MOLEKULÁRIS CITOGENETIKAI VIZSGÁLATOK A BÚZA ROKONSÁGI KÖRÉBEN

Doktori értekezés tézisei

Linc Gabriella

Gödöllő

2001

A doktori program

címe: Növénynemesítés és biotechnológia

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Dr. Heszky László
az MTA lev. tagja, egyetemi tanár, tanszékvezető
SZIE Genetika és NövénynemesítésTanszék,
Gödöllő

témavezető: Dr. Lángné Dr. Molnár Márta
az mg tudományok kandidátusa
tudományos főmunkatárs
MTA Mg. Kutatóintézete, Martonvásár

A programvezető jóváhagyása A témavezető jóváhagyása

1. Bevezetés

A búzatermesztés hazánk mezőgazdaságában meghatározó jelentőségű, a búza vetésterülete az elmúlt évek átlagában 1,2 millió ha volt. Az utóbbi évtizedekben a termesztett búza (*Triticum aestivum* L.) genetikai variabilitása jelentősen csökkent, a köztermesztésben lévő búza fajták nagy része hasonló genetikai forrásokra vezethető vissza. Ez genetikai szempontból fokozott veszélyeket jelent a kórokozókkal és egyéb stressztényezőkkel szemben, ezért szükségessé vált a búza génállományának bővítése.

A termesztett búza rokonsági köréhez tartozó fajok széles genetikai változatosságot képviselnek a legtöbb hasznos agronómiai tulajdonság tekintetében (betegség-ellenállóság, só-, hő- és szárazságtűrés, télállóság, minőség, stb.). A *Triticeae* törzsben végzett hagyományos faj- és nemzetségkeresztezések révén hasznos agronómiai tulajdonságok génjeit építhetjük át a rokon fajokból a termesztett búza genomjába. A különböző rendszertani besorolású növényfajok és fajták rokonsági viszonyainak, genomszerveződésének részletes feltárása feltétele az idegen fajokból származó gének hatékony és kontrollálható beépítésének a búza genomba. Az utóbbi évtizedekben számos eredmény született ezen a területen. Sikerült kedvezőbb agronómiai tulajdonságokkal rendelkező növénynemesítési alapanyagokat előállítani, amelyek *Aegilops, Secale, Agropyron, Triticum* nemzetségekből származó géneket, kromoszóma szegmentumokat tartalmaznak. A különböző módszerekkel létrehozott transzlokációk, addíciós és szubsztitúciós változatok kiinduló populációkat jelentenek a növénynemesítés számára.

A hagyományos keresztezésekkel és különböző géntechnológiai módszerekkel előállított genetikai alapanyagok egyaránt megkövetelik olyan módszerek alkalmazását, amelyek segítségével a génátvitel kontrollálható. Egyes molekuláris technikák alkalmazásával részletes információ szerezhető néhány bázispárnyi hosszúságú DNS fragmentumok fizikai elhelyezkedéséről a vizsgált genomban. Molekuláris citogenetikai technikák felhasználásával lehetőség nyílik arra, hogy a keresett DNS szakaszok közvetlenül a kromoszómákon tanulmányozhatók legyenek. A módszerek fokozatos fejlődésével és a különböző molekuláris citogenetikai technikák kombinációjával gének csoportjai vagy egyedi gének fizikai helyzete is megfigyelhető a vizsgált genom kromoszómáin.

2. Kutatási célok

- Az *Aegilops* nemzetséghez tartozó fajok számos kedvező agronómiai tulajdonságot hordoznak, amelyek hagyományos fajkeresztezésekkel a termesztett búza genomjába átépíthetők. A hatékony génátvitel alapvető feltétele a búzával rokon fajok genomikus felépítésének részletes tanulmányozása. Irodalmi adatok alapján ismert, hogy meghatározták a diploid *Aegilops* fajok kromoszóma kariotípusát, azonban a tetraploid fajok genomszerveződéséről napjainkig kevés információ áll rendelkezésre. **Célul tűztük ki az *Aegilops cylindrica* Host. tetraploid vadbúza faj genomfelépítésének tanulmányozását molekuláris citogenetikai módszerekkel. Vizsgálni kívántuk az *Ae. cylindrica* és a két donor diploid faj genomjai közötti különbségeket és hasonlóságokat kromoszóma szinten.**

- A búza és az árpa keresztezéséből őszi búza háttérben létrehozott addíciós vonalak a búza genom mellett egy árpa kromoszóma párt tartalmaznak. **Kísérletünkben célunk volt a Martonvásáron előállított búza-árpa diszómás addíciós vonalakban az árpa kromoszómák azonosítása molekuláris citogenetikai módszerek felhasználásával.**

- Megfelelő technikák alkalmazásával (virágok hormonkezelése, kontrollált környezeti feltételek, embriókultúra) a búza és az árpa genom nagyon kis gyakorisággal keresztezhető. A szövettenyészetben regenerált hibridek utódainál az osztódás során a kromoszómák törhetnek, ami a két genom közötti DNS szakaszok átrendeződéséhez, transzlokációk kialakulásához vezet. **Célunk volt a Martonvásáron korábban előállított búza-árpa transzlokációkban a búza és az árpa kromoszóma szakaszok azonosítása molekuláris citogenetikai módszerek alkalmazásával.**

- A hazánkban köztermesztésben lévő búzafajták nagy százaléka hordozza az 1BL/1RS búza-rozs transzlokációt. A búza genomba beépült rozs kar kedvező agronómiai tulajdonságokért felelős génkomplexumot hordoz, de ronthatja a lisztminőséget. A növénygenetikusok és nemesítők egyaránt érdeklődéssel fordulnak a lehetőség felé, hogy a hasznos génlokuszok megtartásával és a liszt minőségét negatívan befolyásoló tulajdonság kiiktatásával új

nemesítési alapanyagokat, illetve a későbbiek során új búzafajtákat állítsanak elő. **Eltérő sütőipari tulajdonságokkal rendelkező martonvásári búzafajtákat vizsgáltunk molekuláris citogenetikai módszerrel azzal a céllal, hogy tanulmányozzuk az 1BL/1RS transzlokáció méretét és szerepét a fajták lisztminőségének kialakításában. Feltételeztük, hogy a minőségi tulajdonságokat kedvezőtlenül befolyásoló kromoszóma szakasz a jobb sütőipari minőségi tulajdonságú fajtáknál kiesett, a transzlokációs kromoszóma kar rövidebb.**

3. Anyagok és módszerek

Növényi anyagok

Az *Aegilops cylindrica* Host. tetraploid vadbúza faj genomszerveződésének vizsgálatához a faj öt különböző származási helyű vonalát vizsgáltuk:

TA2201 Franciaország
TA2202 Románia
TA2203 Irán
TA2204 Örményország
TA2205 ismeretlen eredet

A búza-árpa diszómás addíciós vonalak:
1. A korábban Martonvásáron előállított Chinese Spring-Betzes búza-árpa hibrid szövettenyészetben elszaporított, egy japán őszi búza fajtával (Asakaze komugi) kétszer visszakeresztezett, majd több generáción keresztül öntermékenyített utódai közül kiválogatott diszómás addíciót tartalmazó növényekben azonosítottuk az árpa kromoszómákat.
2. A Martonvásáron korábban létrehozott Chinese Spring-Betzes búza-árpa hibrid szövettenyészetben elszaporított, az Mv9kr_1 búzatörzzsel kétszer visszakeresztezett, majd Seneca kukoricával megporzott, kolhicinnel kezelt és két generáción keresztül öntermékenyített utódai közül kiválogatott diszómás addíciót tartalmazó növényekben azonosítottuk az árpa kromoszómákat.

A korábban Martonvásáron előállított Chinese Spring-Betzes búza-árpa hibrid szövettenyészetben regenerált, majd az Mv9kr_1 őszi búza vonallal visszakeresztezett utódai közül kiválogatott búza-árpa transzlokációkat

hordozó növényeket elszaporítottuk. Ezek osztódó gyökércsúcsaiból készített mitotikus kromoszóma preparátumokon kíséreltük meg az egyes transzlokációk azonosítását.

Tizenöt eltérő sütőipari minőségi tulajdonságokkal rendelkező martonvásári búza genotípust vizsgáltunk, amelyek a következők voltak: Martonvásári (Mv)16, Mv17, Mv19, Mv21, Mv23, Mv25, Optima, Fatima, Magdaléna, Emma, Pálma, Irma, Vilma, Madrigál, Mv-1485.

DNS klónok

A **pTa71** DNS klón 9.05 kb hosszúságú, a búza riboszómális génjeinek egy-egy szakaszát hordozza (18S, 5.8S és 25S rDNS) a pUC19 vektorba klónozva (Gerlach és Bedbrook 1979).
A **pTa794** DNS klón 410 bp hosszúságú, a búza riboszómális gének egy szakaszát tartalmazza (5S rDNS), amelyet a pBR322 plazmidba építettek be (Gerlach és Dyer 1980).
A **pAs1** DNS klón *Ae. tauschii* Coss.-ból izolált és pUC8 plazmidba inzertált 1kb hosszúságú repetitív, nem kódoló DNS szekvenciát hordozó fragmentum (Rayburn és Gill 1986a).
A **pSc119** DNS próba 120 bp hosszúságú, rozsból izolált repetitív szekvenciákat hordozó DNS szakasz, amelyet a pBR322 plazmidba építettek be (Bedbrook és mtsai 1980).

Alkalmazott módszerek

Feulgen festés
Giemsa C-sávozás
Egymást követő Giemsa N-sávozás és genomikus *in situ* hibridizáció (GISH)
Genomikus *in situ* hibridizáció (GISH)
Fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH)

4. Eredmények

Aegilops cylindrica Host. genomszerveződésének molekuláris citogenetikai vizsgálata

Az *Aegilops cylindrica* Host. öt eltérő földrajzi eredetű vonalát vizsgáltuk genomikus *in situ* hibridizációval és különböző DNS próbák térképezésével az egyes kromoszómákon (FISH). Az egyes vonalaknál általában 10-12 sejt analízise után vontuk le következtetéseinket.
A GISH kísérletek alapján megállapítottuk, hogy három vonal intergenomikus (a C^C és D^C genomok közötti) transzlokációt hordozott, míg a TA2204 és TA2205 vonalak elemzése során nem mutattunk ki átrendeződést a két genom egyes kromoszómái között.
A TA2203 iráni eredetű *Ae. cylindrica* Host. vonalnál a C^C genom egyik hosszú akrocentrikus és a D^C genom egy szubmetacentrikus kromoszómája között homozigóta reciprok transzlokációt azonosítottunk A transzlokációs töréspontot a C^C genom kromoszómáján a hosszú kar 0.85 pontja körül találtuk (a kromoszóma kar 85%-a jelölődött genomikus *in situ* hibridizáció után), tehát a kar disztális vége (15%) D^C genom eredetű volt. Az intergenomikus kicserélődésben szereplő D^C genomból származó szubmetacentrikus kromoszómán a transzlokáció töréspontja a rövid kar 0.70 pontján volt látható (a kar 70%-a jelöletlen maradt), a kar disztális vége (30%) a C^C genomból származott.
A transzlokációs kromoszómák mérete és a kromoszóma karok aránya alapján nagy valószínűséggel megállapíthattuk, hogy a C^C genom B vagy D kromoszómája, illetve a D^C genom 3D vagy 5D kromoszómája között történt a genetikai anyag kicserélődése.
A TA 2202 Romániából származó *Ae. cylindrica* Host. vonal vizsgált növényei két eltérő típusú kromoszóma összetételt mutattak.
Három növény homozigóta transzlokációt hordozott, amely egy szatellites C^C genom kromoszóma hosszú karja és egy szubmetacentrikus D^C genom kromoszóma hosszú karja között jött létre. A transzlokációs töréspont a C^C és D^C genom kromoszómák hosszú karján a 0.85 pont körül volt található, így mindkét transzlokációban szereplő kromoszóma hosszú karjának mintegy 15%-a származott az ellentétes genomból. A transzlokációban szereplő C^C genom kromoszóma az A volt. Mérete és a kromoszóma karok aránya alapján nagy valószínűséggel állíthattuk, hogy a D^C genom átrendeződött kromoszómája 3D vagy 5D kromoszóma volt.

A TA2202 vonal öt további vizsgált növénye semmiféle intergenomikus átrendeződést nem mutatott a C^C és D^C genomok kromoszómái között genomikus *in situ* hibridizációt követően.
A TA2201 francia eredetű *Ae. cylindrica* Host. vonal 8 vizsgált növénye közül 6 kettős homozigóta reciprok transzlokációt tartalmazott. A genomikus átrendeződés a szatellites $1C^C$ (A) és a szintén másodlagos befűződést hordozó $5D^C$ kromoszómák esetében mindkét kart érintette.
Az $1C^C$ kromoszóma pár szatellitje és rövid karjának disztális vége jelöletlen maradt a GISH után, ami azt jelezte, hogy ezek a kromoszóma szakaszok a D^C genomból származtak. A rövid karon a kromoszóma teljes szatellitje D^C genom eredetű volt, a hosszú karon a transzlokációs töréspontot a 0.70 pontnál figyeltük meg. Az $5D^C$ kromoszóma pár karjainak disztális vége ezzel szemben határozott jelölődést mutatott genomikus *in situ* hibridizáció után, tehát ezek a kromoszóma szakaszok a C^C genomból származtak. A transzlokációs töréspont a rövid kar 0.85 pontja körül, illetve a hosszú kar 0.70 pontján helyezkedett el.
A búza riboszómális gének eltérő szakaszainak térképezését fluoreszcens *in situ* hibridizációval végeztük a pTa71 és pTa794 DNS próbák kombinációinak felhasználásával.
A pTa71 tetrametyl-rhodaminnal jelölt DNS próba összesen hat eltérő erősségű hibridizációs jelet (3 génlókusz) mutatott a TA2204 vonal kromoszómáin. A legkifejezettebb fluoreszcens jel az $1C^C$ kromoszóma pár rövid karjának NOR régiójában helyezkedett el (18S-5.8S-25S rDNS lókusz). Két-két kisebb, gyengébben festődött hibridizációs jelet figyeltünk meg az $5D^C$ kromoszóma pár rövid karjának terminális, illetve az $5C^C$ kromoszóma pár rövid karjának disztális részén .
A fluoreszcein-11-dUTP-vel jelölt pTa794 DNS próba hibridizálásával összesen nyolc 5S rDNS hibridizációs jelet (4 génlókusz) térképeztünk. Három lókusz elhelyezkedése terminális irányú volt az $1C^C$,$5D^C$ és $5C^C$ kromoszóma párok NOR régiójához viszonyítva. A negyedik lókuszt az $1D^C$ kromoszóma pár rövid karjának disztális végén figyeltük meg.
A pSc119 és a pAs1 repetitív DNS szekvenciákat tartalmazó próbákat használtuk sequential FISH módszert alkalmazva azért, hogy az egyes kromoszómákat azonosítsuk.
A pSc119 DNS próbát tertametyl-rhodaminnal jelöltük. A fluoreszcein-11-dUTP-vel jelölt pAs1 repetitív, *Ae. tauschii* Coss. DNS szekvenciát hordozó klónnal történt FISH után a D^C genom kromoszómái specifikus jelölődést mutattak, amely alapján az egyes kromoszómák azonosíthatók voltak.

A TA2201, TA2202 és TA2203 számú *Ae. cylindrica* Host. vonalak FISH vizsgálatai során a TA2204 vonalnál már részletesen meghatározott, hasonló erősségű és elhelyezkedésű hibridizációs jeleket figyeltünk meg.

Új búza-árpa diszómás addíciós vonalak kimutatása és azonosítása őszi búza genomban

Kísérletünkben két új őszi búza háttérben létrehozott búza-árpa diszómás addíciós vonalat azonosítottunk Giemsa C-sávozással. Az addíciós vonalak kromoszóma számát Feulgen festéssel ellenőriztük meiozis I. metafázisában és mitózisban. Az árpa kromoszómák határozottan elkülöníthetőek voltak a búza kromoszómáktól genomikus *in situ* hibrirdizációt követően.
Az egyes árpa és búza kromoszómák mintázatának összehasonlító vizsgálatához árpa C-sávos kariotípust készítettünk. Az általunk készített Betzes árpa fajta kariotípuson az egyes kromoszómák sávozása hasonló a már ismert, korábban készített árpa C-sávozás utáni kariotípusokhoz.
A Betzes árpa fajta hét kromoszóma párja specifikus mintázatuk alapján jól megkülönböztethető a búza kromoszómáktól C-sávozást követően. Az egyes kromoszómák centromérás, centromérához közeli és számos intersticiális sávot hordoznak. A vizsgált két új búza-árpa diszómás addíciós vonal egyes kromoszómáit a Gill és mtsai (1991) búza, illetve a Kakeda és mtsai (1991) árpa, valamint a saját árpa kariotípusok alapján azonosítottuk.
A (*Triticum aestivum* cv. Chinese Spring × *Hordeum vulgare* cv. Betzes)*T. aestivum* cv. Asakaze komugi^{2})×^{5} kombinációból származó diszómás addíciós vonal egy árpa kromoszóma párját 2H-ként határoztuk meg Giemsa C-sávozást követően. A 2H árpa kromoszóma nem tartalmaz centromérás sávokat, mindkét karján egy-egy centromérához közeli, illetve egy-egy intersticiális sávot figyeltünk meg. A hosszú karon disztális helyzetű sávot, illetve a rövid karon halvány terminális sávot határoztunk meg.
A (*T. aestivum* cv. CS × *H. vulgare* cv. Betzes)*T. aestivum* cv. Mv9kr$_1$^{2})Seneca)×^{2} kombinációból előállított diszómás addíciós vonalnál C-sávozással megállapítottuk, hogy a növények a 42 búza kromoszóma mellett a 6H árpa kromoszóma párt hordozták. A 6H árpa kromoszómán határozott centromérás és a NOR régióban elhelyezkedő sávokat figyeltünk meg C-sávozást követően. Halványabban festődő sávokat mindkét kar centromérához közeli régiójában proximális helyzetben

meghatároztunk. A 6H árpa kromoszóma rövid és hosszú karján is terminális sávot azonosítottunk.

Búza-árpa transzlokációk kimutatása és azonosítása egymást követő N-sávozással és GISH-el

A korábban Martonvásáron előállított búza×árpa hibrid búzával visszakeresztezett utódai között kimutatott öt különböző transzlokáció azonosítását kíséreltük meg egymást követő N-sávozással és GISH-el.
Az egyik genomikus átrendeződés (I.típus) egy metacentrikus búza kromoszómát érintett: a kromoszóma rövid karjának kb. a fele (FL 0.50) élénk festődést mutatott az *in situ* hibridizációt követően, tehát az árpa genomból származott. A másik transzlokáció az egyik szatellites árpa kromoszóma (5H vagy 6H) hosszú karján helyezkedett el (II. típus). A transzlokációs töréspontot az árpa kromoszóma hosszú karján figyeltük meg, a kar disztális végének 20%-a búza genom eredetű volt (FL 0.20). A szatellites árpa kromoszómát érintő transzlokációt hordozó növények elpusztultak.
Két növény utódai között centrikus fúziót mutattunk ki, amelyben a kromoszóma rövid karja az árpa, míg hosszú karja a búza genomból származott (CF). A Robertsoni-transzlokációt hordozó növények életképesek és fertilisek voltak.
A III. típusú transzlokáció egy szatellites árpa kromoszómából származott. A transzlokációs töréspont a hosszú karon helyezkedett el: a kar mintegy 50%-a származott az árpa genomból. A rövid kar búza genom eredetű volt, a kar nagy része azonban letört. A három növény közül kettő bizonyult fertilisnek.
A IV. típusú átrendeződés egy metacentrikus búza kromoszómát érintett, a transzlokációs töréspontot a kromoszóma rövid karján figyeltük meg (FL 0.80). A kar disztális végének mintegy 20%-a származott az árpa genomból, a kromoszóma szakasz a hibridizációt követően élénk festődést mutatott.
Az öt eltérő típusú transzlokációt hordozó növények mindegyikénél a vizsgált sejtek további telocentrikus, illetve teljes árpa kromoszómákat is tartalmaztak.
Az egyes transzlokációkat hordozó növények kromoszómáit egymást követő N-sávozással, majd genomikus *in situ* hibridizációval vizsgáltuk és elemeztük. Az I, II, III és IV. típusú transzlokációk tanulmányozásánál a két genom átrendeződött kromoszómáit- jellegzetes N- sávok

hiányában- nem sikerült azonosítani. A Robertsoni- transzlokációt hordozó növények N- sávozása során kromoszóma- és fajspecifikus mintázatot figyeltünk meg a transzlokációt hordozó kromoszómán. A kromoszóma rövid karja a centroméránál erős heterokromatikus festődést mutatott. A hosszú karon a centroméránál és intersticiális helyzetben azonosítottunk sávokat a festést követően. Az egyes sávok mintázata és specifikus elhelyezkedésük alapján meghatároztuk, hogy a transzlokációt hordozó kromoszóma kialakításában a 2B búza kromoszóma hosszú és a 4H árpa kromoszóma rövid karja vett részt. Eredményeinket a későbbiek során Giemsa C-sávozással is igazoltuk.

1BL/1RS búza-rozs transzlokációt tartalmazó martonvásári búzafajták vizsgálata GISH-el

Tizenöt eltérő sütőipari minőségi adatokkal rendelkező martonvásári nemesítésű búza fajtát vizsgáltunk genomikus *in situ* hibridizációval (GISH) azzal a céllal, hogy megállapítsuk van-e különbség az egyes fajták esetében az 1BL/1RS búza-rozs transzlokáció méretében. Az általunk tesztelt tizenöt martonvásári búza genotípus mindegyikének 3-5 növényében, egyenként 6-12 sejtjében vizsgáltuk az 1BL/1RS transzlokáció jelenlétét, illetve a kromoszóma karok hosszát és egymáshoz viszonyított arányát.
Portokokból készített preparátumokon, ötven pollen anyasejtben (PMCs) tanulmányoztuk az 1BL/1RS búza-rozs transzlokációt hordozó kromoszóma és a búza kromoszómák közötti párosodást.
A búza kromoszómák hagyományos körülmények között 21 gyűrű bivalens konfigurációs formát alkotva párosodnak egymással meiozis I. metafázisában. Néha megfigyelhető nyílt bivalens kromoszómák kialakulása is.
Az általunk vizsgált sejtek 78%-ában az 1RS rozs kromoszóma kar zárt gyűrűt alkotott a búza kromoszómával, míg 22%-ban azonosítottunk nyílt bivalens kromoszómákat, amelyek a rozs kart tartalmazták. Az ötven sejt közül 1-nél trivalens kromoszóma konfigurációt figyeltünk meg, amely az 1RS rozs kart is hordozta.
Az osztódó gyökércsúcsokból készített preparátumokon végzett genomikus *in situ* hibridizáció (GISH) után megállapítottuk, hogy az 1BL/1RS búza-rozs transzlokáció hasonló méretű volt az általunk vizsgált fajták mindegyikénél. A NOR régió és így a szatellit is jól megfigyelhető és elkülöníthető volt az 1RS rozs kromoszóma karon. A transzlokációs

töréspontot minden esetben a centoméránál figyeltük meg. A transzlokációban szereplő 1RS rozs karon belül történhetett genetikai átrendeződés, amely GISH-el nem mutatható ki. Eredményeink az irodalmi adatokkal összhangban állnak, számos szerző különböző búza vonalak *in situ* hibridizációs (ISH) vizsgálata alapján hasonló megfigyelést tett.

5. Új tudományos eredmények

1. A búza rokonsági körébe tartozó fajok közül molekuláris citogenetikai módszerekkel elemeztük az *Aegilops cylindrica* Host. tetraploid vadbúza faj genomszerveződését. Az eltérő származási helyű *Ae. cylindrica* Host. genotípusok vizsgálata során három eltérő típusú intergenomikus transzlokációt azonosítottunk.

2. Az *Ae. cylindrica* Host. faj kromoszómáin térképeztük a pSc119, pAs1, pTa71 és pTa794 DNS klónokat.

3. A Martonvásáron az őszi búza genomjában előállított búza-árpa diszómás addíciós vonalakban C-sávozással azonosítottuk a 2H, valamint a 6H árpa kromoszómákat.

4. A búza-árpa hibridekből Martonvásáron előállított öt különböző búza-árpa transzlokáció közül a centrikus fúzióban (CF) azonosítottuk a búza és az árpa kromoszóma karokat egymást követő N-sávozással és genomikus *in situ* hibridizációval. Megállapítottuk, hogy a CF a 2B búza kromoszóma hosszú karja és a 4H árpa kromoszóma rövid karja között jött létre.

5. Meghatároztuk tizenöt Martonvásáron nemesített búzafajta által hordozott 1BL/1RS búza-rozs transzlokáció méretét genomikus *in situ* hibridizációval. Megállapítottuk, hogy a transzlokáció stabil és a teljes 1RS rozs kar megtalálható az általunk vizsgált fajták genomjában.

6. Következtetések és javaslatok

Öt eltérő származási helyű *Aegilops cylindrica* Host. vonal genomikus *in situ* hibridizációval végzett vizsgálata során három vonalnál intergenomikus transzlokációt azonosítottunk. A három transzlokáció különböző kromoszómákat érintett az egyes vonalak genomjában. Kialakulásuk valószínűleg az eltérő földrajzi körülményeknek, valamint a különböző mikroklímatikus viszonyoknak köszönhető. A tetraploid és a hexaploid *Aegilops* fajok genomszerveződésének további részletes molekuláris citogenetikai vizsgálata feltétlenül indokolt, mivel a vadbúza fajok a búzanemesítés számára jelentős géntartalékot képeznek. Felhasználásuk csak az egyes genomok pontos ismeretében lehet igazán hatékony és pontosan nyomonkövethető.

A búza és az árpa genomok sikeres keresztezésével lehetőség nyílik az árpa egyes kedvező tulajdonságainak átépítésére a búza genomba. Addíciós vonalak előállításával közvetlenül vihetők át agronómiailag hasznos tulajdonságokat ellenőrző gének a termesztett búza genomjába. Az addíciós vonalak a későbbiek során alkalmasak lehetnek célzott transzlokációk előállítására. Az általunk azonosított új diszómás addíciós vonalak őszi búza háttérben tartalmazzák az árpa kromoszómákat. Tervezzük további árpa kromoszóma párokat hordozó addíciós vonalak kiválogatását, amelyhez molekuláris citogenetikai módszereket használunk fel. Vizsgálni kívánjuk a közeljövőben az addícionált árpa kromoszómákon lokalizált gének expresszióját a búza genomjában, valamint hatásukat a búza egyes morfológiai és agronómiai tulajdonságaira.

A Martonvásáron előállított búza-árpa hibridek szövettenyészetben regenerált utódainál transzlokációk kialakulását figyeltük meg. A kompenzáló transzlokációk lehetővé teszik a búza és az árpa kromoszómák közti homeológia tanulmányozását. A későbbiekben a még általunk nem azonosított transzlokációk részletes vizsgálatát specifikus DNS markerek felhasználásával végezzük. Csoportunkban megkezdtük mikroszatellit markerek alkalmazását, illetve különböző, az árpa genomból származó specifikus DNS próbák térképezését a transzlokációt hordozó kromoszómákon. Vizsgálni kívánjuk a transzlokálódott árpa kromoszóma szegmentumok hatását a búza agronómiai tulajdonságaira. A transzlokációk az árpa fizikai térképezésében is felhasználhatók.

Tervezzük további új transzlokációk előállítását azzal a céllal, hogy az árpa genomból hasznos tulajdonságokat (pl. koraiság) építsünk be a búza genomjába.

Az 1BL/1RS búza-rozs transzlokációt tartalmazó martonvásári búza fajták genomikus *in situ* hibridizációval történt vizsgálata során megállapítottuk, hogy a fajták mindegyike a teljes 1RS rozs kart hordozta. A liszt sütőipari minőségi tulajdonságait kedvezőtlenül befolyásoló ω-secalin allél valószínűleg továbbra is jelen van az általunk vizsgált genotípusok kromoszóma készletében. Az egyes fajták eltérő sütőipari minősége a genetikai háttér variabilitása következtében alakult ki, illetve lehetséges, hogy az 1RS rozs kromoszóma karon intragenomikus átrendeződés következett be. Molekuláris citogenetikai módszerekkel (FISH) faj- és kromoszóma specifikus DNS klónok térképezhetők a transzlokációs kromoszómán. Az egyes DNS próbák specifikus elhelyezkedése alapján az esetleges kromoszómán belül történt átrendeződések is kimutathatók és pontosan nyomonkövethetők.

Irodalmi hivatkozások

Bedbrook, J.R., Jones, J., O'Dell, M., Thompson, R.J., Flavell, R.B. 1980. A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species. Cell 19:545-560.

Gerlach, W.L., Bedbrook, J.R. 1979. Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. Nucleic. Acids. Res. 7:1869-1885.

Gerlach, W.L., Dyer, T.A. 1980. Sequence organization of the repeat units in the nucleus of wheat which contains 5S rRNA genes. Nucleic. Acids. Res. 8:4851-4865.

Gill, B.S., Friebe, B., Endo, T.R. 1991. Standard karyotype and nomencalture system for description of chromosome bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum* L.). Genome 34:830-839.

Kakeda, K., Fukui, K., Yamagata, H. 1991. Heterocromatic differentiation in barley chromosomes revealed by C- and N-banding techniques. Theor. Appl. Genet. 81:144-150.

Rayburn, A.L., Gill, B.S. 1986a. Isolation of a D genome specific repeated DNA sequence from *Aegilops squarrosa.* Plant.Mol.Biol. Rep. 4:102-109.

Linc Gabriella a témakörben megjelent publikációi

Referált folyóiratok

Molnár-Láng, M., **Linc, G.,** Sutka, J. 1996. Transfer of the recessive crossability allele *kr1* from Chinese Spring into the winter wheat variety Martonvásári 9. Euphytica 90: 301-305.

Linc, G., Karsai, I.,Molnár-Láng, M., Bedő, Z. 1996. Comparision of RFLP probes and RAPD primers for studying genetic diversity in barley. Cereal Research Communications 24: 283-290.

Molnár-Láng, M., Kőszegi, B., **Linc, G.,** Galiba, G., Sutka, J. 1996. Chromosome instability of wheat/barley ditelosomic addition lines in tissue culture. Cereal Research Communications 24: 275-281.

Molnár-Láng, 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.

Molnár-Láng, M., **Linc, G.,** Sutka, J. 1999: Production and molecular cytogenetic identification of wheat-barley hybrids and translocations. Journal of Plant Biotechnology 1: 8-12.

Linc, G., Friebe, B.,. Kynast, R., Molnár-Láng, M., Kőszegi, B., Sutka, J., Gill, B.S. 1999. Molecular cytogenetic analysis of *Aegilops cylindrica* Host. Genome 42: 497-503.

Molnár-Láng, M., **Linc, G.,** Friebe, B., Sutka, J. 2000. Detection of wheat-barley translocations by genomic *in situ* hybridization in derivatives of hybrids multiplied *in vitro*. Euphytica 112: 117-123.

Molnár-Láng, M., **Linc, G.,** Logojan, A., Sutka, J. 2000. Production and meiotic pairing behaviour of new hybrids of winter wheat (*Triticum aestivum*)×winter barley (*Hordeum vulgare*). Genome 43: 1045-1054

Kőszegi, B., **Linc, G.,** .Juhász, A., Láng, L., Molnár-Láng, M. 2000. Occurence of the 1RS/1BL wheat-rye translocation in Hungarian wheat varieties. Acta Agr. Hung. 48: 227-236.

Előadások, poszterek, egyéb folyóiratok

Molnár-Láng, M., **Linc,G.,** Sutka, J. 1994. A *kr1* keresztezhetőségi gén átvitele a Chinese Spring búzafajtából a Martonvásári 9 búzafajtába. I. Magyar Növénynemesítési Tudományos Napok. Budapest, 1994. január 11-12. pp 61.

Linc, G., Karsai, I., Molnár-Láng, M. 1995. RFLP módszer alkalmazása búza-árpa hibridek elemzésére. II Magyar Növénynemesítési Tudományos Napok. Budapest, 1995. január 16-17. pp 52.

Molnár-Láng, M., **Linc, G.** 1996. Fajidegen kromoszómák, kromoszóma szegmentumok kimutatása a búzában *in situ* hibridizációval. Martonvásár 2: 14.

Molnár-Láng, M., Kőszegi, B., **Linc, G.,** Sutka, J. 1996. Kromoszóma azonosítási módszerek alkalmazása fajhibridek és származékaik jellemzésére. III. Növénynemesítési Tudományos Napok. Budapest, 1996. pp 67.

Molnár-Láng, M., **Linc, G.,** Sutka, J. 1997. GISH analysis of the derivatives of wheat×barley hybrids. In Proc. Int. Symp. "Current Topics in Plant Cytogenetics Related to Plant Improvement" February 21-22, 1997. Tulln, Austria

Linc, G., Molnár-Láng, M. 1997. Vadbúza fajok molekuláris citogenetikai elemzése. Martonvásár 2:16.

Molnár-Láng, M., **Linc, G.** 1997. Identification of the chromosomes of different cereal genomes by genomic *in situ* hybridization. European Wheat Aneuploid Co-operative Meeting, June 16-19, 1997. Viterbo, Italy, EWAC Newsletter

Linc, G., Friebe, B., Kynast, R., Molnár-Láng, M., Kőszegi, B., Sutka, J., Gill, B.S. 1998. Genome differentiation in *Aegilops cylindrica* Host. In Proc. Plant and Animal Genome VI. January 18-22, 1998. San Diego, CA, USA.

Molnár-Láng, M., **Linc, G.** 1998. Árpa kromoszómák kimutatása búza×árpa hibridekben és származékaiban *in situ* hibridizációval. IV. Növénynemesítési Tudományos Napok. Budapest, 1998. január 28-29. pp 23.

Molnár-Láng, M, **Linc, G.** 1998. Production and molecular cytogenetic identification of wheat-barley hybrids and translocations. II International Symposium of Plant Biotechnology Kiev, Ukraine, 4-8 October, 1998. International Institute of Cell Biology, pp 89.

Molnár-Láng, M., **Linc, G.,** Sutka, J. 1998. Detection of barley chromosomes in wheat-barley hybrids and their derivatives by genomic *in situ* hybridization. In Proc. 9th International Wheat Genetics Symposium, Vol. 3. 28-31, Saskatoon, Kanada

Molnár-Láng, M., **Linc, G.,**. Sutka, J. 1998. GISH analysis of the derivatives of wheat×barley hybrids. In Lelley T (ed) Proc. Int. Symp. "Current Topics in Plant Cytogenetics Related to Plant Improvement" WUV Universitatsverlag, Wien, Austria, pp 191-197.

Molnár-Láng, M., **Linc, G.,** Sutka, J. 1999. Búza-árpa transzlokációk előállítása és kimutatása genomikus *in situ* hibridizációval. IV. Magyar Genetikai Kongresszus, 1999. április 11-14, Siófok, pp 30-31.

Molnár-Láng, M., **Linc, G.,** Kőszegi, B., D. Nagy, E., Sutka, J. 1999. Idegen kromoszómák és kromoszóma szegmentumok beépítése a búzába és kimutatásuk molekuláris citogenetikai módszerekkel. 50 éves az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete. Tudományos Tanácskozás, Martonvásár, 1999. június 2-3. pp 102-108.

Molnár-Láng, M, **Linc, G.,** Sutka, J. 1999. Production and molecular cytogenetic identification of wheat-barley hybrids and translocations. In: Wedzony, M., Skrudlik, G. (eds) Proc. COST-824 Gametic embryogenesis "Wide crosses in cereals – problems and application" Krakow, Poland, 18-20 February, 1999. Department of Plant Physiology, Polish Academy of Sciences, pp 23-25.

Molnár-Láng, M., **Linc, G.** 2000. Production and molecular cytogenetic analysis of wheat-barley hybrids. 6th International Wheat Conference, 5-9 June 2000, Budapest, Hungary, Abstracts. pp 111.

Linc, G., Friebe, B., Molnár-Láng, M. 2001. *Aegilops cylindrica* Host. molekuláris citogenetikai analízise. VII. Növénynemesítési Tudományos Napok. Budapest, 2001. január 23-24. pp 30.