Szent István Egyetem

Gödöllő

BÚZA GENETIKAI ALAPANYAGOK ELŐÁLLÍTÁSA, AGRONÓMIAI ÉS CITOGENETIKAI ELEMZÉSE

Doktori értekezés

Kőszegi Béla

Gödöllő

2002

Doktori iskola:

Tudományterület: Agrártudományok

Tudományág: Növénytermesztési és kertészeti tudományok, D62i Növénytudományi Doktori Iskola

Vezető: Dr. Virányi Ferenc, egyetemi tanár, az MTA doktora
SZIE Növényvédelemtani Tanszék, Gödöllő, 2103.

Titkár: Dr. Gyulai Gábor, egyetemi docens, a biol. tud. kandidátusa
SZIE Genetika és Növénynemesítés Tanszék, Gödöllő, 2103.

Doktori program

Növénynemesítés és biotechnológia

Vezető: Dr. Heszky László, egyetemi tanár, az MTA lev. tagja
SZIE Genetika és Növénynemesítés Tanszék, Gödöllő, 2103

Témavezető:

Dr. Lángné dr. Molnár Márta, tudományos főmts, a. mg. tudomány kand.
MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete
Martonvásár

Gödöllő: 2002.

Jóváhagyta:

……...	……...	……...
Dr. Virányi Ferenc, DSc iskolavezető	Dr. Heszky László, MTA l. tagja programvezető	Dr. Lángné, dr. Molnár Márta a mg. tud kandidátusa témavezető

…

Andreának és a gyerekeknek

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK 3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS 5
2.1. A TERMESZTETT BÚZA GÉNÁLLOMÁNYÁNAK BŐVÍTÉSE 5
2.1.1 A búza interspecifikus és intergenerikus hibridizálása 5
2.1.2. Addíciós vonalak előállítása 13
2.1.3. Spontán transzlokációk 13
2.2. AZ 1RS/1BL TRANSZLOKÁCIÓ KIALAKULÁSA, ELŐFORDULÁSA, VIZSGÁLATA 14
2.3. A BÚZA SZÁRAZSÁGTŰRÉSÉNEK GENETIKAI VIZSGÁLATA 17
2.3.1. A növények és a szárazság 17
2.3.2. A szárazságtűrés genetikai elemzése 19
2.4. KROMOSZÓMASÁVOZÁSI MÓDSZEREK ÉS ALKALMAZÁSAIK 21
2.4.1. A C- és az N- sáv technika 21
2.4.2. A sávozási technikák alkalmazása a citogenetikai elemzésekben 23
2.5. *IN SITU* HIBRIDIZÁCIÓ ÉS ALKALMAZÁSA A NÖVÉNYI GENOM ELEMZÉSÉNÉL 24
2.5.1. A módszer kialakulása és főbb típusai 24
2.5.2. Az *in situ* hibridizáció használata genomelemzésre és idegen fajú kromatin kimutatására 25
2.6. AZ ENDOSPERMIUM TARTALÉKFEHÉRJÉI ÉS ELVÁLASZTÁSUK 25
3. ANYAG ÉS MÓDSZER 29
3.1. A KÍSÉRLETEKBEN FELHASZNÁLT VAD FAJOK, FAJTÁK, VONALAK 29
3.2 A TRITICUM AESTIVUM × AEGILOPS CYLINDRICA ADDÍCIÓK ELŐÁLLÍTÁSÁNÁL HASZNÁLT KÍSÉRLETI MÓDSZEREK 30
3.2.1. A keresztezések technikája, a diszómás addíciók előállítása 30
3.2.2. Citológiai vizsgálatok 31
3.2.3. A kromoszómaszám megkettőzése kolhicin segítségével 32
3.2.4. Matematikai statisztikai módszerek 32
3.3. AZ 1RS/1BL TRANSZLOKÁCIÓ VIZSGÁLATÁNÁL ALKALMAZOTT MÓDSZEREK 32
3.3.1. *In situ* hibridizáció
3.3.2. Az 1B/1R transzlokációk kimutatásánál használt C-sáv módszer 37
3.3.3. Az 1B/1R transzlokációk kimutatása poliakrilamid gélelektroforézissel 37
3.4. A BÚZA SZÁRAZSÁGTŰRÉSÉNEK GENETIKAI VIZSGÁLATÁNÁL ALKALMAZOTT MÓDSZEREK 38
3.4.1. A kísérleti növények nevelési körülményei 38
3.4.2. A szárazságstressz típusai 38
3.4.3. A szárazságtűrés kísérletben vizsgált paraméterek 39
3.4.4. Az adatok feldolgozása 39
4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK 41
4.1. A *TRITICUM AESTIVUM* X *AEGILOPS CYLINDRICA* FAJKERESZTEZÉSEK SZÜLŐPARTNEREINEK CITOLÓGIAI VIZSGÁLATA 41
4.1.1. A *Triticum aestivum* x *Aegilops cylindrica* keresztezések eredményei 46

4.2. AZ 1RS/1BL TRANSZLOKÁCIÓK KIMUTATÁSÁBAN ELÉRT EREDMÉNYEK 54
4.3. A SZÁRAZSÁGTŰRÉS GENETIKAI ELEMZÉSÉNEK EREDMÉNYEI 66
4.3.1. A szubsztitúciós elemzés során kapott eredmények 66
4.3.2. A diszómás addíciós vonalak szárazságtűrésével kapcsolatos paraméterek elemzése 67
5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK 71
6. ÖSSZEFOGLALÁS 73
SUMMARY 75
IRODALOMJEGYZÉK 77
MELLÉKLET 93
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS 95

"One of the most promising ways to restore and enrich the cultivated gene pool is the utilization of the vast gene resources that exist in the wild relatives of wheat."
("A termesztett búza génállománya megőrzésének és gazdagításának legígéretesebb útja a búza vad rokonságában meglévő gazdag génforrások hasznosítása")

M. FELDMAN

1.**BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK**

Egyetlen parányi búzaszem is tükörként tárhatja elénk az emberi kultúra szinte egész történetét. Láthatjuk benne azt a sokezer évvel ezelőtt élt ősasszonyt, aki rájött, hogy jobban jár, ha olyan egyedek magjait veti, amelyeknek a kalásztengelye nem törékeny, a magjai nem peregnek ki a kalászból. Láthatjuk azt a földművest, valahol Kisázsiában, aki először választott ki hexaploid búzát, mert észrevette, hogy kenyeret lehet belőle sütni, ezért az egyik legkiemelkedőbb nemesítőt tisztelhetjük benne. Láthatjuk azt a többezer éves, felmérhetetlen erőfeszítést, amelynek eredményeképpen jelenleg termesztett búzafajtáink megfelelnek a kor támasztotta követelményeknek, megfelelő a terméshozamuk, minőségük és termésbiztonságuk, azaz ellenállóak a különböző kedvezőtlen környezeti hatásokkal, így például a faggyal, a szárazsággal, a talaj esetleg magas sótartalmával, a különböző betegségekkel szemben.

A nemesítés, a fajtaelőállítás azonban azzal a következménnyel is jár, hogy a szelektált populációk sebezhetősége növekszik, a szelekció ugyanis nyilvánvalóan eltávolítja a kérdéses populációt a természetes (az evolúció során kialakult egyensúlyi) állapottól. Ez a tény ösztönzi a kutatókat arra, hogy újabb és újabb genotípusokat vonjanak be vizsgálataikba és keresztezési programjaikba. Ez magyarázza a génbankok kialakítására és fenntartására fordított nem csekély anyagi és szellemi erőfeszítést. Arról van szó ugyanis, hogy a termesztett búza rokonságának génállománya számtalan, eddig kiaknázatlan lehetőséget kínál a különböző agronómiai tulajdonságok javítása, valamint a környezet védelme szempontjából. Érthető tehát a búza rokonsága iránt megnyilvánuló fokozott érdeklődés. Sok kutatási program tűzte ki célként gének, génkomplexumok, kromoszómák átvitelét vad búzafajokból a termesztett búzába. A gyakorlati megfontolásokon túl azonban elméleti szempontból is van jelentősége a vad fajokkal történő keresztezésnek, ugyanis a keresztezhetőség mértékéből a rokonság mértékére lehet következtetni, azaz a hexaploid búza evolúciójának folyamatára vonatkozó ismereteket is szolgáltatnak a keresztezési programok. Ilyen módon sikerült egyértelműen tisztázni a hexaploid búza teljes génállományát alkotó három genom (ABD) közül kettőnek (az A és a D) a forrását.

A világ búzanemesítésére igen nagy hatást gyakorolt az a transzlokáció, melynek során az 1B búzakromoszóma rövid karja centrális fúzió révén kicserélődött az 1R rozs kromoszóma rövid karjára. Az 1RS/1BL transzlokációt hordozó búza genotípusokban tehát egy olyan kromoszómapár található, amelynek rövid karja a rozs 1R kromoszóma rövid karja, hosszú karja pedig a búza 1B kromoszóma hosszú karja. Irodalmi adatok alapján közel négyszáz búzafajta hordozza ezt a transzlokációt, a magyar fajtákra vonatkozóan azonban csak a kilencvenes évek elejéről vannak erre vonatkozó adatok, indokoltnak tűnt tehát egy vonatkozó újabb vizsgálat, amely lehetőség szerint kiterjed az egész magyar fajtaszortimentre.

A nemesítők a transzlokációs kromoszóma 1RS karjára vonatkozó rekombinációk létrehozására is törekszenek, tehát fontos információt jelent számukra az, hogy mely fajtákban, milyen genetikai háttérben fordul elő a transzlokáció.

Az abiotikus környezeti stresszek közül a szárazság az, amely leginkább csökkenti a mezőgazdasági kultúrák termésmennyiségét, veszélyeztetve ezáltal az emberiség táplálékforrásait. Az agrotechnikai módszerek javításán túl a kultúrnövények, így a búza szárazságtűrésének javítása ezért elsőrendűen fontos nemesítési cél. E cél nem csak kívánatos, hanem lehetséges is, hiszen a búza és rokonsága ebből a szempontból is nagyfokú genetikai variabilitással rendelkezik. Fontos kutatási feladat tehát a szárazságtűrés genetikai kontrolljának feltárása, és a későbbiekben az ebből a szempontból hasznos gének átvitele.

Dolgozatomban három kísérletsorozatot foglaltam össze.

Az **első** egy keresztezési program, melynek célja *Triticum aestivum/Aegilops cylindrica* addíciós vonalak létrehozása. A vad tetraploid fajjal az *Aegilops cylindrica*val végzett klasszikus keresztezési program alapvető célja a *T. aestivum* fagyállóságának javítása az *Aegilops cylindrica* jó fagytűrőképességének segítségével. Az egyes vonalak azonosítására különböző kromoszóma-azonosítási technikákat adaptáltunk. A kísérlet során elemeztem a hibridek morfológiai és citológiai sajátságait, valamint egyes mennyiségi jellegeit.

A **második** kísérletsorozatban szárazságtűrés genetikai kontrolljának feltárása, ilyen gének lokalizálása céljából már meglévő Chinese Spring/*Agropyron elongatum* és Chinese Spring Imperial rozs addíciós, valamint Chinese Spring/Cappelle Desprez szubsztitúciós vonalak felhasználásával végeztünk kísérleteket a martonvásári fitotronban.

A **harmadik** kísérletsorozatban a két nagy magyarországi búzanemesítő műhely, az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete és a Gabonakutató Kht búzafajtáit vizsgáltam az 1RS/1BL transzlokáció előfordulása szempontjából. Az eredményesebb nemesítői munkához ugyanis nemcsak a génállomány bővítése, fontos agronómiai jellegekért felelős gének lokalizálása, hanem a meglévő fajták minél részletesebb genetikai elemzése is szükséges.

Kíváncsiak voltunk arra is, hogy a magyarországi fajtaszortimentben milyen az 1RL/1BS transzlokáció előfordulási gyakorisága, hiszen a potenciális nemesítési alapanyagok tanulmányozása a fenti szempontok alapján nélkülözhetetlen a korábbinál tudatosabb, az értékes rezisztenciagének hatékonyságát hosszú távon óvó korszerű növénynemesítés számára.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A TERMESZTETT BÚZA GÉNÁLLOMÁNYÁNAK BŐVÍTÉSE

2.1.1. A búza interspecifikus és intergenerikus hibridizálása

Az utóbbi néhány évtizedben intenzív fajták váltották fel a széleskörű adaptációs képességgel rendelkező tájfajtákat. A kultúrökoszisztémák ezáltal elvesztették kiegyensúlyozottságukat. Növekedett a betegségekkel, a környezeti stresszfaktorokkal szembeni érzékenység. A nemesítési tevékenység a genetikai bázis szűkülését eredményezte. A búza rokonsági körébe tartozó vad fajok többsége eredményesen keresztezhető a termesztett búzával (Sharma és Gill, 1983; Baum és mtsai., 1992; Jiang és mtsai, 1994; Sharma, 1995). Ezek a vad fajok tehát a búzanemesítés során hasznosítható géntartalékot jelentenek. A közönséges búza genetikailag kiegyensúlyozott hexaploid természete sokkal alkalmasabb a kromoszóma manipulációra (chromosome engineering), a genetikai módosításokra, mint a diploid fajok. Sok agronómiailag hasznos gént, pl. különböző betegségekkel szembeni ellenállóképességért, stressz- és sótűrésért felelős géneket sikerült már az eddigiek során átvinni vad fajokból a termesztett búzába (Zeller és Hsam, 1983; Gale és Miller, 1987; Knott, 1987; McIntosh, 1991; Islam és Shepherd, 1992; Friebe és mtsai, 1996).

A *Triticum* és a vele rokon nemzetségek, így főleg az *Aegilops* nemzetség vad fajainak gyűjtése, vizsgálata, a faj- és fajtagyűjtemények az ún. génbankok fenntartása ezért áll továbbra is a gabonafélékkel foglalkozó kutatók érdeklődésének homlokterében (Kihara és mtsai, 1965; Yamashita, 1968; Zohary és mtsai, 1969; Feldman és Sears, 1981; Limin és Fowler, 1985).

Annak ellenére, hogy a közönséges, vagy kenyérbúza (bread wheat) az emberiség egyik legfontosabb gabonanövénye, származását mind a mai napig nem sikerült megnyugtatóan tisztázni. Eleinte a fajok közötti rokonságot morfológiai jellegek alapján vizsgálták. Később klasszikus citogenetikai eljárásokat alkalmaztak a kérdés tisztázására, manapság pedig molekuláris genetikai, molekuláris citogenetikai módszereket használnak. A rokonsági kapcsolatok bizonyos fokú tisztázatlansága okozza a búza és rokonsága rendszerében tapasztalható bizonytalanságokat, amelynek következtében a fajok nevezéktana sem teljesen egységes. Az utóbbi másfél évtizedben is változott az elfogadott nevezéktan. Ez megnehezíti, sok esetben összezavarja a tudományos publikációk megértését. A 9. Nemzetközi Búzagenetikai Szimpozium (Morrison, 1998) és az Európai Búza Konszenzus Dokumentum (OECD, 1999) a van Schlageren (1994) féle rendszert javasolja elfogadni. Dolgozatomban én is ennek megfelelően használom a fajok neveit, függelékben pedig a könnyebb eligazodás kedvéért közlöm a Kimber és Sears (1987) által javasolt nevezéktant és az egyes fajokra vonatkozó általam fellelt szinonim elnevezéseket, hiszen az 1994 előtti publikációkban ezekkel is találkozhatunk. A leglényegesebb különbség Kimber és Sears, valamint van Schlageren rendszere és nevezéktana között, az hogy az előbbi a teljes *Aegilops* nemzetséget Bowden (1959) után a *Triticum* nemzetségbe sorolja, míg utóbbi megtartja az *Aegilops* nemzetség önállóságát, sőt egy diploid fajt [*T. tripsacoides* (Jaub. & Spach.) Bowden - Kimber és Sears szerint] egy újabb nemzetségbe az *Amblyopyrum* nemzetségbe sorol *Amblyopyrum muticum* (Boiss.) Eig néven. Ezzel kapcsolatban sem teljesen egységes még a kutatók véleménye.

A rokon fajokból a búzába történő génátvitel technikája nagymértékben függ a forrásul szolgáló faj és a búza közötti, az evolúció során kialakult genetikai távolságtól.

A kenyérbúza **elsődleges** géntartalékát alkotó fajok közé sorolhatjuk a *T. aestivum* tájfajtákat, a *T. turgidum* L. vad - és termesztett fajtáit, valamint a *T. monococcum* L.-t, az A genom forrását és varietásait a *boeticum*ot és az *urartu*t és a D genom donorját az *Ae. tauschii* Coss.-t. Ezekből a fajokból közvetlen hibridizáció során fellépő homológ rekombináció eredményezhet géntranszfert, a hibrideket visszakeresztezve és az utódokat szelektálva, megfelelő eredményt kaphatunk. Ilyen módon sok betegséggel és kártevőkkel szembeni ellenállóságért felelős gént sikerült átvinni a kultúrfajba (McIntosh, 1991, Friebe és mtsai, 2001)

A termesztett búza szempontjából **másodlagos** génforrásul azok a poliploid *Triticum*/*Aegilops* fajok szolgálnak, amelyeknek legalább egy közös genomjuk van a búzával. Homológ rekombináció ezen fajok esetében is lehetséges. A tetraploid *T. timopheevii* Zhuk. var. *timopheevii* és var. *araraticum* Jakubz. és azok a diploid *Aegilops* fajok, amelyek az *aestivum*ban található B genommal rokon S genomot hordoznak szintén értékes rezisztenciaforrások (Friebe és mtsai., 2001).

A **harmadlagos** génforráshoz tartozó fajok sokkal távolabbi rokonságban állnak a kenyérbúzával, ezért kromoszómáik nem homológok. A homológ kromoszómák párosodását és rekombinációját a búzában egy sajátos gén, az 5B kromoszóma hosszú karján lokalizált *Ph1* gén szabályozza. A hexaploid búza három különböző diploid genomot hordoz, ezért "szükség" volt egy olyan szabályozó rendszer kialakulására, amely meggátolja a különböző - de homeológ - kromoszómák közötti párosodást. Ha ugyanis ez a szabályozó rendszer nem lenne, a gyakori homeológ párosodások miatti rekombinációk a hexaploid genomot rendkívül instabillá tennék (Riley és Chapman, 1958a; Sears és Okamoto, 1958; Sears, 1976). A homeológ kromoszómák párosodását gátló rendszer működése miatt a hexaploid genom meióziskor úgy viselkedik, mintha diploid lenne, a 42 kromoszómából 21 bivalens alakul ki. A harmadlagos génforrást alkotó fajok és a búza közötti génátvitelhez tehát más módszereket kellett kidolgozni.

Teljes kromoszómakar átvitelére alkalmas az univalensekre jellemző centrikus törés-egyesülés mechanizmus (Sears, 1952). Az univalensek ugyanis hajlamosak a centroméránál eltörni, majd a törött karok újraegyesülnek. Ha egy idegen kromoszóma és a vele homeológ búza kromoszóma univalens állapotban van jelen, akkor viszonylag nagy gyakorisággal figyelhetünk meg teljes kar transzlokációt (Lukaszewski, 1993). Az 1BL/1RS búza-rozs transzlokáció is, amelynek előfordulásával a magyarországi búzafajtákban e dolgozatban én is foglalkozom, valószínüleg ezzel a mechanizmussal jött létre.

A hibridek előállításánál szükségesek az egyes fajok, nemzetségek keresztezhetőségére vonatkozó ismeretek. Megállapíthatjuk azt is, hogy a legtöbb interspecifikus és intergenerikus *Triticum* hibrid esetében nagyfokú hímsterilitással számolhatunk. A poliploid fajok a diploidokkal anyai szülőkként könnyebben kereszteződnek, mint apaiakként.

Snape és mtsai (1979) valamint Falk és Kasha (1981) bizonyos búzafajták rozzsal (*Secale cereale* L.), valamint *Hordeum bulbosum*-mal való keresztezhetőségének nagyfokú korrelációjáról számoltak be. Magyarországon termesztett búzafajták rozzsal való keresztezhetőségét Lángné és Sutka (1989) vizsgálta. Thomas és mtsai (1981) a keresztezhetőség hasonló, nagymértékű korrelációját figyelték meg a *T. aestivum* és a *S. cereale* L., valamint az *Agropyron* Gaertn., az *Elytrigia* Deasux, a *Secale* L. és az *Elymus* L. nemzetség egyes fajai esetében.

Taylor és Quisenberry (1935) szerint a búza és rozs keresztezhetőségéért a búzában egy, Lein (1943) szerint két recesszív gén (*kr1* és *kr2*) felelős. Ezzel szemben a rozsban domináns gének kontrollálják a búzával való keresztezhetőséget (Tanner és

Falk, 1981). Emiatt a keresztezhetőségi gének közötti kölcsönhatások növelhetik vagy csökkenthetik a szemkötést a búza-rozs, illetve a rozs-búza keresztezések esetében, továbbá ez azt jelenti, hogy azok a búza genotípusok, amelyek korábban már jó eredményeket adtak búza-rozs keresztezésekben, várhatóan jól fognak szerepelni interspecifikus, illetve intergenerikus keresztezési programokban is. Molnár-Láng és mtsai (1996) a keresztezhetőségért felelős *kr1* gént a Chinese Springből átvitték az Mv9 fajtába.

2.1.1.1. A hibridek sterilitása

Az interspecifikus- és intergenerikus hibridek sterilitása még akkor is akadályozza idegen gének átvitelét a termesztett búzába, ha sikerül megkerülni az inkompatibilitás okozta nehézségeket. A legtöbb steril hibrid azonban fertilissé tehető a hibrid magok vagy a növénykék kolhicinnel történő kezelésével (Sears, 1941a; 1941b). A természetes vagy szintetikus amfiploidok általában is jobban használhatók a kívánt idegen gén beviteléhez, mint azok a steril hibridek, amelyeket a termesztett búza és az átvinni kívánt idegen gént hordozó faj keresztezésével hozunk létre (Morris és Sears, 1967; Kimber, 1979).

Meg kell azonban említeni, hogy bizonyos szintetikus amfiploidok meiózisa instabil, ezért sterilitásuk nagy mértékű. Így például a *T. umbellulatum* × *Haynaldia villosa* Schur. amfiploid (Sears, 1941a). Bizonyos steril F_1 hibridek kolhicinkezelése pedig nem eredményes, azaz nem történik meg a kromoszómák megkettőződése. Islam és mtsai (1981) *T. aestivum* × *H. vulgare*, Gill (szóbeli közlés) *T. aestivum* × *Agropyron trachycaulum* Link. és *T. monococcum* var. *urartu* × *T. turgidum* var. *durum* esetében említenek ilyen tapasztalatokat.

A faj- és nemzetséghibridek sterilitásának egyik oka a fejlődő embriók abortálása, amely rendszerint azért következik be, mert hiányzik a proembriót tápláló endospermium, vagy az embrió fejlődésében következik be valamilyen zavar. Ezen nehézségek leküzdésére használják az embriótenyészeteket. Az embriótenyésztés azokban a hibridkombinációkban vezethet sikerre, amelyekben az embrió abortálása a gömbstádiumot követően, pl. a korai szívstádiumban következik be. Az ilyen embriók már közel vannak az autotróffá váláshoz (Dudits-Heszky, 2000). Az embriókultúra segítségével előállított fontosabb nemzetséghibrideket Heszky (1972), Collins és Grosser (1984) és Molnár-Láng és mtsai. (1999) foglalja össze.

Endo (1982, 1988) egyes *Aegilops* kromoszómák gametocid hatásáról számol be *Triticum-Aegilops* addíciókkal kapcsolatban. A legtöbb működőképes gaméta hordozott *Aegilops* kromoszómá(ka)t, de mind a hím-, mind a nőfertilitás erősen csökkent. Megemlíti továbbá azt is, hogy abban az esetben ha bizonyos (leginkább valószínűsíthetően a 2C) kromoszóma monoszómás formában van jelen Chinese Spring háttérben, akkor azokban a gamétákban, amelyekből a meiózis folyamán ez a bizonyos kromoszóma eliminálódott, gyakoriak a kromoszómatörések, kromoszóma aberrációk, deléciók. Bizonyos esetekben a törött kromoszómavégek nem más törött végekkel, hanem telomerikus struktúrával kapcsolódnak össze, így ezek a deléciós kromoszómák stabilizálódhatnak (Werner és mtsai, 1992). Az ilyen deléciós kromoszómákat hordozó növények utódaiban is megtaláljuk a deléciós kromoszómát, tehát a deléció stabilizálódott és szabályosan öröklődik. Ezzel a módszerrel 436 homozigóta deléciós vonalat állítottak elő homozigóta formában lényegében az összes búza kromoszómakarra vonatkozóan, kivéve a legtöbb 2A kromoszóma rövid kart és minden 4B kromoszóma rövid kart érintő deléciókat, ugyanis ezek homozigóta formában sterilek voltak. Nem

tudtak továbbá homozigóta delékiókat kapni a 4A, 5A, és 5D kromoszómák hosszú karját érintő jelentősebb mértékű delékiók esetében. A delékiókat Giemsa C-sáv technikával mutatták ki (Endo és Gill, 1996). Felhívják a figyelmet arra is, hogy a deléciós vonalak morfológiai, fiziológiai és biokémiai különbségeket mutatnak és rendkívül hasznosak lehetnek a búzagenom fizikai térképezésében. Tsujimoto és Tsunewaki (1984) egy *Aegilops speltoides*-ből származó gametocid génnek búza kromoszómába történt beépülését mutatja ki. Schubert (1989) és Blütner és mtsai (1988) szintén nagymérvű kromoszómális instabilitást tapasztaltak *Triticum aestivum* (Alcedo fajta) és *Aegilops caudata* L. (2n = 2x = 14, genom CC) amfiploidjaiban és visszakeresztezett származékaiban. Ezt az instabilitást szintén a gametocid hatásnak tulajdonítják.

2.1.1.2. Interspecifikus és intergenerikus hibridek

Knobloch (1968) terjedelmes listát közöl a *Gramineae* faj- és nemzetséghibridekről. Ebben 723 olyan hibridet említ, amelyekben egyik szülőként valamely *Triticum* faj szerepel. A Kimber és Abubakar (1979) által összeállított listán 318 olyan hibridet találhatunk, amelyek szülői 47 *Triticum* faj és a rokon nemzetségek (*Aegilops* L. *Agropyron* Gaertn., *Elytrigia* Desaux., *Secale* L., *Haynaldia* Schur.,) 86 fajának valamelyike.

A távoli keresztezések irodalmának összefoglalásai is igen gyakoriak. Néhány jelentősebb ezek közül: Percival (1921), Leighty és mtsai (1926), Aase (1930), Kihara (1954), Sears (1956a) Armstrong (1945) Sharma és Gill (1983), Belea (1986).

A szakirodalom által említett első *Triticum* fajhibridet Rosie (1955) szerint 1861-ben Hallet hozta létre, azonban Cifferi (1955) még korábbi eredményekről tesz említést, így Bellardiról és Barelleről, akik az 1800-as évek első évtizedében próbálkoztak *Triticum* fajhibridek előállításával. Percival (1921) szerint Bromsgrove 1846-ban számol be ilyen irányú munkájáról, Raynbird (1851-53) szintén 1846-ban állított elő *Triticum aestivum* × *Triticum turgidum* ssp. *durum* fajhibridet. A XIX. szd-ban még számos neves kutató, így többek között Körnicke (1885) és Vilmorin (1880, 1889) foglalkozott búza fajkeresztezéssel.

Hazánkban az ilyen irányú kutatások csak 1945. után kezdődtek el Mosonmagyaróváron, Fertődön és Kompolton. Az elsődleges cél a betegségrezisztencia-nemesítés volt. Martonvásáron 1950-ben (Kiss, 1955; Rajháthy és Lelley, 1955; Belea, 1964) indultak el az ilyen jellegű munkák, Belea később (1975, 1980, 1981) a Szegedi Biológiai Központ Genetikai Intézetében folytatta a búza faj- és nemzetségkeresztezés kutatását, a gyakorlati megfontolások mellett főként evolúciós genetikai céllal.

Az utóbbi évtizedben eredményes búza × árpa keresztezési program valósult meg Martonvásáron. Az *in vitro* szaporított hibridnövények utódaiban búza-árpa transzlokációkat is ki tudtak mutatni (Molnár-Láng és mtsai., 2000a). A korábban előállított Martonvásári 9kr1 segítségével pedig őszi búza × őszi árpa hibridek előállítása vált lehetővé (Molnár-Láng és mtsai., 2000b).

2.1.1.2.a. *Triticum* fajhibridek

Kihara (1938) és Kimber (1979) triploid hibrideket kaptak *T. monococcum* és tetraploid *T. turgidum*, illetve *T. timopheevii* keresztezésével. Ugyancsak triploid hibridet eredményez *turgidum*, illetve *timopheevii* vad *Triticum* fajokkal történő keresztezése is. A hibridek meiotikus kromoszómapárosodási adatai megbízható információt szolgáltatnak a szülői genomok homeológiájára vonatkozóan. Ennek alapján

a diploidok (2x) és tetraploidok (4x) genomjai között nagyobb mértékű a homológia, mint a 4x × 4x, 4x × 6x illetve a 2x × 6x kombinációk esetében.

Kostoff (1940) különböző kombinációkból állított elő tetraploid hibrideket. Termesztett *T. turgidum*-ot keresztezett *T. timopheevii*-vel, továbbá vad tetraploid fajokkal, mint például *Ae. triunciale*-val, *Ae. triaristata*-val, *Ae. ovata*-val, *Ae. cylindrica*-val, *Ae. crassa*-val, *Ae. ventricosa*-val. Szintén tetraploid hibrideket kapott *T. monococcum* és hexaploid *T. aestivum*, illetve *T. aestivum* vad diploid fajokkal történt keresztezése eredményeképpen. Azt is megállapította, hogy a tetraploid hibridek oktoploid amfiploidjai kevésbé fertilisek, citológiailag kevésbé stabilak, mint a tetra- illetve hexaploid amfiploidok.

Pentaploid hibridek jönnek létre a következő kombinációkból: *T. aestivum* × *T. turgidum*, *T. timopheevii* vagy valamely vad tetraploid *Triticum* faj. Továbbá: *T. turgidum* (vagy *T. timopheevii*) × hexaploid *Triticum* faj például *T. syriacum* Bowden (DMS) vagy *Ae. triaristata* Godr. & Gren.

Hexaploid hibrideket többek között *T. aestivum* × *Ae. juvenale* Thell., *T. syriacum*, *Ae. triaristata*, *T. zhukovskyi* Zhuk. kombinációkból nyerhetünk.

Sears (1941a, 1941b, 1948, 1956) többek között diploid *T. monococcum* és *Ae. bicorne* Forssk. *bicorne* Forssk., valamint *Ae. speltoides* Tausch, *Ae. caudata* L., *T. umbellulatum*, *Ae. tauschii*, Coss. *Ae. comosa* Sibth & Sm. és *Ae. uniaristata* Vis. F_1 hibridek és amfiploidok fertilitását és meiotikus kromoszómapárosodását vizsgálta. Kimber (1979) *T. monococcum* × *Ae. longissima* és *T. monococcum* × *Amblyopyrum muticum* Boiss. Eig F_1 nemzedékének vizsgálata alapján megállapítja, hogy az összes diploid F_1 teljesen önsteril és nagy mértékben nősteril. A legtöbb hibrid meiózisa során általában nem képződött zárt bivalens, esetenként egy legfeljebb két zárt bivalenst lehetett megfigyelni.

2.1.1.2.b. Intergenerikus *Triticum* hibridek

Amennyiben nem ismert olyan fajta a fajon belül, amelyben a kívánt tulajdonságok megvannak, a fajtakeresztezésektől nem várhatunk megfelelő eredményt. Továbbá, ha a fajkeresztezések sem vezetnek a kívánt tulajdonság elérésére, más nemzetséghez tartozó fajokat használhatunk keresztezési partnernek. Így lehetett például a rozs (*Secale*) jó homoktűrő képességét, a kecskebúza (*Aegilops*), a tarackbúza (*Agropyron*) betegségrezisztenciáját, a szem nagy fehérjetartalmát, a talajjal szembeni igénytelenségét a termesztett búzába átvinni.

A *Triticum* termesztett fajai eredményesen keresztezhetők *Aegilops*, *Secale*, *Agropyron*, *Elytrigia*, *Haynaldia*, *Elymus* és *Hordeum* fajokkal, azonban az F_1 hibridekben gyakorlatilag nem figyelhetünk meg meiotikus kromoszómapárosodást.

- *Triticum aestivum* × *Aegilops cylindrica* hibridek

A kecskebúza (*Aegilops cylindrica* L.; 2n = 4x = 28, genomformula: $C^cC^cD^cD^c$) a búzaföldek gyomnövénye, a hazánkban az egyetlen őshonos *Aegilops* faj (Dégen, 1917; Soó, 1973; Vörösváry és mtsai, 2000).

Az *Ae. cylindrica* esetenként spontán módon is kereszteződik a termesztett búzával. Ennek pl. a gyomirtószer-rezisztencia gén(ek)et hordozó búzafajtákkal való kereszteződés miatt lehet jelentősége, mert ilyen módon a transzgénikus növényfajtából a rezisztenciagén elterjedhet a gyomnövények között. Spontán *Aegilops* × *Triticum* hibridek létrejöttét figyelte meg Magyarországon Dégen (1917) és Rajháthy (1954). Ugyancsak *Aegilops* × *Triticum* spontán hibridekről számolnak be Popova (1923), Leighty és Taylor (1927), Vavilov (1935), Jakubciner (1932).

Az *Aegilops cylindrica* × *Triticum aestivum* hibridizálási kísérleteket Belea (1992) foglalja össze. Megállapítja, a szemkötés és a csírázási százalék abban az esetben a magasabb, amikor az *Aegilops cylindrica* az anyai partner. Ez általában is igaz az *Aegilops* × *Triticum* keresztezésekre.

Stefanovska és mtsai (1998) különböző *Aegilops* fajok (*Ae. cylindrica*, *Ae. juvenalis*, *Ae. triaristata*) valamint Chinese Spring, valamint Chinese Spring nulli 5B tetra 5D vonal éretlen embriókból előállított 29 hibridjének vizsgálata során megállapították, hogy a keresztezhetőség mértéke átlagosan 20,36%, reciprok keresztezés esetén pedig lényegesen alacsonyabb, átlagosan 3,77%, a megporzott virágokhoz viszonyítva. Az agronómiai és a morfológiai jellegek vizsgálata során heterózishatást észlelt a növénymagasság és a kalászhossz esetén, míg a kalászolási időben intermedier érték adódott. Az F_1 hibridek visszakeresztezésével 11 BC_1 növényt kapott, míg az F_1 növények szabad levirágoztatásával 23 F_2 növényt. A meiotikus kromoszómavizsgálatok alapján megállapította, hogy szignifikánsan magasabb a gyűrű alakú bivalensek száma a CS × *Ae. cylindrica* kombináció esetén, a reciprok keresztezéssel szemben.

Endo (1979) *Ae. cylindrica* és *T. aestivum* (cv. Jones Fife) keresztezésével előállított F_1-t ötször keresztezett vissza, annak érdekében, hogy citoplazma szubsztitúciós vonalat kapjon. Azonban az így nyert vonal csak részlegesen volt termékeny, és egy *Ae. cylindrica* kromoszómát is tartalmazott. A 43 kromoszómás növények önmegporzásával 44 kromoszómás vonalakat kapott, melynek meiózisában 22 bivalens volt megfigyelhető. Azonban már a monoszómás, de a diszómás addíciós vonalban is instabil volt a meiotikus párosodás, trivalensek, kvadrivalensek is képződtek. A monoszómás addíció jelentős mértékben csökkentette a fertilitást, míg a diszómás addíciónak csekély hatása volt a termékenyülésre. 22 önmegporzott vonalból 20 vonal utódnövényeinél megmaradt az *Ae. cylindrica* kromoszóma, ami arra utal, hogy ezen kromoszóma preferenciális átvitelére utal, továbbá, legalábbis az anyai oldal esetében gametocid hatása van. Chinese Springben az *Aegilops* kromoszóma hamar eliminálódik.

Endo később (1988) kromoszóma-szerkezeti változásokról, deléciókról, transzlokációkról számol be olyan monoszómás addíciós vonalak utódai esetében, amelyek *Ae. cylindricából* származó kromoszómát hordoznak. A szerkezeti változásokat mutató utódokból viszont már hiányzott az *Ae.* kromoszóma. A kromoszómatörések érintik az összes búza kromoszómát. Megfigyeléseiből azt a következtetést vonja le, hogy amennyiben a sporofita nemzedék *Ae. cylindrica* kromoszómát hordoz, a gametogenezis során kromoszóma-rendellenességek lépnek fel azokban a növényekben, amelyekből időközben eliminálódott az *Ae.* kromoszóma. Mivel gametocid hatást is megfigyelt, azt azzal

magyarázta, hogy ilyen esetekben a gamétában súlyos kromoszoszóma-rendellenességek alakultak ki, ami miatt működésképtelenné vált.

Ilyen gametocid hatást idéznek elő egyes *Ae. sharonensis*, *Ae. speltoides és Ae. triuncialis* kromoszómák.

Endo és Gill (1996) 436 deléciós vonalat állítottak elő Chinese Spring fajtában a 2C *Ae. cylindrica*, illetve *Ae. triuncialis*, és *Ae. sharonensis* monoszómás addíciók utódaiban. A deléciókat C-sáv módszerrel azonosították. Megállapították, hogy a deléciós kromoszómákkal rendelkező vonalak stabilak, a deléciós kromoszómák stabilan öröklődnek az utódokban, így a kapott deléciók 80%-ra nézve stabil homozigóta vonalakat sikerült előállítani. Ez alól a 2A, valamint a 4B kromoszóma rövid karját érintő deléciók voltak kivételek, mivel az ilyen homozigóta deléciós vonalak sterilek voltak. A 4A, 5A, 5B, és 5D kromoszómák hosszú karján nagyobb kromoszómaszegmentumot érintő deléciós vonalakból szintén nem lehetett homozigóta utódokat nyerni. Leírják, hogy a deléciós vonalak morfológiai, fiziológiai és biokémiai tulajdonságok tekintetében eltéréseket mutattak, attól függően, hogy mely kromoszómát, és annak milyen szegmentumát érintette a deléció. Rámutatnak, hogy a deléciós vonalak nagyon hasznos eszközei a búza kromoszómák fizikai térképezésének.

Linc és mtsai. (1999) az *Ae. cylindrica* genomszerveződését vizsgálták citogenetikai módszerekkel. C-sáv, GISH és FISH technikát alkalmazva megállapították, hogy az *Ae. cylindrica* C^c és D^c genomjai hasonlók a megfelelő donor diploid fajok az *Ae. caudata* L. (C) és *Ae. tauschii* Coss. (D) genomjaihoz. Intergenomikus transzlokációk kialakulását is meg figyelték.

Wang és mtsai. (2000) *T. aestivum* × *Ae. cylindrica* spontán hibridek búzával történő visszakereszteződését vizsgálták. Arról számolnak be, hogy a visszakeresztezésből (BC_2S_2) származó öntermékeny utódokban gyakran fordulnak elő extra kromoszómák és kromoszóma szegmentumok. Genomi *in situ* hibridizációval több búzakromoszómát (A és B genom kromoszómákat, a C genom kromoszómák mellett) és különböző transzlokációs kromoszómákat mutattak ki.

Az *Ae. cylindrica* az USA-ban a búza gyomnövényeként fordul elő, amely a búzával keresztezhető. Snyder és mtsai. (2000) szántóföldi kísérletekben a búza közé különböző arányban elvetve búza × *Ae. cylindrica* hibrideket azt tanulmányozták, hogy a hibrid növények a búzával visszakereszteződve, fertilis utódokat eredményeznek-e, ily módon lehetővé téve, hogy a herbicidrezisztencia transzgén a vad faj révén elterjed a gyompopulációban. Azt találták, hogy fertilis BC_1 növények jönnek létre, vagyis a transzgén elterjedésének fennáll a lehetősége.

Friebe és mtsai. (2000) szintén az *Ae. cylindrica* $2C^c$ kromoszóma gametocid tulajdonságát használták búza-rozs addíciós vonalakban kromoszómaátrendeződések vizsgálatára. Erre a célra olyan vonalakat használtak, amelyek diszómásak a kérdéses rozs kromoszómára, valamint monoszómás állapotban hordozzák az *Ae. cylindrica* $2C^c$ kromoszómát. Az utódok 7%-ban azonosítottak átrendeződött rozs kromoszómát, 4,6%-ban volt kimutatható kromoszóma deficiencia, 1,8 %-ban búza-rozs dicentrikus kromoszóma és 0,6%-ben terminális transzlokáció. Visszakeresztezést követő önmegporzással 56 deficiens rozs kromoszómát sikerült homo-, vagy heterozigóta formában azonosítani az utódokban. A deficiencia a 7R kromoszóma kivételével, az összes rozs kromoszómát érintette.

- Búza × rozs (*Triticum* × *Secale*) hibridek

Az első búza × rozs meddő hibridről Wilson (1876) számolt be, célja a két növény kedvező tulajdonságainak egyesítése volt. Az első termékeny búza × rozs hibridet Rimpaunak 1890-ben sikerült előállítania. Ez a hibrid triticale néven vált ismertté.

A búza és a rozs fajok keresztezhetőségében lényeges intraspecifikus variabilitásról számol be már 1928-ban Leighty és Sando. Megemlítik azt is, hogy könnyebben lehet búza - rozs hibridet kapni, mint rozs - búza hibridet. A legtöbb búza - rozs hibrid teljesen hímsteril és nagymértékben nősteril. A búza kromoszómák nem párosodnak a rozs kromoszómákkal, emiatt a meiózis nagymérvű instabilitást mutat az F_1 generációban.

Kiss (1968) 1951-ben kezdte el Martonvásáron azt a munkát, amely elvezetett az első hexaploid Triticale megszületéséhez. A hibrid a Fleischmann 481 × rozs (2n=56) és a *Triticum turgidum* × rozs (2n=42) amfiploidok kétszeres keresztezéséből származott 1955-ben.

Kiss (1966) a diploid, tetraploid és hexaploid *Triticum* fajok rozzsal való keresztezése során megállapította, hogy leggyengébben a diploid fajok (*T. monococcum, T, boeoticum*) kereszteződnek rozzsal. A tetraploid fajok közül a *T. durum* és a *T. carthlicum* nagyobb szemkötést adnak, mint a *T. timopheevii*, a *T. turgidum* és a *T. dicoccum.* Legjobb szemkötést a hexaploid búzafajok adták (*T. spelta, T. aestivum*).

Kiss (1968) különböző rozsfajok (*S. vavilovii, S. cereale, S. montanum, S. africanum*) szemkötését is tanulmányozta búzafajtákkal történő megporzáskor.

- Búza × tarackbúza (*Triticum* × *Agropyron*) hibridek

Az első búza × tarackbúza hibridet is Wilson (1876) állította elő. Később, 1929-ben Cicin az egykori Szovjetúnióban foglalkozott ilyen keresztezésekkel. Hazánkban elsőként Kiss Árpád Mosonmagyaróváron végzett búza × tarackbúza keresztezéseket 1946-ban, majd ez a munka 1950-ben Martonvásáron folytatódott. Ezt a hibrid anyagot fejlesztette tovább Szalai (1968), aki az *A. elongatum* × *T. aestivum hibridnek T. aestivummal* való többszöri visszakeresztezéséből perspektivikus törzseket szelektált, majd ezekből a törzsekből állította elő az Alföld fajtát.

A hozzávetőleg száz *Agropyron* fajból (az *Elytrigia* nemzetséget is beleértve) közel 30-at kereszteztek *Triticum* fajokkal (Smith, 1943; Sharma és Gill 1983). Sears (1948) szerint az *Agropyron* kromoszómák nem párosodnak a búza kromoszómáival. Az *Agropyron elongatum* (Host) Beauv. (*Elytrigia pontica* Holub.) és az *Agropyron intermedium* (Host) Beauv. (*A. glaucum* Desf.) a keresztezésekben leggyakrabban használt fajok. A legkönnyebben a tetraploid *T. turgidum*-mal és a hexaploid *T. aestivum*-mal kereszteződnek. A *T. aestivum* × *A. elongatum* F_1 hibridek fertilitása nagymértékben függ a szülőpartnerként használt genotípustól. Sharma és Gill (1983) *T. aestivum* × *A. trachycaulum*, *aestivum* × *A. ciliare* (Trin.) Franchet (*Elymus ciliaris* (Trin.) Tzveler, *aestivum* × *A. juncaceum* és *aestivum* × *A. intermedium* hibrideket állított elő. Muramatsu és Ikeda (1983) az éretlen hibrid embriók táptalajon való nevelésével nyert *aestivum* × *Agropyron* hibrideket különböző Japánban honos genotípusokból.

2.1.2. Addíciós vonalak előállítása

A búza azon távolabbi rokonai közül, melyek egyik búza genomot (A, B, D) sem hordozzák, sok rendelkezik olyan hasznos tulajdonságokkal, mint például különböző betegségekkel és környezeti stresszténye zőkkel szembeni rezisztencia. Az ilyen tulajdonságok átvitelére különböző módszereket dolgoztak ki.

Már régóta (Leight és Taylor, 1927; O`Mara, 1938) ismert lehetőség egy növényfaj egy vagy több kromoszómájának addíciója egy másik faj kromoszómaszerelvényébe. Az egy idegen kromoszóma bevitelével kapott egyedeket monoszómás-, egy kromoszómapár bevitelével kapott egyedeket diszómás addícióknak nevezzük.

A nemesítés szempontjából fontos génátvitel rendszerint egyszerűen öröklődő jellegeket (mint a már említett betegségrezisztencia, kártevő rovarokkal szembeni ellenállóképesség) érint. Ezekben az esetekben célszerű a kívánt tulajdonságot hordozó kromoszóma addíciós (vagy szubsztitúciós) vonalának előállítása. A módszer röviden a következő: az idegen fajt keresztezzük a búzával, és vagy a polihaploid F_1 növényeket, vagy a kolhicinnel előállított amfiploidokat visszakeresztezzük a búza szülővel, majd további visszakeresztezéseket követő önmegporzás után, melynek eredményeképpen addíciós vonalakat kapunk, amelyekből kiválogatjuk a kívánt tulajdonságot hordozó egyedeket.

A monoszómás addícióknál gyakran találkozhatunk a miszdivízió jelenségével - amikor a nem párosodó (univalens) kromoszómák keresztirányban válnak szét a centromeronnál (szemben a normális hosszirányú szétválással), - és telocentrikus addíciókat kaphatunk. Ez abból a szempontból feltétlenül előnyös, hogy a teloszómás vonalak citológiailag nagyon könnyen azonosíthatók (Sears, 1981). Az addíciós vonalak az euploidokhoz képest kétségkívül kevésbé stabilak. A meiózisban bekövetkező minden olyan zavar, amely az idegen kromoszómák párosodását érinti, legtöbbször azok eliminációját eredményezi. Ez valószínűleg a normális gamétának az evolúció során kialakult kompetitív előnyére vezethető vissza.

2.1.3. Spontán transzlokációk

A távoli keresztezésekből származó hibridekben esetenként spontán transzlokációk figyelhetők meg az idegen faj és a búza kromoszómái között. Számos termesztett fajta hordoz például spontán 1B/1R transzlokációt (Mettin és mtsai, 1973; Zeller, 1973; és 2.2. fejezet).

A búza - *Agropyron* származék Agent fajta pedig egy, a 3D kromoszómát érintő transzlokációt hordoz (Smith et. al., 1968). A transzlokáció következtében kialakult levélrozsdarezisztenciát (*Lr24* gén) számos amerikai fajtába vitték át ezzel a módszerrel.

Sears (1972) teljes kromoszómakart érintő géntranszferre vonatkozó módszert javasol. A módszer lényege a következő: a 20^{II} + 1^{I} (B) + 1^{I} (idegen) kromoszómaszerelvényű növényeknél az univalensek miszdivíziója figyelhető meg. Abban az esetben, amikor ez mindkét univalenst érinti ugyanabban a sejtben, a búza kromoszómakar összekapcsolódhat az idegen kromoszómakarral. Azonban ennek gyakorisága olyan kicsi, hogy a módszer gyakorlati alkalmazását korlátozza (Sears, 1981). Ennek ellenére Zeller (1981) például Chinese Spring monoszómás vonalak és Chinese Spring - rozs addíciós vonalak keresztezéséből származó növényeknél két esetben figyelt meg búza - rozs transzlokációt. Mivel azonban a spontán transzlokációk gyakorisága igen kicsi, továbbá nem irányítottak, módszereket dolgoztak ki transzlokációk és rekombinánsok indukálására.

2.2. AZ 1RS/1BL TRANSZLOKÁCIÓ KIALAKULÁSA, ELŐFORDULÁSA, VIZSGÁLATA

A világ búzanemesítésére igen nagy hatást gyakorolt az a transzlokáció, melynek során az 1B búzakromoszóma rövid karja centrális fúzió révén kicserélődött az 1R rozs kromoszóma rövid karjára. Az 1RS/1BL transzlokációt hordozó búza genotípusokban tehát egy olyan kromoszómapár található, amelynek rövid karja az 1R rozs kromoszóma rövid karja, hosszú karja pedig az 1B búza kromoszóma hosszú karja. A spontán transzlokációról először Kattermann (1937), O'Mara (1947), valamint Riley és Chapman (1958b) számoltak be. Az azóta eltelt évtizedek alatt több mint 250 búzafajtával kapcsolatban számoltak be az 1RS/1BL transzlokáció előfordulásáról. (Zeller, 1972; Mettin és mtsai, 1973; Schlegel és mtsai, 1994; Lukaszewski, 1990; Rabinovich, 1997). A jelenleg termesztett fajták nagy hányadában található hasonló génkomplexum, mely magában foglalja az *Sr 31* szárrozsda (*Puccinia graminis*), az *Lr 26* levélrozsda (*P. recondita*), az *Yr 9* sárgarozsda (*P. striiformis*) a *Pm 8* lisztharmat (*Erisiphe graminis*) és a *Gb* levéltetű (*Schizapis graminum*) géneket (Sebesta and Wood, 1978; Zeller and Fuchs, 1983; Heun and Fischbek, 1987). Bár a génkomplexum már elvesztette lisztharmat és levélrozsda ellenállóságát, szárrozsdával szemben még megvédi a fajtákat. (Bedő és mtsai, 1993). A transzlokáció nagy gyakoriságú előfordulása miatt fontos cél a nemesítési alapanyagok széleskörű tesztelése e tekintetben, annak érdekében, hogy tudatosan, 1RS/1BL transzlokációtól mentes új fajtákat lehessen a búzanemesítők számára alapanyagként ajánlani.

A búza-rozs transzlokációs formák spontán módon keletkeztek a húszas és harmincas években Németországban végzett búza-rozs keresztezésekből. Zeller és Fuchs (1983) két transzlokációs forrást említ Salzmündét (Salzmünder Bartweizen, nemesítő: Riebesel) és Weihenstephant (Neuzücht, nemesítő Kattermann), azonban néhány szerző egyetlen forrást feltételez (Lein, 1943; Moonen és Zeven, 1984). Schlegel és Korzun (1997) a Petkus rozsfajta és különböző, de ismert pedigréjű búzafajták RFLP elemzése alapján azt állapítják meg, hogy a Salzmündei és a Weihenstephanból származó transzlokációs fajták mintázata nagymértékben hasonlít, ami csak közös származással magyarázható. Lein, aki Riebesel asszisztense volt, beszámol arról, hogy a Salzmündében végzett keresztezések anyagait tesztelésre szétküldték egész Németországba, így Weihenstephanba is. A közös eredetet támasztja alá P. Bartos is (publikálatlan adat), aki a két német forrásból származó fajták reprezentánsainak (Avrora, Kavkaz, Winnetou, Orlando, Saladin, valamint Benno és Clement) levélrozsda-reakcióját vizsgálva a két forrásból származó fajtáknál nem talált különbséget a különböző rozsdarasszokkal szembeni reakcióban, vagyis nem talált allélikus variációt. Szárrozsdára vonatkozóan szintén erre az eredményre jutott a salzmündei eredetű Orlando és a weihenstephani Zorba fajták esetében.

Az 1RS/1BL transzlokáció magyar búzanemesítésbe a hatvanas évek második felében nemesített szovjet Auróra, Kavkaz, Szkoroszpelka 35 és Bezosztaja 2 fajták révén került be. Mindegyik emlitett fajta nemesítője Lukjanyenko (1973), aki az alábbiak szerint írja le e fajták szelekcióját: A Neuzucht produktív, kompakt kalászával tűnt ki. Kedvező feltételek mellett 5-6 szem volt kalászkánként és 23 kalászka volt egy kalászban, melyben nem volt ritka a 70 vagy annál több szem. Megdőlés- és sárgarozsda ellenálló, szár- és levélrozsdával kissé fertőződik. Ugyanakkor rossz a sütőipari minősége, késői érésű, szárazságra érzékeny és kevésbé jó a télállósága. Az 1954-ben megkezdett keresztezési programban kiemelkedő teljesítményt adtak termőképességre a Neuzucht × Bezosztaja 4 kombinációból szelektált törzsek, de késői érésűek és rossz minőségűek voltak. Továbbfejlesztésükre 1960-ban a Lutescens 314 h 147-es törzsüket a Bezosztaja 1-gyel keresztezték, majd az F_3 nemzedékben kalászszelekcióra került sor. A

hat legjobb törzs közül az 1967-ben állami fajtakísérletekbe bejelentett Auróra és a Kavkaz tűnt ki.

Az Aurórát és a Kavkazt Magyarországon 1970-ben minősítették. 1971-től 3 év alatt 1%-ről 48%-ra nőtt a két fajta vetésterülete, de ekkor a 4-es, 26-os és egy új, az 52-es lisztharmat rassz felszaporodása következtében fogékonnyá váltak (Szunics és Szunics, 1978), mivel ezek a rasszok a *Pm8* lisztharmatrezisztencia-génre virulensek voltak. Miután e fajtákat kivonták a köztermesztésből, fogékonyságuk is némiképp csökkent, de eredeti ellenállóságukat nem nyerték vissza (Szunics és Szunics, 1984). A *Yr9* sárgarozsdarezisztencia-gén szintén az 1RS/1BL transzlokáció révén került a Kavkazba és az Aurórába. Szunics és mtsai (1989) vizsgálatai szerint a rasszok egy része virulens, másik része avirulens volt a génre. Az *Lr26* levélrozsda rezisztencia-gén, mely szintén e transzlokáció révén lelhető fel, ugyancsak nem hatékony a kelet-európai rasszpopulációval szemben (Szunics és mtsai, 1991).

Az 1RS/1BL transzlokáción található rezisztencia-gének közül az *Sr31* szárrozsdaellenállóság-gén bizonyult ezidáig a legjobb hatékonyságú rezisztencia-faktornak. Roelfs (1988) 86, különböző földrajzi helyről származó fajtát említ, mely rendelkezik az *Sr31* génnel. Hasonló megállapítást tesznek Szunics és mtsai, (1991). Megfigyeléseik alapján az ilyen fajták általában nem, vagy csak a tenyészidő végén fertőződnek csekély mértékben. Ugyanakkor megjegyzik, hogy a Bezosztaja 2 bizonyos esetekben hasad erre a tulajdonságra, az ellenállótól a fogékonyig megtalálható minden típus. A fertőzési adatok és a fajták genealógiája alapján Szunics és Szunics (1993) úgy vélik, hogy a Martonvásári 14, a Martonvásári 15, a Martonvásári 20 és a GK Zombor a Kavkaztól, a Martonvásári 23 a Kavkaztól vagy a Bezosztaja 2-től, a GK Ságvári az Aurórától örökölte az *Sr31* gén által biztosított ellenállóságot.

Az 1RS/1BL transzlokáció a magyarországi búzanemesítési programokban is elsősorban az Auróra és a Kavkaz fajtákon keresztül terjedt el, a martonvásári keresztezésekben elsősorban az utóbbi fajta szerepelt gyakran. A fajta jelentőségét mutatja, hogy több búzafajta született e kombinációkból (2.1 ábra), és még 1985-ben is 430 olyan törzs szerepelt a martonvásári nemesítési programban, amelynek pedigréjében a Kavkaz szülőként vagy nagyszülőként szerepelt. Ebben az évben a fajta a teljes martonvásári tenyészanyag genetikai hátterében 1.18%-al szerepelt. Ez az arány az évek folyamán 0,16%-ra csökkent, ami részben a közvetlenül a Kavkaztól származó törzsek számának csökkenéséből (163 db), részben pedig abból adódik, hogy a fajta ekkor már nem nagyszülőként, hanem távolabbi ősként szerepel a törzsek pedigréjében (2.1 táblázat). (Láng és Bedő, 1994)

2.1 táblázat A Kavkaz és az Mv15 gyakorisága és részaránya a martonvásári búzanemesítési programban (1985-1991)

Fajta		1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993
Kavkaz	Törzsek száma	430	250	173	213	193	191	163	82	35
Kavkaz	Vérarány	1,18	0,69	0,44	0,40	0,39	0,31	0,16	0,09	0,03
Mv 15	Törzsek száma	9	50	203	408	720	1084	1164	1099	823
Mv 15	Vérarány	0,06	0,42	1,18	2,60	5,53	8,66	8,21	8,95	6,23

Bedő és mtsai (1993) a Martonvásári 14, Mv 15, Mv 16, Mv 17, Mv 18, Mv 19, Mv 20, Mv 21, Mv 22 és Mv 23 fajták gliadin összetétele alapján következtettek az 1RS/1BL transzlokáció meglétére. Az említett búzafajták pedigréje alapján a transzlokációs kromoszóma öt forrását feltételezi: az Mv 14, Mv 15, Mv 16 és az Mv 20 a Krasznodárból származó Kavkaztól, az Mv 18 a sós-szigeti Solaristól, az MV 21 és Mv 22 az újvidéki Posavka 2-től, az Mv 19 a generál tosevoi GT 5239-2-től örökölte a transzlokációt. Az Mv 17 és az Mv 23 pedigréjében szereplő MvTF törzsben (martonvásári törpeforrás) mind a Kavkaz, mind a Bezosztaja 2 megtalálható, mint lehetséges 1B/1R donor. A Solaris ősei között pedig megtalálhatjuk a Kavkazt, a Posavka 2-ében a Szkoroszpelka 35-t a GT 5239-2-ében az Aurora, mint a transzlokáció forrása.

A transzlokációt hordozó genotípusok általában megnövekedett produktivitásúak. Ugyanakkor a rozsból származó génkomplex kedvezőtlen hatással van a búza sütőipari minőségére, mely egyrészt a gamma secalin jelenlétének tudható be az omega- és gamma gliadinok helyett, másrészt az 1BS kromoszóma - azaz az 1B rövid karja - kismolekula-súlyú glutenin alegységeinek hiányára vezethetők vissza. Bedő és mtsai (1993) a sütőipari minőségben jelentős különbséget figyeltek meg. Az 1B/1R transzlokáció jelenléte ellenére a vizsgált fajták többsége jó reológiai tulajdonságokkal rendelkezett, kenyértérfogata pedig megfelelő volt. Ennek alapján osztják Javornik és mtsai (1991) a jó minőségű és 1B/1R transzlokációt hordozó Balkán, Jugoszlávia és Zvezda fajták vizsgálata alapján kialakított véleményét, melyet Graybosch és mtsai (1990) azzal támasztanak alá, hogy az 1B/1R genetikai háttere jelentősen módosíthatja a sütőipari tulajdonságot. Ezt az álláspontot támasztja alá Martin és Carrillo (1999), aki megállapítja, hogy az 1BL/1RS transzlokáció hatása a legtöbb minőségi tulajdonság vonatkozásában nagymértékben függ az adott, transzlokációt hordozó fajta a genetikai hátterétől.

1RS/1BL transzlokáció kimutatására több módszer ismeretes és alkalmas, így a 2.4. fejezetben említett kromoszóma-sávozási módszerek közül különösen a C-sáv technika, a 2.5. fejezetben említett genomi *in situ* hibridizálás és a 2.6. fejezetben tárgyalt SDS-PAGE. A citogenetikai módszerekkel nem csak a transzlokáció ténye állapítható meg, hanem az is vizsgálható, hogy vajon a transzlokáció érinti-e a teljes kromoszómakart, vagy esetleg csak kisebb részét. Berzonsky és Francki (1999) összefoglalják az 1RS rozs kromoszóma-kar és az 1-es homeológ csoporthoz tartozó búza kromoszómák rövid karjának kicserélődésével létrejött transzlokációk kimutatására szolgáló technikákat. Összehasonlítják a gél elektroforézissel, HPLC-vel, monoklonális antitestekkel, rozs-specifikus molekuláris próbákkal, RFLP és PCR próbákkal, kromoszóma-sávozással, *in situ* hibridizációval és flow-citometriával elérhető eredményeket.

Moonen és Zeven (1984) SDS-PAGE-val vizsgált 17 búzafajtát, melyből négynél állapította meg az 1RS/1BL transzlokáció előfordulását. Friebe és mtsai. (1989) C-sávozást és SDS-PAGE-t használták tetraploid (durum) és hexaploid fajták jellemzésére a transzlokáció előfordulása szempontjából.

2.3. A BÚZA SZÁRAZSÁGTŰRÉSÉNEK GENETIKAI VIZSGÁLATA

2.3.1. A növények és a szárazság

A szárazság a búza terméscsökkenését okozó egyik legfontosabb abiotikus stressztényező. A szárazságot, vagy inkább a vízhiányt úgy határozhatjuk meg, mint a növény vízigénye és vízellátása közti egyensúly hiányát (Gibbs, 1975). A mezőgazdasági gyakorlatban ez rendszerint azt jelenti, hogy a növény számára nem áll rendelkezésre az optimális növekedéshez szükséges felvehető nedvesség sem csapadék formájában sem a talajból (Mather, 1968). Valójában a szárazságot és a szárazságtűrést a növény-talaj-légköri tényezők dinamikus interakciójának függvényében lehet értelmezni (Arraudeau, 1989).

A a növények szárazságstresszével kapcsolatos terminológiát Gupta és O'Toole, (1986) foglalja össze:

- szárazságtűrés: a növénynek az a képessége, hogy megfelelően növekszik és fejlődik, még korlátozott vízellátási feltételek, vagy időszakos vízhiány esetén is. Levitt (1980) a szárazságtűrést, mint a szárazság ellenállóság és a szárazság elkerülés együttesét határozta meg.
- szárazság ellenállóság: a növénynek az a képessége, hogy vízhiánynak ellen tud állni, olyan módon, hogy szervezetében csökken a vízpotenciál.
- szárazság elkerülés (drought avoidance): a növénynek az a képessége, hogy szárazság esetén is képes saját szervezetében kellő vízmennyiséget tartani
- "Menekülés" a szárazság elől (drought escape): a növénynek az a képessége, hogy befejezi az életciklusát (megérik), mielőtt az adott klimatikus viszonyok között a szárazság bekövetkezne
- szárazságstressz utáni felépülés (drought recovery): a növénynek az a képessége, hogy a szárazság után folytatni tudja növekedését és fejlődését, minimális termésveszteség mellett

2.3.1.1. A szárazság morfológiai, élettani és biokémiai hatásai

2.3.1.1.a. A szárazság és a növény növekedése, fejlődése, terméshozama

A szárazság érinti az élettani, biokémiai folyamatokat a növény fejlődése minden szakaszában (Kramer, 1969). Keim és Kronstad (1981) pl. a bokrosodás mértékének 55%-os csökkenéséről számolnak be szárazságstressznek kitett, illetve jól öntözött növények esetében. Quarrie és Jones (1979) a szárazságstressznek a növények fejlődésére és morfológiai bélyegeire gyakorolt hatását a következőkben foglalja össze: a csökkent mértékű sejtosztódás következtében fellépő csökkent levélfelület, a gázcserenyílások számának növekedése, a levélszőrözöttség mértékének a növekedése a levél mindkét oldalán, az egységnyi levélfelületre eső sejtek számának növekedése és a kalászkák számának csökkenése. A kalászkák számának csökkenésén túlmenően a szárazságnak a búza termését csökkentő hatása elsősorban a kalászonkénti szemszám csökkenésével magyarázható. Ennek pedig a szárazság által indukált növekvő hímsterilitás az oka (Morgan, 1980a; Saini és Aspinall, 1982). A hímsterilitást pedig részben, vagy egészben az endogén abszcizinsav koncentráció növekedése által kiváltott pollen életképesség csökkenés okozza Morgan (1980b).

2.3.1.1.b. A szárazság és a növények gázcseréje (légzés, párologtatás)

A legtöbb növénynél a szárazság a gázcserének a gázcserenyílások záródásából eredő csökkenését eredményezi. Shimshi és Ephrat (1975) arról számolnak be, hogy a búzafajták gázcserenyílásainak nagysága megfelelő vízellátási feltételek mellett is különbözik. Megállapították, hogy a nagyobb gázcserenyílásokkal rendelkező fajták nagyobb termést adnak, anélkül, hogy több vízre lenne szükségük. Shimshi és mtsai. (1982), összehasonlítva búzafajták szárazság-stresszre adott gázcserenyílás-válaszait, azt tapasztalták, hogy gázcserenyílásaikat eltérő vízpotenciálnál zárják. Lawlor (1979) arról számol be, hogy sem sötétben, sem fényben (fotorespiráció) nem változik a búza légzése -2 MPa vízpotenciál mellett. Gordon és mtsai. (1975) a vízvesztésnek a búzagyökerek légzésére gyakorolt hatását vizsgálva azt találták, hogy a vízvesztés a gyökerek csökkent légzését eredményezi.

2.3.1.1.c. A szárazság és a fotoszintézis

Wardlaw (1971) szerint a szárazság jelentősen csökkenti a búzanövény nettó fotoszintézisét a zászlós levélben, a felső internódiumban és a kalászban. Úgy tűnik, hogy a fotoszintetikus apparátus sérülése csak a gázcserenyílások záródását előidéző szárazságnál súlyosabb szárazságstressz esetén következik be (Shimshi és mtsai., 1982). A CO_2 asszimiláció csökkenése a gázcserenyílások záródásának is lehet a következménye, azonban vannak bizonyítékai a CO_2 asszimiláció gázcserenyílások működésétől független, mérsékelt szárazságstressz hatására bekövetkező csökkenésének is búza zászlóslevélben (Hsiao, 1973).

2.3.1.1.d. A szárazság hatására bekövetkező hormonális változások

A vízhiánynak kitett legtöbb növényfajban gyors és jelentős endogén hormonszintbeli változások következnek be, amelyek elsősorban az endogén abszcizinsav-szint növekedésében mutatkoznak (Walton, 1980; Galiba,1994; Veisz, 1996). Az ABA szerepe a növény szárazságstresszre adott válaszaiban a következőkben foglalható össze (Walton, 1980; Davis és Mansfield, 1983):

- a párolgási vízveszteség mérséklése a gázcserenyílások zárásával
- a gyökerek vízfelvételének növelése
- a gyökér és a hajtás növekedésének gátlása
- a prolin és a betain felhalmozása

Szárazságtűrő és szárazságra érzékeny búzafajtákat száraz körülmények között vizsgálva Kirkham (1983) arra a következtetésre jutott, hogy exogén (permet formájában) alkalmazott ABA a szárazságra érzékeny fajtákban növelte az ozmotikus potenciált, vagyis javította a szárazságtűrő képességet, míg a szárazságtűrő fajtákban ilyen hatást nem tapasztalt.

Az ABA hatásáról általában is elmondható, hogy a szárazságra érzékeny fajták szárazságtűrő képességét növeli. A szárazságstesszre adott, az ABA akkumulációjának növekedésében jelentkező válasz öröklődik (Quarrie, 1981).

2.3.1.1.e. A szárazság és az ozmoreguláció

Az ozmoreguláció lehetővé teszi a növény számára, hogy az alapvető életfunkciók, a fotoszintézis, a növekedés növekvő vízhiány esetén is fennmaradjanak. Az ozmotikus alkalmazkodás az ozmotikus potenciál vízhiány esetén bekövetkező csökkenését jelenti a plazmában lévő oldott anyagok koncentrációjának növelése révén (Turner és Jones, 1980). Az ozmoreguláció megfigyelhető a levelekben, a hajtáscsúcsban, a gyökérben és a szaporító szervekben (Morgan, 1980a). Az ABA által közvetített ozmoregulációnak nemcsak a szárazságtűrésben, hanem a fagyállóságban is fontos szerepe van, mind *in vitro*, mind *in vivo*. Az ozmoregulációért felelős gén(ek) a búzában többek között az 5A kromoszómán lokalizálhatók (Galiba és mtsai, 1992; 1996).

2.7.1.1.f. A szárazság és a prolinfelhalmozódás

A szárazságnak kitett növények leveleiben általában a szabad aminosavak és különösen a prolin felhalmozódása figyelhető meg (Lewitt, 1980; Gusta és mtsai, 1987). A prolin felhalmozódásának mértéke az adott fajta szárazságtűrésének mértékétől függ (Johnson és mtsai, 1984). Benveniste-Levkovitz és mtsai (1993) *Triticum kotschyi* (L.) vad faj és egy szárazság-érzékeny termesztett faj, a Lakhish prolin felhalmozó képességét vizsgálva szárazságstressz hatására, azt állapították meg, hogy a vad fajban a prolin nagyobb mértékben akkumulálódott. Más szerzők nem találtak szignifikáns összefüggést a prolinfelhalmozódás és a szárazságtűrés között (Stewart és Hanson, 1980).

2.3.2. A szárazságtűrés genetikai elemzése

A szárazságtűrés javítását célzó nemesítési program kialakításánál a legfontosabb lépés a megfelelő keresztezési partnerek kiválasztása, annak érdekében, hogy a kívánatos tulajdonságo(ka)t jól alkalmazkodó genetikai háttérbe juttassuk be (Clark és Townley-Smith, 1984). Háromféle koncepcióval találkozhatunk a megfelelő szülőpartner kiválasztásánál: 1. a megfelelő fajtán, 2. a megfelelő tulajdonságon és 3. a megfelelő génen alapuló koncepció. Az első esetben nagyszámú fajtát szelektálunk a kereszteséhez, azzal a megfontolással, hogy a kívánatos pozitív tulajdonság(kombináció) az utódokban megjelenik. A második eset a fajták azon tulajdonságainak alaposabb ismeretét feltételezi, amelye(ke)t az új fajtában viszont kívánunk látni. A tulajdonságok alapján történő szülőkiválasztás a nemesítő a kombinálni kívánt tulajdonságokban mutatkozó különbségekre van elsősorban tekintettel, így a nemesítési programot olyan szülőpartnerekkel indítja, amelyek között nagy a genetikai diverzitás a kívánt tulajdonságra nézve. A harmadik esetben elengedhetetlen a kívánt tulajdonság genetikai hátterének és öröklődésének ismerete az adott szülőpartnerben (Borojevic, 1990). Mivel minden genotípus reagál a környezetére, az olyan genotípusok kiválasztása, amelyek jól tolerálják a kiszáradást, leginkább a száraz környezetben mutatott termés alapján történhet. Azonban a szárazságtűrés komplex tulajdonság, még mindig nem áll rendelkezésünkre kellő mennyiségű információ a vele kapcsolatos tulajdonságok genetikájáról, öröklődéséről, a szárazságtűréssel összefüggésben lévő tulajdonságokat meghatározó gének, génkomplexek lokalizációjáról. A szárazságtűrés komplex genetikai elemzése a következő területek vizsgálatát öleli fel:

- a szárazságtűrés genetikai variabilitása

- a szárazságtűrés genetikai kontrolljában szerepet játszó gén(ek) kromoszomális lokalizációja
- öröklődésük és kapcsolataik feltárása
- a gén és a környezet kapcsolatának elemzése.

A következőkben csak a dolgozat szempontjából fontos területekre, a szárazságtűrés szubsztitúciós- és aneuploid sorozatok segítségével történő vizsgálatára térek ki.

2.3.2.1. Szubsztitúciós elemzések

A fajták közötti kromoszóma-szubsztitúciók esetében arról van szó, hogy a recipiens fajta egy vagy több kromoszómáját a donor fajtával helyettesítették. Az ilyen szubsztitúciós sorozatok akkor különösen alkalmasak genetikai elemzésekre, ha a recipiens és a donor fajta között bizonyos tulajdonság(ok)ban jelentős eltérések vannak. A szubsztitúciós sorozatok különösen alkalmasak egyrészt az egyes kromoszómák vagy gének, génkomplexek hatásának vizsgálatára eltérő genetikai háttérben, másrészt a termesztett fajta agronómiai értékének növelésére a kívánt tulajdonságot hordozó kromoszóma beépítésének révén (Sutka, 1979). A szubsztitúciós sorozatok létrehozásának alapelveit elsőként Unrau és mtsai (1956) írták le. Teljes szubsztitúciós sorozatok segítségével össze tudjuk hasonlítani a donor fajta kromoszómáinak hatását a recipiens fajta kromoszómáéival. Mivel a szubsztituált kromoszómák többé-kevésbé azonos genetikai háttérben vannak, az ilyen sorozatok alkalmasak az adott kromoszómán lévő gének lokalizálására, hatásainak vizsgálatára. Ilyen módon többek között a kalászolási idő, a koraiság, a megdőlés, az 1000-szem tömeg, a növénymagasság, kalászsűrűség, termésmennyiség (Kuspira és Unrau, 1957), a szálkahossz, a kalászonkénti kalászkaszám (Rustem és Kuspira, 1968), a törpeség (Hermsen, 1963) és a fagytűrés (Sutka, 1981) genetikai hátterét sikerült tanulmányozni. Galiba és mtsai (1992) a Chinese Spring/Cappelle Desprez szubsztitúciós sorozat segítségével az ozmoregulációért felelős gének kromoszómális lokalizációját vizsgálták.

2.3.2.2. Diszómás addíciós elemzések

A *Triticum* és a vele rokon nemzetségek vad fajai a szárazságtűrés szempontjából is jelentős géntartalékot jelentenek. Annak ellenére, hogy ezen fajok gyűjtése, fenntartása, vizsgálata egyre inkább a kutatási programok részévé válik, mindez ideig a kutatók nem fordítottak kellő figyelmet az ilyen szempontból hasznos gének, génkomplexek rendkívül nagymértékű diverzitásának, amellyel a vad fajok az eltérő környezetben zajló evolúció, a kultúrfajok az eltérő környezetben folyó termesztés során szert tettek (Maan, 1987; Kalloo; 1992). Bár az utóbbi évtizedben ezen a területen jelentős változások zajlottak és ma már viszonylag jelentős azoknak a kutatásoknak a száma, melyek ilyen gének izolálását és a termesztett fajokba történő átvitelét tűzték ki célként (Sutka, 1991; Jiang és mtsai, 1994; Friebe és mtsai, 2001). Azonban ilyenkor többnyire biotikus (betegség, rovarkártevők) elleni rezisztenciát biztosító gének beviteléről van szó és kevésbé az abiotikus stresszek (fagy, szárazság, só stb.) elleni rezisztenciát növelő génekről.

Maga az addíció azt jelenti, hogy egy vagy több idegen fajból származó kromoszóma adódik hozzá a recipiens fajta teljes kromoszómakészletéhez. Monoszómás addícióról beszélünk abban az esetben, amikor csak egyetlen kromoszóma, diszómás

addícióról, amikor egy homológ kromoszóma-pár adódik a recipiens kromoszómakészletéhez, sajnos azonban az addicionált kromoszómák gyakran eliminálódnak (Sutka, 1991; Belea, 1992). Az addíciók alkalmasak az idegen kromoszóma hatásainak vizsgálatára. A génátvitel lehetséges útja idegen fajú addíciós sorozatok előállítása és a meiózis során bekövetkező rekombináció. Elsőként rozs kromoszóma-addíciókat hoztak létre (O'Mara, 1940), később Sears (1956b) *Aegilops umbellulata*, Knott (1961) *Agropyron elongatum*, Riley és mtsai (1968) *Aegilops comosa*, Cauderon és mtsai (1973) *Agropyron intermedium* addíciókat állítottak elő Sinha és Bansal (1991) különböző *Triticum* és *Agropyron* fajok magasfokú szárazságtűréséről számolnak be. Mahmood és Quarrie (1993) Chinese Spring/*Thinopyrum bessarabicum* $2E^b$ és $5E^b$ diszómás addíciós sorozatok sótűrését vizsgálva megállapították, hogy a *Thinopyrum* $5E^b$ kromoszóma sótűrésért felelős gén(eke)t hordoz.

2.4. KROMOSZÓMASÁVOZÁSI MÓDSZEREK ÉS ALKALMAZÁSAIK

Az utóbbi két, két és fél évtizedben kifejlesztett ún. kromoszóma-sávozási technikák az egyes kromoszómák, kromoszóma szegmentumok azonosítását lehetővé tevő, hasznos módszereket adtak a citogenetikusok kezébe, lehetővé téve a különböző fajok genomelemzését is.

A növényi és állati kromoszómák azonosításában a 70-es években születtek az első fontos eredmények. A sok speciális Giemsa-sávozási módszer közül kettő, a C- és az N- sáv technika bizonyult alkalmasnak a gabonafélék kromoszómáinak azonosítására is. Az első beszámolók óta (Gill and Kimber, 1974a; Gerlach, 1977) intenzív kutatómunka folyik ezen a területen, melynek homlokterében a C- és N- sáv technika összehasonlítása, a standard sáv-nevezéktan kidolgozása és a sávozási technika alkalmazási lehetőségeinek vizsgálata áll.

A sávmintázatokban még pl az egyes búzafajták között is megfigyelhető polimorfizmus (Friebe és Gill, 1994), valamint a számtalan kromoszóma-szerkezeti aberráció (Endo, 1988), a sávozási módszerek kiterjedt alkalmazása géntérképezésre tették sürgetővé standard kariotípus megalkotását és a kromoszómasávok leírására alkalmas általános rendszer kidolgozását. Ezt a munkát végezték el Gill és mtsai (1991).

2.4.1. A C- és az N- sáv technika

Az C- sávozási technikát elsőként rozson, tritikálén és búzán alkalmazták eredményesen a gabonafélék körében (Verma és Rees, 1974; Vosa, 1974, Gill és Kimber, 1974. Hadlaczky és Belea, 1975). A rozsra vonatkozó közlemények egyértelműen igazolták, hogy a szomatikus metafázis kromoszómáin megfigyelhető C-sávok a pachitén kromoszómákban talált konstitutív heterokromatinnal azonosíthatók (Gill és Kimber, 1974b).

A heterokromatin kifejezést Heitz (1928) alkalmazta elsőként azoknak a kromoszómarégióknak a megkülönböztetésére, amelyek kondenzációs állapota a telofázisban nem csökken, nagymértékben kondenzált állapotú "kromocentrumok" formájában fordulnak elő az interfázisos sejtmagokban és a profázisban is a normális eukromatinétól eltérő kondenzációs állapotot mutatnak. Ebből a szempontból tehát a heterokromatin allociklikus. A konstitutív (C-) heterokromatin a homológ kromoszómákban azonos mintázatot, míg a fakultatív heterokromatin eltérő

kondenzációs mintázatot mutat. Ez a jelenség az adott régiók eltérő génaktivitásával hozható kapcsolatba (Brown, 1966). A C-heterokromatin érzékenynek bizonyult a hidegkezelésre, amely ezen régiók csökkent festődőképességében jelentkezett ("koplalási-hatás"; Darlington és LaCour, 1938, 1940). A hideg-indukálta festődési mintázatban mutatkozó különbségek bizonyos fajok esetében lehetővé tették az egyes kromoszómák azonosítását, de a sávozási technikák kialakulásáig ezek nem bizonyultak egyértelműen megfelelő módszereknek.

Az első sávozási módszer kidolgozása Caspersson és mtsai. (1968) nevéhez fűződik. Flurokrómok, mint a quinacrin (Q) és a quinacrin-mustár (QM) alkalmasnak mutatkoztak a bab metafázisos kromoszómái C-heterokromatikus régióinak differenciális festésére. A Q és QM fluoreszcens mintázatok kromoszóma-specifikusak, és ezért alkalmasak voltak az egyes kromoszómák azonosítására (Vosa, 1970).

A Giemsa sávozási technikák eredetileg az *in situ* hibridizációs (ISH) módszer melléktermékeként alakultak ki, melynek során egér satellit DNS-t hibridizáltak egér metafázisos kromoszómákra. Pardue és Gall (1970) megfigyelték, hogy a DNS-próba elsősorban a centromerikus régiókhoz hibridizálódott továbbá, hogy ezek a régiók Giemsa festékkel történt festés után a többi kromoszóma régiónál sötétebbre festődnek. Ez a megfigyelés vezetett az emlős kromoszómáknál a C- és G-sáv technikák kidolgozásához (Arrighi és Hsu, 1971), majd nem sokkal később ezeket a módszereket alkalmassá tették a növényi kromoszómák festésére is (Döbel és mtsai, 1973).

Manapság már sokféle, a növényi kromoszómák differenciális festésére alkalmas sávozási technika létezik, így elsősorban a C- és N-sáv, valamint a fluoreszcens, F-, Hy-, G-, Re-, AgNOR. Mivel a növények kromoszómáinál a C-sáv módszer adja a legjobb eredményeket, ez a technika a leginkább elterjedt. E módszer segítségével a kromoszómák konstitutív heterokromatint tartalmazó régióinak többsége, amelyek nagymértékben ismétlődő DNS szekvenciákat foglalnak magukba, megfesthető. Azonban a C-sávok mennyisége direkt módon nem hozható kapcsolatba a repetitív szekvenciák mennyiségével, mert bizonyosan vannak olyan repetitív szekvenciák, amelyek nem C-sáv pozitívak, emiatt nem azonosíthatók ezzel a módszerrel (Schweizer és mtsai., 1990).

Gerlach (1977) mellett Jewell (1979) számolt be arról, hogy az N-sáv technikával gabonaféléknél nem kizárólag a NOR régió festhető (a technika egyébként erről kapta a nevét). A 21 búza kromoszómából kilencnél kapott speciálisan ezzel a technikával festődő sávokat. Endo és Gill (1984) a technika javított változatával 16 búza kromoszómát azonosított.

A C- és az N- sávok kapcsolatára vonatkozóan Schlegel és Gill (1984) rozson elvégzett egymásutáni C- és N-sávozás alapján arról számol be, hogy C^+N^+ (vagyis mindkét technikával) festődő, illetve C^+N^- (C-sáv technikával festődő, de N-sáv technikával nem) sávok különböztethetők meg és a C^+N^+ sávok megfelelnek a Dennis és. mtsai. (1980) által lokalizált polipirimidin heterokromatin régióknak, azaz a két sávozási technika szerint megfestődött heterokromatikus régiók biokémiailag is különböznek. A C-sáv technika tehát szélesebbkörűen alkalmazható, míg az N-sáv technikával csak a heterokromatin egyes régiói mutathatók ki.

Annak ellenére azonban, hogy C-sávozással mindegyik búza kromoszóma azonosítható, bizonyos előnyökkel az N-sáv technika is rendelkezik. Viszonylag gyorsan kivitelezhető és bizonyos sávok a C-sávokhoz képest intenzívebben festődnek.

2.4.2. A sávozási technikák alkalmazása a citogenetikai elemzésekben

A konstitutív heterokromatin mennyisége és eloszlása egy fajon belül és a fajok között nem véletlenszerű. Egy fajon belül a nem-homológ kromoszómákban a megoszlási mintázat idővel hasonlóvá kezd válni. Ezt a jelenséget equilokális heterokromatin megoszlásnak nevezzük (Heitz, 1935). A jelenség behatóbb elemzése a kromoszómasávozási technikák megjelenésével vált lehetővé. Számos növény és állatfaj C-sáv mintázatainak elemzése alapján Schweitzer és Loidl (1987) javasoltak egy olyan modellt, amellyel értelmezni lehet az equilokális heterokromatin megoszlást és a C-sáv mintázat evolúcióját.

A C-sávok, amennyiben vannak, leginkább a centromerikus, telomerikus és nukleolus szervező régiókban találhatók. Egy adott kromoszóma szerelvényen belül a sávok mennyisége és megoszlása a nem-homológ kromoszómákon is hasonló. A rövid kromoszómákat, vagy kromoszómakarokat inkább nagy telomerikus sávok jellemzik, a hosszú kromoszómákon és kromoszómakarokon vannak interkaláris sávok is. Az interkaláris sávok helyzete a centroméra és a teloméra közötti távolságtól függ. Így a rövidebb kromoszómakarokon lévő telomerikus sávok helyzete meghatározza a hosszabb kromoszómakarokon lévő interkaláris sávok helyzetét. Feltételezhető, hogy a C-sávok a telomerikus és centromerikus régiók repetitív DNS-ének megsokszorozódása révén keletkeztek, majd áthelyeződtek más kromoszómarégiókba. Ez a folyamat feltételezi az érintett régiók térbeli közelségét, amely leginkább a kromoszómáknak az interfázisos magban megfigyelhető térbeli elrendeződése során alakulhat ki. Ez az elrendeződés a kromoszómáknak a késői anafázis Rabl-polarizációnak nevezett térbeli orientációjából következik. Ennek során a centromérák a magorsó poláris, a telomérák az egyenlítői síkja felé irányulnak. Ez az elrendeződés egészen a következő profázisig fennmarad és lehetővé teszi C-sávok áthelyeződését, mely folyamat amitotikusan osztódó sejtekben játszódik le. Azonban számos példa van arra vonatkozóan is, hogy a C-sávok megoszlási mintázata nem equilokális és nem függ a kromoszómakar hosszától. Ezért feltételezhető, hogy más mechanizmusok is, például strukturális átrendeződések, fajon belüli introgresszió vagy sávok *de novo* keletkezése is szerepet játszhat egy adott faj C-sáv mintázatának evolúciója során.

Az egyes kromoszómák, valamint az egész genom sávmintázatának elemzéséből következtetni lehet a búzafélék közötti rokonság fokára, ezáltal a *Triticum* nemzetség evolúciójára. Ezek az információk természetesen jól kiegészülhetnek elektroforetikus vizsgálatokból és a meiotikus kromoszómapárosodás elemzéséből levont következtetésekkel (Hadlaczky és Belea, 1975; Teoh és Hutchinson, 1983). A sávozási technikák alkalmasak interspecifikus, intergenerikus hibridek, addíciós-és szubsztitúciós vonalak kromoszómáinak azonosítására, valamint olyan transzlokációk kimutatására, amelyek heterokromatikus kromoszómarégiókat is érintenek (Linde-Laursen, 1975; Islam és mtsai, 1981).

2.5. *IN SITU* HIBRIDIZÁCIÓ ÉS ALKALMAZÁSA A NÖVÉNYI GENOM ELEMZÉSÉNÉL

2.5.1. A módszer kialakulása és főbb típusai

A módszer fejlődése már több mint negyedszázados múltra tekint vissza. Elsőként Gall és Pardue (1969) mutattak ki radioaktív izotóppal jelzett DNS hibridizációt citológiai preparátumokon. A radioaktív izotóppal jelzett DNS-sel történő hibridizáció kellően érzékeny, azonban számos hátránya is van. Kivitelezése veszélyes, komplikált és rendkívül lassú. Ezek a hátrányok arra ösztönözték a kutatókat, hogy nem izotópos eljárásokat dolgozzanak ki. Bauman és mtsai (1980) pl. flourokrómot (tetramethyl rhodamin isothiocyanát) kapcsoltak közvetlenül RNS 3' végéhez, amely aztán *in situ* hibridizált a komplementer DNS szekvenciához. Langer-Safer és mtsai (1982) szintén az elsők között alkalmaztak nem-izotópos, immunológiai módszert repetitív DNS szekvenciák kimutatására *Drosofila* politén kromoszómán. Azóta a módszer érzékenysége nagymértékben javult. Biotinnal jelölt DNS-próbákat növényi kromoszómákon először Rayburn és Gill (1985) használt. A fluoreszcens eljáráson alapuló kimutatási módszer kidolgozása Pinkel és mtsai (1986) nevéhez fűződik, akik a DNS próbákat fluoreszcens festékkel jelzett biotinnal kapcsolták össze és így tették láthatóvá a hibridizációs helyeket. A fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) módszere folyamatosan újabb és újabb lehetőségekkel bővül, sűrűn jelennek meg a FISH érzékenységét növelő és lehetőségeit bővítő jelzési módszerek. Ha különböző DNS-próbákat eltérő jeleket adó fluorokrómokkal jelölünk meg, majd ezeket egyszerre detektáljuk (multicolor FISH) lehetővé válik a különböző próbák fizikai sorrendjének megállapítása a kromoszómán (Mukai és mtsai, 1993). Az *in situ* hibridizáció (ISH) egyik fontos továbbfejlesztése a genomiális *in situ* hibridizáció (GISH) (Pinkel és mtsai, 1986; Schwarzacher és mtsai, 1989). A GISH esetében pl. egy poliploid faj vagy hibrid egyik ősének teljes genomját, mint próbát, jelölve és a másik genom(ok)ból izolált jelöletlen DNS-t hozzáadva a hibridizációs keverékhez, a különböző genomokhoz tartozó kromoszómák közötti különbségeket lehet detektálni. A jelölt próba könnyebben hibridizálódik a neki megfelelő genomból származó kromoszómákhoz. Ennek valószínűen a genom-specifikus repetitív szekvenciák jelenléte az oka. Ha a két genom egymásnak közeli rokonai és így a repetitív szekvenciáik is nagymértékben azonosak, akkor a két genom közötti különbség megállapítása ezzel a módszerrel eléggé nehéz.

Az *in situ* hibridizáció segítségével mind ribonukleinsav, mind dezoxiribonukleinsav szekvenciákat ki tudunk mutatni növényi és állati sejtek citoplazmájában, sejtszervecskékben, kromoszómákon. Alapvetően abban különbözik a Southern és a Northern hibridizációtól, hogy a hibridizációs jel *in situ* (vagyis az eredeti helyén) lokalizált (ahogyan a módszer neve is jelzi) nem pedig egy membránra átvitt (blottolt) nukleinsavon detektáltjuk a hibridizációs jelet. A módszer lényegéből adódóan sokrétű genetikai elemzést tesz lehetővé, pl. kromoszómák fizikai térképezését, a genom-, illetve kromoszómaszerkezet elemzését, aberrációk kimutatását, kromoszómák és genomok evulúciójának, gének expressziójának vizsgálatát, vagyis a biológia alapvető kérdéseire kaphatunk választ a módszer segítségével.

Esetünkben is ezt a módszert használtuk az 1BL/1RS búza-rozs transzlokációk kimutatására, teljes rozs DNS-t jelölve fluorokrómmal és teljes búza DNS-t használva blokkoló DNS-ként. A búza és a rozs nem túl közeli rokonok, ezért a rozs kromoszómakar kimutatása ezzel a módszerrel nem ütközik nehézségbe. (Heslop-Harrison és mtsai, 1990; Schwarzacher és mtsai, 1992; Lángné és mtsai, 1996).

2.5.2. Az *in situ* hibridizáció használata genomelemzésre és idegen fajú kromatin kimutatására

Az egyes genomok rokonságára hagyományosan a meiotikus kromoszómák párosodásának vizsgálatából következtethetünk. Az intragenomi és az intergenomi kromoszóma-párosodást azonban a klasszikus meiózis-elemzéssel nehezen, vagy egyáltalán nem lehetséges megkülönböztetni. A genomi *in situ* hibridizáció (GISH) ilyen esetekben a hagyományos genom-elemzés értékes kiegészítő módszere. Így a GISH-t sikeresen alkalmazták az allopoliploid fajok, mint amilyen a termesztett búza is, genom-evolúciójának, az egyes genomok származásának, a kromoszómák struktúrájának elemzésében (Bennett és mtsai., 1992; Mukai és mtsai., 1993; Jiang és Gill, 1994; Linc és mtsai., 1999).

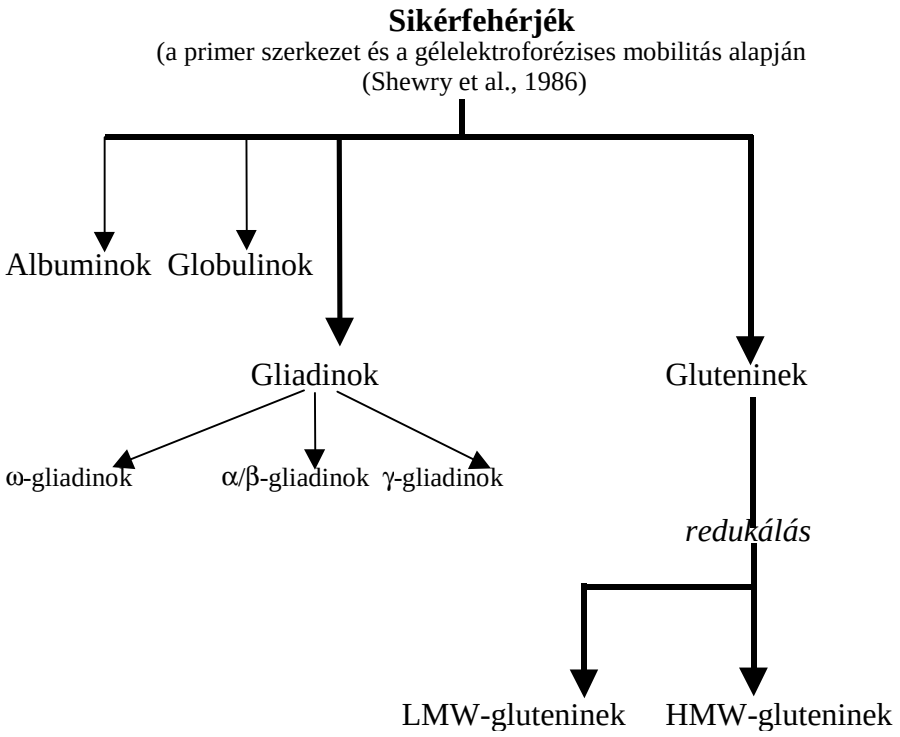
Agronómiailag hasznos idegen kromoszóma-szegmentumok introgressziója a távoli keresztezések során a génállomány bővítésének, ezáltal a növénynemesítésnek értékes módszere. Ilyen a már korábban említett, 1R rozs kromoszóma rövid karjának jelenléte sok, bőtermő, betegségellenálló búzafajtában (Rajaram és mtsai., 1983). A kromoszómális töréspontok, azaz az idegen kromoszóma-szegmentum hosszának, az idegen kromatin mennyiségének megállapítására a GISH az egyik legalkalmasabb módszer (Lapitan és mtsai., 1986; Friebe és mtsai., 1993; Lángné és mtsai., 1996,; Molnár-Láng és mtsai, 2000). Az érintett kromoszómák azonosítására gyakran alkalmaznak valamilyen kromoszóma-sávozási módszert, legtöbbször N-sávozást, majd ugyanazon a preparátumon elvégzik a genomi *in situ* hibridizációt (Friebe és mtsai., 1993; Jiang és mtsai, 1994)

Az eukarióta genom szerkezetének és evolúciójának kutatásában nagy jelentősége van a repetitív szekvenciák, ezen belül is a tandem ismétlődő szekvenciák - melyek között kódoló (hiszton gének, rRNS gének) és nem kódoló (telomerikus szekvenciák, emlős szatellit szekvenciák, növényi heterokromatin) kimutatásának. A növényi genom 40-95%-át pl. repetitív DNS szekvenciák alkotják. E célra az *in situ* hibridizáció szintén nagyon alkalmas módszer (Rayburn és Gill, 1985).

Az *in situ* hibridizációt egyéb molekuláris genetikai módszerekkel, így a PCR (polymerase chain reaction) módszerével kombinálva fejlesztették tovább. Ez azt jelenti, hogy a PCR reakciót magán a kromoszómán végzik el és így egy rövidebb DNS szekvencián is megfelelő erősségű jelet lehet kapni (Kubaláková és mtsai., 1998). A minta jelölésére is több módszer ismeretes, a leggyakrabban a Nick-transzlációt használják jelölésre, de rövidebb DNS-szakaszok kimutatására a random priming módszer alkalmasabb, mert több jelölt molekula beépülését teszi lehetővé, ezáltal a jel erősebb lesz.

2.6. AZ ENDOSPERMIUM TARTALÉKFEHÉRJÉI ÉS ELVÁLASZTÁSUK

Az endospermiumban található tartalékfehérjék alapjában véve két nagy csoportba sorolhatók (Shewry és mtsai, 1986; 2.2. ábra). Az egyik csoportot a 70%-os etanolban oldható fehérjék, a prolaminok, a másik csoportot a 70%-os etanolban nem oldódó, de disszociáló közegben alegységeikre bomló fehérjék, a glutelinek képezik. Búza esetében a prolaminokat gliadinoknak, míg a glutelineket glutenineknek nevezik. A búza tartalékfehérjéinek egyedüli sajátsága, hogy a tésztakészítést követő kimosás után rugalmas, alakítható massza, a sikér marad vissza, mely lazított szerkezetű sütőipari termékek előállítását teszi lehetővé.



2.2. ábra. A búza tartalékfehérjéi

A gliadin-csoportba tarozó fehérjék monomerek és a sikér kb. 50%-t teszik ki. A gluteninek polimerek, melyekben az alegységeket intermolekuláris diszulfid hidak stabilizálják. Az alegységek, a diszulfid hidak redukálását követően SDS-PAGE-val vizsgált relatív mobilitásuk alapján két részre szeparálhatók: a kis molekulatömegű (40-51 kD) LMW-gluteninekre és a nagy molekulatömegű (95-144 kD) HMW-gluteninekre (Bietz és mtsai., 1975).

A közönséges búza (*Triticum aestivum L.*) tartalékfehérje génjei 1-es és a 6-os homeológ kromoszómacsoporton lokalizálódnak (Payne és mtsai 1980, Payne és mtsai 1982). Az 1-es kromoszóma hosszú karján lokalizált *Glu-1* lókusz a HMW-, a rövid karján található *Glu-3* lókusz az LMW-gluteninek kódolásáért felelős. A gliadin gének az 1-es kromoszóma rövid karján (*Gli-1*) és a 6-os kromoszóma rövid karján (*Gli-2*) lokalizáltak.

A rozs tartalékfehérjéi (a secalinok) jelentős mértékben befolyásolják a sütőipari minőséget. A secalinok szintén különböző polipeptidek, amelyek molekulatömegük alapján az alábbiak szerint csoportosíthatók:

- nagy molekulatömegű (HMW) secalinok (M_r>100.000)
- 40K γ-secalinok (M_r 40.000)
- 75K γ-secalinok (M_r 70.000)
- ω-secalinok (M_r kb. 50.000) (Shewry és mtsai, 1984)

A secalin gének (*Sec-1, Sec-2 és Sec-3*) az 1R és a 2R kromoszómák rövid karján lokalizáltak (Shewry és mtsai, 1984). Az ω-secalinok és a 40K γ-secalinok strukturális génjei (*Sec-1*) az 1R kromoszóma rövid karján találhatók.

Vahl és mtsai (1993) SDS-os elektroforézis gliadin mintázata alapján meg tudta különböztetni az 1BL/1RS és az 1AL/1RS transzlokációt hordozó fajtákat a transzlokációt nem hordozó fajtáktól. Hasonló eredményről számol be Hussain és Lukow (1994), akik a endospermium vízoldható fehérjefrakciójának elektroforézises vizsgálata alapján ki tudta mutatni, hogy melyek a transzlokációt hordozó fajták.

Számos kutató vizsgálta a tartalékfehérje lókuszok és a sütőipari minőség közötti kapcsolatokat. Az egyes lókuszok és a minőség közötti kapcsolatok relatív sorrendje Payne és mtsai (1984) szerint a következő: *Glu-1* > *Glu-3* > *Gli-2*. A legszorosabb kapcsoltságot a technológiai minőségi paraméterekkel a *Glu-1* allélikus variációi esetében találták (Payne és mtsai 1979, 1981, Burnouf és Bouriquet., 1980, Moonen és mtsai, 1982), Payne szerint ezek az allélikus variációk 55-67%-ban magyarázzák a minőségbeli különbségeket (Payne és mtsai, 1987). Az 1987-ben bevezetett pontozási rendszer alapján legkedvezőbb hatású az 1D kromoszóma által kódolt 5+10 HMW glutenin-alegység-összetétel.

Az őszi búza sütőipari minősége kvantitatív genetikai tulajdonság. Ez a tény megnehezíti genetikai tanulmányozásukat, valamint az optimális allélekre történő szelekciót is, mivel az ilyen tulajdonságok fenotípusos megjelenését a környezeti hatások jelentős mértékben befolyásolhatják. E tulajdonságok genetikai tanulmányozását és a gyakorlati szelekciós folyamatokat azonban nagymértékben megkönnyíthetik olyan genomi szintű markerek, amelyek szorosan kapcsoltak a kvantitatív tulajdonság lókuszához. Előzetes vizsgálatok során azonosítottak egyes tartalékfehérje alegységeket kódoló szekvenciákat (Thompson és mtsai., 1985; Takashi és mtsai., 1985, Anderson és mtsai., 1989, Anderson és mtsai, 1989) és ennek ismeretében lehetőség nyílt specifikus RFLP próbák, illetve primerek kialakítására (Margiotta és mtsai., 1993; D'Ovidio és mtsai., 1995, D'Ovidio és Anderson 1994). A polimeráz láncreakción alapuló STS (Sequence-Tagged-Site), vagy SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) technika révén, melynek során a vizsgálni kívánt tulajdonságot kódoló gén, vagy annak közelében elhelyezkedő DNS szakasz nukleotid szekvenciájának ismeretében megszerkesztett informatív primereket alkalmaznak (Olson és mtsai 1989), lehetőség nyílik olyan anomáliák kiküszöbölésére, melyek a klasszikus SDS-PAGE esetében problémát okoznak. Ismert pl., hogy a magasabb moltömegű 1Dx5 alegység mobilitása nagyobb, mint a kisebb allélikus 1Dx2 alegységé és hasonlóak tapasztalhatók a 1Dy10 / 1Dy12 alegységek esetében is. További eltérések jelentkeztek olyan allélikus komponensek esetében is, melyek az SDS-PAGE analízis alapján azonos molekulatömegűnek látszanak (Lafiandra és mtsai, 1994).

A magyar búzafajták vizsgálata során kiderült, hogy az 1931-ben minősített Bánkúti 1201 és származékai jó sütőipari minőségűek, noha az 1D kromoszómán egyes szerzők szerint 3+12 (Kárpáti és mtsai, 1995), mások szerint 2+12 HMW-glutenin alegységpárral rendelkeznek, valamint a *Glu-A1* és a *Glu-B1* lókusz alapján a fajták populációi különböző genotípusokból tevődnek össze (Bedő és mtsai 1995, Hänsel és mtsai 1994). A Payne féle minőségi pontrendszer szerint mind a 2+12, mind a 3+12 allél azonosan alacsony pontszámot (2-2) kapott, ez rossz sütőipari minőségre utal.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. A KÍSÉRLETEKBEN FELHASZNÁLT VAD FAJOK, FAJTÁK, VONALAK

Az *Aegilops cylindrica* × *Triticum aestivum* hibridek előállításához a Magyarországon is előforduló *Aegilops cylindrica* L. em. Thell. (2n=4x=CCDD) faj négy, a Martonvásári Gabona Génbankban fenntartott vonalát, *T. aestivum* L. em.Thell. (2n=6x=AABBDD) fajtaként pedig egyrészt a búzagenetikai kísérletekben általánosan használt Chinese Spring (CS) fajtát, valamint a jelenleg is termesztésben lévő Martonvásári 14 (Mv 14)-et használtuk.

A búza szárazságtűrésének genetikai vizsgálata során a szubsztitúciós elemzéshez a Chinese Spring (CS)/Cappelle Desprez (CD) szubsztitúciós sorozatot használtuk a 2A és 2B szubsztitúciós vonalak nélkül, amelyek nem voltak hozzáférhetők, valamint a recipiens és a donor fajta vernalizált növényeit. A Chinese Spring közepesen szárazságtűrő, míg a Cappelle Desprez a szárazság-érzékeny (Szabó-Nagy, 1992). A szubsztitúciós sorozatot C. Law és mtsai. fejlesztették ki és J. Snape (John Innes Institute, Norwich) bocsátotta rendelkezésünkre.

A diszómás addíciós vonalak közül a nagyfokú szárazságtűréssel jellemezhető CS/*Agropyron elongatum* diszómás addíciós sorozatot továbbá a CS/Imperial rozs diszómás addíciós vonalait vizsgáltuk. A Chinese Spring/*Agropyron elongatum* addíciós sorozatot Dvořak és Knott (1974), a Chinese Spring/Imperial rozs addíciós sorozatot Driscoll és Sears (1971) állították elő, mindkét sorozatot a Wheat Genetic Resource Center, Manhattan, Kansas bocsátotta rendelkezésünkre. A kísérletekben szerepelt még két vad faj is, az *Agropyron elongatum* (2n = 2 X = 14) és az *Agropyron intermedium* (2n = 2 X = 14).

Az 1RS/1BL transzlokációk előfordulását a Gabonatermesztési Kutatóintézet (jelenleg Gabonatermesztési Kutató Kht) és az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete által 1978 és 1999. között minősített és az Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet 1999-ben kiadott Nemzeti Fajtajegyzékében szereplő 66 kenyérbúza- (*T. aestivum* L.), és 9 durumbúza-(*T. durum* (Desf.) Husn.) fajtán vizsgáltuk.

A Gabonatermesztési Kutató Kht által nemesített kenyérbúza fajták közül az alábbiakat tanulmányoztuk:

GK Tiszatáj, GK Csongor, GK Boglár, GK Ságvári, GK Kincső, GK Öthalom, GK Zombor, GK Szőke, GK Bence, GK István, GK Örzse, GK Bokros, GK Barna, GK Csűrös, GK Kata, GK Délibáb, GK Góbé, GK Olt, GK Zugoly, GK Pinka, GK Répce, GK Csörnöc, GK Marcal, Gk Kende, GK Szindbád, GK Hattyas, GK Kalász, GK Élet, GK Malmos, GK Véka, GK Sára, GK Mérő, GK Cipó, GK Miska, GK Dávid, GK Kunság, GK Favorit, GK Garaboly, GK Mura, GK Forrás, GK Petur, GK Jászság, GK Verecke, GK Tenger,

Az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete által nemesített fajták közül pedig az alábbiakat választottuk ki vizsgálatra

Mv 16, Mv 17, Mv 23, Fatima-2, Mv 25, Mv Optima, Mv Magma, Mv Emma, Mv Vilma, Mv Pálma, Mv Szigma, Mv Irma, Mv Magdaléna, Mv Matador, Mv Madrigál, Mv Mezőföld, Mv Martina, Mv Kucsma, Mv Summa, Mv Tamara, Mv Magvas, Mv Csárdás

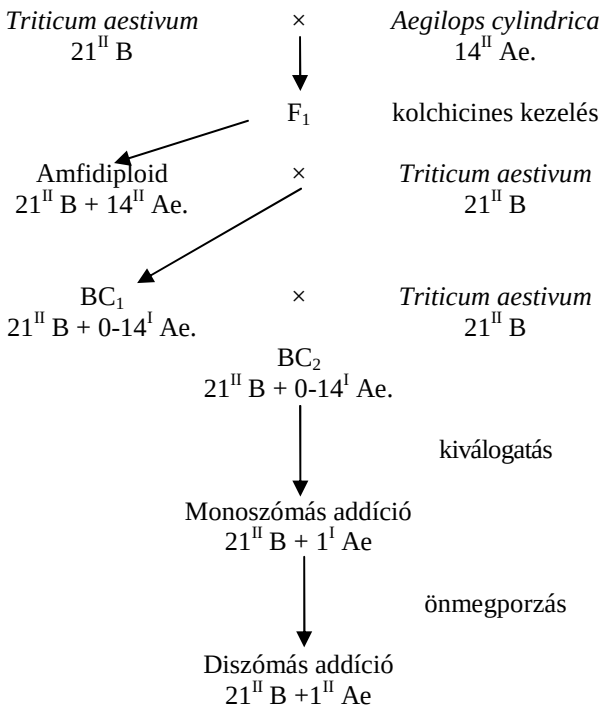
A 9 durumbúza-fajta közül a GK Basa, GK Bétadur, GK Minaret, GK Novodur és a GK Tiszadur Szegedről, Martondur 1, Martondur 2, Odmadur 1 és az Odmadur 2 Martonvásárról származik.

3.2. A *TRITICUM AESTIVUM* × *AEGILOPS CYLINDRICA* ADDÍCIÓK ELŐÁLLÍTÁSÁNÁL HASZNÁLT KÍSÉRLETI MÓDSZEREK

3.2.1. A keresztezések technikája, a diszómás addíciók előállítása

Miután a keresztezési partnereket tenyészkertben, 25 × 25 cm-es kötésben elvetettük, a megfelelő időpontban, amely a normál virágzás előtti 2-3 nap az anyai parnert kasztráltuk és pörgetéses módszerrel megporoztuk.

A diszómás addíciót az 3.1. ábrán közölt keresztezési séma szerint állítottuk elő.



3.1. ábra. A diszómás addíció előállításának sémája

3.2.2. Citológiai vizsgálatok

3.2.2.1. Kromoszómaszám meghatározás Feulgen módszerrel

A növények kromoszómaszámát a gyökércsúcsban és a pollenanyasejtben (azaz mitózisban és meiózisban) egyaránt meghatároztuk. A búzaszemeket Petri-csészében, nedves szűrőpapíron csíráztattuk, majd 2 gyökércsúcsot vágtunk le a mitózis vizsgálatához, így a csíranövény még felnevelhető. A kromoszómák megfelelő kontrakciójának elérése céljából a gyökércsúcsokat α-monobróm-naftalin telített oldatában (16 csepp/100 ml deszt. víz) áztattuk 4-5 órán keresztül. Az előkezelés befejezése után a fiolából az α-monobróm-naftalin oldatot leöntöttük és a gyökércsúcsokat 96 %-os ecetsavban rögzítettük. A citológiai preparátumokat Feulgen módszere (In: Sutka, 1980) szerint készítettük. Ez 10-12 perces 1N sósavas hidrolízisből (60 °C-on), majd bázikus fukszinnal történő festésből áll. A jól festődött gyökércsúcsból 45 %-os ecetsavban ún. dörzspreparátumot készítettünk.

A meiózis vizsgálata a meiótikus osztódás I. metafázisában történik. Az ilyen osztódási stádiumban lévő pollenanyasejteket tartalmazó antérákat etilalkohol : ecetsav 3 : 1 arányú keverékében 30 percig, szobahőmérsékleten fixáltuk , majd 70 %-os etilalkoholban, hűtőszekrényben, +4 °C hőmérsékleten tároltuk felhasználásig. Preparátumkészítés előtt 1N sósavban, 12 percig, 60 °C-on hidrolizáltuk, majd bázikus fukszinnal festettük. Dörzspreparátumot készítettünk. Citológiai vizsgálatainkhoz és a fényképezéshez beépített, automata fényképező berendezéssel rendelkező Zeiss (Opton), Zeiss Axioskop és Zeiss Ultraphot mikroszkópokat használtunk, a felvételeket 1000×-es nagyítással készítettük.

3.2.2.2. A kromoszómák azonosítása C-sáv technikával

A vizsgálandó növény magvait nedves szűrőpapíron csíráztattuk, 25 °C-on, 72 órán keresztül. A 2-3 cm hosszú gyökereket jeges vízben fiolákba gyűjtöttük. A ledugaszolt fiolákat 26 órán keresztül jeges vízben tartottuk. Ezután a gyökereket 24 órán keresztül fixáljuk (etanol/jégecet 3:1 arányú keverékében). A fixált anyagot 4 °C-on négy hétig eltarthatjuk, a legjobb eredmények 2-3 hetes állás után mutatkoztak. Dörzspreparátumot készítettünk, minőségét fáziskontraszt mikroszkóppal ellenőriztük. Folyékony nitrogénben a fedőlemezt lepattintottuk, majd a lemezt azonnal abszolút etilalkoholba tettük és itt tartottuk egy éjszakán keresztül. Másnap 2,5 percig inkubáltuk a preparátumokat 0,2 N 60 °C-os HCl oldatban. A sósavas kezelés után leöblítettük a lemezeket desztillált vízben, majd 7 percre, szobahőmérsékleten telített báriumhidroxid oldatba tettük. A lemezeket ezután desztillált vízben alaposan lemostuk, lehetőleg az összes báriumkarbonátot távolítsuk el. Majd 60 percre 60 °C-os 2 × SSC pufferbe tesszük (17,53 g NaCl + 8,82 g Na-citrát/ 1l desztillált víz, pH 7,0,). Az SSC-ből közvetlenül a Sørensen foszfát pufferben (1. oldat: 9,46 g Na_2HPO_4/1000ml deszt. víz; 2. oldat: 9,07 g KH_2PO_4/1000 ml deszt. víz; 100 ml puffer áll: 58 ml 1-es és 48 ml 2-es oldatból) oldott 4-5 %-os Giemsa (Fisher Scientific,USA) oldatba helyezzük a lemezeket (pH 6,8). A megfelelő preparátumokról mikroszkópos felvételeket készítettünk, vagy a digitális kamera segítségével rögzítettük a mikroszkópos képet.

A leírt módszert alkalmaztuk az 1BS/1RL transzlokációk kimutatásánál is.

3.2.3. A kromoszómaszám megkettőzése kolhicin segítségével

A növénykék kolhicinkezelését (Jensen, 1981) a bokrosodási fázisban végeztük úgy, hogy kiemeltük őket a földből, gyökerüket csapvízzel lemostuk és 1-2 cm-re visszavágtuk. Ezután 0,04 %-os kolhicinoldatba (Sigma) helyeztük, 15 °C-on, egy éjszakára. A következő nap a növényeket alaposan megmostuk és visszaültettük a talajba. A kezelés előtt mitótikus kromoszómavizsgálatra gyökérmintát vettünk.

3.2.4. Matematikai statisztikai módszerek

Az *Aegilops* × *Triticum* F_1 hibridek morfológiai adatait az Ábrányi (szóbeli közl.) által kifejlesztett "Biostat" számítógépprogram segítségével dolgoztuk fel. Elvégeztük a morfológiai adatok varianciaanalízisét és diszkriminancia-analízisét. A diszkriminancia-analízis adataiból kiszámítottuk az egyes populációk egymástól való távolságát jellemző Mahalanobis D^2 értékeket.

3.3. AZ 1RS/1BL TRANSZLOKÁCIÓ VIZSGÁLATÁNÁL ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

3.3.1. *In situ* hibridizáció

Az *in situ* hibridizáció fő lépéseit az alábbi séma foglalja össze:

a biológiai preparátum készítése → a próba és a preparátum denaturálása ← a nukleinsav próba jelölése

↓

hibridizálás

↓

mosás

↓

detektálás

↓

megjelenítés (vizualizáció)

A biológiai preparátum készítése esetünkben a megfelelő kromoszómapreparátumot jelenti, a próba jelölése során, a hibridizálni kívánt DNS-t (rozs teljes genomból izolált DNS) fluoreszcensz, vagy radioaktív izotópokat tartalmazó festékkel jelöljük (mi fluoreszcensz festéket, florogreent használtunk), a preparátum és a próba denaturálása során egyszálú DNS-t kapunk, amelyhez a másik szál - amennyiben homológia áll fenn a próba és a preparátum DNS között - hibridizál. A hibridizációs helyeket a flureszcens festék alapján tehetjük láthatóvá, ultraibolya (UV) fénnyel megvilágítva, mikroszkóp alatt. Az általunk alkalmazott módszer, kisebb módosításokkal, Reader és mtsai (1994) módszerét követi. A felhasznált oldatok összetétele is ennek megfelelő.

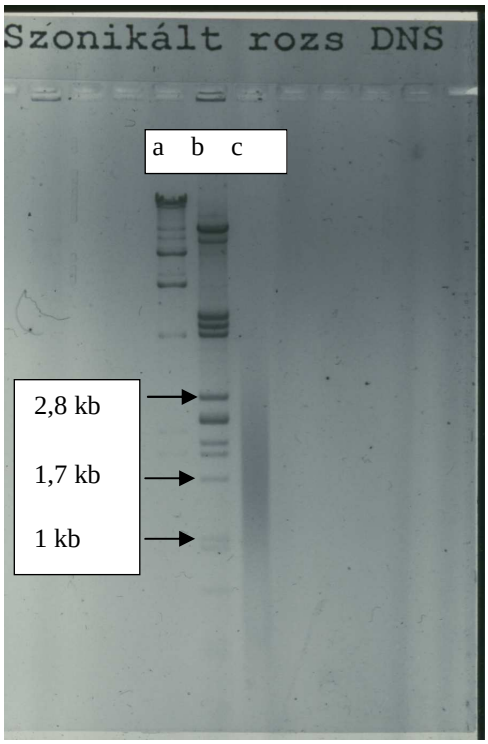
3.3.1.1 Preparátum készítés gyökércsúcsból az *in situ* hibridizációhoz

Az in situ hibridizációhoz a preparátumot úgy készítettük el, hogy a gyökereket 10 percre 1 %-os kármin-oldatba tettük és a fiolát láng felett kicsit megmelegítettük, majd gyökércsúcsból dörzspreparátumot készítettünk és fáziskontraszt mikroszkópban (min. 20×-os nagyítás mellett) vizsgáltuk.

Ha a preparátum jól sikerült, és alkalmas volt *in situ* hibridizációhoz, akkor folyékony nitrogénben megfagyasztva a preparátumot, lepattintjuk a fedőlemezt, majd alkoholsorozaton (etil-alkohol) keresztül (70 % - 5 perc, 90 % - 10 perc abs. - 10 perc, majd 1 éjszaka száradás) szárítva -20 °C-on tároltuk a felhasználásig.

3.3.1.2. A DNS kivonása, minőségének, mennyiségének és móltömegének megállapítása

A DNS-t proteinázK módszerrel vontuk ki, minőségét 0,8 %-os agaróz gélen ellenőriztük, mennyiségét Tk0100 fluoriméterrel határoztuk meg. Ezután Biosonic típusú készülékkel ultrahanggal daraboltuk. A móltömeget sztenderdekkel együtt futtatva állapítottuk meg. (3.2. ábra)



3.2. ábra. A szonikált rozs DNS móltömegének megállapítása (a: λ HindIII-mal, b: λ- PstI-gyel emésztett moltömeg sztenderdek és c: szonikált DNS. A gélen látszik, hogy az általunk szonikált rozs DNS átlagos moltömege 1 és 2 kb közé esik. 1.5 kb ≈ 1.000.000 Dalton).

3.3.1.3 A próba jelölése flourokrómmal - nick transzláció

1,5 ml-es steril Eppendorf-csövet beborítottunk alufóliával és ebbe pipettáztuk az alábbiakat a leírt sorrendben:

- steril víz (MilliQ) X µl (mennyisége a DNS mennyiségétől függ)
- 10x nick transzlációs puffer 5,0 µl
- jelöletlen nukleotid keverék (1:1:1) 5,0 µl
- flurokrómmal jelölt nukelotid 3,5 µl
- 100 mM-os dithiothreitol (DTT) 1,0 µl
- jelölendő DNS (szonikált rozs DNS) x µl (az oldatban 1 µg-nak kell lennie, és ettől függ a steril víz mennyisége olyan módon, hogy az oldat össztérfogatának 45 µl-nek kell lennie)

A fenti keverékhez hozzáadunk 5 µl enzimkeveréket (DNS polimeráz/Dnase I - GIBCO), óvatosan összekeverjük és centrifugáljuk, de csak nagyon rövid ideig. Az Eppendorf-csövet mindvégig jégen tartjuk, majd 15 °C-on 3,5 órán keresztül inkubáljuk.

A következő lépések lényege a jelölt DNS alkoholos kicsapása

5 µl 0,3 M-os EDTA-val (etilén-diamin-tetraecetsav, pH 8,0) leállítottuk az enzimreakciót, hozzáadtuk a szonikált blokkoló DNS-t (esetünkben búza teljes genomból kivont DNS) a próba 35×-ös mennyiségében, vagyis 35 µg-ot tartalmazó DNS oldatot, hozzáadunk 1/10 térfogatnyi (10 µl) 3 M-os Na-acetátot és 2,5-3 térfogatnyi (275 µl) jéghideg absz. etanolt. A cső tartalmát ezután óvatosan összekevertük, majd -70 °C-on fél óra alatt, vagy -20 °C-on egy éjszakán át kicsapódik a DNS. Centrifugáltunk 12.000 g-vel, 10-15 percen keresztül +4 °C-on, leöntöttük a felülúszót, a csapadékot 500 µl jéghideg 70 %-os etanollal mostuk, majd újra centrifugáltuk az előző feltételek mellett, de csak 5 percig. Ismét leöntöttük a felülúszót és a csövet lefelé fordítva megszárítottuk, majd a csapadékot 20 µl 1× TE oldatban oldottuk és a jelölt DNS-t +4°C-on tároltuk.

3.3.1.4. Az *in situ* hibridizáció végrehajtása

RNase kezelés (célja, hogy a preparátumon ne maradjon RNS):

- RNase oldat elkészítése: 22,5 µl, 10 mg/ml RNase-t pipettázunk 45 ml 2xSSC-be
-a tárgylemezeket 30-60 percre belehelyezzük az RNase oldatba
-lemossuk a lemezeket 2×SSC-ben 3-szor 2 percig

Paraformaldehid kezelés (prehibridizációs fixálás)

Friss 4%-os paraformaldehid oldatot készítettünk (pH 7,5), a tárgylemezeket 10 percig szobahőmérsékleten a paraformaldehidben inkubáltuk, majd utána 3×2 percig 2×SSC-ben átmostuk.

Formamid kezelés (a DNS denaturálása)

70 °C-os vízfürdőben előmelegített 35 ml formamidot és 15 ml 2xSSC-t összeöntünk (ezzel 70%-os formamidot kapunk) és ebben a tárgylemezeket 3 perc 15 másodpercig inkubáljuk.

Dehidratálás:

A preparátumokat 70-, 90- és absz. alkoholos sorozatban dehidratáltuk, majd levegőn szárítottuk

Hibridizáció:

A preparátumokat 65 °C-on, párás kamrában 2,5 óra hosszat inkubáljuk (ez alatt történik meg a hibridizáció), az inkubálás után a műanyag fóliákat eltávolítjuk és 2xSSC-ben 2x5percig mossuk (stringency washing).
-a hibridizációs keverék összeállítása (lemezenként 50 µl keverékkel számolunk)

steril víz (Sigma)	22,75 µl	
20xSSC	5 µl	
25% dextran szulfát	20 µl	
10% SDS	1,25 µl	
jelölt próba (50ng/µl)	1 µl	ez tartalmazza a blokkoló DNS-t is
összesen	50 µl	

Kontrasztfestés DAPI-val: (4',6-diamidino-2-phenylindole, a DAPI azért alkalmas kontrasztfesték, mert fényelnyelési- és kibocsátási hullámhossza nem fedi a fluorokromokét):

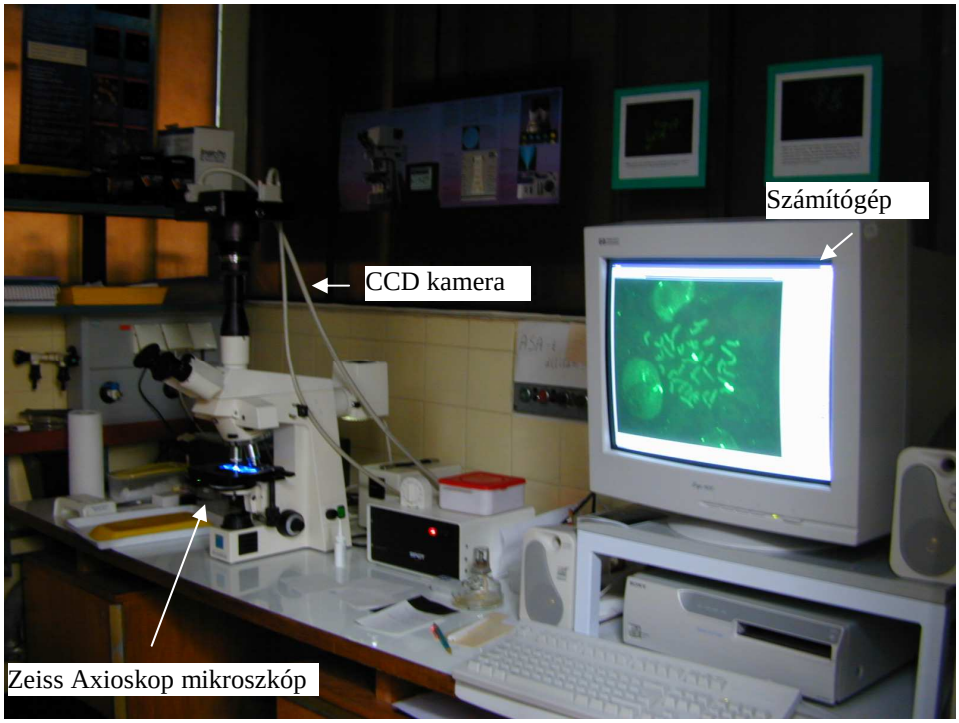
1 µg/ml-es DAPI törzsoldatot 0,125 µg/ml-esre hígítunk McIlvaine pufferrel, az oldatból 50 µl-t pipettázunk egy lemezre, 5 percig hagyjuk festődni, majd a felesleges DAPI-t 4xSSC/Tween-ben leöblítjük

A preparátumok tartósítása:

A preparátumokra egy csepp Vectashield-et (fakulásgátló, Vector Laboratories, Peterbourgh, UK) cseppentünk és üveg fedőlemezzel lefedjük. A kész trágylemezek +4 °C-on tárolhatók.

3.3.1.8. Számítógépes képelemzés

A képelemző rendszer a következő alapvető alkotórészekből tevődik össze:
-megfelelő minőségű mikroszkóp (Zeiss Axioskop, fluoreszcensz megvilágítással, megfelelő szűrőkkel - 10-es és 25-ös)
-CCD kamera (Charge-Coupled Device - ez lényegében egy hűtött, nagy érzékenységű fekete-fehér kamera, az általa a számítógépbe továbbított képet a szoftver alakítja át a szürke árnyalatok alapján ún. pseudocolor képpé)
-IBM kompatibilis számítógép (Hewlett-Packard Pentium II, 266 MHz, 124 Mb RAM, a CCD kamerához tartozó képdigitalizáló kártyával és 16Mb videomemóriával rendelkező videokártyával)
-21" nagy felbontású monitor (Hewlett-Packard)
Az általunk használt rendszer a 3.3. ábrán látható



3.3. ábra: A mikroszkópos felvételek készítéséhez és feldolgozásához használt rendszer

A számítógépen az operációs rendszeren kívül még egy képelemző programnak is kell lennie, ez esetünkben az ImagePro Plus program (Media Cybenetics, US).

A klasszikus mikroszkópos fényképezéssel szemben a digitális képfeldolgozó rendszer a következő előnyökkel rendelkezik:

-csökkenthetők a költségek

-egyszerűbb a képrögzítés, mert a fényerőt és a kontrasztot a számítógépen előre beállított kombinációkban rögzíthetjük, így a különböző módszerekkel megfestett preparátumokhoz (pl. Feulgen, *in situ* stb.) mindig hozzárendelhetjük a tapasztalatok szerint legmegfelelőbb beállításokat. Mivel A CCD kamera rendkívül érzékeny, még a gyengébben festődött preparátumokból is értékelhető képet kaphatunk

-a karyotipizálást a monitoron és a mikroszkópban párhuzamosan végezhetjük, tehát kérdéses esetekben még rendelkezésre áll az eredeti preparátum a mikroszkópban

-a számítógép segítségével a kép bizonyos határok között tetszés szerint nagyítható, a kromoszómákat egymás mellé rendezhetjük. Ez szintén segítség a kiértékelésnél.

-végső soron a számítógépes szoftver segítségével lehetséges a kromoszómák számolása, azonosítása

-az eredmények könnyebben dokumentálhatók akár a számítógép mágneslemezén, de újabban CD lemezeken is

-a mai számítógépes nyomtatási technika már lehetővé teszi a fénykép minőségű nyomtatást

-a digitalizált képek könnyen beilleszthetők dokumentumokba, digitális formában továbbíthatók más laboratóriumokban dolgozó kutatókhoz, ezáltal könnyű és gyors lehetőség nyílik az együttműködésre.

3.3.2. Az 1B/1R transzlokációk kimutatásánál használt C-sáv módszer azonos a 3.2.2.2. fejezetben leírtakkal.

3.3.3. Az 1B/1R transzlokációk kimutatása poliakrilamid gélelektroforézissel

A glutenin alegységek extrakcióját Jackson és mtsai. (1996) módosított leírása alapján végeztük. A csírarész eltávolítása után valamennyi eldörzsölt búzaszemhez 100 µl 1m/V % DTT-t, 27,5 V% izo-propanolt és 0,02 mM Tris-HCl-t (pH 8,0) tartalmazó oldatot adtunk a glutenin polimerek redukálása érdekében. Alapos keverés, majd 10 perc ultrahangos és 30 perc 65 °C-os vízfürdőben történő extrahálást követően 5 percig 14000 g-n centrifugáltuk. Ezután a glutenin alegységeket 100 µl, a redukciós pufferrel megegyező összetételű, de az 1 m/V % DTT helyett 1 m/V % jódacetamidot tartalmazó oldattal 15 percig alkiláltuk 65 °C-os vízfürdőben. 5 perc centrifugálás (14000 g) után a felülúszó 100 µl-éhez hozzáadtunk 100 µl 2 V% SDS, 0,02 % Brómfenolkék, 0,02 mM Tris-HCl (pH 8,0) és 40 V% glicerol tartalmú próbapuffert.

A glutenin alegységek elválasztását 1 mm vastagságú, két rétegű gélen végeztük. Az elválasztó gél 0,375 mM Tris-HCl (pH 8,8), 0,1 % SDS és 2,5 V% glicerol tartalmú poliakrilamid gél (T = 12,3%, C = 2,6 %). A gyűjtő gél (felső réteg, T = 5,6 %, C = 2,6%) 0,14 mM Tris-HCl (pH 6,8)-t és 0,1 % SDS-t tartalmaz. A futtatópuffer (pH 8,3) 0,25 mM Tris-HCl-t, 1 m/V % SDS-t és 14,8 m/V % glicint tartalmazott. A zsebekbe 15 µl a 4.2.1 pontban leírtak szerint kivont és redukált glutenin extraktumot vittük fel, majd 8 mA/gél állandó áramerősség mellett kb. 16 órán keresztül futtattuk. A futtatást követően a géleket 15 percig 10 %-os metanolban fixáltuk, majd egy éjszakán át 0,13 m/V % CBB R250 és 1,3 V% TCA tartalmú festékkel festettük, majd desztillált vízzel mostuk és fotóztuk.

3.4. A BÚZA SZÁRAZSÁGTŰRÉSÉNEK GENETIKAI VIZSGÁLATÁNÁL ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

3.4.1. A kísérleti növények nevelési körülményei:

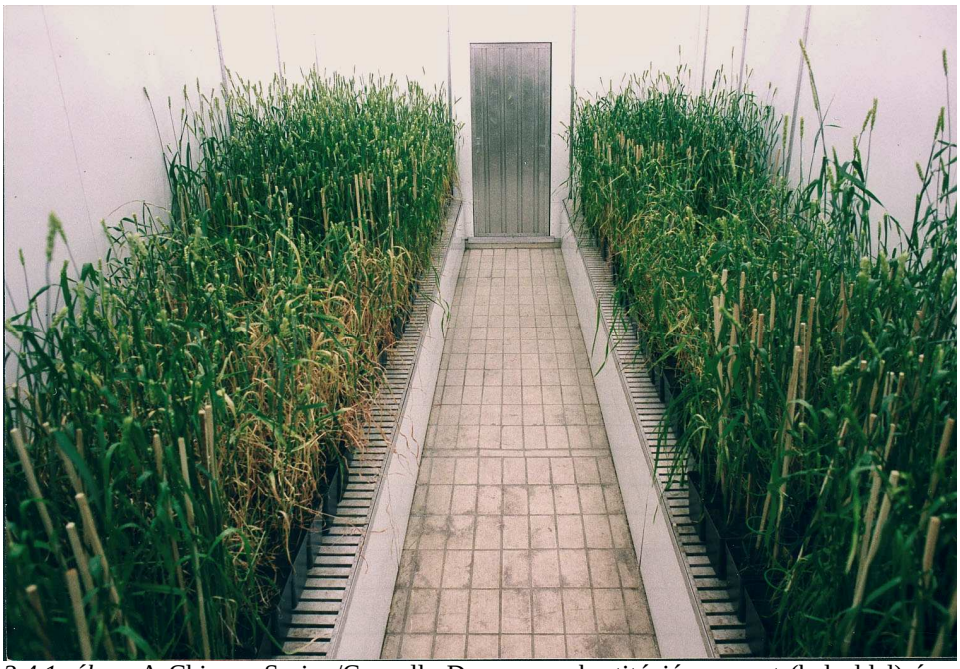
A 3.1.2. fejezetben felsorolt szubsztitúciós és addíciós vonalak, valamint a recipiens és donor fajták növényeit az egyes genotípusok igényeinek megfelelő vernalizáció (pl. Cappelle Desprez, CS/CD 5A szubsztitúció 42 nap, Chinese Spring, CS/CD egyéb szubsztitúciós vonalak 21 nap) után 5 kg, sterilizált (24 h, 82 °C) földet (kerti talaj: humusz : homok 3:1:1arányú keveréke) tartalmazó 20 × 20 × 20 cm-es edényekbe ültettük. Minden edénybe három növény került, majd a növényeket a martonvásári fitotron PGB-96-os kamrájában neveltük fel (3.4.1. ábra). A kísérletet három ismétlésben, véletlen blokk elrendezésben állítottuk be. A növényeket 17 héten keresztül neveltük a 3.1. táblázatban megadott körülmények között. A relatív páratartalom: nappal 64 %; éjszaka 76 % volt a kísérlet teljes időtartama alatt. A megvilágítást három fokozatban kapcsoltuk be (és ki), így a fotoszintetikus foton fluxus sűrűség (PPFD) 270, 320 és 350 µmol/m^2.s. A megvilágítás intenzitása pedig 60, 70 és 74 J/ m^2/s volt.

3.1. táblázat. A CS/CD szubsztitúciós sorozat növényeinek nevelési klímaprogramja a PGB-96-os fitotron-kamrában

Hetek	Nappali hőmérséklet (°C)	Éjszakai hőmérséklet (°C)	Nappalhossz (h)
1	14	10	13,5
2	15	11	14,0
3	16	12	15,0
4	16	13	15,0
5	17	13	15,5
6	17	14	15,5
7	18	14	16,0
8	18	14	16,0
9	18	14	16,0
10	18	14	16,0
11	18	15	16,0
12	19	16	16,0
13	20	17	16,0
14	21	18	16,0
15	22	19	16,0
16	23	20	15,5
17	24	20	15,5

3.4.2. A szárazságstressz típusai

A növények öntözésével három csoportot alakítottunk ki:
E1: a kísérlet teljes időtartama alatt öntözött kontroll
E2 "középidőszaki" szárazságstressz: a virágzás kezdetétől a virágzás befejezéséig szünetelt az öntözés, majd utána folytatódott a teljes érésig
E3: "érésidőszaki" szárazságstressz: az öntözést a virágzás befejeztével, a magtelítődés kezdetével beszüntettük.



3.4.1. ábra. A Chinese Spring/Cappelle Desprez szubsztitúciós sorozat (bal oldal) és a CS/*Agropyron elongatum*, valamint a CS/Imperial rozs diszómás addíciós vonalak nevelés a martonvásári fitotron PGB-96-os klímakamrájában

3.4.3. A szárazságtűrés kísérletben vizsgált paraméterek

A relatív víztartalmat (RWC) úgy állapítottuk meg, hogy az E2 és E3 szárazságstressz alatt a zászlóslevélből kivágott meghatározott nagyságú darabok friss tömegét (FW) megmértük, majd szárítószekrényben kiszárítottuk (24 h, 90 °C), hogy megkapjuk a száraztömeget (DW). Majd ezekből az adatokból a következő formula (Ali Dib és mtsai., 1990) alapján számoltuk a relatív víztartalmat:

$$RWC\ (\%) = [(FW-DW)/FW] \times 100$$

A relatív vízvesztés (RWL) meghatározásához hat, teljesen kifejlődött, fiatal levelet vágtunk le kalászolási időszakban, lemértük a tömegüket, majd 2 órán keresztül 30 °C hőmérsékleten fonnyasztottuk őket. Fonnyasztás után újra megmértük a tömegüket, majd 24 órán keresztül 100 °C-on szárítva megmértük a szárazsúlyukat. A vízvesztés mértékét Yang és mtsai (1991) által megadott képlet szerint számoltuk az alábbiak szerint

$$RWL = [(W_1 - W_2)/W_3]/[(t_1 - t_2)/60]$$

ahol W_1, W_2, W_3, a kezdeti, a fonnyasztott és a szárazsúly, t_1 és t_2 a fonnyasztás kezdeti és befejező időpontja percekben.

Továbbá minden genotípusra kiszámoltuk az Ali Dib és mtsai (1990) által alkalmazott képlet szerint a szárazság-érzékenységi indexet is:

$$DSI = (Y_i - Y_{ni})/Y_i$$

ahol Y_i az öntözött, Y_{ni} az öntözetlen növények szemtermése volt.

3.4.4. Az adatok feldolgozása

A kapott adatok feldolgozása SPSS statisztikai programban, kéttényezős variancia-analízissel történt (In: Farshadfar, 1993).

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

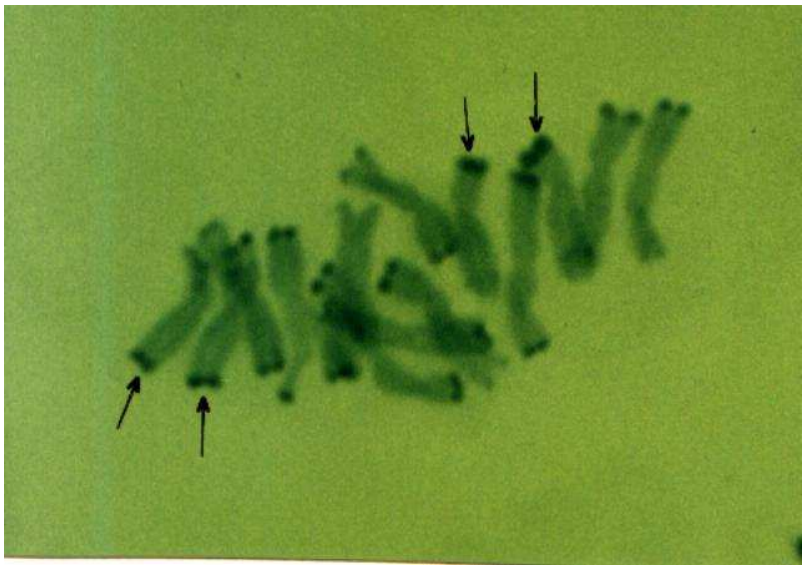
4.1. A *TRITICUM AESTIVUM* × *AEGILOPS CYLINDRICA* SZÜLŐPARTNEREINEK CITOLÓGIAI VIZSGÁLATA

A keresztezési program beindításával párhuzamosan, hagyományos Feulgen-módszerrel (4.1. és 4.2. ábrák) és C-sáv technikával elkészítettük az általunk használt fajok kariotípusát. A heterokromatin differenciális megfestésén alapuló Giemsa C-sáv technikára azért volt szükség, mert a gabonafélék Feulgen módszerrel megfestve általában nem azonosíthatók egyértelműen, hiszen többnyire metacentrikus illetve szubmetacentrikus kromoszómájuk van, amelyek méretben sem mutatnak egyértelmű különbségeket, kivéve az 1B és 6B satellites búzakromoszómákat.

4.1. ábra. A Chinese Spring (2n=6x=42; genomformula AABBDD) Feulgen-módszerrel megfestett kariotípusa

4.2 .ábra. Az *Aegilops cylindrica* (2n=4x=28; genomformula $C^cC^cD^cD^c$) Feulgen módszerrel megfestett kariotípusa

Ezt először a rozskromoszómák megfestésére ("sávozására") alkalmaztuk, mert irodalmi adatok alapján ez a módszer a rozsnál viszonylag könnyen kivitelezhető. (A rozsnak ugyanis csak 14 kromoszómája van és ezért nem nehéz jó mitózis preparátumot készíteni a gyökércsúcsból.) Továbbá, amint az a 4.3 ábrán is bemutatott C-sáv technikával megfestett rozs kariotípuson is látszik, nagyon jellegzetes, karvégi, terminális sávok figyelhetők meg a rozs kromoszómákon (az ábrán nyíllal jelezve). A rozs Giemsa C-sávos kariotípusának ismerete az 1B/1R

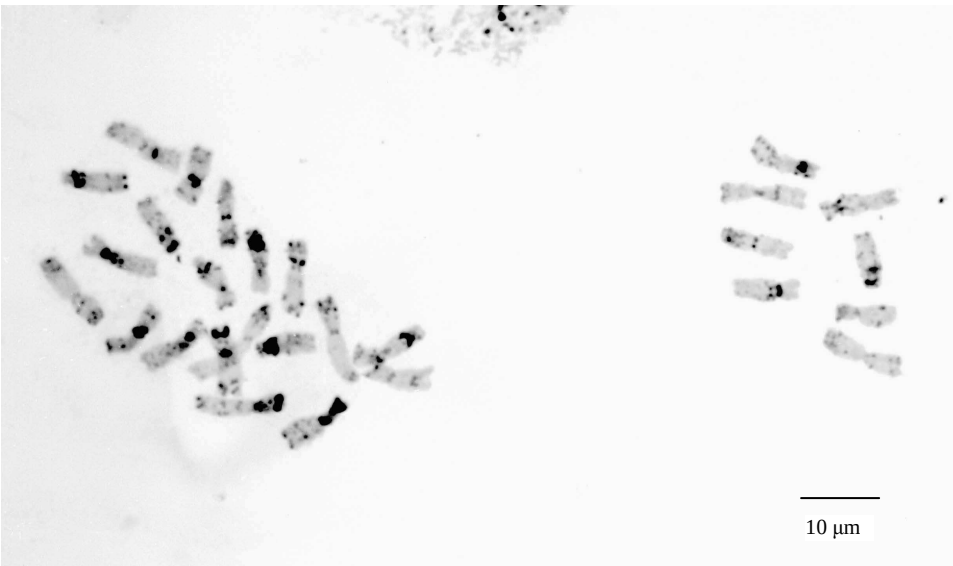


transzlokációt hordozó fajták vizsgálatánál is szükséges volt.

4.3. ábra. A rozs (*Secale cereale* L.; 2n=2x=14; genomformula RR) Giemsa C-sávos kariotípusa

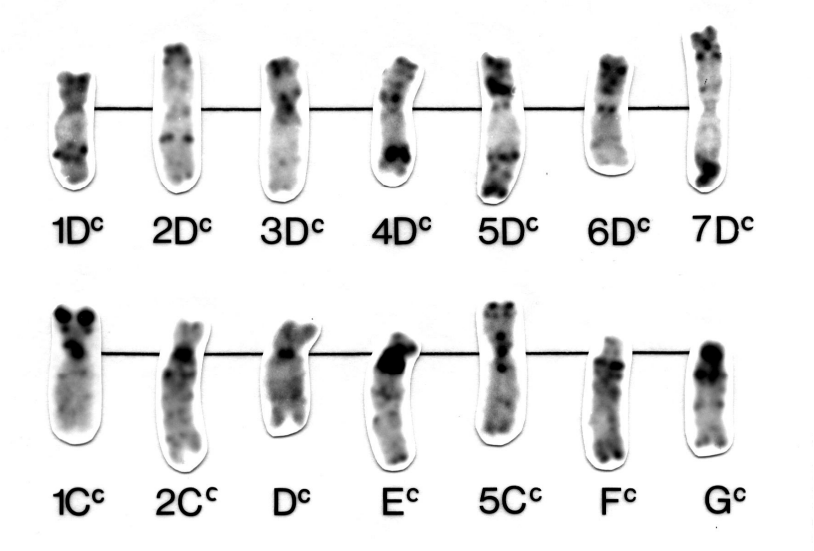
A 4.4, és a 4.6. ábrákon az *Aegilops cylindrica* és a Chinese Spring búzafajta C-sávos kariotípusát, a 4.6. ábrán az *Aegilops cylindrica* C-sávos kariogramját mutatom be. Az *Ae. cylindrica* esetében megfigyelhetők a viszonylag rövid és többnyire telocentrikus C és D genom kromoszómák. Jellemző továbbá az, hogy mindkét genom kromoszómái heterokromatinban nagyon szegények. A Chinese Spring kariotípusán a legfigyelemreméltóbb az, hogy a B genom kromoszómái milyen gazdagok heterokromatinban, ez könnyebbé teszi azonosításukat is. Itt is jól látszanak az 1B és 6B satellites kromoszómák (az ábrán nyíllal jelölve).

10 μm

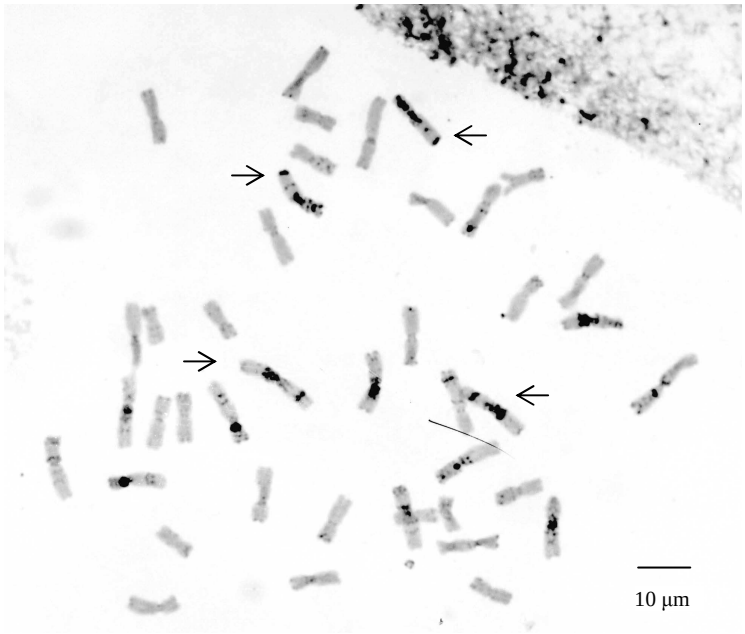


4.4. ábra. Az *Aegilops cylindrica* Host. (2n=4x=28; genomformula $C^cC^cD^cD^c$) Giemsa C-sávos kariotípusa (a kromoszómák azonosítása a 4.5.-os ábrán)

Az *Aegilops cylindrica* D^c genomja kromoszómáinak és a D genom donorjának az *Ae. tauschii*-nak C-sáv mintázatai nagyon hasonlóak. (4.6. ábra). Ez a hasonlóság lehetővé teszi, hogy az *Ae. cylindrica* D^c genomjának kromoszómáit a homeológ csoportoknak megfelelően soroljuk be. Az *Ae. cylindrica* C^c genomjának C-sáv mintázata szintén hasonló a C-genom donorjának az *Ae. caudata*-nak a C-sáv mintázatához., azonban a C genom kromoszómái közül eddig csak háromnak a homeológiáját sikerült tisztázni. Az 1C kromoszóma (Friebe és mtsai.., 1992. szerint A), amely hiányzik a Blüthner és mtsai (1988) által előállított *Triticum aestivum/Ae. caudata* addíciós vonalakból, de a Kihara által előállított és Muramatsu (1959) által leírt szubsztitúciós vonalakban 1C(1D) formában megtalálható. Az 5C kromoszóma képes kompenzálni az 5D kromoszóma hiányát, ami arra utal, hogy a Friebe és mtsai.. (1992) által eredetileg C -nek jelölt kromoszóma az 5-ös homeológ csoportba tartozik. Az *Ae. cylindrica* Endo és Gill (1996) által kromoszóma deléciós vonalak előállítására használt, gametocid hatású 2C kromoszómája a 2-es homeológ csoport kromoszómái helyébe helyettesíthető, jelezve, hogy ez a kromoszóma a 2-es homeológ csoportba tartozik. Ez a kromoszóma morfológiailag és C-sáv mintázatát tekintve hasonló a Friebe és mtsai. (1992) által leírt addíciós sorozatban B-nek jelölt kromoszómával. Az *Ae. caudata* C-genomjának fennmaradó négy kromoszómája az izoenzim-elemzések (Schmidt és mtsai., 1993) és RFLP elemzés (K. S. Gill, személyes közlés) több, mint egy homeológ csoporttal mutat homeológiát. Mivel ezen a kromoszómák hovatartozása homeológiai szempontból még további vizsgálatokat igényel, D, E, F és G betűkkel jelöltük őket, a köztük és a megfelelő *Ae. caudata* kromoszómák közötti morfológiai és C-sáv mintázatbeli hasonlóságok alapján.

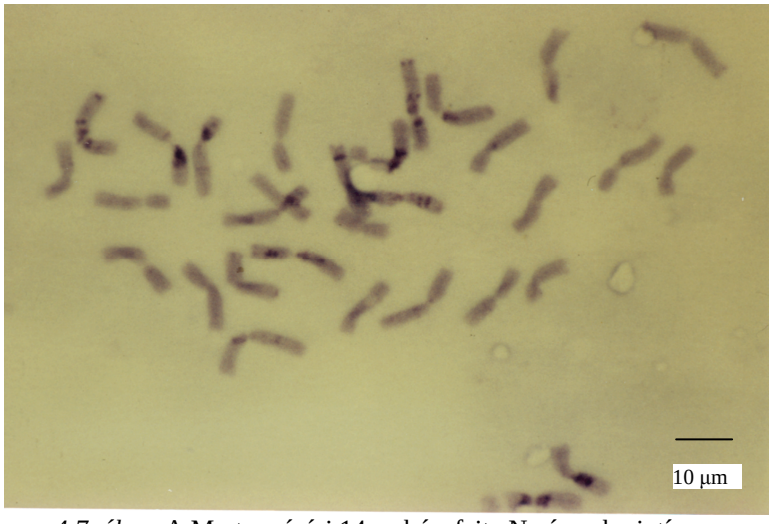


4.5. ábra Az Aegilops cylindrica Giemsa C-sávos kariogramja

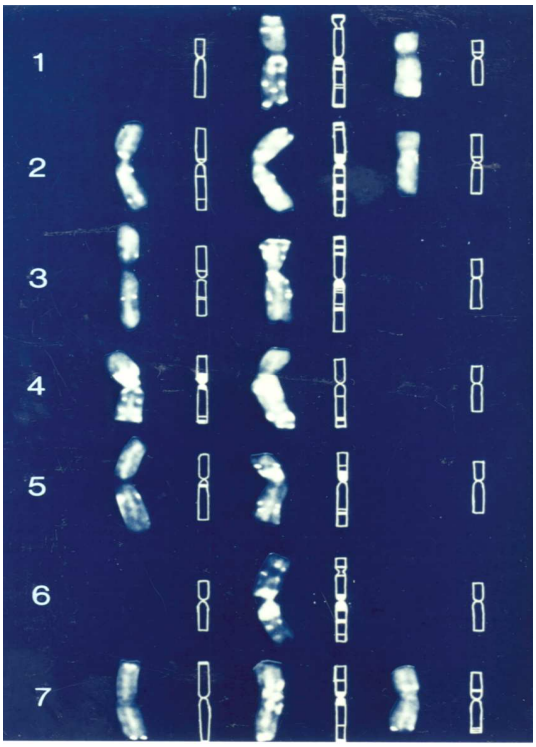


4.6. ábra. A Chinese Spring búzafajta (2n=6x=42; genomformula AABBDD) Giemsa C-sávos kariotípusa

Az egyik keresztezési partner, a Martonvásári 14-es fajta N-sávos kariotípusából (4.7 ábra) elvégeztük a kromoszómák azonosítását, ennek eredményét a 4.8. ábrán láthatjuk. Amint azt már korábban is említettük, az N-sáv módszer hátránya az, hogy nem mindegyik búza kromoszómán figyelhetők meg sávok, ezeket a kromoszómákat az ábrán nem is tüntettük fel. A B-genom kromoszómái nagy mennyiségű heterokromatint tartalmaznak, ez abban jut kifejeződésre, hogy sok sáv figyelhető meg rajtuk.



4.7. ábra. A Martonvásári 14-es búzafajta N-sávos kariotípusa



4.8.ábra. A Martonvásári 14 búzafajta N-sávos kariogramja (a számok a homeológ csoportokat jelzik, az ábrán balról jobbra az A, a B és a D genom kromoszómái láthatók)

4.1.1. A *Triticum aestivum* × *Aegilops cylindrica* keresztezések eredményei

A különböző kenyérbúza fajtákkal, rokon vadfajokkal és hibridjeikkel végzett fagyállósági kísérletek szerint az *Ae. cylindrica* -16 °C-on 90%-os, - 18 °C-on pedig 87%-os túlélést mutat (4.1. táblázat). Ezt a jó fagyállóságot át is örökíti, hiszen a hibridek túlélési %-a 20, illetve 63%-kal jobb -18 °C-on, mint a Chinese Spring, illetve az Mv14 szülőké.

Mivel a fagyállóságot, vagy más értékes agronómiai sajátságot kontrolláló gén, vagy génkomplexum irányított átvitele nagy nehézségekbe ütközik, diszómás addíciós vonalak létrehozásával kívántuk célunkat elérni. Az *Aegilops cylindricára* azért esett a választás, mert a búzával rokon vad fajok közül ez bizonyult az egyik legfagyállóbbnak (4.1 táblázat). Azt azonban meg kell jegyezni, hogy ebben a tekintetben is van némi különbség az egyes biotipusok között (Sutka, 1991; szóbeli közlés).

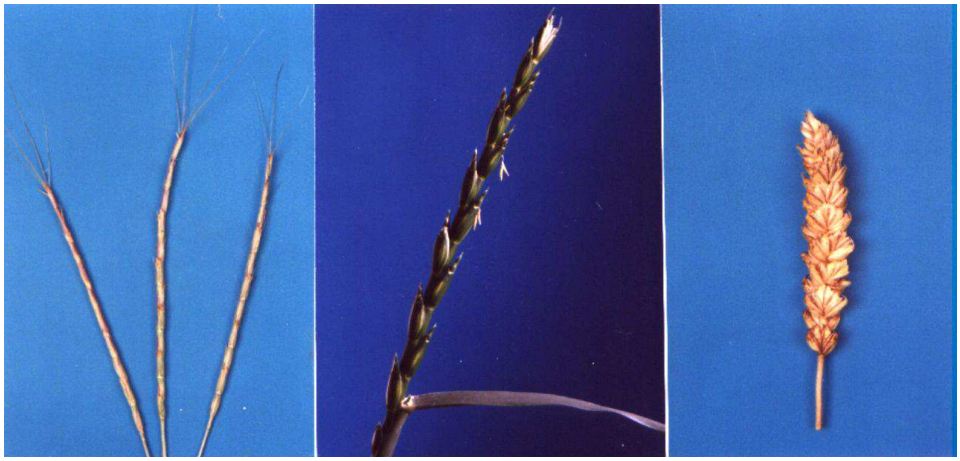
4.1 táblázat: Különböző fajok, búzafajták és az F_1 hibridek fagyállósága a túlélési % alapján

Genotípus	**Kromoszóma szám**	**Fagyasztási hőmérséklet**	
		- 16 °C	**- 18 °C**
Aegilops cylindrica	28	90	87
Aegilops squarrosa	14	17	0
Agropyron glaucum	42	100	100
T. aestivum			
Chinese Spring	42	0	0
Martonvásári 14	42	23	10
Ae. cyl. × CS F_1	35	47	20
Ae. cyl. × Mv14 F_1	35	87	73
	SzD 5%	17	13
	SzD 1%	22	18

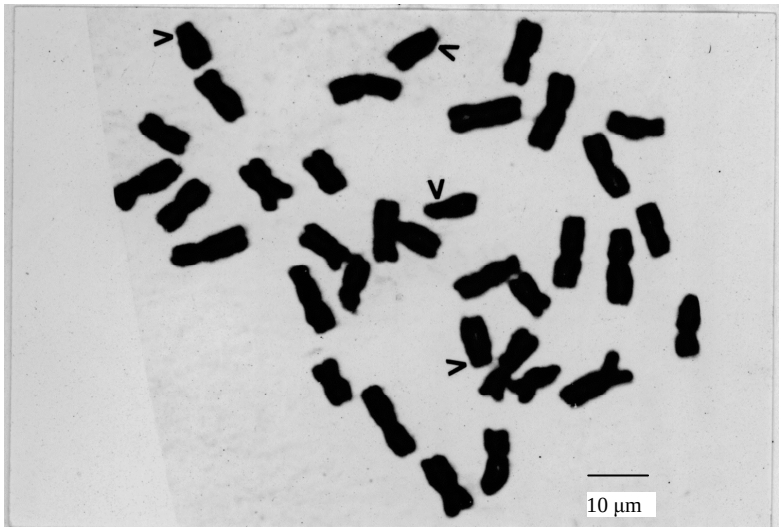
Az addíciós vonalak előállításának első lépése az F_1 hibridek létrehozása. A következő kombinációkat hoztuk létre: CS × *Ae. cylindrica*, Mv 14 × *Ae. cylindrica*, CS *ph* mutáns x *Ae. cylindrica.* Az Mv 14-gyel és a Chinese Springgel reciprok keresztezéseket is végeztünk, annak megállapítására, hogy a keresztezés iránya befolyásolja-e a meiotikus viselkedést és így a kapott szemek számát (4.2. táblázat). A 4.9.ábrán az *Ae. cylindrica*, a Chinese Spring és F_1 hibridjük kalászait, a 4.10.és 4.11 ábrán pedig az F_1 hibrid mitózisáról és meiózisáról készült felvételeket láthatunk. A mitózisban megfigyelhető rövid, akrocentrikus kromoszómák az *Ae.cylindrica* C genomjára jellemzők. A meiózis tipikus konfigurációja ebben az esetben $7^{II} + 21^{I}$.

4.2. táblázat. Az F_1 hibridek előállítása és produktivitásuk a keresztezés irányától függően

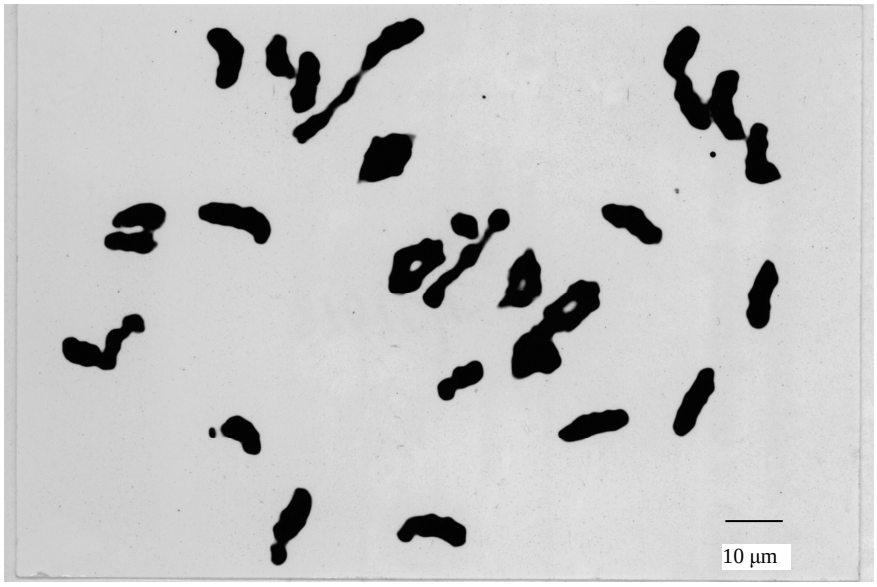
Anya	Apa	Megp. vir. száma	Kapott szemek	Szemkötési %
Ae. cylindrica	Mv14	3720 db	814 db	21,9
Mv14	*Ae. cylindrica*	600 db	88 db	14,7
Ae. cylindrica	Chinese Spring	2580 db	867 db	33,6
Chinese Spring	*Ae. cylindrica*	2180 db	553 db	25,4



4.9. ábra. Az *Aegilops cylindrica*, az F_1 hibrid és a Chinese Spring egy-egy kalásza



4.10. ábra. Az *Aegilops cylindrica* × Chinese Spring F_1 hibrid mitózisa (Feulgen módszerrel megfestve). A nyilak néhány akrocentrikus *Aegilops* kromoszómát jeleznek. (2n =35)



4.11. ábra. Az *Aegilops cylindrica* × Chinese Spring F_1 hibridek meiózisa
$21^{I}+5\,^{II}z+2\,^{II}ny$

Az F_1 hibridek meiózisát részletesen elemeztük. Ennek eredményeit foglaljuk össze a 4.3. és 4.4. táblázatokban.

4.3. táblázat A kromoszómapárosodások értékei az *Aegilops cylindrica* × Martonvásári 14 valamint az *Aegilops cylindrica* × *Chinese Spring* F_1 hibridek meiózisának I. metafázisában

F_1 kombináció	Kr. szám*.	V. s. sz.	Kromoszóma asszociációk						Fr.
			I	II			III	IV	
				Zárt	Nyílt	Összes			
Ae. cyl. ×CS	35	92	*19,5*	*3,9*	*3,0*	*6,9*	*0,05*	*0*	*0,3*
			16-23	0-7	0-7	-	-	-	0-4
Ae.cyl. × Mv14	35	274	*19,5*	*3,8*	*3,1*	*6,9*	*0,2*	*0,01*	*0,1*
			10-27	0-8	0-9	-	0-3	-	0-4

Kr. szám: kromoszómaszám a gyökércsúcsban; V. s. sz.: a vizsgált sejtek száma; Fr.: Fragmentum; a dőlt számok az átlagokat, az álló számok a minimum-maximum értékeket jelölik

4.4. táblázat A kromoszómapárosodások értékei a Martonvásári 14 × *Aegilops cylindrica*, a Chinese Spring × *Aegilops cylindrica* valmint a Chinese Spring *ph1* mutáns x *Aegilops cylindrica* F_1 hibridek meiózisának I. metafázisában

F_1 kombináció	Kr. szám*.	V. s. sz.	Kromoszóma asszociációk						Fr.
			I	II			III	IV	
				Zárt	Nyílt	Összes			
CS × *Ae. cyl.*	35	153	*23,7*	*2,4*	*2,3*	*4,8*	*0,3*	*0,01*	*0,3*
			7-34	1-10	1-10		1-2	1-2	1-3
CSph1 × *Ae. cyl.*	35	86	*16,6*	*5,2*	*2,6*	*7,8*	*0,7*	*0,12*	*0,4*
			7-34	1-10	1-10		1-3	1-3	1-4
Mv14 × *Ae. cyl.*	35	62	*23,3*	*2,9*	*2,4*	*5,3*	*0,2*	*0,04*	*0,3*
			16-33	1-9	1-9		1-2	1-2	1-3

Kr. szám: kromoszómaszám a gyökércsúcsban; V. s. sz.: a vizsgált sejtek száma; Fr.: Fragmentum; a dőlt számok az átlagokat, az álló számok a minimum-maximum értékeket jelölik

Az eredmények lényegében megegyeznek Belea (1986) adataival. Az *Aegilops cylindrica* szomatikus kromoszómaszáma 2n=4x=28, genomképlete CD^c, a *T. aestivum*-é (CS, Mv14) 2n=6x=42, genomképlete ABD. A vizsgált meiótikus sejtekben a kromoszómaszám átlaga az *Aegilops cylindrica* × Chinese Spring hibrid esetében 33,5, az *Aegilops cylindrica* × Martonvásári 14 hibridnél 33,9, a Chinese Spring × *Aegilops cylindrica* kombinációban 33,3, a Martonvásári14 × *Aegilops cylindricá*-nál 33,9. A trivalensek, quadrivalensek és kromoszóma-fragmentumok figyelembevételével ez az érték jól közelít az elméleti 35-höz (Zhao and Kimber, 1984). Az összes bivalens értéke azonban már a keresztezés irányától függ. Mind a Chinese Spring, mind a Martonvásári 14 kombinációban magasabb értékeket kaptunk abban az esetben, ha az anyai partner az *Aegilops cylindrica* volt. Ez a tendencia egyaránt megfigyelhető a zárt és a nyílt bivalensek esetében. A Chinese Spring *ph1b* mutánssal történő keresztezéssel azért próbálkoztunk, mert kíváncsiak voltunk, mennyiben változik a meiotikus konfiguráció. Amint az a táblázatból is egyértelműen kiderül, mind a zárt, mind a nyílt bivalensek száma jelentős mértékben emelkedett, a 7,8-es érték meghaladja még azokat az értékeket is, amikor az *Aegilops* volt az anyai partner. Ez a tendencia a szemkötésnél is érvényesül, ha az *Aegilops* az anyai partner, a szemkötési százalék magasabb (4.2. táblázat).

Adataink megerősítik azt, hogy a *Triticum aestivum* és az *Aegilops cylindrica* egy lényegében közös, nagymértékben rekombinálódó genomot (D, illetve D^c) hordoznak (Belea, 1986), három genomban pedig eltérnek egymástól (búza: AB, *Aegilops cylindrica*: C^c). A D és a D^c genom eltéréseinek vizsgálatára célszerű lenne a Chinese Spring megfelelelő D-genom monoszómáit keresztezni *Ae. cylindrica*-val, melynek eredményeként a D^c genom kromoszómáira vonatkozó szubsztitúciós sorozatot kaphatnánk. A D^c genom szubsztitúciós sorozatát elő lehetne állítani úgy is, hogy a kezdeti F_1 hibrideket a Kerber (1964) által előállított, D genomjától megfosztott, tetraploid Chinese Spring (AB genom) és az *Ae. cylindrica* keresztezésével állítanánk elő.

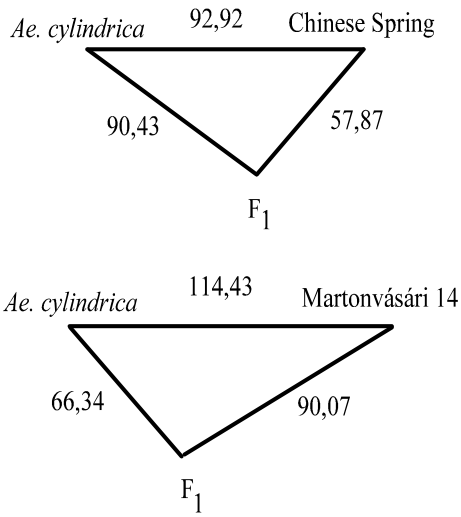
Annak érdekében, hogy képet kapjunk a szülői populációk, valamint az F_1 hibridpopulációk egymástól való távolságára vonatkozóan felvételeztük a szülők és az *Aegilops cylindrica* × Chinese Spring és az *Aegilops cylindrica* × Martonvásári 14 kombinációk legfontosabb mennyiségi jellegeit. Ezeket foglalja össze a 4.5. táblázat.

4.5. táblázat Az *Aegilops cylindrica* × *Triticum aestivum* F_1 hibridek és a szülők mennyiségi jellegeinek adatai

Tulajdonság	*Ae. cyl.*	CS	Mv 14	*Ae. cyl.* × CS	*Ae. cyl.* × Mv 14
Növény-magasság	95.18 ±0.54	122.93 ± 0.47	89.93 ± 0.39	123.37 ±0.41	112.86 ±0.53
Zászlóslev. hossza	17.88 ± 0.20	27.98 ± 0.42	29.74 ± 0.27	29.91 ±0.33	26.32 ± 0.27
Zászlóslev. szélessége	0.74 ±0.01	1.40 ± 0.03	1.98 ±0.01	1.54 ±0.02	1.44 ±0.01
Kalász hossza	12.18 ±0.08	7.80 ±0.10	10.21 ±0.06	14.90 ±0.12	13.65 ±0.09
Kalászka hossza	1.22 ±0.01	1.08 ±0.02	1.37 ± 0.02	1.42 ±0.01	1.43 ±0.01
Szálka hossza	4.88 ±0.12	-	0.96 ±0.03	0.95 ±0.08	1.89 ±0.05
Pelyvalev. hossza	0.81 ± 0.01	0.53 ±0.01	0.70 ±0.01	0.89 ±0.01	0.86 ±0.01
Kalászka/kalász	19.83 ± 0.08	16.43 ± 0.25	19.43 ±0.24	16.99 ±0.11	15.75 ±0.15
Szem/kalász	16.76 ± 0.35	44.83 ±1.13	46.32 ±0.95	0.03 ±0.00	0.02 ±0.00

Látható, hogy a legtöbb mennyiségi jelleg a szülőpárok megfelelő adatai közül a nagyobbikéhoz áll közelebb (gazdasági heterózis), sőt esetenként azt meg is haladja (genetikai heterózis). Gazdasági heterózishatás mutatkozott mindkét hibrid kalászhosszúsága, kalászkahosszúsága, pelyvalevélhosszúsága, valamint az *Aegilops cylindrica* × Mv14 F_1 növények magassága és az *Aegilops cylindrica* × CS F_1 növények zászlóslevél-hosszúsága esetében. Az *Aegilops cylindrica* × Mv14 F_1 növények zászlóslevél-hosszúsága és az *Aegilops cylindrica* × Chinese Spring F_1 növények magassága genetikai heterózishatást mutat. A kalászonkénti kalászkaszám az *Aegilops cylindrica* × Chinese Springnél átmeneti, míg az *Aegilops cylindrica* × Mv14 F_1-nél mindkét szülőnél kisebb értéket mutat. A hibridek első nemzedékei nagyon sterileknek bizonyultak. A hibridkalászok átmenetet képeznek a két szülő között (4.9. ábra).

A mennyiségi adatok alapján elvégzett diszkriminancia analízis során kapott és az egyes populációk távolságát a mennyiségi jellegek szempontjából jellemző ún. Mahalanobis D^2 értékeket a 4.12. ábrán tüntettük fel. Ez az ábrázolási mód jól érzékelteti a szülők és hibridjeik távolságát.



4.12. ábra Az egyes populációk MAHALANOBIS D^2 értékeinek általánosított távolsága a mennyiségi adatok alapján

Mivel tudtuk, hogy az F_1 nemzedék esetében nagyfokú sterilitásra számíthatunk, az éretlen embriók egy részéből embrió és kallusztenyészetet is indítottunk, azt remélve, hogy ezen az úton könnyebben leküzdhetjük az inkompatibilitás problémáját. A szövettenyészet elindításával azért is próbálkoztunk, hogy esetleg ezen az úton kolhicinkezelés nélkül kapjunk amfidiploidokat, továbbá esetleg a kallusztenyészetben kromoszóma átépülést indukáljunk az *Aegilops cylindrica* Host. és a *Triticum aestivum* L. kromoszómái között. Ezek a próbálkozásaink azonban sajnos nem vezettek a kívánt eredményre, nem sikerült szemkötést elérnünk.

Az F_1 növények kolhicinkezelésével azonban elő tudtunk állítani amfiploidokat, így a keresztezési programot folytatni tudtuk. A 4.6. táblázatban az F_1 növények kolchicinkezelésére, a 4.7. táblázatban a BC_1 nemzedék előállítására, a 4.8. táblázatban pedig a BC_2 nemzedék előállítására vonatkozó legfontosabb adatok szerepelnek. Végül a 4.9. táblázat BC_2 nemzedék növényeinek szomatikus kromoszómaszám-megoszlását foglalja össze. A legtöbb növény kromoszómaszáma 42, de vannak ettől eltérő kromoszómaszámú növényeink is.

A 44 kromoszómás vonalakat C-sávozással elemeztük. A 4. 13. ábra azokat az *Ae. cylindrica* kromoszómákat mutatja, amelyeket ezekben a vonalakban a búza kromoszómaszerelvényen kívül találtunk, továbbá ezen az ábrán tüntettünk fel két átrendeződött búzakromoszómát. A C-sáv elemzés alapján tehát a 44 kromoszómás vonalak között a $2C^c$, a E^c és az F^c kromoszómákat hordozó diszómás addíciós vonalakat tudtunk kimutatni.

A dicentrikus és deléciós kromoszómák jelenléte arra utal, hogy a keresztezési partnerként használt *Ae. cylindrica* vonal hordozza a $2C^c$ kromoszómán a gametocid gént. A legtöbb 44 kromoszómás vonalban ez a kromoszóma van jelen. Ez a tény is a gametocid gén jelenlétét támasztja alá, a gametocid gént hordozó kromoszómára ugyanis a preferenciális transzmisszió jellemző (Endo, 1988). Emiatt azok az *Ae. cylindrica* vonalak, amelyeket a keresztezési programban használtunk sajnos nem alkalmasak a teljes diszómás addíciós sorozat előállítására.

4.6. táblázat. A kolchicinkezelt F_1 növények és a kapott szemek száma

Kombináció	Növ. szám	Szemszám
Ae. cylindrica × Mv14		
kezeletlen	25	59
0,02 % kolchicin	21	4
0,04 % kolchicin	17	45
Mv14 × *Ae. cylindrica*		
kezeletlen	16	36
0,02 % kolchicin	11	7
0,04 % kolchicin	9	11
Ae. cylindrica × Chinese Spring		
kezeletlen	35	337
0,02 % kolchicin	16	20
0,04 % kolchicin	13	15
Chinese Spring × *Ae. cylindrica*		
kezeletlen	15	46
0,02 % kolchicin	15	20
0,04 % kolchicin	19	17

4.7. táblázat. A BC_1 nemzedék előállítása

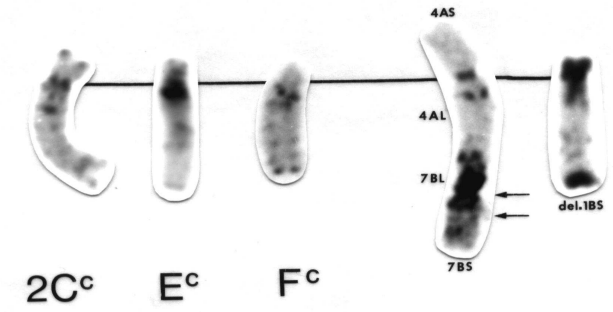
Kombináció	Apa	Növ. szám	Megp. vir.	Szemszám
Ae. cylindrica × Mv14	Mv14			
kezeletlen		6	440	0
0,02 % kolchicin		1	60	0
0,04 % kolchicin		0	0	0
Mv14 × *Ae. cylindrica*	Mv14			
kezeletlen		4	360	4
0,02 % kolchicin		2	120	0
0,04 % kolchicin		4	240	3
Ae. cylindrica × Chinese Spring	CS			
kezeletlen		43	2740	73
0,02 % kolchicin		5	240	11
0,04 % kolchicin		4	280	3
Chinese Spring × *Ae. cylindrica*	CS			
kezeletlen		12	780	32
0,02 % kolchicin		3	180	3
0,04 % kolchicin		2	120	6

4.8. táblázat. A BC_2 nemzedék előállítása

Kombináció	Apa	Növ. szám	Megp. vir.	Szemszám
(Mv14 × *Ae. cylindrica*) × Mv14	Mv14			
kezeletlen		3	200	10
0,02 % kolchicin				
0,04 % kolchicin		1	60	2
(*Ae. cylindrica* × CS) ×CS	CS			
kezeletlen		29	1680	252
0,02 % kolchicin		2	140	63
0,04 % kolchicin		2	120	12
(CS × *Ae. cylindrica*) ×CS	CS			
kezeletlen		11	700	91
0,02 % kolchicin			180	15
0,04 % kolchicin			40	9

4.9. táblázat A BC_2 nemzedék kromoszómaszám megoszlása

Eredeti komb.	48	47	46	45	44	43	42	41	?	Összes
Ae. cyl. × CS	-	-	-	-	25	37	104	7	47	220
CS × *Ae. cyl.*	-	-	2	2	22	8	23	-	14	71
Mv14×*Ae.cyl.*	4	-	-	-	2	1	-	-	3	10

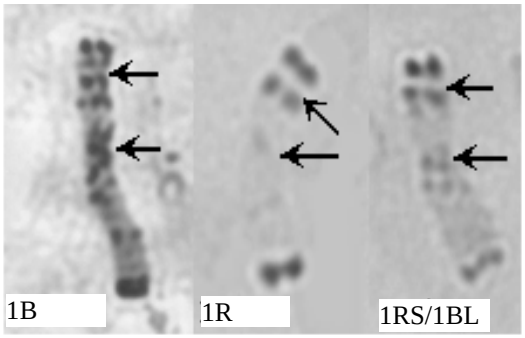


4.13. ábra: A 44 kromoszómás vonalakban C-sávozással kimutatott *Ae. cylindrica* kromoszómák ($2C^c$, E^c, F^c), valamint transzlokációs és deléciós búzakromoszomoszómák a BC_2 nemzedékből

4.2. AZ 1RS/1BL TRANSZLOKÁCIÓK KIMUTATÁSÁRA VÉGZETT KÍSÉRLETEK EREDMÉNYEI

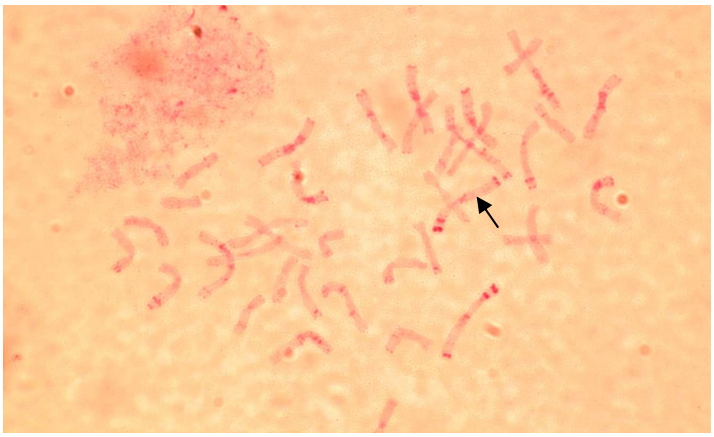
4.2.1. Az 1RS/1BL transzlokáció elemzése Giemsa C-sáv módszerrel

A centrikus fúzió révén létrejött 1RS/1BL transzlokációs kromoszóma C-sáv módszerrel viszonylag egyszerűen kimutatható. Az 1B búza kromoszóma hosszú karján erősen festődő interkaláris és terminális sávok vannak, a centromeron közelében pedig heterokromatikus sávkomplexum található. A satellites 1B kromoszóma rövid karja jól megkülönböztethető az 1R kromoszóma rövid karjától, mivel az 1BS karon számos centromeron közeli és intersticiális sáv talható, ezzel szemben a satellittel szintén rendelkező 1R kromoszóma rövid karján egy erősen festődő, nagyon jellegzetes telomérás és a másodlagos befűződés alatt egy ugyancsak jellegzetes szubtelomérás sáv látható. A centroméra közelében egy keskenyebb heterokromatikus sáv figyelhető meg. (Mukai és mtsai., 1992) (4.14. ábra)



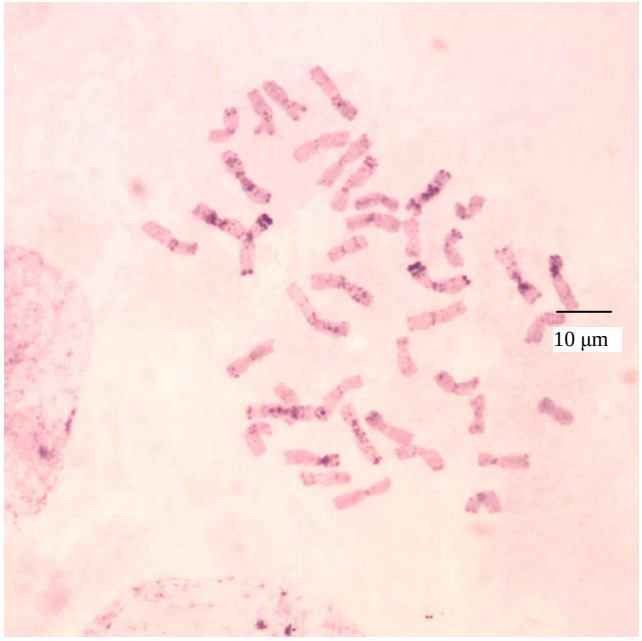
4 .14. ábra. Az 1B, 1R és az 1RS/1BL kromoszóma Giemsa C-sáv mintázata (az 1B kromoszómán a rövid karon található intersticiális, az 1R kromoszómán a rövid kar, a szubteloméra allatti és a centroméra közelében lévő sávokat nyíllal jelöltük)

Mivel a1RS/1BL kromoszóma a magyarországi fajtákba többnyire a Kavkaz és az Avrora fajták révén került be, ezért elvégeztük ezeknek a fajtáknak a C-sávos



vizsgálatát. (4.15., 4.16. ábra)

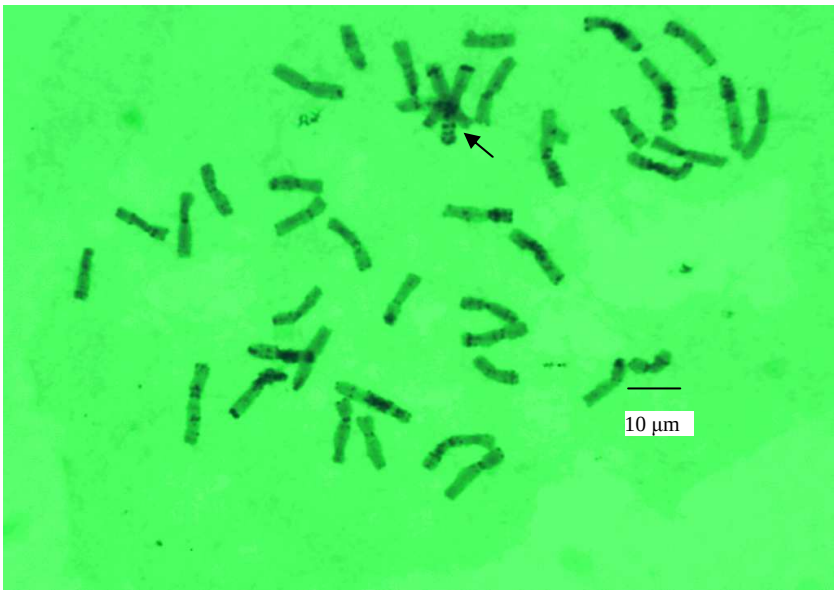
4.15. ábra. A Kavkaz Giemsa C-sávos kariotípusa. A transzlokációs kromoszómák



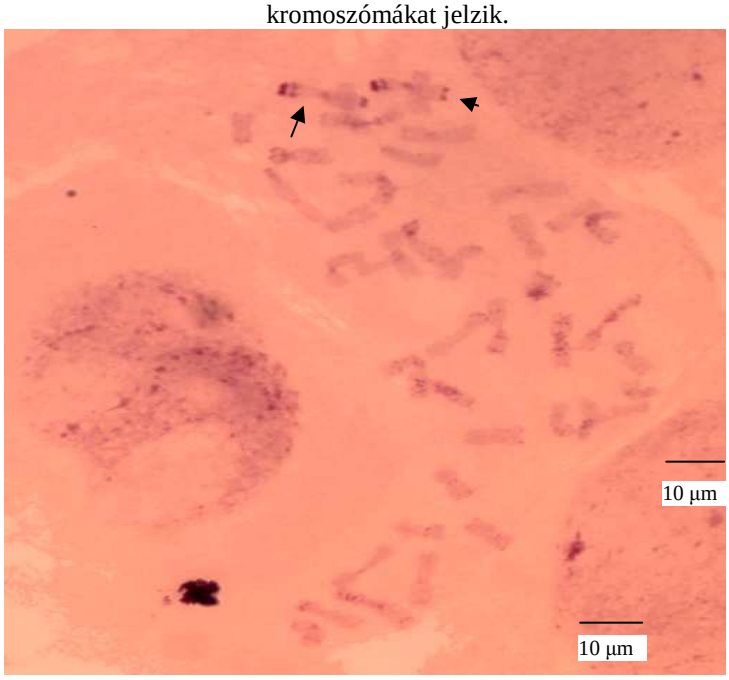
nyíllal jelezve

4.16. ábra. Az Avrora Giemsa C-sávos kariotípusa. A transzlokációs kromoszómák nyíllal jelezve.

A 4.17. és a 4.18. ábrán egy-egy transzlokációt nem hordozó (Mv Magvas), illetve hordozó (GK Csűrös) fajta Giemsa C-sávos kariotípusa látható.



4.17. ábra. Az Mv Magvas Giemsa C-sávos kariotípusa. A nyilak a normál 1B kromoszómákat jelzik.



4.18. ábra. A GK Csűrös Giemsa C-sávos kariotípusa. A nyilak a transzlokációs kromoszómákat jelzik.

A 66 általunk vizsgált magyar búzafajta közül 44-nek végeztük el a Giemsa-C sáv elemzését, az eredményeket a 4.10. táblázatban foglaltuk össze.

A Giemsa C-sáv elemzés során egy, a részletesebben tárgyalt 1RS/1BL transzlokáción kívül egy másik transzlokációt a 4.19. ábrán bemutatott 5BL/7BL;5BS/7BS transzlokációt is találtunk a GK Öthalom fajtában.

4.19. ábra. Az 5BL/7BL;5BS/7BS reciprok transzlokáció

Ez a transzlokáció fordul elő a Vilmorin 27 fajtában (Friebe és Gill, 1994) és az 1RS/1BL transzlokációhoz hasonlóan minden valószínűség szerint úgy jött létre, hogy a meiózis metafázisában az érintett kromoszómák univalens állapotban a centromeronnál eltörtek, majd átrendeződve újraegyesültek. A transzlokáció bizonyára szelekciós előnyt jelent bizonyos geográfiai és éghajlati viszonyok között a normál 5B és 7B kromoszómákkal rendelkező fajtákkal szemben. Ezzel magyarázható, hogy ez a transzlokáció pl. sok francia fajtában fordul elő.

Petróczi (2000) megemlíti, hogy a GK Öthalom, melyet 1985-ben minősítettek, az OMMI adatai szerint a legutóbbi években is átlag feletti teljesítményt nyújtott. Kiváló adaptációs képességét pedig külföldi minősítései (Törökország, Románia, Jugoszlávia) bizonyítják. Célszerű lenne a GK Öthalom utódait is, pl. A GK Miskát, A GK Életet és a GK Peturt is megvizsgálni ebből a szempontból, hiszen a kérdéses transzlokáció érdekes és értékes lehet az új fajták adaptációs képességének növelése szempontjából. A GK Petur különösen érdekes lehet ebből a szempontból, mert esetében a másik keresztezési partner egy francia fajta a Thesee volt.

A Giemsa C-sáv elemzés eredményeinek további feldolgozásával a későbbiekben újabb fontos információkat nyerhetnénk a magyar búzafajták genetikai hátterével kapcsolatban, pl. milyen mértékű C-sáv polimorfizmus figyelhető meg a magyar fajtákon belül. A polimorfizmus jelentkezhet bizonyos (többlet)sávok létében vagy más fajtákban meglévő sávok hiányában, illetve a sávok méretében mutatkozó különbségekben és valószínűen a nagymértékben ismétlődő DNS-szekvenciák amplifikálódása, vagy mennyiségének csökkenése szolgál a polimorfizmus magyarázatául.

4.2.2. Az 1RS/1BL transzlokáció kimutatása in situ *hibridizációval*

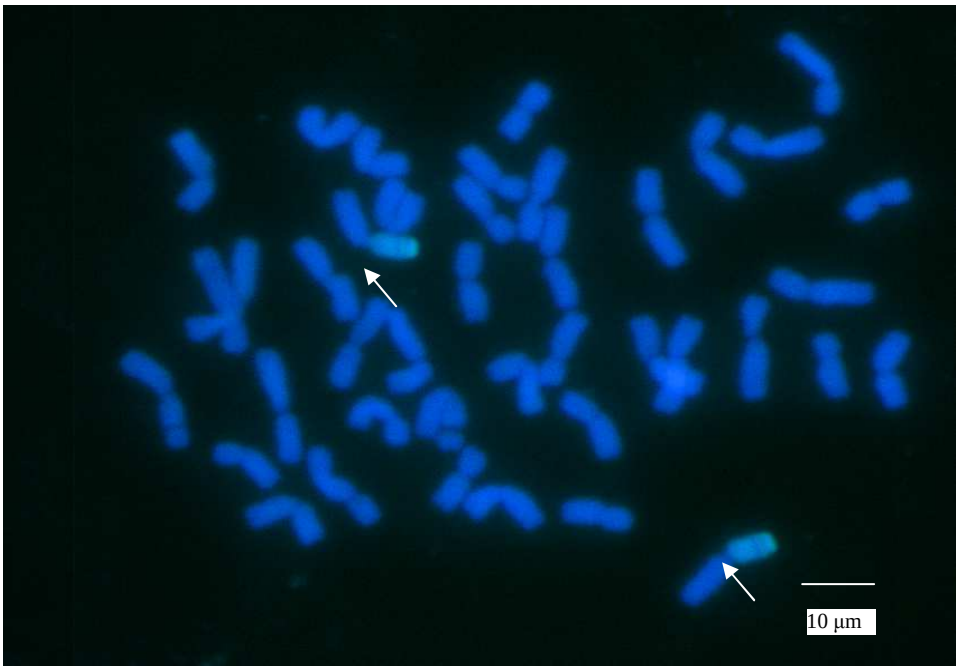
Néhány olyan fajtán (4.10 táblázat), amelyekben az SDS-PAGE és a Giemsa C-sáv módszerrel a 1RS/1BL transzlokációt ki lehetett mutatni *in situ* hibridizációt végeztünk teljes rozs DNS-sel. A vizsgálatoknak kettős céljuk volt. Egyrészt előző

eredményeinket akartuk egy újabb módszerrel alátámasztani, másrészt sem az SDS-PAGE, sem a Giemsa C-sáv módszer nem ad kellő felvilágosítást arra vonatkozóan, hogy vajon a teljes rozs kromoszóma transzlokálódott-e minden esetben, vagy vannak olyan fajták, amelyekben az 1R kromoszóma rövid karjának csak egy bizonyos része mutatható ki, illetve nem léptek-e fel újabb transzlokációk a búza genomban? A kérdés megválaszolása azért fontos, mert az eltérő hosszúságú rozs kromoszóma-szegmentum magyarázattal szolgálhatna a fajták között mutatkozó minőségbeli különbségekre.

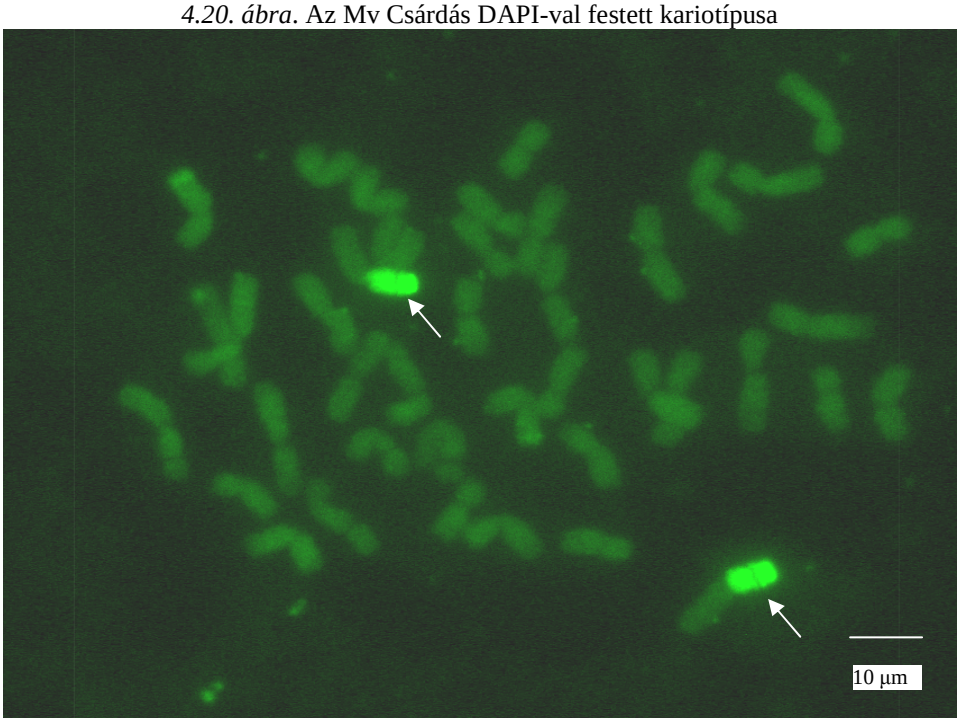
A 4.20., 4.21., 4.22. és 4.23. ábrákon sorrendben az Mv Csárdás DAPI-val festett kariotípusa, *in situ* hibridizációs képe, a GK Véka DAPI-val festett és *in situ* hibridizációs képe látható. A martonvásári fajták közül az Mv Csárdás az utóbbi évek, minőségre nézve egyik legperspektívikusabb fajtája.

Mind a DAPI-val festett, mind az *in situ* hibridizácós kariotípusok alapján megállapítható, hogy a vizsgált fajták mindegyike a teljes rozs kromoszóma-szegmentumot hordozza.

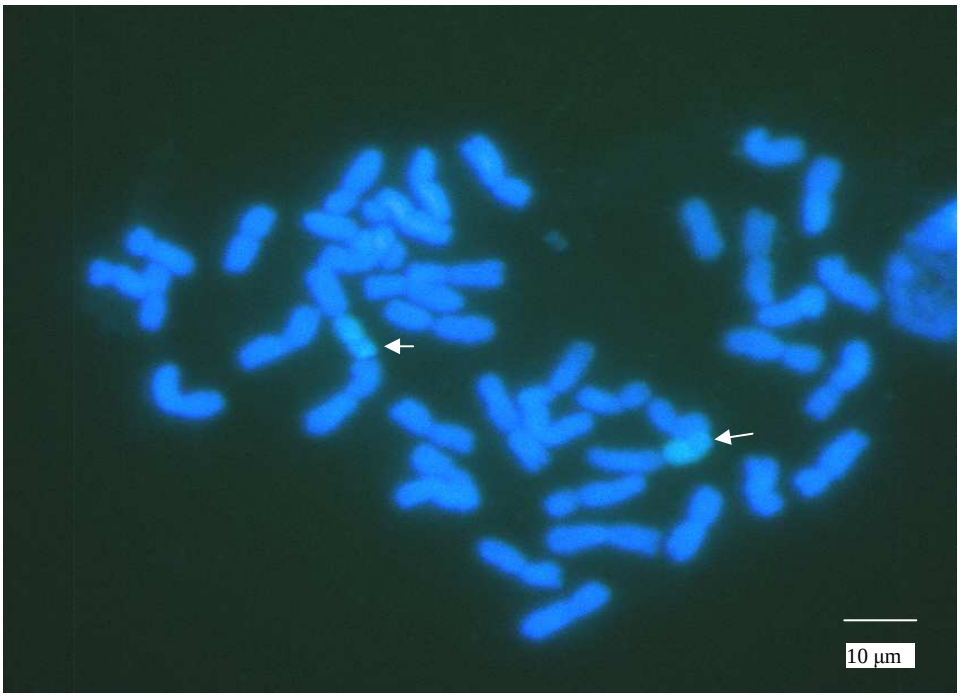
Heslop-Harrison és mtsai.. (1990) biotinnal jelölt teljes rozs DNS-t használva *in situ* hibridizációs próbaként szintén arra az eredményre jutottak, hogy a vizsgált fajtáknál (Custom, Haven, Kronjuwel és Tara) a transzlokációs töréspont a centroméránál, vagy ahhoz nagyon közel van.



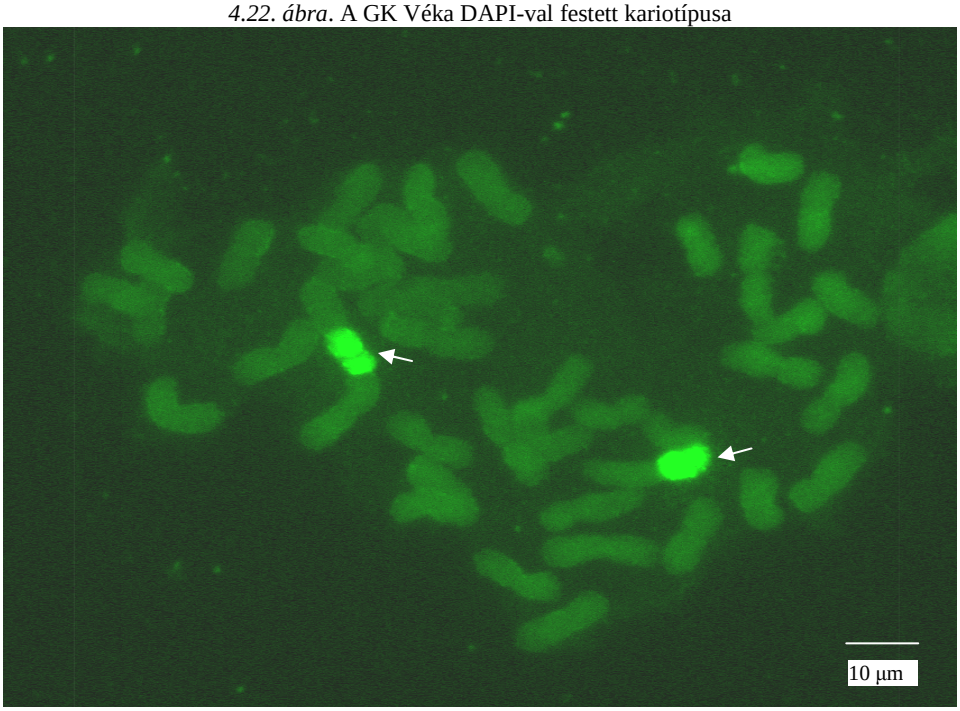
4.20. ábra. Az Mv Csárdás DAPI-val festett kariotípusa



4.21. ábra. Az Mv Csárdás *in situ* hibridizációs kariotípusa. Az ábrákon a nyilak a rozs kromoszómaszegmentumot jelölik.



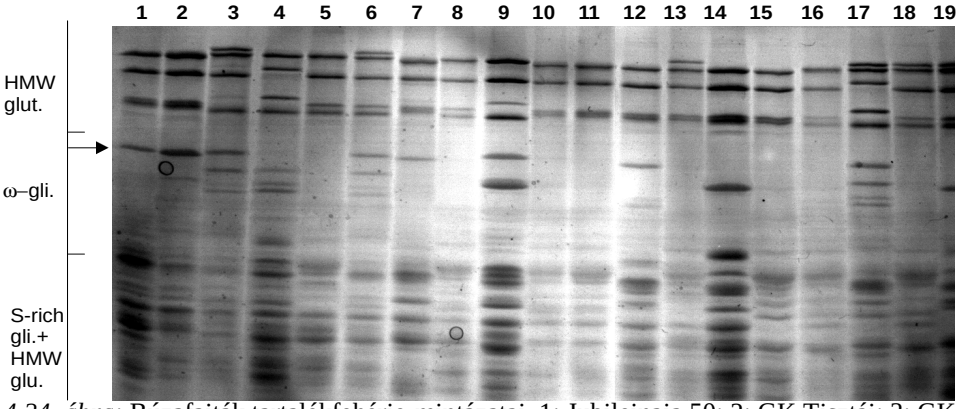
4.22. ábra. A GK Véka DAPI-val festett kariotípusa



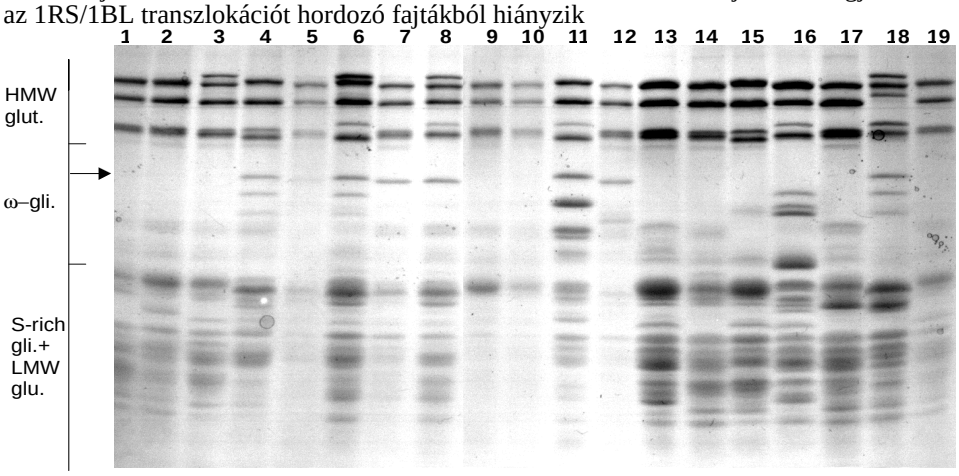
4.23. ábra. A GK Véka *in situ* hibridizációs kariotípusa. Az ábrákon a nyilak a rozs kromoszómaszegmentumot jelölik.

4.2.3. Az 1RS/1BL transzlokáció kimutatása SDS-PAGE segítségével

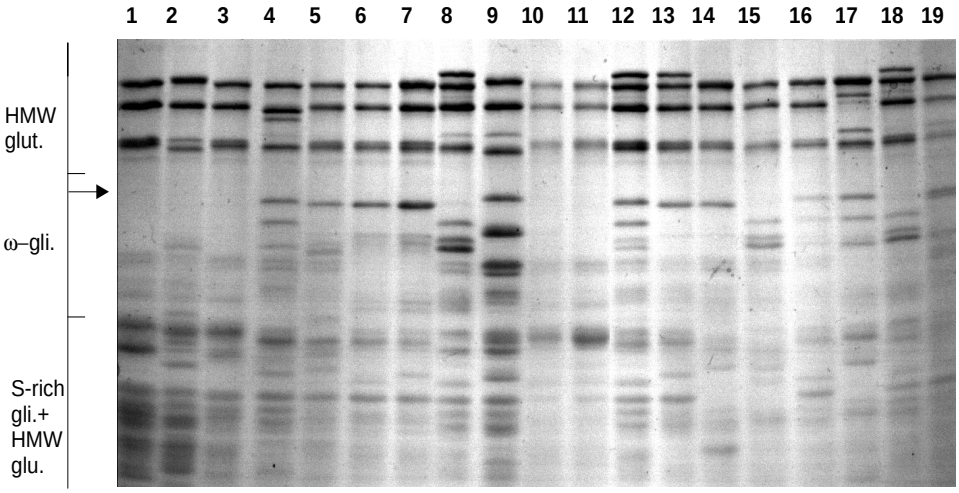
A vizsgálatokba bevont, 1978-1999. között minősített mind a 66 magyar kenyérbúza-fajta és 9 durumbúza-fajta SDS-PAGE elemzését elvégeztük. Kontroll fajtákként az Avrora, Kavkaz fajtákat, mint ismert, transzlokációt hordozó fajtákat és a Chnese Springet, mint a transzlokciót biztosan nem hordozó fajtát használtuk. Az eredményeket 4.24-4.29. ábrák mutatják.



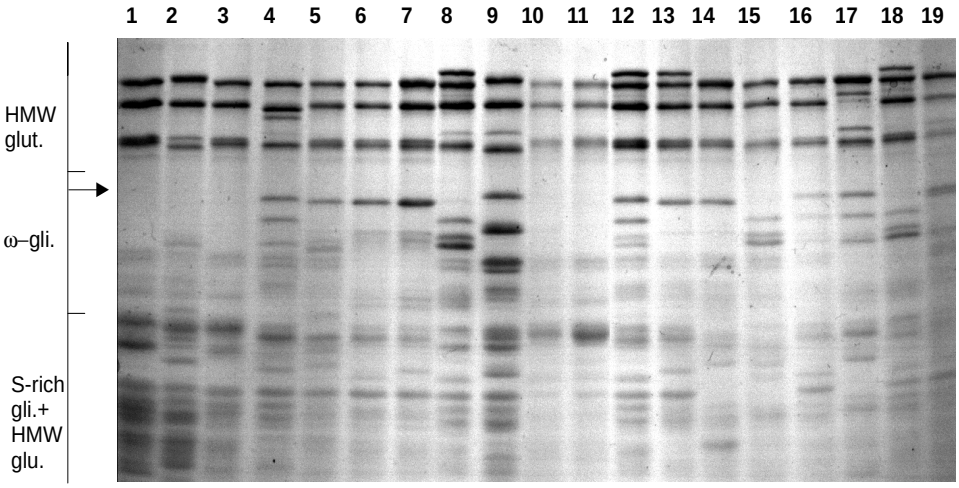
4.24. ábra: Búzafajták tartalékfehérje-mintázatai. 1: Jubilejnaja 50; 2: GK Tisztáj; 3: GK Csongor; 4: GK Boglár; 5: GK Ságvári; 6: GK Kincső; 7: GK Öthalom; 8: GK Zombor; 9: Chinese Spring; 10: Kavkaz; 11: Avrora; 12 GK Szőke; 13: GK Bence; 14: GK István; 15: Mv 16; 16: Mv 17; 17: GK Őrzse; 18: GK Bokros; 19: GK Barna. A nyíllal jelzett ω-gliadin sáv alapján lehet megkülönböztetni az 1RS/1BL transzlokációt hordozó, illetve nem hordozó fajtákat. Ennek a fehérjének a génje az 1B kromoszóma rövid karján lokalizált, a normális 1B kromoszómával rendelkező fajtáknál megjelenik, a az 1RS/1BL transzlokációt hordozó fajtákból hiányzik



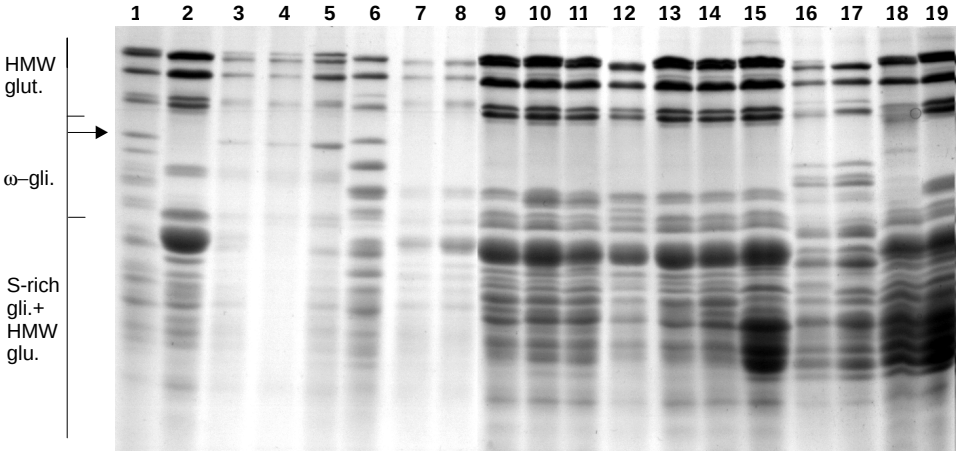
4.25. ábra Búzafajták tartalékfehérje-mintázatai. 1. Mv Martina; 2: Mv Mezőföld; 3: GK Véka; 4:GK Malmos; 5: GK Élet; 6: GK Kalász; 7: GK Hattyas; 8: GK Szindbád; 9: Aurora; 10: Kavkaz; 11 Chinese Spring; 12: GK Kende; 13: Mv Madrigál; 14: Mv Matador; 15: Mv Magdaléna; 16: GK Marcal; 17: GK Csörnöc; 18: GK Répce; 19: Mv Irma



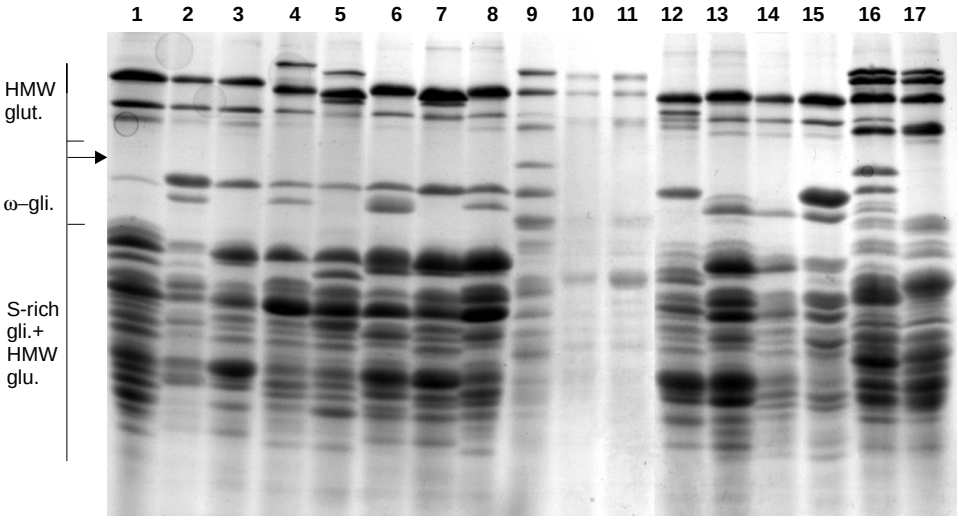
4.26. ábra: Búzafajták tartalékfehérje-mintázatai. 1: Mv Kucsma; 2: Mv Summa; 3: Mv Tamara; 4: GK Sára; 5: GK Mérő; 6: GK Cipó; 7: GK Miska; 8: GK Dávid; 9: Chinese Spring; 10: Kavkaz; 11: Aurora; 12: GK Kunság; 13: GK Favorit; 14: GK Garaboly; 15: GK Mura; 16: GK Forrás; 17: GK Petur; 18: GK Jászság; 19: GK Verecke



4.27. ábra: Búzafajták tartalékfehérje-mintázatai. 1: Mv Szigma; 2: Mv Pálma; 3: Mv Vilma; 4: Mv Emma; 5: Mv Magma; 6: Mv Optima; 7: Mv 25; 8: GK Pinka; 9:Chinese Spring; 10: Aurora; 11: Chinese Spring; 12 GK Zugoly; 13: GK Olt; 14: GK Góbé; 15: GK Délibáb; 16: Mv Fatima; 17: Mv 23; 18: GK Kata: 19: GK Csűrös



4.28. ábra: Búzafajták tartalékfehérje-mintázatai. 1: GK Tenger; 2: Mv Csárdás; 3: Mv 06-95; 4: Mv Magvas koll. 1924; 5: Mv Magvas SZE 1999; 6: Chinese Spring; 7:Kavkaz; 8: Aurora; 9: 14; 10: 101; 11: 102; 12: 103; 13: 128; 14: 129; 15: 130; 16: 131; 17:132; 18: 136; 19: 137 (a 9-19 sz. minták a GKI Kht vonalai)



4.29. ábra: Durum fajták tartalékfehérje-mintázatai. 1: GK Basa; 2: Lajtadur; 3: Multidur; 4: Novodur; 5: GK Tiszadur; 6: Bétadur; 7: Topdur; 8: Martondur; 9: Chinese Spring; 10: Kavkaz; 11: Aurora; 12: Martondur 2; 13: Martondur 3; 14: Odmadur 1; 15: Odmadur 2, 16: Kal1; 17: Vé1 (a 16 és 17 sz. minták a GKI Kht vonalai)

A 4.24-4.29. ábrán látható mintázatok eredményeit a 4.10. és a 4.10b. táblázatokban foglaljuk össze.

A bemutatott eredmények alapján megállapítható, hogy az SDS-PAGE, a Giemsa C-sáv technika és a genomi *in situ* hibridizáció egyaránt alkalmas az 1RS/1BL búza-rozs transzlokáció kimutatására. A háromféle vizsgálati módszer segítségével kapott ereményeket a 4.10. táblázatban foglaljuk össze.

4.10. táblázat. Az 1RS/1BL búza-rozs transzlokáció előfordulása az 1978-1990. között minősített magyar búzafajtákban

No.	Fajta	A minősítés éve	Pedigré	1RS/1BL (C-sávozás)	1RS/1BL (SDS-PAGE)	1RS/1BL (*in situ*)
1	GK Tiszatáj	1978	Bez.1 × Fiorillo	*	–	*
2	GK Csongor	1980	GT 76-150 × Predgornaja 2	*	–	*
3	GK Boglár	1981	GT 76-155 × Sonja	*	+	*
4	GK Ságvári	1982	Avrora × GT 76-150	*	+	*
5	GK Kincső	1983	Arthur × Sava	*	–	*
6	GK Öthalom	1985	(Gk Szeged × Yub. 50) × GK Szeged	–	–	*
7	GK Zombor	1985	(Kavkaz × Produttore) × Sava	*	+	*
8	GK Szőke	1987	(Tobari 66 × 815 GR) × Szt 1	*	–	*
9	GK Bence	1987	(Arthur ×Sava) × Libellula	*	+	*
10	GK István	1987	Kremena × Avrora	*	+	*
11	Mv 16	1987	[(Mv4 × Kavkaz F_2) × P 4089/90/72 F_1] × [(Zb0 × Arthur F1) × Rubin F8]	+	+	+
12	Mv 17	1987	[Slaviya × (Krasnodari 1 × Bezostaya)] × Zg.4431	+	+	+
13	GK Örzse	1988	Sava × Maris Huntsman	*	–	*
14	GK Bokros	1990	(GT6272 × GK Szeged) × Zg.4431	*	+	*
15	GK Barna	1990	(D1 × Sava) × Aquileja	*	+	*
16	GK Csűrös	1991	Arthur × Tiszatáj 2	+	+	*
17	GK Kata	1991	(Zg 884 × Mv 4) × (GK Szeged × GT 62-72)	*	–	*
18	Mv 23	1991	(GT 13 A 354 × MvTf.) × (Mv 5/3 × GKP)	+	+	+
19	Fatima-2	1992	F 29 × Lovrin 32	+	+	+
20	GK Délibáb	1992	DH MM × [(Yub. × Sds S) (MM × Mv 12)]	*	+	*
21	GK Góbé	1992	Mini Manó × GK Kincső	–	–	*
22	GK Olt	1992	Lilla × Mv 8	–	–	*
23	GK Zugoly	1993	GK Kincső × GK István	–	–	*
24	GK Pinka	1993	GK T5 × GK 6744	–	–	*
25	Mv 25	1993	F29 × [(Mv 3 × SKC1055) × (Bez.2 × K1)]	+	+	+
26	Mv Optima	1993	762-10-1-2-3 × Mv 9	+	+	+
27	Mv Magma	1993	F29 × [(Mv 3 × SKC1055) × (Bez.2 × K1)]	+	+	*
28	Mv Emma	1994	(Mv 15 × Mv 8) × MvMA	–	–	*
29	Mv Vilma	1994	(F797 × MV08-82) × Mv 15	+	+	+
30	Mv Pálma	1994	(F797 × MV08-82) × Mv 15	+	+	+
31	Mv Szigma	1994	Mv21-85 × Mv15	+	+	*
32	Mv Irma	1994	[(T16 × Mv15) × SO6300] × [(NSR2 × Mv15) × SO6300]	+	+	+

33	GK Répce	1994	(GK 6744 × MM) × Tj	–	–	*
34	GK Csörnöc	1994	Recurrent selection	+	+	*
35	GK Marcal	1994	81579 × Mini Manó	*	–	*
36	Mv Magdaléna	1996	(Yub.50 × F29) × MvMA	+	+	+
37	Mv Matador	1996	Fatima × Mv15	+	+	*
38	Mv Madrigál	1996	Mv16-85 × Bu.20	+	+	+

4.10. táblázat (folytatás)

No.	Fajta	A minősítés éve	Pedigré	1RS/1BL (C-sávozás)	1RS/1BL (SDS-PAGE)	1RS/1BL (*in situ*)
39	GK Kende	1996	Réka × Mv 8	–	–	*
40	GK Szindbád	1996	DH Kincső × Gk István	–	–	*
41	GK Hattyas	1996	(Iid × Mv 4) × (Iid × Bg dw)	–	–	*
42	GK Kalász	1996	GK Góbé × (Lovrin 24 × GK Korány)	–	–	*
43	GK Élet	1996	GK Öthalom × [(GK Ságvári × Bty.)× (Mv 4 × Brj.)]	*	+	*
44	GK Malmos	1996	Zo. × Katja	*	–	*
45	GK Véka	1996	(Lovrin 24 × Mini Manó) × GK Góbé	+	+	+
46	Mv Mezőföld	1998	GK Öthalom × Mv15	+	+	*
47	Mv Martina	1998	Fatima × Mv 17	+	+	*
48	Mv Kucsma	1998	Mv32-86 × Fatima	+	+	*
49	Mv Summa	1998	(GK36-83 × SO1586) × Mv17	+	+	*
50	Mv Tamara	1998	Fatima × Mv 8	+	+	*
51	GK Sára	1998	GK 51-91 × GK Kata	*	–	*
52	GK Mérő	1998	GK Szőke × GK Zombor	–	–	*
53	GK Cipó	1998	Mv 15 × GK István	–	–	*
54	GK Miska	1998	GK 44-87 × GK Öthalom	–	–	*
55	GK Dávid	1998	Mini Manó × GK István	–?	+?	*
56	GK Kunság	1998	(GK Kincső × Mini Manó) × Mini Manó	–	–	*
57	GK Favorit	1998	GK 34.82 × Mini Manó	–	–	*
58	GK Garaboly	1998	D12 × Mini Manó	–	–	*
59	GK Mura	1998	T 3187 × GKT 5	*	+	*
60	GK Forrás	1998	GK Kincső × Mv 4	–	–	*
61	GK Petur	1998	Thesee × GK Öthalom	–	–	*
62	GK Jászság	1998	GK Kincső × Mini Manó	*	+	*
63	GK Verecke	1998	Bez. 1 × GK Pusztaszer	*	–	*
64	GK Tenger	1998	GK Kincső × (GK Kincső × Mv 4)	–	–	*
65	Mv Magvas	1998	(F26-70 × MvK2) × MvMA	–	–	*
66	Mv Csárdás	1999	(Yub.50 × F29) × MvMA	+	+	+

Megjegyzés: + a transzlokáció jelen van; – a transzlokáció hiányzik; * a kérdéses vizsgálatot nem végeztük el.

4.10. b. táblázat. Az 1B/1R transzlokáció előfordulása a vizsgált durumbúza-fajtákban

No.	Fajta	1B/1R (PAGE)	1B/1R (C-sáv)
1	GK Basa	nincs	nincs
2	Lajtadur	nincs	nincs

3	Multidur	nincs	nincs
4.	Novodur	nincs	nincs
5	GK Tiszadur	nincs	nincs
6	GK Bétadur	nincs	nincs
7	Topdur	nincs	nincs
8	Martondur 1	nincs	nincs
9	Martondur 2	nincs	nincs
11	Odmadur 1	nincs	nincs
12	Odmadur 2	nincs	nincs

Az adatokból kiderül, hogy az 1978-1999. között minősített 66 magyar búzafajta közül 35, azaz a fajtaszortiment 53%-a hordozza az 1RS/1BL transzlokációt, míg a vizsgált durumbúza-fajták között nem volt olyan, amelyben a transzlokációt ki lehetett mutatni.

Az 1RS/1BL transzlokáció nagyarányú elterjedésére vonatkozó adatok szerint például a jugoszláv fajtaszortiment 59 fajtája közül 34-ben (58%) mutatható ki a transzlokáció (Javornik és mtsai.., 1991). Bartos és Stuchlikova (1987) a Csehszlovákiában minősített fajták több mint 1/3-ánál bizonyították az 1RS/1BL transzlokáció jelenlétét.

Lukaszewski (1990) 207 egyesült államokbeli búzát vizsgált C-sáv módszerrel és 7.1%-ban mutatott ki 1B/1R, 4.3%-ban 1A/1R transzlokációt. Ennél lényegesen nagyobb volt az 1B/1R transzlokáció előfordulási aránya a 21. Nemzetközi Őszibúza Teljesítménykísérletben (IWWPN- International Wheat Performance Nursery) szereplő fajtákban, ezek 38.1 %-a tartalmazott 1B/1R transzlokációt. 1A/1R transzlokáció viszont mindössze egyetlen fajtában fordult elő. A transzlokáció nagyarányú előfordulásának okaként az agronómiai érvek mellett megemlíti, hogy az a még nem homozigóta, fiatal törzsekben is könnyen stabilizálható.

Villareal és mtsai.. (1991) a CYMMIT program fejlett törzseinek mintegy 50 %-ánál mutatták ki az 1B/1R transzlokációt. A transzlokációt nem tartalmazó törzsekkel összehasonlítva a transzlokációt hordozókat azt találta, hogy az 1B/1R transzlokációt hordozó törzseknek nagyobb volt a földfeletti biomassza produkciójuk, a kalászszámuk, ezerszem-tömegük és HI-tömegük, valamint későbbi kalászolásúak voltak. A transzlokációt hordozó törzsek szemtermésre nem szignifikánsan, de nagyobb volt.

A különböző növényfajoknál időről időre jelentkező veszély valamely kedvező gén vagy génkomplexum nagyarányú feldúsulása a nemesítési anyagokban és a termesztett fajtákban. Erre példa az 1RS/1BL búza-rozs transzlokáció nagy gyakorisága a termesztett búzafajtákban, amely jelentős kockázattal jár.

A pedigré adatbázisok alapján a genotípusok szülőtörzsei közül az ismert 1B/1R transzlokációt hordozó fajták azonosíthatók. Amennyiben a szülőkről ilyen adat nincs, a pedigréjük több generációra történő elemzésével valószínűsíthető a transzlokáció jelenléte.

A búza/rozs transzlokáció kimutatását kiválasztott fajták és törzsek esetében C-sávozás módszerével és *in situ* hibridizáció segítségével végeztük. A két használt módszer közül a C-sávozás egyszerűbb és jóval kevésbé költséges, továbbá viszonylag gyors. A csíráztatást is beleszámítva egy héten belül el lehet végezni. Az *in situ* hibridizáció inkább akkor indokolt, ha a transzlokáció méretét is vizsgálni akarjuk. A

módszer jóval bonyolultabb és költségesebb, mint a C-sávozás. A vizsgálatot megelőző pedigré analízis lehetővé teszi, hogy a transzlokációt biztosan tartalmazó (minden szülő hordozza) genotípus, ill. a biztosan nem transzlokáns (egyik szülő sem tartalmazza) törzsek költségesebb vizsgálatát ne kelljen elvégezni. A nemesítési anyag genetikai hátterének jobb megismerése nagyban hozzásegít szélesebb genetikai variabilitású új populációk létrehozásához. Ennek egyik jele, hogy a 2000-ben minősített martonvásári fajták között olyan fajtával is találkozhatunk, amelyik az 1RS/1AL transzlokációt hordozza. Ez a fajta a Dalma. Az olyan fajta, amelyik ezt a transzlokációt hordozza, értelemszerűen rendelkezik az 1B kromoszóma rövid karján lévő tartalékfehérje-génekkel, amelyek a minőség szempontjából kedvezőbbek, és hordozza az 1R kromoszóma rövid karján lévő rezisztencia-géneket is.

4.3. A SZÁRAZSÁGTŰRÉS GENETIKAI ELEMZÉSÉNEK EREDMÉNYEI

4.3.1. A szubsztitúciós vonalak szárazságtűrése

A Chinese Spring és a Cappelle Desprez (CS/CD) szubsztitúciós vonalak szárazságtűrését száraz körülmények közötti relatív víztartalom (RWC), relatív vízvesztés (RWL), szárazság-érzékenységi index (DSI) és a szemtermés átlagainak varianciaanalízise alapján értékeltük (4.11. táblázat)

4.11. táblázat. A CS/Cappelle Desprez szubsztitúciós vonalak szárazságtűrése

Genotípus	RWC (%)	RWL	DSI	GY
CS/CD 1A	78,8**	0,29	0,56	1,79
CS/CD 3A	71,0	0,25	0,53	1,16
CS/CD 4A	70,6	0,25	0,61	0,98
CS/CD 5A	67,2	0,17**	0,64	1,30
CS/CD 6A	70,0	0,21**	0,75	1,56
CS/CD 7A	67,7	0,14**	0,43*	1,92*
CS/CD 1B	60,8	0,23	0,66	1,93*
CS/CD 3B	60,8	0,24	0,64	1,68
CS/CD 4B	65,6	0,22*	0,66	1,59
CS/CD 5B	61,0	0,22*	0,61	1,60
CS/CD 6B	65,0	0,20*	0,74	0,78*
CS/CD 7B	70,3	0,30	0,64	1,68
CS/CD 1D	67,1	0,19**	0,69	1,44
CS/CD 2D	72,4	0,21**	0,71	1,51
CS/CD 3D	75,8*	0,31	0,59	1,33
CS/CD 4D	66,5	0,34	0,61	0,74*
CS/CD 5D	75,8	0,22*	0,77	0,86
CS/CD 6D	64,4	0,25	0,61	1,98
CS/CD 7D	63,2	0,25	0,67	1,79
Chinese Spring (recipiens)	64,5	0,30	0,68	1,36
Cappelle Desprez (donor)	79,9	0,21*	0,45*	0,65*

*,** szignifikánsan különbözik a recipiens Chinese Springtől P = 0,05 és P = 0,01 szinten.

A kapott adatok alapján megállapítható, hogy a relatív víztartalom (RWC) átlagértékei 60,8% (3B szubsztitúció) és 79,9% (Cappelle Desprez) közé esnek. Szignifikánsan pozitív eltérés volt megállapítható az 1A, 3D, 5D szubsztitúciós vonalak, a donor fajta, valamint a recipens Chinese Spring között.

A relatív vízvesztés (RWL) átlagértékei 0,14 (7A szubsztitúció) és 0,34 (4D szubsztitúció) között vannak. Szignifikánsan negatív differencia van az 5A, 6A, 7A, 1B, 4B, 5B, 6B, 1D, 2D és 5D Cappelle Desprez kromoszómát hordozó szubsztitúciós vonalak és a recipiens fajta között, de a többi szubsztitúciós vonal nem mutatott szignifikáns különbséget a recipiens Chinese Spring fajtához képes a relatív vízvesztés tekintetében.

A szárazság-érzékenységi index értékei a 7A vonal 0,43-as és a 5D vonal 0,77-es értékei közé esnek. Ebben a paraméterben csak a 7A szubsztitúciós vonal és a donor fajta mutatott szignifikáns különbséget a recipienshez képest, a többi szubsztitúciós vonalnál nem volt szignifikáns a különbség.

A szemtermés átlagértékei a 4A szubsztitúcióra kapott 0,74 g és a 4D szubsztitúció által mutatott 1,98 g közé esnek. Szignifikáns különbség van a Chinese Spring és a 7A, 1B, 6B, 4D, 6D szubsztitúciós vonalak, továbbá s donor Cappelle Desprez között. A többi vonal viszont nem mutatott szignifikáns különbséget e tekintetben. Külön figyelmet érdemel a 7A, 1B és a 6D szubsztitúciós vonalak esetén kapott szignifikánsan nagyobb termés, jelezve ezeknek a kromoszómáknak a jelentőségét a szemtermés száraz körülmények közötti kontrolljában.

A 4.11. táblázat adatainak alapján tehát az 1A, 3D és 5D kromoszómák a relatív víztartalom, az 5A, 6A, 7A, 1B, 4B, 5B, 6B, 1D és 2D kromoszómák a relatív vízvesztés, a 7A kromoszóma a szárazság-érzékenységi index és a 7A, 1B és 6D kromoszómák a szemtermés genetikai kontrolljában vesznek részt. Miután a termesztett búza mindhárom genomja (A, B és D) érintett a szárazságtűréssel összefüggő karakterek genetikai kontrolljában, az eredmények kifejezik a szárazságtűrés, mint tulajdonság komplex jellegét. A legtöbb vizsgált karaktert kontrolláló kromoszóma az A genomban az 1A, 5A és 7A, a B genomban az 1B 4B és 5B, a D genomban a 3D és 5D.

Ried és Walker Simmons (1993) aneuploid vonalak használatával arra a következtetésre jutott, hogy a 3. csoportba tartozó LEA (late embryogenesis abundant) fehérjék - amelyek a szövetkiszáradás-tűrőképességgel hozhatók kapcsolatba- szintéziséért felelős géneket az 1 homeológ csoport (1A, 1B és 1D) kromoszómáira lehet térképezni. Ez az eredmény összhangban van az 1A és 1B kromoszómáknak a szárazságtűrés genetikai kontrolljában általunk kimutatott szerepével.

Az 5A, 5D és 7A kromoszómák szerepe a szárazság-érzékenységi index (DSI) kontrolljában egybecseng Morgan (1991), valamint Galiba és mtsai (1993) megállapításaival, akik kimutatták ezeknek a kromoszómáknak a szerepét a poliaminok felhalmozódásának és az ozmotikus alkalmazkodás genetikai kontrolljában, szárazságstressz hatására. Ezen kísérletek alapján azt a következtetést is levonhatjuk, hogy szoros összefüggés van a növénynek *in vitro* és *in vivo* szárazság-adaptációjában, továbbá, hogy szoros a kapcsolat a szárazságtűrés biokémiai, élettani és agronómiai mutatói, valamint a mutatóknak a gabonafélék szárazsághoz történő általános alkalmazkodóképessége között.

4.3.2. A diszómás addíciós vonalak szárazságtűrésével kapcsolatos paraméterek elemzése

A búzával rokon vad fajok és a rokon nemzetségek fajai a búza genetikai variabilitása növelésének, így a szárazságtűrés szempontjából hasznos géneknek is ígéretes forrásai. A genomika utóbbi időben elért eredményei pedig lehetővé teszik ezen agronómiailag kedvező géneknek az átvitelét a kultúrfajba. Az idegen fajú diszómás addíciós vonalak alkalmasak azon idegen kromoszómák azonosítására, amelyek hasznos géneket hordoznak.

Ezért a Chinese Spring/*Agropyron elongatum* addíciós sorozat esetében is meghatároztuk, illetve variancia-analízissel értékeltük a korábban említett paramétereket (4.12. táblázat)

4.12. táblázat. A CS/*Agropyron elongatum* diszómás addíciós vonalak vizsgált paramétereinek (relatív víztartalom <RWC>, relatív vízvesztés <RWL> a szárazság-érzékenységi index <DSI> és a szemtermés <GY>) átlagai száraz körülmények között

Genotípus	RWC (%)	RWL	DSI	GY
CS/*A. elogatum* 1E addíció	64,3	0,20**	0,63	1,67
CS/*A. elogatum* 2E addíció	69,4	0,21**	0,47**	2,20
CS/*A. elogatum* 3E addíció	71,4	0,18	0,43**	2,74**
CS/*A. elogatum* 4E addíció	71,9	0,14	0,80	1,16
CS/*A. elogatum* 5E addíció	77,6**	0,17	0,53	2,94**
CS/*A. elogatum* 6E addíció	72,9	0,10	0,73	0,97
CS/*A. elogatum* 7E addíció	78,2**	0,13	0,43**	1,75
Chinese Spring	67,9	0,12	0,68	0,90

*,** a Chinese Springhez képest P = 0,05, illetve 0,01 %-os szinten szignifikáns

A táblázat adatait elemezve, a relatív víztartalom (RWC) értékei 64,3 (1E) és 78,2 % (7E) közé esnek. Az addíciós vonalak közül az 5E és a 7E kromoszómákat tartalmazó addíciós vonalak mutatnak szignifikáns különbséget a recipiens Chinese Spring fajtához képest, jelezve ezen kromoszómák szerepét a relatív víztartalom száraz körülmények közötti kontrolljában. a többi addíciós vonal és a recipiens között nem volt szignifikáns különbség.

A relatív vízvesztés (RWL) átlagértékei 0,1 (6E) és 0,21 (2E) közé esnek. 0,01 %-os szinten szignifikáns különbség van az 1E és a 2E kromoszómát hordozó addíciós vonalak és a recipiens Chinese Spring között, jelezve, e két kromoszóma szerepét a relatív vízvesztés növekedésének kontrolljában. Ugyanakkor a többi vonal esetén nem volt szignifikáns a különbség.

A szárazság-érzékenységi index (DSI) átlagai a 3E és 7E kromoszómát hordozó vonalak 0, 43-as és a 4E vonal 0,80-as értékei közé esnek. a 2E, 3E és 7E vonalak, valamint a recipiens közötti differencia nagymértékben szignifikáns, a többi vonal esetében nem kaptunk szignifikáns különbséget.

A szemtermés átlagértékei 0,9 (Chinese Spring) és 2,94 g (5E addíciós vonal). Nagymértékben szignifikáns a különbség a 3E és az 5E vonal, valamint a recipiens között. A 3E és 5E *A. elongatum* kromoszómák fontos szerepet játszanak a szemtermés száraz körülmények közötti genetikai kontrolljában.

Egy adott fajta szárazságtűrésének jellemzésére a relatív víztartalom az egyik szakirodalomban javasolt paraméter. Dedio (1975) búzalevelek vízvisszatartó képességét (vízpotenciál és relatív víztartalom) vizsgálva száraz körülmények között, úgy találta, hogy a leginkább szárazságtűrő Pitic 62 fajta rendelkezett a legnagyobb víztartalommal. Morgan (1983) az ozmotikus alkalmazkodóképesség mérésénél egyszerűbbnek találta a relatív víztartalom meghatározását, ezért a nemesítési programokban is inkább ennek használatát javasolja. Később Schonfeld és mtsai (1988) is a relatív víztartalmat javasolták, mint a szárazságtűrés egyik legjobb indikátorát.

A CS/*A. elongatum* addíciós vonalak elemzése során azt találtuk, hogy az 5E és a 7E kromoszómák hordoznak olyan géneket, amelyek ezt a tulajdonságot befolyásolják. A szárazság-érzékenységi index vonatkozásában, pedig a 2E, 3E, 5E és 7E kromoszómák szerepét fontos kiemelni. Összességében az állapítható meg a CS/*A. elongatum* addíciós vonalakkal végzett szárazságtűrési kísérletből, hogy az 5E és a 7E kromoszómáknak kitüntetett szerepük van a szárazságtűrés genetikai kontrolljában.

A 3E (Dvorak, 1993) és 5E (Mahmood és Quarrie, 1993) kromoszómák szerepét igazolták a sótűrés genetikai kontrolljában.

A Chinese Spring/Imperial rozs diszómás addíciós sorozat felhasználásával kapott eredményeket a 4.13.táblázatban foglaljuk össze

4.13. táblázat. A CS/Imperial rozs diszómás addíciós vonalak relatív víztartalom (RWC), relatív vízvesztés (RWL), szárazság-érzékenységi index (DSI) és szemtermés (GY) átlagai száraz körülmények között

Genotípus	RWC (%)	RWL	DSI	GY
CS/Imperial 1R addíció	73,90*	0,30	0,57	1,80
CS/Imperial 2R addíció	65,58	0,16	0,82	4,33**
CS/ Imperial 3R addíció	76,43*	0,30	0,59	1,96
CS/ Imperial 4R addíció	80,99**	0,40*	0,89*	2,50*
CS/ Imperial 5R addíció	75,25*	0,19	0,56	1,90
CS/ Imperial 6R addíció	68,28	0,12	0,90*	0,20
CS/ Imperial 7R addíció	77,23*	0,24	0,88*	1,64
Chinese Spring	67,67	0,12	0,68	1,10

*,** a Chinese Springhez képest P = 0,05, illetve 0,01 %-os szinten szignifikáns

A 4.9. táblázatban közölt eredményekből látszik, hogy az egyes addíciós vonalak között szignifikáns különbség van a relatív víztartalom tekintetében. Az átlagértékek 65,58 (2R) és 80,99 (4R) közé esnek. 0,01%-os szinten szignifikáns volt a különbség a recipiens és a 4R addíciós vonal között. az 1R, 3R, 5R, 7R vonalak 0,05%-os szinten szignifikánsan magasabb értékeket mutattak. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy azon gének, amelyek ezt a tulajdonságot kontrollálják ezeken a rozs kromoszómákon lokalizáltak.

A relatív vízvesztés, a szárazság-érzékenységi index és a szemtermés adatai a 4R kromoszómára vonatkozóan mutatnak 0,05% szinten szignifikáns különbséget a recipienshez képest. A 2R kromoszóma a szemtermés vonatkozásában 0,01%-os szinten mutat szignifikánsan nagyobb értéket a recipienshez képest.

Morgan (1989) és Singh (1989) arra mutatnak rá, hogy a relatív víztartalom az ozmotikus alkalmazkodás nagyon jó indikátora, tehát a nemesítési programokban az ozmotikus alkalmazkodás vizsgálatát egyszerűsíteni lehet a relatív víztartalom mérésére.

A CS/CD szubsztitúciós sorozat vizsgálata alapján levonhatjuk azt a következtetést, hogy az abiotikus stresszekhez való adaptálódást, így a szárazságtűrést szabályozó gének több kromoszómán találhatók (4.3.1. fejezet), melyek közül az 5-ös és a 7-es homeológ csoport kromoszómáit emeljük ki külön.

A CS/*A. elongatum* és a CS/Imperial rozs diszómás addíciós vonalak elemzése szintén e két homeológ csoport fontos szerepét támasztotta alá. Ezek a vizsgálatok igazolják Sutka és mtsai. (1995) abiotikus stresszekhez történő adaptálódást elősegítő, az 5A, 5R és 5E kromoszómákon található génkomplexekre vonatkozó hipotézisét. Ezekben a génkomplexekben, a környezethez való alkalmazkodást elősegítő gének különböző alléljainak kedvező együttese található.

Snape és mtsai. (1985), Sutka és Snape (1989) a vernalizációért felelős *Vrn1* és a fagytűrésért felelős *Fr1* géneket lokalizálták az 5A búza kromoszómán. RFLP markerek segítségével Sutka és mtsai., (1995) e géneket 2,1 cM távolságra térképezték egymástól. Galiba és mtsai. (1992; 1993) igazolták, hogy az 5A kromoszómának szerepe van a hidegindukált abszcizinsav felhalmozódásban és az ozmoregulációban.

Az ilyen, szorosan kapcsolt gének együtteséből álló komplexek létezését Allard (1988) is feltételezte, aki egynyári növények, elsősorban árpa vizsgálatára alapozta elképzelését. A természetes szelekció bizonyára az ilyen soklókuszos génklaszterek együttöröklődését elősegíti, hiszen a növény számára hatékonyabb adaptálódást tesz lehetővé stresszkörülmények között.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. *Aegilops cylindrica* Host. × *Triticum aestivum* L. (Chinese Spring, illetve Mv 14) keresztezésekből kiindulva búza/*Ae. cylindrica* diszómás addíciós vonalakat állítottunk elő a BC_2 generációban, amelyekben $2C^c$, E^c és F^c *Aegilops cylindrica* kromoszómákat azonosítottunk. A keresztezési program során találtunk olyan növényeket, amelyekben transzlokációs és deléciós búza kromoszómákat lehetett azonosítani. A 44 kromoszómás vonalak közül 16 BC_2F_2 generációban fenn van tartva.

2. Az 1978 és 1990. között minősített 66 magyar kenyérbúza-fajtát és 12 durumbúza-fajtát SDS-PAGE-val, Giemsa C-sávozással és genomi *in situ* hibridizációval vizsgáltuk, hogy előfordul-e benne az 1RS/1BL búza rozs transzlokáció. Megállapítottuk, hogy 35 (53%) kenyérbúza-fajta hordozza a kérdéses búza-rozs transzlokációt, míg a vizsgált durumbúza-fajták egyikében sem fordul elő. A Giemsa C-sávos elemzés során a GK Öthalomban 5BS/7BS-5BL/7BL transzlokációt sikerült kimutatni.

3. Chinese Spring/Cappelle Desprez szubsztitúciós sorozat, továbbá Chinese Spring/*Agropyron elongatum* és Chinese Spring/Imperial rozs diszómás addíciós sorozatok segítségével vizsgáltuk a búza szárazságtűrésének genetikai kontrollját. Megállapítottuk, hogy a szárazságtűréssel összefüggő vizsgált tulajdonságok (relatív víztartalom, relatív vízvesztés, szárazság-érzékenységi index valamint a szemtermés) közül legtöbbet a búza esetében az 1A, 5A, 7A, 1B, 4B, 5B, 3D és 5D, az *Agropyron* esetében az 5E és 7E, a rozs esetében az 1R, 3R 4R, 5R és 7R kromoszómákon lévő gének kontrollálnak.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A kenyérbúza a világ legfontosabb gabonanövénye, az emberiség meghatározó táplálékforrása. Hazánkban is a legfontosabb kultúrnövény, az utóbbi időben hozzávetőleg egymillió hektáron termesztik.

A jelenleg termesztett búzafajtáink megfelelnek a kor támasztotta követelményeknek, megfelelő a terméshozamuk, minőségük és termésbiztonságuk, azaz ellenállóak a különböző kedvezőtlen környezeti hatásokkal, így például a faggyal, a szárazsággal, a talaj esetleg magas sótartalmával, a különböző betegségekkel szemben.

A nemesítés, a fajtaelőállítás azonban azzal a következménnyel is jár, hogy a szelektált populációk sebezhetősége növekszik, a szelekció ugyanis nyilvánvalóan eltávolítja a kérdéses populációt a természetes (az evolúció során kialakult egyensúlyi) állapottól. Ez a tény ösztönzi a kutatókat arra, hogy újabb és újabb genotípusokat vonjanak be vizsgálataikba és keresztezési programjaikba.

A búza vad rokonsági köre az agronómiailag hasznos gének rendkívül értékes forrása. Sok kutatási program tűzte ki célként gének, génkomplexumok, kromoszómák átvitelét vad búzafajokból a termesztett búzába. A dolgozatban elemzett egyik kísérlet egy ilyen célt tűzött ki, melynek során *Aegilops cylindrica* Host. × *Triticum aestivum* L. (Chinese Spring, illetve Mv 14) keresztezésekből kiindulva a BC_2 generációban 44 kromoszómás növényekben C^c, E^c és F^c *Aegilops cylindrica* kromoszómákat, valamint transzlokációs és deléciós búza kromoszómákat azonosítottunk. A 44 kromoszómás vonalak közül 16 BC_2F_2 generációban fenn van tartva.

A világ búzanemesítésére igen nagy hatást gyakorolt az a transzlokáció, melynek során az 1B búzakromoszóma rövid karja centrális fúzió révén kicserélődött az 1R rozs kromoszóma rövid karjára. Az 1RS/1BL transzlokációt hordozó búza genotípusokban tehát egy olyan kromoszómapár található, amelynek rövid karja a rozs 1R kromoszóma rövid karja, hosszú karja pedig a búza 1B kromoszóma hosszú karja.

Megvizsgáltuk az 1978 és 1990. között minősített 66 magyar kenyérbúza-fajtát és 12 durumbúza-fajtát SDS-PAGE-val, Giemsa C-sávozással és genomi *in situ* hibridizációval, hogy előfordul-e benne az 1RS/1BL búza rozs transzlokáció. Megállapítottuk, hogy 35 (53%) kenyérbúza-fajta hordozza a kérdéses búza-rozs transzlokációt, míg a vizsgált durumbúza-fajták egyikében sem fordul elő. A Giemsa C-sávos elemzés során a GK Öthalom fajtában 5BS/7BS-5BL/7BL transzlokációt sikerült kimutatni.

A globális klímaváltozás előrevetíti annak lehetőségét, hogy térségünkben is egyre többször fenyeget a szárazság, az aszály. Emiatt fontos nemesítési feladat szárazságtűrő fajták előaállítása. Ennek első lépése a szárazság-stressz ellenállóságot kontrolláló gének lokalizálása, a szárazságtűrés genetikai elemzése. A dolgozatban Chinese Spring/Cappelle Desprez szubsztitúciós sorozat, továbbá Chinese Spring/*Agropyron elongatum* és Chinese Spring/Imperial rozs diszómás addíciós sorozatok segítségével vizsgáltuk a búza szárazságtűrésének genetikai kontrollját. Megállapítottuk, hogy a szárazságtűréssel összefüggő vizsgált tulajdonságok (relatív víztartalom, relatív vízvesztés, szárazság-érzékenységi index valamint a szemtermés) közül legtöbbet a búza esetében az 1A, 5A, 7A, 1B, 4B, 5B, 3D és5D, az *Agropyron* esetében az 5E és 7E, a rozs esetében feltehetően az 1R, 3R 4R, 5R és 7R kromoszómákon lévő gének kontrollálják.

SUMMARY

Bread wheat is the most important cereal in the world, being a staple food for mankind. It is also the most important crop in Hungary and has been grown on approximately a million hectares in recent years.

The wheat varieties currently grown satisfy modern requirements, having satisfactory yields, quality and yield stability, i.e. they are resistant to various unfavourable environmental effects such as frost, drought, high soil salt content and various diseases.

The breeding of new varieties, however, inevitably leads to an increase in the vulnerability of selected populations, since selection necessarily shifts the population away from the natural equilibrium state developing in the course of evolution. This fact has caused scientists to test more and more new genotypes for inclusion in crossing programmes.

Wild relatives of wheat are an extremely valuable source of agronomically useful genes. Many research programmes are aimed at the transfer of genes, gene complexes or chromosomes from wild wheat species into cultivated wheat. One of the experiments described in the thesis had a similar goal. In the BC_2 generation of crosses between *Aegilops cylindrica* Host. × *Triticum aestivum* L. (Chinese Spring or Mv 14), chromosomes $2C^c$, E^c and F^c from *Aegilops cylindrica* were identified in plants with 44 chromosomes, and translocated and deleted wheat chromosomes were also detected. Of the lines with 44 chromosomes, 16 are currently maintained in the BC_2F_2 generation.

The translocation in which the short arm of wheat chromosome 1B was replaced in the course of a central fusion by the short arm of rye chromosome 1R has had an

enormous effect on world wheat breeding. Wheat genotypes carrying this 1RS/1BL translocation thus have a chromosome pair in which the short arm is derived from the 1R chromosome of rye and the long arm from the 1B chromosome of wheat.

Sixty-six Hungarian bread wheat varieties and 12 durum wheat varieties registered between 1978 and 1990 were tested with SDS-PAGE, Giemsa C-banding and genomic *in situ* hybridisation to discover whether they contained the 1RS/1BL wheat-rye translocation. Thirty-five (53 %) of the bread wheat varieties were found to carry the translocation, while it was not detected in any of the durum wheat varieties. In the course of Giemsa C-banding a 5BS/7BS-5BL/7BL translocation was also detected in the variety GK Öthalom.

Due to global climate changes it can be expected that drought will be a more and more frequent danger in Eastern Central Europe, so it will be important to breed drought-tolerant varieties. The first step in this work will be the localisation of genes responsible for resistance to drought stress, and the genetic analysis of drought tolerance. The thesis describes examinations on the genetic control of wheat drought tolerance using a Chinese Spring/Cappelle Desprez substitution series and Chinese Spring/*Agropyron elongatum* and Chinese Spring/Imperial (rye) disomic addition series. It was found that most of the drought tolerance-related properties tested (relative water content, relative water loss, drought tolerance index, grain yield) were controlled by genes located on chromosomes 1A, 5A, 7A, 1B, 4B, 5B, 3D and 5D of wheat, 5E and 7E of *Agropyron* and 1R, 3R, 4R, 5R and 7R of rye.

IRODALOMJEGYZÉK

AASE, H. C. (1930): Cytology of *Triticum, Secale* and *Aegilops* hybrids with reference to phylogeny. *Wash. State Coll. Bull*. **2**, 5–60.

ALI-DIB, T., MONNEVEUX, P. H., ARAUS, J. L. (1990): Breeding durum wheat for drought tolerance. Analytical, synthetical approaches and their connection. In. Wheat breeding, prospects and future approaches. Bulgarian Agricultural Academy, Bulgaria, pp. 224-240.

ALLARD, R. W. (1988): Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. *J. Hered*., **79**, 225–238.

AMBROS, P. F., MATZKE, M. A., MATZKE, A. J. M. (1986): Detection of a 17 kb unique sequence (T-DNA) in plant chromosomes by *in situ* hybridization. *Chromosoma*, **94**, 11–18.

ANDERSON, O. D., GREENE, F. C. (1989): The characterization and comparative analysis of high-molecular-weight glutenin genes from genomes A and B of a hexaploid bread wheat. *Theor. Appl. Genet.*, **77,** 689–700.

ANDERSON, O. D., GREENE, F. C., YIP, R. E., HALFORD, N. G., SHEWRY, P. R., MALPICA-ROMERO, J-M. (1989): Nucleotide sequences of the two high-molecular-weight glutenin genes from the D-genome of a hexaploid bread wheat, *Triticum aestivum* L. cv Cheyenne. *Nucleic Acids Res* **17**: 461–462.

ARMSTRONG, J. M. (1945): Investigation in *Triticum-Agropyron* hybridization. Emp. J. *Exp. Agric*., **13**, 41–53.

ARRAUDEAU, M. A: (1989): Breeding strategies for drought resistance. In: Baker, F. W. G. (ed.), *Drought resistance in cereals*. CAB International, pp. 107–116.

ARRIGHI, F. E., HSU, T. C. (1971): Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics*, **10**, 81–86.

BARTOS, P., STUCHLIKOVÁ, E. (1987): Odrudova odolnost psenic s zitnou rezistenci (1B/1R) ke rzi psenicné. (Varietal resistance of wheats with rye-type resistance (1B/1R) to brown rust.) *Sbornik UVTIZ, Genetika a Slechte*, **23**, 97–104.

BAUM, M., LAGUDA, E. S., APPELS, R. (1992): Wide crosses in cereals. *Ann. Rev. Pl. Physiol. Mol. Biol*., **43**, 117–143.

BAUMAN, J. G. J., WIEGANT, J., BORST, P., VAN DUIJN, P. (1980): A new method for fluorescence microscopical localization of specific DNA sequences by in situ hybridization of fluorochrome-labelled RNA. *Exp. Cell Res*., **128**, 485–490.

BEDŐ Z., KÁRPÁTI M., VIDA G., KRAMARIK-KISSIMON J., LÁNG L. (1995): Good breadmaking quality wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes with 2+12 subunit composition at the *Glu-D1* locus. *Cer. Res. Comm*. **23**: 283–289.

BEDŐ, Z., BALLA, L., SZUNICS, L., LÁNG, L., KRAMARIKNÉ-KISSIMON, J. (1993): A martonvásári 1B/1R transzlokációt hordozó búzafajták agronómiai tulajdonságai. (Agronomic properties of Martonvásár wheat varieties bearing the 1B/1R translocation.) *Növénytermelés*, **42**, 391–398.

BELEA, A. (1964): Néhány *Triticum* L. fajhibrid elemzése és nemesítési értékelése. Kand. ért. TMB, Bp., 227 p.

BELEA, A. (1992): *Interspecific and intergeneric crosses in cultivated plants*. Akad. Kiadó, Bp., pp. 171–180.

BELEA, A., FEJÉR, O. (1980): Evolution of wheat (*Triticum* L.) in respect to recent research. *Acta Agr. Acad. Sci. Hung.*, **29**, 306–315.

BELEA, A., FEJÉR, O. (1981): Genetic studies and breeding evaluation of some *Triticum* auto- and amphiploids. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung*., **32**, 205–213.

BELEA, A., FEJÉR, O., GASHAL, K. K. (1975): Genetic analysis of *Triticum ispahanicum* (Heslot) hybrids. *Nucleus*, **18**, 50–58.

BELEA, A. (1986): Faj- és nemzetségkeresztezések a növényvilágban 1–235. Mezõgazdasági Kiadó, Budapest

BENNETT, S. T., KENTON, A. Y., BENNETT, M. D. (1992): Genomic *in situ* hybridization reveals the allopolyploid nature of Milium montianum. *Chromosoma*, **101**, 420–424

BERZONSKY, W. A., FRANCKI, M. G. (1999): Biochemical, molecular, and cytogenetic technologies for characterizing 1RS in wheat: a review. *Euphytica*, **108**, 1–19.

BIETZ, J. A., SHEPERD, K. W., WALL, J. S. (1975): Single kernel analysis of glutenin: use in wheat genetics and breeding. *Cereal Chem*. **52**: 513–532.

BLÜTHNER, W. D., SCHUBERT, V., METTIN, D. (1988): Instability in amphiploids and backcross derivatives of *Triticum aestivum* × *Ae. caudata* cross. In: Miller, T. E., Koebner, R. M. D. (eds), Proc. 7th Int. Wheat. Genet. Symp., Cambridge, pp. 209–213.

BOROJEVIC, S. (1990): *Principles and methods of plant breeding*. Elsevier Sci. Publ., pp. 94–99.

BOWDEN, W. M. (1959): The taxonomy and nomenclature of wheat, barleys and ryes and their wild relatives. *Can. J. Bot*., **37**, 647–687.

BROWN, S. W. (1966): Heterochromatin. *Science*, **151**, 417–425.

BURNOUF, T., BOURIQUET, R. (1980): Glutenin subunits of genetically related European hexaploid wheat cultivars: their relation to breadmaking quality. *Theor. Appl. Genet*., **58,** 1217–1255.

CASPERSSON, T., FARBER, S., FOLEY, G. E., KUDYNOWSKI, J., MODEST, E. J., SIMONSSON, E., WAGH, U., ZECH, L. (1968): Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Exp. Cell Res*., **49**, 219–222.

CAUDERON, Y., SAIGNE, B., DAUGE, M. (1973): The resistance of wheat rust of Agropyron intermedium and its use in wheat improvement. *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.*, Columbia, USA.

CIFFERI, R. (1955): The first interspecifi wheat hybrids. J. *Hered*., **46**, 81–83.

CLARK, J. M., TOWNLEY-SMITH, T. F. (1984): Screening and selection techniques for improvement drought resistance. In: Vose, P. B., Blixt, S. G. (eds*), Crop Breeding. A contemporary basis.* Pergamon Press, Oxford, UK. pp. 153.

CLARK, M., KARP, A., ARCHER, S. (1989): Physical mapping of the B-hordein loci on barley chromosome 5 by in situ hybridization. *Genome*, **32**, 925–929;

COLLINS, G. B., GOSSER, J. W (1984): Culture of embryos. In. Vasil, I. K. (ed.): Cell culture and somatic cell genetics of plants. Acad. Press. Inc. Florida, 241–257.

DARLINGTON, C. D., LACOUR, L. (1938): Differential reactivity of the chromosomes. *Ann. Bot*., **2**, 615–625.

DARLINGTON, C. D., LACOUR, L. (1940): Nucleic acid starvation of chromosomes in *Trillium*. *J. Genet*. **40**, 185–213.

DAVIS, W. J., MANSFELD, T. A. (1983): The role of abscisic acid in drought avoidance. In: Addicott, F. T. (ed.*): Abscisic acid*. Praeger, N. Y. pp. 237–268.

DEDIO, W. (1975): Water relations in wheat leaves as screening tests for drought resistance. *Canadian J. Plant Sci*., **55**, 369–378.

DÉGEN, Á. (1917): MTA Mathem. Tud. Ért. 3–4, 459–447.

DENNIS, E. S., W. L. GERLACH, W. J. PEACOCK (1980): Identical polypyrimidine-polyurine satellite DNAs in wheat and barley. *Heredity*, **44,** 349–366.

DÖBEL, P., RIEGER, R., MICHAELIS, A. (1973): The Giemsa banding patterns of the standard and four reconstructed karyotypes of *Vicia faba*. *Chromosoma*, **43**, 409–422.

D'OVIDIO, R., ANDERSON, O. D. (1994): PCR analysis to distinguish between alleles of a member of multigene family correlated with wheat bread-making quality. *Theor. Appl. Genet.*, **88,** 759–763.

D'OVIDIO, R., MASCI, S., PORCEDDU, E. (1995): Development of a set of oligonucleotide primers specific for genes at the *Glu-1* complex loci of wheat. *Theor. Appl. Genet.*, **91,** 189–194.

DRISCOLL, C. J., SEARS, E. R. (1971): Individual addition of the cromosomes of Imperial rye to wheat. *Agron. Abstr*. 6.

DUDITS, D., HESZKY, L. (2000): Növényi biotechnológia és géntechnológia. Agroinform kiadó, Budapest, 312 oldal.

DVORAK, J. (1993): Enhancement of salt tolerance in wheat by alien germplasm. Abstract. 8th Int. Wheat Gen. Symp. 20–25 July, China, p. 19.

DVORAK, J., KNOTT, D. R. (1974): Disomic and ditelosomic additions of diploid *Agropyron elongatum* chromosomes to *Triticum aestivum*. *Can. J. Gen. Cytol*., **16**, 399–417.

ENDO, T. R. (1979): Selective gametocidal action of a chromosome of Aegilops cylindrica in a cultivar of common wheat. *Wheat Inf. Service*, **50**, 24–28.

ENDO, T. R. (1982): Gametocidal chromosomes of three *Aegilops species* in common wheat. *Can. J. Genet. Cytol*., **24**, 201–206.

ENDO, T. R. (1988): Induction of chromosomal structural changes by a chromosome of *Aegilops cylindrica* L. in common wheat. *J.Heredity*, **79**, 366–370

ENDO, T. R., GILL, B. S. (1996): The Deletion Stocks of Common Wheat. *J. Hered*., **87**, 295–307.

ENDO, T. R.,. GILL, B. S. (1984): A somatic karyotype, heterochromatin distribution, and nature of chromosome differentiation in common wheat, *Triticum aestivum* L. em. Thell. *Chromosoma*, **89**, 361–369.

FALK, D. E., KASHA, K..J. (1981): Comparison of the crossability of rye (*Secale cereale*) and *Hordeum bulbosum* onto wheat (*Triticum aestivum*). *Can. J. Genet. Cytol*. **23**, 81–88.

FRIEBE, B., GILL, B. S. (1994): C-band polymorphism and structural rearrangements detected in common wheat (*Triticum aestivum*). *Euphytica*, **78**, 1–5.

FRIEBE, B., GILL, B. S., MUKAI, Y., MAAN, S. S. (1993): A noncompensating wheat-rye translocation maintained in perpetual monosomy in alloplasmic wheat. *J. Hered*., **84**, 126–129.

FRIEBE, B., HEUN, M., BUSHUK W. (1989): Cytological characterization, powdery mildew resistance and storage protein composition of tetraploid and hexaploid 1BL/1RS wheat-rye translocation lines. *Theor. Appl. Genet*., **78**, 425–432.

FRIEBE, B., JIANG, J., RAUPP, W. J., MCINTOSH, R. A., GILL, B. S. (1996): Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to disease and pests: current status. *Euphytica*, **91**, 59–87.

FRIEBE, B., KYNAST, R. G., GILL, B. S: (2000): Gametocidal factor-induced structural rearrangements in rye chromosomes added to common wheat. *Chromosome Res*., **8,** 501–511.

FRIEBE, B., RAUPP, W. J., GILL, B. S. (2001): Alien genes in wheat improvement. In: Bedő, Z., Láng, L. (eds), Wheat in a Global Environment. Proc. /th Intern. Wheat Conf., 5–9. June 2000, Bp. Hungary.

FRIEBE, B., SCHUBERT, V., BLÜTNER, W. D., HAMMER, K. (1992): C-banding pattern and polymorphism of *Aegilops caudata* and chromosomal constructions of the amphiploid *T. aestivum* x *Ae. caudata* and six derived chromosome addition lines. *Theor. Appl. Genet*. **83**, 589–596.

GALIBA, G. (1994): In vitro adaptation for drought and cold hardiness in wheat. *Plant Breed. Reviews*, **12**, 115–162.

GALIBA, G., SIMON-SARKADI, L., KOCSY, G., SALGÓ, A., SUTKA, J. (1992): Possible chromosomal location of genes determining the osmoregulation of wheat. *Theor. Appl. Genet*., **85**, 415–418.

GALIBA, G., SUTKA, J., SNAPE, J. W. (1996): The role of the 5A chromosome in the development of winter hardiness in wheat. *Nordisk Jordbruksforskning*, **78**, 86.

GALIBA, G., TUBEROSA, R., KOCSY, G., SUTKA, J. (1993): Involvement of chromosomes 5A and 5D in cold-induced abscisic acid accumulation in and frost tolerance of wheat calli. *Plant Breed*., **110**, 237–242.

GALL, J. G., PARDUE, M. L. (1969): Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. *Genetics*, **63**, 378–383.

GERLACH, W. L. (1977): N-banded karyotypes of wheat species. *Chromosoma*, **62**:49–56

GIBBS, W. J. (1975): Drought - its definition, delineation and effects. In: *Drought*. Special environmental report, 15, 1–39. World Met. Org., Geneva, Switzerland.

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**, 830–839.

GILL, B. S., KIMBER, G. (1974a). Giemsa C-banding and the evolution of wheat. *Proc. Acad. Natl. Sci. USA*, **71**:4086–4090

GILL, B. S., KIMBER, G. (1974b): The Giemsa C-banded karyotype of rye. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**:1247–1249

GORDON, L. K., ALEKSEEVA, V. Y., BICHURINA, A: A., GOLUBEV, A. I., KASHAPOVA, L. A., CHERNYSH, O. O., GERASIMOV, N. N. (1975): Changes of respiratory metabolism and cell ultra-structure in roots of wheat during dehydration. *Soviet. Plants Physiol*. (Engl. transl.), **22**, 804–808.

GRAYBOSCH, R. A., PETERSON, C. J., HANSEN, L. E., MATTERN, P. J. (1990): Relationships between protein solubility characteristics, 1BL/1RS, high molecular weight glutenin composition, and end-use quality in winter wheat germ plasm. *Cereal Chemistry*, **67**, 342–349.

GUPTA, P. C., O'TOOLE, J. C. (1986): *Upland rice: a global perspective*. 360pp. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.

GUSTA, L. V., CHEN, T.H. H., HEYNE, E. G. (1987): The physiology of water and temperature stress. *Wheat and Wheat Improvement*. Ed.2, 115–150.

HÄNSEL, H., SEIBERT, L., GRÖGER, S., LELLEY, T. (1994): HMW-Glutenin Unterheiten von 22 seit 1948 in Österreich gezüchteten Qualitätswinterweizen und

von deren Eltern. Genetische Ertragssteigerung und Qualitäts-Stabilisierung unter Beibehaltung der *Glu-B1/Glu-D1* Kombination 7+9/5+10. *Bericht über die 45. Arbeitstagung 1994 der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtleiter im Rahmen der "Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter*", BAL Gumpenstein, 22–24.Nov. 1994.

HADLACZKY, G., BELEA, A. (1975): C-banding in wheat evolutionary cytogenetics. *Plant. Sci. Lett.* **4**, 85–88

HEITZ, E. (1928): Das Heterochromatin der Moose. *Jahrb. Wissensch. Bot.*, **69**, 762–818.

HEITZ, E. (1935): Chromosomenstruktur und Gene. *Ind. Abst. Vererbgsl.*, **70**, 402–447.

HERMSEN, B. I. (1963): The localization of two genes for dwarfing in the wheat variety Timstein by means of substitution lines. *Euphytica*, **12**, 126–129.

HESLOP-HARRISON, J. S.; LEITCH, A. R., SCHWARZACHER, T., ANAMTHAWAT-JONSSON, K. (1990): Detection and characterization of 1B/1R translocations in hexaploid wheat. *Heredity*, **65**, 385–392

HESZKY, L. (1972): Az embriókultúrának, mint módszernek az alkalmazása a növénynemesítési és genetikai kutatásokban. *Növénytermelés*, **21**, 185–190.

HEUN, M., FISCHBECK, G. (1987): Identification of wheat powdery mildew resistance genes by analysing host-pathogen interactions. *Plant Breeding*, **98**, 124–129.

HSIAO, T. C. (1973): Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **24**, 519–570.

HUSSAIN, A., LUKOW, O. M. (1994): Characterization of the 1B/1R translocation in wheat using water extractable protein concentrate. *Euphytica.*, **78**, 109–113.

ISLAM, A. K. M. R., SHEPERD, K. W. (1992): Alien genetic variation in wheat improvement. In: Gupta, P. K., Tsuchia, T. (eds) *Chromosome engineering in plants. Genetics, Breeding, Evolution.* Part A, Elsevier Sci. Publ., Amsterdam, The Netherlands, pp. 291–312.

ISLAM, A. K. M. R., SHEPERD, K. W., SPARROW, D. H. B. (1981): Isolation and characterization of euplasmic wheat- barley chromosome addition lines. *Heredity* **46,** 161–174.

JACKSON, E. A., MORELL, M. H., STROHM, T., BRANLARD, G., METAKOVSKY, E. V., REDAELLI, R. (1996): Proposal for combining the classification systems of alleles of *Gli-1* and *Glu-3* loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Genet & Breed.*, **50**, 321–336.

JAKUBCINER, (1932): In: Lelley, J., Rajháthy, T. 1955. A búza és nemesítése. Akad. Kiadó, Bp., 150 p.

JAVORNIK, B., SINKOVIC, T., VAPA, L., KOEBNER, R. M. D., ROGERS, W. J. (1991): A comparison of methods for identifying and surveying the presence of 1BL.1RS translocations in bread wheat. *Euphytica*, **54**, 45–53.

JENSEN, C. J. (1981): Cell and tissue culture techniques in cereal crop improvement. *Proc. Int. Workshop*, Peking, Science Press, Peking, China, 55–79.

JEWELL, D. C. (1979): Chromosome banding in *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring and *Aegilops variabilis*. Chromosoma, 71:129–134

JIANG, J., FRIEBE, B., GILL, B. S. (1994): Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica*, **73**, 199–212.

JIANG, J., GILL, B. S. (1994): Different species-specific chromosome translocations in *Triticum timopheevii* and *T. turgidum* supports diphyletic origin of polyploid wheats. *Chromosome Res*., **2**, 59–64.

JOHNSON, R. C., NGUYEN, H. T., CROY, L. I. (1984): Osmotic adjustment and solute accumulation in two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Sci*., **24**, 957–962.

KALLOO, G. (1992): Utilization of wild species. In: Kalloo, G., Chowdhury, J. P. (eds), *Distant hybridization of crop plants.* Springer Verlag, pp. 150–167.

KÁRPÁTI, M., BEDŐ, Z., FATA, R., BUDAI, H. (1995): Régi magyar búzafajták glutenin fehérjének genetikai variabilitása. *Növénynemesítési Tudományos Napok* '94, Összefoglaló, 51.o. MTA, Budapest.

KATTERMANN, G. (1937): Zur Cytologie halmbehaarter Stämme aus Weizenroggenbastardierung. *Züchter*, **9**, 196–199.

KEIM, D. L., KRONSTAD, W. E. (1981): Drought response of winter wheat cultivars grown under field stress conditions. *Crop. Sci.*, **21**, 11–15.

KERBER, E. R. (1964): Wheat: reconstruction of the tetraploid component (AABB) of hexaploids. *Science*, **143**, 253–255.

KIHARA, H. (1938): Cytogenetics of species hybrids. *Curr. Sci*., **4,** 20–23.

KIHARA, H. (1954): (ed.) Wheat research. 2nd ed. Yokemodo Co. Tokyo

KIMBER, G. (1979): Amphiploids as a genetic resource in *Triticeae*. Indian J. Genet. *Plant Breed*. **39**:133–137.

KIMBER, G., M. ABUBAKAR (1979): Wheat hybrid information system. *Cereal Res. Commun.*, **7,** 257–260

KIMBER, G., SEARS, E. R. (1987): Evolution in the genus *Triticum* and the origin of cultivated wheat. In: Wheat and wheat improvement, 2nd ed. (Heyne, E. G. ed.) American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 154–164.

KIRKHAM, M. B. (1983) Effect of ABA on the water relations of winter-wheat cultivars varying in drought resistance. *Physiol. Plantarum*, **59**, 153–157.

KISS, Á. (1955): Búza-rozs hibridek és az 1. sz. Triticale genetikai vizsgálata. *MTA Agr. Oszt. Közl., 6*, 85–119.

KISS, Á., BELEA, A. (1958): Faj- és nemzetségkeresztezések. Új nemesítési módszerek. Témadokumentáció, OmgK, 30–36.

KISS, Á. (1966): Kreizungswersuche mit Triticale. Züchter, 36, 249–255.

KISS, Á. (1968): Triticale, a homok új gabonája. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1968, 179 oldal.

KNOBLOCH, I. W. (1968): A check list of crosses in the *Gramineae*. Stechert-Hofner Service Agency, New York

KNOTT, D. R. (1961): The inheritance of rust resistance. VI. The transfer of stem rust resistance from *Agropyron elongatum* to common wheat. *Can. J. Plant Sci*., 41, 109–123.

KNOTT, D. R. (1987): Transferring alien genes to wheat. In: Heyne, E. G. (ed.) *Wheat and wheat improvement*. 2nd ed. Am. Soc. Agron. pp. 462–471.

KÖRNICKE, F. (1885): *Handbuch des Getreidebaues. Arten und Varietäten des Getreides.* P. Parey, Berl., 116 p.

KOSTOFF, D. (1940): Fertility and chromosome length.Correlations between chromosome length and viability of gametes in autopolyploid plants. *J. Hered*. **31**, 33–34

KRAMER, P. J. (1969): *Plant and soil water relationships. A modern synthesis*. McGraw Hill, N.Y.

KUBALAKOVÁ, M., NOUZOVÁ, M, DOLEŽELOVÁ, M., MACAS, J., DOLEŽEL, J. (1998): A combined PRINS-FISH technique for simultaneous localisation of DNA sequences on plant chromosomes. *Biol. Plant*., **42**, 293–296.

KUSPIRA, J, UNRAU, J. (1957): Genetic analysis of certain characters in common wheat using whole chromosome substitution lines. *Can. J. Plant Sci*., **57**, 300–326.

LAFIANDRA, D., D'OVIDIO, R., MARGIOTTA, B. (1994): Studies of high molecular weight glutenin subunits and their encoding genes. In: *Improvement of Cereal Quality by Genetic Engineering*, 105–111.

LÁNG, L., BEDŐ, Z. (1994): Genetic background of the Martonvásár wheat breeding programme. Evaluation and Exploitation of Genetic Resources Pre-Breeding. *Proceedings of the Genetic Resources Section Meeting of Eucarpia*, 15–18 March 1994, Clermont-Ferrand, France. pp. 117–122.

LANGER-SAFER, P. R., LEVINE, M., WARD, D. C. (1982): Immunological method for mapping genes on Drosophila polytene chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 4381–4385.

LÁNGNÉ MOLNÁR, M., KŐSZEGI, B., LINC, G., SUTKA, J. (1996): Búza (*Triticum aestivum* L.)/*Triticum timopheevii* Zhuk. addíció, szubsztitució és búza/rozs transzlokáció kimutatása C-sávozással és *in situ* hibridizációval. *Növénytermelés*, **45**, 237–245.

LÁNGNÉ-MOLNÁR, M., SUTKA, J. (1989): Magyarországon termesztett búzafajták keresztezhetősége rozzsal. *Növénytermelés*, **38**, 479–484.

LAPITAN, N. L. V., SEARS, R. G., RAYBURN, A. L., GILL, B. S. (1986): Wheat-rye translocations. Detection of chromosome breakpoints by in situ hybridization with a biotin-labeled DNA probe. *J. Hered*., **77**, 415–419.

LAWLOR, D. W. (1979): Effects of water and heat stress on carbon metabolism of plants with C3 and C4 photosynthesis. In: Hussel, H., Staples, R. (eds): *Stress physilogy in crop plants*. John Wiley and sons, pp. 304–326.

LEIGHT, G. AND J. W. TAYLOR (1927): Studies in natural hybridization of wheat. *J. Agric. Res*. **35**, 865–887.

LEIGHTY, C. E., W. J. SANDO (1928): Natural and artificial hybrids of a chinese wheat and rye. *J. Hered*., **19**, 23–27.

LEIGHTY, C. E:, TAYLOR, J. W. (1927): J. Agric. Res. 35, 687–746.

LEIGHTY, C.E., W.J. SANDO, J.W. TAYLOR (1926): Intergeneric hybrids in *Aegilops*, *Triticum* and *Secale*. *J. Agric. Res*. **33**, 101–141.

LEIN, A. (1943): Die genetische grundlage der kreuzbarkeit zwischen weizen und roggen. *Z. Indukt. Abstam. Vererbungsl*., **81**, 28–61.

LEVITT, J. (1980): *Responses of plants to environmental stresses*. Academic Press Inc., London.

LIMIN, A. E., FOWLER, D. B. (1985): Cold hardiness in *Triticum* and *Aegilops* species. *Can. J. Plant. Sci*. **65**, 71–77.

LINC, G., FRIEBE, B. R., KYNAST, R. G., MOLNAR-LÁNG, M., KŐSZEGI, B., SUTKA, J., GILL, B. S. (1999): Molecular cytogenetic analysis of *Aegilops cylindrica* Host. *Genome*, **42**, 497–503.

LINDE-LAURSEN, I. (1975): Giemsa C-banding of the chromosomes of 'Emir' barley. *Hereditas*, **81,** 285–289.

LUKASZEWSKI, A. J. (1990): Frequency of 1RS.1AL and 1RS.1BL translocations in United States wheats. *Crop Sci*., **30**, 1151–1153.

LUKASZEWSKI, A. J. (1993): Reconstruction in wheat of complete chromosomes 1B and 1R from the 1RS/1BL translocation of 'Kavkaz' origin. *Genome*, **36**, 821–824.

LUKYANYENKO, P. P. (1973): Selektsiya ozimykh pshenits Avrora i Kavkaz. (Selection of winter wheat varieties Avrora and Kavkaz). pp. 338–343. In: Lukyanyenko, P. P. *Izbrannye trudi*. Kolosz, Moscow.

MAAN, S. S. (1987): Interspecific and intergeneric hybridization in wheat. Wheat and wheat improvement, pp. 453–461.

MAHMOOD, A., QUARRIE, S. A. (1993): Effects of salinity on growth, ionic relations and physiological taits of wheat, disomic addition lines from *Thinopyrum bessarabicum*, and two amphiploids. *Plant Breeding*, **110**, 265–276.

MARGIOTTA, B., COLAPRICO, G., D'OVIDIO, R., LAFIANDRA, D. (1993): Characterization of high MW subunits of glutenin by combined chromatographic (RP-HPLC) and electrophoretic separations and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analyses of their encoding genes. *J. Cereal Sc*., **17**, 221–236.

MARTIN, P., CARRILLO, J. M. (1999): Cumulative and interaction effects of prolamin allelic variation and of 1BL/1RS translocation on flour quality in bread wheat. *Euphytica*, **108**, 29–39.

MATHER, J. R. (1968): Irrigation agriculture in humid areas. In: Court (ed.), Electric climatology. Oregon State Univ. Press, Corvallis, USA, pp. 107–122.

MCINTOSH, R. A. (1991): Alien sources of disease resistance in bread wheats. In: Sasakuma, T., Kinoshita, T. (eds) *Proc. of Dr. H. Kihara Memorial Int. Symp. on Cytoplasmic Engineering in wheat. Nuclear and organellar genomes of wheat species.* Yokohama, Japan, pp. 320–332.

METTIN, D., BLÜTHNER, W. D., SCHLEGEL, G. (1973): Additional evidence on spontaneous 1BL.1RS wheat rye substitutions. *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp*., Columbia, USA, pp. 179–184.

MOLNAR-LÁNG, M., LINC, G., SUTKA, J. (1996): Transfer of the recessive crossability allele *kr1* from Chinese Spring into the winter wheat variety Martonvasari 9. *Euphytica*, **90**, 301–305.

MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., SUTKA, J. (1999): Production and molecular cytogenetic identification of wheat-barley hybrid and translocations. *J. Plant Biotechnology*, **1,** 8–12.

MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, LOGOJAN, A., SUTKA, J. (2000a): Production and meiotic pairing behaviour of new hybrids of winter wheat (Triticim aestivum) × winter barley (Hordeum vulgare). *Genome*, **43**, 1045–1054.

MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., FRIEBE, B., SUTKA, J. (2000b): Detection of wheat-barley translocations by genomic in situ hybridization in derivatives of hybrids multiplied in vitro. Euphytica, 112, 117–123.

MOONEN, J. H. E., SCHEPSTRA, A., GRAVELAND, A. (1982): Use of the SDS-sedimentation test and SDS-polyacrylamide gel electrophoresis for screening breeders samples of wheat for breadmaking quality. *Euphytica*, **31,** 677–690.

MOONEN, J. H. E., ZEVEN, A. C. (1984): SDS-PAGE of the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin and the characterization of 1R(1B) substitution and 1BL/1RS translocation lines. *Euphytica*, **33**, 3–8.

MORGAN, J. M. (1980a): Possible role of abscisic acid in reducing seed set in water-stressed wheat plants. *Nature*, **285**, 655–657.

MORGAN, J. M. (1980b): Osmotic adjustment in the spikelets and leaves of wheat. *J. Exp. Bot*., **31**, 655–665.

MORGAN, J. M. (1983): Osmoregulation as a selection criterion for drought tolerance in wheat. *Australian J. Agr. Res*., **34**, 607–614.

MORGAN, J. M. (1989): Physiological traits for drought resistance. In: Baker, F. W. G. (ed.), *Drought resistance in cereals*. CAB International, pp. 53–65.

MORGAN, J. M. (1991): A gene controlling differences in osmoregulation in wheat. *Aus. J. Plant Physiol.*, **18**, 249–257.

MORRIS, R., SEARS E. R. (1967): The cytogenetics of wheat and its relatives. In K. S. Quisenberry and L. P. Reitz (ed.) *Wheat and wheat improvement* 1st ed. Agronomy, **13**, 19–87.

MORRISON, L. A. (1998): Taxonomic Issues in *Triticum* L. and *Aegilops* L. *Wheat Inf. Serv.*, **86**, 49–53.

MUKAI, Y., NAKAHARA, Y., YAMAMOTO, M. (1993): Simultaneous discrimination of the three genomes in hexaploid wheat by multicolor fluorescence in situ hybridization using total genomic and highly repeated DNA probes. *Genome*, **36**, 489–494.

MURAMATSU, M. (1959): Homology of chromosomes of *Aegilops caudata* with common wheat. *Wheat. Inf. Serv*., **9/10**, 32–33.

MURAMATSU, M., IKEDA, R. (1983): Variation in fertility and segregation for response to powdery mildew inoculation in the cross between *Agropyron elongatum* (2n = 10x = 70) and hexaploid wheat. *Japanese J. Genet*., **58**, 665–666.

OECD (1999): Consesus Document on the Biology of *Triticum aestivum* (Bread Wheat). Environmental Heath and Safety Publications. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, No.9. Environment directorate, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris. www.oecd.org/ehs/ehsmono

OLSON, M., HOOD, L., CANTOR, C., DOSTSTEIN, D. (1989): A common language for physical mapping of the human genome. *Science*, **254**, 1434–1435.

O'MARA, J. G. (1940): Cytogenetic studies on *Triticeae*. I. A method for determining the effect of individual *Secale* chromosomes on *Triticum*. *Genetics*, **25**, 401–408.

O'MARA, J. G. (1947): The substitution of a specific *Secale cereale* chromosome for a specific *Triticum aestivum* chromosome. *Genetics*, **32**, 99–100.

O'MARA, J. G. (1938) Cytogenetic studies on *Triticale* I. A method for determining the effects of individual *Secale* chromosomes in *Triticum*. *Genetics*, **25**, 401–408

PARDUE, M. L., GALL, J. G. (1970): Chromosomal location of mouse satellite DNA. *Science*, **168**, 1356–1358.

PAYNE, P. I., CORFIELD, K. G., BLACKMAN, J. A. (1979): Identification of a high-molecular-weight subunit of glutenin whose presence correlates with bread-making quality in wheats of related pedigree. *Theor. Appl. Genet*., **55**, 153–159.

PAYNE, P. I., CORFIELD, K. G., HOLT, L. M., BLACKMAN, J. A. (1981): Correlations between the inheritance of certain high-molecular-weight subunit of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. *J. Sci. Fd. Agric*., **32**, 51–60.

PAYNE, P. I., HOLT, L. M., JACKSON, E. A., LAW, C. N. (1984): Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Phil. Trans. R. Soc. Lond*., **304**, 359–371.

PAYNE, P. I., HOLT, L. M., LAWRENCE, G. J., LAW, C. N. (1982): The genetics of gliadin and glutenin, the major storage proteins of wheat endosperm. *Qualitas Plant. Pl. Fds. Hum. Nutr*.,**31**, 229–241.

PAYNE, P. I., LAW, C. N., MUDD, E. E. (1980): Control by homoelogous group 1 chromosomes of the high-molecular-weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm. *Theor. Appl. Genet*., **58**,113–120.

PAYNE, P. I., NIGHTINGALE, M. A., KRATTIGER, A. F., HOLT, L. M. (1987): The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of british-grown wheat varieties. *J. Sci. Food Agric*., **40,** 51–65.

PERCIVAL, J. (1921): *The wheat plant - A monograph*. Duckworth and Co., London

PETRÓCZI, I. M. (2000): Öthalmi búzák új generációja: GK Miska és GK Petur. *Gyakorlati Agrofórum*. **11/10**. 25.

PINKEL, D., STRAUME, T., GRAY, J. W. (1986) Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 2934–2938.

POPOVA, G. (1923): *Baull. Appl. Bot*., **13**, 461–482.

QUARRIE, S. A. (1981): Genetic variability and heritability of drought-induced abscisic acid accumulation in spring wheat. *Plant, Cell and Environment*, **4**, 147–151.

QUARRIE, S. A:, JONES, H. G. (1979): Genotypic variation in leaf water potential, stomatal conductance and abscisic acid concentzration in spring wheat, subjected to artificial drought stress. *Ann. Bot*., **44**, 323–332.

RABINOVICH, S. V. (1997): Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. pp. 401–418. In: Braun, H. J., Altay, F., Kronstad, W. E., Beniwal, S. P. S., McNab, A. (eds.), *Wheat: Prospects for Global Improvement*. Proc. of the 5th International Wheat Conference, Ankara, Turkey, 10–14 June 1996. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.

RAJARAM, S., MANN, C. H. E., ORTIZ-FERRERA, G., MUJEEB-KAZI, A. (1983): Adaptation, stability and high yield potential of certain 1B/1R CIMMYT wheat. *Proc. 6th Int. Wheat Genet. Symp*., pp. 613–621.

RAJHÁTHY, T. (1954): *Acta. Agr. Hung*., **4**, 203–207.

RAJHÁTHY, T. LELLEY, T. (1955): *A búza és nemesítése*. Akad. Kiadó, Bp., 271–323.

RAYBURN, A. L., GILL, B. S. (1985): Use of biotin-labeled probes to map specific DNA sequences on wheat chromosomes. *J. Heredity*, **76**, 78–81.

RAYNBIRD, H. (1851–1853): On the hybridization of wheat. *Trans. High Agric. Soc. Scotl*., **3**, 491.

READER, S. M., ABBO, S., PURDIE, K. A., KING, I. P., MILLER, T. E. (1994): Direct labelling of plant chromosomes by rapid *in situ* hybridization. *Trends Genet*., **10**, 265–266.

RIED, J. L., WALKER-SIMMONS, M. K. (1993): Group 3 late embryogenesis abundant proteins in desiccation-tolerant seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiol*., **102**, 125–131.

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. *Genet. Res*., **12**, 199–219.

RILEY, R., CHAPMAN, V. (1958a): Genetic control of the cytologically diploid behavior of hexaploid wheat. *Nature*, **182**, 713–715.

RILEY, R., CHAPMAN, V. (1958b): The production and phenotypes of wheat-rye chromosome addition lines. *Heredity*, **12**, 301–315.

RIMPAU, W. (1891): Kreuzungdprodukte landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. *Landwirtsch. Jahrb.*, **20**, 347.

ROELFS, A. P. (1988) Resistance to leaf and stem rust. In: Simmonds, N. W., Rajaram, S (eds) *Wheat Breeding Strategies For Resistance to the Rusts of Wheat*. CYMMIT, Mexico, 10–22.

ROSIE, M. (1955): *L'origine du blé*. Sci. et Av., 58–62.

SAINI, H. S. ASPINALL, D. (1981): Effect of water deficit on sprogenesis in wheat (*Triticum aestivum*). *Ann. Bot*., **48**, 623–644.

SAINI, H. S., ASPINALL, D. (1982): Sterility in wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by water deficit or high temperature: possible mediation by abscisic acid. *Australian J. Plant Physiol*., **9**, 529–537.

SCHLEGEL, R. GILL, B. S. (1984): N-banding analysis of rye chromosomes and the relationships between N-banded and C-banded heterochromatin. Can. *J.Genet.Cytol*. **22,** 765–769.

SCHLEGEL, R., KORZUN, V. (1997): About the origin of 1RS.1BL wheat-rye chromosome translocations from Germany. *Plant Breed*.. **116**, 537–540.

SCHLEGEL, R., VAHL, U., MÜLLER, G. (1994): Current list of wheats with rye introgressions of homologous group. *Ann. Wheat Newsl*. **40**, 336.

SCHONFELD, M. A., JOHNSON, R. C., CARVER, B. F., MORNHINWEG, D. W., (1988): Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Sci*., **28**, 526–531.

SCHUBERT, V. (1989): Untersuchungen an *Triticum aestivum - Aegilops markgrafii* Kreuzungen und die Nutzung hochrepetitiver DNA Sequenzen in der squash dot technik. *Thesis, Martin-Luther University, Halle-Wittenberg*

SCHWARZACHER, T., ANAMTHAWAT-JONSSON, K, HARRISON, G. E., ISLAM, A. K. M. R., JIA, J. Z., KING, I. P., LEITCH, A. R., MILLER, T. E., READER, S. M., ROGERS, W. J., SHI, M., HESLOP-HARRISON, J. S. (1992): Genomic in situ hybridization to identify alien chromosomes and chromosome segments in wheat. *Theor. Appl. Genet*., **84**, 778–786

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*., **64**, 315–324.

SCHWEITZER, D., LOIDL, J. (1987): A model for heterochromatin dispersion and the evolution of C-band patterns. *Chromosomes Today*, **9**, 61–74.

SCHWEITZER, D., STREHL, S., HAGEMANN S. (1990): Plant repetitive DNA elements and chromosome structure. In: Fredga, K., Kihlman, B. A., Bennett, M. D. (eds.), *Chromosomes Today 10*. Unwin Hyman, Boston, Sydney, pp. 33–43.

SEARS, E. R. (1941a): Amphidiploids of seven-chromosome *Triticinae*. MO. *Agric. Exp. Stn. Res. Bull.* 336.

SEARS, E. R. (1941b): Chromosome pairing and fertility in hybrids and amphiploids in the *Triticinae*. MO. Agric. Exp. Stn. Bull. 337.

SEARS, E. R. (1948): The cytology and genetics of wheats and their relatives. In *Advances in genetics II.* Academic Press, New York, 239–270

SEARS, E. R. (1952): Homoeologous chromosomes in *Triticum aestivum. Genetics*, 37, 624.
SEARS, E. R. (1954): The aneuploids of common wheat. *MO. Agric. Exp. Stn. Bull*. **572**. 1–59.
SEARS, E. R. (1956a): The systematics, cytology and genetics of wheat. *Handb. Pflanzenzüchtg*. II.:164–187
SEARS, E. R. (1956b): The transfer of leaf rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat. *Brookhaven Symp. Biol*., **9**, 1–22.
SEARS, E. R. (1972): Chromosome engineering in wheat. *Stadler Genet. Symp*. **4**, 23–38
SEARS, E. R. (1976): Genetic control of chromosome pairing in wheat. *Ann. Rev. Genet*., **10**, 31–51.
SEARS, E. R. (1981): Transfer of alien genetic material to wheat. In: L. T. Evans and W. J. Peacock (eds) *Wheat science today and tomorrow*, Cambridge University Press, Cambridge, 75–89.
SEARS, E. R., OKAMOTO, M. (1958): Intergenomic chromosome relationship in hexaploid wheat. *Proc. 10th Int. Cong. Genet*. Montreal, Canada, pp. 258–259.
SEBESTA, E. E., WOOD, E. A. (1978): Transfer of greenbug resistance from rye to wheat with X-rays. *Agr. Abstr*., **70**, 61–62.
SHARMA, H. C. (1995): How wide a wide cross can be? *Euphytica*, **82**, 43–64.
SHARMA, H. C. B. S. GILL (1983): Current status of wide hybridization of wheat. *Euphytica* **32**:17–31
SHEWRY, P. R., TATHAM, A. S., FORDE, J., KREIS, M., MIFLIN, B. J. (1986): The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment. *J. Cereal Sci.* **4,** 97–106.
SHEWRY, P.R., KREIS, M., RAHMAN, S., BURGESS, S. R., TARDANI, L., BRADBERRY, D., FRANKLIN, J., FORDE, B. G., FRY, R., MIFLIN, B. J. (1984): The secalins of rye; chemistry, genetics, synthesis, deposition and molecular cloning. *Kulturpflanze*. **32**, p. 207. also Genetics of seed proteins. Proceedings of the 3rd seed protein symposium, Gatersleben, August 31–September 2, 1983.
SHIMSHI, D., EPHRAT, J. (1975): Stomatal behavior of wheat cultivars in relation to their transpiration, photosynthesis and yield. *Agron. J.*, **67**, 326–331.
SHIMSHI, D., MAYORAL, M. L., ATSMON, D. (1982): Responses to water stress in wheat and related wild species. *Crop Sci*., **22**, 123–128.
SINGH, D. P. (1989): Evaluation of specific dehydration tolerance traits for improvement of drought resistance. In: Baker, F. W. G. (ed.), *Drought resistance in cereals*. CAB International, p. 172.
SINHA, S. K., BANSAL, K. C. (1991): Evaluation of drought tolerance of Triticum aestivum and related species under field conditions. In: INRA (ed.), *Physiology-Breeding of winter cereals for stress in Mediterranean environments*, Montpelier, France, pp. 254–269.
SNAPE, J. W., CHAPMAN, V., MOSS, J.,. BLANCHARD, C. E.,. MILLER, T. E. (1979): The crossabilities of wheat varieties with *Hordeum bulbosum*. *Heredity* **42**, 291–298.
SNAPE, W. J., LAW, C. N., PARKER, B. B., WORLAND, A. J. (1985): Genetical analysis of chromosome 5A of wheat and its inluence on important agronomic characters. *Theor. Appl. Genet*., **71**, 518–526.

SNYDER, J. R., MALLORY-SMITH, C. A., BALTER, S., HANSEN, J. L., ZEMETRA, R. S. (2000): Seed production on Triticum aestivum by Aegilops cylindrica hybrids in the field. *Weed Science*, **48**, 588–593.

STEFANOWSKA, G., PRAZAK, R., KOSINSKA, D. (1998): Hybrids of *Aegilops cylindrica* Host., *Aegilops juvenalis* (Thell.) Eig. and *Aegilops triaristata* Willd. 6x with *Triticum aestivum* L. *Plant Breeding and Seed Science*, **42**, 3–18.

STEWART, C. R., HANSON, A. D. (1980): Proline accumulation as a metabiloc response to water stress. In: Turner, N. C., Kramer, P. J. (eds) *Adaptation of plants to water and high temperature stress.* John Wiley and Sons, pp.173–189.

SUTKA, J. (1979): Some aspects of use of aneuploidy in wheat breeding. *Acta Agr. Hung*., **28**, 401–422.

SUTKA, J. (1980): Citogenetika, Mezőgazdasági Kiadó

SUTKA, J. (1981): Genetic studies of frost resistance in wheat. *Theor. Appl. Genet*., **59**, 145–152.

SUTKA, J. (1991): *Cytogenetics*. Dept. of Genetics and Plant Breeding, Univ. Agr. Sci., Gödöllő, pp. 159–166.

SUTKA, J., GALIBA, G., QUARRIE, S. A:, VEISZ, O., SNAPE, J. W. (1995): Cytogenetic studies on frost resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Proc. of the workshop on crop adapt. to Cool Climates*, COST 814, 13–14 Oct., Hamburg, Germany.

SUTKA, J., SNAPE, J. W. (1989): Location of a gene for frost resistance on chromosome 5A of wheat. *Euphytica*, **42**, 41–44.

SZALAY, D. (1968): *Triticum × Agropyron* hibridek betegség-ellenállósága. *MTA Agr. Tud. Oszt. Közl*., **27**, 475–484.

SZUNICS, L., SZUNICS, L., BALLA, .L (1991): Termesztett lisztharmat- és rozsda rezisztens búzafajták hatása a kórokozókra. *Növénytermelés*, **40**, 395–404.

SZUNICS, L., SZUNICS, LU. (1984): A búzalisztharmat fiziológiai specializációjának tanulmányozasa (1970/71–1982/83). *Növénytermelés*, **33**, 507–514.

SZUNICS, L., SZUNICS, LU. (1993): Búzafajták szántóföldi szárrozsda-fertőzöttsége. *Növénytermelés*, **42**, 221–230.

SZUNICS, L., SZUNICS, LU., ÁBRÁNYI, A. (1989): A búzafajták sárgarozsda-ellenállósága. *Növénytermelés*, **38**, 501–506.

SZUNICS, LU., SZUNICS, L. (1978): A Kavkaz és az Avróra búzafajták lisztharmatfertőzöttségének okai. *MTA Agrártud.Oszt. Közl.*, **37**, 157–180.

TAKASHI, S., RAFALSKI, A., PETERSON, D., SÖLL, D. (1985): A wheat HMW glutenin subunit gene reveals a highly repeated structure. *Nucl. Acids Res*., **13**, 8729–8737.

TANNER, D. G., FALK, D. E. (1981): The interaction of genetically controlled crossability in wheat and rye. *Can. J. Genet. Cytol*. **23**, 27–32.

TAYLOR, J. W., QUISENBERRY, K. S: (1935): Inheritance of rye crossability in wheat hybrids. *J. Am. Soc. Agric*. **27**:149–153.

TEOH, S. B., HUTCHINSON, J. (1983): Interspecific variation in C-banded chromosomes of diploid *Aegilops* species. *Theor. Appl. Genet*., **65,** 31–40.

THOMAS, J. B., KALTSIKES, P. J., ANDERSON, R. G. (1981): Relation between wheat-rye crossability and seed set of common wheat after pollination with other species in the *Hordeae*. *Euphytica* **30,** 121–127.

THOMPSON, R. D., BARTELS, D., HARBERD, N. P. (1985): Nucleotide sequence of a gene from chromosome 1D of wheat encoding a HMW-glutenin subunit. *Nucl. Acids Res.*, **13**, 6833–6846.

TSUJIMOTO, H., TSUNEWAKI, K. (1984): Gametocidal genes in wheat and its relatives. I. Genetic analysis in common wheat of a gamatocidal gene derived from *Aegilops speltoides*. *Can. J. Genet. Cytol*. **26**, 78–84.

TURNER, N. C., JONES, M. M. (1980): Turgor maintenace by osmotic adjustment: A review and evaluation. In: Turner, N. C., Kramer, P. J. (eds) *Adaptation of plants to water and high temperature stress.* John Wiley and Sons, pp. 87–103.

UNRAU, J., PEARSON, C., KUSPIRA, J. (1956): Chromosome substitution in hexaploid wheat. *Can. J. Bot.*, **34**, 629–640.

VAHL, U., MULLER, G., BOHME, T. (1993): Electrophoretic protein analysis for the identification of doubled haploid 1A-1R, 1B-1R wheat-rye double translocation lines and for the assessment of their genetic stability. *Theor. Appl. Gen*., **86**, 547–556.

VAN SCHLAGEREN, M. V. (1994): Wild wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. & Spach.) Eig. Wageningen Agric. Univ. Pap.

VAVILOV, N. I. (1935): Teoretische Grundlagen der Pflanzenzüchtung. Staatsverlag, Moszkva-Leningrád.

VEISZ, O., GALIBA, G., SUTKA, J. (1996): Effect of abscisic acid on the cold hardiness of wheat seedlings. *J. Plant Physiol*., **149**, 439–443.

VERMA, S. C., REES, H. (1974): Giemsa staining and the distribution of heterochromatin in rye chromosomes. *Heredity*, **32**, 118–121.

VILLAREAL, R. L., RAJARAM, S., MUJEEB-KAZI, A., DEL-TORO, E. (1991): The effect of chromosome 1B/1R translocation on the yield potential of certain spring wheats (*Triticum aestivum* L.). *Plant Breeding*, **106**, 77–81.

VILMORIN, H. (1880): Note sur un croisement entre deux especes du blé. *Bull. Soc. Bot. France*, **27**, 73–74.

VOSA, C. G. (1970): Heterochromatin recognition with fluorochromes. *Chromosoma*, **30**, 366–371.

VOSA, C. G. (1974): The basic caryotype of rye (*Secale cereale*) analyzed with Giemsa and fluorescence methods. *Heredity*, **33**, 403–408.

WANG, Z. N., HANG, A., HANSEN, J., BURTON, C., MALLORY-SMITH, C. A., ZEMETRA, R. S. (2000): Visualization of A- and B-genome chromosomes in wheat (*Triticum aestivum* L.) × jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host) backcross progenies. *Genome*, **43**, 1038–1044.

WALTON, D. C. (1980): Biochemistry and physiology of abscisic acid. *Ann. Rev. Plant Physiol*., **31**, 453–489.

WARDLAW, I. F. (1971): The early stages of grain development in wheat: response to water stress in a single variety. *Aus. J. Bio. Sci.*, **24**, 1047–1055.

WERNER, J. E., KOTA, R. S., GILL, B. S., ENDO, T. R. (1992): Distribution of telomeric repeats and their role in the healing of broken chromosome end in wheat. *Genome*, **35**, 844–848.

WILSON, A. S, (1876): Wheat and rye hybrids. *Trans. Proc. Bot. Soc. Edinburgh*, **12**, 286–288.

ZELLER, F. J. (1972): Cytologischer Nachweis einer Chromosomensubstitution in der Weizenstamm Salzmünde 14/44 (*T. aestivum* L.). *Z. Pflanzenzüchtg*., **67**, 90–94.

ZELLER, F. J., FUCHS, E. (1983): Cytologie und Krankheitsresistenz einer 1A/1R- und mehrerer 1B/1R-Weizen-Roggen-Translokationssorten. *Z. Pflanzenzüchtg*., **90**, 285–296.

ZELLER, F. J. (1973): 1B/1R wheat-rye chromosome substitutions and translocations. In: *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp*., Columbia, Missouri, 209–221.

ZELLER, F. J. (1981): Identification of a 4A/7R and 7B/4R wheat-rye chromosome translocation. *Theor. Appl. Genet*., **59**, 33–37.

ZHAO, Y. H., KIMBER, G. (1984): New hybrids with D genome wheat relatives. *Genetics*, **106**, 509–515.

1. melléklet A *Triticum* és *Aegilops* nemzetség rendszere és fajainak genomformulái

Fajok [van Slageren(1994)]	Korábbi elnevezés [Kimber és Sears (1987)]	Genomformula 1*	Genomformula 2**
***Triticum* L.**			
Diploid sorozat			
I. Szekció: *Monococcon* Dumort.			
Triticum monococcum L.	*T. monococcum* L.	A	A^m
ssp. *monococcum* – termesztett alakor			
ssp. *aegilopoides* (Link) Thell. – vad alakor			
Triticum urartu Tumanian *ex* Gandilyan		A	A
Tetraploid sorozat			
II. Szekció: *Dicoccoidea* Flaksb.			
Triticum turgidum L.	*T. turgidum* L.	AB	AB (S r.)
ssp. *turgidum*.			
ssp. *carthlicum* (Nevski) Á. Löve & D. Löve			
ssp. *dicoccon* (Schrank) Thell. – tönke búza			
ssp. *durum* (Desf.) Husn.			
ssp. *paleocolchicum* (Menabde) Á. Löve & D. Löve			
ssp. *polonicum* (L.) Thell. – lengyel búza			
ssp. *turanicum* (Jakubz.) Á. Löve & D. Löve			
ssp. *dicoccoides* (Körn. *ex* Asch. & Graebn.) Thell.			
Triticum timopheevii (Zhuk.) Zhuk.	*T. timopheevii* (Zhuk.)Zhuk.	AG	AS
ssp. *timopheevii*.- termesztett alak			
ssp. *armeniacum* (Jakubz.) van Slageren -vad alak			
Hexaploid sorozat			
III. Szekció: *Triticum*			
Triticum aestivum L.	*T. aestivum* L.	ABD	ABD
ssp. *aestivum* – termesztett (közönséges) búza			
ssp. *compactum* (Host) MacKey			
ssp. *macha* (Dekapr. & Menabde) MacKey			
ssp. *spelta* (L.) Thell. – tönköly búza			
ssp. *sphaerococcum* (Percival) MacKey			
Triticum zhukovskyi Menabde & Ericz.	*T. zhukovskyi* Menabde & Ericzjan	AGA	ASA^m
***Aegilops* L.**			
Szekció: *Aegilops* L.			
Aegilops biuncialis Vis.	*T. macrochaetum* (Shuttlev. & A.Huet ex.. Duval-Jouve) K.Richt	UM	UM^0
Aegilops columnaris Zhuk.	*T. columnare* (Zhuk.) Morris & Sears	UM	UX^t
Aegilops geniculata Roth	*T. ovatum* (L.) Raspail	UM	UM^0
Aegilops kotschyi Boiss.	*T. kotschyi* (Boiss.) Bowden	US	US^1
Aegilops neglecta Req. *ex* Bertol. (4x)	*T. neglectum* (Req. *ex* Bertol) Greuter	UM	UX^t
Aegilops neglecta Req. *ex* Bertol.(6x)	*T. rectum* (Zhuk.) Bowden	UMN	UX^tN
Aegilops peregrina (Hack. *in* J. Fraser) Maire & Weiller	*T. peregrinum* Hackel *in* J. Fraser	US	US^1
var. *peregrina*			
var. *brachyatera* (Boiss.)Eig			
Aegilops triuncialis L.	*T. triunciale* (L.) Raspail	UC	UC
var. *triuncialis*			
var. *persica* (Boiss.) Eig			
Aegilops umbellulata Zhuk.	*T. umbellulatum* (Zhuk.) Bowden	U	U
Szekció: *Comopyrum* (Jaub. & Spach.) Zhuk.			
Aegilops comosa Sm. *in* Sibth. & Sm.	*T. comosum* (Sm. *in* Sibth. & Sm.)K. Richt.	M	M
var. *comosa*			
var. *subventricosa* Boiss.			
Aegilops uniaristata Vis.	*T. uniaristatum* (Vis.) K. Richt.	N	N
Szekció: *Cylindropyrum* (Jaub. & Spach.) Zhuk.			
Aegilops caudata L.	*T. dichasians* (Zhuk.) Bowden	C	C
Aegilops cylindrica Host	*T. cylindricum* (Host) Ces., Pass. & Gibelli	DC	DC
Szekció: *Sitopsis* (Jaub. & Spach.) Zhuk.			
Aegilops bicornis (Forssk.) Jaub. & Spach.	*T. bicorne* Forssk.	S^b	S^b
var. *bicornis*			
var. *anathera* Eig			
Aegilops longissima Schweinf. & Muschl.	*T. longissimum* (Schweinf. & Muschl.) Bowden	S^1	S^1
Aegilops searsii Feldman & Kislev *ex* Hammer	*T. searsii* (Feldman & Kislev) Feldman	S^s	S^s
Aegilops sharonensis Eig	*T. sharonense* (Eig) Feldman & Sears	S^1	S^1
Aegilops speltoides Tausch	*T. speltoides* (Tausch) Gren. *ex* K. Richt.	S	S
var. *speltoides*			
var. *ligustica* (Savig.) Fiori			
Szekció: *Vertebrata* Zhuk. emend. Kihara			
Aegilops crassa Boiss.(4x)	*T. crassum* (Boiss.) Aitch. & Hemsl.	DM	D^cX^c (X^c r. S^{sit})
Aegilops crassa Boiss.(6x)	*T. crassum* (Boiss.) Aitch. & Hemsl.	DDM	D^cX^cD
Aegilops juvenalis (Thell.) Eig	*T. juvenale* Thell.	DMU	D^cX^cU
Aegilops tauschii Coss.	*T. aegilops* P. Beauv. *ex* Roem. & Schult.	D	D
Aegilops vavilovii (Zhuk.) Chennav.	*T. syriacum* Bowden	DMS	$D^cX^cS^s$
Aegilops ventricosa Tausch	*T. ventricosum* (Tausch) Ces., Pass. & Gibelli	DN	DN
***Amblyopyrum* (Jaub. & Spach.) Eig**			
Amblyopyrum muticum (Boiss.) Eig	*T. tripsacoides* (Jaub. & Spach.) Bowden	T	T
var. *muticum*			
var. *loliaceum* (Jaub. & Spach.) Eig			

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm intézetünk igazgatójának, Dr. Bedő Zoltánnak, hogy lehetővé tette dolgozatom elkészítését az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézetében, Martonvásáron.

Köszönettel tartozom Dr. Sutka Józsefnek a Genetikai Osztály tudományos osztályvezetőjének, hogy hosszú éveken keresztül szakmailag és emberileg segítette munkámat.

Köszönöm Dr. Heszky László akadémikusnak, Ph.D. programvezetőmnek munkám elkészítéséhez nyújtott türelmes támogatását.

Külön köszönet illeti témavezetőmet Dr. Lángné, dr. Molnár Márta tud. főmunkatársat, aki munkámat mindvégig szakmailag egyengette.

Külön hálás köszönetemet fejezem ki a Genetikai Osztály minden munkatársának, de különösen Gubody Lászlónénak és Havasi Józsefnének akik a dolgozatban leírt kísérletek elvégzésében technikai segítségemre voltak.

Köszönöm családom megértését és türelmét.