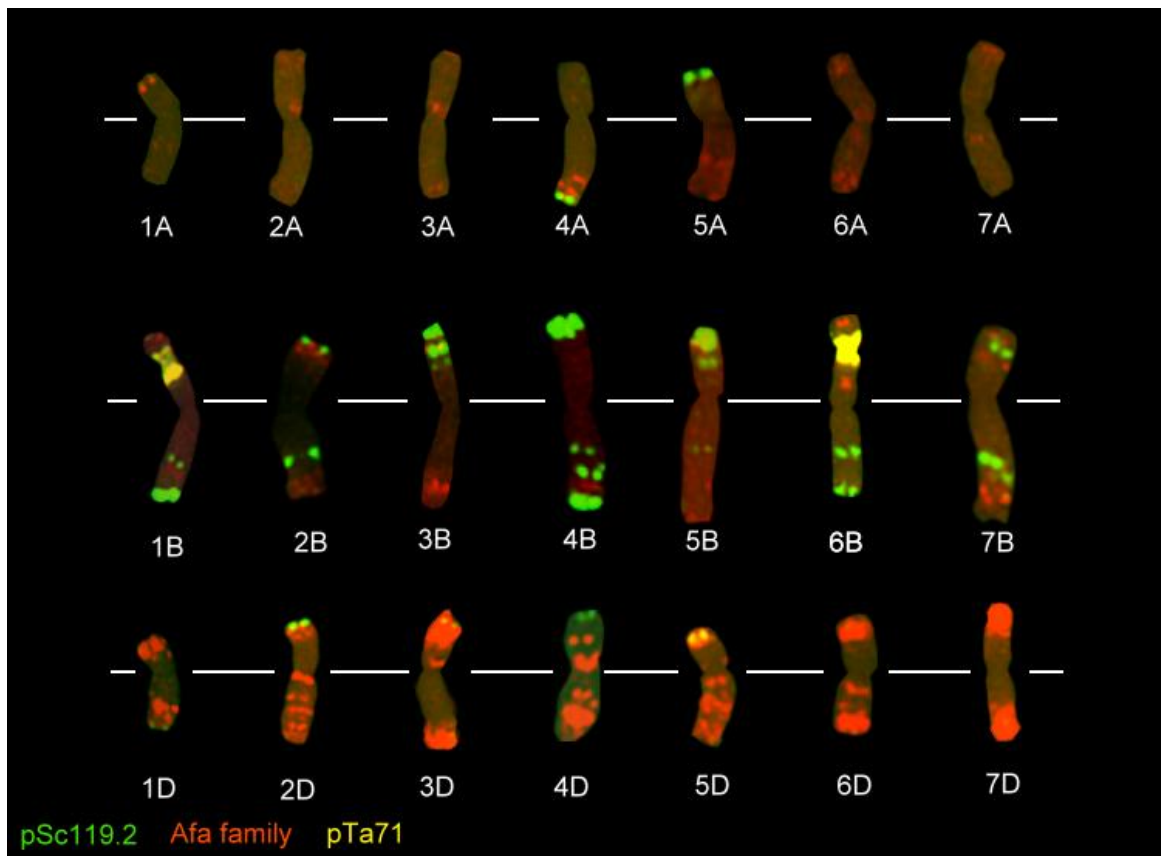
- TAKETA S., TAKAHASHI H., TAKEDA K. (1998): Genetic variation in barley of crossability with wheat and its quantitative trait loci analysis. *Euphytica*, 103: 187-193. p.
- TAKETA S., HARRISON G.E., HESLOP-HARRISON J. (1999): Comparative physical mapping of the 5S and 18S – 25S rDNA in nine wild *Hordeum* species and cytotypes. *Theor Appl Genet*, 98: 1-9. p.
- TAKETA S., ANDO H., TAKEDA K., VON BOTHMER R. (2001): Physical locations of 5S and 18S-25S rDNA in Asian and American diploid *Hordeum* species with the I genome. *Heredity*, 86: 522-530. p.
- TAKETA S., CHODA M., OHASHI R., ICHII M., TAKEDA K. (2002): Molecular and physical mapping of a barley gene on chromosome arm 1HL that causes sterility in hybrids with wheat. *Genome*, 45: 617-625. p.
- TAKETA S., ANDO H., TAKEDA K., ICHII M., VON BOTHMER R. (2005): Ancestry of American polyploid *Hordeum* species with the I genome inferred from 5S and 18S-25S rDNA. *Ann Bot*, 96: 23-33. p.
- TALBERT L.E., BRUCKNER P.L., SMITH L.Y., SEARS R., MARTIN, T.J. (1996): Development of PCR markers linked to resistance to wheat streak mosaic virus in wheat. *Theor Appl Genet*, 93:463-467. p.
- TANG S., LI Z., JIA X., LARKIN P.J. (2000): Genomic *in situ* hybridization (GISH) analyses of *Thinopyrum intermedium*, its partial amphiploid Zhong 5, and disease-resistant derivatives in wheat. *Theor Appl Genet*, 100: 344-352. p.
- TANG Y., SORRELS M.E., KOCHIAN L.V., GARVIN D.F. (1999): Identification of RFLP markers linked to the barley aluminium tolerance gene *Alp*. *Crop Sci*, 40: 778-782. p.
- THOMAS J.B., MUJEEB K.A., RODRIGUEZ R., BATES L.S. (1977): Barley x wheat hybrids. *Cereal Res Commun*, 5: 181-188. p.
- TISCHNER T., KŐSZEGI B., VEISZ O. (1997): Climatic programmes used in the Martonvásár phytotron most frequently in recent years. *Acta Agron Hung*, 45: 85-104. p.
- TRETHOWAN R.M., MUJEEB-KAZI A. (2008): Novel germplasm resources for improving environmental stress tolerance of hexaploid wheat. *Crop Sci*, 48: 1255-1265. p.
- TSITSIN N.V. (1965): Remote hybridisation as a method of creating new species and varieties of plants. *Euphytica*, 14: 326-330. p.
- TSUJIMOTO H., MUKAI Y., AKAGAWA K., NAGAKI K., FUJIGAKI J., YAMAMOTO M., SASAKUMA T. (1997): Identification of individual barley chromosomes based on repetitive sequences: Conservative distribution of Afa-family repetitive sequences on the chromosomes of barley and wheat. *Genes Genet Syst*, 72: 303-309. p.
- UNRAU J., PEARSON C., KUSPIRA J. (1956): Chromosome substitution in common wheat. *Can J Bot*, 34: 629-640. p.
- VAHIDY A.A., JAHAN B. (1995): Intervarietal polymorphism of constitutive heterochromatin in *Hordeum vulgare* L. *Pakistan J Biol*, 27: 417-423. p.
- VERUSHKINE S., SHECHURDINE A. (1933): Hybrids between wheat and couch grass. Fertile *Triticum-Agropyrum* hybrids of great scientific and practical interest. *Heredity*, 24: 329-335. p.
- VOGEL K.P., ARUMUGANATHAN K., JENSEN K.B. (1999): Nuclear DNA content of perennial grasses of the *Triticeae*. *Crop Sci*, 39: 661-667. p.
- VOSA C.G. (1976): Chromosome banding patterns in cultivated and wild barleys (*Hordeum* spp). *Heredity*, 37: 395-403. p.
- WALL A.M., RILEY R., GALE M.D. (1971): The position of a locus on chromosome 5B of *Triticum aestivum* affecting homoeologous meiotic pairing. *Genet Res*, 18: 329-339. p.
- WANG G., MIYASHITA N.T., TSUNEWAKI K. (1997): Plasmon analyses of *Triticum* (wheat) and *Aegilops*: PCR single-stand conformational polymorphism (PCR-SSCP) analyses of organeller DNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 14570-14577. p.
- WANG R.R.C. (1985): Genome analysis of *Thinopyrum bessarabicum* and *T. elongatum*. *Can J Genet Cytol*, 27: 722-728. p.

- WANG R.R.C. (1992): Genome relationships in the perennial *Triticeae* based on diploid hybrids and beyond. *Hereditas*, 116: 133-136. p.
- WANG R.R.C. (2011): *Agropyron* and *Psathyrostachys*. 77-108. p. In: KOLE C (Szerk.): *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Cereals*. Berlin: Springer-Berlin-Heidelberg, 497 p.
- WANG R.R.C., MARBURGER J.E., HU C.J. (1991): Tissue-culture-facilitated production of aneuploid haploid *Thinopyrum ponticum* and amphiploid *Hordeum violaceum* × *H. bogdenii* and their use in phylogenetic studies. *Theor Appl Genet*, 81: 151-156. p.
- WANG R.R.C., VON BOTHMER R., DVOŘÁK J., FEDAK G., LINDE-LAURSEN I., MURAMATSU M. (1995): Genome symbols in the *Triticeae* (*Poaceae*). In: *Proc. 2nd Int. Triticeae Symp.: Genomes, Chromosomes, & Genes, and the Concept of Homology.*, Utah State University, Logan UT, USA, 29-34. p.
- WANG R.R.C., LU B. (2014): Biosystematics and evolutionary relationships of perennial *Triticeae* species revealed by genomic analyses. *J Syst Evol*, 52: 697-705. p.
- WEBER D., HELENTJARIS T. (1989): Mapping RFLP loci in maize using B-A translocations. *Genetics*, 121: 583-590. p.
- WERNER J.E., ENDO T.R., GILL B.S. (1992): Toward a cytogenetically based physical map of the wheat genome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89: 11307-11311. p.
- WHELAN E.D.P. (1988): Transmission of a chromosome from decaploid *Agropyron elongatum* that confers resistance to the wheat curl mite in common wheat. *Genome*, 30: 293-298. p.
- WILLIAM M.D.H.M., MUJEEB-KAZI A. (1995): Biochemical and molecular diagnostics of *Thinopyrum bessarabicum* chromosomes in *Triticum aestivum* germ plasm. *Theor Appl Genet*, 90: 952-956. p.
- WOJCIECHOWSKA B., PUDELSKA H. (1993): Hybrids from reciprocal barley-wheat crosses. *Genet Pol*, 34: 1-13. p.
- XUE S., ZHANG Y., XU J. (1988): Morphology and cytology of the fertile alloplasmist *Hordeum vulgare* (L.) × *Triticum aestivum* (L.). *Scientia Agricultura Sinica*, 21: 46-50. p.
- XUE-GUI Y., SHANG X.W., PANG B.S., SONG J.R., CAO S.Q., LI J.C., ZHANG X.Y. (2006): Molecular mapping of two novel stripe rust resistant genes *YrTp1* and *YrTp2* in A-3 derived from *Triticum aestivum* × *Thinopyrum ponticum*. *Agricultural Sciences in China*, 5: 483-490. p.
- YA-PING Y., XIAO C., SI-HE X., ISLAM A.K.M.R., ZHI-YONG X. (2003): Identification of wheat-barley 2H alien substitution lines. *Acta Bot Sinica*, 45: 1096-1102. p.
- YANAKA M., TAKATA K., TERASAWA Y., IKEDA T.M. (2011): Chromosome 5H of *Hordeum* species involved in reduction in grain hardness in wheat genetic background. *Theor Appl Genet*, 123: 1013-1018. p.
- YANG Z.J., LI G.R., CHANG Z.J., ZHOU J.P., REN Z.L. (2006): Characterization of a partial amphiploid between *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring and *Thinopyrum intermedium* ssp. *trichophorum*. *Euphytica*, 149: 11-17. p.
- ZENG J., CAO W., FEDAK G., SUN S., MCCALLUM B., FETCH T., XUE A., ZHOU Y. (2013): Molecular cytological characterization of two novel durum-*Thinopyrum intermedium* partial amphiploids with resistance to leaf rust, stem rust and *Fusarium* head blight. *Hereditas*, 150: 10-16. p.
- ZHAN H., ZHANG X., LI G., PAN Z., HU J., LI X., QIAO L., JIA J., GUO H., CHANG Z., YANG Z. (2015): Molecular characterization of a new wheat-*Thinopyrum intermedium* translocation line with resistance to powdery mildew and stripe rust. *Int J Mol Sci*, 16: 2162-2173. p.
- ZHANG X.Y., DONG Y.S., WANG R.R.C. (1996). Characterization of genomes and chromosomes in partial amphiploids of the hybrids *Triticum aestivum* × *Thinopyrum ponticum* by *in situ* hybridization, isozyme analysis, and RAPD. *Genome*, 39: 1062-1071. p.

- ZHANG X., SHEN X., HAO Y., CAI J., OHM H.W., KONG L. (2011): A genetic map of *Lophopyrum ponticum* chromosome 7E, harboring resistance genes to *Fusarium* head blight and leaf rust. *Theor Appl Genet*, 122: 263-270. p.
- ZHANG Z.Y., XU J.S., XU Q.J., LARKIN P., XIN Z.Y. (2004): Development of novel PCR markers linked to the BYDV resistance gene *Bdv2* useful in wheat for marker assisted selection. *Theor Appl Genet*, 109: 433-439. p.
- ZHENG Q., LV Z., NIU Z., LI B., LI H., XU S.S., HAN F., LI Z. (2014): Molecular cytogenetic characterization and stem rust resistance of five wheat-*Thinopyrum ponticum* partial amphiploids. *J Genet Genomics*, 41: 591-599. p.

M2. *Agropyron glael* növény, szem és kalász (Cicin 1979, rajz)



M3. A búzakromoszómák azonosításához alkalmazott kariogram

M4. Rezisztenciatípusok osztályozása Stakman-skála alapján
(STAKMAN et al. 1962)

Fertőzési típus jelölése	A növényen látható tünetek	A növény reakciója a kórokozóra
0	semmilyen tünet nem tapasztható	immunis
0;	Nem sporuláló, hiperszenzitív reakciót mutató foltok	nagyon rezisztens
1	Kicsi telepek nekrotikus foltokkal	nagyon rezisztens
2	Kicsi vagy közepes méretű telepek azt körülvevő nekrotikus vagy klorotikus foltokkal	mérsékelten rezisztens
3	Közepes méretű telepek klorotikus foltokkal vagy a nélkül	mérsékelten fogékony
4	Nagy uredotelepek, nekrózis nem látható, klorózis lehetséges,	nagyon fogékony
-, vagy +	a fertőzési típus az adott kategória átlagához képest csak kismértékben tér el	
C	klorotikus foltok	
N	nekrózis	

M5. Az Mv9kr1/*Agropyron glael* hibrid visszakeresztezett (BC₁), majd öntermékenyített utódvonalainak eredete parcella- és citológiai számokkal 2005-2015

	2014- 2015	2013- 2014	2012- 2013	2011- 2012	2010- 2011	2009- 2010	2008- 2009	2007- 2008	2006- 2007	2006 Fitotron	2005 Fitotron
Parcella-számok	43	194	226	417-422	88	106	61	65	84	06235 (60kr)	0567 (62kr, BC ₁ növény)
	44	195	227	423-425	89	107	67	67			
	45	196	228	431-432	90	108	71	69			
	46	197	229	433-439							
	47	198	230	440-444	91	109	75	70			
	48	199	231	445							
	49	200	232	446							
	50	201	233	447							
	-	202	234	450	92	110	83	76	85	06241	
	-	203	235	451	93	111	86	79	86	06248	
	-	204	236	452-454							
	-	205	237	455-459							
	-	206	238	460-465							
	51	207	239	475-483	96	114	93	86	87	06249 (60kr)	
	52	208	240	484-489	97	115	97	89	88	06253 (59kr)	
	53	209	241	490-491	98	116	84	77	85	06241	
	54	210	242	492-495							
	55	211	243	501-504							
	56-57	213	244	505-514							
	-	214	245	517-522	100	118	06235				
-	215	246	527	101	119						
-				102	120						

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Dolgozatom végére érve köszönetemet és nagyrabecsülésemet fejezem ki mindazoknak, akik a disszertáció elkészítése során segítségemre voltak.

Köszönettel tartozom a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont Mezőgazdasági Intézet volt főigazgatójának, Dr. Bedő Zoltánnak, és Dr. Balázs Ervin jelenlegi főigazgatónak, hogy az elmúlt években rendelkezésemre álltak a dolgozatom elkészítéséhez szükséges anyagi és tárgyi feltételek. Köszönet illeti a Növénytudományi Doktori Iskola jelenlegi és volt vezetőjét, Dr. Helyes Lajost és Dr. Heszky László Professzor Urat, hogy részt vehettem a Növénygenetika és Biotechnológia Programban.

Nagyrabecsülésemet szeretném kifejezni Dr. Lángné Dr. Molnár Mártának, amiért bizalmat szavazott nekem, hogy a Génmegőrzési és Organikus Nemesítési Osztályon dolgozhassak. Irányítása alatt megismerkedhettem a kalászos gabonák termesztett és vad fajainak változatos világával. Megismerttetett az *Agropyron glael* genotípusokkal végzett keresztezések történetével. A búza/árpa és búza/*Agropyron glael* utódvonalak szelektálása és a vizsgálandó anyagok kiválogatása során mindig irányt mutatott. Külön köszönet, hogy nemcsak mint munkahelyi vezető, hanem mint együttérző ember is mindig mellettem állt.

Külön köszönöm és nagyra becsülöm témavezetőm, Dr. Szakács Éva áldozatos munkáját, akinek irányításával ismertem meg a búza/árpa hibridizáció rejtelseit. Szakértelme az árpa kromoszómák azonosítása terén végig segítségemre volt. Köszönöm, hogy saját kutatási témája mellett mindig volt ideje rám. Köszönöm, hogy bízott technikai és elméleti tudásomban, hogy szabadkezet kaptam vizsgálataim során.

Az *Agropyron glael* hibridnövény Dr. Szalay Dezső nyugdíjas martonvásári kutatónak köszönhetően került Martonvásárra. Köszönöm, hogy ezt az igen értékes alapanyagot rendelkezésünkre bocsájtotta. Számos értékes szakirodalmat ajánlott és juttatott el hozzánk, bármikor örömmel segített.

Köszönettel tartozom azon kollégáimnak, akikkel közösen végeztünk vizsgálatokat. Kiemelném Türkösi Edinát, akinek rendkívüli precizitása és szorgalma a közös munkát sokkal egyszerűbbé tette számomra. Köszönet Dr. Cseh Andrásnak, aki megismerttetett a molekuláris markeres technikákkal. Köszönet Dr. Sepsi Adélnak, aki az *Agropyron glael* fajhibriddel kapcsolatos vizsgálataimban megmutatta a kezdő, de igen jelentős technikai lépéseket. A növénynevelésben és feldolgozásban nyújtott segítségéért, a tenyészkerti fotókért külön köszönet Tóth Fanninak. Csoportunk eddig nem említett jelenlegi és volt dolgozói is köszönetet érdemelnek, amiért kellemes munkakörnyezetet biztosítottak, és számos feladatban segítségemre voltak: Dr. Linc Gabriella, Dr. Molnár István, Dr. Schneider Annamária, Farkas András, Bucsi Jutka, Icsó Diána, Ivanizs László, Gaál Eszter, Lenyókó-Thegze Andrea, Keserü Jánosné, Havasi Józsefné. Köszönet az organikus csoport minden tagjának a tenyészkerti munkákban nyújtott segítségért.

Köszönet a Kalászos Gabona Nemesítési Osztály tudományos tanácsadójának, Dr. Láng Lászlónak, amiért genetikai alapanyagainkat elvetette az osztályuk tenyészkertjeiben, így nagyobb területen és más körülmények között is lehetővé vált a növények vizsgálata. Dr. Vida Gyulának és Éles Anikónak köszönöm a mesterséges fertőzésekben nyújtott önzetlen munkáját.

Köszönet Harasztos Barbarának az angol nyelvű kéziratok lektorálásáért; Szeidl Antalné Larisszának az orosz nyelvű szakirodalom fordításáért.

Köszönet a szabályozott klímájú növénynevelés kivitelezéséért a műszaki és növénynevelési csoport tagjainak.

Végül, de nem utolsósorban köszönet szüleimnek, amiért lehetővé tették, hogy eljussak idáig, köszönöm támogatásukat és irányításukat. Köszönet páromnak, testvéreimnek, barátaimnak a lelki támogatásukért.