



SZENT ISTVÁN EGYETEM

Új búza/árpa és búza/*Agropyron* introgressziós vonalak előállítása és azonosítása  
fluoreszcens *in situ* hibridizációval és molekuláris markerekkel

*TÜRKÖSI EDINA*

*Gödöllő*

*2017*

**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. Lángné Dr. Molnár Márta  
tudományos tanácsadó  
az MTA doktora

.....  
Dr. Helyes Lajos  
iskolavezető

.....  
Dr. Lángné Dr. Molnár Márta  
témavezető

## TARTALOMJEGYZÉK

Alkalmazott rövidítések jegyzéke .....	6
<b>1. BEVEZETÉS – célkitűzések .....</b>	<b>7</b>
<b>2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....</b>	<b>10</b>
2.1. A kenyérbúza evolúciója és génforrásai .....	10
2.1.1. A búza taxonómiai besorolása és eredete .....	10
2.1.2. Az allopoliploidizáció hatása .....	11
2.1.3. A búza génforrásai .....	12
2.2. A búzába történő génátvitel idegen fajú keresztezéssel.....	13
2.2.1. A búza keresztezhetősége .....	13
2.3. Árpából a búzába történő génátvitel .....	15
2.3.1. Búza × árpa hibridek előállítása.....	15
2.3.2. Búza/árpa addíciós vonalak előállítása .....	16
2.3.3. Búza/árpa transzlokációs vonalak előállítása.....	19
2.3.3.1. Transzlokációk indukálása.....	19
2.4. A <i>Thinopyrum</i> nemzetség .....	22
2.4.1. <i>Thinopyrum</i> fajok hasznosítása a búzanemesítési programokban .....	23
2.4.2. Búza/ <i>Thinopyrum</i> fajok közötti hibridek és részleges amfiploid előállítása .....	26
2.4.3. Búza/ <i>Thinopyrum</i> introgressziós vonalak előállítása .....	27
2.4.4. <i>Agropyron glael</i> , a <i>Thinopyrum intermedium</i> és <i>Thinopyrum ponticum</i> keresztezéséből származó szintetikus hibrid.....	28
2.5. Kromoszómák azonosítása <i>in situ</i> hibridizációs technikával.....	30
2.5.1. Fluoreszcens <i>in situ</i> hibridizáció (FISH) .....	30
2.5.2. Genomi <i>in situ</i> hibridizáció (GISH).....	32
2.6. A búza gombabetegségei és a rezisztencia-nemesítés .....	33
2.7. Molekuláris markerek használata az előnemesítési programokban.....	35
2.7.1. SSR markerek .....	36

2.7.2. STS markerek .....	37
2.7.3. SCAR markerek .....	38
<b>3. ANYAG ÉS MÓDSZER</b> .....	39
3.1. Törzsoldatok és munkaoldatok .....	39
3.2. Növényi anyag .....	39
3.3. Molekuláris citogenetikai vizsgálatok .....	41
3.3.1. Citológiai dörzspreparátum készítése .....	41
3.3.2. Próbajelölés.....	42
3.3.3. Genomi <i>in situ</i> hibridizáció (GISH és mcGISH).....	43
3.3.4. Fluoreszcens <i>in situ</i> hibridizáció (FISH) .....	45
3.4. SSR és STS markeranalízis.....	45
3.4.1. Az árpa telocentrikus kromoszómák azonosítása a búza/árpa diteloszómás addíciós vonalakban.....	45
3.4.2. Az <i>RhtD1b</i> allél kimutatása a 3HS.3BL/Bodri búza/árpa transzlokációs vonalakban .....	46
3.4.3. Molekuláris markeres vizsgálatok a búza/ <i>Agropyron</i> (6DL.6DS-?St) terminális transzlokációs vonalaknál .....	47
3.5. Növénynevelés fitotroni növénynevelő kamrákban .....	48
3.6. Növénynevelés szántóföldi kísérleti parcellákon.....	48
3.7. A 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 transzlokációs vonal keresztezése az 'Mv Bodri' búzafajtával .....	49
3.8. 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diteloszómás vonalak kiválogatása, azonosítása és agronómiai tulajdonságainak kiértékelése .....	49
3.9. Az 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diteloszómás vonalak virágzási idejének kiértékelése .....	50
3.10. Felvételezés, statisztikai analízis .....	51
3.11. Az 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diteloszómás addíciós vonalak sóstressz- toleranciájának vizsgálata .....	51
3.12. Mv9kr1 × <i>Agropyron glael</i> hibrid termesztett búzával keresztezett utód-generációk előállítására .....	52

<b>4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK</b> .....	54
4.1. A búza/árpa diteloszómás addíciós vonalak kiválogatása és morfológiai tulajdonságainak jellemzése .....	54
4.1.1. Az 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonalak virágzási idejének megfigyelése szántóföldi kísérletben .....	69
4.1.2. Az 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonalak sóstressz-vizsgálata.....	70
4.1.3. A búza/árpa diteloszómás addíciós vonalak jellemzése .....	71
4.2. A 3HS.3BL Robertsoni transzlokáció introgressziója egy modern martonvásári búzafajtába .....	75
4.2.1. Az utódvonalak citogenetikai azonosítása .....	75
4.2.2. A 3HS.3BL/Bodri vonalak molekuláris markeres analízise .....	77
4.2.3. A növények fenotípusának vizsgálata a martonvásári tenyészkertben .....	78
4.2.4. A 3HS.3BL/Bodri vonalak előállítása és vizsgálata .....	80
4.3. Az Mv9kr1 × <i>A. glael</i> hibrid termesztett búzával keresztezett utódainak vizsgálata ....	82
4.3.1. Búza/ <i>Agropyron glael</i> terminális transzlokációs vonal kiválogatása az 'Mv Karizma' búzafajtával keresztezett F <sub>3</sub> növények utódai közül.....	82
4.3.2. A búza/tarackbúza terminális transzlokációt (6DL.6DS-?St) hordozó vonalak vizsgálata molekuláris markerekkel.....	87
4.3.3. A búza × <i>Agropyron glael</i> hibrid 'Mv Karizma' búzafajtával keresztezett utódnövényei közül szelektált terminális transzlokációt (6DL.6DS-?St) hordozó vonal jellemzése.....	90
<b>4.5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK</b> .....	95
<b>5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK</b> .....	96
<b>6. ÖSSZEFOGLALÁS</b> .....	98
<b>7. SUMMARY</b> .....	100
<b>8. MELLÉKLETEK</b> .....	102
<b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS</b> .....	133

*Alkalmazott rövidítések jegyzéke***Anti-Dig-Rhodamine** – Anti-Digoxigenin –Rhodamine**biotin** – biotin-11-dUTP**bp** – bázispár**CSph1b** – Chinese Spring tavaszi búzafajta *ph1b* mutáns genotípusa**DAPI** – 4',6'-diamidino-2-fenilindol**digoxigenin** – digoxigenin-11-dUTP**DS** – dextranszulfát (25%-os)**EDTA** – etilén-diamin-tetraecetsav**FISH** – fluoreszcens *in situ* hibridizáció**FITC** – fluoreszcein-5-izotiocianát**GISH** – genomi *in situ* hibridizáció**Lr** – levélrozsda- rezisztenciagén**mcGISH** – multikolor GISH**MQ víz** – Milli-Q víz, ioncserélő gyantán megszűrt desztillált víz**NOR-régió** – nukleolusz-organizáló régió (nucleolus organizer region)**PCR** – polimeráz láncreakció (polymerase chain reaction)**Pm** - liztharmat - rezisztenciagén**QTL** – mennyiségi jelleget meghatározó lokuszok (quantitative trait loci)**Rht** – törpeségi (reduced height) gén**SDS** – nátrium-dodecil-szulfát (10%-os)**SSC** – trinátrium-citrát és nátrium-klorid oldat keveréke (saline-sodium citrate)**Sr** – szárrozsda- rezisztenciagén**SF50** – formamid 50%-os oldata (solution formamide)**Th.** – *Thinopyrum* genus**TNB** – trisz-NaCl blokkoló puffer**Yr** – sárgarozsda -rezisztenciagén

## 1. BEVEZETÉS

A világ egyik legnagyobb területen termesztett gabonaféléje a kenyérbúza (*Triticum aestivum* L.), vetésterülete mintegy 245-250 millió hektár. A búza fontos szerepet játszik az élelmiszerbiztonság fenntartásában. Az egyre gyarapodó emberiség 2050-re elérheti a 9 milliárdot, ezért ahhoz, hogy az igényeit ki lehessen elégíteni, a termésmennyiség évenkénti 2%-os növekedését kellene biztosítani. Ez nagy kihívást jelent, mind a klímaváltozás negatív hatásai, mind pedig a termőterületek csökkenő minősége miatt. A termésmennyiség növelésének kulcsa, a magasszintű agrotechnika és az aratás utáni termésveszteség csökkentése mellett, olyan fajták nemesítése, amelyek kiemelkedő betegség-ellenállósággal és abiotikus stressz-rezisztenciával, illetve magasabb terméshozammal rendelkeznek.

A kenyérbúza genetikai variabilitásának növelésére új értékes gének és allélek bevitelére lenne szükség a búzával rokon termesztett és/vagy vad fajokból, amelyek gazdag génforrásként szolgálnak a nemesítés számára. Ilyen jellegű törekvések már a XIX. században is voltak, kezdődően a búza-rozs (Wilson, 1875), búza-árpa (Farrer, 1904) és búza-kecskebúza (Kihara, 1937) keresztezésekkel. Igazi áttörést jelentett az interspecifikus hibridizációban a kolchicin kezelés kidolgozása (Blakeslee és Avery, 1937), amely lehetővé tette a kromoszómaszám megduplázásával a fertilis amfiploidok előállítását. Az *in vitro* embriómentés technikák bevezetése (Murashige és Skoog, 1962) biztosította később a rokon fajok közötti keresztezések szélesebb körben történő elterjedését.

Másik fontos gabonafélének az árpa (*Hordeum vulgare* L.), amely igen jól alkalmazkodott az abiotikus stressz által kiváltott körülményekhez. A rövid nyarú északi tájakon fontos kenyérgabona, a déli, melegebb országokban főleg takarmányként hasznosítják. A mérsékelt meleg nyarú tájakon pedig nagyjából sörárpat termesztnek. A vetésterület nagysága szerint a gabonafélék között - a kukorica és a búza után - a harmadik helyet foglalja el. Az árpat hazánkban többféleképpen hasznosítjuk: takarmánynövény, fontos nyersanyaga a sör- és a malátagyártásnak, de kásaként - árpagyöngy - emberi fogyasztásra is alkalmas. A búza × árpa keresztezések lehetővé teszik különböző hasznos agronómiai tulajdonságok, mint például a koraiság, kedvező aminosav-összetétel és élelmirost tartalom, só- és szárazságtűrés vagy jobb bokrosodási képesség átvitelét az árpából a termesztett búzába.

Számos búzával rokon vad faj agronómiai szempontból fontos géneket hordoz. A *Thinopyrum* (tarackbúza) nemzetségbe tartozó fajok számos abiotikus és biotikus stresszfaktoral szemben rendkívül ellenállóak. Ezen fajok természetes populációi sikeresen alkalmazkodtak a legszélsőségesebb klimatikus viszonyokhoz, így genetikai diverzitásuk fennmaradt. Több

tarackbúza fajt már felhasználtak a kenyérbúza betegségekkel szembeni ellenállóságának javítására. A két legértékesebb génforrás a *Thinopyrum* (korábbi néven *Agropyron*) nemzetségből a *Thinopyrum intermedium* és *Thinopyrum ponticum*, elsősorban mert értékes rezisztenciagéneket hordoznak (levélrozsdá-, szárrozsdá- és lisztharman-rezisztencia gének) és ellenállóak különböző abiotikus sztrészfaktorokkal szemben (szárazság-, szikes talajok), másodsorban alapgenomjuk (J és St genom) közeli rokonságban áll a termesztett búza A és D genomjával. A *Thinopyrum* fajokban rejlő lehetőségek kiaknázása a búzanevelés számára további keresztezésekkel és szelekcióval valósítható meg.

A faj- és nemzetség-keresztezés végző célja olyan introgressziós vonalak előállítása, amelyek stabilan öröklődnek, és amelyekbe lehetőleg csak hasznos géneket építünk be a vad fajokból. A búza genomából eliminálódott kromoszóma-szegmentumot leginkább egy homológ vagy homeológ kromoszómából beépült szegmentum tudja helyettesíteni, mivel egy adott funkcióért felelős gének sorrendje ezeken a kromoszómákon közel hasonló. A búza genomba beépült idegen fajú kromatin kimutatására és azonosítására molekuláris citogenetikai módszerek és molekuláris markerek állnak rendelkezésünkre. A fluoreszcens *in situ* hibridizációs technikával (FISH), repetitív DNS próbák alkalmazásával a búza és árpa kromoszómák egyedi mintázatuk alapján teljes bizonyossággal felismerhetők, míg a *Thinopyrum* nemzetségbe tartozó fajok többségénél a kromoszómák azonosítását célzó módszerek kidolgozása még folyamatban van.

## 1.1. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatómunkám célja az árpából és a tarackbúza fajokból kedvező tulajdonságokat hordozó kromoszóma-szakaszok, -szegmentumok beépítése a termesztett búzába:

- Az 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diteloszómás addíciós vonalak kiválogatása, melyek a búza genom mellett csak egy pár árpa kromoszómakart hordoznak, majd ezek molekuláris citogenetikai módszerekkel történő elemzése, morfológiai és agronómiai tulajdonságainak jellemzése, a vonalak sőtűrésének vizsgálata;

- A Martonvásáron korábban előállított búza/árpa hibridek utódvonalalaiból származó transzlokációs vonal (3HS.3BL) agronómiai tulajdonságainak javítása egy modern martonvásári búza fajtával történő keresztezéssel, amely genetikai alapanyagként felhasználható az előnevelésben;



- Az *Agropyron glael*-ből (a *Thinopyrum intermedium* × *Thinopyrum ponticum* hibridje) a biotikus rezisztenciáért felelős kromoszómák vagy kromoszóma-szegmentumok beépítése a búzába, majd főleg gombabetegségekkel szemben ellenálló transzlokációs vonalak előállítása.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A kenyérbúza evolúciója és génforrásai

#### 2.1.1. A búza taxonómiai besorolása és eredete

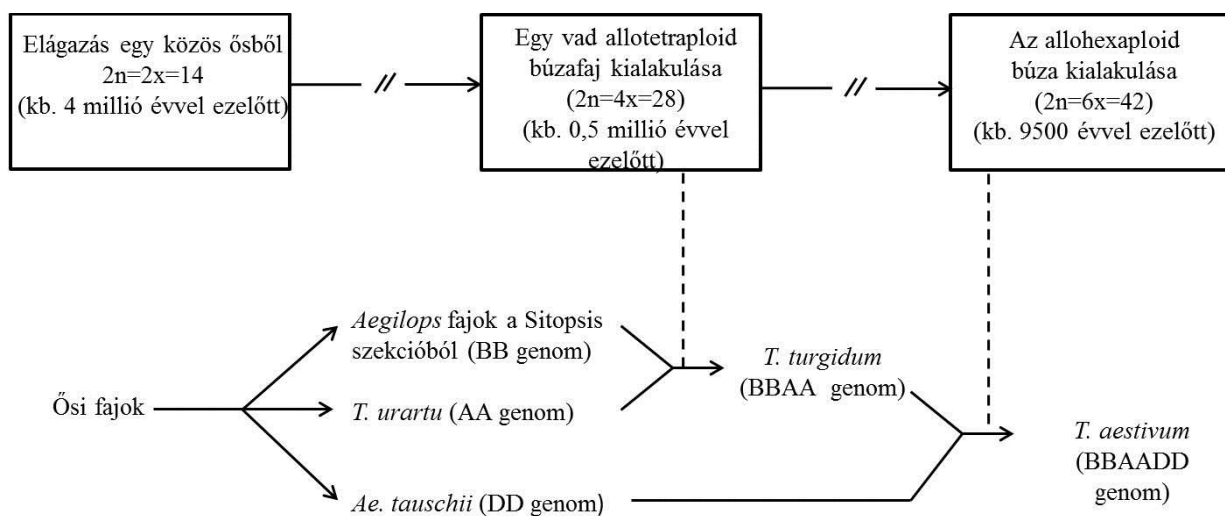
A kenyérbúza (*Triticum aestivum* L.) a perjefélék (*Poaceae*) család *Triticeae* nemzetségcsoportjának *Triticum* nemzetségébe tartozó növényfaj. A *Triticeae* fajok többsége Dél-kelet Ázsia, a Tigris és Eufrátesz folyók és a Földközi-tenger Közel-Keleti partvidéke által határolt, „Termékeny Félhold” néven ismert területről származik (Salamini és mtsai, 2002). Körülbelül 12000 évvel ezelőtt ezen a területen ment végbe az árpa (*Hordeum vulgare* L.), az alakor (*Triticum monococcum*) és a tönke (*Triticum turgidum*) domesztikációja, így az emberi társadalom a vadászó-gyűjtögető életmódról áttért a mezőgazdasági termelésre (Kilian és mtsai, 2010). A *Triticeae* nemzetségcsoport fajainak egy része (kb. 80 növényfaj) diploid, míg a többségük allopoliploid, magukba foglalva különböző fajok diploid genomjait. A fajok alap kromoszomaszáma  $x=7$  (Sakamura, 1918), a teljes genom 14 kromoszómából vagy ennek egész számú többszöröséből áll. Különböző ploidszintű fajok kromoszóma-párosodásának vizsgálata a meiózis során igazolta, hogy a poliploid fajok interspecifikus vagy intergenerikus hibridizáció útján keletkeztek, melyet a kromoszómaszám megkettőződése követett (Kihara, 1919, 1924; Sax 1921, 1927).

A *Triticeae* nemzetségcsoport relatív fiatalnak tekinthető, 25 millió évvel ezelőtt vált ki a perjefélék családjából (Huang és mtsai, 2002; Gaut, 2002). A hexaploid *Triticum* fajok közé tartozik a *Triticum aestivum* (BBAADD) és számos alfaja, genomjuk 21 pár kromoszómából áll, amelyek három különböző genomhoz (A, B és D) tartoznak (Sears, 1954; Okamoto, 1962) (1. ábra). Az első vad tetraploid fajok 0,1-0,5 millió évvel ezelőtt alakultak ki a B genom ősi donorfaja(i) és a *T. urartu* kereszteződéséből (Huang és mtsai, 2002). A B genom őse pontosan nem ismert, azonban morfológiai (Sarkar és Stebbins, 1956) és molekuláris genetikai (Dvořák és Zhang, 1990; Tsunewaki, 2009) vizsgálatok az *Aegilops* nemzetség *Sitopsis* szekciójába tartozó *Aegilops speltoides* Tausch. ( $2n=2x=14$ , SS) S genomjával mutattak ki legnagyobb hasonlóságot. Chapman és mtsai (1976) megállapították, hogy az A genom donorja a *Triticum urartu* volt. A kenyérbúza körülbelül 9500-10000 évvel ezelőtt alakult ki a tetraploid búza domesztikációja után, egy olyan hibridizáció nyomán, amelyben anyai partner az ősi tetraploid búza (BBAA), a pollenadó pedig az *Aegilops tauschii* volt (DD,  $2n=2x=14$ ) (1. ábra). Wang és mtsai (1995) citoplazma analízise során bizonyosságot nyert, hogy poliploidizáció során a tetraploid és

hexaploid búzafajok eredeti anyai szülőpartnere (ezáltal citoplazmadonorja) a B genom (*Aegilops speltoides*), ezért a pedigrek és genomjelölések esetén Feldman (2001) a BBAADD jelölést javasolja.

### 2.1.2. Az allopoliploidizáció hatása

Az allopoliploidizáció új fajok kialakulását teszi lehetővé egyetlen lépésben, egy új taxon létrejöttét, amely genetikailag elkülönül a szülői genotípusoktól. Az újonnan kialakult allopoliploid tulajdonképpen két vagy több különböző genom hibridje egyetlen sejtmagon belül. Az allopoliploidizáció szükségessé tesz néhány genetikai és epigenetikai változást, ami befolyásolja a genomösszetételt és a gének expresszióját. Feldman és mtsai (1997) tanulmányai szerint az allopoliploidok stabilizációjában két tényező játszik szerepet: (1) a szigorú intra-genomikus kromoszóma-párosodás a meiózis során biztosítja a magasabb fertilitást, ugyanakkor gátolt az egymással közeli rokonságban álló, homeológ genomokhoz tartozó kromoszómák párosodása (Sears, 1954; Morris és Sears, 1967); (2) a genetikai diploidizáció, amely során a duplikált gének nem, vagy csak kisebb mértékben expresszálódnak. Megállapították továbbá, hogy az alacsony kópiaszámú, valószínűleg nem kódoló DNS szekvenciák, amelyek minden diploid *Triticeae* fajban megtalálhatók, a tetraploid fajok egyik, míg a hexaploid fajok két genomjából eliminálódtak. A *Triticum-Aegilops* szintetikus amfiploidoknál és a diploid szülőpartnereknél a közelmúltban végzett genomkutatások bebizonyították, hogy az allopoliploidia által előidézett szekvencia eliminációk hamar bekövetkeznek a poliploid fajok keletkezése során (Feldman és mtsai, 1997; Liu és mtsai, 1998; Ozkan és mtsai, 2001).



**1. ábra.** Az allopoliploid búza eredete  
/Feldman (2005) nyomán/

### 2.1.3. A búza génforrásai

A gyorsan és nagymértékben gyarapodó emberiség számára nagy kihívást jelent a gabonafélék terméshozamának fő korlátozóit a különböző biotikus és abiotikus stresszfaktorok. Ez szükségessé teszi új rezisztenciagének beépítését a búza genomába. A növénynemesítési módszerek rohamosan fejlődnek, olyan új technikák terjedtek el, mint például a molekuláris markerek használata vagy a „chromosome engineering”. A termés minősége elsősorban a nemesítés rendelkezésére álló génforrásoktól függ. A gabonafélék és ezek vad rokonainak genetikai diverzitása új perspektívákat nyújt a terméshozamának fokozására is. A genetikai variabilitás interspecifikus és intergenerikus hibridizációval növelhető. A *Triticeae* nemzetségcsoporton belül kb. 500 faj található, melyből mintegy 400 évelő (Wang és Lu, 2014). Fajai a világon szinte minden élőhelyen megtalálhatók és alkalmazkodtak a legextrémebb időjárási és talajminőségi viszonyokhoz.

Harlan és Wet (1971) javaslatára a termesztett növények génforrásait genomösszetételük alapján három csoportba osztották. A termesztett búza elsődleges génforrásai közé tartoznak a vele homológ genomokat tartalmazó fajok (Friebe és Gill, 1996), ide soroljuk a hexaploid tájfajtákat, a termesztett tetraploid fajtákat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*, BBAA), a durum és a termesztett búza A és D genomjának diploid donor fajait [*Triticum monococcum* L. (A<sup>m</sup>A<sup>m</sup>), *Triticum urartu* Tumanian ex Gandilyan (A<sup>u</sup>A<sup>u</sup>), *Triticum boeoticum* Boiss. (AA), *Aegilops tauschii* Coss. (DD)]. Az elsődleges génforrásokkal létrehozott hibridek általában fertiliznek, a meiózis során a homológ kromoszóma-párosodás következtében spontán rekombinációk jöhetnek létre. A búza másodlagos génforrásai közé azokat a *Triticum* és *Aegilops* fajokat soroljuk, amelyek legalább egyik genomja homológ a búzával. Ide tartoznak a tetraploid *T. timopheevii* (Zhuk.) Zhuk. ssp. *timopheevii* és a ssp. *armeniicum* (Jakubz.) (GGAA) van Slageren fajok, továbbá a Sitopsis szekcióba tartozó S genommal rendelkező *Aegilops* fajok, amelyek a búza B genomjával mutatnak hasonlóságot. Ezekből a fajokból már számos rezisztenciagént vittek át a termesztett búzába (Friebe és mtsai, 1996) (*Ae. bicornis*, *Ae. longissima*, *Ae. sharonensis*, *Ae. searsii*, *Ae. speltoides*). A másodlagos génforrások közé tartozó fajokkal létrehozott hibridekben problémák adódhatnak a kromoszómapárosodás során. Amennyiben a megtermékenyülés után endospermium nem fejlődik ki az embriót táptalajra szükséges helyezni. A búza harmadlagos génforrásai nem tartalmazzák a búzával homológ genomot, a meiózis során az idegenfajú kromoszómák búzakromoszómával való párosodása nem jön létre, ezért a géntranszfer csak speciális technikák alkalmazásával valósítható meg. Sok esetben célszerű az embriókultúra használata, a steril hibrid növény kromoszómaszámának kolchicinnel történő megkétszerezése vagy a búza szülőpartnerrel való visszakeresztése. Ebbe

a csoportba termesztett és vad fajok tartoznak, többek között a *Hordeum*, *Secale*, *Thinopyrum*, *Pseudoroegneria*, *Agropyron*, *Dasypyrum* stb. nemzetségből.

## 2.2. A búzába történő génátvitel idegen fajú keresztezéssel

A termesztett búza genetikai diverzitásának növelése történhet genetikai transzformációval (genetikailag módosított – GM– növények előállításával) illetve idegen fajú keresztezéssel. A géntörvény 1999. évi hatályba lépése óta Magyarországon kizárólag kutatási célra kerültek engedélyezésre GM növényfajták rendkívül szigorú biztonsági feltételekkel. Hazánkban a búzanemesítés gyakorlatában a faj- és nemzetség-keresztesés használata mondható társadalmilag és jogszabály által elfogadottnak (Magyarország Alaptörvénye, 2013). A búzával rokon termesztett és vad fajok egy része ivaros úton keresztezhető a búzával, így az idegen fajú génátvitel keresztezéssel, visszakeresztezéssel könnyen megoldható. Az idegen fajú kromoszóma-szegmentumok a búza genetikai hátterében molekuláris genetikai és citogenetikai módszerekkel, nagy pontossággal azonosíthatók. A különböző rokonfajok eltérő mértékben keresztezhetők a búzával (Belea, 1986). A gabonafélék körében az első sikeres búza-rozs, búza-tarackbúza hibridek előállításáról 1875-ban számoltak be Angliában, azonban a hibridek teljesen sterilek voltak. Később sikerült fertilis búza-rozs hibrideket előállítani. A kezdeti sikerek hatására intenzív faj- és nemzetség-keresztesési programokat indítottak a világ számos országában. Az idegen fajú keresztesések végső célja, hogy az idegen fajból, minél kisebb, hasznos agronómiai tulajdonságot hordozó, kromoszóma-szegmentumot integráljunk a búza genomjába, transzlokáció formájában. A kenyérbúza, mint allohexaploid faj, bizonyos mértékig tolerálja az aneuploidiát, de az addíciós vonalak csak átmeneti lépést jelentenek a jóval stabilabb transzlokációs vonalak előállítására során.

### 2.2.1. A búza keresztezhetősége

Az idegen fajú génátvitel sikerességét meghatározó tényező a keresztezhetőség, az a tulajdonság, hogy két faj genotípusainak keresztesésével milyen hatékonysággal hozható létre  $F_1$  hibridszem. Megfigyelték, hogy különböző búza genotípusok keresztezhetősége rokon fajokkal eltérő. Búzában a keresztezhetőségi jelleg kialakításában alapvető fontosságúak a keresztezhetőségi (*Kr*) gének. Az első részletes keresztezhetőségi vizsgálatokat Lein (1943) végezte és kimutatta, hogy e tulajdonság meghatározásában két lokusz allélikus különbsége játszik szerepet. A könnyen keresztezhető genotípusnál ezeket a recesszív allélokat *kr1kr1kr2kr2*-vel jelölte, ezeket az allélokat hordozó genotípusok keresztezhetősége 50 százalék

feletti, míg domináns allélok jelenléte esetében a keresztezhetőség 5 százalék alatt volt. A domináns allél a pollentömlő növekedésének gátlásán keresztül akadályozza meg megtermékenyítést, és ez által az interspecifikus hibridek létrejöttét (Lange és Wojciechowska, 1976). A *kr* gének ugyanakkor elősegítik a szemfejlődést és előnyösen befolyásolják az embriótenyésztést is (Sharma, 1995). A legnagyobb hatású keresztezhetőségi gén az 5B kromoszóma hosszú karján található *Kr1* (Riley és Chapman, 1967). 'Highbury' és 'Chinese Spring' búzafajták keresztezéséből származó 5B monoszómás és 5BL monoteloszómás utódok vizsgálatával az 5BL kromoszómakaron térképezték a *kr1* allélt, míg az 5BS kromoszómakaron található a keresztezhetőség szupresszora. Sitch és mtsai (1985) leírtak egy kisebb hatású *Kr2* gént az 5A kromoszóma hosszú karján. Két további, kisebb hatású keresztezhetőségi gént is azonosítottak még: a *Kr3*-at az 5D (Krowlow, 1970) és a *Kr4*-et az 1A kromoszómán (Zheng és mtsai, 1992). Liu és mtsai (1999a) által végzett kísérletek során bizonyítást nyert, hogy a kínai (Szecsuan) tetraploid *T. turgidum*, 'Ailanmai' fajta 1A kromoszómáján nagyhatású, rozssal való magas keresztezhetőséget biztosító recesszív allél található. 1998-ban egy új, *SKr*-nek nevezett lokuszt írtak le (Tixier és mtsai, 1998), az 5B kromoszóma rövid karjának disztális végén, amely a búza és a rozs közötti keresztezhetőséget segíti elő.

Martonvásáron recesszív *kr1* allélt hordozó 'Chinese Spring' genotípus és a Martonvásári 9 (Mv 9) őszi búza genotípus keresztezéséből hozták létre az Mv9kr1 búzatörzset (Molnár-Láng és mtsai, 1996), ami rozssal, több mint 50%-os keresztezhetőséget mutat. Az Mv9kr1 genotípust sikerrel alkalmazzák a martonvásári előnemesítési programokban (Molnár-Láng és mtsai, 2014) sikeres keresztezéseket hajtottak végre árpával (Molnár-Láng és mtsai, 2000a,b), kecskebúza fajokkal (Molnár-Láng és mtsai, 2002), rozssal (Molnár-Láng és mtsai, 2010), valamint tarackbúza fajokkal (Kruppa és mtsai, 2012).

A keresztezésekhez használt genotípusok, a ploidszint, a keresztezési technikák és a keresztezés iránya is befolyásolja a hibrid előállítás sikerességét (Sharma és Gill, 1983; Mujeeb-Kazi és Kimber, 1985). A genomok különbözősége a gabonafélékben hatással van a különböző fajok közötti keresztezés sikerére. Ha a szülők genomjai eltérnek egymástól, zavart lesz az endospermium fejlődése, és az embrió elpusztulhat. A keresztezés irányának hatása van a hibridszem képződésére, illetve a minőségére, ami kihat a szem csírázására. Ennek oka elsősorban az anya-embrió-endospermium szöveteinek eltérő kromoszómaszáma. Különösen az endospermium rendellenes fejlődése az oka a hibrid szem zavart fejlődésének (Belea, 1986).

A széleskörű variabilitás a keresztezhetőség tekintetében, nemcsak a búzában, hanem a vele keresztezni kívánt fajok különböző genotípusaiban is megtalálható, és ennek alapvető szerepe van a keresztezni kívánt genotípusok megválasztásában (Sharma, 1995).

A keresztezések sikerességét a környezeti tényezők is befolyásolják, mint például a hőmérséklet, páratartalom, fény. A búzafajták megtermékenyülése 20-25 °C hőmérsékleten és 60-70% relatív páratartalom mellett kedvező. Fajidegen pollen használata esetén a keresztezés sikeressége növelhető a hőmérséklet csökkenésével és a páratartalom növekedésével (Belea, 1986). Martonvásáron a búza × árpa keresztezések során 21°C-on tapasztalták a legnagyobb mértékű szemkötést. A környezet erősen befolyásolja az embrió és endospermium fejlődését is (Percy, 1986), az alacsony hőmérséklet lassítja az embrió fejlődését (Molnár-Láng és Sutka, 1994).

Interspecifikus és intergenerikus keresztezések esetén eltérő kromoszómaszámú fajok keresztezése is lehetséges. Ebben az esetben általánosan elterjedt gyakorlat, hogy a nagyobb kromoszómaszámú genotípust anyai partnerként használják a keresztezések során. Különböző búza-fajkereszteзések esetében a hibridszemek teltek, de kisebbek, ha anyaként a nagyobb kromoszómaszámú szülőt használjuk és az ilyen szemek csírázása is jobb (Belea, 1964). Reciprok kereszteзések esetén, a hibrid szemek nagyobbak, de a nem elegendő táplálószövet miatt zsugorodottak és a csírázókéességük is gyengébb (Beaudry, 1951).

### **2.3. Árpából a búzába történő génátvitel**

Két legfontosabb gabonafélénk, a búza és az árpa közötti kereszteзések régóta állnak a kutatók érdeklődésének a középpontjában. A nemesítés szempontjából a cél elsősorban az árpa kedvező beltartalmi paramétereinek (jelentős élelmirost-, kedvező aminosav-tartalom) átvitele a termesztett búzába, illetve minden olyan agronómiai tulajdonságért (só- és szárazságtűrés, bokrosodás stb.) felelős gén vagy QTL beépítése, amellyel növelhető a búza termésbiztonsága.

#### **2.3.1. Búza × árpa hibridek előállítása**

A két faj kereszteзését megcélzó kísérletekről már a huszadik század elején is beszámoltak (Farrer, 1904), de az első bizonyíthatóan sikeres kereszteзést Kruse végezte el (1973), aki kísérleteiben az árpát használta anyai partnerként. További árpa/búza hibrideket állítottak elő az 1980-as években (Clauss, 1980; Mujeeb-Kazi, 1981; Chen és mtsai, 1984; Lángné Molnár és mtsai, 1985; Shimada és mtsai, 1987). A hibrid növények sterilek voltak és a kromoszómakészletük megduplázására alkalmazott kolchicinkezelés sem volt sikeres, ezért a hibridek búzával történő visszakereszteзésével próbálkoztak. Az utódnövényekben azonban az árpacitoplazma és a búzasejtmag interakciója miatt a virágokban a portokok helyén is termők fejlődtek (Islam és mtsai, 1981). Ezt a jelenséget piztilloidának nevezik. A hibridelőállítás során az első akadály az idegen pollennel történő megtermékenyülés. Ha létre is jön a

megtermékenyülés, a szemkötés kismértékű és a fejlődésnek indult embriók az endospermium hiányában hamar abortálódnak. Kruse a megporzás utáni 12. napon a hibrid embriókat steril körülmények között eltávolította, majd 1 perc 0,1%-os  $\text{HgCl}_2$ -kezelés után 14 napos árpa-endospermiumba helyezte. Ezzel a módszerrel állította elő az első árpa  $\times$  búza hibrid növényeket. Pollenadóként a *T. aestivum* mellett a *T. dicoccum* és a *T. monococcum* fajt használva, szintén létrehozott hibrideket. Steril interspecifikus és intergenerikus hibridek fenntartására és szaporítására alkalmas technika az *in vitro* szövettényészet (Fedak, 1980). Az idegen fajú keresztezésekből származó hibridek gyakran nemcsak hímsterilek, hanem alacsony női fertilitást mutatnak, ami rendkívül alacsony szintű megtermékenyülésben és kismértékű szemkötésben nyilvánul meg. A szövettényészet lehetővé teszi a hibridek fenntartását és megfelelő számú utódok létrehozását a visszakereszteзések számára (Galiba és mtsai, 1986; Molnár-Láng és mtsai, 2005). Az egyik legjobban keresztezhető búzafajta a 'Chinese Spring', mert az ötös homeológ kromoszómáin keresztezhetőség elősegítő allélok találhatóak (Fedak és Jui, 1982; Jiang és mtsai, 1984).

A pisztillidia elkerülésére a búza  $\times$  árpa hibridek előállítása került előtérbe, de csak néhány esetben számoltak be sikeres hibridelőállításról (Fedak, 1980; Islam és Shepherd, 1990; Wojciechowska és Pudelska, 1993; Molnár-Láng és Sutka, 1994; Molnár-Láng és mtsai, 2000a; Jauhar, 1995; Taketa és mtsai, 1998, Polgári és mtsai, 2014). Islam és mtsai (1978, 1981) kimutatták, hogy a legmagasabb arányú szemkötést a 'Chinese Spring'  $\times$  'Betzes' keresztezés esetén kapták, ám ebben az esetben is jóval elmarad (1,3%) a reciprok keresztezés szemkötésének mértékénél (15,4%).

### 2.3.2. Búza/árpa addíciós vonalak előállítása

Addíciónak nevezzük az olyan kromoszómaszám-változást, amikor egy idegen fajból, nemzetségből kromoszómát vagy kromoszómákat építünk be a recipiens komplett kromoszómakészletébe (Sutka, 2004). A búza/árpa addíció az a kromoszómaszám-változás, amikor a búza teljes kromoszómakészletébe egy vagy egy pár árpakromoszómát építünk be. Amennyiben egyetlen árpakromoszóma épül be a búzagenomba, akkor monoszómás, ha egy homológ kromoszómapár, akkor diszómás addícióról beszélünk. A diszómás addíciós vonalak a monoszómás vonalak öntermékenyítésével állíthatók elő. A molekuláris markerek és a FISH technikák bevezetése előtt a beépített kromoszómák azonosítására a C-sávozt alkalmazták, amely a konstitutív heterokromatin eloszlását mutatja a kromoszómákon. A búza egységes C-sávós kariotípusát 1991-ben fogadták el, bár már a 70-es évek elején megkezdték a búza és a rokon fajok kromoszómáinak azonosítását (Hadlaczký és Belea, 1975). Először Caspersson és



mtsai (1968) figyelték meg, hogy ha a kromoszómákat kinakrin (Quinacrin) mustárral festik meg, ultraibolya fény alatt a kromoszómákon jellegzetes fluoreszkáló sávok jelennek meg, ezt a technikát nevezték el Q-sávós festési technikának. Az árpakromoszómák mai, a búzával való homeológián alapuló számozása nem egyezik a korábbi citológiai alapú kromoszómaszámozással. Linde-Laursen és mtsai (1997) a 7th International Barley Genetics Symposium-on az 1996-ban történt megegyezés alapján javasolták az árpakromoszómák új számozási rendszerét. Ebben a rendszerben a búzakromoszómákkal való homeológiára alapozva az 1H felel meg 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 ezt a rendszert használom az 1997 előtti irodalmak említésekor is.

A hexaploid búza jól tolerálja az euploid kromoszómaszámtól való eltérést, ezért lehetséges a búzából aneuploid vonalak létrehozása. A hibridekből búzával végzett visszakeresztezésekkel addíciós vonalak állíthatók elő, amelyek az idegen fajnak már csak egy pár kromoszómáját tartalmazzák a búza genom mellett. Ezek a vonalak kevésbé életképesek, mint az euploidok, de alkalmasak arra, hogy meghatározzuk, hogy az idegenfaj kedvező tulajdonságaiért felelős gének, pl. betegség-rezisztenciagének, mely kromoszómákon lokalizáltak. Az idegen fajú addíciós vonalak fenntartása állandó citológiai ellenőrzést igényel, hiszen a meiózis során a különböző fajok sejtosztódási ciklusában meglévő eltérések miatt az idegen kromoszóma esetleg elveszhet. Megtermékenyítéskor az egy idegen kromoszómát tartalmazó pollenszemek kevésbé versenyképesek, mint a normál gaméták, így az utódok közt előfordulhatnak már redukálódott kromoszómaszámú egyedek (Molnár-Láng és mtsai, 2012a).

Elsőként Islam és mtsai (1981) (1. táblázat) állítottak búza/árpa diszómás addíciós sorozatot, 'Chinese Spring' búzafajta és 'Betzes' árpafajta keresztezésével, 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. Ezért a sterilitásért az *Shw* gén (sterility in hybrids with wheat) felelős, amelyet Taketa és mtsai (2002) az 1H hosszú kar centromérához közeli részére térképezték. Később, a hosszú kart nem tartalmazó, fertilis 1HS teloszómás addíciós vonalat állított elő Islam (1983). Szakács és Molnár-Láng (2007) (1. táblázat) által Martonvásáron előállított Mv9kr1/'Igri' addícióban az 1HS kar izokromoszómás formában volt jelen a búza genetikai háttérben. A búza és egy vad árpa (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) keresztezésével előállított addíciós vonalak vizsgálata után Taketa és Takeda (1998) feltételezte, hogy a 6H kromoszóma hosszú karján található(k) olyan gén(ek) amely(ek) enyhítheti(k) az 1HL okozta sterilitást. Erre a következtetésre jutott Islam és Shepherd (2000) is, amikor olyan addíciós vonalat válogatott ki, amelyben egy teljes 1H és egy 1HS teloszóma mellett diszómásan a 6H kromoszóma is jelen volt.

A jól keresztezhető búzafajták általában nem rendelkeznek kiemelkedő agronómiai paraméterekkel. A 'Chinese Spring' búzafajta búza × árpa hibridekben megmutatkozó előnytelen tulajdonságainak kiküszöbölése céljából annak recesszív *kr1* keresztezhetőségi allélját Molnár-Láng és mtsai (1996) beépítették az Mv9 búzagenotípusba, majd ennek felhasználásával új őszi búza/őszi árpa (Mv9kr1/'Igri') addíciós sorozatot állítottak elő (Szakács és Molnár-Láng 2007, 2010) (1. táblázat). A 'Manasz' hatsoros ukrán árpafajta a közép-európai klimatikus viszonyokhoz jobban alkalmazkodott, mint a búza/árpa addíciós vonalak előállításához korábban használt árpafajták ('Betzes', 'Igri'). Az 'Asakaze' japán őszi búzafajta és a 'Manasz' árpafajta keresztezésével Molnár-Láng és mtsai (2012) létrehozta egy részleges búza/árpa diszómás addíciós sorozatot, amely a 2H, 3H, 4H, 6H, 7H árpakromoszómákat hordozza a hexaploid búza genom mellett. 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 agronómiai tulajdonságait.

**1. táblázat.** Búza (*Triticum aestivum*) – árpa (*Hordeum*) diszómás és diteloszómás addíciós vonalak (Molnár-Láng és Linc, 2015).

<i>Triticum aestivum</i> genotípus	<i>Hordeum</i> genotípus	A búza genomhoz hozzáadott árpakromoszóma	Hivatkozás
'Chinese Spring'	'Betzes' (kétsoros, tavaszi, német)	2H, 3H, 4H, 5H, 6H, 7H, 1H/1HS+6H 1HS, 2HS, 2HL, 3HS, 3HL, 4HS, 4HL, 5HS, 5HL, 6HS, 6HL, 7HS, 7HL	Islam, 1978 Islam és mtsai, 1981 Islam és Shepherd, 2000 Islam, 1983 Islam és Shepherd, 1990
'Shinchunaga' (tavaszi, japán)	'Nyugoruden' (New Golden) (kétsoros, tavaszi, japán)	6H, 7H	Koba és mtsai, 1997
'Martonvásári 9 kr1' (Mv9kr1) (téli, magyar)	'Igri' (kétsoros, tavaszi, német)	2H, 3H, 4H, 7H, 1HS, 6HS,	Molnár-Láng és mtsai, 2007 Szakács és Molnár-Láng, 2007, 2009
'Asakaze' (fakultatív, japán)	'Manasz' (hatsoros, őszi, ukrán)	2H, 3H, 4H, 6H, 7H 2HS, 2HL, 3HS, 3HL, 4HS, 4HL, 6HS, 6HL, 7HS, 7HL	Molnár-Láng és mtsai, 2012 Türkösi és mtsai, 2014 Türkösi és mtsai, 2016
'Chinese Spring'	<i>Hordeum chilense</i>	1H <sup>ch</sup> , 4H <sup>ch</sup> , 5H <sup>ch</sup> , 7H <sup>ch</sup>	Miller és mtsai, 1981
'Shinchunaga' (tavaszi, japán)	<i>Hordeum vulgare ssp.</i> <i>spontaneum</i> OUH602	2H, 3H, 4H, 5H, 6H, 7H, 1HS, 5HS, 6HS, 6HL,	Taketa és Takeda, 2001
'Chinese Spring'	<i>Hordeum marinum</i>	1 H <sup>m</sup> , 2H <sup>m</sup> , 4H <sup>m</sup> , 5H <sup>m</sup> , 6H <sup>m</sup> , 7H <sup>m</sup>	Islam és Colmer, 2008

### 2.3.3. Búza/árpa transzlokációs vonalak előállítása

Az addíciós vonalak csak átmenetet jelentenek a jóval stabilabb, transzlokációs vonalak előállításához, amelynek célja, hogy az idegen fajból minél kisebb kromoszóma-szegmentumot, lehetőleg a hasznos tulajdonságokért felelős génkomplexumokat vigyük át a búzába. A transzlokációk létrejöttének feltétele a kromoszómák törése a meiózis során, majd egy másik kromoszóma tört végével történő újraegyesülése. Kromoszómatörések létrejöhetnek spontán, illetve a kromoszóma-szerkezeti változásokat mesterségesen is előidézhetjük. Amennyiben az idegenfajú keresztezések olyan fajokkal történnek, amelyek a búzával homológ genomokat tartalmaznak, a meiózis során a búza és a rokon faj genomjai között természetes homológ kromoszóma-párosodás folyamán végbemenő crossing over következtében létrejöhetnek rekombinációk. A búza harmadlagos génforrásai körébe tartozó fajok esetében (ide tartozik az árpa is), amelyek nem tartalmaznak a búzával homológ genomokat, a meiózis során a búza és az idegen fajú kromoszómák között nem várható párosodás, majd rekombináció, ezért az ezekből a fajokból tervezett génátvitelhez más módszerek szükségesek (Lángné Molnár Márta, 2011).

Islam és Shepherd (1992) voltak az elsők, akik rekombinánsokat állítottak elő búza × árpa hibridekből, akik tripla monoszómás addíciókat válogattak ki egy búza/árpa diteloszómás szubsztitúciós vonal és a 'Chinese Spring' *Ph* mutáns változatának keresztezéséből. A kapott genotípusban 19 pár búzakromoszóma mellett, a tripla monoszómás addíció egy árpa telocentrikus kromoszómát, a homeológ búza kromoszómát és egy 5B *Ph* mutáns kromoszómát hordozott. Ezzel a módszerrel hat búza/árpa rekombinációs vonalat állítottak elő, amelyek a 6HL és 3HL kromoszómakarok szegmentumait tartalmazták. A rekombináns kromoszómák jelenlétét izoenzim vizsgálatokkal mutatták ki. Az utódok között olyan egyedeket azonosítottak, amelyekben a 6A és 6H vagy a 3A és 3H kromoszómákon található izoenzimek voltak jelen. Sherman és mtsai (2001) szintén alkalmazták a *Ph* mutáns gén homeológ párosodást elősegítő hatását, az Islam és mtsai által előállított búza/árpa 4H és 5H addíciós vonalakból kiindulva transzlokációs vonalak előállítására. A transzlokációk kimutatása PCR alapú molekuláris markerek segítségével történt.

#### 2.3.3.1. Transzlokációk indukálása

A transzlokációk előállítására különböző módszerek állnak rendelkezésünkre, mint például az ionizáló sugárzás (Sears 1956; Szakács és mtsai, 2010) vagy a homeológ párosodás indukciója (Riley és Chapman 1958; Sears 1972; Griffiths és mtsai, 2006). A búzában található olyan gének, amelyek elősegítik, míg más gének gátolják a kromoszóma párosodást (Sears, 1977). A meghatározó homeológ párosodást kontrolláló gén a *Ph1*, amely az 5B kromoszóma

hosszú karján található. A gén jelenlétében a párosodás csak a homológ kromoszómákra korlátozódik.

Sears (1977) a 'Chinese Spring' búzafajta kalászait röntgensugárással kezelte, és a besugárzott növények pollenjével 5B monoszómás vonalakat keresztezett. Az utódok közül kiválogatott egy *ph1b* mutáns növényt (*CSph1b*) amely a *Ph1* gén deléciójával keletkezett. Alkalmazása a nemesítési gyakorlatban mára széleskörűen elterjedt, mivel a *Ph1* gén hiányában a homeológ kromoszómák is párosodnak, habár kisebb mértékben mint a homológ kromoszómák. A *CSph1b* mutáns vonalakat pollenadóként használva búza/árpa és búza/*Hordeum chilense* addíciós és szubsztitúciós vonalakkal történő keresztezések esetén, megfigyelték a búza/árpa illetve búza/*Hordeum chilense* kromoszómák párosodását. A *ph1b* mutáció alacsony, de szignifikáns mértékű párosodást és rekombinációt idéz elő a búza és *Hordeum sp.* kromoszómái között.

Normál 'Chinese Spring' és a *CSph1b* mutáns keresztezéséből származó F<sub>1</sub> hibrid besugárzásával Al-Kaff és mtsai (2008) öt új *ph1b* deléciós vonalat azonosítottak az utódok között. Giorgi (1978) a tetraploid 'Cappelli' durum búzafajtában indukált röntgensugárással deléciós mutációt hozott létre a *Ph1* génben. A *ph1c* deléció a *ph1b*-hez hasonló pozícióban helyezkedik el az 5B kromoszóma hosszú karján. Gill és mtsai (1993) kimutatták, hogy mindkét mutáció rövid, kb. 3 Mb DNS-szakaszt érint, és átfedi egymást.

A búza/árpa transzlokációnak előállításának egy másik lehetősége a gametocid (Gc) rendszer felhasználása kromoszómatorések indukálása céljából. A gametocid rendszerbe az úgynevezett gametocid kromoszómák (Gc) tartoznak, amelyeket különböző *Aegilops* fajokból vitt át a termesztett búzába Endo (2007). Ez a rendszer hatékonyan bizonyult búza genomba beépülő árpakromoszómák, ugyanúgy mint búzakromoszómák átrendeződésének indukálásához (Endo, 2009). Az ilyen módon rekombinálódott kromoszómákban előfordulhatnak deléciók és transzlokációk a búza- és az árpakromoszómák között. Búza/árpa diszómás addíciókból kiindulva, Schubert és mtsai (1998) búza/árpa transzlokációs vonalakat állítottak elő az *Aegilops cylindrica* 2C kromoszómájának gametocid hatására alapozva. A 7H búza/árpa diszómás addíciós vonalat keresztezték a 2C búza/*Aegilops cylindrica* addícióval, és az utódot, amelyben két idegen fajú kromoszóma (egy árpa és egy *Ae. cylindrica*) volt jelen öntermékenyítették. Az utódgenerációból árpakromoszóma deléciókat és transzlokációkat hordozó vonalakat válogattak ki. A 7H deléciós és transzlokációs vonalakat később a 7H árpakromoszóma fizikai térképezésére használták fel (Serizawa és mtsai, 2001).

A gametocid rendszert a 'Chinese Spring'/'Betzes' diszómás addíciós vonalak felhasználásával az árpakromoszómák térképezésére használták fel. Az 5H árpakromoszóma deléciós vonalak előállításánál 5H kromoszóma szerkezeti változásokat hordozó kromoszómákat

szelektáltak. A szerzők árpa-specifikus EST markereket teszteltek és bebizonyították az 5H deléciós vonalak fontosságát a DNS markerek fizikai térképezésében (Ashida és mtsai, 2007). A 3H addíciós vonalat 50 deléciós (vagy átrendeződött) vonal előállítására használták. Ezeket a vonalakat EST markerek térképezéséhez alkalmazták, majd a polimorf markereket a 3H kromoszóma genetikai térképének előállításához használták (Sakai és mtsai, 2009). A gametocid rendszer kromoszóma átrendeződéseket idézett elő a 4H addíciós vonal utódnövényei között és az átrendeződött kromoszómákat szekvenciális C-sávozással és *in situ* hibridizációval vizsgálták. A 4H kromoszóma-specifikus markereket citológiai térképezésre használtak (Sakata és mtsai, 2010), miközben Nasuda és mtsai (2005) kidolgozták az árpa EST markerek deléciós térképét. A 'Chinese Spring'/'Betzes' diteloszómás addíciós vonalak felhasználásával meghatározták az adott árpa kromoszómákra specifikus EST markerek 90%-ának kromoszómális lokalizációját. Az 1H és 6H árpakromoszómákra is létrehoztak deléciós vonalakat a gametocid rendszer felhasználásával és a kromoszómák szerkezetbeli változásait GISH és FISH alkalmazásával mutatták ki (Ishihara és mtsai, 2014). Öt kromoszóma aberrációt figyeltek meg az 1H kromoszómánál és 33 deléciós vonalat állítottak elő a 6H kromoszómára. Az aberráns kromoszómák PCR analízisét 75 illetve 81, az 1H illetve 6H kromoszómára specifikus EST marker felhasználásával végezték. A 6H kromoszóma citológiai térképét összehasonlították az előzőleg létrehozott genetikai és fizikai térképpel, és azt tapasztalták, hogy a proximális régióban a citológiai térkép jobb felbontóképességgel rendelkezik mint a genetikai térkép (Ishihara és mtsai, 2014).

Transzlokációk spontán módon is létrejöhetnek. A búza × árpa keresztezésekből származó hibridek sterilitásuk miatt vegetatív módon tarthatók fent és szaporíthatók (Molnár-Láng és mtsai, 2005). Erre megoldást jelent a szövettényészetben történő kalluszosítás. Az interspecifikus és intergenerikus keresztezésekből származó hibridek nemcsak hímsterilek, de gyakran nagyon alacsony női fertilitást mutatnak az egyik szülővel történő visszakeresztzés esetén. A búza és távoli rokon fajai közötti keresztezések során gyakran előfordul, hogy a hibrid szem nem tartalmaz endospermiumot, így az embrió tápanyag hiányában abortálódik. A szövettényészet lehetővé teszi a nehezen előállítható hibridek visszakeresztzéséhez és a szükséges mennyiségű növény elszaporítását (Molnár-Láng és mtsai, 2014). Szövettényészetekben gyakran fordulnak elő különböző genetikai rendellenességek: kromoszómaszám-változások, a kromoszómák strukturális megváltozása, például deléciók, transzlokációk és inverziók (Heszky, 2003), valamint DNS metiláció és mutációk (Phillips és mtsai, 1994). Feltételezhető, hogy a genetikai változások stresszre adott válaszreakciók, melyeket táptalajban található ásványi anyagok, növényi hormonok, valamint a szövettényésztés környezeti feltételei (hőmérséklet, fotoperiódus, fény spektrum stb.) indukálnak. Az *in vitro* szövettényészetekben növekedésserkentőként

mesterséges auxinokat is alkalmaznak, melyek közül a 2,4-diklór-fenoxiecetsav (2,4-D) kiválthat kromoszómamutációkat. A 2,4-D rendellenességeket idéz elő a mitózis és a meiózis folyamatában (Khalatkar és Bhargava, 1982), valamint kromoszómatoréseket okoz (Mohandas és Grant, 1972; Molnár-Láng és mtsai, 2005). A szövettényészetben végbemenő kromoszóma átrendeződések nemesítési szempontból előnyösek is lehetnek. Szövettényészetben regenerált búza/rozs hibridnövény kolchicinkezelésével állítottak elő oktoploid tritikálét Lapitan és mtsai (1986), melyben C-sávozással búza/rozs transzlokációkat azonosítottak. Szövettényésztés által indukált transzlokációkról számoltak be interspecifikus és intergenerikus hibridekben: búza/árpa (Molnár-Láng és mtsai, 1991, 2000a; Molnár-Láng és Linc, 2015), búza/*Hordeum chilense* (Prieto és mtsai, 2001), búza/*Agropyron desertorum* (Li és Dong, 1994) és búza/*Dasypyrum villosum* (Li és mtsai, 2000) hibridek utódaiban.

#### 2.4. A *Thinopyrum* nemzetség

A *Thinopyrum* nemzetségbe tartozó tarackbúza-fajokat (Löve, 1984) a termesztett búza harmadlagos génforrásai közé sorolják, különösen széleskörű génforrásként szolgálnak a termesztett *Triticeae* fajok nemesítésében. A nemzetség nagyszámú évelő fajt foglal magába, amelyek ploidszintje igen változó, a diploidtól a dekaploidig. Ezek a szárazságtűrő fűfélék Magyarországon felhagyott kultúrák, erdőterületek és szántók gyomtársulásaiban tömegesen előforduló növények. A tarackbúza legelőkön, réteken, kopár területeken igen gyakori. Közismert a föld alatti, világos színű tarackja, amelynek minden darabja újból teljes értékű növényt képes kihajtani. A tarackbúza-fajok taxonómiája számottevő viták témája volt. Ennek köszönhetően számos *Thinopyrum* faj elnevezésének egy vagy több szinonímája van, arra utalva, hogy korábban ezeket a fajokat a botanikusok az *Agropyron* nemzetségbe sorolták. A molekuláris technikák alkalmazása ellenére Kellogg (2006) megállapítása szerint a *Triticeae* nemzetségcsoporton belül a rokonsági viszonyok vitatottak voltak és továbbra is azok maradnak. Az Észak-Amerikában előforduló tarackbúzaféléket általánosan az *Agropyron* nemzetségbe sorolták, Bentham (1882) körülbelül 20 fajt sorolt az *Agropyron* nemzetségbe, miközben Hackel (1887) 32 fajt. Az utóbbi időben javaslatok történtek a taxonómiai besorolás változtatására, amelyek genomikai és biológiai rokonságon és növénymorfológián alapulnának (Tsvelev, 1976; Dewey, 1984; Yen és mtsai, 2005). Dewey (1984) javasolta, hogy az *Agropyron* elnevezést csak a P genommal rendelkező poliploid taréjos búzafű sorozat esetén használják. Így, az St genommal rendelkező *Agropyron spicatum* (Pursh) Scribner & Smith, és rokon fajait a *Pseudoroegneria* (A. Löve) nemzetségbe sorolják. A *Thinopyrum* nemzetségbe tartozó fajok J

vagy E genommal rendelkeznek (Dewey, 1984), némelyik St genomot tartalmaz (Liu és Wang 1993; Kishii és mtsai, 2005). A korábban *Agropyron trachycaulum* néven ismert faj (Link) Malte ex H.F. Lewis és caespitose rokonai az *Elymus* nemzetség fajai, amelyekben az St alapgenom mellett egy vagy több H, Y, W vagy P genom található (Wang és mtsai, 1995).

A *Thinopyrum* nemzetség fajai számos nemesítési szempontból értékes tulajdonsággal rendelkeznek, mint például fokozott vitalitás, széleskörű abiotikus és biotikus stresszrezisztencia. A nemzetség számos faja évelő. Több fajt sikeresen hibridizáltak a termesztett búzával (2. táblázat). Leginkább a *Th. elongatum* ( $2n=2x=14$ )(Host D.R.) Dewey, *Th. bessarabicum* ( $2n=2x=14$ ) (Savul. & Rayss) Löve, valamint a *Th. intermedium* ( $2n=6x=42$ ) (Host) Barkworth & D.R. Dewey és *Th. ponticum* ( $2n=10x=70$ ) (Podp.) Z.-W. Liu & R.-C. Wang fajt hasznosították a búzába történő hasznos tulajdonságok átvitele céljából (Ceoloni és mtsai, 2014). A *Thinopyrum* fajok könnyen keresztezhetők a búzával, és magasfokú ellenállóságuknak köszönhetően potenciális génforrásként szolgálnak a búza genetikai variabilitásának gazdagítására (Li és Wang, 2009). A tarackbúzát sikerrel hasznosították a búza sötűrésének növelésére (Colmer és mtsai, 2006), betegségrezisztencia (Li és Tong, 2008), valamint minőségi paraméterek javítására (Liu és mtsai, 2008) használták.

#### 2.4.1. *Thinopyrum* fajok hasznosítása a búzanemesítési programokban

A *Thinopyrum* fajokban megtalálható rezisztenciagének indokoltá teszik ezen fajok potenciáljának hasznosítását a búza genetikai diverzitásának szélesítésére. Napjainkig számos rezisztenciagént vittek át az évelő *Triticeae* fajokból a termesztett búzába, a legtöbbet a *Thinopyrum* nemzetségbe tartozó fajokból. Az egyik legfontosabb rezisztenciagén a levélrozsd ellenállóságot biztosító, *Thinopyrum elongatum*-ból származó *Lr19* gén (Sharma és Knott, 1966). A búza hibridizációja különböző tarackbúza fajokkal ígéretesnek bizonyul a termesztett búza sötűrésének javításában (Colmer és mtsai, 2006; Mullan és mtsai, 2009). A halofita vad rokonfajokat amfiploidok, diszómás addíciós és rekombináns vonalak előállítására használták. A szántóföldi kísérletek bizonyították, hogy az amfiploidok magasabb sóstressz-toleranciát, de alacsonyabb terméshozamot mutattak, mint a kontrollként a kísérletekbe bevont 'Chinese Spring' búzafajta, a 3E kromoszóma jelenlétének pedig meghatározó szerepe van a sötűrésben. A dekaploid *Thinopyrum ponticum* a szikes talajokon gyakran előforduló, takarmánynövényként hasznosított tarackbúzafaj. A *Th. ponticum*-ból származó kromoszómák átvitele kenyérbúzába szomatikus hibridizációs módszerekkel is megvalósítható. Chen és mtsai (2004) szántóföldi kísérleteket végeztek mérsékelt szikes talajokon  $F_4$  és  $F_5$  generációban és megfigyelték, hogy a búzaszülő kipusztult, míg a két vizsgált hibrid jó terméshozamot mutatott. Úgy tűnik, ilyen

módon a stabilan beépített *Th. ponticum* kromatin jelenléte lehetővé teszi a só-tűrés javítását a termesztett búzában.

**2. táblázat.** Fontosabb *Thinopyrum* fajok, elnevezésük szinonimái, kromoszómaszámuk és ploidszintjük (Wang és mtsai, 2014 nyomán; a búzával hibridizált fajok vastagon szedve).

Jelenlegi fajnév	Szinonima	Kromoszómaszám	Ploidszint	Genom-összetétel
<i>Thinopyrum bessarabicum</i> (Savul. & Rayss) Á. Löve	<i>Agropyron bessarabicum</i> Savul. & Rayss	14	diploid	J <sup>b</sup> vagy E <sup>b</sup>
<i>Thinopyrum distichum</i> (Thunb.) Á. Löve	<i>Agropyron distichum</i> (Thunb.) P. Beauv <i>Elytrigia disticha</i> Prokudin ex Á. Löve	28	tetraploid	JE vagy E <sup>b</sup> E <sup>c</sup>
<i>Thinopyrum junceiforme</i> (Á. Löve & D. Löve) A. Löve	<i>Agropyron junceum</i> ssp. <i>boreoatlanticum</i> Simonet & Guinochet	28	tetraploid	JE vagy E <sup>b</sup> E <sup>c</sup>
<i>Thinopyrum junceum</i> (L.) Á. Löve	<i>Agropyron junceum</i> (L.) P. Beauv <i>Thinopyrum runemarkii</i> Á. Löve	42	hexaploid	JJE vagy EE <sup>b</sup> E <sup>c</sup>
<i>Thinopyrum elongatum</i> (Host) D.R. Dewey	<i>Agropyron elongatum</i> (Host) P. Beauv; <i>Triticum elongatum</i> , <i>Lophopyrum elongatum</i> (Host) Á. Löve	14	diploid	E vagy E <sup>c</sup>
<i>Thinopyrum caespitosum</i> (C. Koch) Z.-W. Liu & R.-C. Wang	<i>Agropyron caespitosum</i> C. Koch; <i>Lophopyrum caespitosum</i> (c. Koch) Á. Löve	28	tetraploid	ESt
<i>Thinopyrum curviflorum</i> (Lange) D.R. Dewey	<i>Elymus curvifolium</i> (Lange) Melderis	28	tetraploid	EE vagy J <sup>c</sup> J <sup>e</sup>
<i>Thinopyrum ponticum</i> (Podp.) Barkworth & D.R. Dewey	<i>Agropyron elongatum</i> (Host) P. Beauv.; <i>Elytrigia pontica</i> (Podp.) Holub; <i>Lophopyrum ponticum</i> (Podp.) Á. Löve	70	dekaploid	EEEstSt vagy JJJJ <sup>st</sup> J <sup>st</sup>
<i>Thinopyrum scirpeum</i> (K. Presl) D.R. Dewey	<i>Agropyron scirpeum</i> K. Presl; <i>Lophopyrum scirpeum</i> (K. Presl) Á. Löve	28	tetraploid	EE vagy J <sup>c</sup> J <sup>e</sup>
<i>Thinopyrum intermedium</i> (Host) Barkworth & D.R. Dewey	<i>Agropyron intermedium</i> (Host) P. Beauv; <i>Elytrigia intermedia</i> (Host) Nevski	42	hexaploid	EE <sup>st</sup> St vagy JJ <sup>st</sup> St
<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	hexaploid	EE <sup>st</sup> St vagy ESt
<i>Thinopyrum podperae</i> (Nábelek) D.R. Dewey	<i>Agropyron podperae</i> Nábelek <i>Elytrigia intermedia</i> ssp. <i>podperae</i> (Nábelek)	42	hexaploid	
<i>Thinopyrum nodosum</i> (Nevski) D.R. Dewey	<i>Agropyron nodosum</i> Nevski; <i>Lophopyrum nodosum</i> (Nevski) Á. Löve	28	tetraploid	ESt
<i>Thinopyrum flaccidifolium</i>	<i>Agropyron elongatum</i> var. <i>flaccidifolium</i> (Boiss. & Heldr.) <i>Elytrigia flaccidifolia</i> (Boiss. & Heldr.) Holub	28	tetraploid	EE vagy E <sup>c</sup> E <sup>c</sup>
<i>Thinopyrum sartorii</i>	<i>Agropyron sartorii</i> (Boiss. & Heldr.) <i>Elytrigia sartorii</i> (Boiss. & Heldr.)	28	tetraploid	JE vagy E <sup>b</sup> E <sup>c</sup>
<i>Thinopyrum pycnanthum</i> (Godr.) Barkworth	<i>Agropyron pycnanthum</i> (Godr.) Godr. & Gren. <i>Elytrigia pycnantha</i> (Godr.) Á. Löve	42	hexaploid	SP <sup>s</sup> E <sup>s</sup>
<i>Thinopyrum pungens</i> (Pers.) Á. Löve	<i>Agropyron pungens</i> (Pers.) Roem. & Schult, <i>Elytrigia pungens</i> (Pers.) Tutin	56	oktoploid	EStStP, EStLP



A két legértékesebb rezisztencia-forrásként használt tarackbúzafaj a *Th. intermedium* és *Th. ponticum*, elsősorban mert ezek a fajok számos biotikus és abiotikus stresszekkel szemben ellenállóságot biztosító géneket hordoznak (levél- és szárrozsdá, gyökérrothadás, fuzárium, búza mozaik vírus, szárazság, magas hőmérséklet, sótűrés) (Liu és mtsai, 2007), másodsorban az általuk hordozott J és St genomok közeli rokonságban állnak a hexaploid búza A és D genomjával. Poliploid mivoltuk több, különböző földrajzi eredetű ősből való származást feltételez. Ezek a fajok széleskörű genetikai diverzitással és molekuláris polimorfizmussal rendelkeznek, amelyek jól hasznosíthatók mind az alap kutatásban, mind a búzanemesítésben. Egy búza-*Th. intermedium* részleges amfiploid felhasználásával Zhan és mtsai (2015) egy liztharmat- és sárgarozsdá-rezisztens búza-*Th. intermedium* transzlokációs vonalat állítottak elő. A vonal molekuláris markeres vizsgálata kimutatta, hogy a transzlokálódott idegen fajú kromatin a *Th. intermedium* 6-os homeológ kromoszóma csoportjából származik, és egy 6BS.6Ai#1L kompenzáló Robertsoni transzlokáció. A *Th. ponticum* számos levérrozsdá- és szárrozsdá-rezisztenciagén forrása: *Sr24* amely kapcsolt az *Lr24*-el (McIntosh és mtsai, 1977; Li és mtsai, 2003), *Sr 25* amely kapcsolt az *Lr 19*-el (McIntosh és mtsai, 1977; Zhang és mtsai, 2005), *Sr26* (Knott, 1961), *Sr43* (Kibirige és Knott, 1983; Friebe és mtsai, 1996), fuzárium- (Shen és Ohm, 2007) és liztharmat-rezisztenciagének forrása (Sepsi és mtsai, 2008), a *Th. intermedium*-ból származik az *Sr44* rezisztenciagén (Friebe és mtsai, 1996).

A *Thinopyrum* fajokban a sótűrés a Na<sup>+</sup> és Cl<sup>-</sup> ionok kizárásával valósul meg, főleg magas NaCl koncentráció esetén (Gorham, 1994). A *Th. elongatum* esetén Dvořák és mtsai (1988) és Omielan és mtsai (1991) leírták a 3, 4 és 7-es kromoszómák alapvető szerepét az ionok kizárásban. A *Th. bessarabicum* 5J<sup>b</sup> kromoszómáján található egy domináns gén (vagy gének), amely(ek) felelős(ek) a sóstressz tűrésért (Forster és mtsai, 1988; Mahmood és Quarrie, 1993), a búza sóstressz-toleranciájában az 5-ös homeológ csoport kromoszómáin található gének töltenek be fontos szerepet. Ezek a gének szorosan kapcsolódtak a vernalizációt (5-ös homeológ csoport) és a fotoperiodizmust (2-es homeológ csoport) befolyásoló génekkel (Taeb és mtsai, 1992; Martin és mtsai, 1993). Zhong és Dvořák (1995a,b) felvetették, hogy a *Triticeae* fajok hasonló tolerancia mechanizmusokat mutatnak hirtelen bekövetkezett sóstressz esetén.

Az évelő *Triticeae* fajok egy része, például a *Thinopyrum bessarabicum* (Manyowa és Miller, 1991) magasabb Al és Mn toleranciát mutat a termesztett búzáénál. Az 5J<sup>b</sup> kromoszómát hordozó addíciós vonalak, illetve az 5J<sup>b</sup>/6J<sup>b</sup> transzlokációs vonalak esetén nagyobb mértékű Al és Mn toleranciát figyeltek meg mint a búzáénál, ami arra enged következtetni, hogy ezek a kromoszómák a fémtoleranciáért felelős géneket hordoznak.

#### 2.4.2. Búza/*Thinopyrum* fajok közötti hibridek és részleges amfiploid előállítása

Búza × tarackbúza keresztezésekről Wilson (1875) számolt be először, intenzív keresztezések a XX. század első felében kezdődtek a Szovjetunióban, az Egyesült Államokban, Kanadában és Németországban. A legintenzívebb búza × tarackbúza keresztezési programot szovjet kutatók végezték. Az első ismert búza × *Agropyron* hibridet Cicin állította elő 1930-ban (Armstrong, 1936). Később Cicin (1979) beszámolt a búza *Agropyron glaucum*-mal, *A. trichophorum*-mal, *A. elongatum*-mal, *A. junceum*-mal történő keresztezéséről. A búza × *Agropyron elongatum* F<sub>1</sub> hibridek jólfejlett gyökérrendszerrel, betegség-rezisztenciával, hideg- és szárazságtűrővel rendelkeztek. Az F<sub>2</sub>-ben a növények jórésze évelő volt. Veruschkine (1936) megállapítása szerint a legfertilisebbek a *Triticum vulgare* × *Agropyron elongatum* hibridek voltak. Magyarországon az első búza × tarackbúza hibrideket 1953-ban Kiss és Rajháthy hozta létre, az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézetben (Kiss és Rajháthy, 1956).

A búza és tarackbúza közötti amfiploidok, amelyek az F<sub>1</sub> hibridek kolchicinnel történő kezelése vagy spontán kromoszóma duplikációval jöttek létre, amellett, hogy lehetőséget adnak a donor fajok és a recipiens búza genomok hasonlóságának vizsgálatára, alapanyagként szolgálnak hasznos tulajdonságok átvitelét célzó introgressziós vonalak előállítására. Az amfiploidok kromoszómaszámának redukálásával jönnek létre a részleges amfiploidok. A nemesítési programok egyik célja az évelő jelleg beépítése a búzába, amely során a diploid *Th. elongatum*, és a poliploid *Th. ponticum* és *Th. intermedium* fajokból származó kromoszómák biztosíthatják az évelő jelleget. Ebben az esetben, ha a búza szülő hexaploid, az amfiploid legalább 56 kromoszómával rendelkezik. Az évelő jelleg és robusztus évelő habitus megfigyelhető a részleges amfiploidok esetében, amelyekben a búza: tarackbúza kromoszómák aránya változó lehet (Ceoloni és mtsai, 2015). Az MT-2 vonal esetében, amely egy *T. durum/Th. intermedium* dekaploid amfiploidból származik, kromoszóma eliminációt követően genomja (2n=56) körülbelül 30 *Thinopyrum* kromoszómát és 26 búzakromoszómát tartalmazott. Ezzel szemben, az OK-906 és 'Agrotana' vonalak, 40 búzakromoszómával és csak 16 *Thinopyrum* kromoszómával rendelkeznek és nem mutatnak évelő jelleget (Jones és mtsai, 1999). Minden esetben számos keresztezési ciklus és erős szelekció szükséges, hogy a kívánt tulajdonság megfelelő stabilitást mutasson.

A dekaploid *Th. ponticum* és a hexaploid *Th. intermedium*/búza hibridekből származó részleges amfiploidok általában egyaránt 56 kromoszómával rendelkeznek. Ezekben a növényekben nem minden esetben van jelen a teljes búzagenom, búza/*Thinopyrum* transzlokációk jöttek létre vagy homeológ *Thinopyrum* kromoszómák helyettesítik a hiányzó búzakromoszómákat (Oliver és mtsai, 2006; Sepsi és mtsai, 2008). A részleges amfiploidokban

összesen 6 különböző homeológ genom (A, B, D, J, J<sup>St</sup>, St) van jelen és a növényekben gyakran a különböző genomok közötti transzlokációk figyelhetők meg (Han és mtsai, 2004).

Számos búza/*Thinopyrum* teljes vagy részleges amfiploid felhasználható rezisztenciagének expressziójának vizsgálatára a recipiens búza genomban. Ezek a rezisztenciagének kitűnő ellenállóságot biztosítanak különböző gomba- és vírusbetegségekkel szemben, mint például levélrozsa, szárrozsa, sárgarozsa, lisztharmat, fuzárium, árpa sárga törpülés (BYDV), búza csíkos mozaik (WSMV) és ennek vektora, az *Aceria tosichella* ellen (Oliver és mtsai, 2006; Li és Wang, 2009; Chang és mtsai, 2010b; Wang, 2011). Az amfiploidok egy része, például a durum és kenyérbúza *Th. elongatum*, *Th. bessarabicum* vagy *Th. distichum* fajokkal létrehozott amfiploidjai kitűnő toleranciát mutattak különböző abiotikus stresszekkel, különös tekintettel a magas sótartalommal szemben (King és mtsai, 1996; Colmer és mtsai, 2006; Marais és mtsai, 2014).

### 2.4.3. Búza/*Thinopyrum* introgressziós vonalak előállítása

A nagy mennyiségű idegen fajú kromatint hordozó vonalak általában nem megfelelőek a gyakorlati növénytermesztés számára, de kétségtelenül potenciális alapanyagként szolgálnak olyan introgressziós vonalak előállítására, amelyekben csak a kívánt tulajdonságokért felelős gének vannak jelen. A vad *Triticeae* fajokból történő génátvitel az utóbbi években jelentős eredményeket ért el a molekuláris genetika, citogenetika és genomikai módszerek fejlődése következtében. Mivel ezek a fajok nem rendelkeznek a búzával teljesen homológ genommal vagy genomokkal, széleskörű módszereket alkalmaztak transzlokációk és rekombinációk indukálására a búza és idegen fajú kromoszómák között. A kromoszóma-mérnökség korai szakaszában sugárzással indukált levélrozsa rezisztens búza/*Agropyron elongatum* transzlokációkat állítottak elő (Sharma és Knott, 1966; Knott, 1968). Az intergenomikus homeológ párosodás indukálása a *Ph1* mutáns gén a búzából és durumbúzából történő átvitelével hódított teret (Sears, 1977; Giorgi, 1983). Néhány esetben a szövettanyészet által indukált töréseket (Banks és mtsai, 1995) és az *Aegilops speltoides* búza *Ph1* gén hatását gátló *Ph1* gén(ek)e)t (Wang és mtsai, 2003) hasznosították az árpa sárga törpességét okozó vírussal szembeni rezisztencia és a sótűrés átvitelére a *Th. intermedium* 7-es kromoszóma-csoportjáról (7Ai-1) és a *Th. junceum* 5-ös kromoszómacsoportjáról (AJDAj5). Más esetekben a potenciális genetikai anyag spontán transzlokációk formájában jött létre, a vad *Triticeae* fajokban megtalálható homeológ párosodást elősegítő gének aktivitása következtében, ami úgy tűnik bizonyos mértékben ellensúlyozza a búza *Ph* génjeinek hatását (Ceoloni és mtsai, 2015).

A *Th. intermedium* és *Th. ponticum* J, illetve St alapgenomok búza A és D genomjával való hasonlóságuk miatt a legalkalmasabbak a búzanemesítési programokban való felhasználásban. A

*Thinopyrum* fajokból kompenzáló transzlokációk előállításával főleg betegség-rezisztenciát sikerült átvinni a termesztett búzába. *Th. intermedium* kromoszóma- szegmentumokból származó rozsda-rezisztenciagének építettek be a búzagenomba, mint például az *Sr44* (eredetileg *SrAgi*, McIntosh és mtsai, 1995), amely rezisztenciát biztosít a Ug99 rasszkomplexel szemben (Pretorius és mtsai, 2010). Ennek az előállításához a 7Ai (vagy 7J) addíciós vagy szubsztitúciós vonalat használták fel, melyből előállítottak egy 7DL.7JS (=7DL.7Ai-1S) kompenzáló Robertsoni transzlokációt (Liu és mtsai, 2013).

A *Th. ponticum*-ból származó transzlokációk közül kiemelkedő jelentőségű az *Lr24* és *Sr24* rezisztenciagének átvitele. Új búzafajtákat állítottak elő, amelyek egy spontán búza/*Th. ponticum*, mindkét gént tartalmazó transzlokációt hordoznak a 3AgL kromoszómakar terminális szegmentumán, amely magában foglalja a 3DL kromoszóma kar 30%-át is (Friebe és mtsai, 1996). Számos, főleg 3D és néhány esetben 3B kromoszóma szegmentumokat hordozó rekombináns vonalat is előállítottak (Sears, 1973; 1978).

A legígéretesebb transzlokációs vonalak (pl. KS24-1 vagy KS24-2, Kim és mtsai, 1993), amelyek a 7DS.7el<sub>2</sub>L Robertsoni transzlokációt hordozzák, a teljes 7el<sub>2</sub>L karral nemkivánt génkapcsoltságot mutatnak, mint például a liszt sárga pigmentációjáért felelős *Yp* gén kapcsoltsága az *Lr19* génnel búzában. A durumbúza esetében az *Lr19* és az *Yp* gének közötti kapcsoltság előnyös tulajdonságnak tekinthető, a száraztésztagyártás során a magas sárga pigment tartalom növeli a előállított termék esztétikai értékét. A két gént Ceoloni és mtsai (1996), illetve Lukaszewski (2006) egymástól függetlenül beépítették a durumbúza 7A kromoszómájába. A genetikai alapanyagok előállítása során sikerült szétválasztani a hasznos és a nemkívánatos géneket (Prins és mtsai, 2001), és az *Lr19*-alapú rezisztencia hasznosítása lehetségessé vált a kenyérbúzában.

A *Th. ponticum*-ból megvalósultak többszörös introgressziók is. Egy ilyen példa a kínai 'Xiaoyan 6' búzafajta, amelyben legkevesebb 2 kromoszóma (2A és 7D) hordoz *Th. ponticum*-ból származó kromoszóma-szegmentumokat, olyan génekkel, amelyek hosszútávú rezisztenciát biztosítanak sárgarozsdával és szeptóriás levélfoltossággal, magas környezeti hőmérséklettel szemben (Li és mtsai, 2008 és az ott felsorolt referenciák).

#### 2.4.4. *Agropyron glael*, a *Thinopyrum intermedium* és *Thinopyrum ponticum* keresztezéséből származó szintetikus hibrid

Nikolai V. Cicin szovjet botanikus, genetikus és növénynevelő a XX. század első felében a Szovjet Tudományos Akadémia keretein belül *Triticum/Agropyron* és *Agropyron/Agropyron* keresztezésekkel és hibridek előállításával foglalkozott. A *Thinopyrum intermedium* és *Thinopyrum ponticum* keresztezésével, az 1930-as években állította elő az *Agropyron glael*

szintetikus fajhibridet. Az elnevezés a régi nomenklatúra szerinti *Agropyron glaucum* (Desf. ex DC.) Roem. & Schult. ( $2n=6x=42$ ) (= *Thinopyrum intermedium*) és az *Agropyron elongatum* (Host) P. Beauv. ( $2n=10x=70$ ) (= *Thinopyrum ponticum*) fajnevek, *glaucum* és *elongatum* első szótagjának összevonásával jött létre. Az *Agropyron glael* elnevezésének megváltoztatására nem található szakirodalmi említés, ezért a dolgozatban is így szerepel. Cicin a fajok reciprok keresztezésével mindkét kombinációban létrehozott hibrideket, *Agropyron glael* és *Agropyron elgla* néven, utalva ezzel a keresztezésben használt szülőpartnerekre. Az *Agropyron glael* esetében az *Agropyron glaucum* volt az anya, míg az *Agropyrum elongatum* a pollenadó szülő. Cicin (1979) a hibridekből aneuploid növényeket is létrehozott, melyek a szülőknél 1-3 kromoszómával kevesebbet vagy többet tartalmaztak. Az *A. glaucum* és *A. elongatum* könnyen keresztezhetőek egymással, a szemkötés magas. A hibridek szemei aszottak voltak, de jólfejlett embrióval rendelkeztek. A szemek csírázási képessége jó, a növények nagy termőképességgel és jó bokrosodással rendelkeztek. Az  $F_1$  hibridek heterogének voltak a bokrosodás, a növénymagasság és a kalázméret tekintetében. Az *A. glael* hibridnövények magassága 126-149 cm között volt, kalászhozuk 19,2- 25,2 cm, a kalászok 15-17 kalázkából álltak. Magasságuk köztes volt, kalászuk lazább, hosszabb és gyengébb fertilitású a két szülőpartnerhez viszonyítva. A hibridek 56 kromoszómával rendelkeztek (Cicin, 1979). A meiózis során a kromoszómák 21-28 bivalens formát alkottak. A hibrid növények ugyanúgy, mint a szülő partnerek évelők voltak, jól tűrték az átültetést és a klónozást, többségük a leírójuk szerint több mint 20 évig is fennmaradt.

Az *A. glael* hibrid Dr. Szalay Dezső kutató közvetítésével került Martonvásárra, az MTA Mezőgazdasági Intézet évelő tenyészkertjébe, ahol a továbbiakban fenntartották. Lángné Molnár Márta és munkatársai a martonvásári Mv9kr1 búza genotípust 2001-ben keresztezték az *A. glael* levélrozda rezisztens 8-as számú klónjával (*A. glael*-8), melynek során a hibrid genotípust pollenadóként használták (Molnár-Láng és mtsai, 2012b). Negyvenöt kalász beporzása után, 30 kalászban összesen 255  $F_1$  szem fejlődött ki. A mesterséges körülmények között szaporított  $F_1$  növények kalászkezdeményéből növényeket regeneráltak (Kruppa és Molnár-Láng, 2016). A regenerált növényeket 'Chinese Spring' búzafajtával keresztezték 2004-ben 5 db  $BC_1$  szemet állítottak elő. Ezek közül két életképes növényt sikerült felnevelni 2005-ben. Az egyik 49 kromoszómával rendelkező törpe növény (0566-os citológiai számú) Mv9kr1 genotípussal keresztezett kalászaiban 11db  $BC_2$  szem fejlődött ki, ezekből azonban további nemzedékeket nem sikerült előállítani, mert a növények kipusztultak még kalászolás előtt vagy sterilek voltak. A másik 62 kromoszómát hordozó növény (0567-es citológiai számú) három kalászát szintén keresztezték az Mv9kr1-el, ezekben összesen 19 db  $BC_2$  szem fejlődött, egy kalász öntermékenyítésével pedig 46 db szemet kaptak.

## 2.5. Kromoszómák azonosítása *in situ* hibridizációs technikával

A 1970-es évek elejéig a kromoszómák vizsgálata klasszikus citogenetikai módszereket foglalt magába, amelyek főleg a kromoszómák morfológiáját vették alapul, úgy mint a karok mérete, kararányok, másodlagos befűződések jelenléte és helyzete, a kromoszómák száma és szerkezetükben történt változások (Silva és Souza, 2013). A búzakromoszómák Giemsa festésén alapuló C-sávok karyotípusát 1991-ben közölték Gill és mtsai. A gabonafélékben a módszer alkalmazása már a 70-es években megkezdődött (Gill és Kimber, 1974; Hadlaczký és Belea 1975). A sávozási technikák nem voltak sikeresek minden fajnál, illetve nem adtak megbízható eredményeket az elemzésbeli nehézségek miatt. A gabonafélék többségében ráadásul nem figyelhető meg a kromoszómák nagymértékű különbsége, méretüket és kararányukat tekintve, ami megnehezíti a morfológiai elemzést. Az 1960-as évek végén a citogenetikai kutatások gyors fejlődése és az *in situ* hibridizációs technikák kidolgozása (Pardue és Gall, 1969) lehetővé tette különböző biológiai preparátumokon teljes genomok, kromoszómák vagy kromoszóma-szegmentumok, specifikus DNS-szekvenciák azonosítását, ezáltal alkalmasak faj- és nemzetség-keresztezésekből származó hibridek és utódnemzedékek vizsgálatára. A gabonafélék és vad rokonfajok kromoszómainak vizsgálatára a gyökércsúcs osztódó szövetéből készített metafázisos kromoszómapreparátumok ideálisnak bizonyultak az *in situ* hibridizációs technikák kivitelezéséhez.

### 2.5.1. Fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH)

Az első molekuláris citogenetikai technikák radioaktívan jelölt próbákat alkalmaztak. Gall and Pardue (1969) radioaktívan jelölt RNS-szekvenciát hibridizált *Xenopus* béka megtermékenyítetlen petesejtjeiből készített metszetre. Jelenleg ilyen módon jelölt próbákat csak ritkán alkalmaznak, mivel a jelek láthatóvá tételéhez szükséges autoradiográfia hosszú időt vesz igénybe, térbeli felbontóképessége gyenge (Mc Neil és mtsai, 1991), a radioaktív izotópok használata veszélyes. A FISH technika lehetővé teszi néhány száz bázispár hosszúságú, általában repetitív DNS- vagy RNS-szekvenciák hibridizálásával és specifikus hibridizációs mintázatuk detektálásával (Pedersen és Langridge, 1997) a kromoszómák azonosítását (Schwarzacher és Heslop-Harrison, 2000).

Napjainkban a radioaktív izotópokkal történő jelölés helyett, a fluorokrómokkal (fluoreszcein, rhodamine) történő jelölést alkalmazzák, melyek fluoreszcens mikroszkópban egyszerűen detektálható mintázatot adtak (Jiang és Gill, 1994). A próbajelölés lehet direkt jelölés, amely esetben az azonosítani kívánt kromoszóma denaturált DNS-éhez a fluorokrómokhoz kapcsolt nukleotidok hibridizálnak, vagy indirekt jelölés, amikor a próbaként

szolgáló nukleotidra egy haptén molekulát (biotin, digoxigenin) építenek, melyet a hibridizáció után specifikus antitestekkel detektálnak. A próbától függően a jelölés történhet különböző módszerekkel (nick transláció, random priming, PCR) (Schwarzacher 2003, 2009). A FISH technika segítségével egyenként azonosíthatók a kromoszómák, a kromoszóma-szegmentumok, a kromoszómák szerkezeti változásai (Schwarzacher, 2003). Az egyidőben több jelölt próbát alkalmazó FISH-sel (mc-FISH) a repetitív szekvenciák elhelyezkedése a kromoszómákon megfigyelhető és ezek fizikailag térképezhetők (Leitch és Heslop-Harrison 1992; Mukai és mtsai, 1993; Jiang és Gill, 1994). A leírt FISH mintázatok sok esetben a konstitutív heterokromatinra jellemző C-sávozással mutattak hasonlóságot.

A pSc119.2 próba (McIntyre és mtsai, 1990) a Bedbrook és mtsai (1980) által izolált 120 bp hosszúságú telomérás heterokromatin eredetű rozsszekvenciából áll. A biotinnal jelölt, pSc119.2 próba kromoszóma-specifikus mintázatot ad a búza B genomjához tartozó kromoszómáin, valamint a 4A, 5A, 1D, 2D és 4D kromoszómákon (Rayburn és Gill 1985; Schneider és mtsai 2003). A búza D genomjához tartozó 7 pár kromoszóma azonosítása az *Aegilops squarrosa* fajból izolált 1Kb hosszú pAs1 ismétlődő szekvenciával lehetséges (Rayburn és Gill, 1986). A két próba eltérő színű jelölésével és egyidejű hibridizálásával a 21 pár búzakromoszómából 17 azonosítható, köztük az összes B és D kromoszóma (Mukai és mtsai, 1993). Különböző *Triticeae* nemzetséghez tartozó fajokból izolált, Afa I endonukleázzal emésztett pAs1 szekvenciák (Afa-family próba) előállításával egyes A genomhoz tartozó kromoszómák azonosítása is lehetővé vált (Nagaki és mtsai, 1995). A másodlagos befűződéseket tartalmazó kromoszómák aktív NOR-régióihoz, valamint a szatellittel nem rendelkező kromoszómák inaktív NOR-régióihoz is hibridizálódik a pTa71 próba (Gerlach és Bedbrook, 1979) amely a búza 45S rDNS-ét hordozza. A 18S-5,8S-25S rRNS gének ismétlődő szekvenciáit tartalmazó 45S rDNS lokuszok a kromoszómák másodlagos befűződéseiben (NOR régióiban) helyezkednek el a legtöbb növény fajban (Roa és Guerra, 2012). A 18S-5,8S-25S rRNS gének 100-1000 kópiában ismétlődnek és nagyon konzervatívak ezért a pTa71 próba alkalmas a búza B genomjához tartozó szatellittel rendelkező kromoszómák azonosítása mellett a 3D és az 5D, az árpa 5H és 6H kromoszómáinak azonosítására, valamint a szatellittel nem rendelkező 1H, 2H és 7H árpa kromoszómákon is ad hibridizációs jeleket (Leitch és Heslop-Harrison, 1992). Szintén a búza kromoszómák azonosítására alkalmazzák a (GAA)<sub>7</sub> mikroszatellit próbát. Ez a DNS szekvencia B genomhoz kötődik, de jelet ad az A és a D genomhoz tartozó kromoszómákon is (Dennis és mtsai, 1980; Pedersen és mtsai, 1996; Pedersen és Langridge, 1997). A pAs1 és a (GAA)<sub>7</sub> próbák egyidejű használatával a hexaploid búzagenom mind a 21 pár kromoszómája megkülönböztethető egymástól (Pedersen és Langridge, 1997).

A búzakromoszómák azonosítására alkalmazott próbák nem minden esetben adnak specifikus hibridizációs jelet az árpakromoszómákon. Például a pSc119.2 repetitív szekvencia csak szórt jeleket ad. A Schubert és mtsai által (1998) leírt 118 bp hosszú, G+C bázispárban gazdag árpaspecifikus HvT01 szubtelomérás repetitív DNS-próba a búzakromoszómákon nem ad hibridizációs jeleket (Belostotsky és Ananiev, 1990), ezért alkalmas árpakromoszómák azonosítására búza/árpa addíciós (Szakács és Molnár-Láng 2007, 2010) és szubsztitúciós vonalakban. A  $(GAA)_7$  mikroszatellit-szekvencia árpakromoszómák centroméra körüli régiójában az N-sávozáshoz hasonló mintázatot ad (Pedersen és mtsai, 1996). Tsujimoto és mtsai, (1997) leírták az Afa-family-próba hibridizációs mintázatát az árpan. Különböző mikroszatellit próbák alkalmazásával [(AG) $_n$ , (AAG) $_n$ , (ACT) $_n$  és az (ATC) $_n$ ] Carmona és mtsai (2013) leírták az árpak FISH mintázatát és ennek alapján árpa-fajták közötti polimorfizmust.

### 2.5.2. Genomi *in situ* hibridizáció (GISH)

Schwarzacher és mtsai (1989) kidolgozták a növényi kromoszómák kimutatására alkalmas genomi *in situ* hibridizációs technikát, amellyel lehetővé válik különböző genomok és genom-átrendeződések kimutatása faj- és nemzetség-keresztezésekből származó hibridekben, introgressziós vonalakban és allopoliploid fajokban (Jiang és Gill, 1994). Ebben az esetben hibridizáció során az egyik genom direkt vagy indirekt módon jelölt teljes genomi DNS-ét használják próbaként és a recipiens faj vagy genom jóval nagyobb koncentrációban alkalmazott jelöletlen genomi DNS-ét blokkolóként. Direkt jelölés esetén a fluorokróm (fluoreszcein, rhodamine) a DNS-próba-hoz kapcsolódik. Indirekt jelölés esetén a DNS-próba-hoz közvetlenül egy nem fluoreszkáló haptén (biotin, digoxigenin stb.) kötődik, amelyhez a fluorokróm specifikus antitestten keresztül kapcsolódik a hibridizációt követően. A próba/blokkoló arány megfelelő kell legyen ahhoz, hogy a jelölt próba ne hibridizáljon mindkét genomhoz tartozó kromoszómákhoz egyszerre (Brammer és mtsai, 2009). A GISH technikával kimutatható a hibridekben a búza és az idegen faj kromoszómáinak meiózisban történő párosodása (Miller és mtsai, 1994; Fernandez-Calvín és mtsai, 1995; Molnár-Láng és mtsai, 2000a), valamint pontosan meghatározható az eltérő genomok közötti transzlokáció töréspontja, a recipiens faj genomjába beépült idegen fajból származó DNS-szegmentum mérete (Le és mtsai, 1989). A GISH-t intenzíven használják a szülőpartnerek azonosítása céljából természetes és szintetikus hibridekben, a természetes allopoliploidok eredetének és evolúciójának meghatározásában, előnemesítési programokban, mint például szülőpartnerek kiválasztása keresztezési programok esetében. Martonvásáron, a Génmegőrzési Osztályon előnemesítési programunk keretében évtizedek óta sikeresen alkalmazzuk a GISH-t búza/árpa (Molnár-Láng és mtsai, 2000 a,b) búza/rozs (Molnár-Láng és mtsai, 2010) és búza/*Aegilops* (Linc és mtsai, 1999; Schneider és mtsai, 2005)



introgressziós vonalakban az idegen fajból származó kromatin kimutatására, poliploid fajokban a genomok megkülönböztetésére (Molnár és mtsai, 2009).

Minél közelebbi rokonságban állnak a kimutatni kívánt genomok, annál nehezebb a megkülönböztetésük. A GISH újabb változata, a multicolour GISH (mcGISH) lehetővé teszi közeli rokonságban található genomok differenciálását. A módszer két vagy több, eltérő színű fluorokrómmal jelölt genomi DNS-próbát alkalmaz és a hibridizációs körülmények finomításával lehetővé teszi az allopoliploid fajok nagyon közeli rokonságban lévő genomjainak megkülönböztetését. Mukai és mtsai (1993) különböztették meg legelőször a búza A, B, és D genomját kettős jelölést alkalmazva (A és D genom). Az mcGISH-t búza/*Thinopyrum* hibridek és utódaik vizsgálatának céljából finomították (Han és mtsai, 2003; Jauhar és Peterson, 2006). Ezt a módszert alkalmazták Sepsi és mtsai (2008) levélrozsa-rezisztens búza/*Thinopyrum ponticum* részleges amfiploid, Mahelka és mtsai (2011) az allohexaploid *Thinopyrum intermedium* genomjainak elemzésére, Kruppa és Molnár-Láng (2016) az *Agropyron glael* szintetikus fajhibridet alkotó *Th. intermedium* és *Th. ponticum*-ból származó J, J<sup>st</sup> és St genomok kimutatására.

## 2.6. A búza gombabetegségei és a rezisztencia-nemesítés

A búzát termesztése során számos biotikus stresszhatás éri, melyek a betakarítható termés mennyiségét és minőségét kedvezőtlenül befolyásolják (McIntosh és mtsai, 1977). A búzát világszerte három rozdafaj veszélyezteti. Magyarországon mindhárom előfordul kisebb-nagyobb gyakorisággal. A vörös, vagy más néven levélrozsa (*Puccinia triticina* Eriks.) az asszimilációs felület csökkentése és élősködő életmódja miatt, járványos években 20-50%-kal is csökkentheti a termést. A sárgarozsa (*Puccinia striiformis* West.) a csapadékosabb klímájú országok jelentősebb rozdagombája, hazánkban meglehetősen ritkán jelentkezik, azonban az általa okozott termésveszteség elérheti a 60%-ot. Az utolsó járványos megbetegedéseket 2014-től figyelték meg hazánkban. A szárrozsa (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. tritici Eriks. & E. Henn.) a múlt század első felében egészen a hetvenes évekig volt a legrettegettebb búzabetegség. Magyarországon jelenleg kisebb jelentőségű. Melegigényes kórokozó lévén, ha április végén, május elején szeles, csapadékos, fülledt meleg időjárás alakul ki, az kedvez a járvány kialakulásának. Ritka fellépése esetén akár 100%-os termésveszteséget is okozhat. A nekrotróf kórokozók, amelyek közé tartozik a *Fusarium* ssp. is, fitotoxinjaikkal gyengítik a gazdanövényt, ami az asszimilációs felület nekrotizálódását követően termésveszteség formájában nyilvánul meg. A kalászfuzárium (*Fusarium graminearum* Schwabe, *Fusarium culmorum* (W.G.Sm.) Sacc.) esetében, a kórokozók által termelt toxinok emberi fogyasztásra alkalmatlanná teszik a terményt. A biotróf és nekrotróf kórokozók ellen az egyik leghatásosabb védekezési mód a

rezisztens fajták nemesítése, mivel a betegségek által okozott termésveszteség mértéke a környezeti hatások mellett nagy mértékben függ a gazdanövény ellenálló képességétől is (Szunics és Szunics, 2010; Vida és mtsai, 2011). Egy adott rezisztenciagént tartalmazó, nagy területen termesztett fajták egy új virulens rassz megjelenésekor súlyos károkat szenvednek (Mesterházy, 2006). A biotikus rezisztencia fejlesztésében egyes levélbetegségek esetében a génpiramidálási kutatások hozhatnak átütő eredményeket (Láng és Bedő, 2006).

A búzával rokon, termesztett és vad fajokból sikerült több rezisztenciagént beépíteni a modern búzafajtákba. Genetikai diverzitásuknak köszönhetően, főleg a vad fajokat használták génforrásként rezisztencia kialakítására a termesztett búzában. Eddig különböző kecskebúza (*Aegilops*) (*Ae. umbellulata* Zhuk. – Lr9; *Ae. speltoides* – Lr35, Lr47, Lr51, Lr66, Sr32, Sr39 és Sr47; *Ae. tauschii* – Lr39, Lr40, Sr33, Sr45 és Sr46; *Ae. kotschyi* Boiss. – Lr54; *Ae. sharonensis* Eig – Lr56; *Ae. triuncialis* (L.) Á. Löve – Lr58; *Ae. peregrina* (Hackel in J. Fraser) Maire & Weiller – Lr59; *Ae. geniculata* Roth – Sr53; *Ae. ventricosa* Tausch – Sr38; *Ae. comosa* Sm. in Sibth. & Sm. – Sr38), továbbá tarackbúza (*Thinopyrum*) (*Th. ponticum* (Podp.) Barkworth & D. R. Dewey – Lr19, Lr24, Lr29, Sr24, Sr25, Sr26, Sr43 és Sr44) fajokból építettek be sikeresen levélrozsdával (Lr) és szárrozsdával (Sr) szemben ellenállóságot biztosító géneket. Néhány búzába átvitt rezisztenciagén a *Secale* (*S. cereale* L. – Lr25, Lr26, Lr45, Sr27, Sr31 és Sr50), valamint a *Triticum* (*T. turgidum* ssp. *dicoccoides* – Lr53, Lr64 és Sr2; *T. monococcum* – Lr63, Sr21, Sr22 és Sr35) nemzetséghez tartozó fajokból származik. A sárgarozsda ellenállóságot *S.cereale* (Yr9), *T. turgidum* (Yr15), *Ae. tauschii* (Yr24) és *Haynaldia villosa* (Yr26) fajokból származó rezisztenciagénekkel javították (Purnhauser, 2006; Komugi, 2015).

Jelenleg a búzanemesítésben a kalászfuzárium okozza a legsúlyosabb károkat. A termésveszteség mellett a *Fusarium* nemzetségbe tartozó gombafajok által termelt toxinok már viszonylag kisméretű járvány esetén is olyan mennyiségű toxin-felhalmozódáshoz vezethetnek, amelyek az adott termést emberi és állati fogyasztásra alkalmatlanná teszik (Mesterházy, 2006). Az ellene való védekezést nehezíti, hogy a fuzárium-rezisztenciát több genetikai faktor együttesen határozza meg, melyek hatását a környezeti tényezők is nagymértékben befolyásolhatják (kvantitatív tulajdonság). A hatékony agrotechnika és a kémiai védekezés nem biztosítanak védelmet a kalászfuzárium ellen, ezért a fajták toleranciájának növelése jelenti a legjobb megoldást (Cai és mtsai, 2005). A kalászfuzáriummal szemben kétféle rezisztenciát különböztetünk meg: I. típusú (a fuzárium behatolásának mértéke) és II. típusú rezisztencia (a fuzárium kalászorsón belüli terjedésének a mértéke), amelyek adják a növény szántóföldi rezisztenciáját (Puskás, 2013). Egy adott genotípus ellenállóságának kialakításában a két rezisztenciatípus közel azonos jelentőségű (Bai és Shaner, 2004). A termesztett búza esetében csak kevés részleges ellenállóságot biztosító génforrást azonosítottak, mint például a 'Sumai 3'

kínai búzafajta, a 'Frontana' brazil, és a 'Praag 8' Kelet Európai genetikai vonal. A búza harmadlagos génforrásainak (pl. *Agropyron*, *Elymus*, *Secale* és *Thinopyrum* fajok) többsége jó ellenállósággal rendelkezik, azonban a rezisztencia búzába történő átvitele a tulajdonság kvantitatív jellege miatt nem egyszerű (Cai és mtsai, 2005). Jauhar és Peterson (2001) fuzárium rezisztencia-forrásként azonosították a *Thinopyrum junceiforme* egy vizsgált tételét, míg Cai és mtsai (2005) II. típusú rezisztenciát mutattak ki három vizsgált *Th. intermedium*, két *Th. ponticum*, egy *Th. junceum* tételben, amely egyenértékű a 'Sumai 3' fajta üvegházban vizsgált ellenállóságával. Feltételezik, hogy a fuzárium-rezisztencia ezekben a tételben génmutáció és természetes szelekció által halmozódott fel magas biotikus sztrezzhatás alatt (Wan és mtsai, 1997). A rezisztenciagének átvitele a búzával homológ genomot nem tartalmazó fajokból nehezebben valósítható meg, mint a vele közeli rokonságban álló fajokból.

## 2.7. Molekuláris markerek használata az előnemesítési programokban

A mai modern növénynemesítés koncepciója, a hagyományos módszerek, mint a keresztezés és szelekció ötvözése a molekuláris megközelítéssel és genetikai módszerekkel. A gének visszakeresztezéssel és hagyományos szelekcióval történő beépítése új fajtákba gyakorlatban nehezen megvalósítható, mert rendkívül idő- és munkaigényes folyamat, mivel minden szelekciós lépésben szükséges a rezisztencia ellenőrzése, mesterséges inokulációval (Purnhauser, 2006). A mennyiségi paraméterek mellett jelentős fontosságú az egyes genotípusok betegség-ellenállóságának és stressztűrő képességének elemzése. A fenotípus alapján történő szelekció sikeressége függ az adatok számától, pontosságától (Dudits, 2012). Több rezisztenciagén egy fajtába történő beépítése (génpiramidálás) hagyományos módon nem lehetséges (pl. *Lr9* és *Lr19*), mert ha egy közülük az összes rasszal szemben hatékony, mesterséges inokuláció által nem különíthetők el az egy vagy több gént hordozó elit növények. Hagyományos módon nem csak a gének bevitele, de a genotípusban előforduló rezisztenciagének meghatározása is sokéves munkát feltételez, de molekuláris markerek segítségével mindkét folyamat jelentősen lerövidíthető (Purnhauser, 2006).

Az utóbbi évtizedekben kifejlesztett DNS markerekre alapozott módszerek használata jelentős áttörést jelent a rezisztenciagének piramidálásához szükséges idő és költségek csökkentéséhez. Ráadásul, a markerek használata megbízhatóbb, mert nem befolyásolják a környezeti hatások. További előny, hogy a markerekre alapozott szelekciós technikákkal előállított genetikai anyagok nem minősülnek transzgenikusnak (GMO).

A genetikai vagy DNS alapú markereket, mint például az RFLP (restriction fragment length polymorphism), RAPD (random amplified polymorphic DNA), SSR (simple sequence repeats)

és AFLP (amplified fragment length polymorphism) rutinszerűen használják a növények ökológiai, evolúciós, taxonómiai, filogenetikai és genetikai vizsgálataira. Ezek a technikák széleskörűen használtak, az előnyeik és hátrányaik jól ismertek. Az utóbbi években az alaptechnikák kombinációjából kidolgozott új módszerek hódítottak teret.

Egy populáció egyedeinek genomjában előforduló, egy nukleotidot érintő variáció SNP néven ismert (single nucleotide polymorphism). A genomban leggyakrabban előforduló markerek, előfordulásuk és eloszlásuk változó lehet a fajok között és a fajokon belül is. Az átfogó genotipizálási módszerek, mint a DNS chip-ek és allél specifikus PCR különösen hasznossá teszik az SNP-eket molekuláris markerekként. Sokoldalúan hasznosíthatók például fajon belül a fajták azonosítására, és nagy sűrűségű genetikai térképek készítésére.

A CAPS (cleaved amplified polymorphic sequences) marker technika biztosítja a térképezett RFLP markerek DNS szekvenciáinak felhasználását PCR alapú markerek fejlesztésére, kiiktatva a DNS blottot (Komori és Nitta, 2005). A CAPS markereket emiatt gyakran nevezik PCR-RFLP markereknek (Koniczny és Ausubel, 1993).

A Diversity Arrays Technology (DArT) egy olyan technológia, ami lehetővé teszi genetikailag polimorf markerek előállítását. A DArT egy szekvencia független, nagy áteresztőképességű módszer, amellyel több ezer markert lehet azonosítani, akár egyetlen kísérlet során. A DArT markerek két alléllal rendelkeznek és dominánsak vagy kodominánsak is lehetnek. A DArT ujjlenyomatok sikeresen felhasználhatók a nemesítési folyamat hatékonyabbá tételében, a termesztett fajok és vad rokonaik genetikai diverzitásának meghatározásában (Wentzl és mtsai, 2004).

### 2.7.1. SSR markerek

Az SSR (simple sequence repeat) vagy mikroszatellit markerek (Tautz, 1989), tandem ismétlődő, rövid (1-6 bázispár hosszúságú) DNS szekvenciák (Johansson és mtsai, 1992). Ezek a motívumok polimorfak és nagy mennyiségben fordulnak elő az eukarióták genomjában (Tóth és mtsai, 2000). A mikroszatellittek bárhol előfordulnak a genomban, úgy kódoló mint nem kódoló régiókban. A leggyakrabban előforduló mono-, di-, tri- és tetranukleotid motívumok a növényekben  $(A)_n$ ,  $(GA)_n$ ,  $(TAT)_n$  and  $(GATA)_n$  (De Vienne és mtsai, 2003). Az árpa genom több mint 80%-a tartalmaz repetitív DNS szekvenciákat (Flavell és mtsai, 1977). Feltételezik, hogy az árpagenom 330 kilobázisonként tartalmaz egy GA típusú ismétlődést és 620 kilobázisonként egy GT ismétlődést (Liu és mtsai, 1996), ami megegyezik Struss and Plieske (1998) eredményeivel, hogy az árpában a GA típusú ismétlődések nagyobb gyakorisággal

fordulnak elő, mint a GT típusúak. Hasonló eredményekről számoltak be több fontos gabonanövény esetében mint például a búza (Plaschke és mtsai, 1995; Röder és mtsai, 1995), rizs (Wu és Tanksley, 1993) vagy kukorica (Gupta és Varshney, 2000). A trinukleotid ismétlődések közül árpában leggyakrabban a következők fordulnak elő a  $(CCG)_n$ ,  $(AGG)_n$  and  $(AGC)_n$ , miközben a tetranukleotidok között a  $(ACGT)_n$  és  $(ACAT)_n$  motívumok a leggyakoribbak (Thiel és mtsai, 2003).

SSR markervizsgálatot a gabonanövények többségénél alkalmaznak a genetikai diverzitás kimutatására (Donini és mtsai, 1998; Korzun és mtsai, 2001), genom térképezésre (Korzun és Kunzel, 1997; Russell és mtsai, 1997), marker asszisztált szelekcióra, agronómiailag fontos tulajdonságok térképezésére (Jena és mtsai, 2008), genotípusok megkülönböztetésére (Donini és mtsai, 1998). Az SSR markerek számos előnnyel bírnak a többi molekuláris markerrel szemben, nagyfokú polimorfizmust mutatnak, nagy számban vannak jelen specifikus lokuszokon. A vizsgálatokhoz kis mennyiségű genomi DNS-re van szükség. Az SSR markerek nagy megbízhatóságú, kodomináns markerek, amelyeket széleskörűen alkalmaznak a molekuláris nemesítési gyakorlatban (Agarwal és mtsai, 2008).

### 2.7.2. STS markerek

Az STS (Sequence Tagged Sites, Olson és mtsai, 1989) egy egyedi, egykópiás szegmentum a szekvenált fajok genomjában, amely PCR-rel specifikusan felszaporítható. Egy 18-25 nukleotid hosszúságú primerpárból kiindulva egyedi DNS szekvenciát lehet amplifikálni. Az STS markerek előnyei (PCR alapú, nincs szükség BAC klónok fenntartására) és kodomináns öröklődésük fontos vizsgálati rendszerré teszik a gabonanövényekben (Williams és mtsai, 1991; Melz és mtsai, 1992; Konieczny és Ausubel, 1993). Az STS markerek legfőbb előnye abban áll, hogy amennyiben PCR primerpárokat egyszer már megtervezték és tesztelték, a vizsgálatok nagyon gyorsan elvégezhetők. Az első árpában azonosított STS marker bevezetése után (Tragoonrung és mtsai, 1992) nagyszámú RAPD markert alakítottak át STS-é, amelyek felhasználhatók fajta azonosítására (Faccioli és mtsai, 1995) fizikai térképezésre (Korzun és Kunzel, 1997), gének térképezésére (Blake és mtsai, 1996; Graner, 1996; Larson és mtsai, 1996; Mohler és Jahoor, 1996). Később az egész árpagenomot lefedő genetikai térkép (Mano és mtsai, 1999) és új STS markerek kifejlesztésére szükséges információk váltak elérhetővé EST szekvenciák analíziséből (Michalek és mtsai, 1999).

### 2.7.3. SCAR markerek

A SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) markerek specifikus oligonukleotid primer szekvenciák felhasználásával PCR amplifikációval azonosított DNS fragmentumok, genetikailag meghatározott lokuszokon (Paran és Michelmore, 1993; Mc Dermott és mtsai, 1994). A SCAR markerek fejlesztése magában foglalja az amplifikált termék klónozását és a klónozott termék két végének szekvenálását, amely alapján 15-30 bp-ból álló specifikus primer párokat terveznek. Ezek egyetlen főterméket amplifikálnak, amely méretben hasonló a klónozott szekvenciához. A polimorfizmust az amplifikált termék jelenléte vagy hiánya adja, illetve adódhat hosszpolimorfizmus. A kodomináns SCAR markerek sokkal informatívabbak mint a domináns random amplifikált molekuláris markerek (RAPD), és felhasználhatók összefoglaló genomikai könyvtárak kidolgozására, fizikai térképezésre (Chelkowski és Stephen, 2001), lokusz specificitás meghatározására (Paran és Michelmore, 1993), komparatív térképezésre (Guo és mtsai, 2003) és rokon növényfajok homeológiájának tanulmányozására.

### 3. Anyag és módszer

#### 3.1. Törzsoldatok és munkaoldatok

20×SSC: 3M NaCl, 0,3M C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>·2H<sub>2</sub>O (trinátrium-citrát dihidrát) (pH 7,0)

10×PBS: 137 mM NaCl, 27 mM KCl, 80 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 15 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (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

#### 3.2. Növényi anyag

Kísérleteinkben a következő növényi anyagokat vizsgáltuk:

- Búzafajták ('Asakaze', 'Chinese Spring', 'Mv Bodri', 'Mv Karizma'), Mv9kr1 búzatörzs, Nannong 02Y23 búzavonal
- Árpafajták: ('Manasz', 'Betzes')
- Tarackbúza-fajok: *Pseudoroegneria spicata* (St genom), *Thinopyrum bessarabicum* (J<sup>b</sup> genom), *Thinopyrum elongatum* (E) és *Thinopyrum intermedium* (JJ<sup>s</sup>St)

Genetikai anyagok:

- 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diszómás addíciós vonalak (2H, 3H, 4H, 6H, 7H)
- 'Chinese Spring'/'Betzes' búza /árpa 3HS.3BL centrikus fúziós vonalak
- Búza/*Agropyron glael* hibridek utódvonalai

A használt növényi anyagok genomösszetételét, származását és jellemzőit a 3. táblázatban foglaltam össze.

**3. táblázat.** A kísérletekben használt növényi anyagok.

Név	Származás	Jellemzők
<b><i>Triticum aestivum</i> L. ssp. <i>aestivum</i></b>		
Martonvásári 9 kr1 (Mv9kr1)	Martonvásár	őszi búzatörzs, rozssal jól keresztezhető (Molnár-Láng és mtsai, 1996)
'Asakaze'	Japán	fakultatív, szálkás
'Chinese Spring'	Kína	tavaszi, tar
'Mv Bodri'	Martonvásár	őszi, szálkás, korai érésű, féltörpe, állami elismerés éve 2008.
'Mv Karizma'	Martonvásár	speciális minőségű járóbúza, szálkás, állami elismerés éve 2009.
Nannong 02Y23	Kína	búzatörzs
<b><i>Hordeum vulgare</i> L. subsp. <i>vulgare</i></b>		
'Manasz'	Ukrajna	őszi, hatsoros
'Betzes'	Németország	tavaszi, kétsoros
<b>Búza/árpa ('Asakaze'/'Manasz') addíciós vonalak</b>		
2H, 3H, 4H, 6H, 7H	Martonvásár	eltérő morfológia (Molnár-Láng és mtsai, 2012a)
<b>Búza/árpa ('Chinese Spring'/'Betzes') transzlokációs vonal</b>		
3HS.3BL transzlokációs vonal	Martonvásár	szálkacsonkos és tar Molnár-Láng és mtsai, 2000a)
<b>Tarackbúza fajok, búza/<i>Agropyron glael</i> utódvonalak</b>		
<i>Pseudoroegneria spicata</i>	Kanada	T914 (USDA)
<i>Thinopyrum bessarabicum</i>	Oroszország	W6 10232 (USDA)
<i>Thinopyrum elongatum</i>	Nottingham	
<i>Thinopyrum intermedium</i>	Nottingham	
Mv9kr1/ <i>A. glael</i> hibrid utódai	Martonvásár	nem évelők (Kruppa és mtsai, 2016)



### 3.3. Molekuláris citogenetikai vizsgálatok

#### 3.3.1. Citológiai dörzspreparátum készítése

A vizsgált növényi anyagok szemeit csapvíz és desztillált víz 1:1 arányú keverékével benedvesített szűrőpapíron, Petri-csészében csíráztattuk, szobahőmérsékleten (2. ábra). A csírázásnak indult szemeket 72 órán keresztül 4 °C-on tároltuk, a gyökércsúcs-merisztéma sejtek osztódásának leállítására és a sejtosztódások szinkronizálása céljából, majd a Petri-csészéket 26 °C-ra beállított termosztátba helyeztük, a mitotikus sejtosztódás újraindításához kb. 24-26 órán át. A növényekről 1-1,5cm hosszúságú gyökereket jeges desztillált vízbe gyűjtöttünk, ahol minimum 26 órán keresztül tároltuk. A citológiai számmal ellátott szemeket a továbbiakban tápkockába ültettük, a növények felnevelése céljából. A hidegkezelést követően az összegyűjtött gyökereket abszolút alkohol és jégcet 3:1 arányú keverékében fixáltuk 4-5 napig 37 °C-on. A gyökércsúcsok megfestését 90-120 percig 1%-os kármincetsavval végeztük, majd a növényi anyagot felhasználásig frissen elkészített fixáló oldatban -20°C-on tároltuk felhasználásig.



**2. ábra.** Egyedi citológiai számmal ellátott, Petri csészében csíráztatásra előkészített szemek ('Asakaze'/'Manasz' 3H diszómás növényről származó szemek).

Preparátumkészítéshez előzetesen etanolban zsírtalanított Superfrost tárgylemezeket használtunk. A gyökércsúcsokból a sejteket kiszabadítottuk 45%-os ecetsavoldatban, a tárgylemzen szétnyomtuk, majd a mitotikus dörzspreparátumokat fáziskontraszt-mikroszkóp alatt vizsgáltuk. A megfelelő minőségű és vélhetően teljes kromoszómaszámú sejteket tartalmazó preparátumokról a fedőlemezt folyékony N<sub>2</sub>-ben történő fagyasztás után eltávolítottuk és etanol sorozatban történő dehidratálás után a tárgylemezeket felhasználásig -20°C-on tároltuk.

### 3.3.2. Próbajelölés

#### *\* GISH próba jelölése nick-transzlációval*

Az árpa kromoszómák kimutatásához teljes árpa genomi DNS-t jelöltünk nick-transzlációval. Fiatal növények leveléből Sharp és mtsai (1988) módszere szerint nagy töménységű (>1000µg/ml) DNS-t izoláltunk. A próbajelöléshez 1µg DNS-t tartalmazó oldatot kiegészítettünk 16µl-re steril MQ vízzel, majd 4µl Digoxigenin-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 digoxigenin-11-dUTP. A nick- transzlációt PCR készülékben (Eppendorf Mastercycler) 15°C-on, 90-120 percig végeztük. A folyamat leállítása 1µl 0,5M EDTA hozzáadásával történt 10 percig, 65°C-on. A jelölt próbát felhasználásig -20°C-on tároltuk.

#### *\* GISH próba jelölése random priming módszerrel*

Az *Agropyron glael* szintetikus hibrid genomját alkotó *Thinopyrum intermedium* és *Thinopyrum ponticum* kromoszómák kimutatásához a próbajelölést random priming módszerrel végeztük a Roche által forgalmazott High Prime DNA Labeling Kit-tel. A teljes genomi DNS-eket a diploid *Pseudoroegneria spicata* (St genom) és *Thinopyrum bessarabicum* (J<sup>b</sup> genom) fajból izoláltuk. Az izolált genomi DNS-eket 10 percig kuktában forraltuk, majd 2 µg DNS-t tartalmazó oldatot 12 µl-re egészítettünk ki steril MQ vízzel. A 12 µl DNS-ből, 5 µl (biotint vagy digoxigenint tartalmazó) dNTP mixből, 2 µl Hexanucleotide Mix-ből (Roche) és 1 µl Klenow enzimből (Roche) álló keveréket PCR készülékben 37°C-on, 16-20 órán keresztül inkubáltuk. A J<sup>b</sup> genomot biotinnal, az St genomot digoxigeninnel jelöltük. A jelölt próbákat -20°C-on tároltuk és felhasználás előtt 5 percig kuktában forraltuk.

#### *\* FISH próbák jelölése PCR reakcióval*

*Árpakromoszómák azonosításához használt FISH próbák:*

- HvT01: árpaspecifikus, szubteloméra specifikus repetitív szekvencia (Schubert és mtsai, 1998); kettősen (biotin+digoxigenin) jelölve;
- (GAA)<sub>7</sub>: centroméra körüli heterokromatinra specifikus mikroszatellit szekvencia (Pedersen és mtsai, 1996) biotinnal jelölve;
- (AGGGAG)<sub>4</sub>: árpacentroméra-specifikus szekvencia (Hudakova és mtsai, 2001) digoxigeninnel jelölve;

*Búzakromoszómák azonosításához használt FISH próbák:*

- Afa-family: heterokromatin-specifikus pAs1 szubklón (Nagaki és mtsai, 1995) digoxigeninnel jelölve;
- pSc119.2: szubtelomérás repetitív szekvencia (McIntyre és mtsai, 1990) biotinnal jelölve;
- pTa71: NOR-régióra specifikus rDNS klón (Gerlach és Bedbrook, 1979) vagy szekvencia (Chang és mtsai, 2010a) kettősen (biotin+digoxigenin) jelölve;

A búza és árpa kromoszómák azonosítását repetitív DNS-próbákkal végeztük. A megfelelő primerpárok felhasználásával a szükséges szekvenciákat PCR-reakcióval felszaporítottuk. A reakciótermékeket templátként használva egy újabb PCR-reakciót indítottunk, melynek során a próbákba biotint (Biotin-16-dUTP - Roche) vagy digoxigenint (Digoxigenin-11-dUTP - Roche), illetve azok 1:1 arányú keverékét építettünk be.

### 3.3.3. Genomi *in situ* hibridizáció (GISH és mcGISH)

A mitotikus preparátumokat a hibridizációt megelőzően előkezeléseknek vetettük alá, melyeknek célja a citoplazma, felesleges RNS és fehérjék eltávolítása és a kromoszómák fixálása a tárgylemezre. Az előkezelések lépései:

1. RNáz-kezelés: 45 perc, 37°C (ribonukleáz A /Sigma-Aldrich/; 5 mg/mL 2xSSC-ben)
2. Mosás: 2xSSC oldatban 2x5 perc, 37°C
3. Pepszinkezelés: 45 másodperc, 37°C (1 mg/mL pepszin 10 mM HCl-ben oldva)
4. Mosás: 2xSSC oldatban 2x5 perc, 37°C
5. Utófixálás: 4%-os paraformaldehidben 1x10 perc, szobahőmérséklet
6. Dehidratálás jéghideg alkoholsorozatban (70% - 90% -100%): 3-3-5perc

## 7. A lemezek szárítása szobahőmérsékleten

A hibridizációs keveréket a következők szerint állítottuk össze: 20 ng jelölt próba, 600-700 ng jelületlen blokkoló DNS (a kimutatni nem kívánt genomok DNS-e 30-40x-es mennyiségben a próbához viszonyítva), 100%-os formamid (Sigma-Aldrich), 20xSSC, 10%-os SDS (5:1:0,1arányban), melyet 10%-os DS-tal (Amresco) egészítettünk ki a végtérfogat (30 $\mu$ l) eléréséhez preparátumonként. A hibridizációs keveréket a preparátumra cseppentettük és 24 $\times$ 32 mm-es 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: 4 $\times$ SSC-Tween, 2 $\times$ 5 perc, 42°C
4. A biotinnal vagy digoxigeninnel jelölt szekvenciák detektálása TNB-ben oldott 10  $\mu$ g/ml streptavidin-FITC (Roche) ill., antidig-Rhodamine (Roche) antitesttel: 37°C, 25-40 perc, sötétben
5. Mosás: 4 $\times$ SSC-Tween, 2 $\times$ 5 perc, szobahőmérsékleten
6. A kromoszómák kontrasztfestése fakulást gátló VectaShield-ben (Vector Laboratories) oldott 2  $\mu$ g/ml DAPI-val (Amersham)

### mcGISH

Az *Agropyron glael* kromoszómáinak kimutatásához a GISH optimalizált technikáját alkalmaztunk (Kruppa és mtsai, 2012). A kromoszóma-preparátumokat denaturációs keverékkel denaturáltuk, melynek összetétele 100%-os formamid, 10%-os DS és 20 $\times$ SSC 5:1:1-hez, 75°C-on 6 percig, majd jéghideg etanolsorozatban dehidratáltuk. Tárgylemezenként 15 $\mu$ l hibridizációs keveréket állítottunk össze, mely tartalmazott 100ng (biotinnal jelölt) J<sup>b</sup> és 100ng (digoxigeninnel jelölt) St genomi próbát, 6 $\mu$ g búzablokkolót, valamint formamid:DS:20 $\times$ SSC=5:4:1 arányú keverékét. A hibridizációs keveréket PCR készülékben 75°C-on és 6 percig denaturáltuk, majd a már denaturált kromoszóma-preparátumra cseppentettük. Az előkezelés, a hibridizáció és a detektálás lépései kisebb módosításokkal megegyeztek a GISH-nél leírtakkal.

## Hibridizációs jelek kimutatása

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 kétsávos 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.

### 3.3.4. 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 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:

- Afa-family (piros), pSc119.2 (zöld), pTa71 (sárga) búzakromoszómák azonosítására
- (AGGGAG)<sub>4</sub> (piros), (GAA)<sub>7</sub> (zöld), HvT01 (sárga) árpakromoszómák azonosítására

A előkezelések és a detektálási lépések kis módosításokkal megegyeztek a GISH-nél leírtakkal. A hibridizáció 37°C-on történt, a poszthibridizációs mosást 4×SSC-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 fluoreszcensen jelöltük és biotin esetén zöld, digoxigenin esetén piros, kettős jelölés esetén sárga hibridizációs jeleket detektáltunk.

## 3.4. SSR és STS marker analízis

### 3.4.1. Az árpa telocentrikus kromoszómák azonosítása a búza/árpa diteloszómás addíciós vonalakban

Az 'Asakaze' búzafajta, 'Manasz' árpafajta és a tíz 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonal 2 hetes növényeinek leveleiből genomi DNS-t izoláltunk DNeasy® Plant Mini Kit (Fuji)

DNS izoláló kit használatával. A kromoszómák azonosítására a következő árpakromoszóma kar-specifikus SSR és STS marker sorozatot használtuk: HvCSLF4 a 2HS kromoszóma azonosítására (Burton és mtsai, 2008), Bmag 0125-2HL (Ramsey és mtsai, 2000), HvLTPPB-3HS (Ramsey és mtsai, 2000), HvM60-3HL (Liu és mtsai, 1996), HvM40-4HS (Liu és mtsai, 1996), HvM67-4HL (Liu és mtsai, 1996), Bmac0316-6HS (Ramsey és mtsai, 2000), EBmac0806-6HL (Ramsey és mtsai, 2000), Bmac0031-7HS (Ramsey és mtsai, 2000) és HvCSLF6-7HL (Burton és mtsai, 2008). A kísérletekben használt primer szekvenciákat és primerkapcsolódás (annealing) hőmérsékleteket a 4. táblázatban tüntettük fel. A PCR reakció termékeinek szétválasztását Automated CE System Fragment Analizátorral végeztük (Advanced Analytical Technologies, USA). Az eredményeket PROsize v2.0 software használatával értékeltük ki (Advanced Analytical Technologies, USA).

**4. Táblázat** A díteloszómás vonalak azonosítására használt SSR és STS markerek, a primerkapcsolódási hőmérséklet, és a kapott PCR termékek mérete

Kromoszóma makar	Marker <sup>a</sup>	Forward primer	Reverse primer	T Primerkapcsolódási hőmérséklet (°C)	Size (bp)
2HS	HvCSLF4	CCGTCGGGCTCGTGTATGTC	TTGCAGTGACTCTGGCTGTACTTG	67	160
2HL	Bmag0125	AATTAGCGAGAACAAAATCAC	AGATAACGATGCACCACC	55	117
3HS	HvLTPPB	TGCTGAGACGCTGAGTACGTTG	CAAACCTCACGATTCTCTCAAAG	55	195, 207, 220
3HL	HvM60	CAATGATGCGGTGAACTTTG	CCTCGGATCTATGGGTCCTT	55	110, 113, 121
4HS	HvM40	CGATCCCCCTTTCCCAC	ATTCTCCGCCGTCCACTC	55	136, 141
4HL	HvM67	GTCGGGCTCCATTGCTCT	CCGGTACCCAGTGACGAC	55	124
6HS	Bmac0316	ATGGTAGAGGTCCCAACTG	ATCACTGCTGTGCCTAGC	55	148
6HL	EBmac0806	ACTAAGTCCTTTCACGAGGA	GTGTGTAGTAGGTGGTACTTG	55	153
7HS	Bmac0031	AGAGAAAGAGAAATGTCACCA	ATACATCCATGTGAGGGC	60	158
7HL	HvCSLF6	TGGCATTACCTTCGTCAT	TGTCCGGGCAAACCTCATCAA	64	150

<sup>a</sup> További információk találhatóak: [http://bioinf.scri.ac.uk/ssr/ssr\\_table.html](http://bioinf.scri.ac.uk/ssr/ssr_table.html)

### 3.4.2. Az *RhtD1b* allél kimutatása a 3HS.3BL/Bodri búza/árpa transzlokációs vonalakban

Teljes genomi DNS-t izoláltunk 2 hetes 'Chinese Spring' és 'Mv Bodri' búzafajtából, az Mv9kr1 martonvásári búzatörzsből, a 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 és a 3HS.3BL/Bodri búza/árpa transzlokációs vonalokból DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen) DNS izoláló kit segítségével. A DF2/WR2 és DF/MR2 primer párokat (Ellis és mtsai, 2002) használtuk a *RhtD1b* (*Rht 2*) törpeségi gén kimutatására az 'Mv Bodri' búzafajtában és a 3HS.3BL/Bodri búza/árpa transzlokációs vonalakban. A PCR reakciókat Applied Biosystem 9700 (Life Technologies,

California, USA) készülékben végeztük. A 16 $\mu$ l végtérfogatú PCR reakció oldat 200 ng genomi DNS-t, 5x Green Go Taq Flexi puffert (Promega), 2,34mmol/L MgCl-t, 0,9 $\mu$ mol/L dNTP-t, 10pmol a forward és a reverse primerekből valamint 1U GoTaq DNS polimerázt (5U/ $\mu$ L, Promega) tartalmazott. A PCR reakció termékeit 1,5%-os agaróz gélen (Lonza, Rockland, Maine, USA) választottuk el és a PCR termékek ethidium bromidos festéssel, UV fény alatt váltak láthatóvá. A termékek méretét 100bp-os DNS létra (Qiagen, Germany) segítségével határoztuk meg. Az eredmények elemzését Syngene G: BOX gél dokumentációs rendszerrel (Syngene, Md, USA) végeztük.

### 3.4.3. Molekuláris markeres vizsgálatok a búza/*Agropyron* (6DL.6DS-?St) terminális transzlokációs vonalaknál

Teljes genomi DNS-t izoláltunk a következő genotípusok 2 hetes növényeiből: Nannong 02Y23 búzavonal, 'Chinese Spring', 'Mv Karizma' búzafajtákból, *Pseudoroegneria spicata* (St genom), *Thinopyrum bessarabicum* (J<sup>b</sup>), *Thinopyrum elongatum* (E), *Thinopyrum intermedium* (JJ<sup>s</sup>St), a 161402 és 161407 citológiai számú (a hexaploid búza genom mellett csak 6DL.6DS-?St terminális transzlokációt hordozó) növényekből, 161419 és 161434 citológiai számú (búza/*Agropyron* centrikus fúziót hordozó) növényekből. A genotípusokban a *Pm21*, *PmL962* és *Lr38* markerek jelenlétét követtük nyomon. A PCR reakciókat Applied Biosystem 9700 (Life Technologies, California, USA) készülékben végeztük. A *Pm21* (Liu és mtsai, 1999b) kimutatásához a 13 $\mu$ l végtérfogatú PCR reakció oldat 200 ng genomi DNS-t, 5x Green Go Taq Flexi puffert (Promega), 1,95mmol/L MgCl-t, 1,29 $\mu$ mol/L dNTP-t, 15pmol a forward és a reverse primerekből valamint 1U GoTaq DNS polimerázt (5U/ $\mu$ L, Promega) tartalmazott. A *PmL962* (Shen és mtsai, 2015) és *Lr38* (Mebrate és mtsai, 2007; Yan és mtsai, 2008) jelenlétének kimutatásához a 16 $\mu$ l végtérfogatú PCR reakció oldat 200 ng genomi DNS-t, 5x Green Go Taq Flexi puffert (Promega), 2,34mmol/L MgCl-t, 0,9 $\mu$ mol/L dNTP-t, 10pmol a forward és a reverse primerekből valamint 1U GoTaq DNS polimerázt (5U/ $\mu$ L, Promega) tartalmazott. A PCR reakció termékeit 1,5%-os agaróz gélen (Lonza, Rockland, Maine, USA) választottuk el és a termékek ethidium bromidos festéssel, UV fény alatt váltak láthatóvá. A termékek méretét 100bp-os DNS létra (Qiagen, Germany) segítségével határoztuk meg. Az eredmények elemzését Syngene G: BOX gél dokumentációs rendszerrel (Syngene, Md, USA) végeztük. A markerek elnevezése, típusa, a primerek szekvenciája és az amplifikált termékek méretét az 5. táblázatban foglaltam össze.

**5.táblázat.** A terminális transzlokáció molekuláris markeres vizsgálatához használt markerek, a primer szekvenciák és a termékek fragmenthosszúsága.

Primer	Marker típus	Primer szekvencia	Termék mérete
<b>Pm21D</b>	SCAR	CAC TCT CCT CCA CTA ACA GAG G	1265bp
<b>Pm21E</b>	SCAR	GTT TGT TCA CGT TGA ATG AAT TC	
<b>BE443737F</b>	EST-STS	GAC CCG AAT GCT AGT ACC GG	
<b>BE443737R</b>	EST-STS	ATG ACA CCG TTT GCC ATT GC	
<b>Lr38F</b>	SCAR	GCT GAA TCT GCG TAT CGT CCC	982bp
<b>Lr38R</b>	SCAR	GAC TTG TTC TTC GGC GTG TTG	

### 3.5. Növénynevelés fitotroni növénynevelő kamrákban

A citogenetikai és molekuláris módszerekkel azonosított, majd tápkockába elültetett növényeket genotípustól függően 4°C-on 6-8 hétig vernalizáltuk (az árpa kromatint hordozó genotípusok esetén a vernalizáció 6 hetes, az *A. glael* kromoszómákat hordozó vonalak esetén a vernalizáció 8 hetet igényel). A növénynevelés fitotroni növénynevelő kamrákban a Tischner és mtsai (1997) által kidolgozott módszer szerint történt. Ültetéstől bokrosodásig 12 óra megvilágítást ( $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), valamint 15°C nappali és 10°C éjszakai hőmérsékletet alkalmaztunk, majd szárba induláskor, virágzáskor és a szemfejlődés kezdetén 2-2°C-kal növeltük a hőmérsékleteket és 2 órával a megvilágítás hosszát. A learatott növényeket részletesen feldolgoztuk (növénymagasság, bokrosodás, főkalász hossza, kalázonkénti és növényenkénti szemszám), a szemeket 4 °C-os génbanki magtárolóban tároltuk. Genotípusonként 10 növény paramétereit jegyeztük fel.

### 3.6. Növénynevelés szántóföldi kísérleti parcellákon

A vizsgált genotípusok szemeit martonvásári Tükrös tenyészkertünkben (GPS koordináták: É47 18' 40" K18 46' 56") elvetettük és felneveltük. Az 1 méter hosszúságú sorokban egyenletes távolságra 10 szemet vetettünk, a sorok közötti távolság 15 centiméter volt.



A morfológiai vizsgálatokra minden genotípusból random 10 növényt jelöltünk ki. Öntermékenyítés céljából a kalászokat izolátorzacskóval láttuk el.

Az organikus tenyészkertben (a Tükrös tenyészkert egy elkülönített része) a vizsgálatokat megelőző 10 évben nem juttattunk ki műtrágyát. A megfelelő vetésforgó és elővetemény biztosította a tápanyagellátást.

A nemesítők lászlópusztai tenyészkertjében (GPS koordináták: É47 18' 05" K18 49' 10") és Bolgárföld tenyészkertben (GPS koordináták: É47 19' 40" K18 47' 10") a növényeket hatsoros kisparcellákban neveltük fel. Ezeken a termőhelyeken minden év őszén volt egy alaptrágyázás (3 × 60 kg hatóanyag Na/K/P/ha), illetve egy tavaszi fejtrágyázás (40-60 kg N hatóanyag/ha).

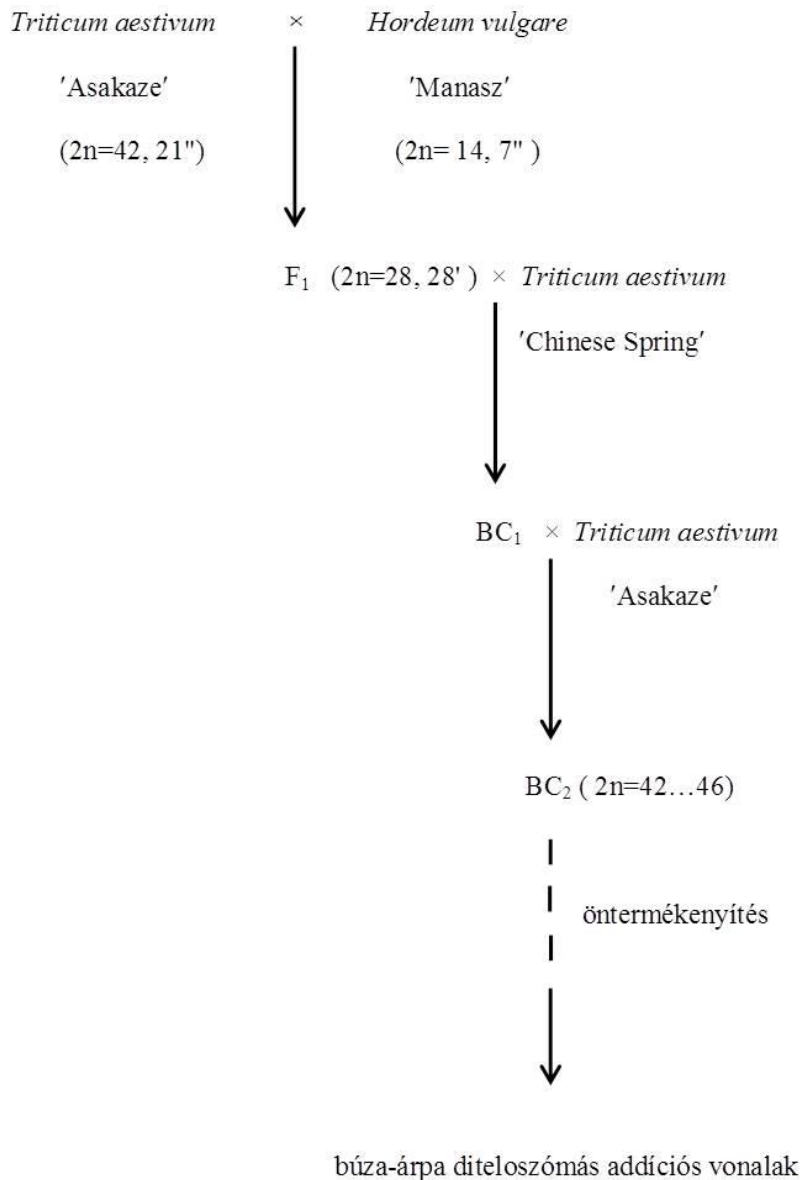
### **3.7. A 3HS.3BL/CS/Mv9kr1transzlokációs vonal keresztezése az 'Mv Bodri' búzafajtaival**

A 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 spontán keletkezett búza/árpa centrikus fúziós növények kalászait 2009 májusában martonvásári Tükrös tenyészkertünkben kasztráltuk, majd 3-5 nappal a kasztrálás után a martonvásári 'Mv Bodri' búzafajtaival pörgetéssel beporoztuk. Az 'Mv Bodri' igen korai érésű, féltörpe (75-85 cm) növényállományú kenyérbúza-fajta. Korai kalászolása révén esélye van a nyári hőség, aszály és részben a gombabetegségek elkerülésére is. Lisztharmat-, levélrozsdá-, és levélfoltosság-ellenállósága mesterséges fertőzés esetén is jó. Szárrozsdával és fuzáriummal szemben közepesen ellenálló. Tremőképessége három év átlagában az állami fajtakísérletekben kiemelkedően produktív (Martonvásári fajtakatalógus, 2015-2016). A növények terméséből szelektált szemeket 2010-ben csíráztattuk, majd a növényeket öntermékenyítettük. Az öntermékenyített növények szemei közül a centrikus fúziót homozigóta formában hordozókat (a 102428 és 102434 citológiai számú növények) szelektáltuk és fitotroni növénynevelő kamrában felneveltünk. A diszómás centrikus fúziós növények utódait kísérleti parcellánkon elvetettük és felneveltük.

### **3.8. 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diteloszómás vonalak kiválogatása, azonosítása és agronómiai tulajdonságainak kiértékelése**

Az 'Asakaze'/'Manasz' búza × árpa hibridek (Molnár-Láng és mtsai, 2000b) búzával kétszer keresztezett és többször öntermékenyített utódai - főleg diszómás és monoszómás addíciók - közül válogattuk ki a diteloszómás addíciós vonalakat molekuláris citogenetikai módszerekkel és

molekuláris markerek segítségével. Az 'Asakaze' × 'Manasz' búza × árpa keresztezések sémáját és a diteloszómás vonalak kiválogatását a 3. ábra foglalja össze.



**3. ábra.** Az 'Asakaze' × 'Manasz' búza × árpa keresztezések sémája és a diteloszómás vonalak kiválogatása.

### 3.9. Az 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diteloszómás vonalak virágzási idejének kiértékelése

A virágzási időt a szántóföldi kísérletben (Tükrös tenyészkeret, 2014-2015) a búza/árpa diteloszómás addíciós vonalakban, búza/árpa diszómás addíciós vonalakban és a kontroll szülői (búza és árpa genotípusokban) 10-10 növény főkalásának feljegyzésével felvételeztük. Az adatok felvételezését 2015 májusában végeztük.

### 3.10. 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) közvetlenül aratás előtt
- \* bokrosodás: növényenkénti kalászkok száma (db)
- \* főkalász hossza (cm) aratás után
- \* kalásonkénti kaláskaszám (db) aratás után
- \* fertilitás: kaláskánkénti szemszám (db) aratás után
- \* főkalásonkénti szemszám (db) aratás után
- \* növényenkénti szemszám (db) aratás után
- \* ezerszemtömeg (g) aratás után

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-fertőzöttségének mértékét tenyészkerti körülmények között, 0-4 skálán bonitáltuk, ahol a 0 a tünetmentes, rezisztens, 4 a nagyon fogékony kategóriát jelöli (Stakman és mtsai, 1962).

### 3.11. Az 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diteloszómás addíciós vonalak sóstressz-toleranciájának vizsgálata

A sóstressz vizsgálatát csíranövénykorban végeztük el a Növényélettani Osztályon Dr. Darkó Éva tudományos főmunkatárs segítségével az 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonaloknál, a búza és árpa ('Asakaze' és 'Manasz') szülői genotípusoknál. A csírázási kísérletekben, minden genotípusból  $3 \times 20$  szemet sterilizáltunk 10%-os nátrium-hipoklorit oldatban 15 percig, kétszer leöblítettük desztillált vízzel, majd csíráztattuk 0, 100, 200 vagy 250 mM-os NaCl oldattal átitatott szűrőpapíron Petri csészékben, három napig szobahőmérsékleten és megállapítottuk a csírázott szemek arányát, a gyökerek és hajtások hosszúságát és súlyát.

### 3.12. Mv9kr1 × *A. glael* hibrid búzával keresztezett utód-generációk előállítása

Az Mv9kr1/*A. glael* F<sub>1</sub> hibrideket Dr. Lángné Dr. Molnár Márta és munkatársai állították elő elő Martonvásáron, majd 2004-ben keresztezték a 'Chinese Spring' búzafajtaival (Molnár-Láng és mtsai, 2012b). A két búzával keresztezett növény közül, a fertilis 62 kromoszómával rendelkezett, a teljes búzagenom mellett 10 pár *A. glael*-ből származó kromoszómát hordozott. A tenyészkertben később elvetették ennek a növénynek az öntermékenyített utódnemzedékeit. A növények egymástól eltérő morfológiát mutattak, akár egyes parcellákon belül is több esetben hasadás volt tapasztalható.

A BC<sub>2</sub> növények előállításához a BC<sub>1</sub> növényeket kereszteztük az Mv9kr1 búzatörzsszel. Az Mv9kr1 genotípust beporzóként használtuk (kombináció: Mv9kr1/*A. glael*//CS/3/Mv9kr1), majd a genotípusok öntermékenyítését a martonvásári Tükrös tenyészkertünkben végeztük. Szintén BC<sub>2</sub> növények előállítására alkalmaztuk az 'Mv Karizma' martonvásári járó típusú búzafajta (kombináció Mv9kr1/*A. glael*//CS/3/MvKarizma). Az 'Mv Karizma' tavaszi vetésű növényei egyszerre virágoztak az anyavonalakkal, így a BC<sub>1</sub> növények beporzása búzával lehetővé vált kései virágzásuk ellenére. A BC<sub>2</sub> növényeket az *Agropyron*-ból származó kromoszómák számának csökkentése, illetve a levélrozsdá-rezisztencia BC<sub>1</sub> növényekből a búza genomba történő átvitelének követése céljából állítottuk elő, mivel a búzagenotípusok (Mv9kr1, CS, 'Mv Karizma') levélrozsdával az átlagosnál erősebben fertőződnek, így az *A. glael*-ből származó levélrozsdá-rezisztencia megnyilvánulása könnyen nyomon követhető volt az utódokban. A BC<sub>1</sub> utódvonalakat 2012-ben kereszteztük 'Mv Karizmá'-val a búzanemesítők lászlópusztai tenyészkertjében, majd a 2013/2014-es vegetációs időszakban 36 kalászutódsort vetettünk az 'Mv Karizmá'-val végzett keresztezéssel előállított BC<sub>2</sub> szemekből Martonvásáron Tükrös tenyészkertben (222-230 parcellák/2013-2014). Ezek egy részét újból kereszteztük 'Mv Karizmá'-val. A dolgozatban az 'Mv Karizmá'-val keresztezett F<sub>3</sub>-F<sub>4</sub> utódok közül szelektált terminális transzlokációt hordozó növények rezisztencia-vizsgálatát mutatom be. A fent említett növények előállítását a 4. ábrában foglaltam össze.



**4. ábra.** Az Mv9kr1/A.glael//CS/3/ Mv Karizma/4/ Mv Karizma növények pedigréje.

## 4. Eredmények és megvitatásuk

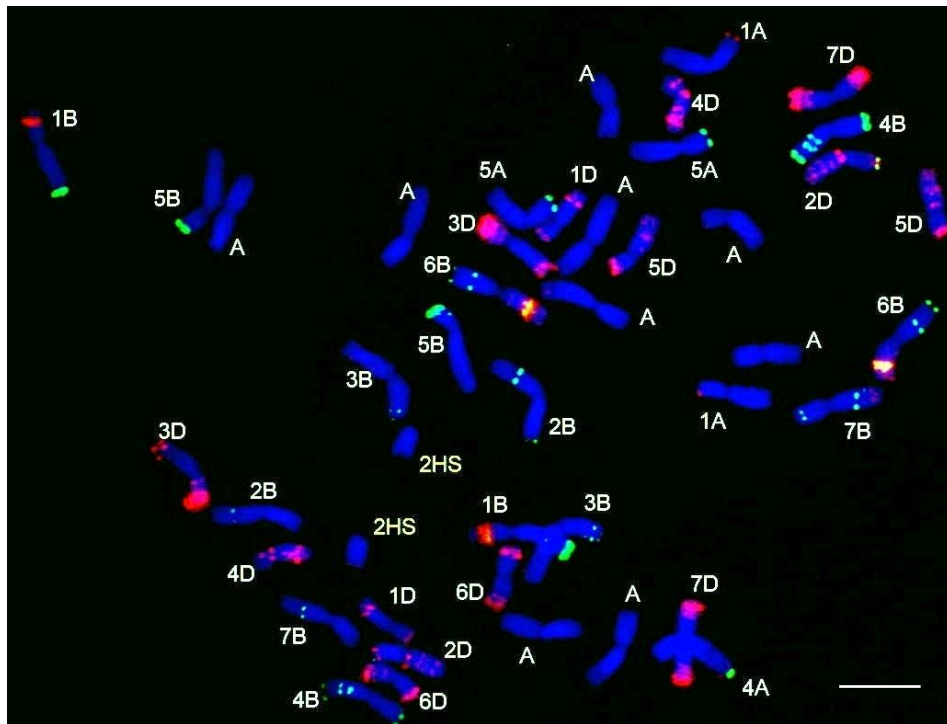
### 4.1. A búza/árpa diteloszómás addíciós vonalak kiválogatása és morfológiai tulajdonságainak jellemzése

Az árpakromoszómák jelenlétét a búza genetikai hátterében GISH-sel és molekuláris markerek segítségével ellenőriztük. Az 'Asakaze'/'Manasz' búza × árpa hibridek búzával keresztezett utódai közül 860 BC<sub>2</sub> növényt vizsgáltunk GISH-sel (M2. melléklet). A következő diteloszómás addíciós vonalakat azonosítottuk: 2HS, 2HL, 3HS, 3HL, 4HS, 4HL, 6HS, 6HL, 7HS, 7HL. Az új genetikai anyagokat főleg a monoszómás (2H, 3H, 4H, 6H, 7H) addíciós vonalak közül válogattuk ki, 2010 és 2013 között. A vizsgált növények között monoteloszómás addíciókat, Robertsoni transzlokációkat, mono- és diszómás addíciókat, izokromoszómákat hordozó genotípusokat azonosítottuk.

Az árpa telocentrikus kromoszómákat FISH-sel és árpa kar-specifikus SSR és STS markerek segítségével azonosítottuk. A HvT01 árpa szubteloméra specifikus és a (AGGGAG)<sub>4</sub> centroméra specifikus próbákat annak a bizonyítására alkalmaztuk, hogy a teljes árpa kromoszómakar pár jelen van egy-egy genotípusban. A 42 búza kromoszóma jelenlétét a vizsgált genotípusokban búzaspecifikus repetitív FISH próbák (pSc119.2, Afa famiy, pTa71) felhasználásával mutattuk ki.

A 2HS és 2HL diteloszómás addíciós vonalak 2H monoszómás addíciós szülőktől származnak (08155 és 08162 citológiai számú növények). A 2HS és 2HL diteloszómás növények kiválogatása során összesen 83 szemet vizsgáltam (M2. melléklet). Az utódokban GISH-sel árpa telocentrikus kromoszómákat azonosítottunk, amelyekről feltételeztük, hogy 2HS vagy 2HL árpa kromoszómakar. A citológiai vizsgálatot követően az idegen fajú kromatin azonosítására HvCSLF4 STS markert alkalmaztunk a 2HS kromoszómakar, illetve a Bmag0125 SSR markert a 2HL kromoszómakar azonosítására (4. táblázat és 24. ábra). A búzakromoszómák azonosítására búzaspecifikus repetitív DNS próbákat alkalmaztunk (4. ábra), amellyel sikerült kimutatni a búza genomhoz tartozó 21 pár kromoszómapár jelenlétét.

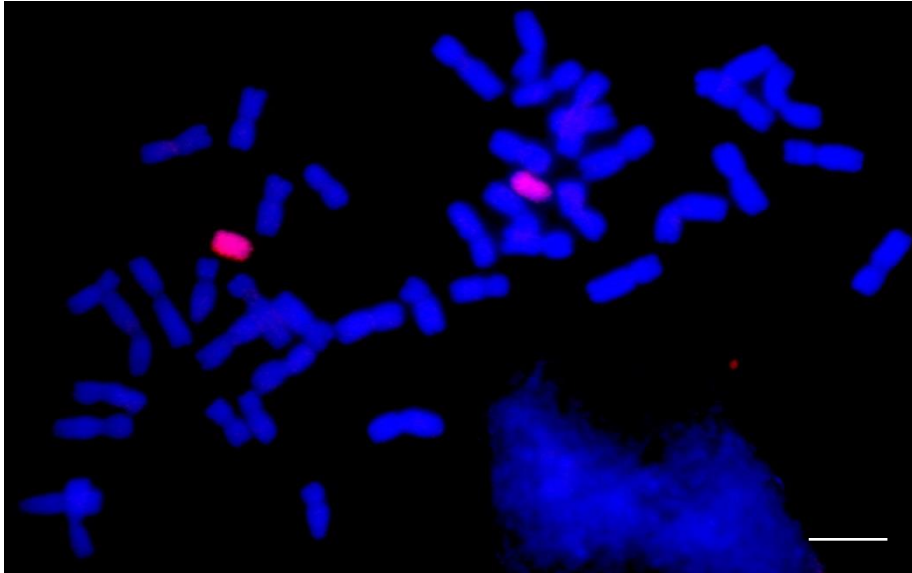
A 2HS addíciós növényeknek tar, keskenyedő, jellegzetesen S alakú kalászaik vannak és kemény pelyvalavelei, míg a 2HL vonal esetén tar, laza szerkezetű kalászok figyelhetők meg (5. és 7. ábra). A fitotroni növénynevelő kamrákban végzett kísérletekben a 2HS és 2HL addíciós vonalak szignifikánsan jobb bokrosodással és növényenkénti szemszámmal rendelkeztek, mint a kontrollnak nevelt 'Asakaze' búzafajta (M3. melléklet).



**4. ábra.** A 2HS diteloszómás addíciós vonalban a búzakromoszómák kimutatására alkalmazott FISH, búza specifikus repetitív DNS próbák felhasználásával: pSc119.2 (zöld), Afa family (piros), pTa71 (narancssárga). Skála=10 $\mu$ m.



**5. ábra.** 2HS diteloszómás addíciós növény kalásza (2015. május, Tükrös tenyészkert, Martonvásár).



**6. ábra.** A 2HL kromoszómakarok kimutatása GISH-sel a búza/árpa diteloszómás addíciós vonalban (a búzakromoszómák DAPI kontrasztfestést követően kék színűek, a digoxigeninnel jelölt teljes árpa genomi DNS hibridizálás és detektálás után bíborvörös színű). Skála=10 $\mu$ m.

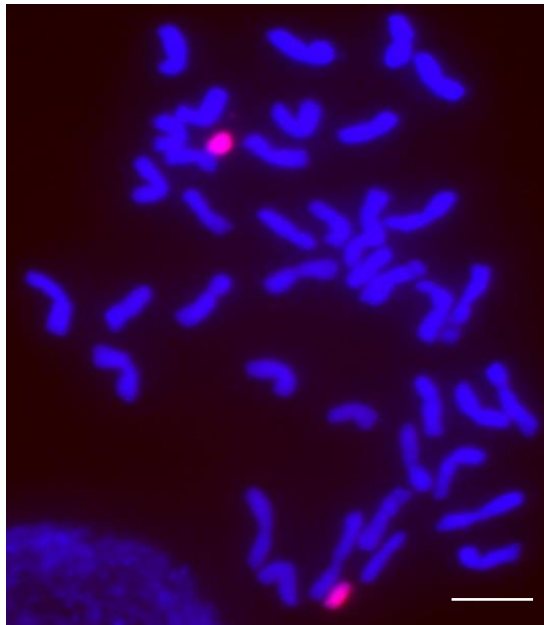


**7. ábra.** 2HL diteloszómás addíciós növény kalásza (2015. május, Tükrös tenyészkert, Martonvásár).

A 3HS búza/árpa diteloszómás addíciós vonalat egy 3H monoszómát hordozó növény utódai közül válogattuk ki (092845), míg a 3HL diteloszómát egy 3H diszómás addíciós vonal utódai



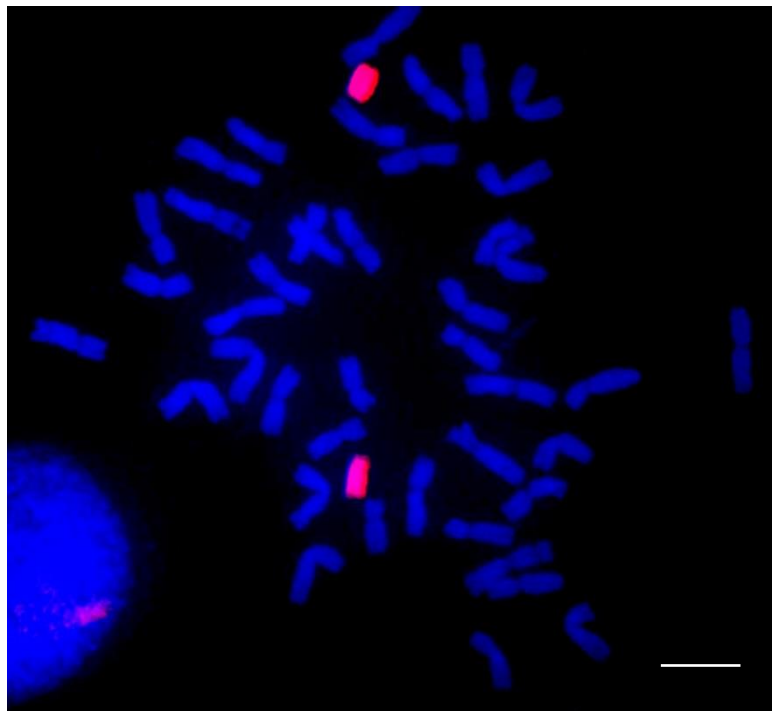
között azonosítottuk (08606). Az árpakromoszómák GISH-sel történő kimutatását követően (8. és 10. ábra), a 3H árpakromoszóma rövid- és hosszúkarját hordozó vonalakat a HvLPTTB és HvM60 SSR markerek segítségével különböztettük meg (4. táblázat és 24. ábra). A 3HS vonal növényeinek szálcacsos, laza szerkezetű kalászaik vannak, míg a 3HL vonal növényein rövid, sűrű kalászkok fejlődtek (9. és 11. ábra). Összesen 234 növényt vizsgáltunk *in situ* hibridizációval a 3HS és 3HL diteloszómás vonalak kiválogatása során (M2. melléklet). A fitotronban és a szántóföldi kísérletek során egyaránt a 3HL vonalnak voltak a legrövidebb kalászaik a tíz előállított diteloszómás vonal közül, azonban tenyészkertben végzett kísérletek során az ezerszem tömeg a 3HL vonalnál az egyik legjobb értéket mutatta az összes diteloszómás és diszómás addíciós vonalhoz viszonyítva (M4. melléklet).



**8. ábra.** A 3HS kromoszómakarok kimutatása GISH-sel a búza/árpa diteloszómás addíciós vonalban (a búzakromoszómák DAPI kontrasztfestést követően kék színűek, a digoxigeninnel jelölt teljes árpa genomi DNS hibridizálás és detektálás után bíborvörös színű). Skála=10 $\mu$ m.



**9. ábra.** 3HLS diteloszómás addíciós növény kalásza (2015. május, Tükrös tenyészkert, Martonvásár).



**10. ábra.** A 3HL kromoszómakarok kimutatása GISH-sel a búza/árpa diteloszómás addíciós vonalban (a búzakromoszómák DAPI kontrasztfestést követően kék színűek, a digoxigeninnel jelölt teljes árpa genomi DNS hibridizálás és detektálás után bíborvörös színű). Skála=10 $\mu$ m.

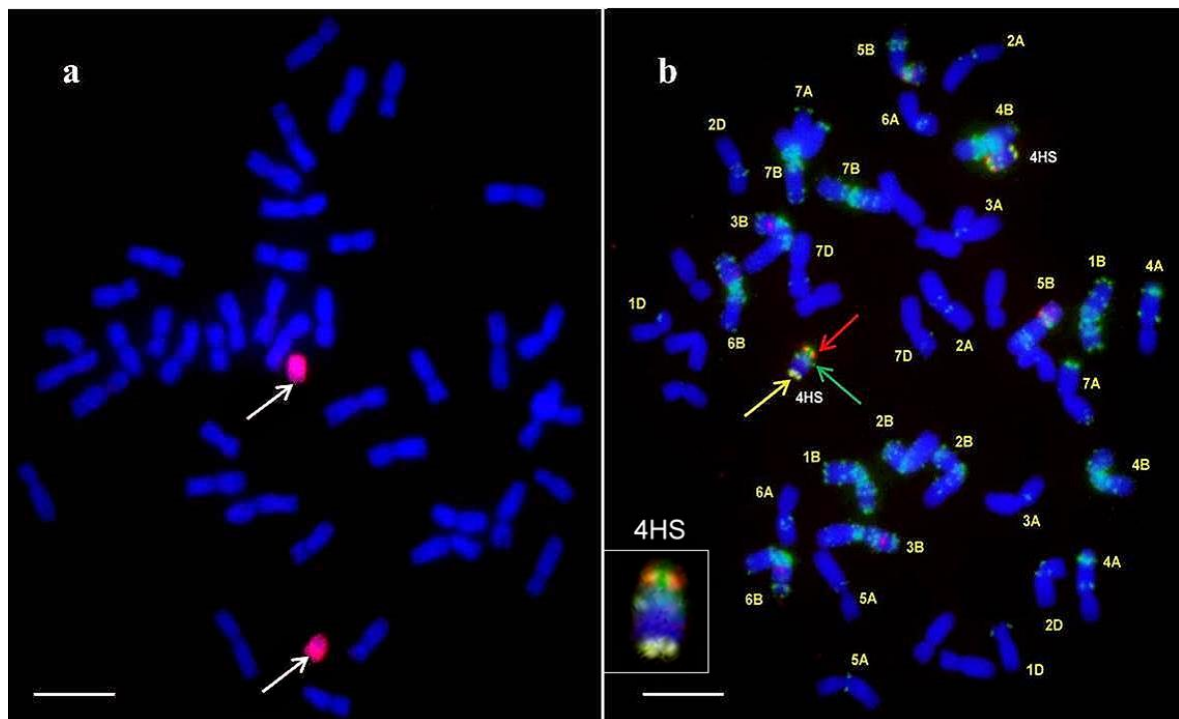


**11. ábra.** 3HL diteloszómás addíciós növény kalásza (2015. május, Tükrös tenyészkert, Martonvásár).

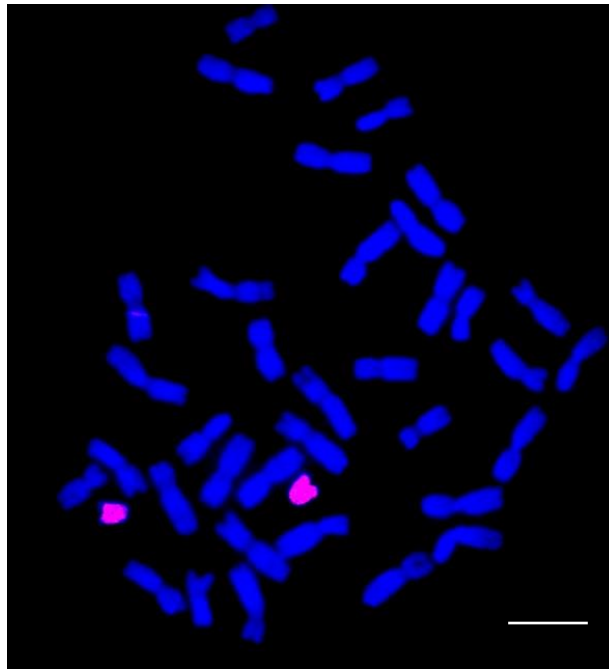
A 4HS és 4HL diteloszómás addíciós vonalakat 4H monoszómás addíciók utódai közül válogattuk ki (091391 és 05738 citológiai számú növények). Az árpa telocentrikus kromoszómákat a búza genetikai hátterében mitotikus dörzspreparátumokon végzett GISH-sel mutattuk ki (13.a és 14. ábra). A citológiai elemzést SSR markeres vizsgálattal erősítettük meg, árpa karspecifikus markerek használatával, amelyek kimutatták a 4HS (HvM40) és a 4HL (HvM67) kromoszómakarok jelenlétét (4. táblázat és 24. ábra). A GISH jelek eltávolítása után a teljes árpakromoszómakarok jelenlétét árpaspecifikus repetitív DNS próbák hibridizálásával bizonyítottuk (13.b ábra). A diteloszómák kiválogatása során a 4HS kar esett ki a legnagyobb gyakorisággal a vizsgált növényekből, 94 vizsgált növényből mindössze 33 volt homozigóta diteloszómás, 45 volt montoleloszómás és 115 növényből eliminálódott az árpa kromatin, (M2. melléklet), miközben a 4HS diteloszómás addíciós vonal magas stabilitást mutatott (6. táblázat). A 4HS addíciós vonal esetében bunkós, szálkacsonkos kalászkok figyelhetők meg, a 4HL vonal kalászaival rövidek, sűrűek és szálkacsonkosak (12. és 15. ábra). A búza/árpa diteloszómás addíciós növényei közül a 4HL vonal növényei voltak a legalacsonyabbak, a magasságuk szignifikánsan kisebb volt a kontrollnak nevelt búza genotípusoknál. A 4HS és 4HL vonalak fertilitása volt a legjobb az összes diteloszómás addíciós vonal közül, a fitotroni és a tenyészkerti kísérletek során is (M3. és M4.táblázat).



**12. ábra.** 4HS diteloszómás addíciós növény kalásza (2015. május, Tükrös tenyészkert, Martonvásár).



**13. ábra.** (a) GISH az 'Asakaze'/'Manasz' 4HS diteloszómás addíciós vonal mitotikus kromoszóma preparátumán. A kromoszómákat DAPI-val festettük meg (kék). Az árpa teljes genomi DNS bíborvörös színű (nyilak). (b) FISH az 'Asakaze'/'Manasz' 4HS diteloszómás addíciós vonal mitotikus kromoszómáin, árpa specifikus repetitív DNS próbák alkalmazásával: árpa centroméra specifikus próba (piros és piros nyíl),  $(GAA)_7$  mikroszatellit próba (zöld és zöld nyíl) és HvT01 árpa szubteloméra specifikus próba (sárga és sárga nyíl). Skála=10 $\mu$ m.

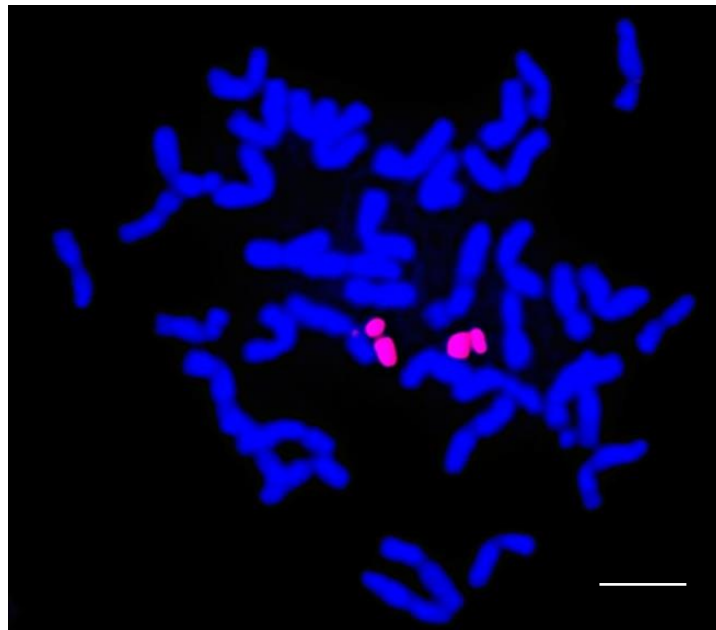


**14. ábra.** A 4HL kromoszómakarok kimutatása GISH-sel a búza/árpa diteloszómás addíciós vonalban (a búzakromoszómák DAPI kontrasztfestést követően kék színűek, a digoxigeninnel jelölt teljes árpa genomi DNS hibridizálás és detektálás után bíborvörös színű). (Részleges sejtpreparátum). Skála=10 $\mu$ m.



**15. ábra.** 4HL diteloszómás addíciós növény kalásza (2015. május, Tükrös tenyészkert, Martonvásár).

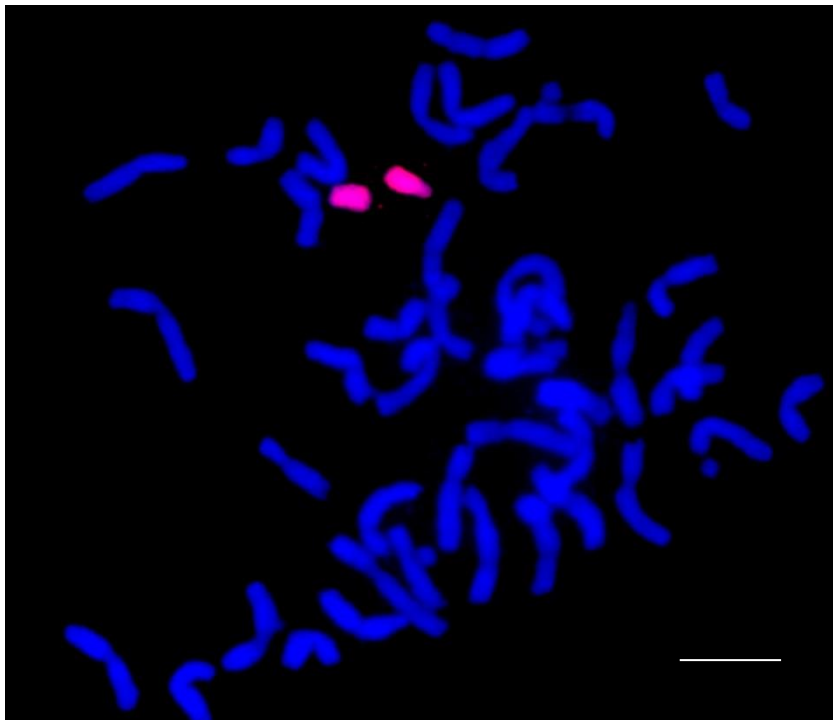
Egy dupla monoszómás, 6H és 7H árpakromoszómákat hordozó vonal volt a szülői genotípus a 6HS, 6HL addíciós vonalaknak és a 7HL addíciós vonalnak (05145-es citológiai számú növény). A 6HS és 6HL telocentrikus kromoszómák nagyobb gyakorisággal adódtak át az utódnemzedékbe, mint a 7H kromoszóma rövid vagy hosszú karja. A 7HS kar jelenlétét nem tudtuk igazolni a növények utódai között. A 7HS diteloszómákat a 05923 citológiai számú növény utódai közül válogattuk ki. A 6HS és 6HL diteloszómákat 161 növény vizsgálatával szelektáltuk, a 7H kromoszóma rövid és hosszú karját hordozó vonalat 139 növény vizsgálatát követően állítottuk elő (M2. melléklet). A 6H kromoszóma hosszú és rövid karjának jelenlétét GISH-sel mutattuk ki (16. és 18. ábra), majd azonosításukra 6H karspecifikus SSR markereket alkalmaztunk. A Bmac0136 markerrel a 6HS kart hordozó vonalat azonosítottuk, míg az EBmac0806 markerrel a 6HL kar jelenlétét mutatuk ki (4. táblázat és 24. ábra). A 6HS diteloszómák kalászhosszai hosszúak voltak, végük kissé szálkacsonkos, míg a 6HL vonal tartalmazta a kalászokkal rendelkezőket (17. és 19. ábra).



**16. ábra.** A 6HS kromoszómakarok kimutatása GISH-sel a búza/árpa diteloszómás addíciós vonalban (az árpa kromoszómakarok bíborvörös színűre festődtek). Skála=10 $\mu$ m.



**17. ábra.** 6HS diteloszómás addíciós növény kalásza (2015. május, Tükrös tenyészkert, Martonvásár).



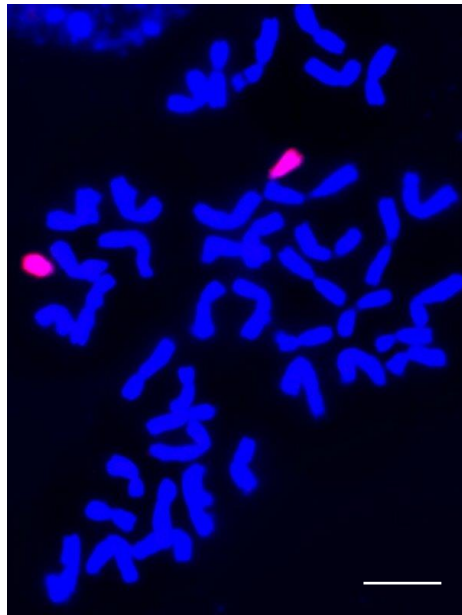
**18. ábra.** A 6HL kromoszómakarok kimutatása GISH-sel a búza/árpa diteloszómás addíciós vonalban (az árpa kromoszómakarok bíborvörös színűre festődtek). Skála=10 $\mu$ m.



**19. ábra.** 6HL diteloszómás addíciós növény kalásza (2015. május, Tükrös tenyészkert, Martonvásár).

A 7HS és 7HL vonalakat 7H monoszómás növény utódai közül válogattuk ki (05921 és 05923 citológiai számú növények). Az árpakromoszómák citogenetikai kimutatását követően (20. és 22. ábra), SSR és STS markerek segítségével azonosítottuk az árpakromoszómákat. A Bmac0031 SSR és a HvCSLF6 STS karspecifikus markerekkel igazoltuk az addíciós vonalakban a 7HS illetve a 7HL kromoszómakarok jelenlétét (4. táblázat és 24. ábra). Bár a 7HL vonal stabilnak bizonyult, egyes kromoszóma preparátumok esetén több mint két telocentrikus kromoszómát figyeltünk meg. A GISH-sel nem tudtuk azonosítani a kromoszómákat, ezért a GISH hibridizációs jelek lemosása után, FISH repetitív DNS próbákkal azonosítottuk, hogy melyik búza kromoszómakar fragmentálódott. Minden elemzett növény esetében a 4B kromoszóma tört. Mind a 7HS, mind a 7HL addíciós vonalnak tar, lazább kalászhai vannak, de a 7HS vonal hosszabb kalászokkal rendelkezett (21. és 23. ábra, M3. és M4. melléklet). Azok a növények, amelyeknél a 4B kromoszóma törött volt, és a 4BL kromoszómakar hiányzott, a kalászok sokkal rövidebbek voltak, a növények fertilitása pedig nagyon alacsony volt. A 7HS vonalak fertilitása is alacsonyabb volt a többi diteloszómás addíciós vonalnál, kalászhai végén sok steril kalászkát figyeltünk meg (M3. és M4. melléklet).

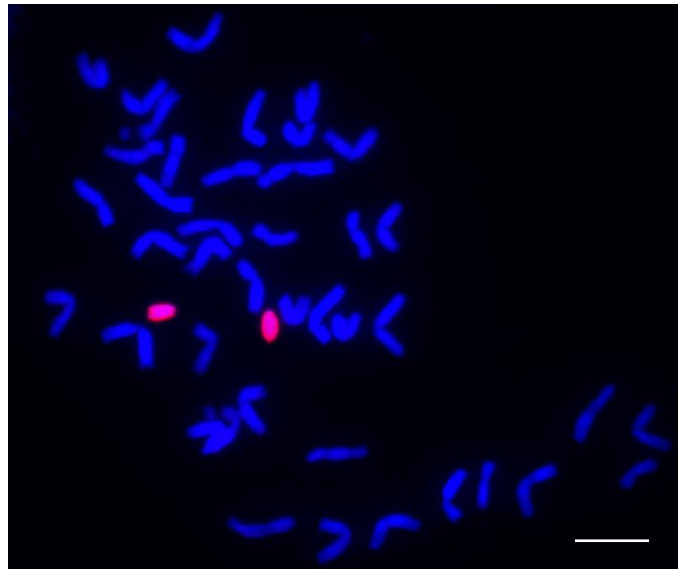




**20. ábra.** A 7HS kromoszómakarok kimutatása GISH-sel a búza/árpa diteloszómás addíciós vonalban (az árpa kromoszómakarok bíborvörös színűre festődtek). Skála=10 $\mu$ m.



**21. ábra.** 7HS diteloszómás addíciós növény kalásza (2015. május, Tükrös tenyészkert, Martonvásár).



**22. ábra.** A 7HL kromoszómakarok kimutatása GISH-sel a búza/árpa diteloszómás addíciós vonalban (az árpa kromoszómakarok bíborvörös színűre festődtek). Skála=10 $\mu$ m.



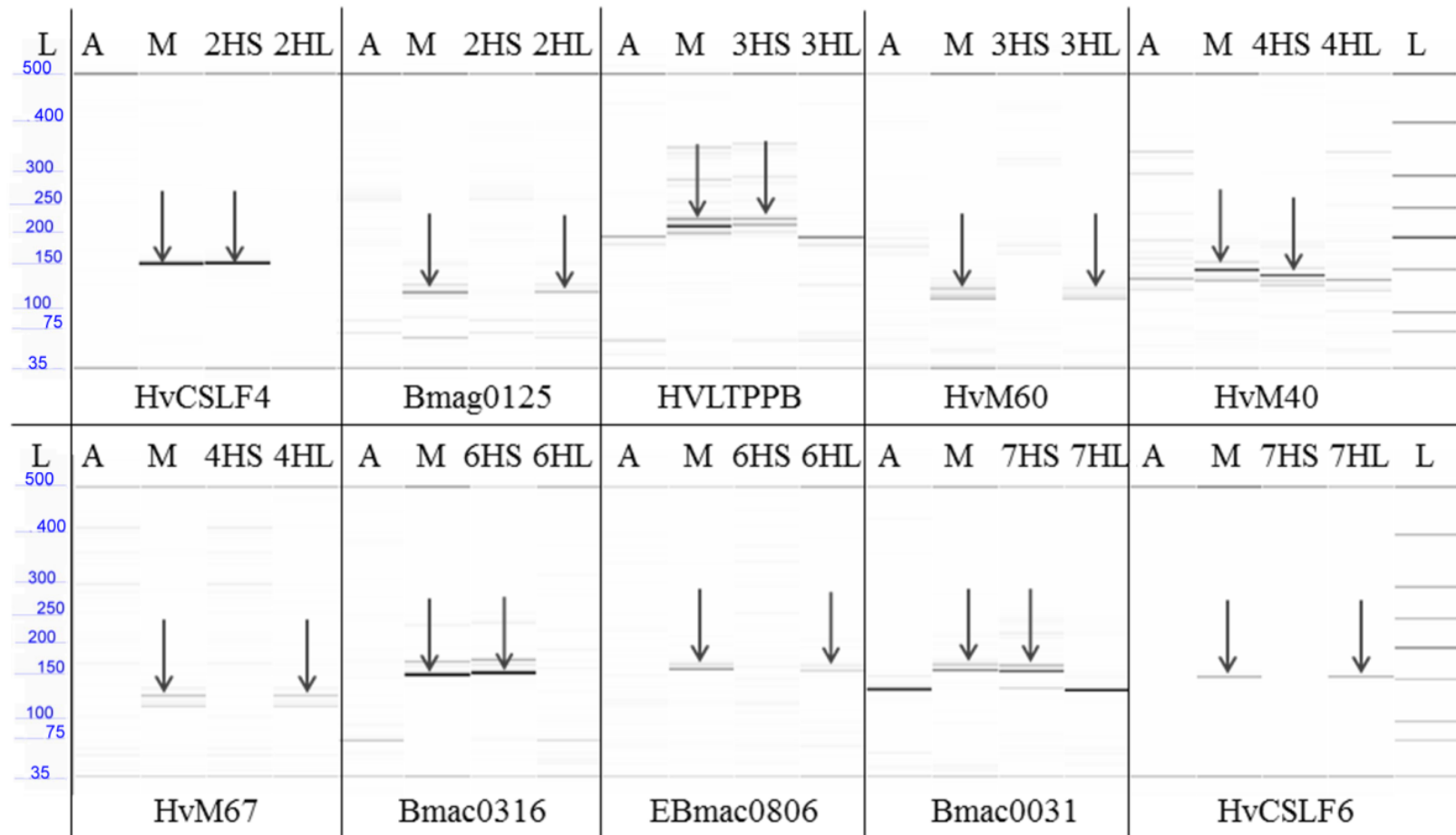
**23. ábra.** 7HL diteloszómás addíciós növény kalásza (2015. május, Tükrös tenyészkert, Martonvásár).

A vizsgált növények 30%-a (260 növény) homozigóta telocentrikus növény volt, az árpakromoszómák eliminálódtak az összes vizsgált növény 46%-ából (395 növényből). A citológiai ellenőrzött növényekben azonosított árpa kromoszóma-szegmentumok előfordulásának gyakoriságát az M2. mellékletben foglaltam össze.

Az addíciós vonalak felszaporítása során vizsgáltuk stabilitásukat is. A diteloszómás növények utódaiban a telocentrikus kromoszómák jelenlétét követtük nyomon. Minden egyes előállított vonal stabilitása a telocentrikus kromoszómák jelenlétét tekintve 50% feletti volt. A legalacsonyabb stabilitása a 2HS vonalnak volt (28 vizsgált utód közül 16 volt homozigóta teloszómás növény), a legmagasabb stabilitással pedig a 2HL vonal rendelkezett (a 28 vizsgált utódnövény közül mind a 28 diteloszómás volt). A diteloszómás addíciós vonalak stabilitására vonatkozó adatokat a 6. táblázatban tüntettem fel.

**6. táblázat.** Az 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonalak stabilitása, a diteloszómás növények utódai között.

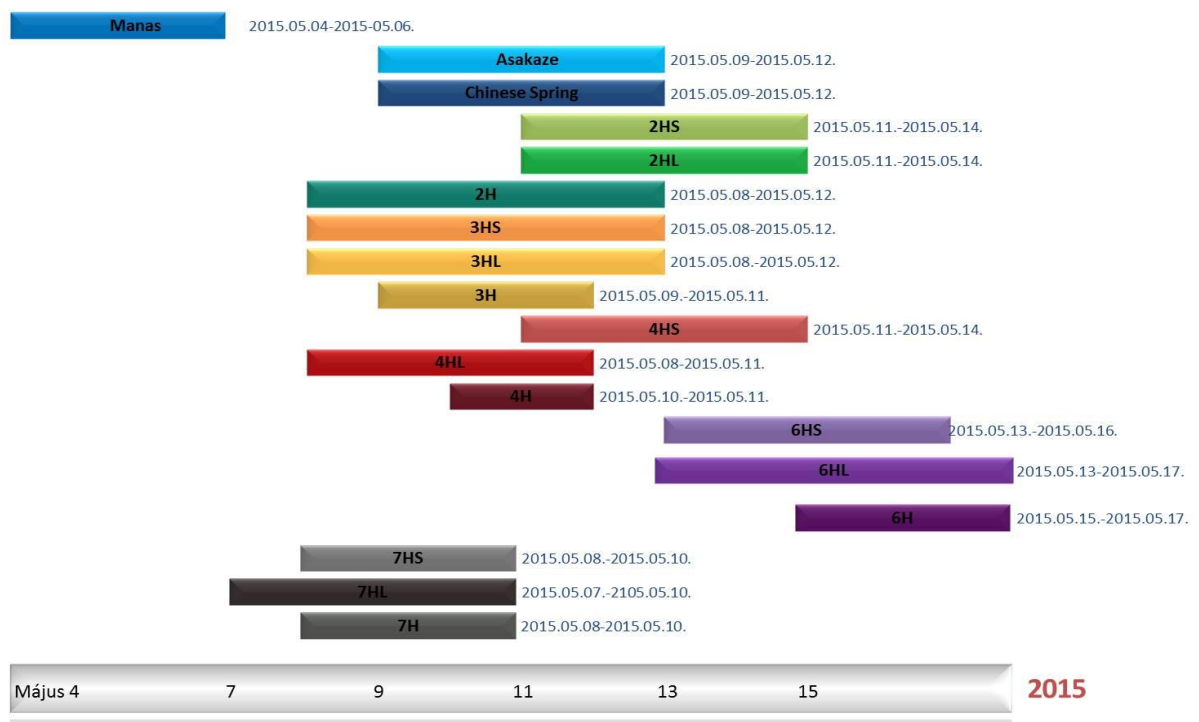
Genotípus	A vizsgált utódnövények száma	Azonosított diteloszómás növények száma	A diteloszómás növények aránya
2HS	28	16	57,14%
2HL	26	26	100%
3HS	36	30	83,33%
3HL	30	19	63,33%
4HS	45	38	84,44%
4HL	20	19	95%
6HS	44	28	63,63%
6HL	36	28	77,77%
7HS	23	18	78,26%
7HL	81	73	90,12%



**24. ábra.** A diteloszómás addíciós vonalak kapilláris gélelektroforézis mintázata a következő molekuláris markerek használatával: HvCSLF4-2HS, Bmag0125-2HL, HVLTPPB-3HS, HvM60-3HL, HvM40-4HS, HvM67-4HL, Bmac0316-6HS, EBmac0806-6HL, Bmac001-7HS és HvCSLF6-7HL (A= 'Asakaze' M='Manasz' szülői genotípusok).

#### 4.1.1. Az 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonalak virágzási idejének megfigyelése szántóföldi kísérletben

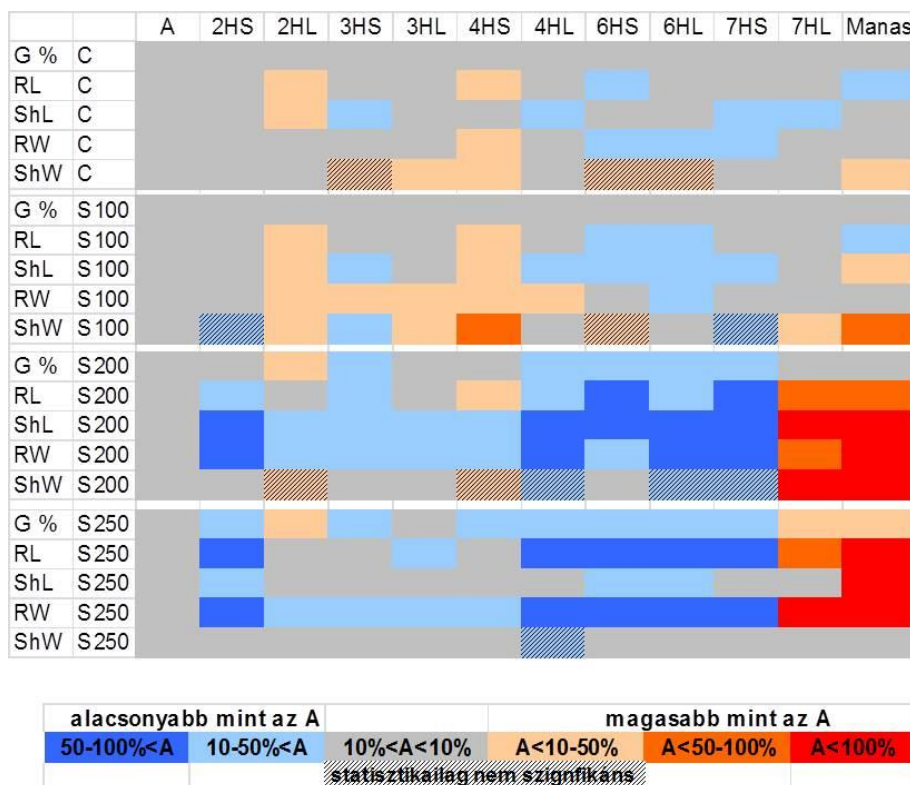
Az 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonalak virágzási idejét feljegyeztük 2015. május hónapban tenyészkeri kísérletünk során, összehasonlítva az adatokat az 'Asakaze'/'Manasz' diszómás (2H, 3H, 4H, 6H és 7H) addíciós vonalakkal, és a kontrollként használt 'Asakaze' és 'Chinese Spring' búzafajták, illetve a 'Manasz' árpafajta virágzási idejével. A legkorábban virágzó genotípus a 'Manasz' volt (25. ábra és M5. melléklet), melynél a tíz vizsgálatra kijelölt növény főkalásza május 4. és 6. között virágzott. A legkorábban virágzó addíciós vonal a 7HL volt, amelyik május 7-én kezdett virágozni, melyet az 'Asakaze' búzafajta és a 2H, 3HS, 3HL, 4HL, 7HS és 7H addíciós vonalak követették május 8-i virágzással, bár a virágzási intervallum a vonalak többségénél hosszabb volt, mint a 7HL vonalnál. A legkésőbb virágzó genotípusok a 6HS és 6HL voltak, május 13-i és a 6H addíciós vonal május 15-i virágzással. A szántóföldi kísérletek során feljegyzett virágzási adatokat a 25. ábrán illetve a M5. mellékletben tüntettem fel.



**25. ábra.** Az 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonalak virágzási ideje, összehasonlítva a szülői genotípusokkal ('Asakaze', 'Chinese Spring' és 'Manasz'), illetve 'Asakaze'/'Manasz' diszómás addíciós vonalak virágzási idejével. Az adatok genotípusonként 10 kijelölt növény főkalászána virágzási idejére vonatkoznak (2015. Tükrös tenyészker, Martonvásár).

#### 4.1.2. Az 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonalak sóstressz vizsgálata

Csírázási tesztek alkalmaztunk az 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diteloszómás addíciós vonalak sótűrésének megállapítására, összehasonlítva a kapott eredményeket a búza és árpa szülői vonalakkal. Az eredményeket a 26. ábrán és M6. mellékletben foglaltam össze. Sókezelés nélkül a genotípusok csak csekély variabilitást mutattak. A 2HL és 4HS diteloszómás addíciós vonalak jobb növekedési eréllyel rendelkeztek, mint a búza kontroll. A 2HL és 4HS addíció az 'Asakaze' búzafajtánál hosszabb csírázáskori gyökereket és hajtásokat eredményezett kontroll körülmények között. Ez a tulajdonság még megfigyelhető volt alacsony (100mM) sókezelés mellett is, de magasabb sókoncentrációk alkalmazásakor (200 és 250mM koncentráció) a különbség a genotípusok között már eltűnt. A 6HS, 6HL és 7HS kisebb gyökérnövekedést mutattak úgy kontroll, mint sóstressznek kitett körülmények között a búza szülőhöz képest. Ezzel szemben a 'Manasz' árpa és a 7HL diteloszómás vonal korai növekedési potenciálja jobban megmaradt még magas 200, illetve 250 mM sókoncentráció mellett is (26.ábra és M6. melléklet).



**26. ábra.** A csírázási tulajdonságok összehasonlítása (csírázási képesség, G%, gyökérhosszúság, RL, hajtás hosszúsága, ShL, gyökér súlya, RW, hajtás súlya, ShW) csíranövénykorban a következő genotípusoknál 'Asakaze' búzafajta (A), 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonalak, és 'Manasz' árpafajta (M) a kontroll, illetve sóstressz kísérletekben 100mM (S100),

200mM (S200) és 250mM (S250) NaCl által kiváltott sóstressz alkalmazása esetén. A szürke blokkok esetén az értékek közel azonosak (10%-on belül) az 'Asakaze' búza kontrollal. A piros és kék blokkok magasabb, illetve alacsonyabb értékeket mutat az 'Asakaze' búzafajtánál. Az abszolút értékeket az M6. mellékletben tüntettem fel.

#### 4.1.3. A búza/árpa diteloszómás addíciós vonalak jellemzése

Az 'Asakaze' × 'Manasz' búza × árpa keresztezésekből származó hibridek búzával keresztezett utódai közül egy majdnem teljesen komplett búza/árpa diteloszómás addíciós sorozatot válogattunk ki (2HS, 2HL, 3HS, 3HL, 4HS, 4HL, 6HS, 6HL, 7HS, 7HL). Az 5HS és 5HL diteloszómákat nem tudtuk előállítani, mivel az 5H árpakromoszóma esett ki a legnagyobb gyakorisággal a visszakeresztezett utódokból és/vagy az 5H kromoszómakarokat hordozó növények sterilek voltak (Molnár- Láng és mtsai, 2005). Minden egyes diteloszómás addíciós vonal a teljes búza genom mellett ( $2n=6x=42$ ) egy pár árpa telocentrikus kromoszómát tartalmaz. Egyes genotípusokban azonban kromoszómatöréseket és duplikációkat figyeltünk meg. Az árpa telocentrikus kromoszómák a meiózis során bekövetkező univalensek miszdivíziója során jöhetnek létre. Az első majdnem teljes búza/árpa diteloszómás addíciós sorozatot, amely a lehetséges 14 vonalból 13-at foglal magába (az 1HL kivételével), Islam állította elő az 1980-as években a 'Betzes' árpa telocentrikus kromoszómáinak hozzáadásával a 'Chinese Spring' búzafajta kromoszóma készletéhez. Ezeket a vonalakat morfológiai, élettani és biokémiai tulajdonságaik alapján illetve N-sávozásos technika segítségével írták le az előállítók. A dolgozatban szereplő és újonnan előállított 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonalakat *in situ* hibridizációs technikával (GISH, FISH) és molekuláris markerek segítségével azonosítottuk. A vonalak morfológiai tulajdonságait és a terméskomponenseket fitotroni növénynevelő kamrákban illetve tenyészkertben végzett kísérletek során elemeztük.

A 'Manasz' árpa jó télállósággal rendelkező őszi árpafajta, amely jobban alkalmazkodott a Közép-Európai klimatikus viszonyokhoz, mint a búza × árpa keresztezésekben eddig használt 'Betzes' ugyanakkor jobb agronómiai tulajdonságokkal rendelkezik, - mint például magasabb terméshozam, magas alumínium és sóstressz-tolerancia - az idegen fajú keresztezésekhez eddig használt két árpafajtával összehasonlítva (Dulai és mtsai, 2010; Darko és mtsai, 2012; Darko és mtsai, 2015). Búza/idegenfajú addíciós vagy diteloszómás addíciós vonalakat a búza számos termesztett és vad rokonával történő hibridizáció során állítottak elő, mint például a rozs, *Aegilops* fajok, *Thinopyrum ponticum*, *Elymus* fajok, *Leymus racemosus* vagy *Hordeum*

*chilense*. Ezek a diteloszómás addíciós vonalak felhasználhatók mind az alapkutatóban mind pedig a növénynevelésben.

A 'Chinese Spring'/'Betzes' diteloszómás addíciós vonalak előállítására lehetőséget nyitott az árpa telocentrikus kromoszómás áramlásos citometriával történő kiválogatására (Suchánková és mtsai, 2006), ezáltal lehetségessé vált a kromoszóma karspecifikus DNS könyvtárak létrehozása és a citogenetikai térképezés, amely alapja a fizikai térképek kidolgozásának (Harper és Cande, 2000). Mayer és mtsai (2011) arról számoltak be, hogy az áramlásos citometriával kiválogatott 1H kromoszóma és 2HS-7HL kromoszómák felhasználásával nagy felbontású szekvencia alapú géntérképet hoztak létre, amely tartalmazza az árpa genomában található gének kb. 86%-át. A kiválogatott növényi kromoszómák hosszában kinyújthatók, így növelve a kidolgozott fizikai térképek felbontását FISH alkalmazásával (Valárik és mtsai, 2004).

Az áramlásos citometriával 'Chinese Spring'/'Imperial' búza/rozs diteloszómás addíciós vonalokból kiválogatott IRS kromoszómákat IRS karspecifikus BAC könyvtárak előállítására használták fel. A kromoszóma karspecifikus BAC könyvtárak alkalmazása lehetővé tette a növények komplex genomjában meghatározott régiók magas felbontású analízisét és ezekre a régiókra specifikus molekuláris markerek tervezését (Bartoš és mtsai, 2008). A 'Chinese Spring'/'*Aegilops geniculata* 5M<sup>e</sup> diteloszómás addíciós vonalak felhasználásával először sikerült elkülöníteni egy *Aegilops* kromoszómakart, melyet azután Illumina technológiával szekvenáltak. Az új generációs szekvenálás kiváló lehetőséget biztosít szekvencia-alapú molekuláris markerek fejlesztésére és az *Aegilops* kromoszómák molekuláris vizsgálatára (Tiwari és mtsai, 2014).

Az 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diteloszómás addíciós vonalakat összehasonlítottuk az 'Asakaze'/'Manasz' diszómás addíciós vonalakkal, amelyeket előzőleg ugyanabból a búza × árpa keresztezésből származó utódvonalak közül válogattuk ki (Molnár-Láng és mtsai, 2012a). A diszómás és diteloszómás addíciós vonalak, mint aneuploidok bizonyos fokú genetikai instabilitást mutatnak, amely szükségessé teszi rendszeres citológiai ellenőrzésüket. Az eddigi vizsgálatok alátámasztják, hogy az 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonalak stabilabbak a diszómás addíciós vonalaknál. Az 'Asakaze'/'Manasz' 3H diszómás addíció különösképpen nem várt alacsony stabilitást mutatott az Mv9kr1/'Igrí' 3H addíciós vonallal összehasonlítva (Szakács és Molnár-Láng, 2009; Molnár-Láng és mtsai, 2012a), míg mind a 3HS és 3HL addíciós vonalak magasabb stabilitást mutattak a diteloszómák előállításakor. Úgy tűnik, az idegen fajú kromoszómák átadódása magasabb arányban megy végbe abban az esetben, ha a teljes kromoszómákat telocentrikus kromoszómák helyettesítik, amint azt a rizs esetében Yasui és Iwata (1998) kimutatta. Különbségeket mutattunk ki a növények és kalászkok morfológiáját és a fertilitást tekintve a diteloszómás és diszómás addíciós vonalak között. A 4HL



vonali növényei voltak a legalacsonyabbak az összes addíciós vonal közül és ugyanakkor szignifikánsan alacsonyabbak voltak a búza szülői genotípusoknál mind a fitotroni, mind a tenyészkerti kísérletben (M3. és M4. melléklet). A 6HS, 6HL és 7HS addícióknál figyeltük meg a leghosszabb kalászokat az addíciós vonalak közül, miközben a 4HS és 4HL vonalaknál szignifikánsan rövidebb kalászok fejlődtek, de jobb fertilitással rendelkeztek a szülői genotípusoknál. Ez főleg a 4HL diteloszóma kalászainál volt megfigyelhető, amelyek sűrű szerkezetűek voltak és szignifikánsan magasabb kalásonkénti szemszámmal rendelkeztek, mint az 'Asakaze' és 'Chinese Spring' búzafajták a Tükrös tenyészkertben kivitelezett kísérlet esetén (M4. melléklet). A 7H addíciós vonal a legalacsonyabb fertilitással rendelkezett a diszómás addíciók (Molnár-Láng és mtsai, 2012a és a dolgozatban szereplő adatok) és a 7HL a diteloszóma között, a 7HS vonal magasabb fertilitást mutatott a szántóföldi kísérlet során (M3. és M4. melléklet).

A 7HL telocentrikus kromoszómát hordozó vonal virágzott a legkorábban az addíciós vonalak közül, később virágzott a 'Manasz' árpánál, de korábban a búza genotípusoknál, miközben a legkésőbb virágzó genotípusok a 6H kromoszómát, illetve ennek rövid vagy hosszú karját hordozó genotípusok voltak. Ezek az eredmények összhangban vannak a Molnár-Láng és mtsai (2012a) és Farkas és mtsai (2014) által előzően közölt eredményekkel (25. ábra és M5. melléklet). A tenyészkerti kísérlet során a 2H diszómás addíciós vonal szignifikánsan korábban virágzott, mint a 2HS és 2HL vonalak (M5. melléklet). A legfontosabb fotoperiódus érzékenységet felelős lokusz a 2HS kromoszómakaron lokalizált *Ppd-H1*, gyorsabb növényfejlődést eredményez hosszú nappal esetén az árpánál (Turner és mtsai, 2005; Cockram és mtsai, 2007). Az őszi árpafajták vernalizációt igényelnek és a virágzás általában hosszú nappal által indukált. A domináns *Ppd-H1* allél korai virágzást idéz elő hosszú nappal esetén, de rövid nappal esetén nincs hatása. A 2H kromoszóma más fontos növényfejlődéssel és alkalmazkodással kapcsolatos géneket is hordoz, mint például a kalásztípust (*vrs1*) (Pourkheirandish és mtsai, 2007), koraiságot (*eps2S*) (Laurie és mtsai, 1995), korai érést (*Eam1*) (Boyd és mtsai, 2003) meghatározó gének. További genetikai és genomikai kutatások szükségesek annak megállapítására, hogy ezek a 2H kromoszóma rövid vagy hosszú karján lokalizált gének hogyan működnek abban az esetben, ha a genotípus nem hordozza a teljes 2H kromoszómát.

Az introgressziós vonalak felhasználhatók az idegen fajból származó kromoszómákon lokalizált gének expressziójának vizsgálatára (Chang és de Jong, 2005). Korábban végzett kísérletekben számos különböző búza és árpa keresztezéséből származó búza/árpa addíciós és transzlokációs vonalat vizsgáltak alumínium és só-tűrés tekintetében (Dulai és mtsai, 2010; Darko és mtsai, 2012). A különböző 'Asakaze'/'Manasz' diszómás addíciós vonalak (2H, 3H, 3HS, 4H,

6H, 7H és 7HL) és a szülői genotípusok ('Asakaze', 'Chinese Spring' és 'Manasz') sótűrésének vizsgálata kimutatta, hogy a 7H és 7HL addíciók magasabb sóstressz toleranciát mutattak mind csíranövény korban, mind korai fejlődési szakaszban mint a búzaszülők, amelyek közül az 'Asakaze' sótűrése magasabb volt mint a 'Chinese Spring' fajtájé (Darko és mtsai, 2015). A jelenlegi kísérlet, amelyben az összes előállított diteloszómás vonalat vizsgáltuk (2HS, 2HL, 3HS, 3HL, 4HS, 4HL, 6HS, 6HL, 7HS, 7HL) igazolta a korábbi eredményeket. A 7HS diteloszóma nagyobb mértékű növekedés csökkenést mutatott sóstressz hatására, mint az 'Asakaze' búzafajta, miközben a 7HL vonal és a 'Manasz' magasabb mértékű sótűrést mutattak a csírázás során, mint az 'Asakaze'. Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy a búza genetikai háttérben 7H hosszúkart hordozó vonalak hasznos genetikai anyagként szolgálhatnak a búza sótűrésének javításában. Erőteljesebb gyökér és hajtásnövekedést figyeltünk meg szintén a 2HL és 4HS vonalaknál az 'Asakaze'-val összehasonlítva csíranövénykorban, mind a kontroll, mind a közepes sóstressz hatásnak kitett növények esetében, de ez az erőteljes növekedés abbamaradt erős sóstressz hatására, arra utalva, hogy az erőteljes növekedés nem korrelálható a sóstresszre történő válasszal. Intenzív gyökérnövekedést figyeltünk meg a 4H diszómás addíciós vonal esetén is, és a jelen kísérlet eredményei azt bizonyítják, hogy ez a 4HS kromoszómakar jelenlétével van kapcsolatban.

A diszómás és diteloszómás addíciós vonalak felhasználhatók búza/idegen fajú transzlokációs vonalak előállítására, amelyek az addícióknál jóval stabilabbak. Egy 'Asakaze'/'Manasz' 7H monoszómás addíciós vonal utódnaövényeit vizsgálták a 7H kromatin jelenlétének kimutatása céljából és a vizsgálatok kimutatták egy spontán 4BS.7HL Robertsoni transzlokáció jelenlétét (Cseh és mtsai, 2011). A transzlokációs vonalban magasabb (1,3;1,4)- $\beta$ -D-glükán szintet mutattunk ki, alátámasztva azt a feltételezést, hogy a *HvCSLF6* gén, amelyet a 7HL kromoszómakar centromérához közel régiójában térképeztek és a  $\beta$ -glükán termelést szabályozza, expresszálódik a hexaploid búza genetikai háttérben. Erre az ismeretre alapozva egy 7BS.7HL búza/árpa kompenzáló transzlokációs vonalat állítottunk elő, mivel az árpa homeológ kromoszómái jobban kompenzálják egy bizonyos búzakromoszóma szegmentum eliminációját, mint a nem homeológ kromoszóma-szegmentumok (Cseh és mtsai, 2015). A 7BS.7HL transzlokáció a Rannaja búzafajta 7B monoszóma és az 'Asakaze'/'Manasz' 7H diszómás addíció keresztezéséből származik. Az  $F_1$ -ben GISH alkalmazásával az utódok közül azokat a növényeket válogattuk ki, amelyek 42 kromoszómával rendelkeztek (monoszómásak voltak a búza 7B kromoszómáját és az árpából származó 7H kromoszóma tekintetében). Az  $F_1$  növényeket öntermékenyítettük és az  $F_2$ -ben a 7H árpakromoszóma rövid vagy hosszú karjának jelenlétét 7H karspecifikus markerek segítségével igazoltuk. Az  $F_3$ -ban hat növényt válogattunk

ki, amelyek a 7BS.7HL centrikus fúziót monoszómás formában hordozták, ezeket a növényeket öntermékenyítettük. A következő generációban a 42 kromoszómát és a transzlokációt homozigóta formában hordozó növényeket GISH, FISH és molekuláris markerek segítségével azonosítottuk (Cseh és mtsai, 2015). A növényekből származó szemek (1,3;1,4)- $\beta$ -D-glükán tartalmát a vonalak felszaporítása után fogjuk vizsgálni. Ha a *HvCSLF6* gén expresszálódik ebben a genetikai háttérben, a 7BS.7HL transzlokációs vonal potenciális genetikai anyagnaként szolgálhat a búza (1,3;1,4)- $\beta$ -D-glükán tartalmának növelésében.

## 4.2. A 3HS.3BL Robertsoni transzlokáció introgressziója egy modern martonvásári búzafajtába

Korábban előállítottunk egy 3HS.3BL búza/árpa Robertsoni transzlokációs vonalat CS tavaszibúza, majd az Mv9kr1 martonvásári őszi búza háttérben 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 (CS/B//Mv9kr1/3/Mv9kr1). Az agronómiai tulajdonságok javítása érdekében ezt a vonalat kereszteztük az 'Mv Bodri' modern őszi búzafajtával (CS/B//Mv9kr1/3/Mv9kr1/4/Bodri). A keresztezésből származó F<sub>1</sub> növényeket öntermékenyítettük és az utódokban a 3HS.3BL centrikus fúzió jelenlétét GISH-sel mutattuk ki. F<sub>2</sub>-ben 32 vizsgált növényből az árpa kromatin eliminálódott 20 növényből, 10 növény hordozta a transzlokációt monoszómás formában és mindössze 2 növény hordozott homozigóta centrikus fúziót. A homozigóta növények citológiai száma 102428 és 102832. A két homozigóta növény öntermékenyített utódait martonvásári tenyészkertünkben felneveltük, ezek kétféle fenotípust mutattak, egyiknek szálkacsonkos kalászaik voltak (I vonal), a másiknak tar kalászaik (II vonal) (27. ábra). A növények kalászeit izoláltuk, hogy megelőzzük az átkereszteződést a genotípusok között. A 3HS.3BL/Bodri genotípust (CS/B//Mv9kr1/3/Mv9kr1/4/Bodri) felszaporítottuk kisparcellás szántóföldi kísérleteink során (Tükrös tenyészkert, Martonvásár 2012-től kezdődően) és a két testvérvonal agronómiai tulajdonságait az F<sub>4</sub> és F<sub>5</sub> generációkban vizsgáltuk.

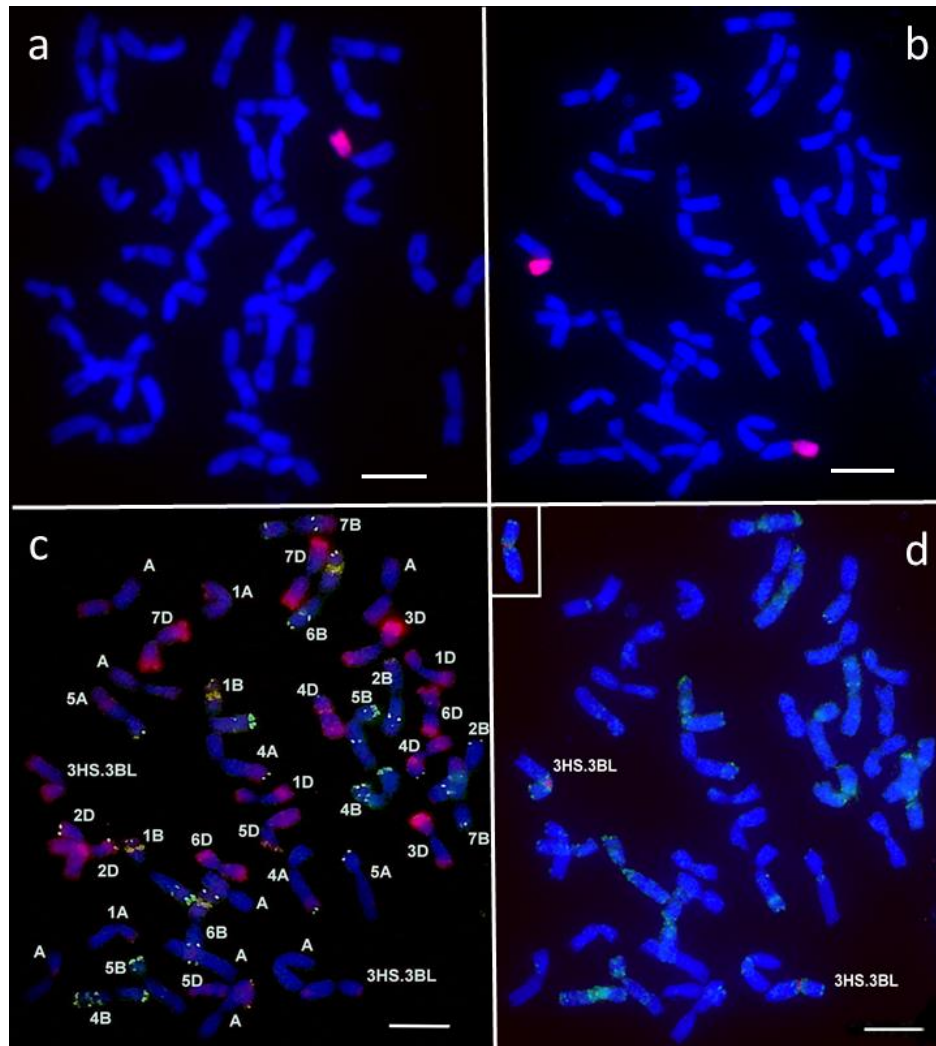
### 4.2.1. Az utódvonalak citogenetikai azonosítása

A 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 Robertsoni transzlokációs vonal 'Mv Bodri'-val való keresztezése után a centrikus fúzió öröklődését az utódokban GISH-sel követtük nyomon (28. a és b ábra). A transzlokációs vonalat a spontán létrejött 3HS.3BL centrikus fúzió utódnövényei közül válogattuk ki, ezért feltételeztük, hogy az újonnan előállított genetikai anyagban az árpa kromatin a 3HS árpa kromoszómakarból származik. A búzagenomhoz tartozó kromoszómákat FISH vizsgálattal elemeztük, amely során kimutattuk, hogy a 3BS kromoszómakar kivételével

minden A, B és D genomhoz tartozó kromoszóma jelen van a genotípusokban. Az első FISH vizsgálat során 3 DNS repetitív próbát alkalmaztunk: Afa family, pSc 119.2 és pTa71 (28. ábra c). A FISH analízis kimutatta 20 pár búzakromoszóma és 1 pár transzlokációs kromoszóma jelenlétét. A transzlokáció magába foglalta a 3BL kromoszómakart, míg a 3BS kar hiányzott. A második próbakombinációval végzett FISH vizsgálatot árpa kromoszóma specifikus próbák felhasználásával hajtottuk végre: árpa centroméra specifikus repetitív próba (AGGGAG)<sub>4</sub>, árpa szubteloméra specifikus próba (HvT01) és (GAA)<sub>7</sub> mikroszatellit próba (28. ábra d). Az árpa centroméra specifikus és szubteloméra specifikus hibridizációs jelek jelenléte bizonyította a teljes árpa kromoszómakar beépülését az átrendeződött kromoszómákban, míg a (GAA)<sub>7</sub> mikroszatellit próba specifikus hibridizációs jeleket adott mind a 3HS, mind a 3BL kromoszómakarokon, alátámasztva, hogy ezek voltak a centrikus fúzió kialakításában résztvevő kromoszóma szegmentumok.



**27. ábra.** Az eredeti 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 búza/árpa transzlokációs vonal (1) kalászáinak összehasonlítása az 'Mv Bodri' (2) fajtával és az 'Mv Bodri' –val keresztezett (3HS.3BL/Bodri) szálkacsonkos (3) és 3HS.3BL/Bodri tar (4) transzlokációs vonallal.

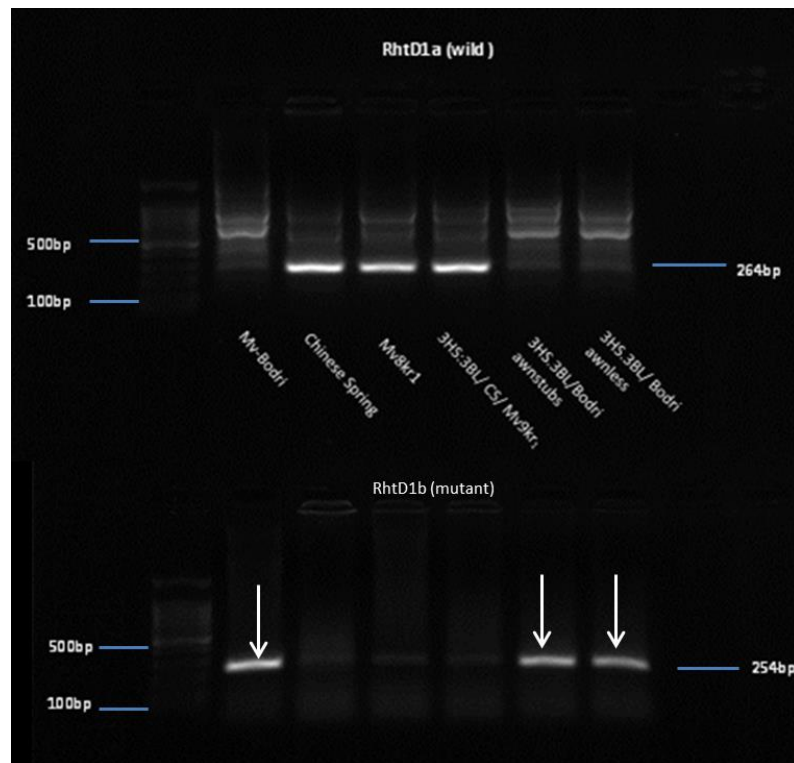


**28. ábra.** Genomi *in situ* hibridizáció (GISH) a 3HS.3BL/Bodri genotípus mitotikus kromoszóma preparátumain. A digoxigeninnel jelölt árpa teljes genomi DNS bíborvörös színű (a) Monoszómás transzlokáció (b) Homozigóta transzlokáció (c) Fluoreszcens *in situ* hibridizáció a 3HS.3BL/Bodri mitotikus kromoszóma preparátumán Afa family (piros), pSc119.2 (zöld) és pTa71 (sárga) repetitív DNS próbák alkalmazásával. (d) A 3HS.3BL/Bodri centrikus fúzió árpakromoszóma specifikus próbák alkalmazásával vizsgált FISH mintázata: (AGGGAG)<sub>4</sub> (piros), (GAA)<sub>7</sub> (zöld), HvT01 (sárga). Skála=10µm.

#### 4.2.2. A 3HS.3BL/Bodri vonalak molekuláris markeres analízise

Vizsgáltuk a növénymagasságot meghatározó *RhtD1b*, 'Mv Bodri'-ban megtalálható allél jelenlétét a Robertsoni transzlokációt hordozó vonalakban. A molekuláris markeres analízis eredményei a 29. ábrán láthatók. Az *RhtD1b* allélt korábban kb. 15cM távolságra térképezték az Xwmc048b mikroszatellit markertől az 'Mv Bodri' búzafajta 4D kromoszómájának rövid karján. A DF/MR2 *RhtD1b* mutáns alléljára specifikus primerpár a várt 254 bp hosszúságú terméket

amplifikálta az 'Mv Bodri' búzafajtánál illetve mindkét 3HS.3BL/Bodri genotípusnál (I vonal és II vonal), míg a DF2/WR2 primerpár egy 264 bp hosszúságú terméket amplifikált, amely megfelel az *RhtD1a* allélnak (vad típus), amelyet a 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 transzlokációs vonal és az Mv9kr1 búzavonal hordoz. A 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 vonal magasságának szignifikáns csökkenése az 'Mv Bodri'-val történő keresztezés után az *RhtD1b* törpeségi allél beépülésének eredménye.



**29. ábra.** Az *RhtD1b* allél specifikus molekuláris markerek agaróz gél-elektroforézis mintázata a következő DNS templátokon: 'Mv Bodri' búzafajta, 'Chinese Spring' búzafajta, Mv9kr1 búzatörzs, 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 transzlokációs vonal és 3HS.3BL/Bodri transzlokációs vonalak (I vonal, szálcacsonkos és II vonal, tar). Az *RhtD1b* allél specifikus termékeket nyilakkal jelöltük. Egy 100 bp hosszúságú létrát alkalmaztunk a fragmentek hosszúságának meghatározására.

#### 4.2.3. A növények fenotípusának vizsgálata a martonvásári tenyészkertben

A morfológiai és statisztikai vizsgálatok eredményeit az M7. és M8. mellékletben foglaltam össze. A vizsgálatba bevont genotípusokat (3HS.3BL/CS/Mv9kr1, 3HS.3BL/Bodri testvérvonalakat, búza szülői genotípusokat – CS fajta és Mv9kr1 búzatörzs, illetve a keresztezéshez használt 'Mv Bodri' búzafajtát) martonvásári tenyészkertünkbe két egymást követő őszen (2012 és 2013 évek) vetettük el. A 2012-2013-as kísérletet az organikus

tenyészkertben végeztük, míg 2013-2014-ben a genotípusokat két helyen vetettük el, Tükrös tenyészkertben és a nemesítők tenyészkertjében (Lászlópuszta). A csapadék mennyisége a tenézszió alatt 367 mm volt (2012. októbertől 2013. júliusig) és 322 mm (2013. októbertől 2014. júliusig). A növények magasságát és a bokrosodást aratás előtt határoztuk meg, a fertilitást (kalásonkénti szemszám), a növényenkénti szemszámot és a főkalász hosszát aratás után mértük, ugyanúgy, mint az ezerszem-tömeget.

A tenyészkertben végzett kísérletek során a 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 vonal növényei általában 100 cm-nél magasabbak voltak (M7. melléklet), kivéve, amikor a kísérleti parcella az organikus tenyészkertben volt, ahol a talaj nem kapott műtrágyát több mint 10 évig. A növények jellegzetes, rövid, tömött, bunkós kalászokkal rendelkeztek. A 3HS.3BL/Bodri vonalak 8-23%-al alacsonyabbak voltak, mint a 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 növények, és két különböző fenotípust mutattak, az elsőnek (a 102428-as növény utódai) hosszabb, végén szálcasonkos kalászhosszúak voltak (I vonal), a másikon (a 102432-es növény utódai) rövidebb, tar, bunkós kalászok fejlődtek (II vonal). A 3HS.3BL/Bodri vonalak bokrosodása mindkét évben jobb volt a 3HS.3BL/Mv9kr1 vonal és az 'Mv Bodri' fajta bokrosodásánál (M7. és M8. melléklet). A 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 genotípus kivételesen jó bokrosodása az egyik tenyészkertben 2013-2014-ben, azzal magyarázható, hogy a növények hiányosan keltek ki, így egy-egy növénynek nagyobb helye volt a fejlődésre. A 3HS.3BL/Bodri vonalak (I és II vonal) fertilitása 2013-2014-ben és a II vonal fertilitása 2012-2013-ban jobb volt, mint kiindulási vonal fertilitása, illetve az 'Mv Bodri' fertilitása 2013-2014-ben. A 3HS.3BL/Bodri vonal növényenkénti szemszáma nagyobb volt, mint a 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 genotípusnál és az 'Mv Bodri' fajtánál 2012-2013-ban ugyanúgy, mint az I vonal növényenkénti szemszáma a nemesítők tenyészkertjében 2013-2014-ben (M7. és M8. melléklet).

Az 'Mv Bodri' fajtába beépített két transzlokációs vonal közül a II vonalnál rövidebb kalászok fejlődtek, mint az I vonalnál. A tar kalásztípusú vonal főkalászáinak hossza hasonló volt az eredeti transzlokációs vonaléhoz és a 'Chinese Spring' búzafajtáéhoz, miközben a szálcasonkos vonal kalászhossza az 'Mv Bodri' kalászhosszához hasonlítható. Az I és II vonal fertilitása hasonló volt, a hosszúságbeli különbségek ellenére (M7. és M8. melléklet).

Az ezerszem-tömeget meghatároztunk mindkét évben: az organikus tenyészkertben a 2012-2013 vegetációs időszakban (M7. melléklet) és nemesítők tenyészkertjében (Lászlópuszta) a 2013-2014 vegetációs időszakban (M8. melléklet). Az ezerszem-tömeg a 3HS.3BL/Bodri vonalak esetében alacsonyabb volt az 'Mv Bodri' és Mv9kr1 búza genotípusokhoz képest az organikus tenyészkertben. Az ezerszem-tömeg nagyobb értékét figyeltük meg a nemesítők tenyészkertjében, mint az organikus tenyészkertben, de az alacsony növényesség miatt a Tükrösben nevelt növények esetében nem tudtunk elvégezni egy nagyon pontos mérést, ezért

ezeket az értékeket nem tüntettük fel. Ugyanakkor egy súlyos sárgarozsda fertőzés miatt a fogékony genotípusok (pl. Mv9kr1) ezerszem-tömege erősen csökkenhetett.

#### 4.2.4. A 3HS.3BL/Bodri vonalak előállítása és vizsgálata

Az interspecifikus hibridizáció sikeressége nagyban függ a használt genotípusoktól (Jiang és mtsai, 1994). A búzában két fő keresztezhetőségi gént azonosítottak a (*kr* gének). A 'Chinese Spring' fajta a *Kr* gének recesszív alléljait hordozza (*kr1* és *kr2*) amelyek az 5-ös homeológ kromoszómacsoporton helyezkednek el (Riley és Chapman 1967; Snape és mtsai, 1979; Falk és Kasha 1983) és a kutatók többsége az egyik legjobban keresztezhető búzafajtának tartja. Kísérleteinkben a keresztezésekhez az Mv9kr1 búzavonalat használtuk, amelyet az Mv9 búzafajtából hoztak létre, és amelybe Molnár-Láng és mtsai, (1996) beépítették a CS fajtából származó keresztezhetőségi gént. Az Mv9kr1 genotípus mára kiszorult a termelésből, a később nemesített modern martonvásári búzafajták még kedvezőbb tulajdonságokkal rendelkeznek. A jól keresztezhető genotípusok azonban nem rendelkeznek kiemelkedő agronómiai tulajdonságokkal. A 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 spontán létrejött búza/árpa transzlokációt hordozó növényeket kereszteztük az 'Mv Bodri' martonvásári őszi búzafajtával, lehetővé téve ezzel a 3HS kromoszómakaron lokalizált hasznos gének és/vagy QTL-ek introgresszióját egy jó agronómiai tulajdonságokkal rendelkező búzafajtába.

Az eredeti transzlokációs vonal egy búza-árpa szövettenyészetben felnevelt hibridből származik, a kalászkezdeményeket kalluszosították, majd ezekből növényeket regeneráltak (Molnár-Láng és mtsai, 2000a). Ennek a módszernek az alkalmazása kromoszómátöréseket okozhat (Bayliss, 1980; Larkin és Scowcroft, 1981). A búza-idegen fajú transzlokációk egy része keletkezhet a kromoszómák centroméránál történő törése és a törött szegmentumok összekapcsolódása következtében, illetve az univalensek meiózis során bekövetkező miszdivíziója miatt (Sears, 1972; Lukaszewski, 2000; Friebe és mtsai, 2005). Sok esetben azonban a különböző fajokból származó transzlokációk nem homeológ kromoszómákból származnak, ezért nem kompenzálják megfelelően az eliminálódott búza kromatint, vagy nem kívánatos géneket hordoznak. A búzával rokon fűfélék 3-as kromoszóma-csoportjának vizsgálata bebizonyította, hogy ez a csoport a legkonzervatívabb a kromoszómák közül a génösszetétel és -sorrend tekintetében (Munkvold és mtsai, 2004). Rustenholtz és mtsai (2010) vizsgálatai szerint a búza 3B kromoszómáján található gének 67%-a (102 gén) kollineáris a 3H kromoszómáján található génekkel. A 3HS.3BL/Bodri genotípus morfológiai tulajdonságai és



fertilitása alátámasztja azt a feltételezést, hogy a 3BS kromoszómakar eliminálódását ebből a vonalból nagymértékben kompenzálja a 3HS kromoszómakar beépülése.

A modern nemesített búzafajták ideális magassága 80-110 cm, ezt a magasságot az *Rht* (reduced height) gén introgressziójával lehet elérni, ezáltal csökkentve a megdőlés mértékét és növelve a terméshozamot. A termesztett búzában eddig 21 törpeségi gént azonosítottak (McIntosh és mtsai, 2003). Ezeket a géneket két csoportra lehet osztani a gibberellin-savval (GA) szembeni érzékenységüket tekintve, például az *Rht8* GA szenzitív, míg az *RhtB1b-Rht1*, *RhtD1b-Rht2* és az *RhtBe1-Rht11* GA inszenzitívek (Ellis és mtsai, 2004; Haque és mtsai, 2012). Az *RhtB1b* és *RhtD1b* gének a 4B, illetve 4D kromoszómák rövid karjára vannak térképezve (Borlaug és mtsai, 1968; Gale és Youssefien, 1985; Peng és mtsai, 1999). A 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 genotípus növényei általában magasabbak 100 cm-nél. A 3HS.3BL introgressziójával az 'Mv Bodri' búzafajtába a növények magassága 8-23%-kal csökkent, a talaj és az időjárási viszonyoktól függően. A növénymagasság csökkenése fontos szerepet tölt be a terméshozam növekedésében és a növények megdőlésének csökkentésében. A növénymagasság csökkenése a 3HS.3BL/Bodri genotípus esetében egyértelműen az 'Mv Bodri' 4DS kromoszómáján térképezett *RhtD1b* törpeségi allél beépítésének eredménye, mivel az árpában található *sdw1* féltörpeséget kódoló gént a 3H kromoszóma hosszú karjára térképezték Chloupek és mtsai (2006) az általuk vizsgált vonalakban.

A bokrosodási képesség az egyik legfontosabb agronómiai tulajdonsága a gabonanövényeknek, amelyet befolyásolnak a környezeti tényezők (csapadékmennyiség, tápanyagellátás, hőmérséklet stb.) ugyanúgy, mint a genetikai reguláció. A növényenkénti hajtások száma meghatározza a növényenkénti kalászszaámot, amely a szemtermést befolyásolja. A 3HS.3BL/Bodri genotípus jó bokrosodási képessége utalhat olyan 3HS kromoszómakaron lokalizált QTL lokusz introgressziójára amely kapcsolatban van a termékeny hajtások kialakulásával, bár Karsai és mtsai (2006) bokrosodásért felelős QTL lokuszokat a 3HL kromoszómakaron azonosítottak. Buck-Sorlin (2001) kutatásai szerint a szignifikáns QTL lokuszok elhelyezkedése a hét kromoszóma csoporton nem volt egyenlő: a szignifikáns QTL-ek több mint 96 %-a a 3H, 6H és 7H kromoszómákon található. A QTL-ek felhalmozódása a 3H kromoszóma hosszú karján található, a *sca* (short crooked awn) morfológiai marker közelében.

A 2013-2014-es évben a növények természetes sárgarozsda-fertőzése a szántóföldi parcellákon lehetővé tette a *Puccinia striiformis*-szal szembeni fogékonyság vizsgálatát. A 3HS.3BL/Bodri genotípusok alacsonyabb fogékonyságot mutattak, míg minden vizsgált búza genotípus (Mv9kr1, 'Chinese Spring' és 'Mv Bodri') erősebben fertőződött.

A jelen kísérlet azt bizonyítja, hogy egy búza/idegen fajú transzlokáció esetén (3HS.3BL/Bodri) a búza genetikai háttérnek meghatározó szerepe van az agronómiai

tulajdonságok kialakulásában. A 3HS.3BL kompenzáló transzlokáció introgressziója az 'Mv Bodri' modern martonvásári búza genetikai hátterébe kedvező hatással volt a termékeny hajtások kialakításában és a növényenkénti szemszám alakulásában, az eredeti 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 transzlokációval szemben. A centrikus fúzió introgressziója növelte a búzaszülő bokrosodási képességét. A búza/idegen fajú transzlokációk esetében a búza genetikai háttér kicserélődése egy modern, kiemelkedő agronómiai tulajdonságokkal rendelkező búzafajtával egyértelműen növeli az előállított vonalak agronómiai értékét.

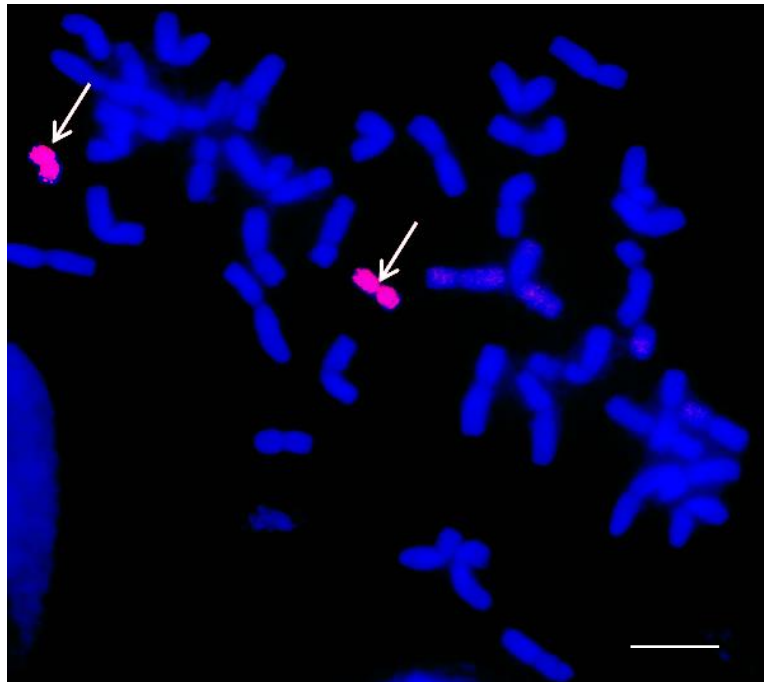
### 4.3. Az Mv9kr1/A. *glael* hibrid búzával keresztezett utódainak vizsgálata

Az Mv9kr1/A. *glael* hibrid termesztett búzával ('Mv Karizma') keresztezett F<sub>3</sub>-F<sub>4</sub> utódait molekuláris citogenetikai vizsgálattal elemeztük, melynek során 42-52 kromoszómaszámú növényeket azonosítottunk (8. táblázat), a növényeket fitotroni növénynevelő kamrákban felneveltük. Vizsgáltuk a genotípusok kromoszómaszámát, illetve ezen belül a búza, a *Thinopyrum*-ból származó és/vagy átrendeződött kromoszómák jelenlétét. A vizsgált növények között változatos kromoszómaszámú és genomösszetételű genotípusokat figyeltünk meg. A búzagenom mellett J és/vagy St genomhoz tartozó kromoszómákat, illetve átrendeződött (transzlokációt hordozó) kromoszómákat is kimutattunk mcGISH technika alkalmazásával. A citológiai vizsgált növényeket minden esetben egyedi azonosítóval, citológiai számmal láttuk el és felneveltük, az aratás után a szemeket génbanki tárolóban helyeztük el. A vonalak egy részét, főleg a gombabetegséggel szemben ellenálló növényeket, tenyészkerti körülmények között felszaporítottuk. A fitotronban 2014 és 2016 között összesen 269, Mv9kr1búzavonallal és 'Mv Karizma' búzafajtával visszakeresztelt F<sub>3</sub>-F<sub>4</sub> utódnövény citogenetikai vizsgálatát végeztük. A mcGISH-sel vizsgált genotípusok kromoszómaszáma csökkent a búzával csak egyszer visszakeresztelt növényekhez képest, többnyire 42 és 48 között volt, közöttük búza-*Agropyron* addíciókat, szubsztitúciókat és transzlokációkat is azonosítottunk (8. táblázat és 30 ábra).

#### 4.3.1. Búza/*Agropyron glael* terminális transzlokációs vonal kiválogatása az 'Mv Karizma' búzafajtával keresztezett növények utódai közül

A CS búzafajtával keresztezett hibrid utódait 2012-2013-ban felszaporítottuk a búzanemesítők lászlópusztai tenyészkertjében és keresztezéseket végeztünk a Mv9kr1/A.

*glael*//CS utódok (mint anyai partner) és az 'Mv Karizma' (mint beporzó) között. Az 'Mv Karizma'-val keresztezett növények pedigéjét a 4. ábrán tüntettük fel. A keresztezéseket gombabetegségekre ellenálló részleges amfiploid növényeken végeztük (84-99 parcellák, 2013., Lászlópuszta tenyészkert). A keresztezésekből származó szemek egy részét 2013 őszén Tükrös tenyészkertünkben elvetettük (222-230 parcellák), majd újabb keresztezéseket hajtottunk végre 2014 májusában (117-2 parcella, 2014, Tükrös tenyészkert). Ezen növények öntermékenyített utódait elemeztük citogenetikai módszerekkel 2015-ben. A növényeket egyedi citológiai azonosítóval láttuk el (153396-153405). A gyökerekből készített mitotikus preparátumok mcGISH analízise 2 növényenél (citológiai szám 153396 és 153404) diszómás búza/*Agropyron glael* terminális transzlokáció jelenlétét mutatta ki. A digoxigeninnel jelölt St genomi DNS próba és a biotinnal jelölt J<sup>b</sup> genomi DNS próba egyidejű alkalmazása során egy pár búzakromoszóma terminális régiójához kapcsolódott *Thinopyrum*-ból származó kromoszóma-szegmentumot mutattunk ki, amely detektálás után piros fluoreszcens jelet adott. A transzlokációs kromoszóma azonosítása céljából búzaspecifikus repetitív próbákat alkalmaztunk (pSc 119.2, Afa family és pTa71) és az átrendeződött kromoszómát 6DL.6DS-?St terminális transzlokációként azonosítottuk. Az F<sub>3</sub> generációban két terminális transzlokációra diszómás növényt azonosítottunk mcGISH alkalmazásával. A növények öntermékenyítésével nyomon követtük a transzlokáció öröklődését, az F<sub>4</sub>-ben 40 vizsgált növényből 19-ben azonosítottuk a transzlokációt homozigóta formában, egy növény heterozigóta volt a transzlokáció tekintetében, hét szem nem csírázott megfelelően, ezekről nem tudtunk gyökeret gyűjteni, a többi növényenél nem volt megfelelő az osztódás és az elkészített preparátumok nem voltak alkalmasak a *Thinopyrum* kromoszómák *in situ* hibridizációval történő kimutatásához.

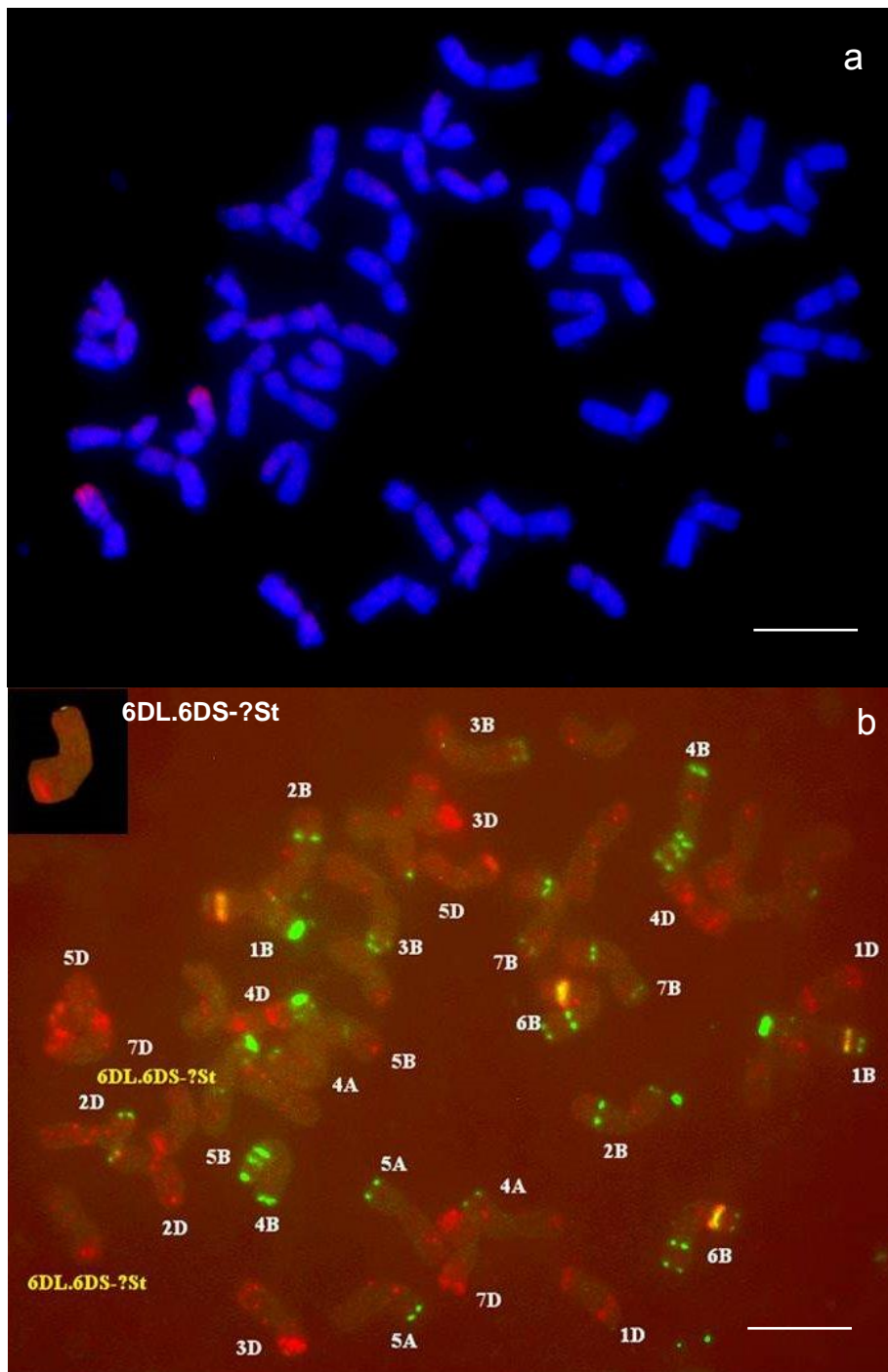


**30. ábra.** Az Mv9kr1/*Agropyron glael*//CS/3/Mv Karizma/4/Mv Karizma kombinációjú genotípus öntermékenyített utódainak GISH elemzése *Pseudoroegneria spicata* digoxigeninnel jelölt genomi DNS próbával. Az St genomhoz tartozó kromoszómák bíborvörös színben világítanak (nyilak). Skála=10 $\mu$ m.

**8. táblázat.** A 2014-2016 között *in situ* hibridizációval levizsgált Mv9kr1/A. *glael* hibrid hexaploid búzával keresztezett különböző utódvonalak kombinációja, citológiai száma, összes kromoszómák száma genotípusonként, búza/*Thinopyrum* transzlokációk előfordulása.

Citológiai szám: az első két számjegye a csíráztatás éve, a többi számjegy a növény sorszáma az adott évben.

Kombináció	Citológiai szám	Vizsgált szemek száma	Összes kromoszómák száma		Búza/ <i>Thinopyrum</i> transzlokáció előfordulása (növényszám)	<i>Th.</i> kromoszómák származása	A <i>Th.</i> kromoszómák száma pontosanem meghatározható (növényszám)
			48-52	<48			
Mv9kr1/A. <i>glael</i> //CS/3/Mv9kr1	151698-151730	33	18	10	21	St genom	5
Mv9kr1/A. <i>glael</i> //CS/3/Mv Karizma/4/Mv Karizma	153356-153421	66	44	22	28	St genom	24
Mv9kr1/A. <i>glael</i> //CS/3/Mv9kr1	153742-153801	60	0	60	14	St genom	1
Mv9kr1/A. <i>glael</i> //CS/3/Mv9kr1	154143-154192	50	0	50	0	J genom	17
Mv9kr1/A. <i>glael</i> //CS/3/Mv Karizma/4/Mv Karizma	161401-161460	60	0	60	32	St genom	24

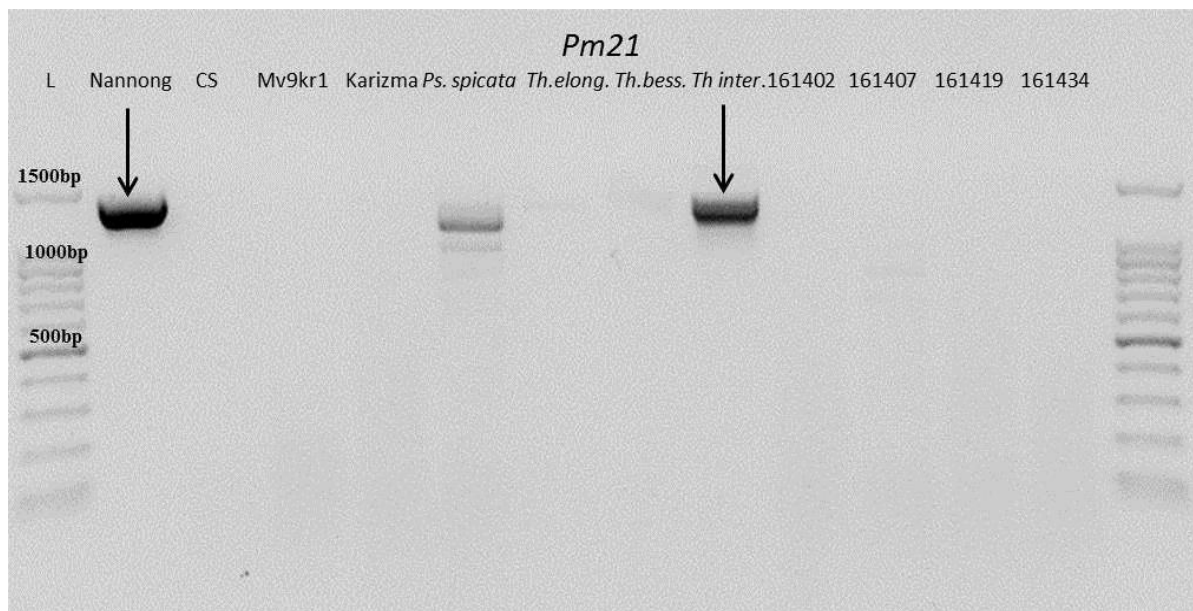


**31. ábra.** Búza/*Agropyron glael* terminális transzlokáció kimutatása GISH-sel (a) *Pseudoroegneria spicata* digoxigeninnel jelölt genomi DNS próba alkalmazásával. Az *St* genomhoz tartozó kromoszóma-szegmentumok bíborvörös színben világítanak. Búza/*Agropyron glael* terminális transzlokáció azonosítása FISH-sel (b) búza specifikus repetitív DNS próbák felhasználásával: pSc119.2 (zöld), Afa family (piros) pTa71 (sárga). A genotípus 42 kromoszómát hordoz (20 pár búza kromoszóma ill. 1 pár 6DL.6DS-?St búza/*Agropyron* transzlokációs kromoszóma). Skála=10 $\mu$ m.

#### 4.3.2. A búza/ tarackbúza terminális transzlokációt (6DL.6DS-?St) hordozó vonalak vizsgálata molekuláris markerekkel

A kontrollként használt genotípusokat Nannong 02Y23 (búza kontroll, *Pm21* forrás), CS, Mv9kr1 és 'Mv Karizma', *Pseudoroegneria spicata* (St), *Th. bessarabicum* (J<sup>b</sup>), *Th. elongatum* (E) és *Th. intermedium* (JJ<sup>s</sup>St), illetve a GISH-sel azonosított terminális transzlokációt hordozó, egyedi citológiai számmal ellátott genotípusokat (161402 és 161407) és búza/*Agropyron* centrikus fúziót hordozó (161419 és 161434 citológiai számú) növényeket molekuláris markerek jelenlétére teszteltük. Kísérleteink során 3 molekuláris marker jelenlétét követtük nyomon: a *Haynaldia villosa* eredetű, *Pm21* lisztharmat-rezisztencia génnel kapcsolt Pm21D és Pm21E primerpárral felszaporított SCAR markert, a *Th. intermedium*-ban azonosított *PmL962* génnel kapcsolt BE443737 kodomináns EST-STS markert, és a *Th. ponticum*-ban leírt *Lr38* markerek jelenlétét.

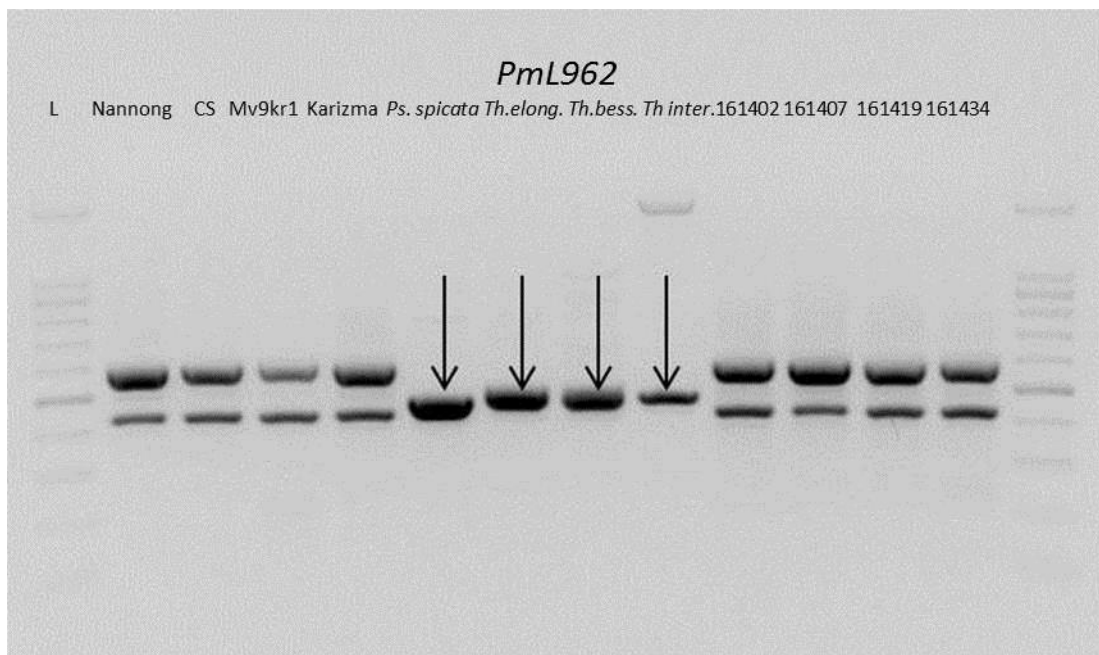
A *Pm21* marker jelenlétének bizonyítására pozitív kontrollként Nannong 02Y23 búzavonalat alkalmaztunk (*Pm21* forrás). A Pm21D és Pm21E primerpár egy 1265bp hosszúságú terméket amplifikált a Nannong02Y23 búzavonalnál, illetve a *Th. intermedium*-nál, arra utalva, hogy ezekben a genotípusokban jelen van a *Pm21* gén, míg a terminális transzlokációt hordozó növények (161402 és 161407) nem tartalmazzák a *Pm21* lisztharmat-rezisztenciagént (32. ábra).



**32. ábra.** Az *Pm21* specifikus SCAR marker agaróz gél-elektroforézis mintázata a következő DNS templátokon: Nannong 02Y23 búzavonal, CS búzafajta, Mv9kr1 búzatörzs, 'Mv Karizma' búzafajta, *Pseudoroegneria spicata* (St), *T. bessarabicum* (J<sup>b</sup>) *Th elongatum* (E), *Th.*

*intermedium* (JJ<sup>s</sup>St), 161402,161407, 161419 és 161434 citológiai számú genotípusok. A *Pm21* allél specifikus termékeket nyilakkal jelöltük. 100 bp-os létrát alkalmaztunk a fragmentek hosszúságának meghatározására.

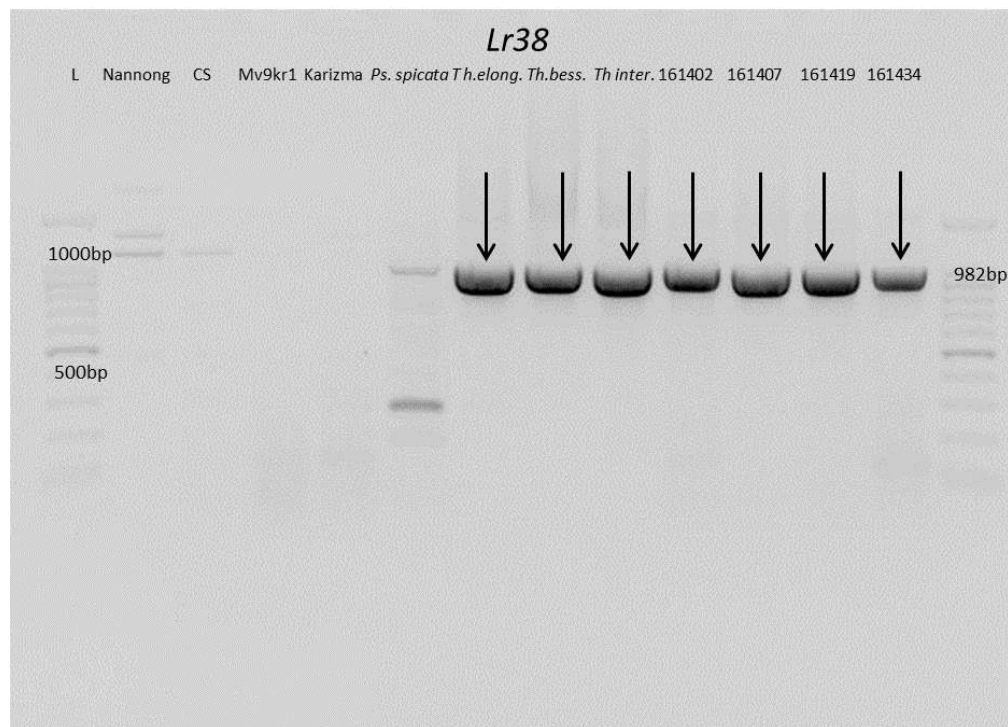
A *PmL962* gén jelenlétét a BE443737 EST-STS marker alkalmazásával követtük nyomon. Ez a génhez legközelebb térképezett kodomináns marker, amely agaróz gélen szétválasztható (Shen és mtsai, 2015). A BE443737F és BE443737R primerpár a várt hosszúságú fragmenteket amplifikálta a *Pseudoroegneria spicata*, *Th. elongatum*, *Th. bessarabicum*, *Th. intermedium* genotípusok esetében, arra utalva hogy ezekben jelen van a *PmL962* liszttharmat-rezisztenciagén. A búza kontroll genotípusokban és az átrendeződött kromoszómákat hordozó növényekben (161402 161407,161419 és 161434 citológia számú növények) *PmL962* specifikus termék nem volt kimutatható. A *PmL962* gén kimutatására végzett molekuláris vizsgálat eredményei a 33. ábrán láthatóak.



**33. ábra.** Az *PmL962* specifikus EST-STS markerek agaróz gél-elektroforézis mintázata a következő DNS templátokon: Nannong 02Y23 búzavonal, CS búzafajta, Mv9kr1 búzatörzs, 'Mv Karizma' búzafajta, *Pseudoroegneria spicata* (St), *Th. elongatum* (E), *Th. bessarabicum* (Jb), *Th. intermedium* (JJ<sup>s</sup>St), 161402,161407, 161419 és 161434 citológiai számú genotípusok. A *PmL962* specifikus termékeket nyilakkal jelöltük. 100 bp-os létrát alkalmaztunk a fragmentek hosszúságának meghatározására.



Az *Lr38* gén kimutatására a génnel kapcsolt Y38SCAR<sub>982</sub> markert használtunk (Yan és mtsai, 2008). Cseh András személyes közlése alapján ez a marker a *Th.bessarabicum* addíciós sorozat (1J<sup>b</sup>-7J<sup>b</sup>) mind a hét tagján azonos meretű J<sup>b</sup> genom specifikus terméket ad. A *Th. intermedium*-ból származó *Lr38* génhez kapcsolt markerre kifejlesztett primerpárok egy 982 bp hosszúságú terméket amplifikáltak mindhárom *Thinopyrum* faj esetében (*Th.bessarabicum*, *Th. elongatum*, *Th.intermedium*) és a búza/*Thinopyrum* transzlokációt hordozó genotípusoknál is (161402, 161407, 161419, 161434), arra utalva, hogy ezekben bent van a J<sup>b</sup> genom eredetű kromoszóma fragmentum. A búza kontroll genotípusoknál és *Pseudoroegneria spicata* DNS minta esetében a gél-elektroforézis során nem kaptunk specifikus terméket (34. ábra).



**34. ábra.** Az *Lr38* specifikus SCAR marker agaróz gél-elektroforézis mintázata a következő DNS templátokon: 'Nannong 02Y23' búzavonal, CS búzafajta, Mv9kr1búzatörzs, 'Mv Karizma' búzafajta, *Pseudoroegneria spicata* (St), *Th.bessarabicum* (J<sup>b</sup>), *Th. elongatum* (E), *Th. intermedium*, (JJ<sup>s</sup>St), 161402,161407, 161419 és 161434 citológiai számú genotípusok. Az *Lr38* specifikus termékeket nyilakkal jelöltük. 100 bp-os létrát alkalmaztunk a fragmentek méretének meghatározására.

#### 4.3.3. A búza/*Agropyron glael* hibrid 'Mv Karizma' búzafajtával keresztezett utódnövényei közül szelektált terminális transzlokációt (6DL.6DS-?St) hordozó vonal jellemzése

A búza harmadlagos génforrásaihoz tartozó *Thinopyrum* fajokból számos betegség rezisztenciagént vittek át a termesztett búzába. Az *Agropyron glael*-t (szintetikus fajhibrid: *T. intermedium* × *Th. ponticum*) kiváló levélrozsdá-rezisztenciájának köszönhetően több mint 15 évvel ezelőtt Dr. Lángné Dr. Molnár Márta egy olyan keresztezési programba vonta be, amelynek célja a betegség-ellenállásnak átvitele a kenyérbúzába. A keresztezésekben anyai partnerként az Mv9kr1 búzatörzset használták, amely recesszív *kr1* keresztezhetőségi allélt hordoz, ezért a keresztezések során ezzel a vonallal az átlagosnál nagyobb mértékű szemkötés érhető el (Molnár-Láng és mtsai, 2010). Az Mv9kr1 búzavonal levélrozsdára fogékony, így az *A. glael*-ből származó rezisztencia-gének sikeres átvitele az utódnövényekben nyomonkövethető. A BC<sub>1</sub> növények előállítására céljából az Mv9kr1 × *Agropyron glael* hibridet CS búzafajtával keresztezték, ebből a keresztezésből két növényt állítottak elő, amelyek közül az egyik steril volt, így minden utódvonal egy anyanövényből származik. A BC<sub>2</sub> növények előállításához beporzóként két genotípust használtak: az MV9kr1 búzavonalat, illetve a martonvásári nemesítésű 'Mv Karizma' járóbúza-fajtát (8. táblázat). A visszakeresztezés célja a *Thinopyrum* fajokból származó kromoszómák számának a csökkentése és olyan introgressziós vonalak előállítása, amelyek az idegen kromatinból származó kisméretű szegmentumot hordoznak. Fontos gyakorlati célkitűzés, hogy csak hasznos agronómiai tulajdonságokat meghatározó gének átvitelére kerüljön sor.

Az 'Mv Karizma'-val történő keresztezésből származó F<sub>3</sub> növények utódai között mcGISH vizsgálattal detektáltunk két, diszómás 6DL.6DS-?St terminális transzlokációt hordozó növényt. Az utódnövények vizsgálata kimutatta, hogy a transzlokáció stabilan öröklődik. Az évelő *Triticeae* fajok genomjai közül a tarackbúzafélék J és E genomja áll a legközelebbi rokonságban a hexaploid búzával (Hsiao és mtsai, 1995; Liu és mtsai, 2007, Linc és mtsai, 2017). A J genom a búza D genomjával mutatja a legnagyobb hasonlóságot (Liu és mtsai, 2007), a búza/*Thinopyrum* introgressziós vonalak gyakrabban hordoznak D, mint A vagy B genomhoz tartozó kromoszómát, ill. kromoszómakart (Qi és mtsai, 2007). Az általunk előállított transzlokációs vonalnál a GISH elemzés során a búza 6D kromoszómájának terminális szegmentumához transzlokálódott *Thinopyrum* kromoszóma szegmentum detektálása során piros fluoreszcens jelet kaptunk, ami utalhat a *Thinopyrum* szegmentum St vagy J<sup>St</sup> eredetére vagy egy St/J<sup>St</sup> transzlokációra. A digoxineninnel jelölt St genom detektálását követően a jelölt próba nem csak az St genomhoz,

hanem a J<sup>st</sup> terminális kromoszóma szegmentumaihoz is hibridizálódik (Kruppa, 2016). Azonban a a *Lr38* génnel kapcsolt Y38SCAR<sub>982</sub> marker kimutatására végzett vizsgálat kizárta a marker jelenlétét a *P. spicata*-ban (St genom), ezért a GISH vizsgálatokon kapott eredmények ellenére (a transzlokációs kromoszóma terminális szakasza piros fluoreszcens jelet adott) valószínűsíthető a transzlokálódott kromoszóma szegmentum J<sup>b</sup> genomi eredete.

Az introgressziók előállításának elsődleges célja különböző betegség-rezisztenciagének átvitele a búzába a rokon vad fajokból. A keresztezéseket követően a növényeket gombabetegségekre felvételeztük, és azoknak a növényeknek az utódait vittük tovább, amelyek a tenyészkerti spontán fertőzésekkel szemben ellenállóak voltak. A terminális transzlokációt hordozó növények levélrozsdára-rezisztens szülőktől származnak, azonban az előállított vonalak levélrozda rezisztenciáját mesterséges fertőzéssel még nem tudtuk bizonyítani. A fitotroni növénynevelő kamrában felszaporított növényeknél egy spontán lisztharmatfertőzést figyeltünk meg. Az *Agropyron*-ból származó kromoszóma szegmentumokat hordozó növények (6DL.6DS-?St) lisztharmattal nem fertőződtek, a búza genotípusok közül erős fertőzőttséget figyeltünk meg a CS fajtánál és az MV9kr1 búzatörzsnél, miközben az 'Mv Karizma' lisztharmattal csak enyhén fertőződött (35. és 36. ábra). A molekuláris markeres vizsgálatok során a *PmL962*, *Pm21* és *Lr38* génekhez kapcsolt különböző markerek jelenlétét követtük nyomon, amit a szülői generáció levélrozda-rezisztenciája és a transzlokációs vonalak spontán lisztharmat-fertőzőttséggel szembeni ellenállóság indokolt.

A szülői genotípusok fertőződése és a transzlokációs vonalak tünetmentessége arra enged következtetni, hogy a lisztharmat ellenállóságot az *Thinopyrum*-ból származó szegmentumon található gén(ek) biztosítja vagy biztosítják. Lisztharmat-rezisztens búza-*Thinopyrum intermedium* transzlokációs vonalat állított elő Zhan és mtsai (2015), amelyben a betegségrezisztenciát az introgresszált 6-os homeológ csoporthoz tartozó *Thinopyrum* kromoszóma-szegmentum biztosítja. Az ellenállóságot csíra- és felnőtt növény korban mesterséges fertőzéssel ellenőrizték. Az általunk előállított A 6DL.6DS-?St terminális transzlokációt hordozó vonalagnál, a tesztelt markerek nem igazolták az ismert *Pm21* vagy *PmL962* lisztharmat-rezisztenciagének jelenlétét. A spontán fertőzéssel szembeni ellenállóság molekuláris hátterének további vizsgálata szükséges, illetve indokolt mesterséges lisztharmat fertőzéssel megerősíteni az eredményeket. A rezisztenciát biztosító gén(ek) azonosítására további molekuláris és genomikai vizsgálatok indokoltak.



**35. ábra.** Fitotroni növénynevelő kamrában nevelt búza kontroll genotípusok, balról jobbra: CS, Mv9kr1 búzatörzs, 'Mv Karizma' és Mv 'Karizma'-val keresztezett (Mv9kr1/A. *glael*//CS/3/Mv Karizma/4/Mv Karizma) utódvonalak (utolsó kettő), (2016. október, Martonvásár, fotó: Tóth Fanni).

A *Thinopyrum intermedium* eredetű *Lr38* génhez kapcsolt SCAR marker jelenlétét gélelektroforézissel mutattuk ki a vizsgálatba vont *Thinopyrum* fajoknál (*Th. bessarabicum*, *Th. elongatum*, *Th. intermedium*) és az előállított búza/*Thinopyrum* transzlokációs vonalaknál (161402, 161407, 161419 és 161434 citológiai számú növényeknél). Cseh András személyes közlése alapján az *Lr38* génhez kapcsolt vizsgált marker *Th. bessarabicum* teloméra specifikus marker, amely kimutatható minden búza/*Th. bessarabicum* addíciónál, illetve néhány teloszómás addíciónál. Az *Lr38* jelenléte a transzlokációs vonalaknál bizonyítja, hogy ezekben a vonalakban a *Thinopyrum* kromoszóma szegmentum teloméra eredetű.

A terminális transzlokáció stabilan öröklődik az utódnemzedékbe és, amennyiben mesterséges fertőzéssel és molekuláris vizsgálatokkal megerősítjük a vonalak levélrozsdá- és lisztharmat-rezisztenciáját, akkor az előállított növényi anyag potenciális alapanyagként szolgálhat a búzanemesítés számára. A búza szülői genotípusok gombabetegségekkel szembeni fogékonysága egyértelműen bizonyítja a lisztharmat-ellenállóság *Thinopyrum*-ból történő átvitelét. A transzlokáció további előnye, hogy csak kisméretű idegen fajú kromoszóma-szegmentumot hordoz. A 6D búza kromoszóma töréspontjának meghatározására szükségeszerű 6DS kromoszóma-specifikus molekuláris markerek keresése és/vagy fejlesztése. A vonalak fitotroni és szántóföldi felszaporítása után további agronómiai és minőségi vizsgálatokat is tervezünk.



**36. ábra.** Fitotroni növénynevelő kamrában nevelt búza kontroll genotípusok (balról jobbra: 'Chinese Spring', Mv9kr1 búzatörzs - felül, 'Mv Karizma' és 'Mv Karizmá'-val keresztezett (Mv9kr1/A. *glael*//CS/3/ Mv Karizma/4/Mv Karizma)-alul, F<sub>4</sub> utódvonal spontán lisztharmat-fertőzöttsége (2016. október, Matonvásár, fotó: Tóth Fanni)



**37. ábra.** 'Mv Karizmá'-val keresztezett (Mv9kr1/A. *glael*//CS/3/ Mv Karizma/4/Mv Karizma kombinációjú) búza/tarackbúza terminális transzlokációt hordozó F<sub>5</sub> növény kalásza (2017. június, Tükrös tenyészkert, Martonvásár).

#### 4.5. Új tudományos eredmények

1. Az 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa addíciós vonalakból előállítottunk egy diteloszómás addíciós sorozatot, amely a következő árpa kromoszómakarokat tartalmazza: 2HS, 2HL, 3HS, 3HL, 4HS, 4HL, 6HS, 6HL, 7HS, 7HL.
2. Megfigyeltük, hogy a diteloszómás és diszómás vonalak közül a 7HL kromoszómakart hordozó vonal virágzik a legkorábban, míg a 6HS, 6HL és 6H kromoszómát vagy kromoszómakarokat tartalmazó vonalak a legkésőbb.
3. Csírázási kísérletekkel végzett sőtűrésési kísérletekben bebizonyítottuk a 7HL diteloszóma jobb sőtűrését a búza szülői genotípusoknál.
4. A 3HS.3BL spontán transzlokáció 'Mv Bodri' búzafajtával történő keresztezésével új genetikai variabilitást hoztunk létre, és így javítottuk a transzlokációs vonal agronómiai tulajdonságait a kiindulási vonalhoz képest. A növények közül olyan vonalakat szelektáltunk, amelyek egyidejűleg hordozzák az 'Mv Bodri' féltörpe fajtából származó *RhtD1b* törpeségi allélt és a 3HS.3BL centrikus fúziót, az agronómiai tulajdonságok szempontjából pedig jobb paramétereket mutatnak az eredeti transzlokációs vonalhoz képest.
5. Az Mv9kr1/*A.glael* hibrid termesztett búzával történő visszakeresztezésével csökkentettük a *Thinopyrum*-ból származó kromatin mennyiségét. Az Mv9kr1/*A.glael* hibrid búzával többször visszakeresztett, 269 citológiai vizsgált utódai közül addíciókat, szubsztitúciókat és transzlokációs vonalakat szelektáltunk, közülük egy 42 kromoszómás terminális transzlokációt, amelyet 6DL.6DS-?St terminális transzlokációként azonosítottunk.
6. A 6DL.6DS-?St terminális transzlokáció molekuláris markeres vizsgálata során kimutattuk a *Lr38* génhez kapcsolt Y38SCAR<sub>982</sub> marker jelenlétét, és bizonyítottuk a transzlokálódott *Thinopyrum* kromoszóma szegmentum teloméra eredetét.

## 5. Következtetések és javaslatok

### Búza/árpa diteloszómás addíciós vonalak

A búza árpa diteloszómás addíciós vonalak fenntartása - aneuploidok lévén - állandó citogenetikai vizsgálatot igényel. Az árpa kromoszóma-szegmentumok hozzáadása a búza genomhoz lehetővé teszi egyes kromoszómakarokon lokalizált gének térképezését és funkciójuk meghatározását. Az ellenőrzött vonalak felhasználhatók további molekuláris biológiai és genomikai vizsgálatokra. A diteloszómás addíciós vonalak átmenetet képeznek a stabil, euploid 42 kromoszómával rendelkező transzlokációs vonalak előállításához, és ezek hatékonyan alkalmazhatók az előnemesítési programokban. Elsődleges cél a kompenzáló típusú transzlokációk előállítása, amelyeknél egy homeológ idegen fajú kromoszóma-szegmentum kompenzálja a búza kromoszóma-szegmentumot. Az előállított genetikai anyagok a búzanemesítésben felhasználhatók.

### 3HS.3BL/Bodri búza/árpa transzlokációs vonalak

A búza × árpa keresztezések során rokon fajokkal jól keresztezhető búza genotípusokat alkalmazunk a keresztezés hatékonyságának növelése céljából. Az árpával jól keresztezhető búzafajták agronómiai tulajdonságai nem érik el a legjobb, modern búzafajtáékét. Kísérleti eredményeink azt igazolják, hogy a búza/idegen fajú transzlokációk agronómiai tulajdonságait jelentősen befolyásolja az introgressziós vonal búza genetikai háttere. Az introgressziós vonalakban a búza genom kicserélése egy jó termőképességű, betegségekkel szemben rezisztens modern fajtával nagymértékben javítja a genotípus agronómiai paramétereit. A 3HS árpa kromoszómakar jelenléte jobb bokrosodási képességet és ez által nagyobb növényenkénti szemszámot eredményez. Célszerű lenne a jövőben az előállított genotípusok minőségvizsgálata, mivel bizonyos létfontosságú aminosavak (pl. lizin) az árpában nagyobb arányban fordulnak elő. Többszörös visszakeresztezés, szelekció és felszaporítás után a vonalak felhasználhatók a nemesítési programokban.



## Búza/*Agropyron glael* introgressziós vonalak

A búza és az *Agropyron glael* (*Th. intermedium* × *Th. ponticum*) szintetikus fajhibrid ivaros keresztezésével a tarackbúzából származó betegség-rezisztenciagének introgressziója válik lehetővé a termesztett búzába. A Martonvásáron előállított hibrid öntermékenyített és búzával keresztezett utódnövényeinek fenntartása tenyészkertünkben történt a növények ellenállóságának nyomkövetésével. A rezisztens növények utódainak genotípusát citogenetikai vizsgálatokkal azonosítottuk (mcGISH, FISH), közülük addíciós, szubsztitúciós és transzlokációs vonalakat válogattunk ki. A *Thinopyrum* kromoszóma-szegmentumot hordozó vonalat GISH-sel 6DL.6DS-?St transzlokációként azonosítottuk. A transzlokáció pontos elemzésére további citogenetikai, molekuláris és genomikai vizsgálatok szükségesek. A 6D kromoszóma töréspontjának meghatározása céljából indokolt 6DS kromoszóma karspecifikus markerek keresése, tervezése. A transzlokációs vonal levélrozda-rezisztens szülőtől származik, ezért tenyészkerti spontán fertőzés felvételezése, illetve a vonal mesterséges levélrozda fertőzése javasolt. A rezisztencia jelenléte esetén molekuláris vizsgálatokkal meghatározható az ellenállóság molekuláris háttere. A fitotroni kísérletek során a kontroll növények fertőzöttsége és a transzlokációs vonalak rezisztenciája felveti a lisztharmat-ellenállóság vizsgálatát az előállított introgressziós vonalakban. Az elvégzett molekuláris vizsgálatok kizárták a *Pm21* és *PmL962* rezisztenciagének jelenlétét a genotípusokban. Célszerű lenne a növényeket mesterségesen fertőzni lisztharmattal és a rezisztencia molekuláris hátterének azonosítása. A többszöri Mv 'Karizmá'-val történő visszakeresztezéssel a búza genetikai háttér egységesebb lenne. A tarackbúza fajok kiemelkedő abiotikus stresszrezisztenciája indokolja az introgressziós vonalak szárazságtűrésének, sótűrésének vizsgálatát. A tarackbúzafélék genetikai diverzitásának kiaknázása céljából hasznos lenne más *Thinopyrum* fajok begyűjtése, génbanki tárolása és keresztezési programokba történő hasznosítása.

## 6. Összefoglalás

Napjaink gabonanemesítésének egyik fő feladata a termésbiztonság növelése. Az élelmiszertermelést és termésbiztonságot nagymértékben befolyásolja a biodiverzitás megőrzése és a génforrások előrelátó felhasználása. A gabonafélék és vad rokon fajaik magukban foglalják azt a genetikai variabilitást, amely alapanyagként szolgál új fajták nemesítéséhez klasszikus és biotechnológiai módszerek alkalmazásával. A modern búzafajták kiváló termőképességűek, az újabb nemesítési programok főleg a jobb beltartalmi minőségű (élelmi rostok, létfontosságú aminosavak), kiemelkedő betegségellenállóságú és jobb alkalmazkodóképességű fajták nemesítését helyezik előtérbe. PhD kutatásom célja olyan búza/idegen fajú addíciós és introgressziós vonalak előállítása volt, melyek a búzával rokon termesztett és vad fajokból származó kromoszómákat, szegmentumokat tartalmaznak és agronómiailag kiemelkedő tulajdonságokkal rendelkeznek. Ezek a vonalak felhasználhatók mind az alap kutatásban (idegen fajból származó gének térképezése és expressziójuk tanulmányozása a búza genetikai hátterében, genetikai és evolúciós vizsgálatok), mind pedig a növény nemesítésben (hasznos gének introgressziója a recipiens fajokba).

Az 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diteloszómás addíciós vonalak előállítása során az egyes árpa kromoszómakarok jelenlétét GISH-sel mutattuk ki, majd pontos azonosításukra SSR és STS markeres vizsgálatokat végeztünk. A vonalak felszaporítása után vizsgáltuk az egyes árpa kromoszómakarok jelenlétének hatását a genotípusok agronómiailag fontos tulajdonságaira. Az őszi árpa az őszi búzánál általában egy héttel korábban aratható, ami a korai aszályos időszakban kedvezőbb szemfejlődést eredményezhet. A diteloszómás vonalak közül a 7HL kromoszómakart hordozó genotípus hamarabb virágzik a búza kontrollnál, míg a 6H kromoszómát vagy egyik 6H kromoszómakart hordozó vonalak legkésőbbben virágznak. A diteloszómás sorozat sóstressz vizsgálata kimutatta, hogy a 7HL addíció magasabb sóstressz toleranciát mutatott mind csíranövény korban, mind korai fejlődési szakaszban, mint a búzaszülők ('Asakaze' és CS). A diszómás és diteloszómás addíciós vonalak felhasználhatók búza/idegen fajú transzlokációs vonalak előállítására, amelyek az addícióknál sokkal stabilabbak.

A 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 Robertsoni transzlokációs vonal agronómiai tulajdonságainak javítása céljából a vonalat kereszteztük az 'Mv Bodri' búzafajtaival. A 3HS.3BL transzlokáció introgressziója egy modern, jó termőképességű fajta szignifikánsan csökkentette a növények magasságát, ami az *RhtD1b* 'Mv Bodri'-ből származó törpeséget okozó allél beépítésének köszönhető. A 3HS.3BL transzlokáció jelenléte az előállított genotípusokban javította a

növények bokrosodási képességét és a növényenkénti szemszámot tenyészkeretben több éven keresztül végzett kísérleteink során.

Az Mv9kr1/A. *glael* hibrid búzával többször keresztezett és öntermékenyített utódnemzedékeiből tenyészkereti kísérletek során levélrozsda-rezisztens vonalakat szelektáltunk. Az *Thinopyrum* kromoszómák számának csökkentése céljából keresztezéseket végeztünk Mv9kr1 búzatörzsszel és 'Mv Karizma' búzafajtával, majd az utódokat molekuláris citogenetikai módszerekkel vizsgáltuk. A mcGISH alkalmazásával különböző búza/*Thinopyrum* addíciós, szubsztitúciós vagy addíciós vonalat azonosítottunk. A vizsgált vonalak kromoszómaszáma 42 és 52 között volt. Az F<sub>3</sub> nemzedékből szelektáltunk egy búza/*Thinopyrum* terminális transzlokációt hordozó genotípust. Búza specifikus repetitív DNS próbákkal (pSc 119,2, Afa family és pTa71) végzett FISH vizsgálattal a terminális transzlokációt 6DL.6DS-?St transzlokációként azonosítottuk. A transzlokációs vonalban kimutattuk a *Thinopyrum* -ból származó teloméra specifikus *Lr38* marker jelenlétét. A vonal levélrozsda-rezisztenciájának megerősítésére szükséges a növények mesterséges levélrozsda fertőzése. A genotípusok spontán liszharmat-fertőzéssel szembeni ellenállósága indokolta a liszharmat-rezisztencia molekuláris hátterének elemzését. A két vizsgált liszharmat-rezisztencia gén (*Pm21* és *PmL962*) jelenlétét markeres vizsgálatokkal kizártuk. A búza kontroll genotípusok fogékonysága *Thinopyrum* eredetű liszharmat-rezisztenciára utal, amelynek bizonyítására további molekuláris és genomikai vizsgálatok szükségesek. Kísérleti eredményeink egyértelműen bizonyítják, hogy az Mv9kr1/A. *glael* hibridből származó genetikai anyagok értékes alapanyagként szolgálnak a rezisztencianemesítés számára.

## 7. Summary

One of the main challenge of current crop breeding is to improve yield stability. Along with food production it is highly influenced by the conservation of biodiversity and responsible use of genetic resources. The crop plants and their wild relatives comprise the genetic variability that can be used as raw material for breeding new cultivars through classical and biotechnological methods. The modern wheat cultivars have excellent yield potential, and the new breeding programs put emphasis on breeding cultivars with better nutritional components (e.g. dietary fibres, essential amino acids), high resistance against diseases and better capacity of adaptation. The aim of my PhD work was to develop wheat/alien introgression lines that possess better agronomic traits originated from cultivated and wild relatives of wheat. These lines can be used for basic research (mapping and studying the expression of genes originated from alien species in the wheat genetic background, evolutionary studies) and for plant breeding (transfer of useful genes into the recipient species).

During the development of 'Asakaze'/'Manasz' wheat/barley ditelosomic addition lines the presence of the barley chromosome arm was detected by GISH, and then they were precisely identified with SSR and STS markers. After propagating the lines the effect of the barley chromosome arms on each genotype was analysed. The winter barley usually can be harvested a week earlier than the winter wheat, which can provide a better seed development. Among the ditelosomic addition lines the genotype carrying the 7HL chromosome arm flowered earlier than the control wheat genotypes, while the lines containing the 6H chromosome or one of its arms flowered the latest. Salt stress analysis of the ditelosomic addition lines showed higher salt stress tolerance at 7HL line than at the wheat parents (CS and 'Asakaze') both at seedling and at early developmental stages. The disomic and ditelosomic addition lines can be used for developing wheat/alien translocation lines, which are more stable than the additions.

For improving the agronomic traits of the 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 Robertsonian translocation line, a cross of it was achieved with 'Mv Bodri' wheat cultivar. The introgression of the 3HS.3BL translocation into the modern wheat cultivar 'Mv Bodri' significantly reduced the plant height due to the incorporation of the dwarfing allele *RhtD1b* originated from 'Mv Bodri'. The presence of the 3HS.3BL translocation in the Mv9kr1 and 'MvBodri' wheat background improved tillering and seeds/plant productivity in field experiments carried out during several years in the Martonvásár nursery.

Lines resistant to leaf rust were selected in nursery experiments from backcrossed, self-fertilised progeny generations of the Mv9kr1/A. *glael* hybrid. For decreasing the number of chromosomes originated from *Thinopyrum* more backcrosses were carried out with Mv9kr1

wheat line and 'Mv Karizma' wheat cultivar, then the progenies were analysed with molecular cytogenetic methods. Different wheat/*Thinopyrum* addition, substitution and introgression lines were identified using mcGISH technique. The lines analysed carried between 42 and 52 chromosomes. A wheat/*Thinopyrum* terminal translocation line was selected from the BC<sub>3</sub> generation. The introgressed chromosome segment is derived from *Thinopyrum*. The terminal translocation was identified as a 6DL.6DS-?St translocation using FISH with wheat specific DNA repetitive probes (pSc119,2, Afa family and pTa71). The *Lr38* telomere-specific marker originated from *Thinopyrum* was detected in the translocation line. Artificial inoculation of these lines with leaf rust is necessary in order to confirm the leaf rust resistance of the translocation line. The powdery mildew resistance of the translocation line observed against a spontaneous infection explained the molecular background analysis of powdery mildew resistance of these genotypes. The presence of the two powdery mildew resistance genes analysed with molecular markers (*Pm21* and *PmL962*) was excluded. The sensibility of the wheat control genotypes definitely indicates a resistance originated from *Thinopyrum*. The results of our experiments unequivocally confirm that the genetic material originated from the Mv9kr1/A. *glael* hybrid serves as an estimable genepool for resistance breeding.

## 8. Mellékletek

### M1.

#### IRODALOMJEGYZÉK

- AGARWAL, M., SHRIVASTAVA, N., PADH, H. (2008): Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Reports* 27 (4): 617–631.
- 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. *Annals of Botany* 101 (6): 863–872.
- ARMSTRONG, J.M. (1936): Hybridization of *Triticum* and *Agropyron*: I. Crossing results and description of the first generation hybrids. *Canadian Journal of Research* 14c (5): 190–202.
- ASHIDA, T., NASUDA, S., SATO, K., ENDO, T.R. (2007): Dissection of barley chromosome 5H in common wheat. *Genes & Genetic Systems* 82 (2): 123–133.
- BAI, G., SHANER, G. (2004): Management and resistance in wheat and barley to fusarium head blight. *Annual Review of Phytopathology* 42: 135–161.
- BANKS, P.M., LARKIN, P.J., BARIANA, H.S., LAGUDAH, E.S., APPELS, R., WATERHOUSE, P.M., BRETTELL, R.I., 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 (2): 395–405.
- BARTOŠ, J., PAUX, E., KOFLER, R., HAVRÁNKOVÁ, M., KOPECKÝ, D., SUCHÁNKOVÁ, P., ŠAFÁŘ, J., ŠIMKOVÁ, H., TOWN, C.D., LELLEY, T., FEUILLET, C., DOLEŽEL, J. (2008): A first survey of the rye (*Secale cereale*) genome composition through BAC end sequencing of the short arm of chromosome 1R. *BMC Plant Biology* 8 (1): 95.
- BAYLISS, M.W. (1980): Chromosomal variation in plant tissues in culture. 5. *International Review of Cytology* (11A): 113–144.
- BEAUDRY, J.R. (1951): Seed development following the mating *Elymus virginicus* L. x *Agropyron repens* (L.) Beauv. *Genetics* 36 (2): 109–133.
- BEDBROOK, J.R., JONES, J., O'DELL, M., THOMPSON, R.D., FLAVELL, R.B. (1980): A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species. *Cell* 19 (2): 545–560.
- BELEA, A. (1964): Néhány *Triticum* L. fajhibrid genetikai elemzése és nemesítési értékelése. Kandidátusi értekezés. MTA Tudományos Minősítő Bizottság.
- BELEA, A. (1986): Faj- és nemzetségkeresztezések a növényvilágban. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest 235 pp.

- BELOSTOTSKY, D.A., ANANIEV, E.V. (1990): Characterization of relic DNA from barley genome. *Theoretical and Applied Genetics* 80 (3): 374–380.
- BENTHAM, G. (1882): Notes on *Gramineae*. *Journal of the Linnean Society of London, Botany* 19 (115–116): 14–134.
- BLAKE, T.K., KADYRZHANOVA, D., SHEPHERD, K.W., ISLAM, A.K., LANGRIDGE, P.L., MCDONALD, C.L., ERPELDING, J., LARSON, S., BLAKE, N.K., TALBERT, L.E. (1996): STS-PCR markers appropriate for wheat-barley introgression. *Theoretical and Applied Genetics* 93 (5–6): 826–832.
- BLAKESLEE, A.F., AVERY, A.G. (1937): Methods of inducing doubling chromosomes in plants by treatment with colchicine. *Journal of Heredity* 28 (12): 393–411.
- BORLAUGE, N.E. (1968): Wheat breeding and its impact on world food supply. In: *Proceedings of the 3rd International Wheat Genetics Symposium*,. 5–15. Scientific Research Publish. Canberra.
- BOYD, W.J.R., LI, C.D., GRIME, C.R., CAKIR, M., POTIPIBOOL, S., KAVEETA, L., MEN, S., KAMALI, M.R.J., BARR, A.R., MOODY, D.B., LANCE, R.C.M., LOGUE, S.J., RAMAN, H., READ, B.J. (2003): Conventional and molecular genetic analysis of factors contributing to variation in the timing of heading among spring barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes grown over a mild winter growing season. *Crop and Pasture Science* 54 (12): 1277–1301.
- BRAMMER, S.P., POERSCH, L.B., de OLIVEIRA, A.R., VASCONCELOS, S., BRASILEIRO-VIDAL, A.C. (2009): Hibridização genômica in situ em *Triticeae*: um enfoque metodológico. *Embrapa Trigo. Comunicado técnico online*.
- BUCK-SORLIN, G.H. (2002): The search for QTL in barley (*Hordeum vulgare* L.) using a new mapping population. *Cellular & Molecular Biology Letters* 7 (2A): 523–535.
- 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 Physiology* 146 (4): 1821–1833.
- CAI, X., CHEN, P.D., XU, S.S., OLIVER, R.E., CHEN, X. (2005): Utilization of alien genes to enhance fusarium head blight resistance in wheat – A review. *Euphytica* 142 (3): 309–318.
- 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. *Theoretical and Applied Genetics* 126 (4): 949–961.
- CASPERSSON, T., FARBER, S., FOLEY, G.E., KUDYNOWSKI, J., MODEST, E.J., SIMONSSON, E., WAGH, U., ZECH, L. (1968): Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Experimental Cell Research* 49 (1): 219–222.
- 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 (1): 87–97.
- CEOLONI, C., KUZMANOVIC, L., FORTE, P., VIRILI, M.E., BITTI, A. (2015): Wheat-perennial *Triticeae* introgressions: Major achievements and prospects. In: *Alien Introgression in Wheat*. M. Molnár-Láng, C. Ceoloni, and J. Doležel (eds.): 273–313. Springer International Publishing.

- CEOLONI, C., KUZMANOVIĆ, 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. In: *Genomics of Plant Genetic Resources*. R. Tuberosa, A. Graner, and E. Frison (eds.): 333–358. Springer Netherlands.
- CHANG, S.B., de JONG, H. (2005): Production of alien chromosome additions and their utility in plant genetics. *Cytogenetic and Genome Research* 109 (1–3): 335–343.
- CHANG, K.D., FANG, S.A., CHANG, F.C., CHUNG, M.C. (2010a): Chromosomal conservation and sequence diversity of ribosomal RNA genes of two distant *Oryza* species. *Genomics* 96 (3): 181–190.
- CHANG, Z.J., ZHANG, X.J., YANG, Z.J., ZHAN, H.X., LI, X., LIU, C., ZHANG, C.Z. (2010b): Characterization of a partial wheat-*Thinopyrum intermedium* amphiploid and its reaction to fungal diseases of wheat. *Hereditas* 147 (6): 304–312.
- CHAPMAN, V., MILLER, T.E., RILEY, R. (1976): Equivalence of the A genome of bread wheat and that of *Triticum urartu*. *Genetics Research* 27 (1): 69–76.
- CHELKOWSKI, J., STEPHEN, L. (2001): Molecular markers for leaf rust resistance genes in wheat. *Journal of Applied Genetics* 42 (2): 117–126.
- CHEN, X., DU, C.H., ZHANG, W.X., YIN, F.Y., XU, H.J. (1984): The barley x wheat crosses and their offspring plants. *Acta Agronomica Sinica* 10: 65–71.
- CHEN, S., XIA, G., QUAN, T., XIANG, F., JIN, Y., CHEN, H. (2004): Introgression of salt-tolerance from somatic hybrids between common wheat and *Thinopyrum ponticum*. *Plant Science* 167 (4): 773–779.
- CHLOUPEK, O., FORSTER, B.P., THOMAS, W.T.B. (2006): The effect of semi-dwarf genes on root system size in field-grown barley. *Theoretical and Applied Genetics* 112 (5): 779–786.
- CICIN, N.V. (1979): Цитогенетические исследования виды пырея и пшенично-пырейных гибридов (A búzafajok és interspecifikus hibridjeik citogenetikai tanulmányozása). In: *Проблемы отдаленной гибридизации (A távoli hibridizáció problémái)*. N. V. Cicin (ed.): 48–53. Наука. Москва.
- CLAUSS, E. (1980): Trigenic hybrids between barley, wheat and rye. *Cereal Research Communications* 8 (2): 341–347.
- COCKRAM, J., JONES, H., LEIGH, F.J., O’SULLIVAN, D., POWELL, W., LAURIE, D.A., GREENLAND, A.J. (2007): Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication, and sustainable productivity. *Journal of Experimental Botany* 58 (6): 1231–1244.
- COLMER, T.D., FLOWERS, T.J., MUNNS, R. (2006): Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany* 57 (5): 1059–1078.
- CSEH, A., KRUPPA, K., MOLNÁR, I., 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  $\beta$ -glucan content of wheat. *Genome* 54 (10): 795–804.



- CSEH, A., TÜRKÖSI, E., KING, J., KING, I., MOLNÁR-LÁNG, M. (2015): Development of new winter wheat-winter barley 7BS.7HL Robertsonian translocation line. In: 30. London, United, Plant Genomics Congress; 2015. pp. 30. Available online at <http://www.globalengage.co.uk/ngs/posters15.pdf>.
- DARKO, E., BARNABÁS, B., MOLNÁR-LÁNG, M. (2012): Characterization of newly developed wheat/barley introgression lines in respect of aluminium tolerance. *American Journal of Plant Science* 3:1462–9.
- DARKO, E., JANDA, T., MAJLÁTH, I., SZOPKÓ, D., DULAI, S., MOLNÁR, I., TÜRKÖSI, E., MOLNÁR-LÁNG, M. (2015): Salt stress response of wheat–barley addition lines carrying chromosomes from the winter barley “Manas.” *Euphytica* 3(203): 491–504.
- DENNIS, E., GERLACH, W., PEACOCK, W. (1980): Identical polypyrimidine-polypurine satellite DNAs in wheat and barley. *Heredity* 44 (3): 349–366.
- De VIENNE, D., SANTONI, S., FALQUE, M. (2003): Principal sources of molecular markers. In: *Molecular markers in plant genetics and biotechnology*. D. deVienne (ed.): 3–46. Science Publishers, INC. Versailles, France.
- DEWEY, D.R. (1984): The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial Triticeae. In: *Gene Manipulation in Plant Improvement*. Stadler Genetics Symposia Series. J. P. Gustafson (ed.): 209–279. Springer US.
- DONINI, P., STEPHENSON, P., BRYAN, G.J., KOEBNER, R.M.D. (1998): The potential of microsatellites for high throughput genetic diversity assessment in wheat and barley. *Genetic Resources and Crop Evolution* 45 (5): 415–421.
- DUDITS D. (2012): Genomikát és fenomikát integráló növénynevelés a termelésbiztonságért. *Magyar Tudomány* (173. évf. (2012.) 8. sz.): 913–922.
- DULAI, S., MOLNÁR, I., HALÓ, B., MOLNÁR-LÁNG, M. (2010): Photosynthesis in the 7H Asakaze komugi/Manas wheat/barley addition line during salt stress. *Acta Agronomica Hungarica* 58 (4): 367–376.
- DVOŘÁK, J., KNOTT, D.R. (1974): Disomic and ditelosomic additions of diploid *Agropyron elongatum* chromosomes to *Triticum aestivum*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 16 (2): 399–417.
- DVOŘÁK, J., EDGE, M., ROSS, K. (1988): On the evolution of the adaptation of *Lophopyrum elongatum* to growth in saline environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85 (11): 3805–3809.
- DVOŘÁK, J., ZHANG, H.B. (1990): Variation in repeated nucleotide sequences sheds light on the phylogeny of the wheat B and G genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87 (24): 9640–9644.
- ELLIS, H., SPIELMEYER, W., GALE, R., REBETZKE, J., RICHARDS, A. (2002): “Perfect” markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* dwarfing genes in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 105 (6–7): 1038–1042.
- ELLIS, M.H., REBETZKE, G.J., CHANDLER, P., BONNETT, D., SPIELMEYER, W., RICHARDS, R.A. (2004): The effect of different height reducing genes on the early growth of wheat. *Functional Plant Biology* 31 (6): 583–589.

- ENDO, T.R. (2007): The gametocidal chromosome as a tool for chromosome manipulation in wheat. *Chromosome Research* 15 (1): 67–75.
- ENDO, T.R. (2009): Cytological dissection of barley genome by the gametocidal system. *Breeding Science* 59 (5): 481–486.
- FACCIOLI, P., TERZI, V., MONETTI, A., NICOLA, J., PECCHIONI, N. (1995): B-hordein STS markers for barley genotype identification: comparison with RFLPs, hordein A-PAGE and morphophysiological traits. *Seed Science and Technology* 23 (2): 415–427.
- FALK, D.E., KASHA, K.J. (1983): Genetic studies of the crossability of hexaploid wheat with rye and *Hordeum bulbosum*. *Theoretical and applied genetics*. 64 (4): 303–307.
- FARKAS, A., MOLNÁR, I., DULAI, S., RAPI, S., OLDAL, V., CSEH, A., KRUPPA, K., MOLNÁR-LÁNG, M. (2014): Increased micronutrient content (Zn, Mn) in the 3Mb(4B) wheat – *Aegilops biuncialis* substitution and 3Mb.4BS translocation identified by GISH and FISH. *Genome* 57 (2): 61–67.
- FARRER, W. (1904): Some notes on the wheat “Bobs”; its peculiarities, economic value, and origin. *Agric Gaz NSW* 15: 849–854.
- FEDAK, G. (1980): Production, morphology and meiosis of reciprocal barley-wheat hybrids. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 22 (1): 117–123.
- FEDAK, G., JUI P.Y. (1982) Chromosomes of Chinese Spring wheat carrying genes for crossability with Betzes barley. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 24:227-233.
- FELDMAN, M., LIU, B., SEGAL, G., ABBO, S., LEVY, A.A., VEGA, J.M. (1997): Rapid elimination of low-copy DNA sequences in polyploid wheat: a possible mechanism for differentiation of homoeologous chromosomes. *Genetics* 147 (3): 1381–1387.
- FELDMAN, M. (2001): Origin of cultivated wheat. In: *The World Wheat Book, a History of Wheat Breeding*. A. P. Bonjean and W. J. Angus (eds.): Lavoisier Publishing. Paris.
- FELDMAN, M., LEVY, A.A. (2005): Allopolyploidy-a shaping force in the evolution of wheat genomes. *Cytogenetic and Genome Research* 109 (1–3): 250–258.
- FERNÁNDEZ-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 (8): 554–558.
- FLAVELL, R.B., RIMPAU, J., SMITH, D.B. (1977): Repeated sequence DNA relationships in four cereal genomes. *Chromosoma* 63 (3): 205–222.
- FORSTER, B.P., MILLER, T.E., LAW, C.N. (1988): Salt tolerance of two wheat-*Agropyron junceum* disomic addition lines. *Genome* 30 (4): 559–564.
- FRIEBE, B., GILL, B.S. (1996): Chromosome banding and genome analysis in diploid and cultivated polyploid wheats. In: *Methods of genome analysis in plants*. P. P. Jauhar (ed.): 39–60. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- FRIEBE, B., JIANG, J., RAUPP, W.J., MCINTOSH, R.A., GILL, B.S. (1996): Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. *Euphytica* 91 (1): 59–87.
- FRIEBE, B., ZHANG, P., LINC, G., GILL, B.S. (2005): Robertsonian translocations in wheat arise by centric misdivision of univalents at anaphase I and rejoining of broken

- centromeres during interkinesis of meiosis II. *Cytogenetic and Genome Research* 109 (1–3): 293–297.
- GALE, M.D., YOUSSEFIAN, S. (1985): Chapter 1 - Dwarfing genes in wheat. In: *Progress in Plant Breeding–I*. G. E. Russell (ed.): 1–35. Butterworth-Heinemann.
- GALIBA, G., MOLNÁR-LÁNG, M., SUTKA, J. (1986): *In vitro* multiplication of a barley (*Hordeum vulgare* L.) x wheat (*Triticum aestivum* L.) hybrid. *Növénytermelés* 35: 481–485.
- GALL J.G., PARDUE M.L. (1969): Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 63(2) 378–383.
- GAUT, B.S. (2002): Evolutionary dynamics of grass genomes. *New Phytologist* 154 (1): 15–28.
- GERLACH, W.L., BEDBROOK, J.R. (1979): Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. *Nucleic Acids Research* 7 (7): 1869–1885.
- GILL, B.S., KIMBER, G. (1974): Giemsa C-banding and the Evolution of Wheat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 71 (10): 4086–4090.
- GILL, B.S., FRIEBE, B., ENDO, T.R. (1991): Standard karyotype and nomenclature system for description of chromosome bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*). *Genome* 34 (5): 830–839.
- 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 (4): 1231–1236.
- GIORGI, B. (1978): A homeologous pairing mutant isolated in *Triticum durum* cv. Cappelli. *Mutation Breeding Newsletter* 11: 4–5.
- GIORGI, B. (1983): Origin, behaviour and utilization of a *Ph1* mutant of durum wheat, *Triticum turgidum* (L.) var. durum. In: *Proceedings of the sixth International Wheat Genetics Symposium, Kyoto*. S. Sakamoto (ed.): 1033–1040. Plant Germplasm Institute Kyoto University.
- GORHAM, J. (1994): Salt tolerance in the *Triticeae*: K/Na discrimination in some perennial wheatgrasses and their amphiploids with wheat. *Journal of Experimental Botany* 45 (4): 441–447.
- GRANER, A. (1996): Molecular mapping of genes conferring disease resistance: The present state and future aspects. In: *Proceedings of the V. international Oat Conference and the VII. International Barley Genetics Symposium*. G. J. Scoles, B. G. Rossnagel, and C. Fairbairn (eds.): 157–166. University Extension Press. University of Saskatchewan.
- GRIFFITHS, S., SHARP, R., FOOTE, T.N., 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 (7077): 749–752.
- GUO, W., ZHANG, T., SHEN, X., YU, J.Z., KOHEL, R.J. (2003): Development of SCAR marker linked to a major QTL for high fiber strength and its usage in molecular-marker assisted selection in upland cotton. *Crop Science* 43 (6): 2252–2256.
- GUPTA, P.K., VARSHNEY, R.K. (2000): The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica* 113 (3): 163–185.

- HACKEL, E. (1887): *Gramineae*. In: *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. A. Engler and K. Prantl (eds.): 1–197. Leipzig, Germany.
- HADLACZKY, G.Y., BELEA, A. (1975): C-banding in wheat evolutionary cytogenetics. *Plant Science Letters* 4 (2): 85–88.
- 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. *Theoretical and Applied Genetics* 109 (5): 1070–1076.
- HAQUE, M.A., MARTINEK, P., KOBAYASHI, S., KITA, I., OHWAKU, K., WATANABE, N., KUBOYAMA, T. (2012): Microsatellite mapping of genes for semi-dwarfism and branched spike in *Triticum durum* Desf. var. *ramosooobscurum* Jakubz. “Vetvistokoloskaya.” *Genetic Resources and Crop Evolution* 59 (5): 831–837.
- HARLAN, J.R., de WET, J.M.J. (1971): Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon* 20 (4): 509–517.
- HARPER, L.C., CANDE, W.Z. (2000): Mapping a new frontier; development of integrated cytogenetic maps in plants. *Functional & Integrative Genomics* 1 (2): 89–98.
- HESZKY, L. (2003): A szövettenyészetek *in vitro* variabilitásának okai. In: *Növényi biotechnológia és géntechnológia*. D. Dudits and L. Heszky (eds.): 134–137. Agroiinform Kiadó. Budapest.
- 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 (2): 211–223.
- HUANG, S., SIRIKHACHORNKIT, A., SU, X., FARIS, J., GILL, B., HASELKORN, R., GORNICKI, P. (2002): Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum/Aegilops* complex and the evolutionary history of polyploid wheat. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (12): 8133–8138.
- HUDAKOVA, S., MICHALEK, W., PRESTING, G.G., HOOPEN, R. ten, SANTOS, K. dos, JASENCAKOVA, Z., SCHUBERT, I. (2001): Sequence organization of barley centromeres. *Nucleic Acids Research* 29 (24): 5029–5035.
- ISHIHARA, A., MIZUNO, N., ISLAM, A.K.M.R., DOLEŽEL, J., ENDO, T.R., NASUDA, S. (2014): Dissection of barley chromosomes 1H and 6H by the gametocidal system. *Genes & Genetic Systems* 89 (5): 203–214.
- ISLAM, A.K.M.R. (1978): Production and characterization of wheat-barley addition lines. In: *Proc 5th Int. Wheat Genet. Symp.* S. Ramanujam (ed.): 365–371. Science Publishers Inc. India.
- ISLAM, A., SHEPHERD, K., SPARROW, D. (1981): Isolation and characterization of euplasmic wheat-barley chromosome addition lines. *Heredity* 46 (2): 161–174.
- ISLAM, A.K.M.R. (1983): Ditelosomic additions of barley chromosomes to wheat. In: *Proceedings of the sixth International Wheat Genetics Symposium*. S. Sakamoto (ed.): 233–238. Plant Germ-Plasm Institute, Faculty of Agriculture, Kyoto University. Kyoto, Japan.

- ISLAM, A.K.M.R., SHEPHERD, K.W. (1990): Incorporation of barley chromosomes into wheat. In: *Wheat. Biotechnology in Agriculture and Forestry*. P. D. Y. P. S. Bajaj (ed.): 128–151. Springer Berlin Heidelberg.
- ISLAM, A.K.M.R., SHEPHERD, K.W. (1992): Production of wheat-barley recombinant chromosomes through induced homoeologous pairing. *Theoretical and Applied Genetics* 83 (4): 489–494.
- 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 (2): 145–149.
- ISLAM A.K.M.R., COLMER, T.D. (2008): Attempts to transfer salt- and waterlogging tolerance from sea barleygrass (*Hordeum marinum* tHuds.) to wheat. In: Appels R., Eastwood R., Lagudah E., Langridge P., Mackay L., Sharp P. (eds) Proceedings of the 11th International wheat Genetics symposium, Brisbane, Australia. Sydney University Pres, Brisbane QLD, pp 336-338
- JAUHAR, P.P. (1995): Morphological and cytological characteristics of some wheat x barley hybrids. *Theoretical and Applied Genetics* 90 (6): 872–877.
- 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 (1): 19–26.
- JENA, K.K., MACKILL, D.J. (2008): Molecular markers and their use in marker-assisted selection in rice. *Crop Science* 48 (4): 1266–1276.
- JIANG, J., FRIEBE, B., GILL, B.S. (1984): Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica* 73 (3): 199–212.
- JIANG, J., GILL, B.S. (1994): Nonisotopic *in situ* hybridization and plant genome mapping: the first 10 years. *Genome* 37 (5): 717–725.
- JOHANSSON, M., ELLEGREN, H., ANDERSSON, L. (1992): Cloning and characterization of highly polymorphic porcine microsatellites. *Journal of Heredity* 83 (3): 196–198.
- JONES, T.A., ZHANG, X.-Y., WANG, R.R.C. (1999): Genome characterization of MT-2 perennial and OK-906 annual wheat × intermediate wheatgrass hybrids. *Crop Science* 39 (4): 1041–1043.
- KARSAI, I., MÉSZÁROS, K., LÁNG, L., BEDŐ, Z. (2006): Identification of chromosome regions involved in the genetic regulation of tillering in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Acta Agronomica Hungarica* 54 (1): 15–23.
- KELLOGG, E.A. (2006): Progress and challenges in studies of the evolution of development. *Journal of Experimental Botany* 57 (13): 3505–3516.
- KHALATKAR, A.S., BHARGAVA, Y.R. (1982): 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-A new environmental mutagen. *Mutation Research Letters* 103 (2): 111–114.
- KIBIRIGE, I., KNOTT, D.R. (1983): Transfer of stem rust resistance to wheat from an *Agropyron* chromosome having a gametocidal effect. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 25 (3): 215–221.
- KIHARA, H. (1919): Über cytologische Studien bei einigen Getreidearten. I. Species-Bastarde des Weizens und Weizenroggen-Bastarde. *Botanical Magazine (Tokyo)* 33: 17–38.

- KIHARA, H. (1924): Cytologische und genetische Studien bei wichtigen Getreidearten mit besonderer Ruecksicht auf das Verhalten der Chromosomen und die Sterilitaet in den Bastarden. In: *Memoirs of the College of Science. Kyoto Imperial University (Series B, vol. 1)*. 200. Kyoto Imperial University. Kyoto.
- KIHARA, H. (1937): Cytogenetics of species hybrids. *Current Science* 4: 20–23.
- KILIAN, B., MARTIN, W., SALAMINI, F. (2010): Genetic diversity, evolution and domestication of wheat and barley in the Fertile Crescent. In: *Evolution in Action*. M. Glaubrecht (ed.): 137–166. Springer Berlin Heidelberg.
- 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. *Theoretical and Applied Genetics* 85 (5): 561–567.
- KING, I.P., LAW, C.N., CANT, K.A., ORFORD, S.E., READER, S.M., MILLER, T.E. (1997): *Tritipyrum*, a potential new salt-tolerant cereal. *Plant Breeding* 116 (2): 127–132.
- KISHII, M., WANG, R.R., TSUJIMOTO, H. (2005): GISH analysis revealed new aspect of genomic constitution of *Thinopyrum intermedium*. In: *Proceedings of 5th international Triticeae symposium. Prague, 6–10 June 2005*. 92–95.
- KISS, Á., RAJHÁTHY, T. (1956): Untersuchungen über die Kreuzbarkeit innerhalb des Subtribus Triticinae. *Der Züchter* 26 (4–5): 127–136.
- KOMUGI – Wheat Genetic Resources Database. National BioResource Project, Japan: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/quick> SearchAction.do.
- KNOTT, D.R. (1961): The inheritance of rust resistance. VI. The transfer of stem rust resistance from *Agropyron elongatum* to common wheat. *Canadian Journal of Plant Science* 41 (1): 109–123.
- KNOTT, D.R. (1968): Translocations involving *Triticum* chromosomes and *Agropyron* chromosomes carrying rust resistance. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 10 (3): 695–696.
- KOBA, T., TAKUMI, S., SHIMADA, T. (1997): Isolation, identification and characterization of disomic and translocated barley chromosome addition lines of common wheat. *Euphytica* 96 (2): 289–296.
- KOMORI, T., NITTA, N. (2005): Utilization of the CAPS/dCAPS method to convert rice SNPs into PCR-based markers. *Breeding Science* 55 (1): 93–98.
- KONIECZNY, A., AUSUBEL, F.M. (1993): A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *The Plant Journal* 4 (2): 403–410.
- KORZUN, V., KUNZEL, G. (1997): Integration of 32 translocation breakpoints of chromosome 7H (1) into the corresponding Igri/Franka-derived RFLP map. *Barley genetics newsletter* 28.
- KORZUN, V., MALYSHEV, S., VOYLOKOV, A. V., BÖRNER, A. (2001): A genetic map of rye (*Secale cereale* L.) combining RFLP, isozyme, protein, microsatellite and gene loci. *Theoretical and Applied Genetetics* 102: 709-717.

- KÖZTÁRSASÁGI ELNÖKI HIVATAL (2013): Magyarország Alaptörvénye. [http://www.keh.hu/magyarorszag\\_alaptorvenye/1515](http://www.keh.hu/magyarorszag_alaptorvenye/1515) *Magyarország\_Alaptorvenye&pnr=1*.
- KROLOW, K.D. (1970): Untersuchungen über die Kreuzbarkeit zwischen Weizen und Roggen. *Z. Pflanzenzüchtung* 64: 44–72.
- KRUPPA, K., SEPSI, A., SZAKÁCS, É., LÁNGNÉ MOLNÁR, M. (2012): Az *Agropyron glael* és búza × *A. glael* hibrid utódvonalak genom-összetételének vizsgálata mcGISH technikával. In: O. B. Veisz (ed.): 133. MTA Budapest.
- KRUPPA KLAUDIA KATALIN (2016): Idegen fajú kromoszómák azonosítása a búza (*Triticum aestivum* L.) és egyes rokon nemzetségek (*Hordeum*, *Agropyron*) keresztezéséből származó hibridek utódaiban molekuláris citogenetikai módszerekkel. PhD értekezés. Szent István Egyetem
- KRUPPA, K., MOLNÁR-LÁNG, M. (2016): Simultaneous visualization of different genomes (J, J<sup>St</sup> and St) in a *Thinopyrum intermedium* × *Thinopyrum ponticum* synthetic hybrid (*Poaceae*) and in its parental species by multicolour genomic *in situ* hybridization (mcGISH). *Comparative Cytogenetics* 10 (2): 283–293.
- KRUPPA, K., TÜRKÖSI, E., MAYER, M., TÓTH, V., VIDA, G., SZAKÁCS, É., MOLNÁR-LÁNG, M. (2016): McGISH identification and phenotypic description of leaf rust and yellow rust resistant partial amphiploids originating from a wheat × *Thinopyrum* synthetic hybrid cross. *Journal of Applied Genetics* 57 (4): 427–437.
- KRUSE, A. (1973): *Hordeum* × *Triticum* hybrids. *Hereditas* 73 (1): 157–161.
- LÁNG, L., BEDŐ, Z. (2006): A hazai búzanemesítés stratégiai jelentősége. In: *A búza nemesítésének tudománya. A funkcionális genomikától a vetőmagig*. D. Dudits (ed.): 19–25. Szeged: MTA Szegedi Biológiai Központ – Winter Fair Kft.
- LANGE, W., WOJCIECHOWSKA, B. (1976): The crossing of common wheat (*Triticum aestivum* L.) with cultivated rye (*Secale cereale* L.). I. crossability, pollen grain germination and pollen tube growth. *Euphytica* 25 (1): 609–620.
- LÁNGNÉ MOLNÁR, M., SUTKA, J., BARNABÁS, B., SÁGI, L., BELEA, A. (1985): Árpa (*Hordeum vulgare* L.) x búza (*Triticum aestivum* L.) hibrid előállítása. *Növénytermelés* 34: 257–262.
- LÁNGNÉ MOLNÁR, M. (2011): Faj- és nemzetségkeresztezők a genetikai variabilitás növelésére. *Növénygenetika*. Szerkesztette B.Hoffman. <http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0010> 1A Book 03 <http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0010> Novenygenetika/ch12.html
- 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. *Journal of Heredity* 77 (6): 415–419.
- LARKIN, P.J., SCOWCROFT, W.R. (1981): Somaclonal variation — a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theoretical and Applied Genetics* 60 (4): 197–214.
- LARSON, S.R., KADYRZHANOVA, D., MCDONALD, C., SORRELLS, M., BLAKE, T.K. (1996): Evaluation of barley chromosome-3 yield QTLs in a backcross F<sub>2</sub> population using STS-PCR. *Theoretical and Applied Genetics* 93 (4): 618–625.

- LAURIE, D.A., PRATCHETT, N., SNAPE, J.W., BEZANT, J.H. (1995): RFLP mapping of five major genes and eight quantitative trait loci controlling flowering time in a winter × spring barley (*Hordeum vulgare* L.) cross. *Genome* 38 (3): 575–585.
- LE, H.T., ARMSTRONG, K.C., MIKI, B. (1989): Detection of rye DNA in wheat-rye hybrids and wheat translocation stocks using total genomic DNA as a probe. *Plant Molecular Biology Reporter* 7 (2): 150–158.
- LEIN, A. (1943): Die Genetische Grundlage der Kreuzbarkeit Zwischen Weizen und Roggen. *Zeitschrift für Induktive Abstammungs- und Vererbungslehre* 81 (1): 28–61.
- 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 (6): 1013–1018.
- LI, L.H., DONG, Y.S. (1994): Somaclonal variation in tissue culture of *Triticum aestivum* × *Agropyron desertorum* F<sub>1</sub> hybrid. *Plant Breeding* 112 (2): 160–166.
- 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 (5): 756–762.
- LI, H., 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 (5): 906–913.
- LI, Z., LI, B., TONG, Y. (2008): The contribution of distant hybridization with decaploid *Agropyron elongatum* to wheat improvement in China. *Journal of Genetics and Genomics* 35 (8): 451–456.
- LI, H., WANG, X. (2009): *Thinopyrum ponticum* and *Th. intermedium*: the promising source of resistance to fungal and viral diseases of wheat. *Journal of Genetics and Genomics* 36 (9): 557–565.
- LINC, G., FRIEBE, B.R., KYNAST, R.G., MOLNÁR-LÁNG, M., KÖSZEGI, B., SUTKA, J., GILL, B.S. (1999): Molecular cytogenetic analysis of *Aegilops cylindrica* Host. *Genome* 42 (3): 497–503.
- LINC, G., GAÁL, E., MOLNÁR, I., ICSÓ, D., BADAIEVA, E., MOLNÁR-LÁNG, M. (2017): Molecular cytogenetic (FISH) and genome analysis of diploid wheatgrasses and their phylogenetic relationship. *PLOS ONE* 12 (3): e0173623.
- 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): 1–16.
- LIU, Z.W., WANG, R.R.C. (1993): Genome analysis of *Elytrigia caespitosa*, *Lophopyrum nodosum*, *Pseudoroegneria geniculata* ssp. *scythica*, and *Thinopyrum intermedium* (Triticeae: Gramineae). *Genome* 36 (1): 102–111.
- LIU, Z.W., BIYASHEV, R.M., MAROOF, M.A.S. (1996): Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map. *Theoretical and Applied Genetics* 93 (5–6): 869–876.



- LIU, B., VEGA, J.M., FELDMAN, M. (1998): Rapid genomic changes in newly synthesized amphiploids of *Triticum* and *Aegilops*. II. Changes in low-copy coding DNA sequences. *Genome* 41 (4): 535–542.
- LIU, D.C., YEN, C., YANG, J.L., ZHENG, Y.L., LAN, X.J. (1999a): The chromosomal locations of high crossability genes in tetraploid wheat *Triticum turgidum* L. cv. Ailanmai native to Sichuan, China. *Euphytica* 108 (2): 79–82.
- LIU, Z., SUN, Q., NI, Z., YANG, T., MCINTOSH, R.A. (1999b): Development of SCAR markers linked to the *Pm21* gene conferring resistance to powdery mildew in common wheat. *Plant Breeding* 118 (3): 215–219.
- LIU, Z., LI, D., ZHANG, X. (2007): Genetic relationships among five basic genomes St, E, A, B and D in *Triticeae* revealed by genomic southern and *in situ* hybridization. *Journal of Integrative Plant Biology* 49 (7): 1080–1086.
- LIU, S., GAO, X., XIA, G. (2008): Characterizing HMW-GS alleles of decaploid *Agropyron elongatum* in relation to evolution and wheat breeding. *Theoretical and Applied Genetics* 116 (3): 325–334.
- 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). *Theoretical and Applied Genetics* 126 (5): 1167–1177.
- LÖVE, A. (1984): Conspectus of the *Triticeae*. *Fedd. Report*. 95: 425–521.
- LUKASZEWSKI, A.J. (2000): Manipulation of the 1RS.1BL translocation in wheat by induced homoeologous recombination. *Crop Science* 40 (1): 216–225.
- LUKASZEWSKI, A.J. (2006): Registration of three germplasms of durum wheat with introgressions from *Agropyron elongatum* and *Secale cereale*. *Crop Science* 46 (3): 1404–1406.
- MAHELKA, V., KOPECKÝ, D., PAŠTOVÁ, L. (2011): On the genome constitution and evolution of intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*: *Poaceae*, *Triticeae*). *BMC Evolutionary Biology* 11: 127.
- MAHMOOD, A., QUARRIE, S.A. (1993): Effects of salinity on growth, ionic relations and physiological traits of wheat, disomic addition lines from *Thinopyrum bessarabicum*, and two amphiploids. *Plant Breeding* 110 (4): 265–276.
- MANO, Y., SAYED-TABATABAEI, B.E., GRANER, A., BLAKE, T., TAKAIWA, F., OKA, S., KOMATSUDA, T. (1999): Map construction of sequence-tagged sites (STSs) in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 98 (6–7): 937–946.
- MANYOWA, N.M., MILLER, T.E. (1991): The genetics of tolerance to high mineral concentrations in the tribe *Triticeae* — a review and update. *Euphytica* 57 (2): 175–185.
- MARAIS, F., SIMSEK, S., POUDEL, R.S., COOKMAN, D., SOMO, M. (2014): Development of hexaploid (AABBJJ) *Tritipyrum*s with rearranged *Thinopyrum distichum* (Thunb.) Á Löve-derived Genomes. *Crop Science* 54 (6): 2619–2630.
- MARTIN, P.K., TAEB, M., KOEBNER, R.M.D. (1993): The effect of photoperiod insensitivity on the salt tolerance of amphiploids between bread wheat (*Triticum aestivum*) and sand couch grass (*Thinopyrum bessarabicum*). *Plant Breeding* 111 (4): 283–289.

- MARTONVÁSÁRI FAJTAKATALÓGUS 2015-2016, MTA Agrártudományi Kutatóközpont, Mezőgazdasági Intézet.
- MAYER, K.F.X., MARTIS, M., HEDLEY, P.E., ŠIMKOVÁ, H., LIU, H., MORRIS, J.A., STEUERNAGEL, B., TAUDIEN, S., ROESSNER, S., GUNDLACH, H., KUBALÁKOVÁ, M., SUCHÁNKOVÁ, P., MURAT, F., FELDER, M., NUSSBAUMER, T., GRANER, A., SALSE, J., ENDO, T., SAKAI, H., TANAKA, T., ITOH, T., SATO, K., PLATZER, M., MATSUMOTO, T., SCHOLZ, U., DOLEŽEL, J., WAUGH, R., STEIN, N. (2011): Unlocking the barley genome by chromosomal and comparative genomics. *The Plant Cell Online* 23 (4): 1249–1263.
- MCDERMOTT, J.M. BRANDLE, U., DUTLY, F., HAEMMERLI, U.A., KELLER, S., MULLER, K.E., WOLFE, M.S. (1994): Genetic variation in powdery mildew of barley: development of RAPD, SCAR, and VNTR markers. *Phytopathology (USA)* 84: 1316–1321.
- MCINTOSH, R.A., DYCK, P.L., GREEN, G.J. (1977): Inheritance of leaf rust and stem rust resistances in wheat cultivars Agent and Agatha. *Australian Journal of Agricultural Research* 28 (1): 37–45.
- MCINTOSH, R.A., WELLINGS, C.R., PARK, R.F. (1995): *Wheat rusts: an atlas of resistance genes*. Csiro Publishing.
- MCINTOSH, R.A., YAMAZAKI, Y., DEVOS, K.M., DUBCOVSKY, J., ROGERS, W.J., APPELS, R. (2003): Wheat Gene Catalogue 2003. Available from: <https://wheat.pw.usda.gov/ggp/wgc/2003/>
- 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 (5): 635–640.
- 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. *Genetic Analysis: Biomolecular Engineering* 8 (2): 41–58.
- MEBRATE, S.A., OERKE, E.C., DEHNE, H.W., PILLEN, K. (2008): Mapping of the leaf rust resistance gene *Lr38* on wheat chromosome arm 6DL using SSR markers. *Euphytica* 162 (3): 457–466.
- MELZ, G., SCHLEGEL, R., THIELE, V. (1992): Genetic linkage map of rye (*Secale cereale* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 85 (1): 33–45.
- MESTERHÁZY, Á. (2006): Molekuláris markerek a rezisztenciagének nyomon követéséhez. In: *A búza nemesítésének tudománya. A funkcionális genomikától a vetőmagig*. D. Dudits (ed.): 289–299. Szeged: MTA Szegedi Biológiai Központ – Winter Fair Kft.
- MICHALEK, W., KÜNZEL, G., GRANER, A. (1999): Sequence analysis and gene identification in a set of mapped RFLP markers in barley (*Hordeum vulgare*). *Genome* 42 (5): 849–853.
- MILLER, T.E., READER, S.M., CHAPMAN, V. (1981): Addition of *Hordeum chilense* chromosomes to wheat. *Induced variability in plant breeding: Internat. Symp. of the Sect. Mutation and Polyploidy of the European Assoc. for Research on Plant Breeding, Wageningen, The Netherlands*: 79–81.

- MILLER, T.E., READER, S.M., PURDIE, K.A., KING, I.P. (1994): Determination of the frequency of wheat-rye chromosome pairing in wheat x rye hybrids with and without chromosome 5B. *Theoretical and Applied Genetics* 89 (2–3): 255–258.
- 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. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 14 (4): 773–783.
- MOHLER, V., JAHOOOR, A. (1996): Allele-specific amplification of polymorphic sites for the detection of powdery mildew resistance loci in cereals. *Theoretical and Applied Genetics* 93 (7): 1078–1082.
- 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 (2): 156–165.
- 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 (2): 261–266.
- 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 (1–2): 53–58.
- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., SUTKA, J. (1996): Transfer of the recessive crossability allele *kr1* from Chinese Spring into the winter wheat variety Martonvásári 9. *Euphytica* 90 (3): 301–305.
- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., FRIEBE, B.R., SUTKA, J. (2000a): Detection of wheat-barley translocations by genomic *in situ* hybridization in derivatives of hybrids multiplied *in vitro*. *Euphytica* 112 (2): 117–123.
- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., LOGOJAN, A., SUTKA, J. (2000b): Production and meiotic pairing behaviour of new hybrids of winter wheat (*Triticum aestivum*) × winter barley (*Hordeum vulgare*). *Genome* 43 (6): 1045–1054.
- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., D. NAGY, E., SCHNIEDER, A., MOLNÁR, I. (2002): Molecular cytogenetic analysis of wheat-alien hybrids and derivatives. *Acta Agronomica Hungarica* 50 (3): 303–311.
- MOLNÁR-LÁNG, M., NOVOTNY, C., LINC, G., NAGY, E.D. (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 progeny using GISH and SSR markers. *Plant Breeding* 124 (3): 247–252.
- 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. *Theoretical and Applied Genetics* 120 (8): 1535–1545.
- MOLNÁR-LÁNG, M., KRUPPA, K., CSEH, A., BUCSI, J., LINC, G. (2012a): Identification and phenotypic description of new wheat – six-rowed winter barley disomic additions. *Genome* 55 (4): 302–311.
- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., SZAKÁCS, É., MOLNÁR, I., CSEH, A., SCHNEIDER, A., KRUPPA, K. (2012b): Wheat-alien introgression programme in Martonvásár. In: NI

Vavilov's ideas in the modern world. III Vavilov International Conference, 6-9 November 2012 St. Petersburg.

- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., SZAKÁCS, É. (2014): Wheat–barley hybridization: the last 40 years. *Euphytica* 195 (3): 315–329.
- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G. (2015): Wheat–barley hybrids and introgression lines. In: *Alien Introgression in Wheat*. M. Molnár-Láng, C. Ceoloni, and J. Doležel (eds.): 315–345. Springer International Publishing.
- MORRIS, R., SEARS, E.R. (1967): The cytogenetics of wheat and its relatives. In: *Wheat and wheat improvement*. K. S. Quinsberry and L. P. Reitz (eds.): 19–87. The American Society of Agronomy, Madison, USA.
- MUJEEB-KAZI, A. (1981): Apomictic progeny derived from intergeneric *Hordeum-Triticum* hybrids. *Journal of Heredity* 72 (4): 284–285.
- MUJEEB-KAZI, A., KIMBER, G. (1985): The production, cytology and practicality of wide hybrids in the *Triticeae*. *Cereal Research Communications* 13 (2/3): 111–124.
- MUKAI, Y., NAKAHARA, Y., YAMAMOTO, M. (1993): Simultaneous discrimination of the three genomes in hexaploid wheat by multicolor fluorescence *in situ* hybridization using total genomic and highly repeated DNA probes. *Genome* 36 (3): 489–494.
- MULLAN, D.J., MIRZAGHADERI, G., WALKER, E., COLMER, T.D., FRANCKI, M.G. (2009): Development of wheat–*Lophopyrum elongatum* recombinant lines for enhanced sodium 'exclusion' during salinity stress. *Theoretical and Applied Genetics* 119 (7): 1313–1323.
- MUNKVOLD, J.D., GREENE, R.A., BERMUDEZ-KANDIANIS, C.E., ROTA, C.M.L., EDWARDS, H., SORRELLS, S.F., DAKE, T., BENSCHER, D., KANTETY, R., LINKIEWICZ, A.M., DUBCOVSKY, J., AKHUNOV, E.D., DVOŘÁK, J., MIFTAHUDIN, GUSTAFSON, J.P., PATHAN, M.S., NGUYEN, H.T., MATTHEWS, D.E., CHAO, S., LAZO, G.R., HUMMEL, D.D., ANDERSON, O.D., ANDERSON, J.A., GONZALEZ-HERNANDEZ, J.L., PENG, J.H., LAPITAN, N., QI, L.L., ECHALIER, B., GILL, B.S., HOSSAIN, K.G., KALAVACHARLA, V., KIANIAN, S.F., SANDHU, D., ERAYMAN, M., GILL, K.S., MCGUIRE, P.E., QUALSET, C.O., SORRELLS, M.E. (2004): Group 3 chromosome bin maps of wheat and their relationship to rice chromosome 1. *Genetics* 168 (2): 639–650.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bio assays with *Tobacco* tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15 (3): 473–497.
- NAGAKI, K., TSUJIMOTO, H., ISONO, K., SASAKUMA, T. (1995): Molecular characterization of a tandem repeat, Afa family, and its distribution among *Triticeae*. *Genome* 38 (3): 479–486.
- NASUDA, S., KIKKAWA, Y., ASHIDA, T., ISLAM, A., SATO, K., ENDO, T. (2005): Chromosomal assignment and deletion mapping of barley EST markers. *Genes & genetic systems* 80 (5): 357–366.
- OKAMOTO, M. (1962): Identification of the chromosomes of common wheat belonging to the A and B genomes. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 4 (1): 31–37.
- 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 reactions to fusarium head blight, tan spot, and *Stagonospora nodorum* blotch. *Theoretical and Applied Genetics* 112 (8): 1473.
- OLSON, M., HOOD, L., CANTOR, C., BOTSTEIN, D. (1989): A common language for physical mapping of the human genome. *Science* 245 (4925): 1434–1436.
- OMIELAN, J.A., EPSTEIN, E., DVOŘÁK, J. (1991): Salt tolerance and ionic relations of wheat as affected by individual chromosomes of salt-tolerant *Lophopyrum elongatum*. *Genome* 34 (6): 961–974.
- OZKAN, H., LEVY, A.A., FELDMAN, M. (2001): Allopolyploidy-induced rapid genome evolution in the wheat (*Aegilops-Triticum*) group. *The Plant Cell Online* 13 (8): 1735–1747.
- PARAN, I., MICHELMORE, R.W. (1993): Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theoretical and Applied Genetics* 85 (8): 985–993.
- PARDUE, M.L., GALL, J.G. (1969): Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 64 (2): 600–604.
- 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 (1): 93–104.
- PEDERSEN, C., LANGRIDGE, P. (1997): Identification of the entire chromosome complement of bread wheat by two-colour FISH. *Genome* 40 (5): 589–593.
- PENG, J., RICHARDS, D.E., HARTLEY, N.M., MURPHY, G.P., DEVOS, K.M., FLINTHAM, J.E., BEALES, J., FISH, L.J., WORLAND, A.J., PELICA, F., SUDHAKAR, D., CHRISTOU, P., SNAPE, J.W., GALE, M.D., HARBERD, N.P. (1999): ‘Green revolution’ genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature* 400 (6741): 256–261.
- PERCY, R.G. (1986): Effects of environment upon ovule abortion in interspecific F<sub>1</sub> hybrids and single species cultivars of *Cotton*. *Crop Science* 26 (5): 938–942.
- PHILLIPS, R.L., KAEPLER, S.M., OLHOFT, P. (1994): Genetic instability of plant tissue cultures: breakdown of normal controls. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91 (12): 5222–5226.
- PLASCHKE, J., GANAL, M.W., RÖDER, M.S. (1995): Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 91 (6–7): 1001–1007.
- 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 Reports* 33 (8): 1323–1331.
- POURKHEIRANDISH, M., KOMATSUDA, T. (2007): The importance of barley genetics and domestication in a global perspective. *Annals of Botany* 100 (5): 999–1008.
- PRETORIUS, Z.A., BENDER, C.M., VISSER, B., TEREFE, T. (2010): First report of a *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* race virulent to the *Sr24* and *Sr31* wheat stem rust resistance genes in South Africa. *Plant Disease* 94 (6): 784–784.

- PRIETO, P., RAMÍAREZ, M.C., BALLESTEROS, J., CABRERA, A. (2001): Identification of intergenomic translocations involving wheat, *Hordeum vulgare* and *Hordeum chilense* chromosomes by FISH. *Hereditas* 135 (2–3): 171–174.
- PRINS, R., GROENEWALD, J.Z., MARAIS, G.F., SNAPE, J.W., KOEBNER, R.M.D. (2001): AFLP and STS tagging of *Lr19*, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 103 (4): 618–624.
- PURNHAUSER, L. (2006): Molekuláris markerek a rezisztenciagének nyomon követéséhez. In: *A búza nemesítésének tudománya. A funkcionális genomikától a vetőmagig*. D. Dudits (ed.): 289–299. Szeged: MTA Szegedi Biológiai Központ – Winter Fair Kft.
- PUSKÁS, K. (2013): Búza genotípusok kalászfuzárium-ellenállósága és a rezisztencia genetikai hátterének vizsgálata. PhD értekezés. Szent István Egyetem
- QI, L., FRIEBE, B., ZHANG, P., GILL, B.S. (2007): Homoeologous recombination, chromosome engineering and crop improvement. *Chromosome Research* 15 (1): 3–19.
- RAMSAY, L., MACAULAY, M., IVANISSEVICH, S., MACLEAN, K., CARDLE, L., FULLER, J., EDWARDS, K.J., TUVESSESON, S., MORGANTE, M., MASSARI, A., MAESTRI, E., MARMIROLI, N., SJAKSTE, T., GANAL, M., POWELL, W., WAUGH, R. (2000): A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genetics* 156 (4): 1997–2005.
- RAYBURN, A.L., GILL, B.S. (1985): Use of biotin-labeled probes to map specific DNA sequences on wheat chromosomes. *Journal of Heredity* 76 (2): 78–81.
- RAYBURN, A.L., GILL, B.S. (1986): Molecular identification of the D-genome chromosomes of wheat. *Journal of Heredity* 77 (4): 253–255.
- RILEY, R., CHAPMAN, V. (1958): Genetic control of cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. *Nature* 182: 713–715.
- RILEY, R., CHAPMAN, V. (1967): The inheritance in wheat of crossability with rye. *Genetics Research* 9 (3): 259–267.
- RILEY, R., CHAPMAN, V., JOHNSON, R. (1968): The incorporation of alien disease resistance in wheat by genetic interference with the regulation of meiotic chromosome synapsis. *Genetics Research* 12 (2): 199–219.
- ROA, F., GUERRA, M. (2012): Distribution of 45S rDNA sites in chromosomes of plants: Structural and evolutionary implications. *BMC Evolutionary Biology* 12: 225.
- RÖDER, M.S., PLASCHKE, J., KÖNIG, S.U., BÖRNER, A., SORRELLS, M.E., TANKSLEY, S.D., GANAL, M.W. (1995): Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecular and General Genetics MGG* 246 (3): 327–333.
- RUSSELL, J., FULLER, J., YOUNG, G., THOMAS, B., MACAULAY, M., WAUGH, R., POWELL, W., TARAMINO, G. (1997): Discriminating between barley genotypes using microsatellite markers. *Genome* 40 (4): 442–450.
- RUSTENHOLZ, C., HEDLEY, P.E., MORRIS, J., CHOLET, F., FEUILLET, C., WAUGH, R., PAUX, E. (2010): Specific patterns of gene space organisation revealed in wheat by using the combination of barley and wheat genomic resources. *BMC Genomics* 11: 714.

- SAKAI, K., NASUDA, S., SATO, K., ENDO, T.R. (2009): Dissection of barley chromosome 3H in common wheat and a comparison of 3H physical and genetic maps. *Genes & Genetic Systems* 84 (1): 25–34.
- SAKAMURA, T. (1918): Kurze Mitteilung über die Chromosomenzahlen und die Verwandtschaftsverhältnisse der Triticum-Arten. *Shokubutsugaku Zasshi* 32 (379): 150–153.
- SAKATA, M., NASUDA, S., ENDO, T.R. (2010): Dissection of barley chromosome 4H in common wheat by the gametocidal system and cytological mapping of chromosome 4H with EST markers. *Genes & Genetic Systems* 85 (1): 19–29.
- SALAMINI, F., ÖZKAN, H., BRANDOLINI, A., SCHÄFER-PREGL, R., MARTIN, W. (2002): Genetics and geography of wild cereal domestication in the near east. *Nature Reviews Genetics* 3 (6): 429–441.
- SAMERI, M., POURKHEIRANDISH, M., CHEN, G., TONOOKA, T., KOMATSUDA, T. (2011): Detection of photoperiod responsive and non-responsive flowering time QTL in barley. *Breeding Science* 61 (2): 183–188.
- SARKAR, P., STEBBINS, G.L. (1956): Morphological evidence concerning the origin of the B genome in wheat. *American Journal of Botany* 43 (4): 297–304.
- SAX, K. (1921): Chromosome relationships in wheat. *Science* 54 (1400): 413–415.
- SAX, K. (1927): Chromosome behaviour in *Triticum* hybrids. In: *Verhandlungen des V. Internationalen Kongresses für Vererbungswissenschaft (Berlin)*. 1267–1284.
- SCHNEIDER, A., LINC, G., MOLNÁR-LÁNG, M., GRANER, A. (2003): Fluorescence *in situ* hybridization polymorphism using two repetitive DNA clones in different cultivars of wheat. *Plant Breeding* 122 (5): 396–400.
- 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 (6): 1070–1082.
- 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. *The Plant Journal* 14 (4): 489–495.
- 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.
- SCHWARZACHER, T. (2003): DNA, chromosomes, and *in situ* hybridization. *Genome* 46 (6): 953–962.
- SCHWARZACHER, T. (2009): Fluorescent *in situ* hybridization to detect transgene integration into plant genomes. In: *Transgenic Wheat, Barley and Oats*. Methods in Molecular Biology™. H. D. Jones and P. R. Shewry (eds.): 227–246. Humana Press.
- SCHWARZACHER, T., HESLOP-HARRISON, P. (2000): *Practical in situ hybridization*. BIOS Scientific Publishers. Oxford.
- SEARS, E.R. (1954): The aneuploids of common wheat. *University of Missouri, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station Bulletin* 572: 1–58.

- SEARS, E.R. (1956): The transfer of leaf-rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat. In: *Genetics in plant breeding. Brook-haven Symposia in Biology 1956*. 1–22.
- SEARS, E.R. (1972): Chromosome engineering in wheat. In: *Stadler Genetics Symposia, 4*. G. Kimber and G. P. Rédei (eds.): 23–38. University of Missouri, Columbia, USA.
- SEARS, E.R. (1973): *Agropyron*-wheat transfers induced by homoeologous pairing. In: *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.* 191–199. Univ. Missouri, Columbia MO. USA.
- SEARS, E.R. (1977): An induced mutant with homoeologous pairing in common wheat. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 19 (4): 585–593.
- SEARS, E.R. (1978): Analysis of wheat-*Agropyron* recombinant chromosomes. In: *Interspecific hybridization in plant breeding. Proceedings of the 8th EUCARPIA Congress*. E. Sanchez-Monge and F. Garcia-Olmedo (eds.): 63–72. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Ciudad Universitaria, Madrid.
- 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. *Theoretical and Applied Genetics* 116 (6): 825–834.
- SERIZAWA, N., NASUDA, S., SHI, F., ENDO, T.R., PRODANOVIC, S., SCHUBERT, I., KÜNZEL, G. (2001): Deletion-based physical mapping of barley chromosome 7H. *Theoretical and Applied Genetics* 103 (6–7): 827–834.
- SHARMA, D., KNOTT, D.R. (1966): The transfer of leaf-rust resistance from *Agropyron* to *Triticum* by irradiation. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 8 (1): 137–143.
- SHARMA, H.C., GILL, B.S. (1983): Current status of wide hybridization in wheat. *Euphytica* 32 (1): 17–31.
- SHARMA, H.C. (1995): How wide can a wide cross be? *Euphytica* 82 (1): 43–64.
- SHARP, P.J., KREIS, M., SHEWRY, P.R., GALE, M.D. (1988): Location of  $\beta$ -amylase sequences in wheat and its relatives. *Theoretical and Applied Genetics* 75 (2): 286–290.
- SHEN, X., OHM, H. (2007): Molecular mapping of *Thinopyrum*-derived fusarium head blight resistance in common wheat. *Molecular Breeding* 20 (2): 131–140.
- SHEN, X.K., MA, L.X., ZHONG, S.F., LIU, N., ZHANG, M., CHEN, W.Q., ZHOU, Y.L., LI, H.J., CHANG, Z.J., LI, X., BAI, G.H., ZHANG, H.Y., TAN, F.Q., REN, Z.L., LUO, P.G. (2015): Identification and genetic mapping of the putative *Thinopyrum intermedium*-derived dominant powdery mildew resistance gene *PmL962* on wheat chromosome arm 2BS. *Theoretical and Applied Genetics* 128 (3): 517–528.
- SHERMAN, J.D., SMITH, L.Y., BLAKE, T.K., TALBERT, L.E. (2001): Identification of barley genome segments introgressed into wheat using PCR markers. *Genome* 44 (1): 38–44.
- SHIMADA, T., KOBAYASHI, T., OTANI, N., NIIZEKI, H. (1987): Morphology, meiosis, and *in vitro* propagation of barley-wheat hybrids. In: *Barley genetics V. Proc. 5th Int. Barley Genet. Symp. Okoyama, Japan 1987*. 343–350.
- SILVA, G.S., SOUZA, M.M. (2013): Genomic *in situ* hybridization in plants. *Genetics and Molecular Research* 12 (3): 2953–2965.



- SITCH, L.A., SNAPE, J.W., FIRMAN, S.J. (1985): Intrachromosomal mapping of crossability genes in wheat (*Triticum aestivum*). *Theoretical and Applied Genetics* 70 (3): 309–314.
- SNAPE, J., CHAPMAN, V., MOSS, J., BLANCHARD, C., MILLER, T. (1979): The crossabilities of wheat varieties with *Hordeum bulbosum*. *Heredity* 42 (3): 291–298.
- STAKMAN, E.C., STEWART, D.M., LOEGERING, W.Q. (1962): *Identification of physiologic races of Puccinia graminis var. tritici*. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington DC, USA, E617 53.
- STRUSS, D., PLIESKE, J. (1998): The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. *Theoretical and Applied Genetics* 97 (1–2): 308–315.
- SUCHÁNKOVÁ, P., KUBALÁKOVÁ, M., KOVÁŘOVÁ, P., BARTOŠ, J., ČÍHALÍKOVÁ, J., MOLNÁR-LÁNG, M., ENDO, T.R., DOLEŽEL, J. (2006): Dissection of the nuclear genome of barley by chromosome flow sorting. *Theoretical and Applied Genetics* 113 (4): 651–659.
- SUTKA, J. (2004): *Növényi citogenetika*. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- SZAKÁCS, É., MOLNÁR-LÁNG, M. (2007): Development and molecular cytogenetic identification of new winter wheat – winter barley (‘Martonvásári 9 kr1’ – ‘Igri’) disomic addition lines. *Genome* 50 (1): 43–50.
- SZAKÁCS, É., MOLNÁR-LÁNG, M. (2009): 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’ – ‘Igri’ addition set. *Genome* 53 (1): 35–44.
- 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 Agronomica Hungarica* 58 (3): 203–209.
- SZUNICS, L., SZUNICS, L. (2010): Rezisztencia vizsgálatok búzanemesítési tenyészkertekben. A búza betegségei, és a védekezés lehetőségei. Martonvásár, MTA Mezőgazdasági Kutatóintézet.
- TAEB, M., KOEBNER, R.M.D., FORSTER, B.P., LAW, C.N. (1992): Association between genes controlling flowering time and shoot sodium accumulation in the *Triticeae*. *Plant and Soil* 146 (1–2): 117–121.
- 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. 72–74. University Expression Press, Saskatoon, Canada. University of Saskatchewan.
- TAKETA, S., TAKAHASHI, H., TAKEDA, K. (1998): Genetic variation in barley of crossability with wheat and its quantitative trait loci analysis. *Euphytica* 103 (2): 187–193.
- TAKETA, S., TAKEDA, K. (2001): Production and characterization of a complete set of wheat-wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) chromosome addition lines. *Breeding Science* 51 (3): 199–206.
- 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 (4): 617–625.

- TAUTZ, D. (1989): Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research* 17 (16): 6463–6471.
- THIEL, T., MICHALEK, W., VARSHNEY, R.K., GRANER, A. (2003): Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 106 (3): 411–422.
- TISCHNER, T., KŐSZEGI, B., VEISZ, O. (1997): Climatic programmes used in the Martonvasar phytotron most frequently in recent years. *Acta Agronomica Hungarica*: 85–104.
- TIWARI, V.K., WANG, S., SEHGAL, S., VRÁNA, J., FRIEBE, B., KUBALÁKOVÁ, M., CHHUNEJA, P., DOLEŽEL, J., AKHUNOV, E., KALIA, B., SABIR, J., GILL, B.S. (2014): SNP discovery for mapping alien introgressions in wheat. *BMC Genomics* 15: 273.
- TIXIER, M.H., SOURDILLE, P., CHARMET, G., GAY, G., JABY, C., CADALEN, T., BERNARD, S., NICOLAS, P., BERNARD, M. (1998): Detection of QTLs for crossability in wheat using a doubled-haploid population. *Theoretical and Applied Genetics* 97 (7): 1076–1082.
- TÓTH, G., GÁSPÁRI, Z., JURKA, J. (2000): Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome Research* 10 (7): 967–981.
- TRAGOONRUNG, S., KANAZIN, V., HAYES, P.M., BLAKE, T.K. (1992): Sequence-tagged-site-facilitated PCR for barley genome mapping. *Theoretical and Applied Genetics* 84 (7–8): 1002–1008.
- TSUJIMOTO, H., MUKAI, Y., AKAGAWA, K., NAGAKI, K., FUJIGAKI, J., YAMAMOTO, M., SAKUMA, 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 and Genetic Systems* 72:303-309.
- TSUNEWAKI, K. (2009): Plasmon analysis in the *Triticum-Aegilops* complex. *Breeding Science* 59 (5): 455–470.
- TSVELEV, N.N. (1976): *Zlaki SSSR [Grasses of the Soviet Union]*. Nauka Publ. Leningrad.
- TÜRKÖSI, E., CSEH, A., DARKÓ, É., MOLNÁR-LÁNG, M. (2016): Addition of Manas barley chromosome arms to the hexaploid wheat genome. *BMC Genetics* 17: 87.
- TÜRKÖSI, E., FARKAS, A., ARANYI, N.R., HOFFMANN, B., TÓTH, V., MOLNÁR-LÁNG, M. (2014): Improvement of the agronomic traits of a wheat–barley centric fusion by introgressing the 3HS.3BL translocation into a modern wheat cultivar. *Genome* 57:(11/12) 601-607.
- TURNER, A., BEALES, J., FAURE, S., DUNFORD, R.P., LAURIE, D.A. (2005): The pseudo-response regulator *Ppd-H1* provides adaptation to photoperiod in barley. *Science* 310 (5750): 1031–1034.
- VALÁRIK, M., BARTOS, J., KOVÁROVÁ, P., KUBALÁKOVÁ, M., DE JONG, J.H., DOLEZEL, J. (2004): High-resolution FISH on super-stretched flow-sorted plant chromosomes. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology* 37 (6): 940–950.
- VERUSCHKINE, S.M. (1936): The prospects of hybridizing wheat with *Agropyrum*. *Selek. i Semen* 2: 28–33.

- VIDA, G., CSEPLŐ, M., GULYÁS, G., KARSAI, I., KISS, T., KOMÁROMI, J., LÁSZLÓ, E., PUSKÁS, K., WANG, Z., PACE, C., BEDŐ, Z., LÁNG, L., VEISZ, O. (2011): Effectiveness of major resistance genes and identification of new sources for disease resistance in wheat. *Acta Agronomica Hungarica* 59 (3): 241–248.
- WAN, Y.F., YEN, C., YANG, J.L. (1997): The diversity of head-scab resistance in *Triticeae* and their relation to ecological conditions. *Euphytica* 97 (3): 277–281.
- WANG, R., BOTHMER, R. von, DVORAK, J., FEDAK, G., LINDE-LAURSEN, I., MURAMATSU, M. (1995): Genome symbols in the *Triticeae* (*Poaceae*). In: *Triticeae*. R. C. Wang (ed.): 29–34. Utah State University.
- WANG, S.L., QI, L.L., CHEN, P.D., LIU, D.J., FRIEBE, B., GILL, B.S. (1999): Molecular cytogenetic identification of wheat-*Elymus tsukushiense* introgression lines. *Euphytica* 107 (3): 217–224.
- WANG, R.R.C., LI, X., HU, Z., ZHANG, J., LARSON, S.R., ZHANG, X., GRIEVE, C.M., SHANNON, M.C. (2003): Development of salinity-tolerant wheat recombinant lines from a wheat disomic addition line carrying a *Thinopyrum junceum* chromosome. *International Journal of Plant Sciences* 164 (1): 25–33.
- WANG, R.R.C. (2011): *Agropyron* and *Psathyrostachys*. In: *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. C. Kole (ed.): 77–108. Springer Berlin Heidelberg.
- WANG, R.R.C., LU, B. (2014): Biosystematics and evolutionary relationships of perennial *Triticeae* species revealed by genomic analyses. *Journal of Systematics and Evolution* 52 (6): 697–705.
- WENZL, P., CARLING, J., KUDRNA, D., JACCOUD, D., HUTTNER, E., KLEINHOF, A., KILIAN, A. (2004): Diversity Arrays Technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (26): 9915–9920.
- WILLIAMS, M.N.V., PANDE, N., NAIR, S., MOHAN, M., BENNETT, J. (1991): Restriction fragment length polymorphism analysis of polymerase chain reaction products amplified from mapped loci of rice (*Oryza sativa* L.) genomic DNA. *Theoretical and Applied Genetics* 82 (4): 489–498.
- WILSON, S. (1875): Wheat and Rye Hybrids. *Transactions of the Botanical Society of Edinburgh* 12 (1–4): 286–288.
- WOJCIECHOWSKA, B., PUDELSKA, H. (1993): Hybrids from reciprocal barley-wheat crosses. *Polish Journal of Theoretical and Applied Genetics*.
- WU, K.S., TANKSLEY, S.D. (1993): Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice. *Molecular and General Genetics MGG* 241 (1–2): 225–235.
- YAN, H., YANG, W., CHU, D. (2008): A new marker tagged to the leaf rust resistance gene *Lr38*. *Scientia Agricultura Sinica* 41 (11): 3604–3609.
- YASUI, H., IWATA, N. (1998): Cytogenetics of ditelosomic alien addition lines in rice (*Oryza sativa* L.) each carrying an extra pair of telocentric chromosomes of *O. punctata* Kotschy. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University* 43 (1): 1–9.

- YEN, C., YANG, J.L., YEN, Y. (2005): Hitoshi Kihara, Áskell Löve and the modern genetic concept of the genera in the tribe *Triticeae* (*Poaceae*). *Acta Phytotaxonomica Sinica* 43 (82–93).
- 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. *International Journal of Molecular Sciences* 16 (1): 2162–2173.
- ZHANG, W., LUKASZEWSKI, A.J., KOLMER, J., SORIA, M.A., GOYAL, S., DUBCOVSKY, J. (2005): Molecular characterization of durum and common wheat recombinant lines carrying leaf rust resistance (*Lr19*) and yellow pigment (*Y*) genes from *Lophopyrum ponticum*. *Theoretical and Applied Genetics* 111 (3): 573–582.
- ZHENG, Y.L., LUO, M.C., YEN, C., YANG, J.L. (1992): Chromosome location of a new crossability gene in common wheat [*Triticum aestivum*]. *Wheat Information Service (Japan)* 75.
- ZHONG, G.Y., DVORŔÁK, J. (1995): Evidence for common genetic mechanisms controlling the tolerance of sudden salt stress in the tribe *Triticeae*. *Plant Breeding* 114 (4): 297–302.

**M2.** A búza/árpa diteloszómás addíciós vonalak kiválogatása során vizsgált növényekben az egyes árpakromoszóma-karok előfordulásának gyakorisága

Genotípus	A kimutatott árpakromoszómák a levizsgált szemekben				
	2 telocentrikus kromoszóma	1 telocentrikus kromoszóma	Egyéb	Az árpa kromoszómák eliminálódtak	Vizsgált szemek száma
2HS	17	6	0	14	37
2HL	19	4	6	17	46
3HS	51	19	1	38	109
3HL	12	24	3	86	125
4HS	33	45	1	115	194
4HL	23	10	0	16	49
6HS	13	19	25	56	113
6HL	29	13	0	6	48
7HS	10	6	0	8	24
7HL	53	17	6	39	115
$\Sigma$	260	163	42	395	860

**M3.** 'Asakaze'/ 'Manasz' búza/ árpa diteloszomás addíciós vonalak, diszomás addíciós vonalak és búza szülői genotípusok ('Asakaze' és CS búzafajták) morfológiai tulajdonságai a martonvásári fitotronban 2013. december és 2014. március között: <sup>#</sup>szignifikánsan különbözik az 'Asakaze' búzafajtától, <sup>##</sup>: szignifikánsan különbözik a CS búzafajtától, <sup>###</sup>: szignifikánsan különbözik az 'Asakaze' és CS búzafajtáktól (P = 5% szignifikancia)

2013. Fitotron	Növénymagasság (cm)	Bokrosodás	Főkalász hossza (cm)	Szem/növény	Szem/főkalász
2HS	75,90 <sup>##</sup> ±6,06	3,30 <sup>#</sup> ±0,48	7,35 <sup>###</sup> ±0,74	104,30 <sup>#</sup> ±21,75	40,80 <sup>##</sup> ±5,51
2HL	76,20 <sup>##</sup> ±3,52	3,30 <sup>#</sup> ±0,48	6,90 <sup>###</sup> ±0,39	102,30 <sup>#</sup> ±17,04	36,80 <sup>###</sup> ±6,59
3HS	79,50 <sup>###</sup> ±5,40	3,20 <sup>#</sup> ±0,63	7,95 <sup>###</sup> ±0,43	97,40 <sup>#</sup> ±13,30	39,40 <sup>##</sup> ±9,44
3HL	81,90 <sup>#</sup> ±3,35	3,00 <sup>#</sup> ±0,82	5,87 <sup>#</sup> ±0,57	78,30 <sup>##</sup> ±19,77	33,50 <sup>###</sup> ±5,85
4HS	87,80 <sup>#</sup> ±4,21	2,40 <sup>##</sup> ±0,51	7,40 <sup>###</sup> ±0,56	111,10 <sup>#</sup> ±12,48	54,70 <sup>###</sup> ±7,19
4HL	55,10 <sup>###</sup> ±3,51	2,40 <sup>##</sup> ±0,84	7,90 <sup>###</sup> ±1,04	101,90 <sup>#</sup> ±20,35	52,30±14,02
6HS	72,70 <sup>##</sup> ±5,81	3,90 <sup>###</sup> ±0,74	10,40 <sup>##</sup> ±1,45	110,40 <sup>#</sup> ±36,07	45,50±13,25
6HL	82,90 <sup>#</sup> ±9,24	2,90 <sup>#</sup> ±0,56	8,50 <sup>###</sup> ±0,57	85,90 <sup>##</sup> ±13,06	37,20 <sup>###</sup> ±7,23
7HS	80,50±12,85	2,90 <sup>#</sup> ±0,87	10,00 <sup>##</sup> ±1,88	61,50 <sup>##</sup> ±40,06	26,90 <sup>###</sup> ±17,14
7HL	71,80 <sup>##</sup> ±8,97	4,10 <sup>###</sup> ±0,73	6,35 <sup>#</sup> ±0,88	48,10 <sup>###</sup> ±26,92	18,10 <sup>###</sup> ±9,07
2H	67,60±7,89	4,20±0,63	7,20±0,53	66,30±32,09	31,30±9,50
3H	75,90±11,52	3,30±0,48	8,40±1,46	97,80±22,81	34,90±2,60
4H	78,75±2,06	3,00±0,00	8,75±0,64	80,75±52,97	21,91±14,36
6H	78,60±4,00	3,20±0,63	8,95±0,59	75,20±15,10	29,80±6,12
7H	67,50±5,14	3,20±0,78	8,50±1,00	59,20±22,04	21,40±8,08
'Asakaze'	74,60±4,52	2,00±0,47	9,80±0,54	82,20±13,98	45,60±4,78
'Chinese Spring'	85,30±5,57	3,10±0,31	6,35±0,47	111,40±10,81	47,30±3,59

**M4.** 'Asakaze'/ 'Manasz' búza/ árpa diteloszómás addíciós vonalak, diszómás addíciós vonalak és búza szülői genotípusok ('Asakaze' és CS búzafajták) morfológiai tulajdonságai a martonvásári Tükrös tenyészkertben 2014-2015 vegetációs időszakban: #szignifikánsan különbözik az 'Asakaze' búzafajtától, ##:szignifikánsan különbözik a CS búzafajtától, ###: szignifikánsan különbözik az 'Asakaze' és CS búzafajtáktól (P = 0,05% szignifikancia szinten)

2015. Tükrös	Növénymagasság (cm)	Bokrosodás	Főkalász hossza (cm)	Szem/növény	Szem/főkalász	Ezerszem tömeg (g)
2HS	83,10±8,07	6,20±2,04	7,15 <sup>#</sup> ±0,82	232,40±104,19	44,7±11,38	28,90
2HL	89,10±9,58	5,90 <sup>#</sup> ±1,73	7,75 <sup>###</sup> ±0,95	237,70±95,39	51,70±11,62	23,80
3HS	96,10 <sup>###</sup> ±6,85	6,70±1,25	8,90 <sup>###</sup> ±1,26	267,90±95,00	49,00±8,33	29,80
3HL	98,80 <sup>###</sup> ±5,03	8,20±2,14	6,85 <sup>#</sup> ±0,94	288,00±120,47	41,90±11,82	34,30
4HS	106,40 <sup>###</sup> ±6,20	5,40 <sup>#</sup> ±1,17	7,20 <sup>#</sup> ±0,82	269,50±99,36	56,50 <sup>#</sup> ±14,65	32,50
4HL	79,00 <sup>###</sup> ±8,64	6,40±1,83	8,15 <sup>###</sup> ±0,91	365,40±151,17	70,30 <sup>###</sup> ±10,57	28,90
6HS	102,10 <sup>###</sup> ±4,63	5,70 <sup>#</sup> ±1,83	8,90 <sup>###</sup> ±1,13	253,50±91,87	54,50 <sup>#</sup> ±8,63	33,70
6HL	112,90 <sup>###</sup> ±7,17	5,80 <sup>#</sup> ±2,04	9,05 <sup>###</sup> ±1,06	264,30±105,49	50,20±10,11	37,20
7HS	100,50 <sup>###</sup> ±6,22	7,20±2,34	9,80 <sup>###</sup> ±1,20	312,20±126,77	53,10 <sup>#</sup> ±11,63	33,50
7HL	96,20 <sup>#</sup> ±9,46	5,80 <sup>#</sup> ±1,32	6,30 <sup>#</sup> ±0,88	191,90 <sup>###</sup> ±54,67	37,40 <sup>###</sup> ±8,23	27,40
2H	99,40±7,69	7,60±3,02	7,90±0,93	317,70±161,07	47,10±9,08	36,10
3H	105,70±5,69	7,50±1,90	9,30±1,25	422,50±160,70	59,20±16,93	35,40
4H	93,70±8,30	5,70±2,11	8,35±0,78	363,00±151,64	71,11±5,20	30,00
6H	91,60±5,81	7,80±2,82	8,80±0,67	351,60±143,12	55,10±4,25	32,60
7H	79,70±4,05	8,80±2,14	8,40±0,81	283,40±122,85	38,30±9,36	29,40
'Asakaze'	88,40±3,10	7,80±1,93	8,40±0,70	279,10±97,90	44,00±4,64	32,40
'Chinese Spring'	89,10±4,90	7,00±1,70	6,75±0,59	313,40±117,05	47,40±8,22	32,30

**M5.** Az 'Asakaze'/'Manasz' búza/árpa diteloszómás, diszómás addíciós vonalak és a szülői genotípusok ('Asakaze' és CS búzafajták, 'Manasz' árpafajta) virágzási idejének átlaga szántóföldi kísérletben (2015. Tükrös tenyészkert, Martonvásár) (napok száma 2015. január 1-től számítva)

Genotípus	2HS	2HL	2H	3HS	3HL	3H	4HS	4HL	4H	6HS	6HL	6H	7HS	7HL	7H	'Asakaze'	CS	'Manasz'
Virágzási dátum átlaga	132,4* <sup>#,†</sup>	131,6* <sup>#,†</sup>	129,8	129,2 <sup>#</sup>	130,3*	130*	132,5* <sup>#</sup>	128,8 <sup>#</sup>	130,8*	134,2* <sup>#</sup>	134,5* <sup>#</sup>	136* <sup>#</sup>	129,4 <sup>#</sup>	128,7 <sup>#</sup>	128,3 <sup>#</sup>	129	130,4	124,7
Szórás	1,35	1,26	1,13	1,14	1,34	0,67	0,97	1,31	0,42	1,14	1,59	0,81	0,7	1,16	0,67	0,81	1,07	0,82

\* Szignifikánsan különbözik az 'Asakaze' búzafajtától (P=0,05% szignifikancia szinten)

# Szignifikánsan különbözik a 'Chinese Spring' búzafajtától (P=0,05% szignifikancia szinten)

† Szignifikánsan különbözik a 2H addíciós vonaltól (P=0,05% szignifikancia szinten)



**M6.** A sóstressz hatása az 'Asakaze'/'Manasz' diteloszómás addíciós vonalak, 'Asakaze' és 'Manasz' szülői genotípusok csírázási képességére: csírázás (%), gyökérhossz (cm), hajtáshossz (cm), gyökértömeg (mg/növényke), hajtástömeg (mg/növényke)

Az adatok átlaga (n=60) mellett feltüntettük a szórást ( $\pm$ ) is minden egyes kezelésnél. A szignifikáns

		A	2HS	2HL	3HS	3HL	4HS	4HL	6HS	6HL	7HS	7HL	Manasz
Csírázás%	<b>Kontroll</b>	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a
	<b>NaCl 100mM</b>	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	100 $\pm 0$ a	94,4 $\pm 4,72$ a	97,3 $\pm 4,86$ ab	94,3 $\pm 4,71$ b	100 $\pm 0$ a	97,2 $\pm 4,86$ ab
	<b>NaCl 200mM</b>	86,4 $\pm 4,32$ bc	91,4 $\pm 4,57$ b	100 $\pm 0$ a	74,3 $\pm 3,72$ de	89,5 $\pm 4,48$ bc	85,7 $\pm 4,29$ bc	72,9 $\pm 3,65$ de	68 $\pm 3,41$ ef	56,7 $\pm 2,84$ g	58,4 $\pm 2,64$ g	92,3 $\pm 4,62$ bc	94,28 $\pm 4,71$ b
	<b>NaCl 250mM</b>	77,3 $\pm 3,86$ d	45,7 $\pm 2,28$ hi	89,2 $\pm 4,45$ bc	60,2 $\pm 3$ g	70,3 $\pm 3,51$ def	64,7 $\pm 3,23$ fg	51,35 $\pm 2,57$ h	43,3 $\pm 2,17$ i	50,55 $\pm 2,53$ h	52,9 $\pm 2,92$ h	85,66 $\pm 4,71$ c	87,5 $\pm 4,37$ bc
Gyökérhossz(cm)	<b>Kontroll</b>	5,78 $\pm 0,346$ b	6,18 $\pm 0,432$ ab	6,43 $\pm 0,332$ a	6,14 0,368 ab	6,28 0,251 ab	6,63 0,298 a	6,09 0,304 ab	4,98 0,199 c	5,22 0,313 bc	5,76 0,403 b	5,46 0,328 bc	5,07 0,304 c
	<b>NaCl 100mM</b>	5,083 $\pm 0,213$ c	5,335 $\pm 0,213$ bc	5,842 $\pm 0,204$ b	5,494 $\pm 0,374$ bc	5,195 $\pm 0,239$ bc	5,623 $\pm 0,337$ b	4,693 $\pm 0,282$ c	4,172 $\pm 0,279$ d	4,041 $\pm 0,323$ d	4,722 $\pm 0,283$ cd	4,974 $\pm 0,209$ c	4,483 $\pm 0,197$ d
	<b>NaCl 200mM</b>	1,902 $\pm 0,171$ f	1,189 $\pm 0,107$ h	2,042 $\pm 0,180$ f	1,544 $\pm 0,139$ g	1,631 $\pm 0,147$ fg	2,158 $\pm 0,194$ f	1,599 $\pm 0,144$ g	0,862 $\pm 0,077$ i	1,013 $\pm 0,091$ i	0,877 $\pm 0,079$ i	3,427 $\pm 0,223$ e	3,392 $\pm 0,237$ e
	<b>NaCl 250mM</b>	0,882 $\pm 0,106$ i	0,432 $\pm 0,052$ -	0,885 $\pm 0,106$ i	0,943 $\pm 0,113$ i	0,651 $\pm 0,078$ -	0,93 $\pm 0,112$ i	0,415 $\pm 0,050$ -	0,383 $\pm 0,046$ -	0,311 $\pm 0,037$ -	0,375 $\pm 0,045$ -	1,675 $\pm 0,201$ fg	1,89 $\pm 0,227$ fg
Hajtáshossz(cm)	<b>Kontroll</b>	4,03 $\pm 0,242$ b	3,96 $\pm 0,238$ b	4,493 $\pm 0,270$ a	3,583 $\pm 0,215$ c	4,075 $\pm 0,245$ ab	4,345 $\pm 0,261$ a	3,385 $\pm 0,203$ c	3,68 $\pm 0,221$ bc	3,73 $\pm 0,224$ bc	3,47 $\pm 0,208$ c	3,435 $\pm 0,206$ c	4,02 $\pm 0,241$ ab
	<b>NaCl 100mM</b>	2,672 $\pm 0,112$ e	2,564 $\pm 0,108$ e	3,633 $\pm 0,152$ c	1,914 $\pm 0,108$ g	2,6141 $\pm 0,110$ e	3,014 $\pm 0,137$ d	1,669 $\pm 0,107$ g	2,332 $\pm 0,098$ f	2,278 $\pm 0,096$ f	1,875 $\pm 0,079$ g	2,527 $\pm 0,106$ ef	3,524 $\pm 0,148$ c
	<b>NaCl 200mM</b>	0,253 $\pm 0,023$ -	0,122 $\pm 0,011$ -	0,186 $\pm 0,017$ -	0,136 $\pm 0,012$ -	0,138 $\pm 0,012$ -	0,193 $\pm 0,017$ -	0,115 $\pm 0,010$ -	0,103 $\pm 0,009$ -	0,122 $\pm 0,011$ -	0,106 $\pm 0,010$ -	1,114 $\pm 0,100$ h	1,524 $\pm 0,137$ gh
	<b>NaCl 250mM</b>	0,117 $\pm 0,014$ -	0,103 $\pm 0,012$ -	0,119 $\pm 0,014$ -	0,117 $\pm 0,014$ -	0,113 $\pm 0,014$ -	0,119 $\pm 0,014$ -	0,117 $\pm 0,014$ -	0,075 $\pm 0,009$ -	0,102 $\pm 0,012$ -	0,114 $\pm 0,014$ -	0,117 $\pm 0,014$ -	0,809 $\pm 0,097$ i
Gyökértömeg (mg /növényke)	<b>Kontroll</b>	39,9 $\pm 2,39$ bc	39,2 $\pm 1,96$ bc	41,2 $\pm 2,14$ bc	39,1 $\pm 2,11$ bc	40,8 $\pm 2,65$ bc	49,5 $\pm 2,92$ a	38,9 $\pm 2,29$ c	33,4 $\pm 1,82$ d	32,1 $\pm 1,76$ de	35,0 $\pm 1,68$ d	37,4 $\pm 2,02$ cd	36,2 $\pm 2,06$ cd
	<b>NaCl 100mM</b>	29,9 $\pm 1,79$ ef	30,4 $\pm 1,58$ ef	34,8 $\pm 1,62$ d	35,8 $\pm 1,79$ cd	37,0 $\pm 1,93$ cd	43,0 $\pm 2,10$ b	34,4 $\pm 1,99$ d	27,7 $\pm 1,81$ f	24,0 $\pm 1,73$ g	30,4 $\pm 1,79$ ef	32,7 $\pm 2,06$ de	31,5 $\pm 1,76$ e
	<b>NaCl 200mM</b>	9,41 $\pm 0,695$ j	4,77 $\pm 0,510$ k	8,30 $\pm 0,539$ j	7,42 $\pm 0,462$ j	7,36 $\pm 0,486$ j	5,72 $\pm 0,486$ k	4,50 $\pm 0,337$ k	7,14 $\pm 0,455$ kj	2,93 $\pm 0,396$ l	3,23 $\pm 0,333$ l	16,17 $\pm 1,37$ i	20,04 $\pm 1,49$ h
	<b>NaCl 250mM</b>	2,0 $\pm 0,5$ m	0,52 $\pm 0,23$ -	0,54 $\pm 0,25$ -	0,53 $\pm 0,325$ -	1,48 $\pm 0,32$ -	1,53 $\pm 0,24$ -	0,52 $\pm 0,26$ -	0,51 $\pm 0,27$ -	0,53 $\pm 0,24$ -	0,52 $\pm 0,25$ -	7,13 $\pm 1,06$ j	9,6 $\pm 1,44$ j
Hajtástömeg (mg /növényke)	<b>Kontroll</b>	33,2 $\pm 2,43$ cd	35,8 $\pm 2,68$ bc	35,2 $\pm 2,30$ c	38,04 $\pm 2,43$ bc	40,3 $\pm 2,62$ b	43,8 $\pm 2,58$ ab	35,6 $\pm 2,10$ c	37,6 $\pm 2,65$ bc	36,7 $\pm 2,45$ bc	30,6 $\pm 2,66$ cd	35,6 $\pm 2,63$ cd	46,6 $\pm 2,66$ a
	<b>NaCl 100mM</b>	24,8 $\pm 2,20$ ef	21,73 $\pm 1,88$ f	29,09 $\pm 1,97$ d	20,27 $\pm 2,05$ f	29,41 $\pm 2,18$ d	37,6 $\pm 2,2$ bc	25,66 $\pm 2,12$ e	28,01 $\pm 1,85$ de	24,34 $\pm 1,75$ ef	20,45 $\pm 1,97$ f	32,18 $\pm 2,38$ d	43,6 $\pm 2,18$ ab
	<b>NaCl 200mM</b>	1,21 $\pm 0,353$ -	1,13 $\pm 0,295$ -	1,42 $\pm 0,401$ -	1,24 $\pm 0,255$ -	1,34 $\pm 0,345$ -	1,53 $\pm 0,298$ -	1,04 $\pm 0,275$ -	1,22 $\pm 0,306$ -	1,02 $\pm 0,238$ -	0,82 $\pm 0,157$ -	6,75 $\pm 0,641$ g	9,20 $\pm 1,128$ g
	<b>NaCl 250mM</b>	0,51 $\pm 0,125$ -	0,49 $\pm 0,122$ -	0,51 $\pm 0,127$ -	0,50 $\pm 0,125$ -	0,45 $\pm 0,112$ -	0,55 $\pm 0,137$ -	0,43 $\pm 0,129$ -	0,45 $\pm 0,115$ -	0,52 $\pm 0,134$ -	0,51 $\pm 0,127$ -	0,55 $\pm 0,082$ -	0,56 $\pm 0,075$ -

különbségeket a Tukey post hoc teszt segítségével határoztuk meg. A különböző betűk a genotípusok közötti szignifikáns különbséget jelölik ( $P= 0.05\%$  szignifikancia szinten). Erős stressz esetén a sóstressz által előidézett drasztikus gátlás nem tett lehetővé érdemi statisztikai elemzést a genotípusok között, ezért ezt "-" jel jelöltük.

**M7.** A két 3HS.3BL/Bodri testvér vonal (I vonal- szálcacsonkos, II vonal-tar), és a búza szülői genotípusok ('Mv Bodri' és CS fajta, Mv9kr1 búzatörzs) morfológiai adatai a martonvásári organikus tenyészketben a 2012-2013 vegetációs időszakban

Genotípus	Növénymagasság (cm)	Bokrosodás kalász/növény	Szem/kalász	Szem/növény	Főkalász hossza (cm)	Ezerszem-tömeg (g)
3HS.3BL /CS/Mv9kr1	74,1	4,8	30,4	141,2	7,2	34,5
'Mv Bodri'	58,2	3,5	36	127,2	8,4	43,5
3HS.3BL/Bodri (F <sub>4</sub> ) I. vonal	62,1**	6***	37,1	222,6*	8**	32,1
3HS.3BL/Bodri (F <sub>4</sub> ) II. vonal	68,1***	6***	41,8**	238,9*	6,6***	33,5
'Chinese Spring'	81,9	5,2	31,3	162,8	6,6	32,1
Mv9kr1	66,9	4,4	40,5	178,4	8,7	38,4

Megjegyzés: \* szignifikánsan különbözik a 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 és 'Mv Bodri'-tól, \*\* szignifikánsan különbözik a 3HS.3BL/CS/Mv9kr1-től, \*\*\* szignifikánsan különbözik az 'Mv Bodri'-tól (P=0,05% szignifikancia szinten)

**M8.** A két 3HS.3BL/Bodri testvér vonal (I vonal-szálkacsonkos és II vonal-tar), és a szülői búza genotípusok ('Mv Bodri' és CS fajta, Mv9kr1 búzatörzs) morfológiai adatai a 2013-2014 vegetációs időszakban (1.) Martonvásár Tükrös tenyészkert (2.) Martonvásár nemesítők tenyészkertje (Lászlópuszta)

Genotípus	Növénymagasság (cm)		Bokrosodás kalász/növény		Szem/kalász		Szem/növény		Főkalász hossza (cm)		Ezerszem-tömeg (g)
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	
3HS.3BL /CS/Mv9kr1	130,6	109,9	11,6	8,9	35,2	37,9	411,4	340,6	8,7	7,9	39,7
'Mv Bodri'	79,6	72,8	5,5	9,3	34,5	50,2	184,7	459,7	9,8	9,8	37,0
3HS.3BL/Bodri (F <sub>5</sub> ) I. vonal	101,3*	94,3*	9,3***	11,4**	42,0*	52,5**	394,2***	579,7*	9,9**	9,9**	35,7
3HS.3BL/ Bodri (F <sub>5</sub> ) II. vonal	99,9*	101,3*	9,7***	11,8**	43,8*	46,6**	424,0***	553,3**	8,6***	7,8***	34,7
'Chinese Spring'	118,9	120	7,9	11,7	43,1	34,4	349,7	398,9	8,9	8,6	28,0
Mv9kr1	99	77,4	8,6	9,1	33,8	35,4	291,8	319,8	10,2	10,1	29,8

Megjegyzés: \* szignifikánsan különbözik a 3HS.3BL/CS/Mv9kr1 és 'Mv Bodri'-tól, \*\*szignifikánsan különbözik a 3HS.3BL/CS/Mv9kr1-től, \*\*\* szignifikánsan különbözik az 'Mv Bodri'-tól (P=0,05% szignifikancia szinten)

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönetemet fejezem ki mindazoknak, akik PhD munkám és a disszertáció elkészítése során segítségemre voltak.

Köszönettel tartozom a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont Mezőgazdasági Intézet jelenlegi főigazgatójának, Balázs Ervin akadémikus úrnak, és Bedő Zoltán akadémikus úrnak, az intézet volt főigazgatójának, hogy rendelkezéseimre bocsátották azokat a szellemi, tárgyi és anyagi feltételeket, amelyek elengedhetetlenek voltak a kutatómunkám elvégzéséhez. Köszönetemet fejezem ki a Szent István Egyetem Növénytudományi Doktori Iskola jelenlegi és volt vezetőjének, Helyes Lajos professzor úrnak és Heszky László akadémikus úrnak, hogy részt vehettem a Növénygenetika és Biotechnológia Programban.

Hálás köszönettel tartozom témavezetőmnek Dr. Lángné Dr. Molnár Márta az MTA doktorának, tudományos tanácsadónak, a Génmegőrzési és Organikus Nemesítési Osztály korábbi tudományos osztályvezetőjének áldozatos munkájáért, és, hogy lehetővé tette, hogy 2008-tól bekapcsolódjak az osztály munkájába, illetve megismertetett az idegen fajú keresztezések rejtjelmeivel. Munkám során szakmai segítséget nyújtott és bátorított céljaim elérésében.

Köszönettel tartozom Dr. Linc Gabriella tudományos osztályvezetőnek, aki egyengette szakmai előmeneteletemet, és kérdéseimmel bármikor fordulhattam hozzá.

Köszönetemet fejezem ki a Kalászos Gabona Nemesítési Osztály volt és jelenlegi vezetőjének, Dr. Láng Lászlónak és Dr. Vida Gyulának, akik biztosították a genetikai anyag felszaporítását a nemesítői tenyészkertben és a Molekuláris Nemesítési Osztály vezetőjének, Dr. Karsai Ildikónak szakmai útmutatásáért.

A volt Génmegőrzési és Organikus Nemesítési Osztály dolgozóinak és a Génmegőrzési Osztály minden dolgozójának köszönöm mindennapi munkámban nyújtott segítségüket. Külön köszönet illeti meg Dr. Kruppa Klaudiát, aki kezdetektől fogva szakmai és baráti segítséget nyújtott a molekuláris citogenetikai technikák elsajátításában, ötletekkel, tanácsokkal hatékonyabbá tette munkámat. Köszönettel tartozom Dr. Cseh Andrásnak a molekuláris vizsgálatokban nyújtott szakszerű, precíz segítségéért. Köszönöm Dr. Szakács Évának szakmai tanácsait és az ábrák készítésében nyújtott segítséget. A növénynevelésben és feldolgozásban nyújtott segítségéért köszönetemet fejezem ki Bucsi Istvánnának, Tóth Fanninak, Dr. Könyvesné Lakner Ildikónak, Bucsi Brigittának és Keserő Jánosnának. A tenyészkerti és fitotroni fotókért külön köszönet illeti Tóth Fannit.

Köszönöm Dr. Darkó Évának, a Növényélettani Osztály tudományos főmunkatársának a diteloszómás addíciós vonalak sötétítésnek vizsgálatát, illetve Tóth Violának, Mayer Mariannak és Ivanizs Lászlónak a genetikai anyagok molekuláris markeres elemzését.

Hálásan köszönöm szüleimnek, hogy mellettem álltak, szeretetükkel és támogatásukkal segítették álmaim megvalósulását. Végül, de nem utolsó sorban köszönöm családomnak, barátaimnak szeretetüket, biztatásukat, lelki támogatásukat.