

Szent István Egyetem

**Búza–*Aegilops* introgressziós vonalak előállítás, geno- és
fenotípusos jellemzésük**

Farkas András

Gödöllő

2018

A doktori iskola

megnevezése: Növénytudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

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

Témavezető: Dr. Molnár István
tudományos főmunkatárs
MTA Agrártudományi Kutatóközpont
Mezőgazdasági Intézet

.....
Dr. Helyes Lajos
iskolavezető

.....
Dr. Molnár István
témavezető

TARTALOMJEGYZÉK

| | |
|--|-----------|
| JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE | 6 |
| 1. BEVEZETÉS..... | 7 |
| 1.1. Célkitűzések..... | 8 |
| 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS | 10 |
| 2.1. A termesztett búza származása és génforrásai..... | 10 |
| 2.2. Az <i>Aegilops</i> nemzetség általános ismertetése..... | 11 |
| 2.2.1. Az <i>Aegilops biuncialis</i> botanikai jellemzése és hasznos agronómiai tulajdonságai | 13 |
| 2.2.2. Spontán hibridizációk a búza és vad rokonai között..... | 14 |
| 2.3. Génátvitel idegenfajú keresztezésekkel | 15 |
| 2.4. A transzlokációs vonalak jelentősége és előállításának lehetőségei..... | 20 |
| 2.4.1. Homeológ párosodás indukciója | 21 |
| 2.4.2. <i>Ph</i> szupresszálo hatású gének a búza rokon vad fajaiban | 24 |
| 2.4.3. Transzlokációk létrehozása kromoszómatorések indukálásával | 24 |
| 2.5. Az idegen kromoszómák kimutatása és azonosítása a hibridekben és származékaikban..... | 26 |
| 2.5.1. Hagyományos citológiai módszerek | 26 |
| 2.5.2. Molekuláris citogenetikai módszerek..... | 27 |
| 2.5.3. Molekuláris markerek..... | 33 |
| 2.6. A búza mikroelem-tartalmának növelése | 35 |
| 3. ANYAG ÉS MÓDSZER..... | 38 |
| 3.1. Növényi anyag..... | 38 |
| 3.2. Növénynevelés szántóföldön és fitotroni növénynevelő kamrákban, keresztezések | 39 |
| 3.3. Molekuláris citogenetikai vizsgálatok | 40 |
| 3.3.1. Kromoszómapreparátumok készítése..... | 40 |
| 3.3.2. Fluoreszcens <i>in situ</i> hibridizáció (FISH)..... | 41 |
| 3.3.3. Genomi <i>in situ</i> hibridizáció (GISH) | 43 |
| 3.4. SSR markeranalízis..... | 44 |
| 3.4.1. Búza– <i>Aegilops. biuncialis</i> 3M ^b szubsztitúció és centrikus fúzió jellemzése molekuláris markerekkel | 44 |
| 3.5. Üvegházi levélrozsda-fertőzés..... | 45 |
| 3.6. Agronómiai tulajdonságok meghatározása..... | 46 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 3.7. | Mikroelem-tartalom meghatározása | 46 |
| 3.8. | Statisztikai elemzés | 47 |
| 4. | EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK | 48 |
| 4.1. | Mikroszatellit szekvenciák FISH próbaként való alkalmazása | 48 |
| 4.1.1. | A mikroszatellit szekvenciák FISH próbaként való alkalmazása során elért eredmények megvitatása..... | 58 |
| 4.2. | ‘Mv9kr1’– <i>Aegilops biuncialis</i> introgressziós vonalak előállítása | 61 |
| 4.2.1. | Az ‘Mv9kr1’– <i>Aegilops biuncialis</i> introgressziós vonalak előállításával elért eredmények megvitatása..... | 72 |
| 4.3. | A búza– <i>Aegilops biuncialis</i> 3M ^b szubsztitúciós vonal és a búza– <i>Ae. biuncialis</i> 3M ^b centrikus fúziós vonal genetikai azonosítása, agronómiai tulajdonságai és mikroelem-tartalma..... | 74 |
| 4.3.1. | A búza– <i>Aegilops biuncialis</i> 3M ^b szubsztitúciós vonal és a búza– <i>Ae. biuncialis</i> 3M ^b centrikus fúziós vonal jellemzése fluoreszcens <i>in situ</i> hibridizációval és molekuláris markerekkel | 75 |
| 4.3.2. | 3M ^b (4B) szubsztitúciós vonal és a 3M ^b .4BS centrikus fúziót tartalmazó vonal agronómiai tulajdonságai | 77 |
| 4.3.3. | A 3M ^b (4B) szubsztitúciós vonal és a 3M ^b .4BS centrikus fúziót tartalmazó vonal mikroelem-tartalma..... | 79 |
| 4.3.4. | A 3M ^b .4BS centrikus fúzió agronómiai tulajdonságaival és mikroelem-tartalmával kapcsolatos eredmények megvitatása | 80 |
| 4.4. | Szintetikus amfiploidok előállítása | 83 |
| 4.4.1. | Durumbúza × <i>Aegilops sp.</i> amfiploidok előállítása és jellemzése <i>in situ</i> hibridizációval | 83 |
| 4.4.2. | Durumbúza × <i>Aegilops sp.</i> amfiploidok mesterséges levélrozsda-fertőzés utáni fenotípusos vizsgálata | 88 |
| 4.4.3. | A Durumbúza × <i>Aegilops sp.</i> amfiploidok előállítása és jellemzése <i>in situ</i> hibridizációval című fejezet eredményeinek megvitatása | 89 |
| 4.5. | Új tudományos eredmények | 91 |
| 5. | KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK | 93 |
| 5.1. | Mikroszatellit szekvenciák FISH próbaként való alkalmazása | 93 |
| 5.2. | ‘Mv9kr1’– <i>Aegilops biuncialis</i> introgressziós vonalak előállítása | 93 |
| 5.3. | 3M ^b (4B) szubsztitúció és a 3M ^b .4BS centrikus fúzió azonosítása, agronómiai tulajdonságai és mikroelem-tartalma | 95 |
| 5.4. | Szintetikus amfiploidok előállítása | 95 |
| 6. | ÖSSZEFOGLALÁS | 97 |
| 6.1. | Summary | 99 |
| 7. | MELLÉKLETEK..... | 101 |

| | |
|--|------------|
| M1. Irodalomjegyzék..... | 101 |
| M2. A munka során felhasznált primerek neve, szekvenciái, olvadáspontjuk és a felszaporított termékek mérete | 135 |
| M3. Az <i>Aegilops</i> fajok kromoszómáinak azonosításához felhasznált FISH kariogramok | 137 |
| KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS..... | 142 |

JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

bp: bázispár

COS: konzervált ortológ gének gyűjteménye (Conserved Ortholog Set)

CS*ph1b*: a 'Chinese Spring' hexaploid búza *ph1b* mutáns genotípusa

DAPI: 4',6'-diamidino-2-fenilindol

FISH: fluoreszcens *in situ* hibridizáció

GISH: genomi *in situ* hibridizáció

ISH: *in situ* hibridizáció

mcGISH: többszínű genomi *in situ* hibridizáció (multi colour)

MvGB: Martonvásári Génbank

PCR: polimeráz-lánreakció (Polymerase Chain Reaction)

SNP: single nucleotide polymorphism

SSR: egyszerű szekvenciaismétlődés (Simple Sequence Repeats)

⊗: öntermékenyítés

1. BEVEZETÉS

A perjefélék (*Poaceae*) vagy pászitfűfélék (*Gramineae*) családján belül a *Triticeae* nemzetségcsoportba olyan gazdaságilag hasznos termesztett növényeink tartoznak, mint a kenyérbúza (*T. aestivum* L.), a durumbúza (*T. turgidum* L. subsp. *durum* [Desf.] Husn.), az árpa (*Hordeum vulgare* L.) és a rozs (*Secale cereale* L.). Ezenkívül több mint ötszáz vad és termesztett fajt foglal magába, melyek az *Aegilops*, *Agropyron*, *Ambylopyrum*, *Anthosachne*, *Campeiostachys*, *Dasypyrum*, *Elymus*, *Hordeum*, *Leymus*, *Lophopyrum*, *Psathyrostachys*, *Pseudoroegneria*, *Secale*, *Thinopyrum* és *Triticum* nemzetségekbe tartoznak.

A búza az emberiség egyik legfontosabb tápanyagforrása, a Föld teljes népessége által elfogyasztott kalória 20%-át biztosítja (Braun és mtsai. 2010). A táplálkozással kapcsolatos kedvező tulajdonságai, széles körű termesztetősége, a termés jó tárolhatósága és szállíthatósága miatt az élelmiszer-tartalékok és az élelmiszer-kereskedelem is jelentős mértékben a búzán alapul.

A kenyérbúza genetikai változatossága már a faj létrejöttekor a két szülő populációinak genetikai diverzitására korlátozódott. Ez a diverzitás a domesztikáció és a több ezer éves termesztés és nemesítés során fokozatosan csökkent. A genetikai diverzitás csökkenése a búzát is sebezhetővé teszi a kártevőkkel, betegségekkel és a kedvezőtlen irányú klímaváltozással szemben. A népesség fokozatos növekedése során felmerülő élelmiszertöbblet-igény pedig további hajtóereje a mezőgazdaság hatékonyabbá tételének.

Az egyik lehetséges megoldás a hasznos és új gének bevezetésére a vad fajok genetikai diverzitásának kiaknázása a búzanemesítés során. A vad fajok nem voltak kitéve az ember által végzett szelekciónak, ezért rendkívül széles a genetikai variabilitásuk. A búza és a rokonsági körébe tartozó vad fajok nagy része egymással ivarosan keresztezhető. Ez megkönnyíti az interspecifikus hibridek előállítását. További visszakeresztezésekkel a vad fajokban található hasznos gének, allélek átvihetők a búzába.

A *Triticeae* nemzetségcsoporton belül a kecskebúza (*Aegilops*) nemzetség áll legközelebbi rokonságban a *Triticum* nemzetséggel. Génforrásként egyre fontosabb a szerepe, mivel genotípusai a hasznos agronómiai tulajdonságok széles körű változatosságát hordozzák. Már eddig is számos biotikus és abiotikus stresszrezisztenciáért felelős gént vittek át idegenfajú keresztezéssel az *Aegilops*

fajokból a termesztett búzába, de napjainkban egyre nagyobb figyelmet kapnak a szemtermés nagy mikroelem- és étkezésirost-tartalmának köszönhetően is.

Annak ellenére, hogy az ezekben a vad fajokban rejlő lehetőségeket már régóta felismerték, az általuk hordozott genetikai diverzitás máig nagyrészt kiaknázatlan. Ahhoz, hogy ezt a potenciált kihasználjuk, fontos, hogy megismerjük e fajok genomszerkezetét, növeljük a genomspecifikus molekuláris eszközeinket, és azonosítsuk a hasznos tulajdonságokért felelős lokuszokat.

Az idegenfajú génátvitel során F_1 hibrideket, amfiploidokat, majd ezekből sorozatos visszakeresztezéssel addíciós, szubsztitúciós és transzlokációs vonalakat hozunk létre. A folyamat során szükség van az idegen kromoszómák, kromoszóma-szegmentumok nyomon követésére és az utódokban való azonosítására. Erre alkalmas módszer a fluoreszcens *in situ* hibridizáció, melynek során repetitív DNS-szekvenciákat hibridizálunk a kromoszómapreparátumokra. A hibridizáció eredményeként a kromoszómákon specifikus mintázatot kapunk, amely alapján azonosíthatók a kromoszómák. A mikroszatellit szekvenciák általánosan előfordulnak a *Triticeae* és *Aegilops* fajok genomjaiban, néhányukat pedig *in situ* hibridizációs próbaként alkalmazzák a búza és árpa citogenetikai vizsgálatára. A vad fajok mikroszatellit szekvenciákkal elkészített, jól definiált kariotípusa megkönnyítené az idegen kromoszómák és kromoszómaátrendeződések azonosítását búza genetikai háttérben.

1.1. Célkitűzések

Kutatásaink távlati célja az *Aegilops* fajok, elsősorban az *Aegilops biuncialis* hasznos tulajdonságainak kiaknázása a búzanemesítés számára, búza–*Aegilops* introgressziós vonalak létrehozásával. Szintén általános cél a génátviteli munkát segítő molekuláris citogenetikai módszerek fejlesztése, az *Aegilops*-kromoszómák búza háttérben történő minél hatékonyabb azonosítására. A fenti célok megvalósítása végett a következő feladatok elvégzését terveztük a PhD-értekezés alapját képező kutatások keretében:

- mikroszatellit DNS alapú *in situ* hibridizációs próbák előállítása különböző *Aegilops*-kromoszómák azonosításához. A $(GAA)_n$, $(ACG)_n$, $(CAG)_n$, $(AAC)_n$, $(CAC)_n$ és $(ACT)_n$ ismétlődések alkalmazhatóságának vizsgálata a diploid *Aegilops* fajok (*Ae. umbellulata*, UU; *Ae. comosa*, MM; *Ae.*

uniaristata, UU; *Ae. tauschii*, DD; *Ae. speltoides*, SS; *Ae. markgrafii*, CC)
kromoszómáinak jellemzésére, kariotípusaik elkészítésére

- az eddigiektől eltérő *Ae. biuncialis* kromoszómákat tartalmazó búza (*T. aestivum*)–*Ae. biuncialis* előnemesítési vonalak kiválogatása
- búza (*T. aestivum*)–*Ae. biuncialis* transzlokációs vonalak előállítás
- búza–*Ae. biuncialis* MvGB642 3M^b centrikus fúzió citogenetikai azonosítása és agronómiai tulajdonságainak meghatározása
- durumbúza (*T. turgidum* subsp. *durum*)–*Ae.umbellulata* és *Ae. uniaristata* szintetikus hexaploidok létrehozása.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A termesztett búza származása és génforrásai

Sakamura (1918), Sax és Sax (1924), valamint Kihara (1924) citogenetikai vizsgálataik során megállapították, hogy a *Triticeae* nemzetségcsoportba tartozó fajok mindegyikének azonos az alapkromoszóma-száma, mely $n=1x=7$, és az ide tartozó fajok ploidszintjük alapján lehetnek diploidok ($2n=2x=14$), tetraploidok ($2n=4x=28$) és hexaploidok ($2n=6x=42$). Ezek a korai citogenetikai vizsgálatok vezettek a genomelnevezések bevezetéséhez (A, B, C, D, G, M, N, S, T, U). Ezeket az elnevezéseket a mai napig használják a *Triticum*- és az *Aegilops* fajokkal kapcsolatos kutatásokban.

A hexaploid búzának három pár homeológ kromoszómaszerelvénye van, (BBAADD – az első helyen lévő B kromoszómák arra utalnak, hogy a citoplazma a B genom donorjától származik). E hexaploid genomszerkezet kialakulása három spontán hibridizáció eredménye. Az első hibridizációs lépés 500 000–100 000 évvel ezelőtt történhetett, melynek során a B-genom vad őse – amely a mai napig pontosan nem ismert, de valószínű, hogy az *Aegilops* nemzetség *Sitopsis* szekciójába tartozó *Aegilops speltoides* Tausch. ($2n=2x=14$, SS) lehetett (Dvorák és Zhang 1990, Tsunewaki 2009) – és a vad, diploid *Triticum urartu* Tumanian ex Gandilyan ($2n=2x=14$, A^uA^u – Chapman és mtsai. 1976, Dvorák és mtsai. 1993) hibridizációjával létrejött a tetraploid vad tönke, a *T. turgidum* subsp. *dicoccoides* Körn. ex Asch. & Graebn. ($2n=4x=28$, BBA $^uA^u$). A vad tönkét kb. 10 000 éve vonták termesztésbe, így jelentek meg termesztett változatai, a termesztett tönke (*T. turgidum* subsp. *dicoccum* [Schrank ex Schübler] Thell.) és a durumbúza (*T. turgidum* subsp. *durum* [Desf.] Husnot – Salamini és mtsai. 2002, Gill és mtsai. 2007, Charmet 2011). A második hibridizációs lépés a termesztett tönke és az *Aegilops tauschii* Coss. ($2n=2x=14$, DD) között kb. 8000 éve történhetett (Huang és mtsai. 2002), miután a tönke termesztése a Termékeny Félholdtól keletre terjedt, az *Ae. tauschii* természetes élőhelye felé. A hibridizáció legvalószínűbb helye a Kaszpi-tengertől délre vagy keletre lehetett (Nesbitt és Samuel 1996, Salamini és mtsai. 2002, Giles és Brown 2006).

A vad fajokból a búzába történő génátvitel nagy mértékben függ a két faj közötti evolúciós távolságtól. A búza génforrásai genomösszetételük alapján három csoportba sorolhatók (Friebe és mtsai. 1996a). Az elsődleges génforrások közé azok

a fajok tartoznak, melyek a búzával homológ genommal rendelkeznek. Ide sorolandók a termesztett búza tájfajtái; a tetraploid *Triticum* fajok vad és termesztett alfajai (pl. *T. turgidum* subsp. *dicoccoides*; *T. turgidum* L. subsp. *carthlicum* [Nevski in Kom.] Á. Löve & D. Löve) s a búza A és D genomjának donorjai, a *T. urartu* és az *Ae. tauschii*. Az elsődleges génforrásokból a génátvitel közvetlen keresztezéseken, homológ rekombináción, sorozatos visszakeresztezéseken és végül a szelekción keresztül történik. A másodlagos génforrások közé azok a poliploid *Triticum* és *Aegilops* fajok tartoznak, melyeknek a hexaploid búzával legalább egy közös homológ genomjuk van. Ezekből a fajokból a génátvitel homológ rekombinációval csak abban az esetben valósulhat meg, ha a célgén a homológ kromoszómán található. Ide tartoznak a tetraploid *T. timopheevii* Zhuk. (GGA^uA^u) vad (*T. timopheevii* subsp. *armeniicum* [Jakubz.] MacKey) és termesztett (*T. timopheevii* subsp. *timopheevii*) alfajai, valamint, a hexaploid *T. zhukovsky* Men. et Ericz. (GGA^mA^mA^uA^u). Ide sorolhatóak még az *Aegilops* nemzetség *Sitopsis* szekciójába tartozó fajok (pl. *Ae. speltoides* és *Ae. longissima* Schweinf. & Muschl.), melyek S genomja mutatja a legnagyobb homológiát a termesztett búza B genomjával. A harmadlagos génforrások közé tartozó fajok már távolabbi rokonságban állnak a búzával, közös homológ kromoszómáik nincsenek. Ide tartoznak az *Aegilops*, *Secale*, *Hordeum* és *Agropyron* fajok.

2.2. Az *Aegilops* nemzetség általános ismertetése

Az *Aegilops* nemzetségbe tartozó fajok a búza elsődleges, másodlagos és harmadlagos génforrásai közé tartoznak. van Slageren (1994) botanikai rendszertana szerint a nemzetségbe 23 egyéves faj tartozik, ezek közül 11 diploid, 10 tetraploid és 2 hexaploid, melyeknek hét különböző genomjuk van (C, D, M, N, S, U és T).

Megtalálhatóak a Mediterráneumban, a Krím-félszigeten, a Kaukázusban, Afrikában a Szaharától északra, Nyugat- és Közép-Ázsiában, délről az Arab-félsziget, keletről pedig a Tien-san által határolt területen. Az Amerikai Egyesült Államok területére számos *Aegilops* faj, mint például az *Ae. cylindrica* Host, antropogén terjesztéssel jutott el. Magyarországon is ezzel az egy *Aegilops* fajjal találkozhatunk (Lelley és Rajháthy 1955). Legnagyobb populációi az Alföld középső és délkeleti részén, valamint Budapest körül (Budai-hegység, Pesti-síkság) találhatók (Táborská és mtsai. 2015). Észak- és Északnyugat-Európában, valamint a Kanári-szigeteken

néhány faj invazív. Élőhelyük –400 métertől (a Holt-tenger vidéke) egészen 2800 méter tengerszint feletti magasságig fordul elő, de az egyes fajoknak eltérőek az adaptációs képességeik (Hodgkin és mtsai. 1992, van Slageren 1994). A nemzetség legdiverzebb formában a Termékeny Félholdnak nevezett területen (Palesztina, Libanon, Szíria, Délkelet-Törökország, Észak-Iraktól Északnyugat-Iránig) fordul elő (van Slageren 1994).

Az *Aegilops*-ok a transzkaukázusi területekről származnak, ahonnan a diploid fajok nyugat és délnyugat felé terjedtek el. Később a tetraploid fajok – jó adaptációs-képességüknek köszönhetően – nyugat és délnyugat felé a mediterrán térségben, továbbá keleti irányban Közép-Ázsia területén jelentek meg (Kilian és mtsai. 2011). Az *Aegilops*-ok különféle élőhelyekhez alkalmazkodtak, megtalálhatóak az ember által bolygatott területeken, legelőkön, útszéleken, a Mediterráneum bozótsaiban, parkokban, elhanyagolt és megművelt mezőgazdasági területeken és azok határain (Kilian és mtsai. 2011). Más fűfélékkel is alkotnak társulásokat, beleértve egyéb *Aegilops* és *Triticum* fajokat is, de ritkán dominálnak a vegetációkban (van Slageren 1994). Az egyéves habitus és az önmegetermékenyülés előnyben részesítése előnyös stratégiának tekinthető a szezonális esős időszakokban és a meleg, száraz nyarak esetén. Néhány faj azonban (részben) idegentermékenyülő, ilyen az *Ae. mutica* Boiss. és az *Ae. speltoides* (Sakamoto 1982). Az *Aegilops* fajoknak termesztett és előnemesített változatai nem léteznek.

Ez idáig az *Aegilops* fajokból jelentős számú rozsda- (levél-, szár-, sárgarozsda), lisztharmat- (Friebe és mtsai. 1996a, Schneider és mtsai. 2008), cisztaképzőfonálféreg- (Jahier és mtsai. 2001), gyökérgubacsfonálféreg- (Barloy és mtsai. 2000), hesszenilég- (Martín-Sánchez és mtsai. 2003) és zöldgabonalevéltetű- (Zhu és mtsai. 2004) rezisztenciagént vittek át keresztezéssel a termesztett búzába. Számos faj potenciális génforrásként szolgálhat a szárazság-, só- ill. fagystresszel szembeni védekezésben is (Damania és Pecetti 1990, Rekika és mtsai. 1997, Molnár és mtsai. 2004). Felhasználhatóak továbbá a búza táplálkozási értékének javítására is (biofortifikáció), nagy mikroelem-, vitamin- és étkezésirost-tartalmuknak köszönhetően (Calderini és Ortiz-Monasterio 2003a; Chhuneja és mtsai. 2006; Farkas és mtsai. 2014).

2.2.1. Az *Aegilops biuncialis* botanikai jellemzése és hasznos agronómiai tulajdonságai

Az *Aegilops biuncialis* Vis. (szinonima: *Triticum biunciale* [Vis.] Richter, nom. illeg., *Aegilops lorentii* Hochst., *Triticum lorentii* [Hochst.] Zeven, *Triticum macrochaetum* [Shuttlew. et A. Huet. ex Duval-Jouve] Richter) egy egyéves, U^b és M^b genommal rendelkező, allotetraploid faj ($2n = 4x = 28$). Az U^b genom őse a diploid *Aegilops umbellulata* Zhuk. ($2n = 2x = 14$, UU, szinonima: *T. umbellulatum* [Zhuk.] Bowden), míg az M^b genom az *Ae. comosa* Sibth. et Sm. ($2n = 2x = 14$, MM, szinonima: *T. comosum* (Sibth. et Sm.) Richter fajból ered (Resta és mtsai. 1996, Badaeva és mtsai. 2004).

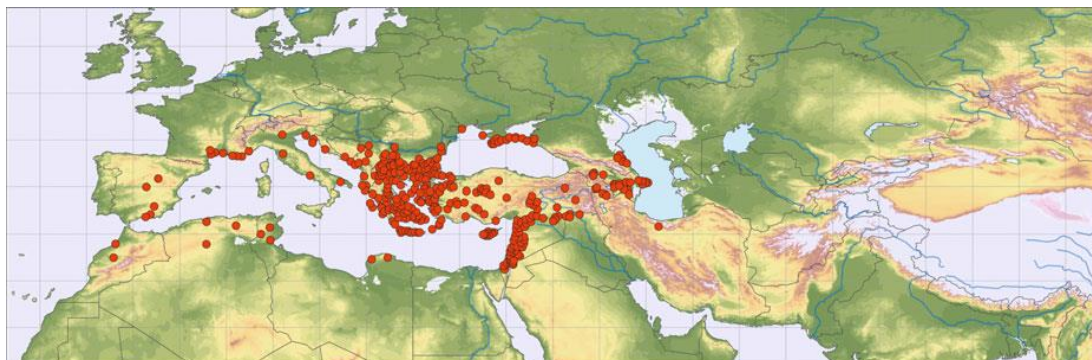
A növény magassága 10–40 cm, egy tövön sok hajtás fejlődik, a végén szálkás, 1,5–3,5 cm hosszú kalászkokkal. A kalászkokban 2–3 fertilis és 1–2 kezdetleges kalászka található (1. ábra). Érés után a kalászkok letörnek.



1. ábra. Az *Aegilops biuncialis* MvGB642-es genotípus kalász- (a) és állományfényképe (b)

Főleg az Égei-tenger térségében található meg, de ezen kívül Törökország belső területein, Bulgáriában, Cipruson, a Termékeny Félhold nyugati részén, a Kaukázustól keletre, a Krím félsziget déli részén. Kiterjedt, nagy populációi találhatóak Dagesztánban (2. ábra). Általában szárazabb élőhelyeken fordul elő, utak mentén, termőterületek szélein, különböző erdőtípusokban, füves, bozótos területeken és száraz, meredek, sziklás hegyoldalakon, főleg mészkövön, 200 méter

tengerszint feletti magasságtól, egészen 1750 méterig (Kilian és mtsai. 2011). Élőhelyeinek évi csapadékmennyisége általában 225 és 800 mm között változik, de előfordul több mint 1250 mm évi csapadék mellett is (van Slageren 1994).



2. ábra. Az *Aegilops biuncialis* elterjedési területe (Kilian és mtsai. 2011 nyomán)

Az *Ae. biuncialis*-nál nagyfokú rezisztenciát mutattak ki az árpa sárga törpeség vírussal szemben (Makkouk és mtsai. 1994). Az abiotikus stresszrezisztenciával kapcsolatban rendelkezésre állnak adatok a faj jó fagy- (Ekmekci és Terzioglu 2002), só- (Colmer és mtsai. 2006) és szárazságtűréséről is (Molnár és mtsai. 2004, Dulai és mtsai. 2014). Nagy mikroelem-tartalmának köszönhetően felhasználható a búza biofortifikációjára (Farkas és mtsai. 2014). Étkezési rostban (β -glükán, arabinoxilán) gazdag, ezért olyan búzafajták nemesítésében játszhat szerepet, melyeknek táplálkozási és fiziológiai szempontból kedvezőbbek a tulajdonságaik (Rakszegi és mtsai. 2017).

2.2.2. Spontán hibridizációk a búza és vad rokonai között

A természetben a növények közötti hibridizáció természetes folyamat, mely főleg a közeli rokonságban álló fajok között mehet végbe. A termesztett növények – beleértve a búzát is – természetes körülmények között hibridizálódhatnak a vadon élő rokon fajokkal (Ellstrand és mtsai. 1999). Az első búza–*Aegilops* hibrid herbáriumi példány Requientől származik 1825–1827-ből, de a fajt Bertoloni csak 1834-ben írta le *Aegilops triticoides* néven, amely egy *Ae. geniculata*–búza hibrid volt (lásd van Slageren 1994). van Slageren (1994) legkevesebb 21 természetes hibridet említ, melyek 12 *Aegilops* faj és a kenyér- ill. durumbúza hibridizációjával jöttek létre, néha életképes szemeket termelve. Magyarországon Vojtkó és munkatársai figyeltek meg *Ae. cylindrica*–búza hibridet (Pély, 2013. 05. 14, személyes közlés).

A természetes úton lejátszódó géntranszfer feltétele, hogy a két faj ugyanazon a termőterületen forduljon elő, a donor pollenszórása után a recipiens bibéje befogadóképes és a szemtermés csírázóképes legyen. Ezek az *Aegilops* és *Triticum* fajok egyévesek, túlnyomórészt önbeporzók, és jól alkalmazkodtak a szezonális esőzésekhez az elterjedési területükön (Kilian és mtsai. 2011). Az *Aegilops*-ok és a búza rokonsági köréhez tartozó egyéb vad fajok virágzási ideje április–májustól június–júliusig tart, fajtól és az elterjedési területtől függően. Ez az időszak a Mediterráneumban egybeesik a természetett búza virágzásával (van Slageren 1994). A búza kalásának teljes kivirágzása 3–5 napot vesz igénybe. Az *Aegilops* fajoknál ez az időszak hosszabb, mint a búzáénál, a folyamatos bokrosodás miatt, ami a vad fajok jobb alkalmazkodóképességét segíti elő a szemtermés biztosításával (van Slageren 1994). Elhúzódó virágzásuknak köszönhetően nagyobb eséllyel mehet végbe a hibridizáció a búza és az *Aegilops* fajok között.

2.3. Génátvitel idegenfajú keresztezésekkel

Az ember által végzett mesterséges fajkeresztezők sikeressége függ a környezeti tényezőktől (hőmérséklet, páratartalom, megvilágítás (Belea 1986), ezenkívül a partnerek keresztezhetőségétől, amely nagy genetikai változatosságot mutat (Mujeeb-Kazi és mtsai. 1987, Zeven 1987, Luo és mtsai. 1992).

Búzában legalább négy, a keresztezhetőségért felelős gént azonosítottak (*Kr* gének). A sok tudós és nemesítő által a legjobban keresztezhetőnek tartott ‘Chinese Spring’ hexaploid búza genotípus a *Kr1*, *Kr2* és *Kr3* gének recesszív alléljait (*kr1*, *kr2* és a *kr3*) hordozza, melyek az ötös homeológ csoport kromoszómáin találhatóak (Riley és Chapman 1967a, Snape és mtsai. 1979, Falk és Kasha 1983). Legnagyobb hatása a *Kr1* gének van, domináns alléljuk csökkent a keresztezhetőséget (Molnár-Láng és mtsai. 2014a, Molnár-Láng és Linc 2015). Kínában, Szecsuanban búzatájfajták között olyan genotípusokat találtak (Luo és mtsai. 1992), melyek az 1A kromoszómán egy negyedik, a *kr4* keresztezhetőségi gén recesszív alléljét is tartalmazzák (Zheng és mtsai. 1992), így ezek a genotípusok még könnyebben keresztezhetőek rozzsal, mint a ‘Chinese Spring’.

A ‘Chinese Spring’-nek több, agronómiailag kedvezőtlen tulajdonsága van, mely a búzanemesítés szempontjából előnytelen (gyenge télállóság, magasság és gyenge szárszilárdság), ezért a *kr1* gént Martonvásáron a Martonvásári 9 (Mv9) őszi

búzafajtába vitték át (Molnár–Láng és mtsai. 1996). Így jött létre az ‘Mv9kr1’ jól keresztezhető, a közép-európai környezeti feltételekhez jobban adaptálódott és a ‘Chinese Spring’-nél jobb agronómiai tulajdonságokkal rendelkező genotípus. A maratonvásári előnemesítési programokban a mai napig a legáltalánosabban használt búzakeresztezési partner az ‘Mv9kr1’ (Molnár-Láng és mtsai. 2014b, Molnár-Láng és Linc 2015). Segítségével már számos előnemesítési alapanyagot hoztak létre árpával (Molnár-Láng és mtsai. 2000b), *Aegilops*- (Molnár-Láng és mtsai. 2002), valamint *Agropyron* fajokkal (Kruppa és Molnár-Láng 2016).

Mivel a kenyérbúza allohexaploid faj ($2n=6x=42$), B, A és D genommal rendelkezik, ezért minden kromoszómának két közeli rokon, homeológ kromoszómapárja van. Ezért a gének többségének a hexaploid búzában három pár homeoallélja van, melyek funkcionálisan kompenzálhatják egymást. Ennek a genetikai tulajdonságnak köszönhetően a búza könnyen tolerálja az aneuploid kromoszóma-változásokat.

A vad *Aegilops* fajokból történő, potenciálisan hasznos gének átvitelének első lépése az F_1 hibridek létrehozása (Belea 1986). Az F_1 hibridek amfihaploidok, a két szülő genomját egy-egy kópiaszámban tartalmazzák, ha nem megy végbe kromoszómaelimináció. Mivel mindkét szülő genomja csak egy-egy kromoszómaszerelvényt tartalmaz, a meiózis I. metafázisában univalensekként jelennek meg, melyek a későbbiekben egyenlőtlenül oszlanak el a gamétákban (nem teljes kromoszómaszámú gaméták jönnek létre), így az F_1 hibridek általában sterilek. A fertilitás visszaállítása végett az amfihaploid F_1 hibridek kromoszómaszerelvényének megduplázása szükséges, melynek során fertilis amfidiploidok jönnek létre.

A kromoszómák megduplázására általánosan elterjedt és a leghatékonyabb módszer a kolchicinkezelés. Ezt a vegyületet az őszi kikerics (*Colchicum autumnale* L.) magjából és hagymájából izolálták (Eigsti és Dustin 1955), erősen mérgező alkaloid. Először az emlősgenetikában alkalmazta Dustin és Havas (Havas 1939), majd a módszert Blakeslee és Avery (1937) tökéletesítette. A kolchicin poliploidizáló hatását a mikrotubulusok és a magorsó polimerizációjának gátlásával fejtí ki, a tubulin monomerekhez kapcsolódva. Ennek eredményeként a megkettőződött kromoszómák nem vándorolnak a pólusokra, nem válnak el egymástól, így jön létre egy megduplázódott genomú sejt. Más genomduplikációt indukáló szerek is ismertek, ezeket főleg herbicidként használatosak (pl. oryzalin, amiprofosz-metil (APM), trifluralin, pronamid). Fertilis amfiploid növények

létrejöhetnek a kromoszómák spontán megkettőződése révén is. Ez általában a redukálatlan ivarsejtképzésnek köszönhető, ilyenkor a diploid női- és hímivarsejt fúziója vezet az amfidiploid növény létrejöttéhez. A növényi genomok poliploidizációjában a legnagyobb szerepe a redukálatlan gamétáknak lehetett, az allopoliploid búza kialakulása is ezen a módon történhetett (Kihara és Lilienfeld 1949, Jauhar 2007, Matsuoka 2011).

Az amfiploidoknak csekély az agronómiai értékük, viszont részleges fertilitásuknak köszönhetően fenntarthatóak, és kiindulási alapanyagként szolgálnak az addíciós, szubsztitúciós és transzlokációs vonalak előállításához. Az amfiploidok búzával való sorozatos visszakeresztezésével az idegen kromoszómák száma generációról generációra folyamatosan csökken, végül a BC₃ generációban már számítani lehet arra, hogy a búzagenom mellett csak egy idegen kromoszóma lesz jelen. Ebből a monoszómás addíciós vonalból öntermékenyítéssel diszómás addíciós vonal állítható elő, amely az adott idegen kromoszómát már két példányban tartalmazza. Az addíciós vonalak jelentősége abban áll, hogy az idegen kromoszóma génjeinek kifejeződése szeparáltan tanulmányozható búza genetikai háttérben (Molnár és mtsai. 2007), másrészt az addíciós vonalokból különböző citogenetikai módszerekkel elindulhat az idegen kromoszómák a búzagenomba való beépítése intergenomikus transzlokációs vonalak formájában. A búza–idegenfajú monoszómás és diszómás szubsztitúciós vonalaknak euploid kromoszómaszámuk van ($2n=42$), de egy vagy egy pár búzakromoszóma egy (monoszómás) vagy egy pár (diszómás) idegen fajból származó kromoszómával van helyettesítve. A szubsztitúciós vonalak rendszerint genetikailag stabilak, ezért nagyléptékű felszaporításuk is könnyebben megvalósítható, mint a kisebb-nagyobb genetikai instabilitású addíciós vonalaké. A kiegyensúlyozott, teljes, euploid kromoszómaszám előnyösebb, mint az aneuploidia, ezért az addíciós vonalak fenntartása és felszaporítása csak folyamatos citológiai ellenőrzés mellett történhet, mivel genotípustól és keresztezési kombinációtól függően a 7–8. nemzedék után a diszómás addíciók gyakorisága 20% alá csökkenhet, ha az egyes generációkban elmarad a szelekció (Sutka 2004). Az idegen kromoszómák jelenléte lehetőséget ad a közöttük és a helyettesített búzakromoszómák közötti homeológia viszonyok meghatározására (Islam és Shepherd 1992). Az addíciós és szubsztitúciós vonalak segítségével szintén tanulmányozható az idegen kromoszómáknak a búza különböző agronómiai tulajdonságaira (biotikus és abiotikus stressztűrőképesség, a szemtermés beltartalmi paraméterei stb.) való hatása.

Az addíciós és a szubsztitúciós vonalakat elterjedten használják transzlokációs vonalak létrehozására, célzott génátvitelre, különösen akkor, ha ismert, hogy a célgén melyik kromoszómán helyezkedik el. További előnye ennek a stratégiának, hogy a transzlokációk viszonylag könnyen azonosíthatók, mivel csak az adott idegen kromoszómából származhatnak.

Az *Aegilops* nemzetség esetében is létrehoztak addíciós és szubsztitúciós vonalakat, melyekkel lehetővé vált az egyes kromoszómák hatásának vizsgálata búza háttérben, továbbá a különböző fajok homeológiaviszonyainak kromoszómaszintű vizsgálata (Miller és Reader 1987). Ez idáig 18 *Aegilops* fajból sikerült teljes vagy részleges addíciós vonalat (1. táblázat), illetve 11 fajból teljes vagy részleges szubsztitúciós vonalat (2. táblázat) létrehozni. Az addíciós és a szubsztitúciós vonalak kiindulási anyagként szolgálhatnak az előnemesítési programokban az idegen fajokból történő génátviteli munkákban (Feldman és Sears 1981), melyek végső célja az a legkisebb kromoszómaszegmentum beépítése, amely a célgéneket, génkomplexumokat tartalmazza.

Csoportunk ez idáig hét diszómás búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalat hozott létre ($1U^b$, $2U^b$, $3U^b$, $2M^b$, $3M^b$ és $7U^b$) (Schneider és mtsai. 2005). Tan és mtsai. (2009) búza–*Ae. biuncialis* részleges amfiploid, majd később Zhou és mtsai. (2014) egy $1U^b$ addíciós vonal létrehozásáról számoltak be. Ez idáig nem áll rendelkezésre több információ az *Ae. biuncialis*-ból búzába történő génátviteli kísérletekre. Friebe és mtsai. (1999) a 'Chinese Spring' búza és a szintén U és M genommal rendelkező *Ae. geniculata* Roth keresztezésekből válogatott ki és azonosított 13 diszómás és egy monoszómás kromoszómaaddíciós sorozatot. Az U és az M genom diploid őseivel, az *Ae. umbellulata*-val és az *Ae. comosa*-val ($2M$) szintén rendelkezésre állnak addíciós vonalak (Kimber 1967, Riley és mtsai. 1968a).

1. táblázat. A fontosabb búza–*Aegilops* addíciós vonalak listája (Kilian és mtsai.

2011 nyomán)

| <i>Aegilops</i> faj | A búzagenomhoz hozzáadott kromoszóma | Teloszómás addíció | Azonosítás módszere | Referencia |
|---|--|-----------------------------------|--------------------------------|--|
| <i>Ae. bicornis</i> | 3S ^b , 7S ^b | | | (Shepherd és Islam 1988) |
| <i>Ae. biuncialis</i> | 1U, 1U/6U, 2U, 3U, 2M,3M,7M 1U | | GISH, FISH | (Schneider és mtsai. 2005, Schneider és Molnár-Láng 2012) (Zhou és mtsai. 2014) |
| <i>Ae. comosa</i> | 2M | | | (Riley és mtsai. 1968b) |
| <i>Ae. cylindrica</i> | két vonal (az egyik a 4C) | | RFLP | (Bai és mtsai. 1995) |
| <i>Ae. geniculata</i> | 13 vonal + 1 monoszómás 6U | kilenc + két monoteloszómás | C-sávozás | (Friebe és mtsai. 1999) (Stoilova és Spetsov 2006) |
| <i>Ae. longissima</i> | két teljes sorozat | mind (6S ^L monoszómás) | C-sávozás | (Friebe és mtsai. 1993) |
| <i>Ae. markgrafii</i> | kilenc vonal (A hiányzik) | | C-sávozás SSR | (Friebe és mtsai. 1992, Peil és mtsai. 1998) |
| <i>Ae. mutica</i> | Négy vonal (A, C, E, F) | | | (Friebe és mtsai. 1996c) |
| <i>Ae. neglecta</i> subsp. <i>recta</i> | három vonal (5, 2, 7 homeológ csoportok) | | RFLP | (Bai és mtsai. 1994) |
| <i>Ae. peregrina</i> | teljes sorozat azonosítatlan vonalak | | RFLP, izoenzim C-sávozás | (Friebe és mtsai. 1996b, Yang és mtsai. 1996) |
| <i>Ae. searsii</i> | teljes sorozat | Teljes sorozat | C-sávozás | (Friebe és mtsai. 1995b) |
| <i>Ae. sharonensis</i> | teljes sorozat | | | (Zhang és mtsai. 2001) |
| <i>Ae. speltoides</i> | teljes sorozat (3S és 6S monoszómás) | Hét vonal | RFLP | (Friebe és mtsai. 2000) |
| <i>Ae. tauschii</i> | 3 vonal (hexaploidok) | | C-sávozás | (Dhaliwal és mtsai. 1990) |
| <i>Ae. tauschii</i> | teljes monoszómás sorozat | | | |
| <i>Ae. umbellulata</i> | teljes sorozat | kilenc vonal | C-sávozás, GISH | (Kimber 1967, Friebe és mtsai. 1995a) |
| <i>Ae. uniaristata</i> | öt vonal | | RFLP, RAPD, SSR | (Miller és mtsai. 1997, Iqbal és mtsai. 2000) |
| <i>Ae. ventricosa</i> | hét vonal | | | (Dosba és mtsai. 1978) |

2. táblázat. A fontosabb búza–*Aegilops* szubsztitúciós vonalak listája (Kilian és mtsai. 2011 nyomán)

| <i>Aegilops</i> faj | Diszómás szubsztitúció | Teloszómás szubsztitúció | Azonosítás módszere | Referencia |
|------------------------|--|--------------------------|---------------------------|---|
| <i>Ae. comosa</i> | 2M(2A), 2M(2B), 2M(D) | | | (Riley 1966) |
| <i>Ae. geniculata</i> | 5M(5D) | | | (Friebe és mtsai. 1999, Dhaliwal és mtsai. 2002) |
| <i>Ae. longissima</i> | teljes sorozat 5S(5A), 5S(5B), 5S(5D) A, C, D | | C-sávozás izoenzim | (Netzle és Zeller 1984, Millet és mtsai. 1988, Friebe és mtsai. 1993) |
| <i>Ae. markgrafii</i> | 5C(5A), 5C(5D) | | | (Friebe és mtsai. 1992) |
| <i>Ae. peregrina</i> | azonosítatlan vonalak G(2A), G(2B), E(5B) | | | (Shepherd és Islam 1988, Spetsov és mtsai. 1997) |
| <i>Ae. searsii</i> | teljes sorozat | 31 vonal | C-sávozás | (Friebe és mtsai. 1995b) |
| <i>Ae. sharonensis</i> | 4S(4A), 4S(4B), 4S(4D) | | | (Miller 1983) |
| <i>Ae. speltoides</i> | teljes sorozat | | RFLP | (Friebe és mtsai. 2000) |
| <i>Ae. tauschii</i> | teljes sorozat | | | (Joppa és Williams 1988) |
| <i>Ae. umbellulata</i> | 1U, 2U, 5U, 7U a megfelelő búza homeológ kromoszómákkal | | | (Riley és mtsai. 1973) |
| <i>Ae. uniaristata</i> | 3N(3A), 3N(3B), 3N(3D) | | | (Miller és mtsai. 1995) |

2.4. A transzlokációs vonalak jelentősége és előállításának lehetőségei

A betegségrezisztenciáért felelős gének gyakran génkomplexumokban vannak jelen egy specifikus kromoszómaregión. A transzlokációs vonalak ezért egy lehetséges megoldást kínálnak ezeknek a génklasztereknek a recipiens növénybe való átvitelére. Az idegen transzlokációs vonalak stabilak, és a rezisztencia is tartósabb, mint az egyszerű génátvitel esetében. A búza–rozsa 1BL/1RS transzlokációt világszerte használták a nemesítési programok, mivel az 1R rozskromoszóma rövid karja számos hasznos, főleg betegségrezisztencia-gént tartalmaz (ezek többsége napjainkra már

elvesztette hatékonyságát). A nemesítési programoknak minél több, különböző fajokra kiterjedő, főként interkaláris transzlokációkra lenne szüksége, amelyek többféle hasznos agronómiai tulajdonságot hordoznak.

A nemesítésben betöltött fontos szerepük mellett a transzlokációs vonalak kitűnő genetikai alapanyagának számítanak gének és molekuláris markerek fizikai térképezéséhez, melyek a kromoszómán a két töréspont között (bin) helyezkednek el. Ha a transzlokációs töréspontokat határjelzőnek tekintjük, akkor a gének és molekuláris markerek fizikai helyzete behatárolható (Nagy és mtsai. 2002), viszont a genetikai térképezéskor a markerek pozícióját a szülői eredetű kromoszómák közti rekombinációs gyakoriság alapján határozzuk meg (Gustafson és mtsai. 1990, Lukaszewski és Curtis 1993). Mivel a kromoszómák teljes hosszában a rekombinációs gyakoriság változik (a centromérák közelében általában igen kismértékű, míg a karok génekben gazdagabb disztális végei felé növekvő tendenciát mutat), a genetikai térképeken feltüntetett markerpozíciók nem tükrözik a tényleges fizikai helyzetüket. A génekben gazdagabb régióknál ún. rekombinációs „hotspot”-ok találhatóak, amelyeknél sokkal gyakoribb a rekombinációs esemény.

Az idegenfajú génátvitel során az egyik legnagyobb kihívás az, hogy az idegen fajból csak azt a legkisebb kromoszómaszegmentumot vigyék át a termesztett fajba, amely a hasznos tulajdonságért felelős géneket hordozza, és mellette agronómiailag kedvezőtlen tulajdonságokért felelős régiók ne kerüljenek át a vad fajból (linkage drag). A transzlokációk előállítására többféle módszert dolgoztak ki, melyeket összefoglalóan „chromosome engineering”-nek nevez a nemzetközi irodalom (Sears 1981).

A „chromosome engineering” új távlatokat nyitott a búza genetikai háttérbe rokon és nem rokon fajokból történő génátvitelben. A tradicionális és a citogenetikai módszerek közé tartoznak a *Ph* lokusz hiányában történő indukált homeológ párosodás, a besugárzás és a gametocid gének használata.

2.4.1. Homeológ párosodás indukciója

A kompenzáló transzlokációk létrejöttének feltétele, hogy a donor és a recipiens faj kromoszómái egymással párosodni tudjanak. A homeológ rekombináció az azonos homeológ csoportba tartozó kromoszómák között megy végbe. Az ilyen módon létrejött transzlokációkat kompenzáló transzlokációknak nevezzük, mivel a

homeológ kromoszómák génsorrendje általában megegyezik, ezért az idegen kromoszómaszegmentum kompenzálni tudja a kieső búzagenom hatását.

A búzánál az B, A és D homeológ kromoszómák közötti szinténia ellenére a búza kromoszómái 21 bivalenst alkotnak a diakinézisznél és a meiózis első metafázisában. A búza meiózisa diploidszerű, melyet egy genetikai rendszer szabályoz; ez meggátolja a homeológ kromoszómák párosodását. A legnagyobb hatása a *Ph1* (*Pairing homoeologous 1*) lokusznak van, amely az 5B kromoszóma hosszú karján helyezkedik el, és a homeológ párosodás legerősebb szupresszora (Riley és Chapman 1958, Riley és Kempanna 1963). A *Ph2* – amely szintén szupresszor – a 3D kromoszóma rövid karján található, közepes hatású (Mello-Sampayo 1971). A *Ph1* és a *Ph2* gének mellett egy harmadik szupresszor is található (még kisebb hatással, mint a *Ph2*) a 3A kromoszóma rövid karján (Driscoll 1972).

Ezek közül a gének közül a *Ph1* gén hiányában a legmagasabb a homeológ rekombinációk száma a búzában. Másik két, alacsonyabb hatású szupresszor gén létezését is bizonyították a 4D (Driscoll 1973) és a 2D kromoszóma hosszú karján (Ceoloni és mtsai. 1986). A homeológ rekombinációt szupresszáló géneken kívül léteznek párosodást elősegítő gének is, melyek a búza második, harmadik és az ötödik homeológ csoport kromoszómáin helyezkednek el (Riley és Chapman 1967b, Mello-Sampayo 1971).

Az első búza *Ph1* lokuszt érintő meiotikus mutánsokat Wall és mtsai. (1971a, 1971b) izolálta, etil-metán-szulfonáttal kezelt 5BL ditelocentrikus vonalak közül. A 10/13 vonalat sikerült homozigóta formában fixálni. Annak ellenére, hogy a mutáns genotípus kromoszómái a meiózisban rendszeresen 21 bivalenst képeztek, rozssal létrehozott hibridjében nagyobb arányban párosodtak a homeológ kromoszómák, mint a vad típusal alkotott hibridekben. Sears (1977) állított elő pollen-röntgenbesugárzással egy másik mutáns vonalat, amely egy 70 Mb nagyságú interkaláris deléciót tartalmazott. A mutációra homozigóta növények az első metafázisban multivalenseket alkottak, ami a homeológ rekombinációt jelzi. A mutáns vonalat *ph1b*-nek nevezte el, mivel később izolálta, mint a 10/13-as vonalat (*ph1a*). Sears egy másik mutáns vonalat is izolált, melynek kromoszómái közepes szintű párosodást mutattak az *Ae.kotschy*-val alkotott hibridekben. Ez a mutáció a *Ph2* lokuszt érintette a 3D kromoszóma rövid karján (Sears 1982). Komplementációs tesztekkel kimutatták, hogy a *ph1b* és a 10/13 vonalak mutációi nem allélikusak, és külön szegregálnak, míg a *ph2b* és a 10/13 allélikus. Később a 10/13-as vonalat átnevezték *ph2b*-vé. A *ph1b* és a *ph2b* mutációt a 0,9 cM-ra térképezték az 5B

kromoszóma centromerjétől és 2,3 cM távolságra a 3D kromoszóma centromerjétől (Sears 1984). Szintén a *Ph1* lokuszt érintő mutációt (*Ph-,ph1c*) állítottak elő a *T. turgidum* subsp. *durum* 'Capelli' fajtából a szemtermés neutronnal történő besugárzásával. Ez a mutáció egy interkaláris deléció az 5B kromoszóma hosszú karjának a közepén, és a mutáns vonallal alkotott nemzetséghibridekben gyakori kromoszómapárosodást figyeltek meg a homeológok között (Giorgi és Cuozzo 1980, Giorgi és Barbera 1981).

A *Ph1* lokusz felfedezése óta számos hipotézis látott napvilágot, melyek az ezen a kromoszómaszakaszon elhelyezkedő gén működését próbálták megmagyarázni (Feldman 1966, Martínez-Pérez és mtsai. 1999, 2001, 2003), de ennek molekuláris szintű hatása a mai napig ismeretlen. A *Ph1* lokusz molekuláris elemzése során fény derült arra, hogy a régió *ciklindependens kináz* géneket kódol (*Cdk*-k), amelyek némi szekvenciahasonlóságot mutatnak az emlős eredetű *Cdk2* Ser/Thr protein kinázokkal (Griffiths és mtsai. 2006, Al-Kaff és mtsai. 2008). Ezek a kinázok a sejtciklust szabályozzák az eukarióta sejtekben. A *Cdk2* részt vesz az G1 fázisból az S fázisba történő átlépésben, és a DNS replikációra is hat (Nasmyth 1996, Thomson és mtsai. 2010). Az 5B kromoszómán található *Cdk*-szerű gének átíródnak a transzkripció során, de mind hibás kópiáknak látszanak. Greer és mtsai. (2012) hipotézise az, hogy a *Ph1* hatásért a csökkent *Cdk*-aktivitás a felelős, ami a defektív *Cdk*-szerű géneknek köszönhető. A *Cdk* aktivitás szupressziója befolyásolja a replikációt és a H1 hiszton foszforilációját, aminek nagy szerepe lehet a kromoszómaspecifitás meghatározásában. A *Cdk*-szerű kinázok aktivitásának megnövekedése módosíthatja a kromatin átrendeződésének folyamatát, és a rekombinációt, hatására csökken a specifitás a kromoszómapárosodáskor.

Bhullar és mtsai. (2014) egy jelölt *Ph1* (*C-Ph1*) génről számolnak be, amely a *Ph1* lokuszon helyezkedik el. A *C-Ph1* gén átmeneti és tartós csendesítése a *Ph1* mutáns fenotípusait mutatta. Megfigyelhető volt a homeológ kromoszómapárosodás, multivalensek kialakulása és a kromoszómák rendellenes felsorakozása (disrupted chromosome alignment) az első metafázisban. A *C-Ph1* génnek három homeológ kópiája van, ezek szekvenciái nagyfokú hasonlóságot mutatnak, ennek ellenére szerkezetük és expressziós mintázatuk eltér. Az első metafázis során csak az 5B kromoszómán lévő gén expresszálódik. Az 5A kromoszómán elhelyezkedő *C-Ph1* gén hiányos, ezért kevésbé hatásos. Az 5D-ről származó kópia a meiózis kezdete körül (onset) expresszálódik, és a kromoszómák párosodásának korábbi szakaszában

lehet szerepe. Az 5B kópia prediktált fehérje terméke egy inszerció miatt eltér a másik két homeológ gén által kódolt fehérjétől.

2.4.2. *Ph* szupresszálo hatású gének a búza rokon vad fajaiban

Több tanulmány számolt be arról, hogy az *Aegilos speltoides* egyes genotípusai homeológ rekombinációt képesek indukálni, még a *Ph1* lokusz jelenlétében is (Maestra és Naranjo 1998). Mivel ezek a gének episztatikusak a búza *Ph* génekkel szemben, *Ph¹* (Ph inhibitor) géneknek nevezték el őket (Chen és mtsai. 1994). Riley és mtsai. (1968a) sárgarozsda-rezisztenciát vittek át *Ae. comosa*-ból hexaploid búzába, a *Ph1* lokuszt szupresszálni képes *Ae. speltoides* segítségével. Így született meg az első búzavonal ('Compair'), amelynél az idegen fajból származó hasznos tulajdonságot a homeológ rekombináció genetikai indukációjával sikerült átvinni.

Chen és mtsai. (1994) az *Ae. speltoides* fajból sikeresen vitték át 'Chinese Spring'-be a *Ph1* lokusz szupresszióját előidéző géneket. A *Ph¹* vonalak segítségével azóta számos hasznos agronómiai tulajdonságot sikerült a búzagenomba beépíteni (Aghaee-Sarbarzeh és mtsai. 2002, Wang és mtsai. 2003, Chhuneja és mtsai. 2008). A *Ph¹* búzagenotípusok előnye a *Ph1* vagy a *ph1b* mutánsokkal szemben az, hogy a hatásuk domináns, képesek az interspecifikus és generikus F₁ hibridekben, de a későbbi visszakeresztezett generációkban is homeológ rekombinációt indukálni (Marais és mtsai. 2010, Li és mtsai. 2011). A búza *Ph*-rendszerének gátlását eddig legjobban az *Ae. speltoides*-ben jellemezték, habár más *Aegilops*, *Secale*, *Agropyron* és *Elymus* nemzetségbe tartozó fajnál is megfigyelték (Mello-Sampayo 1971, Lelley 1976, Dvořák 1987, Farooq és mtsai. 1996, Motsny és Simonenko 1996).

2.4.3. Transzlokációk létrehozása kromoszómatorések indukálásával

A búzával távolabbi rokonságban álló fajok kromoszómái sok esetben még a *Ph*-rendszer hiányában sem párosodnak a búzakromoszómákkal. Ebben az esetben indokolt lehet a kromoszómák random törését előidézni. A letört kromoszómaszegmentumok végein túlnyúló egyszálú DNS-láncok lehetnek, így újra egyesülhetnek a hasonlóan létrejött búza-kromoszómaszegmentumokkal, így épülve be a gazda genomjába. A kromoszómatorések előidézésére különböző mutagének használhatók. A fizikai mutagének, mint például a nem-ionizáló sugárzás (UV) és az ionizáló sugárzás (röntgen-, α -, γ -sugárzás, lassú és gyors neutronok) nagy léptékű

változásokat idéznek elő a genomban a DNS-szál törésével (deléció, inverzió, duplikáció, transzlokáció). Ezzel ellentétben a kémiai mutagének, melyek széles körben használatosak a növényi mutagenézisben – a nukleotidpárokban idéznek elő változásokat, melyek báziscserével és az olvasási keret eltolódásával járhatnak. Vannak irodalmi adatok a kémiai mutagének által okozott transzlokációkra is. Ilyen például a 8-etoxi-koffein, amely kromoszómatörést és átrendeződést indukálhat (Ehrenberg és mtsai. 1961). Az alkiláló szerek közül az etil-metán-szulfonát, az etán-szulfonát és az 1,4-dimetil-szulfoxid-bután kromoszómák törését előidéző hatását írták le (Natarajan és Upadhyya 1964, Ramanna és Natarajan 1966). Friebe és mtsai. (1994) búza–*Agropyron elongatum* terminális transzlokáció méretét csökkentették etil-metán-szulfonát-kezeléssel, melynek eredményeképpen egy T7DS.7DL-7Ae#1L-7DL intersticiális transzlokációt hoztak létre. A fizikai és a kémiai mutagének mellett speciális DNS-szekvenciák, mobilis genetikai elemek vagy transzpozabilis elemek (transzpozonok és retrotranszpozonok) is előidézhetnek genetikai variabilitást. A deléciók, duplikációk és transzlokációk kialakulásának hátterében az áll, hogy a nemhomológ inszerciós helyeken elhelyezkedő transzpozonok között megy végbe a rekombináció (Bennetzen 2000).

Az *Aegilops* nemzetségből számos kromoszómát vittek át a hexaploid búzába. A visszakereszteзések során több *Aegilops*-kromoszómának a mutagénekhez hasonló hatását mutatták ki a recipiens növényben (Endo 1990). Ezek a kromoszómák az interspecifikus génátviteli munkák során nagyobb valószínűséggel jutnak át a következő generációkba, mint mások. Ezeket a kromoszómákat és géneket „pollenyilkos” (Cameron és Moav 1956, Loegering és Sears 1963), gaméaeliminátor (Rick 1966, Sano 1990) vagy gametocid kromoszómáknak (Endo 1990, 2007) hívjuk. Ezek a gametocid (Gc) kromoszómák biztosítják az őket tartalmazó gamétáknak a következő generációkba való, az őket nem tartalmazó gamétákkal szemben domináns továbbjutását, valószínűleg az utóbbi gaméták „megölésével” vagy károsításával. Mindez abban az esetben történik, ha a Gc-kromoszóma hetero- vagy hemizigóta állapotban van jelen. Az *Aegilops* nemzetségben több (C, S és M genomú) fajnál találtak gametocid hatású kromoszómákat, melyek különböző homeológ csoportba tartozhatnak (2, 3, 4, 6) (Endo 1990, 2007, Niranjana 2017). Ezek a gametocid (Gc) kromoszómák vagy gének a gametogenezis során okoznak mutációt a kromoszómákon, azokban a gamétákban, amelyek nem tartalmazzák őket. A Gc kromoszómák a búzakromatinon kívül az addíciós vonalakban az idegen kromoszómák törését is előidézhetik (Endo

1990, 2007). Az *Ae. cylindrica* ($2n = 4x = 28$, DDCC) 2C kromoszóma segítségével Endo és Gill (1996) 350 homozigóta deléciós vonalat hozott létre a 'Chinese Spring' búzával. Ezekben a vonalakban a deléciós töréspont különböző kromoszómákon és pozíciókban található, ezért alkalmasak voltak gének, de legfőképp DNS-markerek deléciós térképezésére (Werner és mtsai. 1992, Qi és mtsai. 2004).

A Gc kromoszómák közül az *Ae. cylindrica* ($2n = 4x = 28$, DDCC) 2C és az *Ae. triuncialis* ($2n = 4x = 28$, UUCC) 3C kromoszómáját széles körben használják transzlokációs és deléciós vonalak létrehozásához a búzában és idegen addíciós vonalakban.

2.5. Az idegen kromoszómák kimutatása és azonosítása a hibridekben és származékaikban

2.5.1. Hagyományos citológiai módszerek

A hagyományos citológia a kromoszómák számát, morfológiáját (nagyság, kararányok, másodlagos befűződések) és a meiózisban történő viselkedését tanulmányozza. A metafázisban levő kromoszómákat különféle festékekkel lehet megfesteni, ezáltal megkülönböztethetőek lesznek az egyéb sejtorganelumoktól.

A leggyakrabban használt festési módszerek a kármin-ecetsavas, Feulgen-festés, Snow-féle kárminfestés (Snow 1963), orcein-ecetsavas festés (Dyer 1963). A klasszikus citológiai módszerekkel sok faj kromoszómáját tanulmányozták, leírták a kariotípusaikat, fajhibridekben idegen kromoszómákat is sikerült kimutatni, főleg olyan esetekben, ahol a két faj távoli rokonságban állt egymással. A hasonló méretű és alakú kromoszómák megkülönböztetésére azonban ezek a festési módszerek nem voltak alkalmasak, ezért különböző sávozási technikákat fejlesztettek ki. A sávozási technikákat profázisban levő kromoszómákon alkalmazták, amelyeknél pontosan elkülöníthető az eukromatin a heterokromatintól. A sávok kialakulásának molekuláris alapja a DNS bázisösszetételén és a kromatin helyi szerkezetén alapul. A repetitív szekvenciákat tartalmazó, adenin- és timin-gazdag heterokromatin a sávozási eljárások során erősebben festődik, mint a kódoló, guanin- és citozin-gazdag eukromatin. Az eu- és a heterokromatin egymáshoz való helyzete alapján a kromoszómákat meg lehet különböztetni (Gill és Kimber 1974, Nakata és mtsai. 1977, Merker 1979, Sethi és Plaha 1988). Az első sávozási technikát Caspersson és mtsai. (1968) írták le. A kinakrin mustár fluoreszcens festéket használták. A

váltakozó világos és halvány sávokat Q-sávoknak nevezzük. A Q-sávozás megjelenése óta számos más sávozási módszert dolgoztak ki. Ezek közé tartoznak a C-, R- és az 1970-es években elterjedt G-sávozási technikák. A G-sávozásnak is több fajtája ismert. Közös bennük, hogy egy előkezelést alkalmaztak, amely a fehérjék denaturációját idézte elő. Ez a kezelés történhet proteolitikus enzimekkel, hővel, sóval, vagy lúggal (Drets és Shaw 1971, Seabright 1971, Sumner és mtsai. 1971, Wang és Fedoroff 1972). Az előkezelés után a mintákat metilénkék-eozin keverékkel festik (pl. Giemsa-, Leishman-, Wright-festék). A R (reverz)-sávozás eredményeként a Q- és a G-sávok negatív képét kapjuk meg. Az R-sávozás hasznos kiegészítője a G-sávozásnak, segítségével olyan sávokat is láthatóvá lehet tenni, amelyek a G-sávozás után kevésbé láthatóak. A telomérák láthatóvá tételében is hasznos, mivel ezek a G-sávozás során jelöletlenek maradnak.

2.5.2. Molekuláris citogenetikai módszerek

A klasszikus citogenetikai módszerekkel sikerült a kromoszómákat morfológiailag jellemezni, azonban a kisebb méretű, idegen fajból származó kromoszómák kimutatására alkalmatlanok voltak. A molekuláris citogenetika *in situ* hibridizációs technikákon alapuló módszerekkel vizsgálja a genomok összetételét és a genomokban végbemenő kromoszómaváltozásokat. Ezek a módszerek forradalmian új lehetőséget biztosítottak a citogenetikai vizsgálatokhoz, szinte bármilyen fajról legyen szó, illetve a kromoszómák morfológiájától függetlenül.

Az *in situ* hibridizációt az 1960-as években alkalmazták először (Gall és Pardue 1969, John és mtsai. 1969, Buongiorno-Nardelli és Amaldi 1970) citogenetikai preparátumokon gének vagy DNS-szekvenciák direkt vizualizálására a kromoszómákon. Először a hibridizálandó próbák jelölésére radioaktív módszereket használtak, majd autoradiográfiával detektálták a hibridizációs jeleket. Az első nem izotópos jelölést az 1980-as évek elején Langer-Safer és mtsai. (1982) alkalmazták, mely segítségével politén kromoszómákon biotinnal jelölt repetitív DNS-szekvenciákat mutattak ki. A nem izotópos *in situ* hibridizációs technikát növényi fajon (búzán) először Rayburn és Gill (1985) alkalmazta. A próba-DNS-t biotinilált dUTP-vel jelölték, a detektáláshoz pedig enzimátikus riporter molekulát használtak, amely avidinhez vagy streptavidinhez konjugáltatott, rendszerint tormából származó peroxidáz vagy alkalikus foszfatáz volt. A jel detektálása során az izotópok helyett használt fluorokrómoknak (Langer-Safer és mtsai. 1982, Pinkel és mtsai. 1986)

számos előnyük van. A különböző próbákat különféle hapténekkal lehet jelölni, majd specifikus antitestekhez kötött, eltérő emissziós spektrumú fluorokrómmokkal (multikolor FISH, GISH) egyszerre lehet őket detektálni. Ilyen módon az egyes próbák fizikális helyzete a kromoszómákon meghatározhatóvá vált (Lichter és mtsai. 1990, Leitch és mtsai. 1991).

2.5.2.1. Fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH)

A gabonafélék osztódó gyökércsúcsából készített metafázisos kromoszómapreparátumokra hibridizált próbák alkalmasak a kromoszómák azonosítására és kimutatására. A próba-DNS jellege alapján az *in situ* hibridizációs módszereket két csoportra oszthatjuk.

A FISH (fluoreszcens *in situ* hibridizáció) során repetitív DNS-szekvenciákat (pl. pSc 119.2, Afa family, pTa 71, mikroszatellit szekvenciák), míg a GISH (genomi *in situ* hibridizáció) során teljes genomi DNS-t hibridizálunk a kromoszómapreparátumokra. A repetitív DNS-próbák hibridizációs jelei összetett és specifikus mintázatot adnak az egyes kromoszómákon. Megfelelő próbakombinációkat használva a mintázat még specifikusabbá tehető, s ez lehetővé teheti az egyes fajok kromoszómáinak azonosítását, kariotípusaik elkészítését.

A gabonaféléknél használatos próbák közül a pSc119.2 egy 120 bp hosszú, rozból izolált (Bedbrook és mtsai. 1980) tandem ismétlődő szekvencia. Használatával a búza összes B kromoszómája és néhány A és D kromoszóma is azonosítható (Rayburn és Gill 1985). Rayburn és Gill (1986) az *Ae. squarrosá*-ból (szinonima: *Ae. tauschii*) izoláltak egy 1 kb hosszú, erősen ismétlődő szekvenciát, melyet a pAs1 plazmid tartalmazott. Ez a szekvencia D-genom-specifikusnak bizonyult, segítségével a hexaploid búza mind a hét D kromoszómája egyértelműen azonosítható volt. Mukai és mtsai. (1993) a pSc119.2 és a pAs1 próbát együtt alkalmazva a búza összes B- és D-genom-kromoszómáit azonosították, ezenkívül az 1A, 4A és az 5A is elkülöníthető volt. A (GAA)_n mikroszatellit szekvenciát és a pAs1 próbát együtt alkalmazva a búza teljes kromoszómakészlete azonosíthatóvá vált (Pedersen és Langridge 1997).

A GAA mikroszatellit DNS-szekvencia elsősorban a B genomhoz kötődik, de jelet ad az A és a D genom kromoszómáin is (Dennis és mtsai. 1980, Pedersen és mtsai. 1996, Pedersen és Langridge 1997). A pAs1 és a GAA szekvencia kombinálásával már mind a 21 pár búzakromoszóma megkülönböztethető egymástól (Pedersen és Langridge 1997, Molnár és mtsai. 2007). Nagaki és mtsai. (1995) a

pAs1 klónt restriktációs enzimekkel emésztették. Az *AfaI* endonukleázzal kezelt pAs1 klónból sikerült azonosítaniuk egy konzerválódott, tandem ismétlődő szekvenciát, amelyet Afa családnak nevezték el. Az eukarióta riboszomális gének általában ismétlődő egységekben vannak jelen a genomban, ezek a szekvenciák szintén használhatóak a kromoszómák azonosításához. A pTa71 próba (Gerlach és Bedbrook 1979) 18S-5,8S-25S rDNS, egy 9 kb hosszúságú *EcoRI* fragmentum, amely 18S, 5,8S és 25S rRNS géneket és intronokat tartalmaz.

A mikroszatellitek a tandem ismétlődő DNS-szekvenciák egy csoportját alkotják, melyek széles körben elterjedtek az eukarióta genomokban (Tautz és Renz 1984). Sok növényfajban, így a *Triticeae*-knél is a genom legnagyobb hányadát képviselik (Cuadrado és mtsai. 2008). Rövid, 1–5 bp hosszú, ismétlődő motívumokból állnak. A gyakori előfordulásuk mellett az ismétlődések száma is nagyon változó, akár individuális szinten is (Cuadrado és Schwarzacher 1998). A mikroszatellitek gyakorisága és változatos előfordulásuk egy adott lokuszon a genomban alkalmassá teszi őket fajok, fajták, egyedek azonosítására és genetikai térképek szerkesztésére (Weber és May 1989, Weising és mtsai. 1989, Powell és mtsai. 1996).

Számos tanulmány foglalkozik a mikroszatellitek kromoszómákon történő fizikai térképezésével *in situ* hibridizációval. Pedersen és mtsai. (1996) voltak az elsők, akik fluoreszcens jelölést használtak mikroszatellit-próbák térképezésére. A (GAA)₇ oligonukleotidot terminális dezoxinukleotidil-transzferáz segítségével, biotin-14-dATP-vel jelölték. A szekvencia előfordulását 27 *Triticeae* fajban vizsgálták. Pedersen és Linde-Laursen (1994) szintén a GAA mikrosatellit szekvenciákat hibridizálta árpa kromoszómákra. A próba határozott mintázatot adott a kromoszómákon, segítségével az összes árpakromoszóma azonosítható volt. Ezt kihasználva azonosított Molnár és mtsai. (2007) egy 4H(4D) búza-árpa szubsztitúciós vonalat a GAA és pAs1 próbák kombinációjával. Schmidt és Heslop-Harrison (1996) cukorrépa- (*Beta vulgaris* L.) kromoszómákon vizsgálta a mikrosatellit szekvenciák fizikai pozícióját. A vizsgált szintetikus próbák mindegyike jellegzetes térbeli mintázatot adott az egyes kromoszómákon, például az (AC)₈ próba a 16 pár kromoszóma centromerje közelében adott jelet. Cuadrado és Schwarzacher (1998) tíz SSR próbát térképeztek fizikailag FISH segítségével hexaploid búzán, rozson (*Secale cereale* L.) és tritikálén (*×Triticosecale* Wittmack). Martonvásáron Molnár és mtsai. (2005, 2011a, 2016) számos *Aegilops* faj kariotípusát, míg Linc és mtsai. (2012) az *Elytrigia elongata* E genomjának

kariotípusát határozták meg. Badaeva és mtsai. (2015) három diploid A genommal rendelkező *Triticum* faj kariotípusát készítette el. Megyeri és mtsai. (2016) hat mikroszatellit szekvenciát használt FISH próbaként *T. monococcum* genomján. A *T. timopheevii* ($2n=4x=28$) G és A^t kromoszómáinak azonosítása végett Badaeva és mtsai. (2016) tizenegy molekuláris citogenetikai markert írtak le. A GAA_n és a pSc119.2 próbakombinációval a G genomhoz tartozó kromoszómákat és néhány A^t kromoszómát is azonosítani tudtak. A transzlokációk azonosítását gyakran gátolja az a tény, hogy az idegen kromoszómaszegmentumon nincs detektálható és diagnosztikus fluoreszcens jel. Ezért szükség volna minél többféle, a kromoszómák interkaláris régióiban is jeleket adó próbák előállítására.

2.5.2.2. Genomi *in situ* hibridizáció (GISH)

A búzával történő faj- és nemzetségkeresztezések során az utódok kromoszómaösszetételének vizsgálatában jelentős előrelépésnek bizonyult a genomi *in situ* hibridizáció kidolgozása (Le és mtsai. 1989, Schwarzacher és mtsai. 1989). A módszer során egy vagy több (mcGISH: multikolor genomi *in situ* hibridizáció) teljes genomi DNS-t jelölünk és használunk próbaként. A hibridizáció után megkülönböztethetőek a különböző fajokból származó, alloplloid fajok esetén a különböző genomokhoz tartozó kromoszómák az eltérő színű fluoreszcens jel alapján.

A GISH során a próba előállítása egyszerűbb, mint a FISH-nél, nincs szükség a DNS amplifikációjára. Az optimális próba-DNS mérete 200–500 bp, ezért szükség lehet a teljes genomi DNS fragmentálására. Az örökítőanyag restriktív enzimekkel, szonikálással vagy autoklávozással törhető kisebb méretű fragmentumokra (Sánchez-Morán és mtsai. 1999). A fluorokróm lehet közvetlenül a próbához kötve (direkt jelölés), vagy konjugáltható más, a próbához specifikusan kötődő molekulákhoz (indirekt jelölés). Az indirekt jelöléskor leggyakrabban digoxigenint és biotint építenek be a próbába, majd a hibridizáció után fluorokrómokkal jelölt ellenanyagokkal (anti-digoxigenin; avidin vagy streptavidin) detektálják a jelet. A direkt jelölés alkalmazásakor az *in situ* hibridizáció kevesebb lépésből áll, azonban az indirekt jelölés érzékenyebb. A jelölt nukleotidokat többféleképpen lehet a próbába beépíteni, általában a nicktranszlációt, random primingot és a PCR reakciót használják a DNS jelölésére. A nicktranszláció során a DNáz I enzim a kettős szálú DNS egyik szálán random elhasít egy foszfodiészter kötést, ún. „nick”-eket (nukleinsav-folytonossági hiány) vág, szabad 3' hidroxil véget hozva létre. Egy

másik enzim, a DNS polimeráz I (5'→3' exonukleáz és 5'→3' polimeráz aktivitással rendelkezik) a „nick” szabad 3', hidroxil csoportját primerként használva 5'→3' irányban a komplementaritás elvének megfelelően szintetizálja az új szálát, miközben a szintézis irányával megegyezően az exonukleáz aktivitásának köszönhetően eltávolítja a nukleotidokat. A szintézis során a reakcióelegyben levő jelölt dezoxiribonukleozidok is beépülnek. A random priming módszernél a DNS-t denaturálni kell, majd random hexanukleotidokat, a DNS-polimeráz Klenow-fragmentumát és a jelölt dNTP-eket adnak a reakcióelegyhez. A hexanukleotidok a denaturált DNS-hez hibridizálnak, és primerként szolgálnak a polimeráz számára, amely megszintetizálja a komplementer szálát, beépítve a jelölt dNTP-eket. A PCR segítségével történő próbajelölés megegyezik egy hagyományos PCR reakcióval, azzal a különbséggel, hogy a reakcióelegy jelölt dNTP-eket is tartalmaz. Mindhárom módszer esetében elterjedt a DNS jelölő kettek használata, amelyek a jelölendő DNS-fragmentumon kívül a reakcióhoz szükséges minden összetevőt tartalmaznak, és standardizált összetételüknek köszönhetően megkönnyítik a próbajelölést. A hibridizáció során blokkoló DNS használata is nélkülözhetetlen, főleg az olyan esetekben, ahol a megkülönböztetendő genomok között nagy a homológia. A búza–*Aegilops* fajhibridekben és származékaikban a nem specifikus hibridizáció elkerülése miatt a jelölni nem kívánt búzakromoszómákat jelöletlen búza-DNS-sel blokkolják, így az *Aegilops*-próba kisebb valószínűséggel hibridizál a búzakromoszómákhoz. A homológia szintjétől függően a blokkoló DNS mennyisége 20-szoros próbamennyiségtől 200-szorosig változhat.

GISH technikával általában azok a genomok különböztethetőek meg, amelyek 80–85%-ban homológok (Schwarzacher és mtsai. 1989). Martonvásáron GISH segítségével mutattak ki árpa- (Molnár-Láng és mtsai. 2000a, 2000b), rozs- (Lángné Molnár és mtsai. 1996, Szakács és mtsai. 2016, Schneider és mtsai. 2016), *Thinopyrum*- (Kruppa és mtsai. 2016) és *Aegilops*- (Molnár és mtsai. 2009, Farkas és mtsai. 2014) kromoszómákat, valamint transzlokációkat búza genetikai háttérben.

Az egyféle próbát alkalmazó GISH továbbfejlesztett változata a mcGISH, melynek során két vagy több különböző fluorokrómmal jelölt próbát alkalmaznak. Így nő a kimutatás érzékenysége, és egyszerre több genom vizsgálható.

A hexaploid búza genomjainak szimultán elkülönítéséről először Mukai és mtsai. (1993) számoltak be. Az mcGISH során az A genom progenitor *T. urartu* totál genomi DNS-t biotinnal, míg a D genom progenitor *Ae. squarrosa* totál genomi DNS-t digoxigeninnel jelölték. A detektáláshoz fluoreszceint és rodamint használtak.

Blokkolóként az *Ae. speltooides* teljes genomi DNS szolgált. A hibridizáció eredményeként az A genom sárga, a B jelöletlen genom barna, míg a D genom narancsszínnel volt látható. A módszert Sánchez-Morán és mtsai. (1999) fejlesztették tovább. Búza–rozsz hibrideket és búza–rozsz transzlokációs vonalakat vizsgáltak, melyekben a búza három genomja mellett a rozsgenomot is ki tudták mutatni.

A *Thinopyrum* genusba tartozó fajok kromoszómáinak detektálását is kidolgozták (Han és mtsai. 2003, Jauhar és Peterson 2006). Martonvásáron Sepsi és mtsai. (2008, 2009) alkalmazta a módszert búza–*Thinopyrum ponticum* részleges amfiploid jellemzésére, ahol próbaként J, A és D genomi DNS-t használt. Kruppa és Molnár-Láng (2016) a *Thinopyrum intermedium* és a *Thinopyrum ponticum* szintetikus hexaploid kromoszómáit jellemezte. A *Thinopyrum*-kromoszómákat a fajhibrid búzával visszakeresztett levél- és sárgarozsdarezisztens származékaiban is ki tudták mutatni (Kruppa és mtsai. 2016).

Az U és M genomok GISH technikával történő kimutatására is találunk információt. Nasuda és mtsai. (1998a) az *Ae. comosa* M genomját azonosították búza háttérben. Próbaként *Ae. comosa* genomi DNS-t használtak a 30-szoros blokkoló búza genomi DNS mellett.

Az allotetraploid *Ae. geniculata* ($2n=4x=28$, $U^gU^gM^gM^g$) és az *Ae. triuncialis* ($2n=4x=28$, $U^tU^tC^tC^t$) fajok M^g és U^t kromoszómáit sikeresen mutatták ki Aghaee-Sarbarzeh és mtsai. (2002) a diploid ősök (*Ae. comosa* és *Ae. umbellulata*) genomi DNS-ét használva próbaként. Benavente és mtsai. (2001) mcGISH segítségével azonosították az *Ae. ovata* L. (syn.: *Ae. geniculata*) U^g és M^g kromoszómáit durumbúza–*Ae. ovata* amfiploidokban. Az *Ae. biuncialis* U^b és M^b genomjainak egymás mellett történő kimutatását Molnár és mtsai. (2009) publikálták. McGISH segítségével γ -sugárzásnak kitett búza–*Ae. biuncialis* amfiploidokban vizsgálták a genomok közötti kromoszóma-átrendeződések létrejöttét és öröklődését. A diploid ősök (*Ae. comosa* és *Ae. umbellulata*) eltérő módon jelölt genomi DNS-ével történt hibridizáció eredményeként az U^b és az M^b kromoszómák tisztán elkülöníthetőek voltak a piros és a zöld fluoreszcens jelek alapján egymástól és a jelöletlen búzakromoszómáktól. Az mcGISH alapján búza– U^b , búza– M^b és U^b – M^b kromoszómaátrendeződéseket figyeltek meg, amelyek dicentrikus kromoszómák, centrikus fúziók, terminális és intersticiális transzlokációk voltak.

2.5.3. Molekuláris markerek

Addíciós vonalak azonosítására és jellemzésére először morfológiai, izoenzim és tartalékfehérje markereket használtak (Tang és Hart 1975, Hart és mtsai. 1980, Guadagnuolo és mtsai. 2001). Mivel ezek a markerek korlátozott mennyiségben állnak rendelkezésre, a kromoszómaátrendeződések azonosításában játszott szerepük csekély.

Az első DNS alapú markerek a restrikciós fragmentum hosszpolimorfizmus (Restriction Fragment Length Polymorphism:RFLP), a véletlen amplifikált polimorf DNS (Random Amplification of Polymorphic DNA:RAPD, Williams és mtsai. 1990) és az amplifikált fragmenthossz-polimorfizmus (Amplified Fragment Length Polymorphism: AFLP, Vos és mtsai. 1995) voltak, melyekkel búza-idegen faj introgressziós vonalakat vizsgáltak (Fedak 1999). Mivel ezek a markerek nem igényelnek semmilyen előzetes szekvenciaismeretet, számos munkában használták őket kromoszómák, kromoszómakarok, addíciós és szubsztitúciós vonalak azonosítására (Devos és Gale 1993, King és mtsai. 1993, Wang és mtsai. 1995, Hernández és mtsai. 1996, Francki és mtsai. 1997).

Annak ellenére, hogy a 90-es években ezek a markertípusok népszerűek voltak, idő-, és munkai igényességük, valamint drágaságuk miatt nagy mennyiségű növényi anyag jellemzésére nem voltak alkalmasak. A genomban random elhelyezkedő transzpozábilis elemek is használhatóak markerekként (Nagy és Lelley 2003, Queen és mtsai. 2004). Nagy és mtsai. (2006) a „SINE” (Short interspersed nuclear elements; rövid szétszórtan ismétlődő elem) és az *Ae. umbellulata*-ban azonosított „Au” rövid ismétlődésre tervezett S-SAP (Sequence-specific amplified polymorphism) markereket, majd azonosította őket búza-*Ae. biuncialis* és búza-*Ae. geniculata* addíciós sorozatok U és az M genom kromoszómáin. A molekuláris markerek újabb generációját, az SSR vagy mikroszatellit markereket (Tautz 1989) szintén felhasználták az előnemesítésben (Gupta és mtsai. 2003, Bandopadhyay és mtsai. 2004, Yu és mtsai. 2004). Az SSR markerek fejlesztéséhez genomi szekvenciák szükségesek, ezért ez a markertípus az EST-k (expressed sequence tags), cDNS és BAC könyvtárakkal párhuzamosan fejlődött ki. A cDNS-könyvtárak és a vázlatos- (draft-) szekvencia-adatok (árpa, búza, *Ae. tauschii*, *T. urartu*) mellett az EST-k nyújtják a leggazdagabb genomiszekvencia-információt a *Triticeae* törzsbe tartozó fajokról. Qi és mtsai. (2004) 16000 EST lokuszt térképeztek búza-deléciósvonalakon. Ezek az EST-k kiváló forrást nyújtanak a specifikus

kromoszómarégiókra tervezett génspecifikus markerek előállításához. A COS (conserved ortholog set) markerek génalapú markerek, melyeknél az egyik primert az exon-intron határra tervezik, míg a másik primer az intronban helyezkedik el (Fulton és mtsai. 2002). Polimorf tulajdonságukat a két exon közé eső, az exonnál nagyobb polimorfizmust mutató intronszekvenciának köszönhetik. A megszekvenált modell fajokra tervezett COS markerek más fajok esetében is használhatók, így a gabonafélék genomikájában is megjelentek (Bertin és mtsai. 2005, Quraishi és mtsai. 2009). A búzaspecifikus COS markereket Burt és Nicholson (2011), valamint Howard és mtsai. (2011) is használták *Aegilops* fajokon. Molnár és mtsai. (2013) búza COS markereket tesztelt *Ae. biuncialis*-on. A markerspecifikus EST-eket *Brachypodium* és rizs genomi szekvenciákhoz hasonlítva (BLAST) megállapítható volt a fajok közötti makroszinténia, azaz az egyes lokuszok genomi lokalizációja az *Aegilops* és a modell fajok kromoszómáin. Molnár és mtsai. (2014, 2015) a búza diploid őseiből és C genomú *Aegilops* fajokból (*Ae. markgrafii*, *Ae. triuncialis*, *Ae. cylindrica*) áramlásos citométerrel izolált (flow-sorted) kromoszómákat, majd azokon azonosított COS markereket. Molnár és mtsai. (2016) egy későbbi munkában az *Ae. umbellulata*, *Ae. comosa*, *Ae. speltoides*, *Ae. markgrafii* egyedi kromoszómáit izolálta kétparaméteres flow-citometriával. Az izolált kromoszóma-specifikus mintákon 100 COS markert sikerült azonosítani. Ezeket a markereket korábban a búza A, B és D genomján már fizikailag térképezték, ezért lehetséges volt a búza és ezen *Aegilops* genomok közötti szinténia meghatározása, amely nagyszámú átrendeződést mutatott az U és a C genomoknál, míg az M és az S genomok a búzához képest hasonló struktúrát mutattak.

Az eddig említett markerrendszerekkel egyszerre egy marker vizsgálata volt lehetséges, habár több marker egyszerre történő detektálása vagy a multiplex PCR felgyorsíthatják a genotipizálási munkát. A hatékonyságuk még így is messze elmaradt a kívánatos nagy áteresztőképességtől, ahol több ezer növény vizsgálata lenne szükséges néhány markerrel, vagy egy kisebb növényi anyagon több millió különböző markert kellene tesztelni. A 2000-es évek elején új markerrendszerek és nagy áteresztőképességű genotipizáló technikák jöttek létre, majd robbanásszerű fejlődésnek indultak. A Diversity Arrays Technology által fejlesztett DArT markerek először microarray eredetű, hibridizáción alapuló, előzetes szekvenciaismeretet nem igénylő markerrendszer, amellyel több ezer polimorf lokuszt lehet azonosítani egy vizsgálattal (Jaccoud és mtsai. 2001). Az újabb változata a DArT-seq már az új generációs szekvenálásos módszeren alapul. Az új generációs szekvenálásnak

közönhetően terjedtek el az egyszerű nukleotid polimorfizmus (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) markerek. A búza genotipizálására is számos SNP-alapú technológia jelent meg (Illumina iSelect, Illumina Infinium, Affymetrix Axiom), melyek akár 1 millió markert is tartalmazhatnak. A kompetitív allél specifikus PCR (KASP) markerek (He és mtsai. 2014) allélspecifikusak, és fluoreszcens detektálással azonosíthatók.

2.6. A búza mikroelem-tartalmának növelése

A mikroelemek nélkülözhetetlenek a humán táplálkozásban, és elégtelen napi bevitelük súlyos megbetegedésekhez, hiánybetegségekhez vezet. A cink egyike azoknak az elemeknek, melyek létfontosságú szerepet töltenek be a szervezet működésében, ennek ellenére a világ lakosságának közel fele cinkhiányban szenved (Welch és Graham 2004, Cakmak 2008). A kenyérbúza a világ számos helyén a legfontosabb élelmiszer-alapanyag, viszont mikroelem-tartalma viszonylag kicsi (Cakmak és mtsai. 2000), ezért fontos lenne olyan genotípusok előállítása, melyeknek nagy a mikroelem-tartalmuk. A búza táplálkozási értékének a növelése, biofortifikációja hosszú távon is fenntartható és költséghatékony módszer (Stein és mtsai. 2007, Cakmak 2008).

A búza vad rokon fajainál, köztük több *Aegilops* fajnál (pl. *Ae. longissima*, *Ae. kotshii*, *Ae. cylindrica*, *Ae. ventricosa*, lásd a 3. táblázatot) mutattak ki a búzáénál nagyobb mikroelem-tartalmat a szemtermésben (Calderini és Ortiz-Monasterio 2003a, Chhuneja és mtsai. 2006, Rawat és mtsai. 2009b). Ezért ezek a fajok potenciálisan alkalmasak a búza biofortifikációjára.

3. táblázat. A búza, durumbúza, vad *Triticum* és *Aegilops* fajok szemtermésének vas- és cinktartalma.

| Fajnév | Genotípusok száma | Genom-jelölés | Fe (mg/kg) | Zn (mg/kg) | Hivatkozás |
|--|-------------------|-------------------------------|------------|------------|-----------------------|
| <i>T. aestivum</i> | 13 | BAD | 21,3–30,6 | 14,9–19,3 | Rawat és mtsai. 2009b |
| <i>T. turgidum</i> subsp. <i>durum</i> | 2 | BA | 21,9–25,6 | 13,7–19,6 | Rawat és mtsai. 2009b |
| <i>T. monococcum</i> | 19 | A ^m A ^m | 23,9–40,5 | 22,1–39,1 | Rawat és mtsai. 2009b |
| <i>T. turgidum</i> subsp. <i>dicoccoides</i> | 17 | BA | 27,7–42,7 | 22,5–66,5 | Rawat és mtsai. 2009b |
| <i>T. araraticum</i> | 6 | GA | 23,1–59,1 | 19,3–30,5 | Rawat és mtsai. 2009b |
| <i>Ae. longissima</i> | 5 | S ^l | 59,1–81,6 | 25,0–50,5 | Rawat és mtsai. 2009b |
| <i>Ae. kotschyi</i> | 14 | US | 22,9–91,0 | 22,3–58,6 | Rawat és mtsai. 2009b |
| <i>Ae. peregrina</i> | 10 | US | 34,4–82,3 | 33,1–49,5 | Rawat és mtsai. 2009b |
| <i>Ae. cylindrica</i> | 3 | CD | 52,2–93,3 | 32,4–52,2 | Rawat és mtsai. 2009b |
| <i>Ae. ventricosa</i> | 3 | DN | 55,4–93,5 | 24,0–39,1 | Rawat és mtsai. 2009b |
| <i>Ae. geniculata</i> | 3 | UM | 52,3–82,0 | 31,9–40,8 | Rawat és mtsai. 2009b |
| <i>T. aestivum</i> | 5 | BAD | 29,0–43,3 | 27,0–35,2 | Kumar és mtsai. 2015 |
| <i>T. monococcum</i> | 3 | A ^m A ^m | 42,0–46,7 | 44,8–47,9 | Kumar és mtsai. 2015 |
| <i>T. turgidum</i> subsp. <i>dicoccoides</i> | 2 | BA | 30,6–38,7 | 33,7–44,3 | Kumar és mtsai. 2015 |
| <i>Ae. tauschii</i> | 2 | D | 53,6–54,0 | 32,6–38,1 | Kumar és mtsai. 2015 |
| <i>Ae. umbellulata</i> | 2 | U | 67,3–68,0 | 57,1–74,8 | Kumar és mtsai. 2015 |
| <i>Ae. longissima</i> | 1 | S ^l | 103,8 | 111,9 | Kumar és mtsai. 2015 |
| <i>Ae. speltoides</i> | 1 | S | 61,3 | 99,9 | Kumar és mtsai. 2015 |
| <i>Ae. kotschyi</i> | 2 | U ^k S ^k | 52,1–56,8 | 47,7–64,0 | Kumar és mtsai. 2015 |
| <i>Ae. peregrina</i> | 3 | U ^p U ^p | 54,5–77,3 | 48,0–58,0 | Kumar és mtsai. 2015 |

Az *Ae. biuncialis* szemtermésének mikroelem-tartalmát eddig nem vizsgálták, rendelkezésre állnak eredmények az U és/vagy M genomot tartalmazó fajok esetében (*Ae. geniculata*, U^gU^gM^gM^g; *Ae. peregrina*, U^pU^pS^pS^p; *Ae. kotchyi*; U^kU^kS^kS^k), melyeknek 3–4-szer akkora a mikroelem-tartalmuk, mint a búzáé (Rawat és mtsai. 2009b). Létrehoztak továbbá olyan búza–*Aegilops* amfiploidokat, melyek mikroelem-tartalma az *Aegilops* szülőre volt jellemző, így bizonyítva, hogy a nagyobb mikroelem-tartalomért felelős allélek búza háttérben is kifejeződnek (Tiwari és mtsai. 2008, Rawat és mtsai. 2009a).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Növényi anyag

A mikroszatellit szekvenciák FISH próbaként való alkalmazását a 4. táblázatban részletezett *Aegilops* fajok génbanki tételein vizsgáltuk.

4. táblázat. Új FISH próbák fejlesztéséhez felhasznált növényi anyag

| Fajnév | Génbanki szám | Kromoszómaszám | Genomjelölés |
|------------------------|---------------|----------------|--------------|
| <i>Ae. comosa</i> | TA2760 | 2n=2x=14 | MM |
| <i>Ae. markgrafii</i> | MvGB428 | 2n=2x=14 | CC |
| <i>Ae. speltoides</i> | MvGB905 | 2n=2x=14 | SS |
| <i>Ae. tauschii</i> | MvGB605 | 2n=2x=14 | DD |
| <i>Ae. umbellulata</i> | AE740/03 | 2n=2x=14 | UU |
| <i>Ae. uniaristata</i> | JIC2120001 | 2n=2x=14 | NN |

A különböző génbanki azonosítóval kezdődő tételek származása:

TA: Wheat Genetics Resource Center, Kansas State University

MvGB: Martonvásári Gabona Génbank

AE: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben

JIC: John Innes Centre, Norwich

A génbanki tételeket a Martonvásári Gabona Génbank tenyészkertjében szaporítottuk fel.

A búza–*Ae. biuncialis* introgressziós vonalak előállításához a következő növényi anyagot használtuk fel:

- ‘Mv9kr1’: a Martonvásári 9 *kr1* a *kr1* recesszív keresztezhetőségi gént tartalmazza (Molnár-Láng és mtsai. 1996). Jó agronómiai tulajdonságai vannak, de a rozsdabetegségekre fogékony genotípus.
- *Ae. biuncialis* MvGB642 (ICAG400940)
- *Ae. biuncialis* MvGB382 (ICAG401297)
- *Ae. biuncialis* MvGB1112 (ICAG400808)

Az *Ae. biuncialis* genotípusokat az ICARDA (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas = Száraz Területek Agrárkutató Központja) génbankból, Szíriából kaptuk, felszaporításuk a Martonvásári Gabona Génbank tenyészkertjében történt.

A búza–*Ae. biuncialis* introgressziós vonalak mikroelem-tartalmának meghatározásához felhasznált növényi anyag:

- Búza–*Ae. biuncialis* 3M^b addíciós vonal ('Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* MvGB642)Mv25)'Mv9kr1'²) ⊗¹⁰ (Schneider és mtsai. 2005)
- Búza–*Ae. biuncialis* 3M^b(4B) szubsztitúciós vonal ('Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* 642)Mv25)'Mv9kr1'²)⊗⁶)CSph mut) ⊗⁶ (Molnár 2008)
- Búza–*Ae. biuncialis* 3M^b.4BS centrikus fúzió ('Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* 642)Mv25)'Mv9kr1'²)⊗⁶)CSph mut) ⊗⁶ (Molnár 2008)
- *Ae. biuncialis* MvGB642
- *Ae. biuncialis* MvGB382
- 'Mv9kr1'

Szintetikus amfiploidok előállításához felhasznált növényi anyag:

- *T. turgidum* subsp. *durum*'GK Novodur'
- *Ae. umbellulata* AE740/03
- *Ae. uniaristata* JIC2120001

3.2. Növénynevelés szántóföldön és fitotroni növénynevelő kamrákban, keresztezések

A szántóföldi növénynevelés Martonvásáron, a Tükrös tenyészkertben (GPS koordináták: É47° 18' 40" K18° 46' 56") történt. A szemeket (10 darab) egymástól 15 centiméterre levő, 1 méter hosszúságú sorokba vetették. A fitotroni kamrákban történő növényneveléskor a növényeket csíráztatás után tápkockákba ültették, 6–8 hétig 4 °C-on vernalizáltuk (200 μmol·m⁻²·s⁻¹). A vernalizáció után cserepekbe ültették át őket, majd Conviron PGR-15 (Conviron, Winnipeg, Kanada) típusú növénynevelő szekrényekben helyezték el. A növénynevelés Tischner és mtsai. (1997) által kidolgozott módszer szerint történt. A növények ültetéstől bokrosodásig 12 óra megvilágítás mellett (200 μmol·m⁻²·s⁻¹), valamint 15 °C nappali és 10 °C éjszakai hőmérsékleten fejlődtek, majd a hőmérsékletet 2-2 °C-kal, a megvilágítást pedig 2 órával növeltük szárba induláskor, virágzáskor és a szemfejlődés kezdetén. Üvegházi növénynevelés esetén (Global Glasshouse Venlo) a kezdeti 11/7 °C-os (éjszakai/nappali) hőmérséklet 23/17 °C-ra, a megvilágítás pedig 13-ról 16 órára emelkedett a növények érettségéig (12 hét). A keresztezések szántóföldön (Tükrös tenyészkert, általában május 5-étől 20-áig), fitotroni kamrákban, illetve üvegházban

történtek, általában 20 és 25 °C között. Kasztrálás után az anyanövényeket izoláltuk, majd 2–4 nap múlva pörgetéssel délelőtt, 9 és 11 óra között poroztuk be őket. A *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Ae. umbellulata* AE740/03 és a *Triticum turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Ae. uniaristata* JIC2120001 F₁ növényeket kolchicinnel kezeltük. A kezelés előtt fitotronban neveltük. A bokrosodást követően a növények gyökerét visszavágtuk, és 4 órára 0,04%-os kolchicinoldatba helyeztük, ezt követően 12 órán keresztül folyó vizes kimosást alkalmaztunk. A növényeket ezután újra elültettük és felneveltük.

3.3. Molekuláris citogenetikai vizsgálatok

3.3.1. Kromoszómapreparátumok készítése

A molekuláris citogenetikai vizsgálatokhoz a növények szemeit nedves szűrőpapíron, Petri-csészékben csíráztattuk. A csírázás megindulását (a szemek megpattanását) követően a Petri-csészéket kb. 72 órán keresztül 4 °C-on inkubáltuk, hogy a gyökércsúcs merisztémasejtjeinek osztódása leálljon. Ezt követően a szemeket 26 órára 25 °C-os termosztátba helyeztük, ahol az osztódás szinkronizáltan újra elindult. Huszonhat óra letelte után (mitózis metafázisa) a kifejlődött kb. 1–1,5 cm hosszú gyökereket jeges vizet tartalmazó fiolákba szedtük, majd jégen tárolva 4 °C-ra helyeztük 24 órára, ami ismét leállította az osztódást. Ezután a gyökereket abszolút alkohol és jégcet 3 : 1 arányú keverékében fixáltuk, majd 4–5 napra 37 °C-ra helyeztük. A fixálás után kárminecetsav 1%-os oldatában két órán keresztül áztattuk, mely során a gyökércsúcsok megfestődtek. A gyökereket friss fixáló oldatba átrakva, felhasználásig –20 °C-on tároltuk. A preparátumkészítéskor a gyökércsúcsból 0,5–1 mm-t levágtunk (eltávolítottuk a gyökérsüveget), aztán a merisztémasejtet kinyomtuk a tárgylemezre. Egy-két csepp 45%-os ecetsavoldatot cseppentettünk rá, majd óvatosan szétnyomva fáziskontraszt-mikroszkóp alatt vizsgáltuk. A preparátumokról a fedőlemezt folyékony nitrogénben történő fagyasztás után távolítottuk el, aztán etanolsorozatban (70%, 90%, 100%) víztelenítettük ezeket. Hibridizálási a kromoszóma-preparátumokat –20 °C-on tároltuk.

A kicsírázott szemekből minden esetben felneveltük a növényeket. A növények és a hozzájuk tartozó gyökerek nyomon követése vágett a csíráztatás során minden egyes szem egy egyedi azonosítót, úgynevezett citológiai számot kapott. Az kicsírázott szemek és a róluk leszedett gyökerek citológiai számmal ellátott

tápkockákba, illetve fiolákba kerültek. A citológiai számokat egy központi adatbázis, ún. „citológiai füzet” tartalmazza, ahol a növények pedigreejét is feltüntetjük, a citogenetikai vizsgálatok eredményeivel együtt.

3.3.2. Fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH)

A búza- és az *Aegilops*-kromoszómák azonosításához a *Triticeae* fajok esetében leggyakrabban használt három próbát használtuk, ezek az Afa family, a pSc119.2 és a pTa71. Az Afa family próba felszaporítását Nagaki és mtsai. (1995) által leírt módon, PCR-rel (Mastercycler Nexus, Eppendorf, Németország) végeztük *Ae. tauschii* genomi DNS-t használva templátként. A munka során előforduló primerek nevét, szekvenciáit, a PCR reakció profilját és a termékek hosszát a dolgozat végén található M2. melléklet tartalmazza. A pSc119.2 szekvenciákat rozs genomi DNS-ből amplifikáltuk Contento és mtsai. (2005) szerint, az F25 és az R147 primerpár segítségével. A pTa71 (Gerlach és Bedbrook 1979) 18S alegységének felszaporítását rizsből, Chang és mtsai. (2010) alapján, a P1 és a P2 primerpár segítségével végeztük. Az amplikon FISH hibridizációs mintázata megegyezik a korábban pTa71-nek elnevezett klón mintázatával (Gerlach és Bedbrook 1979), ezért változatlanul, pTa71 néven szerepel a dolgozatban. A PCR reakciókhoz a templát *Ae. tauschii*, rozs és rizs teljes genomi DNS-t a QuicKGene-Mini80 DNS-izoláló készülékkel (FujiFilm, Tokyo, Japán) és a hozzá tartozó kittel (QuickGene DNA tissue kit S, Kurabo Industries Ltd., Osaka, Japán) izoláltuk. A PCR során keletkezett reakciótermékeket (mindhárom próbánál) nicktranszlációs módszerrel, indirekt módon jelöltük, a gyártók által megadott protokollt követve. Az Afa familyt digoxigenin-11-dUTP-vel (DIG-Nick Translation Mix, Roche, Mannheim, Németország), a pSc119.2-t biotin-14-dATP-vel (BioNick™ DNA Labeling System, Invitrogen, Carlsbad, Egyesült Államok). A pTa71-et digoxigeninnel és biotinnal is jelöltük, hibridizációkor 1 : 1 arányú keverékét használtuk. A (GAA)_n, (ACG)_n, (CAG)_n, (AAC)_n, (CAC)_n, (ACT)_n mikroszatellit-próbák felszaporítását PCR-rel végeztük, a reakció során templát DNS-t nem használtunk. A self anealing eredményeként létrejött reakciótermékeket nicktranszlációval jelöltük digoxigenin-11-dUTP-vel és biotin-14-dATP-vel.

Az *in situ* hibridizációhoz a következő törzsoldatokat, munkaoadatokat alkalmaztuk:

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

- 2×SSC (1000ml): 900 ml MQvíz + 100 ml 20×SSC
- 4×SSC-Tween (500ml): 400 ml MQvíz + 100 ml 20×SSC +2,5 ml 10% Tween20
- TNB: 0,1M Tris-HCl, 150mM NaCl, 0,5% Blocking Reagent (Roche)
- paraformaldehid (50 ml): 50 ml MQ víz + 2g paraformaldehid + 8 µL 8M NaOH (pH 7,4)
- pepszin: 1 mg/ml 10 mM HCl-ben oldva (pH 7,5)

A kromoszómapreparátumok a hibridizáció előtt a következő kezeléseket kapták:

- pepszinkezelés: 35–60 másodperc, 1 mg/mL pepszin (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 10 mM HCl-ben oldva, 37 °C
- mosás: 2x-es SSC-ben 2 perc, 37 °C
- utófixálás: 4%-os paraformaldehid, 10 perc, szobahőmérséklet
- mosás: 2x-es SSC-ben 3 × 2 perc, szobahőmérséklet
- víztelenítés: jéghideg 70%-, 90%-, 100%-os alkoholsorozat, 3, 3 és 5 perc, – 20 °C-on.

Miután a tárgylemezeket szobahőmérsékleten kiszárítottuk, rájuk cseppentettük az előzőleg PCR készülékben denaturált (85 °C, 10 perc), majd jégen tárolt hibridizációs keveréket. A hibridizációs keverék összetétele a következő volt: 50 v/v% formamid, 10 v/v% 20×SSC, 1 v/v% 10%-os SDS, jelölt próbákból (Afa family pSc119.2, pTa71, SSR próbák) 10–20 ng, 7 ng lazacsperma-DNS (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, Egyesült Államok) és 25%-os dextranszulfáttal 30 µl-re kiegészítve. A fedőlemezzel lefedett preparátumok kromoszóma-DNS-ét PCR készülékkel denaturáltuk (75 °C, 6 perc). A hibridizáció hibridizációs kamrában, 100% relatív páratartalom mellett egy éjszakán keresztül történt, 37 °C-on. A nem specifikusan hibridizálódott próbák eltávolítására poszthibridizációs mosásokat alkalmaztunk, melyek a következők voltak:

- 2x-es SSC-ben 2 × 2 perc, 42 °C
- 0,1x SSC-ben 2 × 2 perc, 42 °C
- 2x-es SSC-ben 2 × 2 perc, 42 °C
- 4x SSC-Tween, 1 perc, 25 °C.

A mosások után az indirekten jelölt (digoxigenin-, biotin-) próbákat detektáltuk, TNB-ben oldott anti-digoxigenin-rhodamine (Roche), illetve streptavidin-Alexa Fluor® 488-cal (Molecular Probes, Thermo Fischer Scientific,

Waltham, MA, Egyesült Államok), sötétben, 37 °C-on, 30 percig. A detektálás után a tárgylemezeket 5 percig 4x SSC-Tween-ben inkubáltuk szobahőmérsékleten, 5 percig. Az inkubáció után a preparátumok kontrasztfestése 2 µg/ml DAPI-val (Thermo Fischer Scientific) történt, amelyet fakulást gátló VectaShieldben (Vector Laboratories, Burlingame, CA, Egyesült Államok) oldottunk fel. A preparátumok lefedése után a mintákat fluoreszcens-mikroszkóppal (Zeiss AxioImager M2, Carl Zeiss Microimaging GmbH, Göttingen, Németország) vizsgáltuk a fluorkrómokra specifikus szűrők (Zeiss filter set 38, 20, 49) segítségével. A preparátumokat AxioCam MRm CCD (Zeiss) monokromatikus fényképezőgéppel és a rendszert vezérlő AxioVision 4.8.2 szoftvert használva fotóztuk le.

A referencia (pSc119.2, Afa family és pTa71) és az SSR kariatípusok elkészítésekor fajokként 10-15 kromoszóma mintázatát vettük alapul.

3.3.3. Genomi *in situ* hibridizáció (GISH)

A genomi *in situ* hibridizációhoz a következő fajok jelölt genomi DNS-ét használtuk: *Ae. comosa*, *Ae. tauschii*, *Ae. umbellulata*, *Ae. uniaristata*. A DNS-izolálást a 3.3.2-es fejezetben bemutatott módszerrel végeztük. A totál genomi DNS-t indirekten, random priming módszerrel jelöltük. A biotinos jelöléshez a BioPrime® DNA Labeling System (ThermoFischer Scientific) kitet használtuk, a digoxigeninnel történő jelölés pedig a DIG DNA Labeling Kit (Sigma-Aldrich) segítségével történt. A búza háttérben történő különböző *Aegilops* genomok, ill. az allopoliploid *Aegilops* fajok genomjainak elkülönítése során a prehibridizációs mosások és a próbák detektálása megegyeztek a FISH-nél leírtakkal. A hibridizáció 42 °C-on zajlott. A különböző növényi anyagoknál használt próbákat, blokkolót és mennyiségüket a 5. táblázatban foglaltuk össze.

5. táblázat Az mcGISH során a különböző növényi anyagoknál alkalmazott genomi DNS próbák és a blokkoló DNS mennyisége.

| Növényi anyag és genomösszetétele | Kimutatandó genom(ok) | Próba DNS | Blokkoló és mennyisége |
|---|----------------------------------|--|---|
| Búza × <i>Ae. biuncialis</i> BC utódok (BBAADDU ^b U ^b M ^b M ^b) | U ^b M ^b | U _{bio} , (17 ng) M _{dig} (17 ng) | búza (BBAADD) 1700 ng (100x próba) |
| Durumbúza × <i>Ae. uniaristata</i> amfiploidok (BBAANN) | N | N _{dig} (70 ng) | durumbúza 4,2 µg (BBAA) (60x próba) |

3.4. SSR markeranalízis

3.4.1. Búza–*Aegilops. biuncialis* 3M^b szubsztitúció és centrikus fúzió jellemzése molekuláris markerekkel

A 3M^b addíció, a 3M^b szubsztitúció, a 3M^b centrikus fúzió, ‘Chinese Spring’*ph1b* mutáns és az *Ae. biuncialis* MvGB642 növényeken búza 4BS (Xbarc1045, Xgwm113, Xgwm368) és 4BL (Xgwm149, Xgwm251, Xgwm165) specifikus SSR markereket vizsgáltunk (Röder és mtsai. 1998, Somers és mtsai. 2004).

A PCR reakciókhoz a templát DNS-t QuicKGene-Mini80 DNS-izoláló készülékkel (FujiFilm, Tokyo, Japán) a hozzá tartozó kittel (QuickGene DNA tissue kit S, Kurabo Industries Ltd., Osaka, Japán) izoláltuk, kéthetes növények leveleiből. A PCR-t Eppendorf Mastercycler (Eppendorf, Németország) készülékben végeztük. A 25 µl végtérfogatú reakcióelegy a következő összetevőket tartalmazta:

- 20 ng templát DNS
- 5 µl 5× Green GoTaq puffer (MgCl₂ koncentrációja 1,5 mM), (Promega, Madison, Wisconsin, Egyesült Államok)
- 0,2 mM dATP, 0,2 mM dCTP, 0,2 mM dGTP, 0,2 mM dTTP
- 0,1-0,1 µM primer
- 0.625 U of GoTaq DNA polymerase (Promega, Madison, Wisconsin, Egyesült Államok)

A PCR termékeket és az etídium-bromidot tartalmazó 2,5%-os Seakem agaróz (Cambrex Bio Science, East Rutherford, New Jersey) gélen választottuk el. Létraként O’RangeRuler 50-bp DNA Laddert (Fermentas, Litvánia) használtunk. A gélfotók GeneGenius (Syngene, Egyesült Királyság) gél dokumentációs rendszerrel készültek.

3.5. Üvegházi levélrozsda-fertőzés

Vizsgáltuk a *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Ae. uniaristata* JIC2120001 és a *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Ae. umbellulata* AE740/03 amfiploidok F₃-as generációjának levélrozsda-ellenállóságát mesterséges, üvegházi fertőzéssel. A vizsgálatokat a Kalászos Gabona Nemesítési Osztály munkatársainak segítségével végeztük. A mesterséges inokulációhoz szükséges *Puccinia triticina* Eriks. uredospórákat a fogékony 'Alcedo' őszi búzafajtán, üvegházban szaporítottuk fel. A fertőző anyag pontos rasszösszetétele nem ismert, azonban a közel izogén vonalak mesterséges tenyészkerti fertőzése alapján az *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr29* és *Lr35* rezisztenciagének nyújtanak védelmet ellene (Vida és mtsai. 2011). A vetést követő 8. napon fertőztük az egyleveles állapotú növényeket, uredospórák vizes szuszpenziójával. Az inokulálást követően a cserepeket műanyag zacskóval takartuk be 48 órára, majd 22 °C-os, normál páratartalmú üvegházi kamrában, 16 órás megvilágítás mellett neveltük tovább a növényeket. A rozsdafertőzést Stakman és mtsai. (1962) által kidolgozott skála szerint a fertőzést követő 10. napon értékeltük (3. ábra):

0: immunis (nincsenek uredotelepek)

:: nagyon rezisztens (hiperszenzitív foltok megjelenése)

1: rezisztens (kis uredotelepek és nekrotikus foltok megjelenése)

2: mérsékelten rezisztens (kicsitől a közepesig terjedő méretű uredotelepek megjelenése, a zöld levélszigeteket nekrotikus vagy klorotikus szövetek veszik körbe)

3: mérsékelten fogékony (közepes méretű uredotelepek, nincsenek klorotikus foltok)

4: fogékony (nagy uredotelepek, nincsenek klorotikus foltok)

X: heterogén reakció (több reakciótípus látható egyszerre)



3. ábra. A levélrozsda-fertőzés osztályozása a Stakman-skála alapján (McIntosh és mtsai. 1995 nyomán)

3.6. Agronómiai tulajdonságok meghatározása

A $3M^b$ addíció, a $3M^b$ szubsztitúció, a $3M^b$ centrikus fúzió, a szülők ('Mv9kr1', *Ae. biuncialis* MvGB642) és az *Ae. biuncialis* MVGB382 növényeit a 2011/2012-es évben a martonvásári tenyészkertben neveltük fel. A szemeket 2011. október 15-én vetettük el 100 x 60 cm-es parcellákba. Az agronómiai tulajdonságok meghatározásához genotípusonként 10-10 növényt választottunk ki véletlenszerűen. Meghatároztuk a növénymagasságot (cm), a bokrosodást (növényenkénti kalászkaszám; db), a főkalász hosszát (cm), főkalásonkénti kalászkaszámot (db), a főkalásonkénti szemszámot (db) és a növényenkénti szemszámot (db).

3.7. Mikroelem-tartalom meghatározása

A 3.6 pontnál említett genotípusok mikroelem-tartalmának meghatározásához a minták ugyanazokból a parcellákból származtak, a 2011/2012-es évből. A méréseket az egri Élelmiszertudományi és Borászati Tudásközpont analitikai laboratóriumában végeztük. A szemek őrlése egy IKA gyártmányú, A 11 típusú analitikai malommal történt. A mintákat (1 g teljes őrlemény/genotípus, három ismétlésben) mikrohullámú roncsolóval (MARS, CEM Corporation, Matthews, USA), 8 ml HNO_3 és 2 ml 30%-os H_2O_2 jelenlétében tártuk fel. A feltárás körülményei a következők voltak: 800 W, 220 °C, 30 bar és 45 perc. A méréseket Varian SpectrAA-50/55 atomabszorpciós

spektrofotométerrel végeztük. A cink (324,8 nm), vas (248,3 nm) és a mangán (279,5 nm) esetében az atomabszorpciós, míg a kálium (766,5 nm) esetében az atomemissziós módszert használtuk a meghatározáshoz.

3.8. Statisztikai elemzés

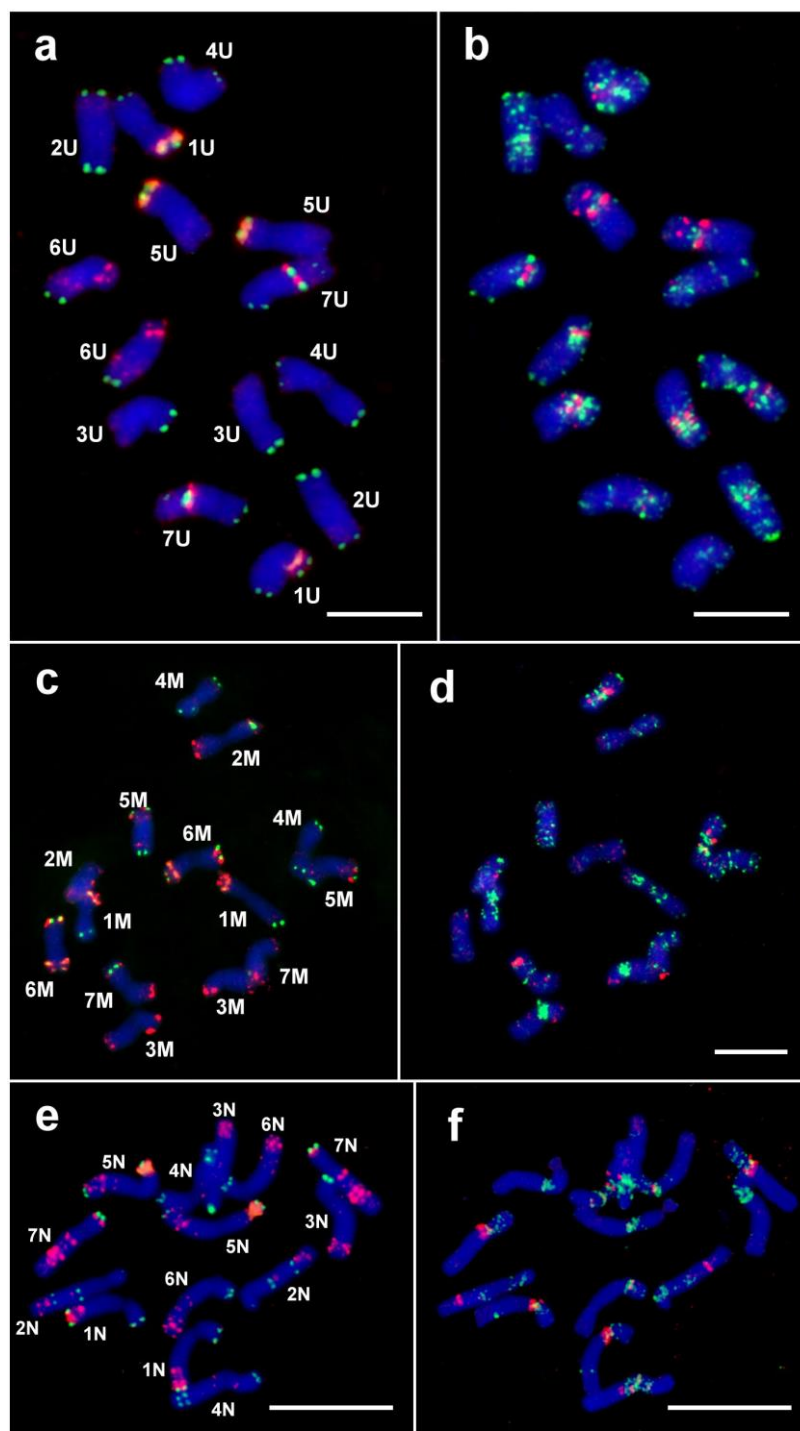
A mikroelem-meghatározás és a morfológiai paraméterek statisztikai elemzését a Student-féle kétmintás t-próbával végeztük el a Microsoft Excel program adatelemzés-moduljával, $P=0,05$, $P=0,01$ szignifikanciaszinten.

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

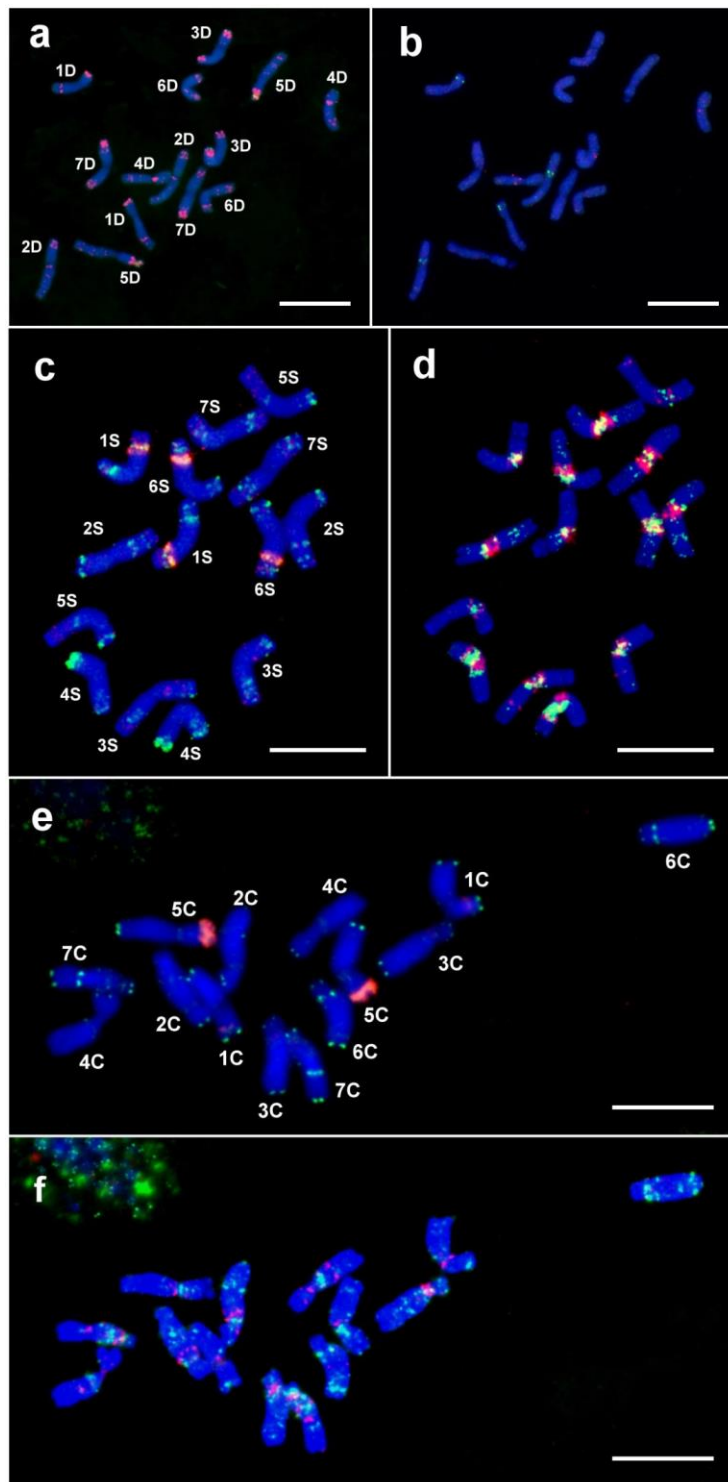
4.1. Mikroszatellit szekvenciák FISH próbaként való alkalmazása

Az *Aegilops* fajok kromoszómaszegmentumainak búzába történő átvitelét jelentősen megkönnyítené, ha a vad fajok kromoszómáit minél több diagnosztikus sávval rendelkező kariotípussal tudnánk azonosítani. Olyan FISH próbák alkalmazására van szükség, amelyek hibridizációs jeleket adnak az eddig nem jellemzett kromoszómarégiókban is. Kísérleteinkben a $(GAA)_n$, $(ACG)_n$, $(CAG)_n$, $(AAC)_n$, $(ACT)_n$, és $(CAC)_n$ mikroszatellit szekvenciák kromoszomális lokalizációját igyekeztünk meghatározni a *Triticeae* fajokon általánosan alkalmazott standard DNS-próbák (pSc119.2, Afa family és pTa71) és az SSR trinukleotid ismétlődések egymást követő *in situ* hibridizációjával az *Ae. umbellulata* (UU), *Ae. comosa* (MM), *Ae. uniaristata* (NN), *Ae. tauschii* (DD), *Ae. speltoides* (SS) és az *Ae. markgrafii* (CC) fajoknál (4. ábra 5. ábra).

A vad fajok populációi közt fennálló intraspecifikus genetikai diverzitás miatt eltérések lehetnek az Afa family, pSc119.2 és pTa71 próbákkal korábban jellemzett genotípusok kariotípusa (Badaeva és mtsai. 1996a, 1996b) és a jelen munkában vizsgált genotípusok kariotípusa között. Ezért első lépésben meghatároztuk az *Ae. umbellulata* AE740/03, *Ae. comosa* TA2760, *Ae. uniaristata* JIC2120001, *Ae. tauschii* MvGB605, *Ae. speltoides* MvGB905 és *Ae. markgrafii* MvGB428 genotípusok referencia-kariotípusát (4. ábra: a, c, e; 5. ábra: a, c, e).



4. ábra. A mikroszatellit-próbák hibridizációs mintázatának azonosítása *Aegilops* fajok (a, b: *Ae. umbellulata* AE740/03; c, d: *Ae. comosa* TA2760; e, f: *Ae. uniaristata* JIC2120001) szomatikus kromoszómáin egymást követő (szekvenciális) fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH). Első lépésben a kromoszómákat az Afa family (piros) pSc119.2 (zöld) és pTa71 (narancssárga) próbák alapján azonosítottuk (a, c, e). Második lépésben a (GAA)_n (zöld) és az (ACG)_n (piros) trinukleotid hibridizációs mintázata látható ugyanazokon a sejteken (b, d, f). A skála 10 µm-nek felel meg.



5. ábra. A mikroszatellit-próbák hibridizációs mintázatának azonosítása *Aegilops* fajok (a,b: *Ae. tauschii* MvGB605; c,d: *Ae. speltoides* MvGB905; e,f: *Ae. markgrafii* MvGB428) mitotikus kromoszómáin egymást követő (szekvenciális) fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH). Első lépésben a kromoszómákat az Afa family (piros) pSc119.2 (zöld) és pTa71 (narancssárga) próbák alapján azonosítottuk (a, c, e). Második lépésben a $(GAA)_n$ (zöld) és az $(ACG)_n$ (piros) trinukleotid hibridizációs mintázata látható ugyanazokon a sejteken (b, d, f). A skála $10\ \mu\text{m}$ -nek felel meg.

Az *Ae. umbellulata* és az *Ae. comosa* Afa family, pSc119.2 és pTa71 próbával készült kariotípusát Badaeva és mtsai. (1996a, 1996b) és Molnár és mtsai. (2011a) korábban már közölték, azonban a dolgozatban szereplő *Ae. umbellulata* és az *Ae. comosa* genotípusai eltérnek a fentebb említettektől. Az összehasonlításhoz használt kariotípusok az M3. mellékletben találhatóak meg (24-28. ábrák). Több eltérést figyeltünk meg a Badaeva és mtsai. (1996a, 1996b) által közölt kariotípushoz képest, de ezek a kromoszómák azonosítását nem akadályozták. Az *Ae. umbellulata* AE740/03 3U és 5U kromoszómainak hosszú karjáról hiányzott egy-egy telomérés, a 6U kromoszóma hosszú karjáról pedig egy interkaláris pSc119.2 jel. A 7U kromoszóma hosszú karján egy extra, interkaláris Afa family sávot detektáltunk. Az *Ae. comosa* TA2760 genotípus 2M kromoszóma rövid karján egy telomérés pSc119.2 sávot azonosítottunk, míg a 7M kromoszóma hosszú karján egy szubtelomérés pSc119.2 jel nem volt kimutatható. A Molnár és mtsai. (2011a) által leírt kariotípushoz képest kevesebb polimorfizmust találtunk, melyek a következők voltak: az *Ae. umbellulata* AE740/03 1U kromoszóma hosszú karján egy telomérés pSc119.2 jelet, a 7U kromoszóma hosszú karján pedig egy Afa family jelet detektáltunk. Az *Ae. comosa* TA2760 genotípusnál nem találtunk polimorfizmust a Molnár és mtsai. (2011a) által leírt *Ae. comosa* JIC211001 genotípushoz képest. Az *Ae. uniaristata* JIC2120001 FISH mintázata a Badaeva és mtsai. (1996a, 1996b, 2011) által közölt idiogramhoz képest egyszerűbb mintázatot mutat. Afa family jelek hiányoznak az 1N rövid kar telomérarégiójáról és két interkaláris jel az 5N kromoszóma hosszú karjáról. A 2N kromoszóma rövid karjáról egy telomérés pSc119.2 sáv hiányzik. Eltéréseket találtunk az *Ae. tauschii* MvGB605 és az *Ae. speltoides* MvGB905 FISH mintázata és a korábban vizsgált (Badaeva és mtsai. 1996a; 1996b) genotípusok, valamint a durum és a hexaploid búza (Kubaláková és mtsai. 2005, Sepsi és mtsai. 2008) FISH mintázata között. Az *Ae. tauschii* 3D és 4D kromoszómain csak kisebb eltéréseket találtunk a búza D kromoszómáihoz képest. Egy-egy extra pTa71, illetve pSc119.2 terminális hibridizációs jelet mutattunk ki az *Ae. tauschii* 3D, illetve 4D kromoszómainak rövid karján a megfelelő búzakromoszómákhoz képest. A hexaploid búzához viszonyítva az *Ae. speltoides* MvGB905 2S kromoszóma hosszú karja egy gyenge szubtelomérés jelet tartalmazott, amely a 2B kromoszómán nincs jelen. A 3S kromoszóma hosszú karján egy erős extra pSc119.2 szubtelomérés és egy interkaláris jelet detektáltunk, a 4S kromoszóma hosszú karjának szubtelomérés régióján csak egy gyenge pSc119.2 jel

volt jelen. Ugyanakkor a búza 4B kromoszómáján három pSc119.2 sáv található. A 7S kromoszóma hosszú karjának teloméráján is található egy gyenge pSc119.2 jel, ami a búza 7B kromoszómáján nem jelenik meg. Az *Ae. markgrafii* kromoszómák Afa family, pSc119.2 és pTa71 próbák FISH mintázatát Badaeva és mtsai. (1996a; 1996b) írták le, az általunk használt MvGB428-as genotípus FISH mintázata ettől csak kissé tért el. Különbségeket a pSc119.2 és az Afa family mintázatában találtunk. Az 1C kromoszóma rövid karján megjelent egy szubtelomérás Afa family sáv, a 3C kromoszóma hosszú karján szintén megjelent egy telomérás pSc119.2, ugyanitt nem volt megtalálható egy Afa family jel. A 4C kromoszóma hosszú karjáról eltűnt egy telomérás pSc119.2 jel.

Összegzésül megállapítható, hogy a vizsgált *Aegilops* fajok genotípusai kromoszómáinak a korábban publikált kariotípusokéihoz hasonló FISH mintázataik voltak a pSc119.2, Afa family és pTa71 próbákkal. E három próba hibridizációs mintázata alapján a fentebb említett fajok összes kromoszómáját egyértelműen sikerült azonosítani, a tapasztalt kismértékű eltérések ellenére is.

A referencia-kariotípusok elkészítése után mikroszatellit-szekvenciákat hibridizáltunk ugyanazokra a kromoszómapreparátumokra (4. ábra: b, d, f; 5. ábra: b, d, f). Az eredmények rövid szöveges összefoglalását az 6. táblázat tartalmazza, az elkészített kariotípusokat pedig a 6. ábra és a 7. ábra.

6. táblázat. Az egyes mikroszatellit-próbák különböző *Aegilops* fajok genomjain adott hibridizációs mintázatainak rövid összefoglalása.

| Próba | <i>Ae. umbellulata</i> , UU | <i>Ae. comosa</i> , MM | <i>Ae. uniaristata</i> , NN | <i>Ae. tauschii</i> , DD | <i>Ae. speltoides</i> , SS | <i>Ae. markgrafii</i> , CC |
|--------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|
| (GAA) _n | erős, egyedi mintázat minden kr.-án | erős, egyedi mintázat minden kr.-án | főleg pc.-ás jelek minden kr.-án | jelek az 1D és 2D kr.-on | főleg pc.-ás jelek minden kr.-án | erős egyedi mintázat minden kr.-án |
| (ACG) _n | pc. jelek a 3U, 4U, 5U és 6U kr.-kon | jelek a 3M, 4M és a 7M kr.-kon | jelek az 1N, 2N, 4N, 6N, 7N kr.-kon | centromérás jel a 4D-n | pc.-ás jelek minden kr.-án | erős, egyedi mintázat minden kr.-án |
| (CAG) _n | nincs jel | diszperz jelek minden kr.-án | centromérás jel az 1N és 7N kr.-kon | nincs jel | pc.-ás jelek minden kr.-án | n.v. |
| (AAC) _n | diszperz jelek | gyenge, diszperz jelek | gyenge, diszperz jelek | nincs jel | pc.-ás jelek minden kr.-án | n.v. |
| (ACT) _n | nagyon gyenge jelek 1-2 kr.-án | nincs jel | 1 kr.-án nagyon gyenge pc.-ás jel | nincs jel | nem értékelhető | n.v. |
| (CAC) _n | nincs jel | nincs jel | nincs jel | nincs jel | nincs jel | n.v. |

Rövidítések: pc.=pericentromérás, interk.=interkaláris, kr.=kromoszóma, n.v.=nem vizsgált

A vizsgált mikroszatellit-próbákról általánosságban elmondható, hogy a legtöbb jelet a (GAA)_n és az (ACG)_n próbák adják a vizsgált *Aegilops* fajokon. Ez alól kivétel az *Ae. tauschii*, ahol a (GAA)_n és az (ACG)_n próbák hibridizációs szignáljai csak elvétve jelentek meg. A legkomplexebb (GAA)_n mintázat az U, M, S és a C genomok esetében volt kimutatható, ahol jellemzően a centromérák környékén jelent meg a legerősebb hibridizációs szignálok többsége. Ezekon a genomokon a centroméra környéki jeleken kívül a kromoszómák teljes hosszában is előfordulnak (GAA)_n klaszterek, különösen az U, M és a C genomok esetében. Diagnosztikus sávok a 3M és a 4M kromoszómákon találhatóak. Az S genomnál a (GAA)_n sávok inkább a centroméra környékére koncentrálnak, de előfordulnak a kromoszómák interkaláris (2S, 6S, 7S) és a telomérarégióban is (3S, 4S).

A $(GAA)_n$ és $(ACG)_n$ hibridizációs jelek megjelennek az *Ae. uniaristata* összes N kromoszómáján is, bár kevésbé komplex és gyengébb intenzitású pericentromérás és néhány esetben interkaláris sávokkal (1N, 7N). A legkevesebb $(GAA)_n$ és $(ACG)_n$ FISH jel az *Ae. tauschii* D genomján volt azonosítható. A $(GAA)_n$ jel két kromoszómán volt megtalálható. Az 1D kromoszóma rövid karján egy szubtelomérás, a 2D kromoszóma rövid karján pericentromérás és a hosszú kar disztális részén egy-egy diagnosztikus $(GAA)_n$ sávot detektáltunk.

Az $(ACG)_n$ motívum főleg centroméra környéki hibridizációs mintázatot mutat az U, M, N, S és C genomokon. Az M, N és C genomokon megjelennek még szubtelomérás (7M, 2N) és interkaláris jelek is (7N). Bizonyos genomok egyes kromoszómáin egyáltalán nem jelenik meg, például az *Ae. umbellulata* 1U, 2U, 7U az *Ae. comosa* 1M, 2M, 5M, 6M, és az *Ae. uniaristata* 3N és 5N kromoszómái nem tartalmazzák $(ACG)_n$ hibridizációs jeleket. Az *Ae. speltoides* minden kromoszómáján erős centromérás és centroméra környéki $(ACG)_n$ klaszterek találhatóak. Az *Ae. markgrafii*-nál is minden kromoszómán megtalálhatóak a centromérás és pericentromérás jelek, az 1C és az 5C kromoszómákon ezek kisebbek és gyengébb intenzitásúak. Interkaláris sávokat a 4C, 6C és a 7C kromoszómák hosszú karján találunk. Diagnosztikus $(ACG)_n$ sávokat azonosítottunk a 4D, 4C, 7C, 4U, 3M, 4M, 7M, 2N és a 7N kromoszómákon.

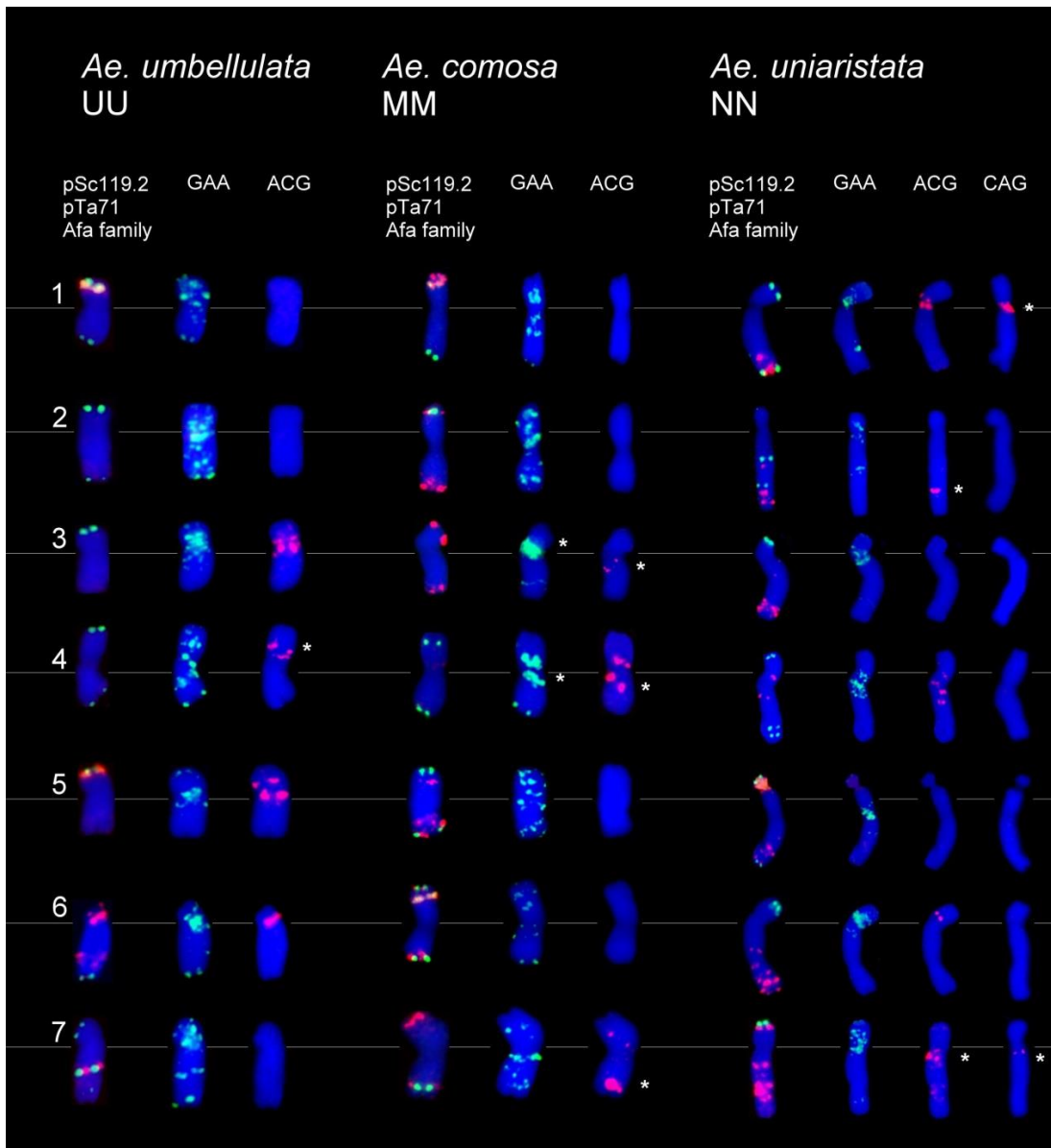
Egyes fajok esetében határozott FISH hibridizációs jeleket detektáltunk a $(CAG)_n$ és az $(AAC)_n$ mikroszatellit-próbákkal is. A legerősebb $(CAG)_n$ hibridizációs jeleket az *Ae. speltoides* kromoszómáin azonosítottunk, jellemzően a centroméra és a pericentroméra régiókban. A legerősebb jeleket a 3S, 4S és 7S kromoszómákon, míg a leggyengébbeket a 2S és 5S kromoszómákon figyeltük meg (6. ábra). A $(CAG)_n$ mikroszatellit-ismétlődés hibridizációs jelei szintén kimutathatóak voltak az *Ae. uniaristata* 1N és 7N kromoszómájának centroméra és centroméra környéki régiójában. A két kromoszómán kimutatott $(CAG)_n$ klaszternek diagnosztikus jellege van, mivel az erős sávok alapján az 1N, míg a gyenge intenzitású jelek alapján a 7N kromoszóma különböztethető meg egyértelműen. A $(CAG)_n$ mikroszatellit az *Ae. umbellulata*- és az *Ae. tauschii*-kromoszómákon nem adott hibridizációs jelet, az *Ae. comosa* esetében a kromoszómák teljes hosszában diszperz jeleket azonosítottunk.

Az $(AAC)_n$ mikroszatellit-próba az *Ae. speltoides* kromoszómák mindegyikén nagyon erős pericentromérás sávokat adott, kivéve a 4S kromoszómát, ahol a rövid karon egy interkaláris sáv is megjelent. Az *Ae. uniaristata*- és az *Ae. comosa*-kromoszómákon nagyon gyenge és diszperz hibridizációs mintázatot kaptunk, az *Ae.*

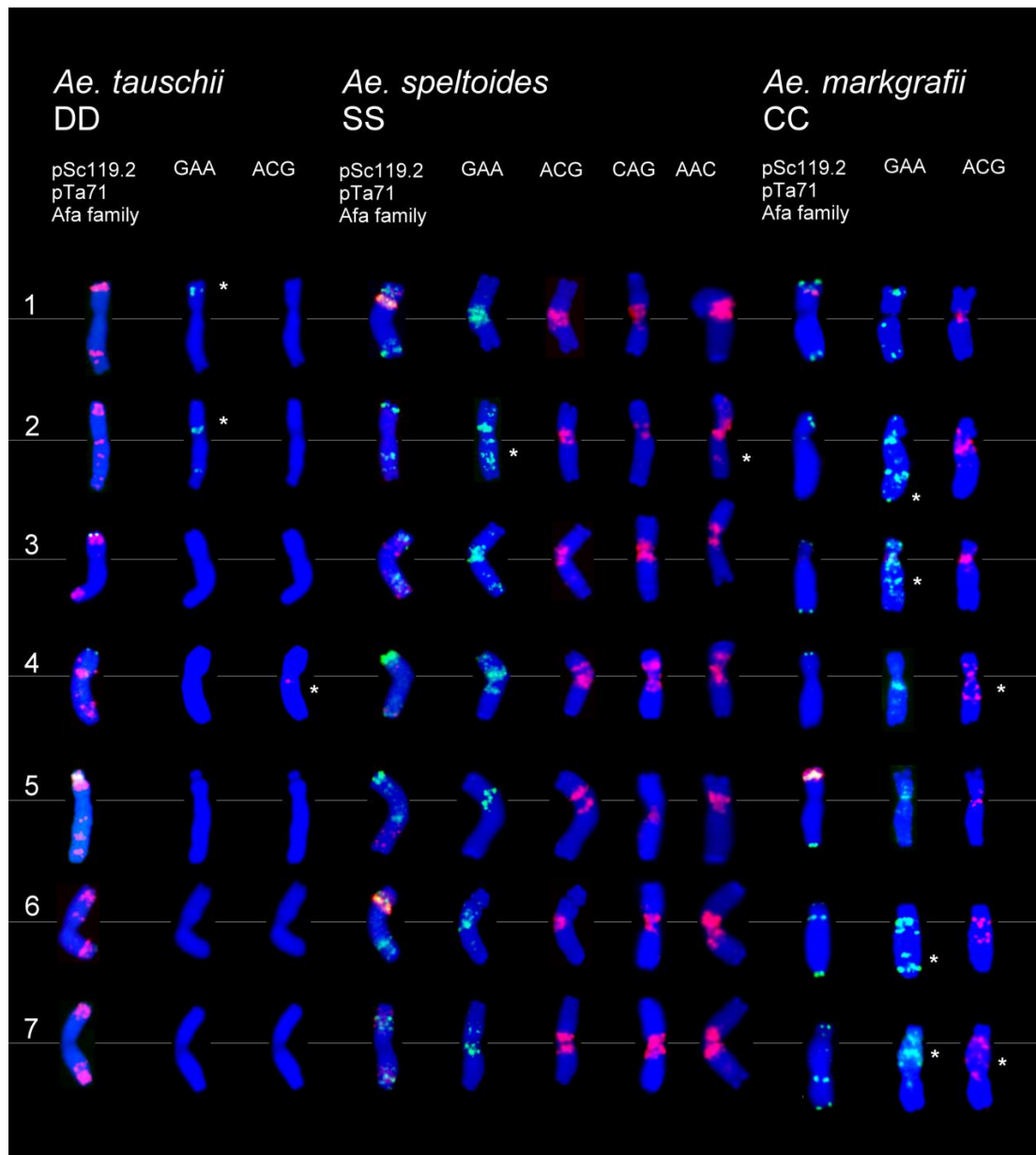
umbellulata-kromoszómákon a diszperz mintázat mellett erősebb pericentromérás sávok is megjelentek.

Az (ACT)_n mikroszatellit egy kromoszómán egy gyenge pericentromérás jelet ad, az *Ae. uniaristata*-n. Ugyanez a mikroszatellit az *Ae. umbellulata* esetében gyenge, nem minden hibridizáció során megjelenő, pericentromérás és interkaláris sávokat hoz létre két kromoszómán. Az *Ae. tauschii*, *Ae. comosa* kromoszómák nem tartalmaztak (ACT)_n FISH jeleket.

(CAC)_n mikroszatellit egyik vizsgált *Aegilops* fajon sem adott értékelhető hibridizációs jelet.



6. ábra. Az *Aegilops umbellulata* AE740/03, *Aegilops comosa* TA2760 és az *Aegilops uniaristata* JIC2120001 FISH kariotípusa az Afa family (piros), pSc119.2 (zöld) és a pTa71 (sárga) repetitív DNS próbákkal, továbbá a $(GAA)_n$ (zöld), $(ACG)_n$ (piros) és az *Aegilops uniaristata* esetében a $(CAG)_n$ (piros) mikroszatellit-próbákkal. A kromoszómák kék színe a DAPI-val történt kontrasztfestésnek köszönhető. A * szimbólum a diagnosztikus sávokkal rendelkező kromoszómákat jelöli.



7. ábra. Az *Aegilops tauschii* MvGB605, *Aegilops speltoides* MvGB905 és az *Aegilops markgrafii* MvGB428 FISH kariotípusa az Afa family (piros), pSc119.2 (zöld) és a pTa71 (sárga) repetitív DNS próbákkal, továbbá a (GAA)_n (zöld), (ACG)_n (piros) és az *Aegilops speltoides* esetében a (CAG)_n (piros) és az (AAC)_n (piros) mikroszatellit-próbákkal. A kromoszómák kék színe a DAPI-val történt kontrasztfestésnek köszönhető. A * szimbólum a diagnosztikus sávokkal rendelkező kromoszómákat jelöli.

4.1.1. A mikroszatellit szekvenciák FISH próbaként való alkalmazása során elért eredmények megvitatása

Az *Aegilops* fajokból történő génátvitel során a búza háttérben az idegen kromoszómákat, kromoszóma-fragmentumokat azonosítani kell. A fluoreszcens *in situ* hibridizáció repetitív DNS-próbákkal a kromoszómákon specifikus mintázatot eredményez, ezáltal ez a módszer rendkívül alkalmas a gabonafélék kromoszómáinak vizsgálatára (Mukai és mtsai. 1993, Pedersen és Langridge 1997).

A *Triticeae* törzsbe tartozó fajok molekuláris citogenetikai analízise során a leggyakrabban használt repetitív próbakombináció az Afa family, pSc119.2 és a pTa71 (Rey és mtsai. 2015).

Mindhárom próba segítségével az általunk vizsgált *Aegilops* fajok összes kromoszómája azonosítható, azonban sok esetben, például az *Ae. comosa* szinte minden kromoszómáján, az *Ae. umbellulata* öt kromoszómáján (1U-5U), az *Ae. cylindrica* kromoszómái többségén ezek a próbák az interkaláris régióban alig adnak diagnosztikus hibridizációs jelet, vagy nagyon keveset.

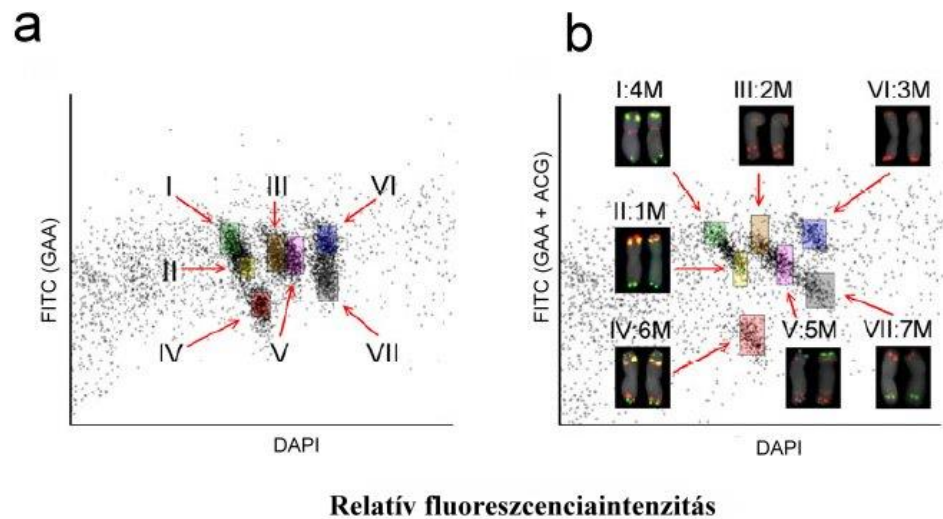
A mikroszatellit szekvenciák a *Triticum*- és *Aegilops* fajok genomjában is nagy mennyiségben, általában klaszterekben találhatóak meg (Cuadrado és mtsai. 2008), ezért FISH próbaként alkalmasak a búza és rokon fajok kromoszómáinak azonosítására (Cuadrado és Schwarzacher 1998, Cuadrado és mtsai. 2000).

A *Triticeae* fajok közül a búzát, árpat, rozst jellemezték eddig a legtöbb mikroszatellit-próbával (Cuadrado és mtsai. 2008). Pedersen és Langridge (1997) a búza összes kromoszómáját azonosította a pAs1 és a GAA segítségével. Pedersen és mtsai. (1996) a búzán, árpán, rozson és rokon vad fajokon FISH-sel vizsgálták a GAA hibridizációs mintázatát, és megállapították, hogy a mintázat nagyon hasonlít az N-sávozás során kapott mintázathoz. A GAA próba hibridizációs mintázatát árpán részletesen, a többi fajon pedig csak röviden ismertették. Következő publikációjukban arról számoltak be, hogy a GAA mikroszatellit és az *Ae. tauschii*-ből izolált pAs1 klón segítségével azonosították az összes búza-kromoszómát (Pedersen és Langridge 1997). A két próbával elkészítették a 'Chinese Spring' idiogramját, melyen 73 GAA sávot írtak le, elsősorban a B genom kromoszómáin, de egy-két jelet az 1D, 2D és a 7D kromoszómákon is találtak. Cuadrado és mtsai. (2008) összefoglaló cikkben számoltak be egy részletes összehasonlító munkáról, ahol 12 mikroszatellit FISH mintázatát írták le a búza-, árpa- és rozskromoszómákon. A termesztett *Triticeae* fajokon kívül kevés eredmény áll rendelkezésre a

mikroszatellit szekvenciák kromoszómális lokalizációjáról, beleértve az *Aegilops* fajokat is. Az *Ae. umbellulata* és az *Ae. comosa* fajok (GAA)_n és az (ACG)_n mintázatú kariotípusát Molnár és mtsai. (2011a) közzölték. *Ae. uniaristata* mitotikus kromoszómákon (Gong és mtsai. 2014) vizsgálták a (GAA)₈ mintázatát. Segítségével az összes *Ae. uniaristata* kromoszóma elkülöníthető volt egymástól, és az *Ae. uniaristata*-kromoszómák búza háttérben történő azonosításáról is beszámoltak a FISH mintázat és a kararányok alapján. Bardsley és mtsai. (1999) a tetraploid *Ae. ventricosa* faj D és N genom kromoszómáit vizsgálták. Az AAC mikroszatellit-próba a D és N genomon elsősorban diszperz, néhol terminális és pericentromérás jeleket adott. A mi vizsgálataink során a diploid *Ae. uniaristata* N kromoszómáin szórt, gyenge jelek voltak láthatók, míg a szintén diploid *Ae. tauschii* D genomján az (AAC)_n próba nem adott hibridizációs jelet. Mirzaghaderi és mtsai. (2014) a (CTT)₁₀ mikroszatellit (GAA-nak felel meg) mintázatú kariotípusát készítették el az *Ae. triuncialis* (C^tC^tU^tU^t), *Ae. cylindrica* (D^cD^cC^cC^c) és a diploid progenitorjaik, az *Ae. umbellulata* és az *Ae. markgrafii* fajokon.

A mikroszatellit-ismétlődések FISH próbaként való alkalmazásának és az általunk létrehozott mikroszatellit kariotípusoknak szintén nagy jelentőségük lehet az *Aegilops* fajok kromoszóma alapú genomikai kutatásaiban, ezeknek a fajoknak a genomszekvenálási projektjeiben. A nagy és komplex genomok genomikai vizsgálata (szekvenálása, BAC klónok segítségével történő fizikai térképezése) egyszerűbbé tehető, ha a genomot egyedi kromoszómákra választjuk szét, majd az egyedi kromoszómákat vizsgáljuk a teljes genom helyett. Erre alkalmas módszer az áramlásos (flow-) citometria (Doležel és mtsai. 2007), amely során a DAPI-val festett kromoszómákat a DAPI-fluoreszcenciaintenzitás alapján frakciókra lehet bontani. Több növényfaj esetében a kromoszómák megkülönböztetése és kiválogatása csupán a méret alapján (DAPI-fluoreszcencia) nem lehetséges, mivel több kromoszómának hasonló a mérete. A méret alapján, áramlásos citometria segítségével meghatározták az *Ae. umbellulata*, *Ae. comosa*, *Ae. biuncialis*, *Ae. geniculata* (Molnár és mtsai. 2011b) és a kenyérbúza diploid ősei, a *T. urartu*, *Ae. speltoides*, *Ae. tauschii* (Molnár és mtsai. 2014), illetve az *Ae. markgrafii*, *Ae. cylindrica* és az *Ae. triuncialis* (Molnár és mtsai. 2015) flow-kariotípusát, és azonosították az izolálható szubgenomi frakciók kromoszóma-összetételét. Megállapították, hogy az *Ae. umbellulata* 1U, 6U, 3U, az *Ae. biuncialis* 1U^b, a *T. urartu* 5A, az *Ae. tauschii* 5D, illetve az *Ae. markgrafii* 4C az *Ae. cylindrica* 1C^c és az *Ae. triuncialis* 7C^t kromoszómái izolálhatók a genomból nagy tisztasággal. A

többi kromoszóma csak más kromoszómákkal együtt, csoportokban izolálható. A Giorgi és mtsai. (2013) által kifejlesztett FISHIS módszer (FISH In Suspension) során a fluoreszcensen (FITC) jelölt mikroszatellit-próbát szuszpenzióban hibridizálják a kromoszómákhoz, így a kromoszóma a DAPI mellett egy második (FITC-) jelölést is kap. Ezért az izolálás nem csak méret (DAPI-fluoreszcencia), hanem a mikroszatellit-próbák által adott fluoreszcens jelintenzitás alapján is történik. Az *Aegilops* fajok mikroszatellit-próbákkal történő kariotipizálása előfeltétele volt annak a kromoszómaizolálási munkának, ahol Molnár és mtsai. (2016) a $(GAA)_n$ és $(ACG)_n$ fluoreszcensen jelölt próbákat hibridizáltak diploid *Aegilops* fajok kromoszómáihoz a flow-citometriai vizsgálat előtt. Így az *Ae. umbellulata*, *Ae. comosa*, *Ae. speltoides* és az *Ae. markgrafii* összes kromoszómája izolálható volt nagy tisztaságban (8. ábra). A kromoszóma alapú genomika lehetővé tette az izolált kromoszómákra specifikus markerek tervezését (Bartoš és mtsai. 2008), fizikai térképek és BAC-könyvtárak előállítását (Šafář és mtsai. 2004). A kromoszóma- és kromoszómakar-specifikus DNS-minták különösen alkalmasak a nagyméretű genommal rendelkező fajok (árpa, rozs, búza) új generációs módszerekkel történő szekvenálására. Több nemzetközi genomszekvenálási munka ezen a módszeren alapul, többek között az árpáé, a rozsé és a kenyérbúzáé is (Mayer és mtsai. 2011, Martis és mtsai. 2013, International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC) és mtsai. 2014). Nemzetközi együttműködésben a kromoszómák izolálását és DNS-tartalmuk felszaporítását követően az *Ae. umbellulata*-kromoszómákat is megszekvenálták (<https://www.wheatgenome.org/Projects/Complementary-Projects/Wild-Relatives>).



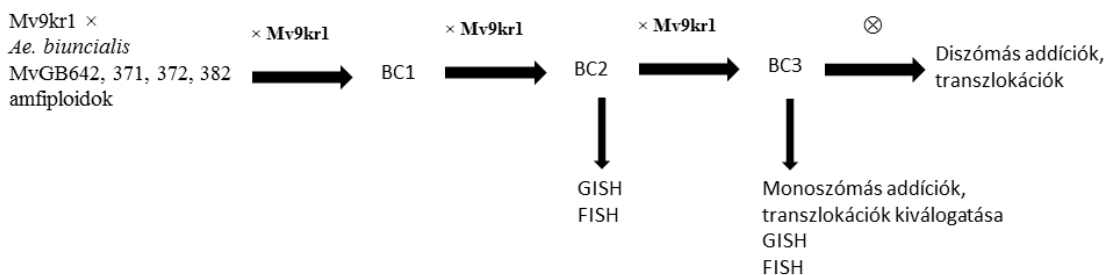
8. ábra. Az *Aegilops comosa* kromoszómáinak áramlásos citometriával történő frakciókra bontása. FISHIS a $(GAA)_n$ (a), illetve a $(GAA)_n$ és $(ACG)_n$ próbák egyidejű használatával. A két jelölt próba egyidejű használatával mind a hét M-genom-kromoszómát tartalmazó csoport elkülönül a flow kariotípuson (színes téglalapok), és így nagy tisztaságban izolálható (Molnár és mtsai. 2016 nyomán).

4.2. ‘Mv9kr1’–*Aegilops biuncialis* introgressziós vonalak előállítása

Kísérleteink olyan búza–*Ae. biuncialis* introgressziós vonalak előállítására irányultak, melyek potenciálisan alkalmasak lehetnek az *Ae. biuncialis* hasznos agronómiai tulajdonságainak a búza-előnemesítésiprogramokban való felhasználására. A búza \times *Ae. biuncialis* keresztezések során F_1 hibrideket, amfiploidokat, addíciós vonalakat, végül transzlokációs vonalakat állítunk elő.

Az MTA ATK Génmegőrzési Osztályán a búza (*T. aestivum*)–*Ae. biuncialis* keresztezések 1995-ben kezdődtek. A későbbiekben az *Ae. biuncialis* MvGB642, MvGB1112 és MvGB382-es génbanki számú genotípusával sikeresen hoztak létre amfiploidokat, majd később az MvGB642-es genotípussal addíciós vonalakat (1U, 2U, 3U, 1U/6U, 2M, 3M, 7M) (Schneider és mtsai. 2005, Schneider és Molnár-Láng 2012). Az *Ae. biuncialis* MvGB642-es genotípusával előállított addíciós vonal-sorozat még nem teljes, ezért fontos volna a még hiányzó addíciós vonalakat előállítani. Az MvGB1112 és az MvGB382-es genotípusok hasznos tulajdonságait (szárazságtűrés, nagy mikroelem- és étkezésirost-tartalom) is szeretnénk a nemesítők számára elérhetővé tenni, ezért ezeknek a genotípusoknak az esetében is fontos volna új addíciós és transzlokációs vonalak létrehozása. A keresztezési programba 2012-

ben kapcsolódtam be. Az új addíciós vonalakat visszakeresztezéses módszerrel kívánjuk létrehozni (9. ábra), ezért 2012-ben szántóföldön (Martonvásár, Tükrös) a búza ('Mv9kr1')–*Ae. biuncialis* MvGB642, MvGB1112 és MvGB382-es amfiploidokat visszakereszteltük az 'Mv9kr1' kenyérbúza genotípussal. A többszöri visszakeresztezés eredményeként az utódokban generációról generációra csökken az idegen kromoszómák száma. A BC₃ nemzedékben már lehetséges monoszómás addíciókat kiválogatni, majd ezek öntermékenyítése után az utódokból diszómás addíciós vonalak hozhatók létre.



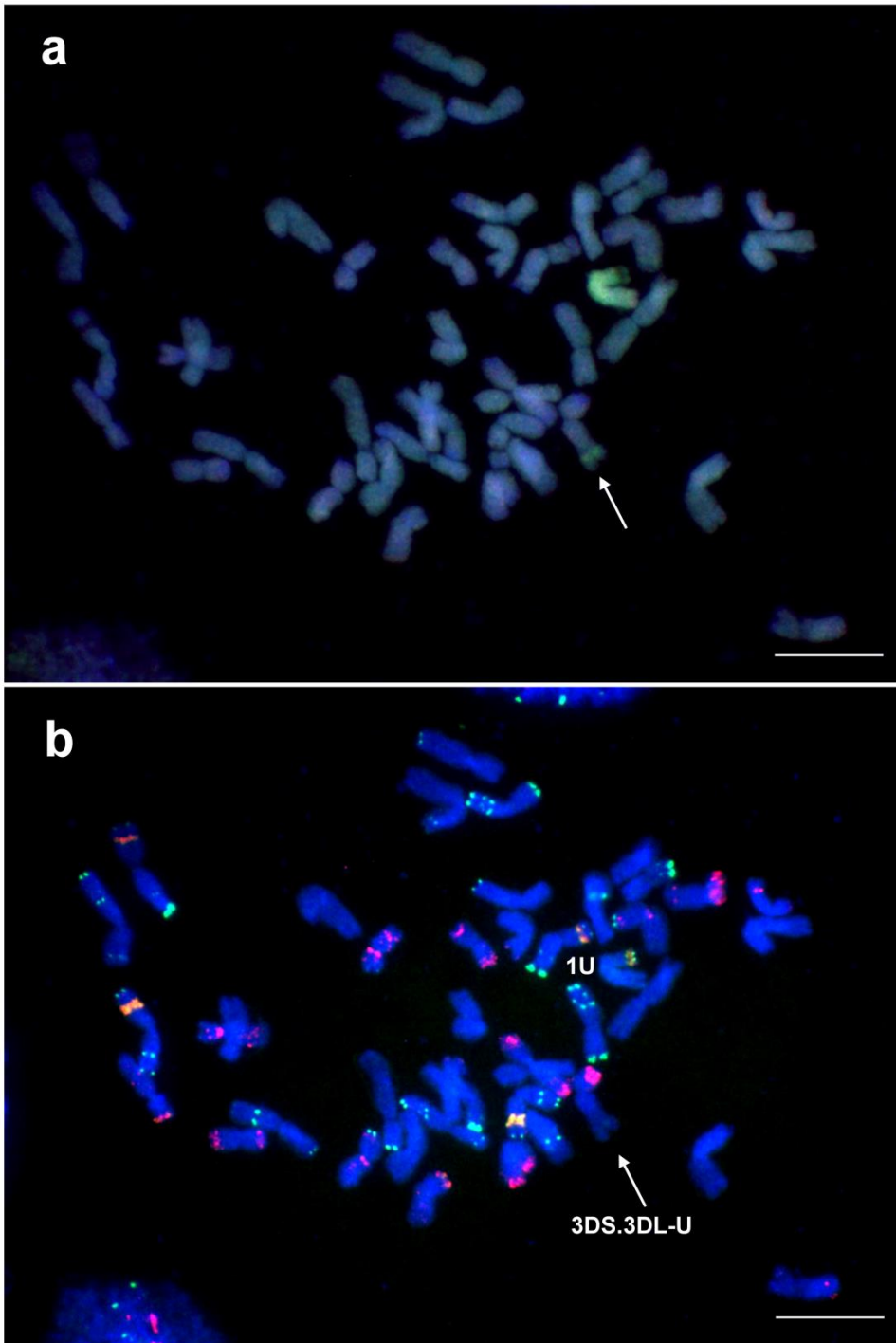
9. ábra. Búza–*Aegilops biuncialis* addíciós és transzlokációs vonalak előállításának menete

Az alábbiakban az 'Mv9kr1' és az egyes *Ae. biuncialis* genotípusok közötti keresztezés eredményeit mutatom be.

7. táblázat. *Aegilops biuncialis* kromoszómák jelenléte (+) vagy hiánya (–) az 'Mv9kr1'–*Aegilops biuncialis* MvGB642 BC₃, MvGB382 BC₂ és az MvGB1112 BC₂ utódokban. Zárójelben az adott kromoszómát tartalmazó genotípusok darabszáma található. A zöld cellák azt jelzik, hogy az adott kromoszómával már rendelkezésre áll diszómás addíciós vonal.

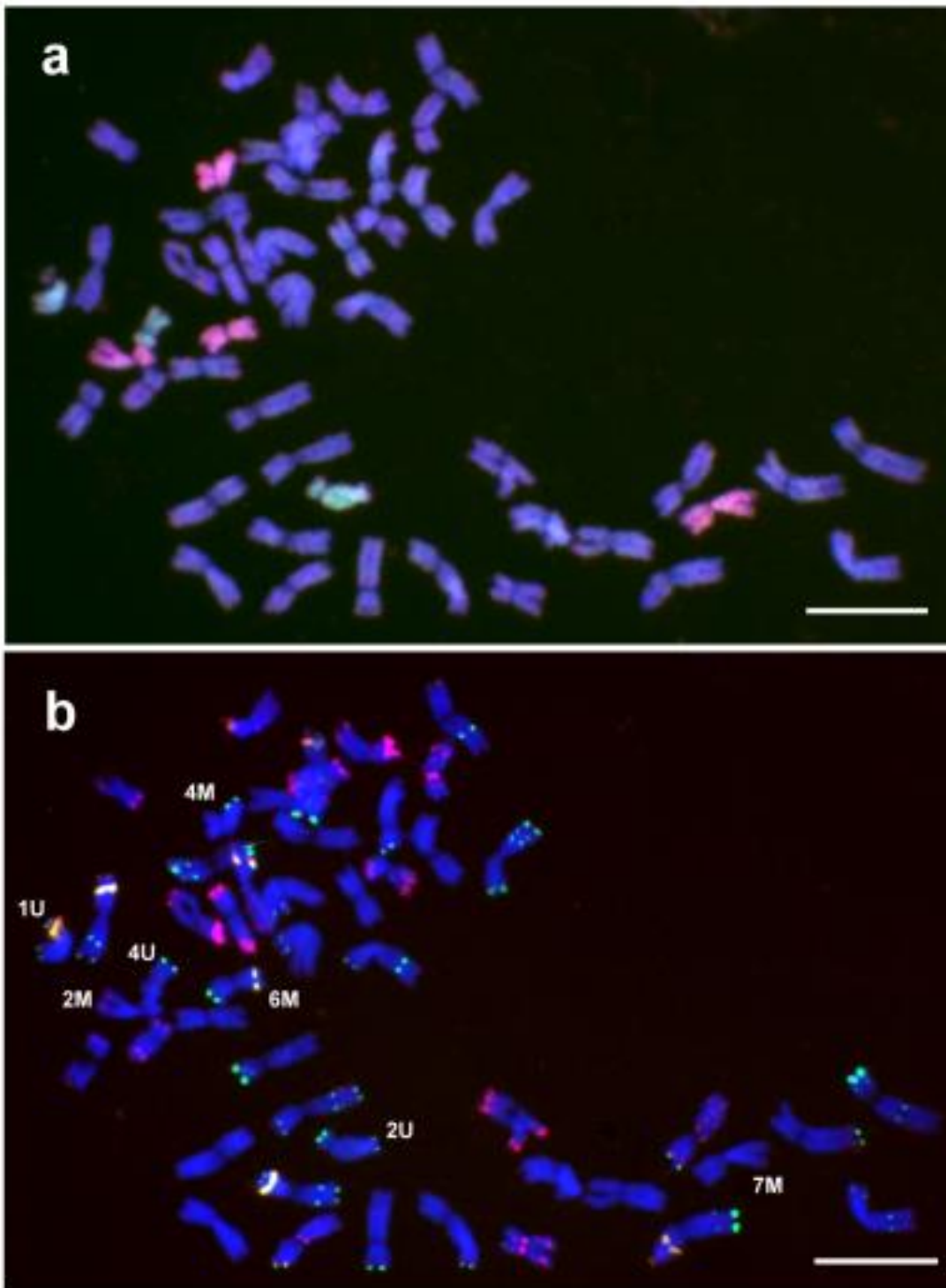
| <i>Ae. biu</i> | 1U | 2U | 3U | 4U | 5U | 6U | 7U | 1M | 2M | 3M | 4M | 5M | 6M | 7M |
|------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| MvGB 642 BC ₃ | + | (1) | + | (2) | (1) | (1) | – | – | + | + | – | – | (3) | + |
| MvGB 382 BC ₂ | (1) | (1) | (1) | (1) | – | – | – | – | (1) | (1) | (1) | – | (2) | (1) |
| MvGB 1112 BC ₂ | – | – | – | – | (2) | – | (2) | (2) | (1) | (2) | (2) | (1) | (4) | (2) |

Az 'Mv9kr1'–*Ae. biuncialis* MvGB1112-es amfiploidot háromszor kereszteztük vissza az 'Mv9kr1' búzával, így jelenleg a BC₃ generációnál tartunk. A második visszakeresztezésből származó BC₂ generációt multicolor genomi (mcGISH) és fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH) vizsgáltuk. Az mcGISH eredményeként a búza háttérben egyértelműen megkülönböztethetőek voltak az *Ae. biuncialis* zöld színű U és vörös színű M kromoszómái, valamint a DAPI-val festett (kék színű) búzakromoszómák. A pSc119.2, Afa family és a pTa71 próbákkal végzett FISH eredményeként a búza- és *Aegilops*-kromoszómák többségén a már korábban publikált hibridizációs mintázatot mutattuk ki, melyek alapján azonosítottuk őket. Összesen 24 BC₂ genotípust csíráztattunk, ebből 11-ről nem sikerült gyökeret szedni. A többi 13 növényben az U kromoszómák közül az 5U és a 7U kromoszómák voltak jelen, az M kromoszómák közül pedig megtalálható volt mind a hét (1–7M) (7. táblázat) A 144399 citológiai számú Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* MvGB1112 BC₂ vonalban a GISH vizsgálatok után egy teljes, U genomhoz tartozó kromoszómát és egy búzakromoszómára transzlokálódott U genomi fragmentumot mutattunk ki (10. ábra: a). A teljes *Aegilops* kromoszómát a szatellit megléte, az azon található pSc119.2 hibridizációs jel és a nukleólusz organizáló régió (NOR-régió) található pTa71 jel alapján az 1U kromoszómaként azonosítottuk. A terminális transzlokációnál az *Aegilops*-fragmentumon nem detektáltunk FISH jelet, ezért azonosítása nem volt lehetséges. A transzlokáció búza eredetű része a 3D kromoszóma lehet, mivel a rövid karon egy nagyon karakterisztikus telomérás Afa family-jel található. Az *Aegilops*-fragmentum a hosszú karhoz kapcsolódott, ezért 3DS.3DL-U transzlokációként azonosítható (10. ábra: b).



10. ábra. A 144399 citológiai számú ‘Mv9kr1’ × *Aegilops biuncialis* MvGB1112 BC₂ növény GISH és FISH vizsgálata. A GISH során a búzakromoszómák (kékek, a DAPI kontrasztfestésnek köszönhetően) mellett egy teljes és egy búzakromoszómára transzlokálódott *Aegilops*-fragmentum látható (zöld) (a). FISH ugyanazon a sejten az Afa family (piros), a pSc119.2 (zöld) és a pTa71 (sárga) repetitív DNS-szekvenciákkal (b). A transzlokációs kromoszómát nyilak jelzik. Skála: 10 μm.

Az 'Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* MvGB382 amfiploidot visszakeresztettük az 'Mv9kr1' búza genotípussal, majd a második visszakeresztést az Mv Hombárral végeztük. Összesen két szemet sikerült kicsíráztatni (144377-es és 144378-as citológiai számú), ezeket megvizsgáltuk GISH-sel és FISH-sel (11. ábra). A molekuláris citogenetikai vizsgálatok során ezekben a növényekben négy darab U genomhoz és öt darab M genomhoz tartozó kromoszómát sikerült kimutatni, melyek az 1U, 2U, 3U, 4U, 2M, 3M, 4M, 6M és 7M kromoszómák voltak.



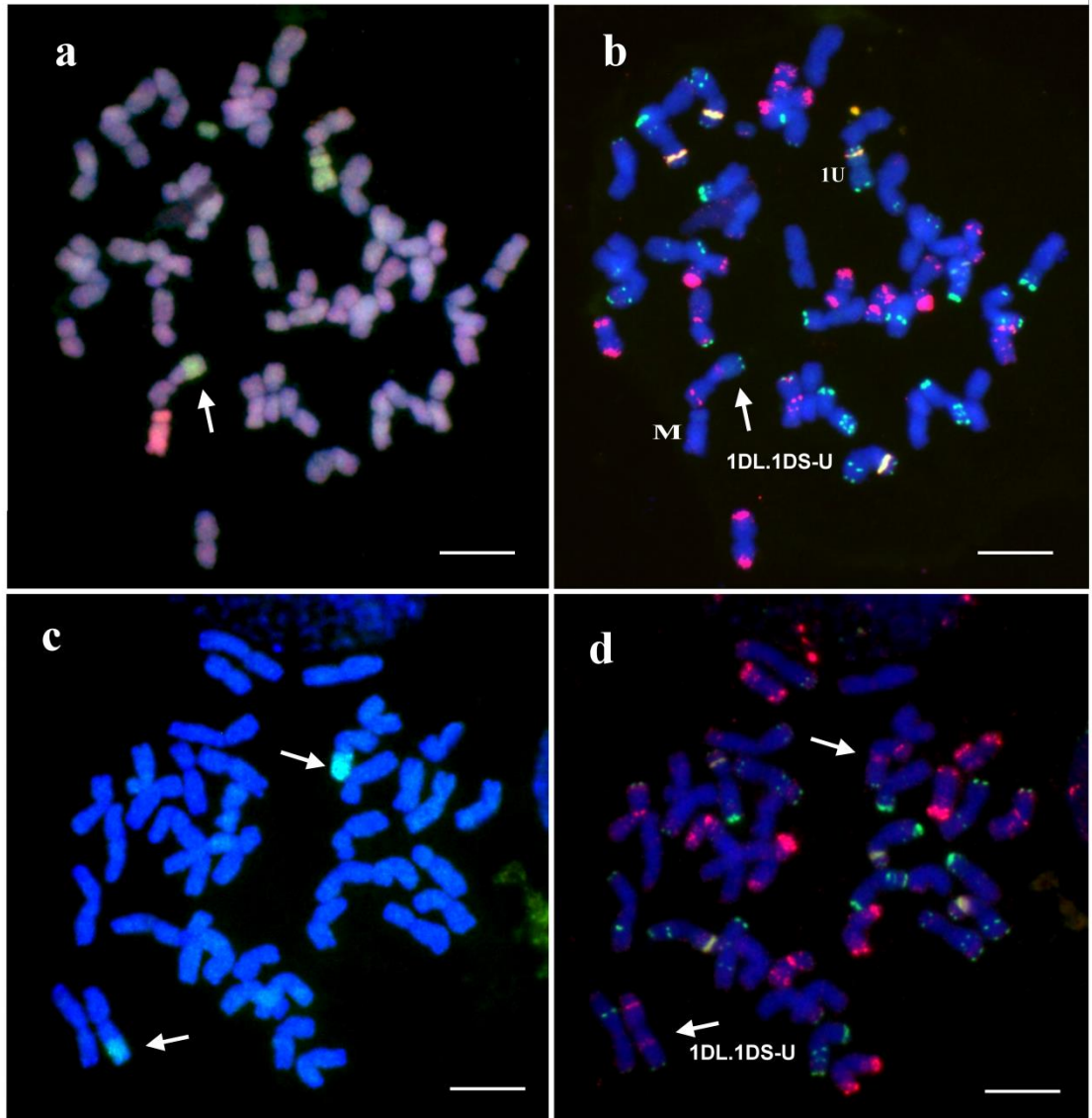
11. ábra. A 144377 citológiai számú ‘Mv9kr1’ × *Aegilops biuncialis* MvGB382 BC₂ növény mitotikus sejtjének multikolor GISH és FISH vizsgálata. A GISH során az U genomhoz tartozó kromoszómák zölden, az M genomhoz tartozók pedig pirosan fluoreszkálnak (a). FISH repetitív DNS-szekvenciákkal ugyanazon a sejten az Afa family (piros), a pSc119.2 (zöld) és a pTa71 (sárga) próbákkal (b). A búzakromoszómák kék színét a DAPI-val történt kontrasztfestés adja. Skála: 10 µm.



12. ábra. A 144377 citológiai számú ‘Mv9kr1’ × *Aegilops biuncialis* MvGB382 BC₂ növény (a) és kalásza (b).

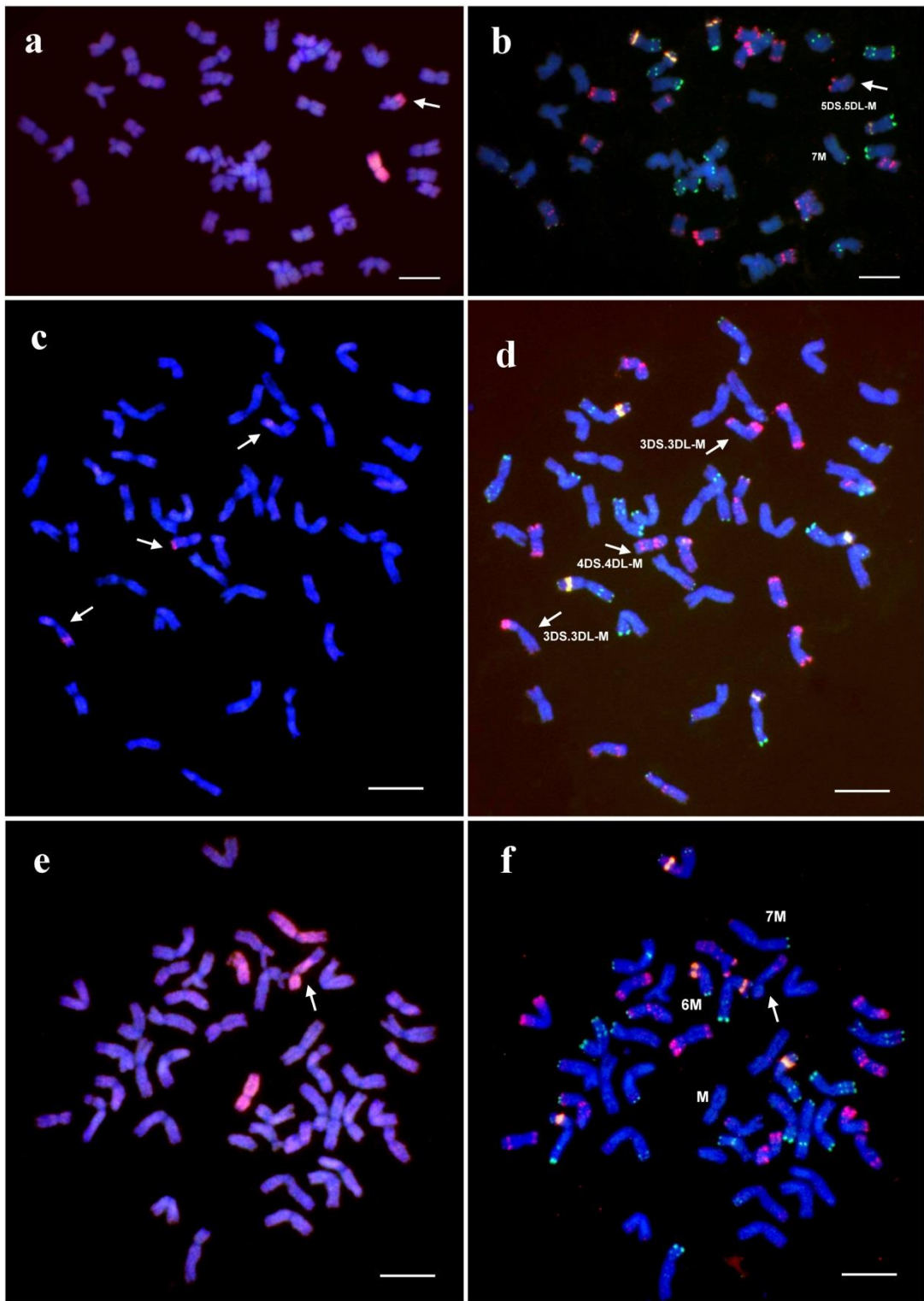
Az ‘Mv9kr1’ × *Ae. biuncialis* MvGB642 kombináció BC₃ generációjának molekuláris citogenetikai vizsgálata során (összesen 159 szemet nedvesítettünk be csíráztatás céljából, ebből 72 növény metafázisos kromoszómapreparátumát sikerült genomi- és fluoreszcens *in situ* hibridizációval megvizsgálni) az 1U, 2U, 4U, 5U, 6U, 7M és 6M kromoszómákat azonosítottuk. A BC₃ növények vizsgálatakor néhány spontán eredetű transzlokációt azonosítottunk. Ezek az *Ae. biuncialis* és a búza, valamint az *Ae. biuncialis* U és M kromoszómái között jöttek létre. A 144343 citológiai számú ‘Mv9kr1’ × *Ae. biuncialis* MvGB642 BC₃ növényben a GISH segítségével egy U, egy M, egy búza-U transzlokációt és egy U genomi-kromoszómafragmentumot mutattunk ki. A FISH során az U kromoszómát az 1U-nak (szatellit megléte, rajta egy pSc119.2 jel; erős pTa71 jel a NOR régión), az M kromoszómán nem detektáltunk FISH jeleket, ezért azonosítása nem volt lehetséges (13. ábra: a, b). A búza-U transzlokációs kromoszóma FISH mintázata alapján a

transzlokációt 1DL.1DS-U transzlokációnak azonosítottuk (az 1D kromoszóma hosszú karján található szubtelomérés és a transzlokációs töréspont előtti búza rövid karon található telomérés-szubtelomérés Afa family jel alapján), az U kromoszóma-fragmentumot nem tudtuk azonosítani, ugyanis a rajta található telomérés pSc119.2 jel az *Ae. biuncialis* több U kromoszómáján is megtalálható. Az 1DL.1DS-U transzlokáció stabil, diszómás állapotban történő fixálása végett a 144343 citológiai számú növényről származó öntermékenyített szemeket kicsíráztattuk, majd újra megvizsgáltuk GISH-sel és FISH-sel. A 154107-es számú növényben a 1DL.1DS-U transzlokációt diszómás állapotban találtuk meg (13. ábra: c, d).



13. ábra. A 144343 és a 154107 citológiai számú ‘Mv9kr1’ × *Aegilops biuncialis* MvGB642 BC₃ ill. BC₃ öntermékenyített növények GISH és FISH vizsgálata. A BC₃ generációban talált monoszómás transzlokációt (a, b) az öntermékenyített utódok között sikerült diszómás formában azonosítani (c, d). A GISH során az U genomhoz tartozó kromoszómák zölden, míg az M genomhoz tartozók pirosan fluoreszkálnak (a, c). FISH repetitív DNS-szekvenciákkal ugyanazon a sejten az Afa family (piros), a pSc119.2 (zöld) és a pTa71 (sárga) próbákkal (b, d). A transzlokációs kromoszómát nyilak jelzik. Skála: 10 µm.

A 144352-es citológiai számú 'Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* MvGB642 BC₃ genotípusban a GISH után egy terminális transzlokáció volt kimutatható, az egyik búza kromoszóma hosszú karjára transzlokálódott egy M genomi eredetű kromoszómaszegmentum. A FISH vizsgálatok eredményeként a búzakromoszómát 5D-ként azonosítottuk (a rövid karon található terminális Afa family-jel alapján), mely hosszú karjára egy eddig azonosítatlan M kromoszómaszegmentum transzlokálódott (5DS.5DL-M; 14. ábra: a, b). Ezt a transzlokációt a 144344-es citológiai számú genotípusban is megtaláltuk. A 144366-os 'Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* MvGB642 BC₃ vonalban a GISH vizsgálatok során két eltérő transzlokációt találtunk. Az egyik egy 4DS.4DL-M terminális transzlokáció (a 4D kromoszóma rövid karján egy gyengébb interkaláris és egy erős pericentromérás, a hosszú karon pedig egy erős interkaláris Afa family-jel található), amely monoszómás állapotban volt jelen a növényben. A másik pedig egy diszómás 3DS.3DL-M (a 3D kromoszóma rövid karjának disztális részén, a pericentroméra környékén és a hosszú kar teloméra régiójában található Afa family-jel alapján) intersticiális transzlokáció (14. ábra: c, d). Két 'Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* MvGB642 BC₃ növényben (144356, 144358; 14. ábra: e, f) egy *Ae. biuncialis* M kromoszóma hosszú karjára transzlokálódott egy búzafragmentum.



14. ábra. ‘Mv9kr1’ × *Aegilops biuncialis* MvGB642 BC₃ növények (a, b: 144352, c, d: 144366, e, f: 144358) GISH (a, c, e) és FISH (b, d, f) vizsgálata. Az GISH után az M genomhoz tartozó kromoszómák piros színűek. A FISH során az Afa family (piros), pSc119.2 (zöld) és a pTa71 (sárga) repetitív DNS-szekvenciákat hibridizáltunk ugyanazokra a sejtekre. A transzlokációkat nyilak jelzik. Skála: 10 μm.



15. ábra. A 144352 citológiai számú ‘Mv9kr1’ × *Aegilops biuncialis* MvGB642 BC₃ növény (a) és kalásza (b)

4.2.1. Az ‘Mv9kr1’–*Aegilops biuncialis* introgressziós vonalak előállításával elért eredmények megvitatása

Búza–idegenfajú monoszómás és diszómás addíciós vonalakat az O’mara (1940) által publikált módszer szerint hoztak létre több diploid és poliploid fajjal. A folyamat lépései az interspecifikus, vagy intergenerikus F₁ hibridek előállítása, amphiploid indukció, visszakeresztett nemzedékek létrehozása (BC₁-BC₃). A BC₂ és a BC₃ generációkban már előfordulhatnak monoszómás addíciók. Ezek öntermékenyítése után az izolált monoszómás növények utódaiban már lehetséges diszómás addíciós vonalak azonosítása. Martonvásáron az MTA ATK Génmegőrzési Osztályán Schneider és mtsai (2005) az *Ae. biuncialis* MvGB642-es genotípusával sikeresen hoztak létre addíciós vonalakat (1U, 3U, 2M, 3M, 7M).

Ez az addíciós sorozat azonban nem teljes, ezért távlati célunk a hiányzó vonalak létrehozása. Az *Ae. biuncialis* MvGB642-es genotípuson kívül a keresztezésekbe bevontuk még az MvGB382-es és az MvGB1112-es genotípust is,

ugyanis ezeknek a genotípusoknak eltérő hasznos agronómiai tulajdonságaik vannak. Az *Ae. biuncialis* MvGB642-es genotípus Szíriából származik, 1160 méteres tengerszint feletti magasságban elhelyezkedő területen gyűjtötték be, ahol az évi átlagos csapadék 1143 mm (<https://www.genesys-pgr.org/acn/id/659313#metadata-1460>). A viszonylag csapadékos élőhelyen való előfordulás lehet az oka, hogy szántóföldön természetes és mesterséges üvegházi levélrozsda-fertőzés során az MvGB642-es genotípus és a vele előállított 'Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* MvGB642-es amfiploid is immunisnak bizonyult (Farkas és mtsai. publikálatlan eredménye) a betegséggel szemben. A csoportunk által korábban létrehozott addíciós sorozat egyik tagja sem hordozza ezt a hasznos tulajdonságot, ezért feltételezhető, hogy az *Ae. biuncialis* MvGB642-ben a levélrozsda-rezisztenciáért felelős genomi régiók a 2U, 4U, 5U, 6U, 7U, 1M, 4M, 5M vagy a 6M kromoszómákon lehetnek. A létrehozott 'Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* MvGB642 BC₃ generációban a 2U, 4U, 5U, 6U és a 6M kromoszómákat sikerült azonosítanunk. A BC₃ növények öntermékenyített utódaiból új addíciós vonalak létrehozása várható. Az új addíciós vonalak betegségrezisztenciára való tesztelése után a levélrozsda-rezisztenciáért felelős genomi régió kromoszómaszintre leszűkíthető. A másik két *Ae. biuncialis* genotípus (MvGB382, MvGB1112) száraz élőhelyről származik, ahol a maximális éves csapadék nem haladja meg az 500 mm-t. Az MvGB382 genotípus szárazságtűrését Molnár és mtsai. (2004) vizsgálták, s megállapították, hogy a genotípus szárazságtűrése jobb, mint a szárazságtűrő kontroll és a keresztezési partnerként használt búza ('Mv9kr1') genotípusoké. Dulai és mtsai. (2014) vizsgálták a polietilén-glikol (PEG) okozta ozmotikus stresszválaszokat az 'Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* MvGB1112-es amfiploidban. Bizonyították, hogy a búza–*Ae. biuncialis* amfiploidok kevesebb vizet veszítettek a stressz során, kevésbé csökkent a sztómakonduktancia és a CO₂ asszimiláció, mint a 'Plainsman V' és 'Mv9kr1' búza genotípusoknál. Az amfiploidok stressz során tapasztalt magasabb fotoszintetikus aktivitása a nagyobb biomassza-produkcióban is megnyilvánult. Az amfiploid növények jobb szárazságtűrése azt is jelzi, hogy az *Ae. biuncialis*-ban található szárazságtűrésért felelős gének a búzában is kifejeződnek. Ezért az MvGB382-es és az MvGB1112-es genotípusból a későbbiekben előállított addíciós vonalak alapját képezhetik olyan introgressziós vonalak előállításának, melyek felhasználásával javítani lehet a búza szárazságtűrését.

Az 'Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* MvGB642 BC₃ generációban több transzlokációt sikerült azonosítanunk. Ezek megjelenése magyarázható gametocid gének hatásával.

Az *Aegilops* genuson belül számos fajban írtak le olyan kromoszómákat, önző genetikai elemeket, amelyek úgy biztosítják saját öröklődésüket, hogy kromoszómatöréseket indukálnak azokban a gamétákban, amelyek nem tartalmazzák ezeket (Nasuda és mtsai. 1998b). Az *Ae. biuncialis*-ban eddig még nem írtak le gametocid géneket hordozó kromoszómákat. Friebe és mtsai. (1999) a búza- *Ae. geniculata* (szintén U és M genomú) addíciós sorozat előállításánál közben azt tapasztalta, hogy azokban a növényekben az utódaiban, amelyek a $4M^S$ kromoszómát csak egy példányban tartalmazták, nagy számban fordultak elő kromoszómaaberrációk. A $4M^S$ kromoszómát diszómás állapotban tartalmazó növények utódai citológiailag stabilak voltak. Mindebből arra a következtetésre jutottak, hogy a $4M^S$ kromoszómán gametocid gén található. A $4M^S$ diszómás és monoszómás addíciós vonalak meióziszvizsgálatával ezt a feltételezést bizonyítani is tudták (Kynast és mtsai. 2000). A gametocid faktor búzába történő átvitele során mérsékelt kromoszómatöréseket indukált, főleg azokban a gamétákban, amelyek nem tartalmazták azt. A korábban leírt Gc faktorokhoz hasonlóan a kromoszómatörés indukciója a meiotikus osztódás után az interfázisban történik, közvetlenül a pollenmitózis előtt (Finch és mtsai. 1984, Nasuda és mtsai. 1998b). A Gc faktor hatására multicentrikus és gyűrű alakú kromoszómák jöttek létre, amelyek elindították a „breakage-fusion-bridge” (BFB: kromoszómatörés, -fúzió és hídformálás) ciklust. A BFB ciklus során kromoszómatranszlokációk, deléciók és telocentrikus kromoszómák is stabilizálódhatnak. Az U genomon eddig nem azonosítottak gametocid hatású lokuszokat.

A búza-*Ae. biuncialis* teljes addíciós sorozat létrehozása után lehetőség nyílna az egyes *Aegilops*-kromoszómák hatásának tanulmányozására (szárazságtűrés, levélrozsdá-rezisztencia, beltartalmi tulajdonságok). A tulajdonságok kromoszómaszintű azonosítása után célzottan lehet az adott addíciós vonalból olyan introgressziós vonalakat előállítani, melyek a kedvező tulajdonságokért felelős géneket hordozzák.

4.3. A búza-*Aegilops biuncialis* $3M^b$ szubsztitúciós vonal és a búza-*Ae. biuncialis* $3M^b$ centrikus fúziós vonal genetikai azonosítása, agronómiai tulajdonságai és mikroelem-tartalma

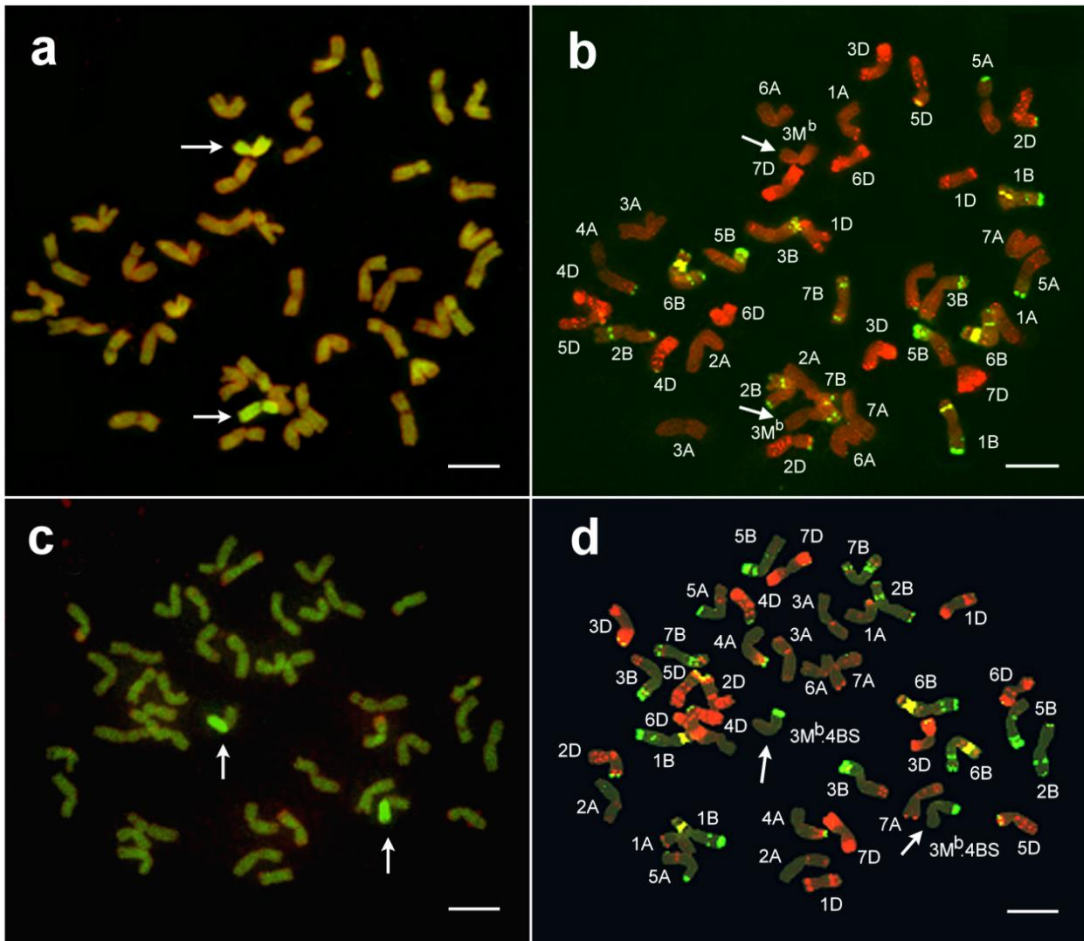
A $3M^b$ diszómás addíciós vonalat korábban a Génmegőrzési Osztályon állították elő (Schneider és mtsai. 2005), majd Molnár (2008) a ‘Chinese Spring’ *ph1b* mutáns

genotípussal keresztezte. Az F₁ hibridek öntermékenyítésével kapott F₂ nemzedékből a szülői genotípusoktól eltérő kalászmorfológiára szelektált. A szelektált vonalak öntermékenyített F₃ nemzedékében, GISH segítségével azonosított egy 42 kromoszómát tartalmazó növényt, melyben két 3M^b kromoszóma volt jelen. Ugyanazon generáció egy másik növényének GISH vizsgálata során kiválogatott egy olyan 42 kromoszómás vonalat, melyben egy búza 3M^b centrikus fúzió volt jelen diszómás formában. E vonalak részletes molekuláris citogenetikai (FISH) jellemzését végeztük el, amely során megállapítható volt, hogy a szubsztitúciós vonalban az *Ae. biuncialis*-kromoszóma mely búzakromoszómát helyettesíti, és a centrikus fúzióban mely búza kromoszómára transzlokálódott a 3M^b egyik kromoszómakarja. A citológiai eredményeket mikroszatellit markerekkel (SSR) végzett vizsgálatokkal erősítettük meg.

4.3.1. A búza–*Aegilops biuncialis* 3M^b szubsztitúciós vonal és a búza–*Ae. biuncialis* 3M^b centrikus fúziós vonal jellemzése fluoreszcens *in situ* hibridizációval és molekuláris markerekkel

A korábban Molnár (2008) által azonosított búza–*Ae. biuncialis* szubsztitúciós és centrikus fúziós vonalak F₆ utódjait FISH-sel, majd a tárgylemezek lemosása után GISH-sel vizsgáltuk (16. ábra). A pSc119.2 (zöld), Afa family (piros) és a pTa71 (sárga) próbák hibridizációs mintázata alapján az összes búzakromoszóma azonosítható volt, azonban a szubsztitúciós vonalban a 4B búzakromoszóma nem volt jelen. A 4B búzakromoszómának jellegzetes hibridizációs mintázata van a pSc119.2 próbával (egy erős disztális sáv a rövid karon, a hosszú karon pedig két interkaláris és egy disztális sáv) (16. ábra: b). A FISH-jelek lemosása után biotinnal jelölt *Ae. comosa* totál genomi DNS-t hibridizáltunk a tárgylemezekre, majd streptavidin-FITC-szel detektáltuk a hibridizációs jelet. A GISH eredményeként sikerült az *Ae. biuncialis* 3M^b kromoszómát kimutatni, ezek az ábrán zölden világítanak, míg a jelöletlen búzakromoszómák barnás színűek (16. ábra: a, c). A 4B kromoszóma hiánya és a két darab *Ae. biuncialis* 3M^b kromoszóma jelenléte miatt ezt a vonalat 3M^b(4B) szubsztitúciós vonalként azonosítottuk (16. ábra: b). A centrikus fúzió vizsgálatokor GISH-sel sikerült kimutatni a 3M^b *Ae. biuncialis* kromoszómakart diszómás formában, amely egy búzakromoszómára transzlokálódott (16. ábra: c). A centrikus fúzió búza eredetű kromoszómakarján egy erős disztális pSc119.2 jel látható (16. ábra: d), amely a 4B búzakromoszóma rövid karjára

jellemző. Ezek alapján a vonalat $3M^b.4BS$ centrikus fúziót tartalmazó vonalnak azonosítottuk.

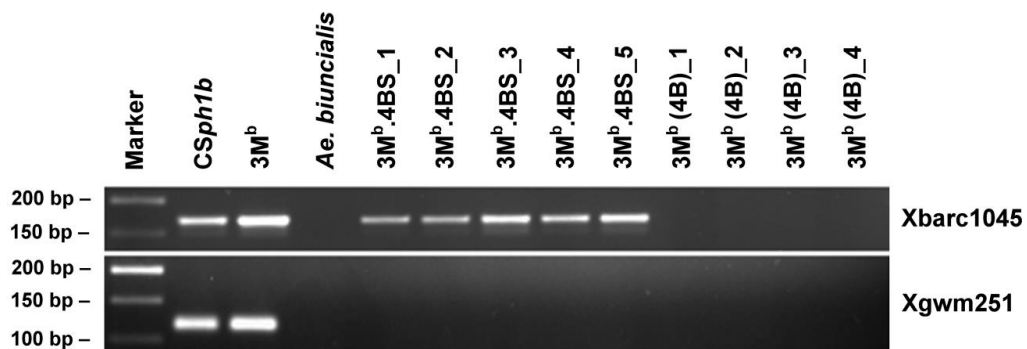


16. ábra. A $3M(4B)$ szubsztitúciós vonal (a, b) és a $3M.4BS$ centrikus fúziót tartalmazó vonal (c,d) molekuláris citogenetikai azonosítása. A GISH során az *Aegilops comosa* biotinnal jelölt teljes genomi DNS-ét használtuk próbaként.

Detektálás után a 3M kromoszóma (nyilak) zölden fluoreszkál, a jelöletlen búzakromoszómák barnák (a, c). A kromoszómákat az Afa family (piros), pSc119.2 (zöld) és a pTa71 (narancssárga) próbák alapján azonosítottuk (b, d). Skála: 10 μ m.

A citológiai eredményeket a 4BS és a 4BL kromoszómákra specifikus mikroszatellit markerekkel is megerősítettük. A 'Chinese Spring' *ph1b* és a $3M^b$ addíciós vonalban a 4B kromoszóma jelenlétét a rövid karra specifikus Xbarc1045 és a hosszú karra specifikus Xgwm251 markerekkel igazoltuk (17. ábra). A $3M^b(4B)$ szubsztitúciós vonalban e két marker nem volt detektálható, ez bizonyítja a 4B kromoszóma hiányát. A $3M^b.4BS$ centrikus fúziót tartalmazó vonalban a 4BS specifikus Xbarc1045 marker jelen volt, míg a Xgwm251 nem volt detektálható.

Ezeket az eredményeket kaptuk további 4BS (Xgwm113, Xgwm368) és 4BL (Xgwm149, Xgwm165) specifikus markerekkel is. Az *Ae. biuncialis*-on a búza 4B kromoszómájára specifikus markerek nem adtak jelet.



17. ábra. A 4B kromoszómára specifikus molekuláris markerek agaróz gélelektroforetikus mintázata a keresztezési partnerként használt búzán (*CSph1b*), a 3M addíciós vonalon ($3M^b$), az *Aegilops biuncialis* MvGB642 genotípuson (*Ae. biuncialis*), a 3M.4BS centrikus fúziót hordozó vonalon ($3M^b.4BS_1$ – $3M^b.4BS_5$) és a $3M^b(4B)$ szubsztitúciós vonalon ($3M^b(4B)_1$ – $3M^b(4B)_4$). A vizsgált markerek a búza 4B kromoszómájának rövid (Xbarc1045), illetve a 4B kromoszóma hosszú karjára (Xgwm251) specifikusak.

4.3.2. $3M^b(4B)$ szubsztitúciós vonal és a $3M^b.4BS$ centrikus fúziót tartalmazó vonal agronómiai tulajdonságai

Az ‘Mv9kr1’, ‘Chinese Spring’, búza–*Ae. biuncialis* $3M^b$ addíciós-, $3M^b(4B)$ szubsztitúciós vonal és a $3M^b.4BS$ centrikus fúziót tartalmazó vonal morfológiai és agronómiai tulajdonságait szántóföldön elvetett növényeken vizsgáltuk, az eredményeket a 8. táblázat foglalja össze, a vonalak kalászáiról készült felvételek a 18. ábra. A $3M^b$ addíciós és a $3M^b(4B)$ szubsztitúciós vonal szignifikánsan alacsonyabb volt az ‘Mv9kr1’-nél, míg a $3M^b.4BS$ magasabb, ami ‘Chinese Spring’-jelleg. A $3M^b(4B)$ szubsztitúciós vonal bokrosodási képessége elmarad az ‘Mv9kr1’-étől, viszont a $3M^b.4BS$ centrikus fúzió és az ‘Mv9kr1’ között nincs szignifikáns különbség e tulajdonság tekintetében. A kalászok hossza és a főkalásonkénti kaláscaszám az addíciós és a szubsztitúciós vonalaknál elmarad a búza szülőétől, viszont a centrikus fúziót hordozó vonal nem különbözött tőle. Az introgressziós

vonalak termése szignifikánsan elmarad a búza szülőétől, azonban a növényenkénti szemszám a centrikus fúziót tartalmazó vonal esetében volt a legtöbb.



18. ábra. Az ‘Mv9kr1’, ‘Chinese Spring’ *ph1b* mutáns (*CSph1b*), $3M^b$ búza–*Aegilops biuncialis* addíciós vonal (3M addíció), $3M^b(4B)$ búza–*Ae. biuncialis* szubsztitúciós vonal ($3M^b[4B]$) és a $3M^b.4BS$ búza–*Aegilops biuncialis* centrikus fúziót hordozó vonal ($3M^b.4BS$ c.f.) kalászmorfológiája.

8. táblázat. Az ‘Mv9kr1’, ‘Chinese Spring’ *ph1b*, búza–*Aegilops biuncialis* $3M^b$ addíció, $3M^b(4B)$ szubsztitúció és a $3M^b.4BS$ centrikus fúzió morfológiai tulajdonságai (Martonvásár, 2011/12)

| Genotípus | Növény- magasság (cm) | Bokrosodás (kalász/növény) (db) | Főkalász hossza (cm) | Kalászka/ főkalász (db) | Szem/ főkalász (db) | Szem/ növény (db) |
|---------------|-----------------------------|---------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Mv9kr1 | 69,8 | 6,1 | 10,5 | 20,4 | 55,6 | 267,5 |
| <i>CSph1b</i> | 83,1 | 6,6 | 8,0 | 19,5 | 59,0 | 270,3 |
| $3M^b$ | 57,5** | 6,6 | 6,6** | 15,8** | 38,5** | 164,9** |
| $3M^b(4B)$ | 55,6** | 4,1** | 6,5** | 16,8** | 43,4** | 140,8** |
| $3M^b.4BS$ | 84,0** | 6,4 | 10,4 | 19,9 | 42,5** | 213,3** |

** : szignifikánsan különbözik az ‘Mv9kr1’ szülői genotípustól a $p < 0,01$ valószínűségi szinten

4.3.3. A 3M^b(4B) szubsztitúciós vonal és a 3M^b.4BS centrikus fúziót tartalmazó vonal mikroelem-tartalma

Vizsgáltuk a szemtermés teljes örleményének kálium-, cink-, vas- és mangántartalmát a 3M^b addíciós, a 3M^b(4B) szubsztitúciós, a 3M^b.4BS centrikus fúziós vonalakban, valamint a szülőknél ('Mv9kr1', *Ae. biuncialis* MvGB642) és az *Ae. biuncialis* MvGB382 vonalban.

A mikroelem-tartalom vizsgálatának eredményeit a 9. táblázat foglalja össze. Mindkét *Ae. biuncialis* genotípusnak (MvGB642, MvGB382) szignifikánsan nagyobb volt a kálium-, cink-, vas- és mangántartalma, mint az 'Mv9kr1' búzáé. Az *Ae. biuncialis* MvGB642 keresztezési partner mindegyik mikroelemre nézve szignifikánsan meghaladta az 'Mv9kr1'-ét, 36,8% (K), 35,1% (Zn), 71,1% (Fe) és 47,3%-kal (Mn). A búza–*Ae. biuncialis* introgressziós vonalak közül az addíciós vonalnak szignifikánsan nagyobb volt a kálium- (26,3%-kal) és a cinktartalma (13,8%-kal), mint az 'Mv9kr1' búza szülőnek. A 3M^b(4B) szubsztitúciós vonalnak a cink- és a vastartalma 15,4%, ill. 11,5%-kal volt nagyobb, a 3M^b.4BS centrikus fúziót tartalmazó vonal esetében a szemtermés cink- és mangántartalma haladta meg az 'Mv9kr1'-ben mért értéket (23,4 és 38,2%-kal). Mangánkoncentrációja majdnem elérte az *Ae. biuncialis* MvGB642 szülőét, amely 47,3%-kal volt nagyobb, mint az 'Mv9kr1'-é. Az 'Mv9kr1' szemmérete (g/10 szem) és szemtermése (g/növény) szignifikánsan meghaladta az *Ae. biuncialis* és az introgressziós vonalak esetében mért értékeket. Az introgressziós vonalak közül a 3M^b.4BS centrikus fúziót hordozó vonalnak volt a legtöbb szemtermése (g/növény), s ehhez nagyobb cink- és mangántartalom is párosul a 3M^b addíciós- és a 3M^b(4B) szubsztitúciós vonalhoz képest.

9. táblázat. Az ‘Mv9kr1’, *Aegilops biuncialis* MvGB642, *Aegilops biuncialis* MvGB382, valamint a 3M^b addíciót, 3M^b(4B) szubsztitúciót és a 3M^b.4BS centrikus fúziót hordozó genotípusok száraz szemtermésének kálium-, cink-, vas- és mangántartalma (Martonvásár, 2011/12)

| Genotípus | K | Zn | Fe | Mn | Szemméret | Szemtermés |
|----------------------|-----------|------------|------------|------------|-------------|-------------|
| | (g/kg) | (mg/kg) | (mg/kg) | (mg/kg) | (g/10 szem) | (g/növény) |
| ‘Mv9kr1’ | 3,8±0,1 | 18,8±1,2 | 20,8±1,2 | 29,6±2,8 | 0,40±0,01 | 10,70±0,21 |
| <i>Ae. biu</i> 642 | 5,2±0,2** | 25,4±0,2** | 35,6±3,0** | 43,6±0,7** | 0,22±0,01** | 2,60±0,11** |
| <i>Ae. biu</i> 382 | 6,6±0,2** | 27,5±2,0** | 41,8±4,4** | 37,3±1,4* | 0,29±0,01** | 2,70±0,10** |
| 3M ^b | 4,8±0,1** | 21,4±0,9* | 15,5±0,5** | 28,6±0,7 | 0,30±0,01** | 4,90±0,12** |
| 3M ^b (4B) | 3,3±0,1* | 21,7±0,3* | 23,2±1,0* | 31,1±1,5 | 0,32±0,00** | 4,50±0,13** |
| 3M ^b .4BS | 3,4±0,1* | 23,2±0,5** | 18,4±2,0 | 40,9±0,5* | 0,32±0,01** | 6,80±0,11* |

*, **: szignifikánsan különbség az ‘Mv9kr1’ szülői genotípushoz képest a p = 0,05 és a p = 0,01 valószínűségi szint mellett; ± szóras

4.3.4. A 3M^b.4BS centrikus fúzió agronómiai tulajdonságaival és mikroelem-tartalmával kapcsolatos eredmények megvitatása

A legtöbb modern tetra- és hexaploid búzafajta szemtermésének alacsony a mikroelem-tartalma (Cakmak és mtsai. 2000), viszont a búzával rokon vad fajokban jelentős genetikai variabilitás található e téren, így ezek a fajok felhasználhatóak a búza mikroelem-tartalmának növelésére (Monasterio és Graham 2000). Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy egyes különféle genomú diploid és allotetraploid *Aegilops* fajok (pl.: *Ae. speltoides* (SS), *Ae. longissima* (S¹S¹), *Ae. tauschii* (DD), *Ae. kotschyi* (U^USS), *Ae. peregrina* (U^PU^PS^PS^P), *Ae. cylindrica* (C^CC^CD^CD^C), *Ae. ventricosa* (D^VD^VN^VN^V), *Ae. geniculata* (U^SU^SM^SM^S)) fontos génforrásként szolgálhatnak a búza cink- és vastartalmának növeléséhez (Cakmak és mtsai. 1999a, 1999b, Chhuneja és mtsai. 2006, Tiwari és mtsai. 2008, Rawat és mtsai. 2009a). Vizsgálataink során az *Ae. biuncialis* (MvGB642 és MvGB382) genotípusoknál is szignifikánsan nagyobb kálium-, cink-, vas- és mangántartalmat mértünk, mint az ‘Mv9kr1’ búza mintájában, ezért e faj is alkalmasnak tűnik a búza mikroelem-tartalmának növelésére.

A szemtermés mikroelem-tartalma multigénes tulajdonság. Búza–*Aegilops* addíciós és szubsztitúciós vonalakat vizsgálva megállapították, hogy a fő QTL-ek az 1-es, 2-es és a 7-es homeológ csoport kromoszómáin találhatóak az *Ae. kotschy*-ban (Tiwari és mtsai. 2010, Rawat és mtsai. 2011, Kumar és mtsai. 2015) és az *Ae. longissima*-ban (Neelam és mtsai. 2013). Neelam és mtsai. (2011) a 4-es és a 7-es homeológ csoport kromoszómáit találták felelősnek a nagy cink- és vastartalomért *Ae. peregrina*-ban. A 3-as homeológ csoport mikroelem-növelő hatásáról Wang és mtsai. (2011) számoltak be. Búza–*Ae. peregrina* addíciós sorozatot vizsgálva megállapították, hogy a 3S^v kromoszómát tartalmazó addíciós vonalnak a mangán-, a 3U^v addíciós vonalnak pedig a káliumtartalma volt szignifikánsan magasabb, mint a ‘Chinese Spring’ búzáé. A *Triticeae* fajok csoportjában a vas- és a mangántartalomért felelős fő QTL-eket a 2-es és a 7-es, néhány esetben a 4-es és az 5-ös kromoszómára térképezték (Ozkan és mtsai. 2007, Shi és mtsai. 2008, Tiwari és mtsai. 2008, Genc és mtsai. 2009, Peleg és mtsai. 2009). Az eredményeink alapján az a következtetés vonható le, hogy az *Ae. biuncialis* 3M^b kromoszómán a szemtermés nagyobb kálium-, cink- és mangántartalmáért felelős gének találhatóak. A káliumkoncentráció a 3M^b addíciós vonalban megnövekedett, míg a szubsztitúciót és a centrikus fúziót tartalmazó vonalban csökkent. Ez a 4B hosszú kar káliumakkumuláló szerepére utalhat.

Több tanulmányban kimutatták, hogy a növénynevelés során elért termésnövekedés mellett a szemtermés nitrogén- és foszfortartalma kisebb lett a termést nem limitáló tápanyag-ellátottság mellett is (Slafer és mtsai. 1990, Calderini és mtsai. 1995, Ortiz-Monasterio és mtsai. 1997). Ezek az adatok arra engednek következtetni, hogy a termésmennyiség növekedése során a szemben található tápanyagok felhígulnak. A nitrogén- és foszfortartalom csökkenésén kívül a mikroelemek koncentrációjának csökkenéséről is beszámoltak (Calderini és Ortiz-Monasterio 2003a, Distelfeld és mtsai. 2007). Gyakran a különböző genotípusok szemtermésének mérete is szignifikánsan eltérő. Ez szintén szerepet játszhat a szemtermés cinktartalmának alakulásában. A szemtermés tápanyagtartalma leginkább a kalászban elfoglalt helyétől függ, nem pedig attól, hogy a fő- vagy a mellékkalászban található-e. A kalász bazális részétől disztálisan található szemek mérete és a tápanyagtartalmuk is kisebb (Calderini és Ortiz-Monasterio 2003b). Ahhoz, hogy reális képet kapjunk a mikroelem-tartalom genetikai variabilitásáról, figyelembe kell venni a termés hígító és koncentrációs effektusát (McDonald és mtsai. 2008). A szemtermés különböző részei eltérő mennyiségben tartalmazzák a

mikroelemeket. A legnagyobb koncentrációban a korpában található meg, míg az endospermiumnak ennél jóval kisebb a mikroelem-koncentrációja (Ozturk és mtsai. 2006). Arról nincs információnk, hogy mekkora az endospermium aránya a korpához képest az *Ae. biuncialis*-ban, de a szemméret (g/10 szem) alapján arra lehet következtetni, hogy kisebb, mint a kenyérbúzában. Mivel a mikroelem-tartalom meghatározása teljes őrleményből történt, nem ismert, hogy a mikroelem-tartalom hogyan oszlik meg az endospermium és a korpa között. A búzából elsősorban liszt készül (amely az endospermiumnak felel meg), ezért további vizsgálatok szükségesek annak eldöntésére, hogy a magasabb mikroelem-tartalom az endospermiumban is megjelenik-e. Ha összehasonlítjuk az 'Mv9kr1' búza szülő és az introgressziós vonalak szemtermését és mikroelem-tartalmát, akkor az 'Mv9kr1' nagyobb szemtermése felelős lehet a kisebb mangán- és cinkkoncentrációért, a higítási effektus miatt. Másrészt az idegen faj átvitt hasznos tulajdonsága mellett az introgressziós vonalaknak kedvezőtlen tulajdonságaik is lehetnek. Ezek a vonalak általában kevesebbet teremnek, mint az euploid búza genotípusok, főleg akkor, ha nem homeológ állapotban vannak jelen, mint a $3M^b(4B)$ szubsztitúciós és a $3M^b.4BS$ centrikus fúziós vonalak esetében. Ezért észszerűbb a három introgressziós vonal mikroelem-tartalmát egymáshoz viszonyítani. Az introgressziós vonalak közül a $3M^b.4BS$ -nek volt a legnagyobb cinktartalma és termése. A bokrosodási képessége, kalász hossza és a kalásonkénti kalászkaszáma megközelítette a búza szülőét. Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy az *Ae. biuncialis* kromatinméretének csökkentése a búza háttérben pozitív hatással van ezekre a tulajdonságokra. Hasonló hatás volt megfigyelhető a mangántartalomnál is, ahol nem volt szignifikáns különbség az 'Mv9kr1', az addíciós és a szubsztitúciós vonalak között, míg a $3M^b.4BS$ -nek szignifikánsan nagyobb volt a mangántartalma. Ezek a tulajdonságok azt sugallják, hogy a $3M^b.4BS$ centrikus fúziót tartalmazó vonal felhasználható lehet a modern búzafajták mikroelem-tartalmának növelésére. A $3M^b.4BS$ centrikus fúzió nemesítésben való felhasználása előtt azonban igazolni kell, hogy a megnövekedett mikroelem-tartalom a lisztfrakcióban is megnyilvánul-e, ami további vizsgálatokat igényel.

A szemtermés mikroelem-tartalmát az is meghatározza, hogy a vegetatív periódus alatt a növény mennyit tud belőlük abszorbeálni a gyökéren keresztül, majd később attól, hogy ennek mekkora hányadát képes remobilizálni a vegetatív szervekből a szemtermésbe a szemtelítődési időszakban. Az utóbbi évtizedben több olyan gént azonosítottak, melyek a fémionok transzportjáért felelősek. Néhányat

mutáns élesztőben történő komplementációval, másokat pedig szekvenciahasonlóság alapján (adatbázisokban történő keresés, degenerált primerek használatával, heterológ hibridizációval). E gének közül több a P típusú *ATPázok*-hoz (Axelsen és Palmgren 1998) és a Nramp fehérjék (Cellier és mtsai. 1995) csoportjába tartozik. A *T. turgidum* subsp. *dicoccoides*-ben azonosított *GPC-B1* (*Grain Protein Content-B1*) lokuszról bizonyították be, hogy egy *NAC* transzkripciós faktort kódol (*NAM-B1*), ami gyorsítja az öregedést, és a tápanyagokat a levelekből a fejlődő szemtermésbe juttatja (Uauy és mtsai. 2006, Distelfeld és mtsai. 2007). A modern búzafajták túlnyomó többsége a *GPC-B1* nem működő allélját hordozza, ezért több nemesítő program elkezdte a vad típusú gént beépíteni a nemesítési anyagaikba (Tabbita és mtsai. 2017). A ZIP transzporter család tagjai felelősek a cinknek a talajból való felvételéért, valamint a citoplazmába és a sejtszervekbe történő bejuttatásáért (Guerinot 2000, Gaither és Eide 2001). Az *Aegilops*-kromoszómák áramlásos citometriával történő szétválasztása (Molnár és mtsai. 2011b, 2014, 2015, 2016) és szekvenálásuk a közeljövőben lehetővé teszi a mikroelem-akkumulációban részt vevő génváltozatok azonosítását és géalapú markerek tervezését (COS, SNP). Az *Aegilops*-specifikus géalapú markerek használatával az előnemesítés során előállított introgressziós vonalakban lehetőség nyílna a hasznos tulajdonságot hordozó kromoszómaszegmentum(ok) azonosítására és a szelekció hatékonyságának javítására (Molnár és mtsai. 2013).

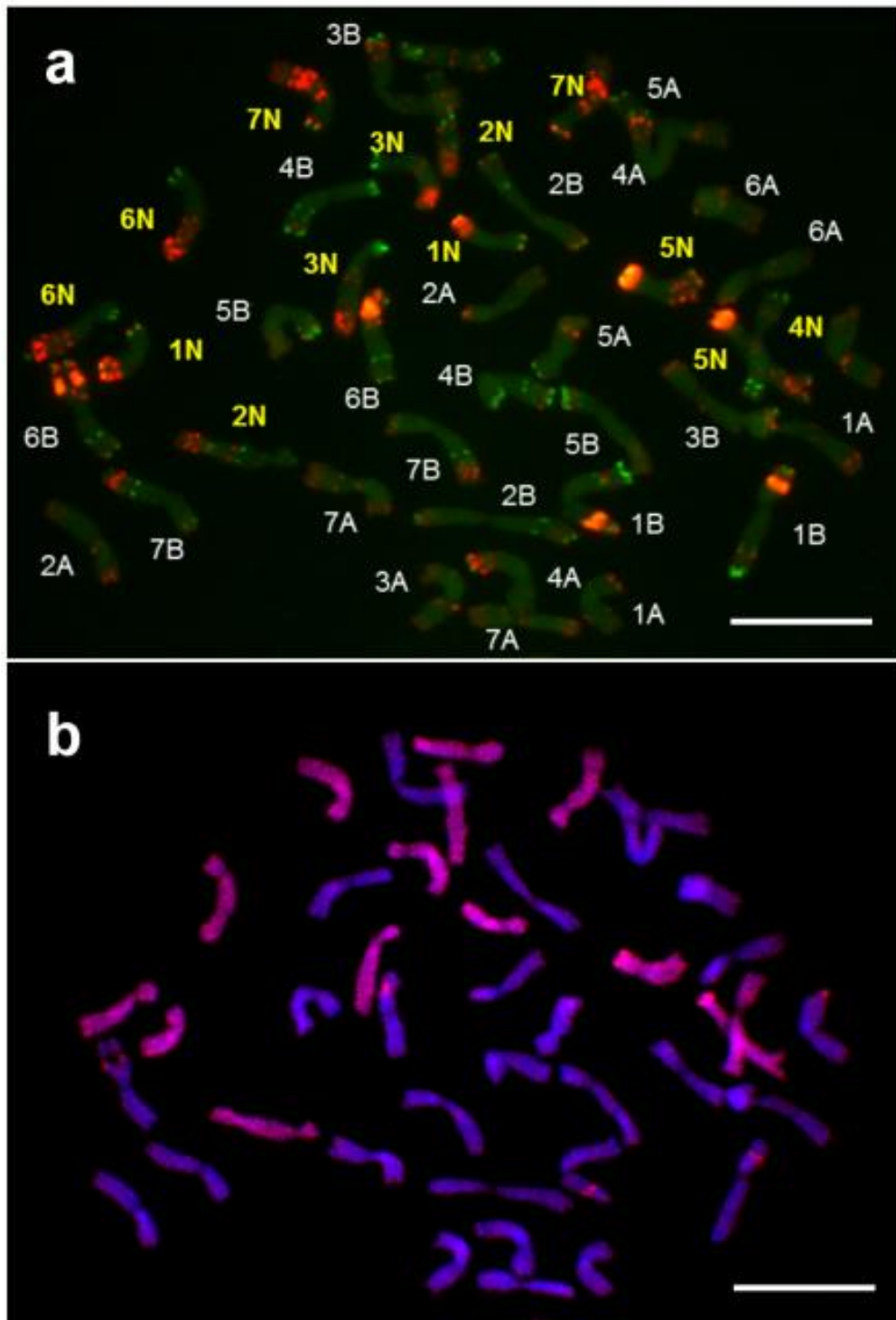
4.4. Szintetikus amfiploidok előállítása

4.4.1. Durumbúza × *Aegilops* sp. amfiploidok előállítása és jellemzése *in situ* hibridizációval

2012 nyarán a martonvásári tenyészkertben a *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' durumbúzát megporoztuk az *Ae. uniaristata* JIC2120001 és az *Ae. umbellulata* AE740/03 génbanki számú genotípusával. Az F₁ hibridekből amfiploidokat hoztunk létre, melyeknek megvizsgáltuk a genomösszetételét molekuláris citogenetikai módszerekkel.

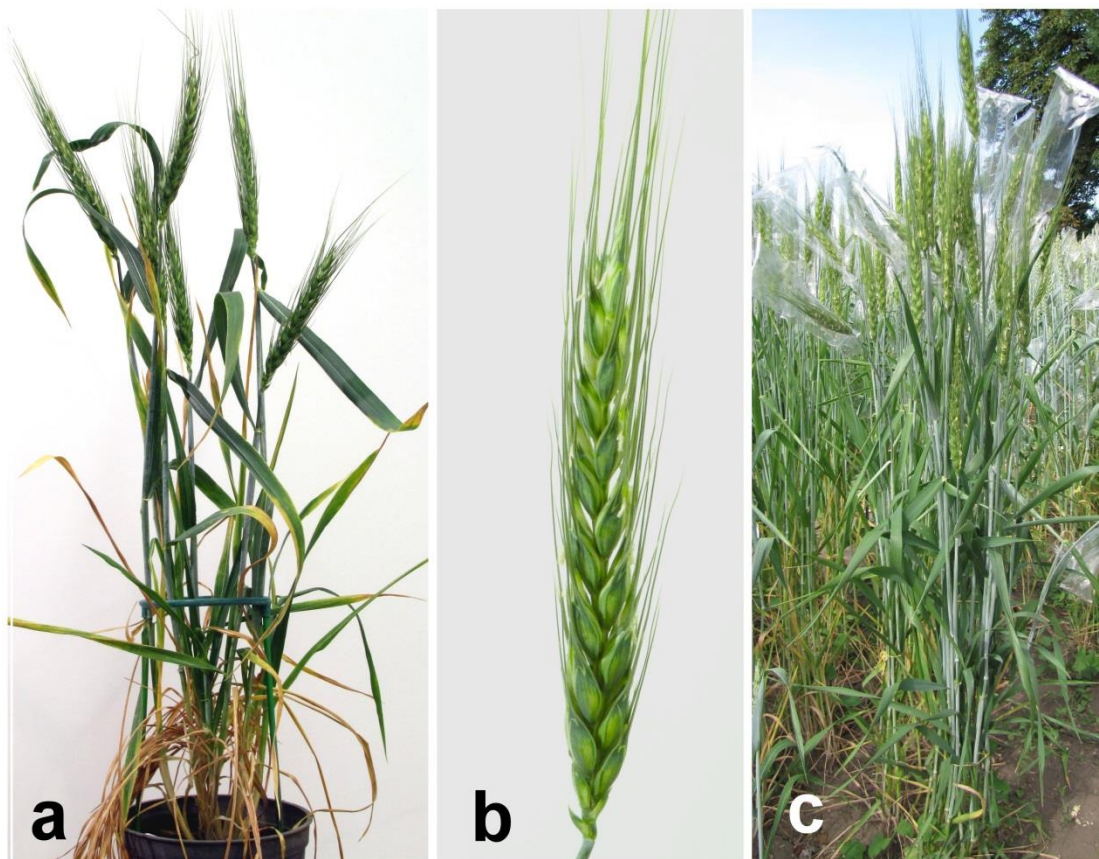
A GISH eredményeképpen a kromoszómapreparátumokon az *Ae. uniaristata* kromoszómák pirosas színűek, míg a durumbúza-kromoszómák kékre színeződtek (19. ábra: b). A vizsgált növénynek 42 kromoszómája volt; ez a sikeres kolchicinkezelést bizonyítja. A GISH során 14 darab *Ae. uniaristata* és 28 darab A és

B genomokhoz tartozó kromoszóma volt megszámlálható. A FISH eredményeképpen a három próba használatával (pSc119.2, Afa family, pTa71) azonosítható volt az összes búza- és az összes *Ae. uniaristata*-kromoszóma. A létrehozott szintetikus amphiploid genomösszetétele $2n=6x=42$, BBAANN, és megtalálható volt benne az összes durumbúzából származó A és B (1-től 7-ig), valamint az összes *Ae. uniaristata* N kromoszóma (1-től 7-ig).



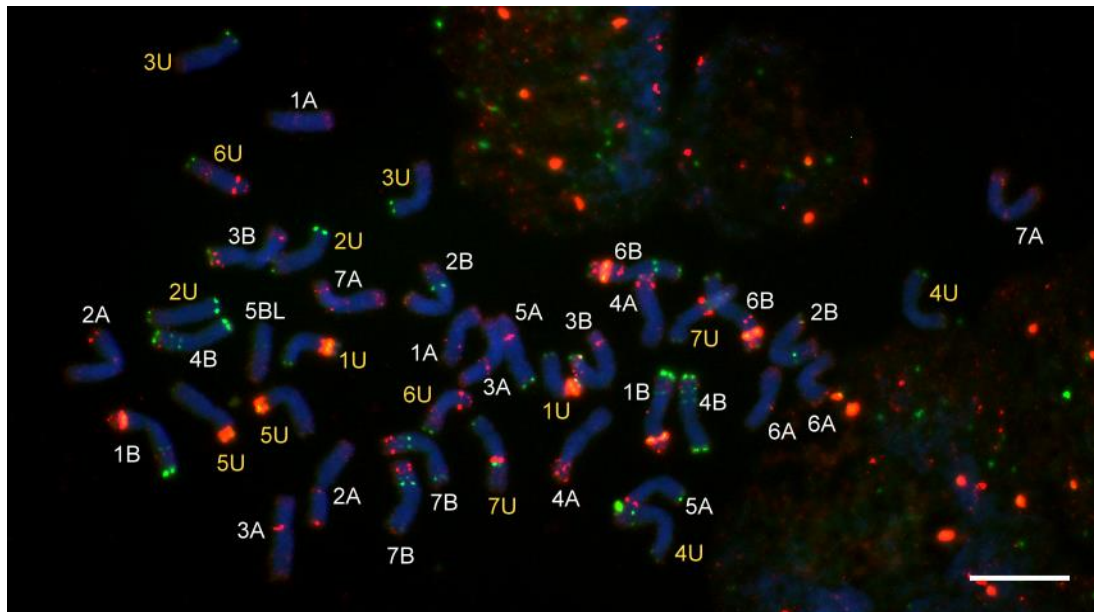
19. ábra. A *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Aegilops uniaristata* JIC2120001 amfiploid szomatikus kromoszómái metafázisban fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) és genomi *in situ* hibridizáció (GISH) után. A FISH-képen (a) a pSc119.2-jelek zöldek, az Afa family-jelek pirosak, a pTa71 pedig sárga. A GISH során az *Aegilops uniaristata*-kromoszómák piros színnel fluoreszkálnak, míg a jelöletlen durumbúza eredetű A és B kromoszómák kékek, ami DAPI-val készült kontrasztfestés eredménye.

Az üvegházban felnevelt növénynek, kalászának és tenyészkerti állományának fényképe a 20. ábrán látható. A kalászok hossza a durumbúza szülőiéhez hasonló, a pelyvalevelek keménysége viszont *Aegilops*-szerű. Érés után a kalászok letörnek.

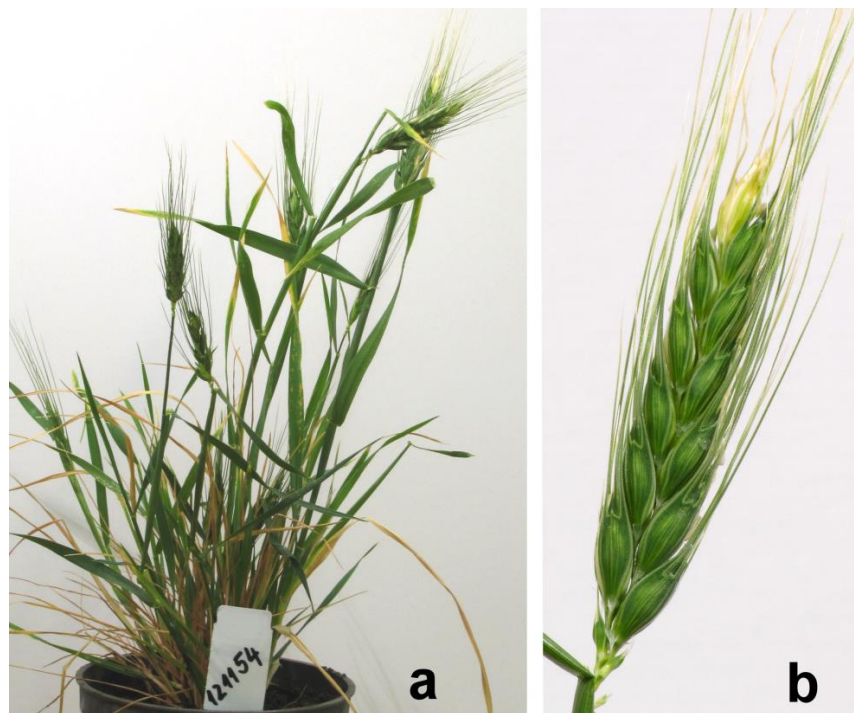


20. ábra. *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Aegilops uniaristata* JIC2120001 üvegházban felnevelt növény (a) és kalásza (b), illetve tenyészkerti (Martonvásár, Tükrös) állománya (c).

A *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Ae. umbellulata* AE740/03 keresztezésből származó kolchicinkezelt növények szemeinek metafázisos kromoszómapreparátumain FISH-t végeztünk, az Afa family, pSc119.2 és a pTa71 próbákkal (21. ábra). Az amfiploid összes kromoszómája azonosítható volt. Megtalálható volt benne az *Ae. umbellulata* mind a hét (1U–7U) kromoszómája, azonban a búzakromoszómák közül az 5B-nek csak a hosszú karja volt jelen (5BL), egy példányban. Az amfiploid növénynek és kalászának fotója a 22. ábrán látható.



21. ábra. A *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Aegilops umbellulata* AE740/03 amfiploid metafázisos kromoszómáinak FISH mintázata (a pSc119.2-jelek zöldek, az Afa family-jelek pirosak, a pTa71 pedig sárga) DAPI-val történt kontrasztfestés után.

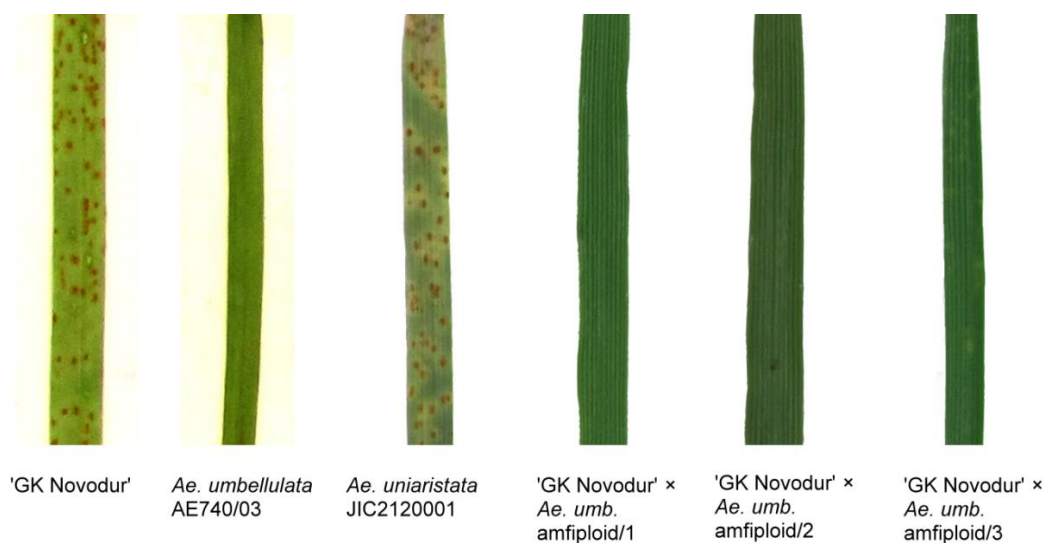


22. ábra. *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Aegilops umbellulata* AE740/03 amfiploid növény (a) és kalásza (b)

4.4.2. Durumbúza × *Aegilops sp.* amfiploidok mesterséges levélrozsdafertőzés utáni fenotípusos vizsgálata

A szülői vonalak és a 'GK Novodur' × *Ae. uniaristata* JIC2120001 és az *Ae. umbellulata* AE740/03 amfiploidok C₂ nemzedékét csíranövénykorban üvegházi körülmények között levélrozsdával fertőztük.

A 'GK Novodur' durumbúza szülő fogékonynak bizonyult, a Stakman-skálán 4-es értéket kapott. Az *Aegilops* szülők közül az *Ae. umbellulata* AE740/03 immunis volt a kórokozóval szemben, a leveleken a fertőzésnek semmilyen nyoma nem volt látható. A 'GK Novodur' × *Ae. umbellulata* AE740/03 amfiploidok szintén immunisnak bizonyultak, a leveleken nem voltak megfigyelhetők uredotelepek. Az *Ae. uniaristata* JIC2120001 mérsékelten fogékony volt a kórokozóval szemben, a leveleken közepes méretű uredotelepek jelentek meg. Klorotikus foltok szintén megfigyelhetők voltak, ezért 3-as értékelést kapott (23. ábra). A 'GK Novodur' × *Ae. uniaristata* amfiploidok mindegyike mérsékelten fogékony volt, 3-as értékeket kaptak a levélrozsdafogékonyág értékelése során.



23. ábra. Csíranövénykorban mesterségesen megfertőzött növények leveleinek fényképei. A 'GK Novodur' és az *Aegilops uniaristata* JIC2120001 szülők fogékonyak, míg az *Aegilops umbellulata* AE740/03 és a vele létrehozott amfiploidok rezisztensek.

4.4.3. A Durumbúza × *Aegilops* sp. amfiploidok előállítása és jellemzése *in situ* hibridizációval című fejezet eredményeinek megvitatása

A szintetikus amfiploidok hídnak tekinthetők a vad fajokból a hexaploid búzába történő génátviteli munkában (Jiang és mtsai. 1994). Mivel mindkét szülő kromoszómaszerelvényét diploid formában tartalmazzák, fertilisek, öntermékenyítéssel is fenntarthatók. A hexaploid búza genetikai variabilitásának növelésére az egyik lehetséges módszer a szintetikus hexaploid búzáknak a nemesítés során való felhasználása (Mujeeb-Kazi és mtsai. 1996). Az 1980-as évektől kezdődően a CIMMYT-nél (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo = Nemzetközi Búza- és Kukoricanevelő Központ) körülbelül 1200 tavaszi és őszi szintetikus hexaploid búzát hoztak létre. Az BBAA genomú modern durumbúzát és a tönkebúzát (*T. turgidum* subsp. *dicoccum*) keresztezték az *Ae. tauschii* különböző genotípusaival. A szintetikus hexaploidok és a kenyérbúzával keresztezett származékaik között számos olyan genotípust azonosítottak, amelyeknek hasznos agronómiai tulajdonságaik vannak, a búzabetegségekkel szemben rezisztensek voltak, és toleránsnak bizonyultak a különböző abiotikus stresszfaktorok ellen (van Ginkel és Ogonnaya 2007).

A BBAADD genomú szintetikus búzák mellett számos más kombinációban is hoztak létre szintetikus amfiploidokat. *T. turgidum* × *T. monococcum* (BBA^uA^uA^mA^m, 2n = 6x = 42) amfiploidokat az alakor kiváló betegségrezisztenciája miatt vonták be a keresztezésekbe (Gill és mtsai. 1988, Plamenov és mtsai. 2009). Martonvásáron Megyeri és mtsai. (2011) hoztak létre levélrozsdá- és lisztharmatrezisztens, A^uBA^m genomösszetételű amfiploidokat. Mikó és mtsai. (2015) GGA^tA^tA^mA^m genomszerkezetű amfiploidot hoztak létre, keresztezési partnerek a *T. timopheevii* MvGB845 és a *T. monococcum* L. subsp. *monococcum* '1T-1' voltak. Jellemezték a *T. timococcum* Kost., nom. nud. (2n = 6x = 42, GGA^tA^tA^mA^m) amfiploidot molekuláris citogenetikai módszerekkel és fenotípusosan is. Az amfiploid nagyfokú levél- és sárgarozsdá-rezisztenciát mutatott, s lisztharmattal szemben is ellenálló volt. A részletesen jellemzett genotípuson kívül még 10 különböző *T. timopheevii* genotípusból származó *T. timococcum*-ot állítottak elő.

A termesztett búza harmadlagos génforrásai közé tartozó diploid *Ae. uniaristata* (NN) és az *Ae. umbellulata* (UU) is sok hasznos agronómiai tulajdonságért felelős gént hordoz. Az *Ae. uniaristata* egyes genotípusai rezisztensek

a levél- és a szárrozsda (Valkoun és mtsai. 1985), a pirenofórás levélfoltosság (Zhang és Jin 1998) és az indiai kőüszög (Warham és mtsai. 1986) ellen. A fajnak ezenkívül kiváló az alumíniumtoleranciája (Miller és mtsai. 1997), és a búzaszem fehérjetartalmának javítására is felhasználható (Dai és mtsai. 2015). Az *Ae. umbellulata* szintén kiváló génforrása lehet a szárrozsda- (Özgen és mtsai. 2004), lisztharmat-, hesszenilég- és a zöldgabonalevéltetű-rezisztenciának (Gill és mtsai. 1985). Ebből a fajból vitték át az *Lr9* levélrozsda-rezisztenciáért felelős gént a hexaploid búzába (Sears 1956). Chhuneja és mtsai. (2008) az *Ae. umbellulata* 3732 genotípusából vittek át levél- és sárgarozsda-rezisztenciáért felelős géneket a kenyérbúzába. Az *Ae. umbellulata*-t először durumbúzával keresztezték, majd az F₁ hibrid kromoszómáit megkétszerezték. A szintetikus amfiploidot 'Chinese Spring' *Ph¹* (a *Ph1* gén episztatikus inhibitora) genotípussal keresztezték a homeológ kromoszómapárosodás elősegítése céljából. Ezzel a stratégiával feltehetőleg két új levélrozsda- és egy sárgarozsda-rezisztenciáért felelős gént sikerült átvinni a termesztett búzába az *Ae. umbellulata*-ból. Dai és mtsai. (2015) a *T. turgidum* subsp. *durum* cultivar 'Langdon' durumbúzáat, a *T. turgidum* subsp. *dicoccum*-ot (PI94668, PI349045) keresztezték az *Ae. umbellulata*-val (CIAe29, PI226500) és az *Ae. uniaristata*-val (PI 554419). Öt amfiploidot hoztak létre spontán kromoszómaduplikációval. Vizsgálták az amfiploidok és a szülői genotípusok tartalékfehérjéit, ezen belül a nagy molekulatömegű glutenin (HMW, High Molecular Weight) alegységeket poliakrilamid gélelektroforézissel. Az amfiploidokban megjelentek az *Aegilops*-okra jellemző HMW-glutenin alegységek, így új genetikai forrásként szolgálhatnak a hexaploid búza minőségének javítására.

A 'GK Novodur' × *Ae. uniaristata* JIC2120001 és a 'GK Novodur' × *Ae. umbellulata* AE740/03 szintetikus amfiploidok előállításánál a munkánk célja a vad fajok hasznos tulajdonságainak a búzába való átvitele. Az *Ae. umbellulata* és a vele létrehozott amfiploid mesterséges levélrozsdafertőzéskor immunisnak bizonyult, ezért felhasználható a búza rezisztencianemesítésében.

4.5. Új tudományos eredmények

1. Elkészítettük az *Ae. umbellulata* AE740/03, *Ae. comosa* TA2760, *Ae. uniaristata* JIC2120001, *Ae. tauschii* MvGB605, *Ae. speltoides* MvGB905 és az *Ae. markgrafii* MvGB428 fluoreszcens *in situ* hibridizációs kariotípusát az Afa family, pSc119.2 és a pTa71 repetitív DNS-próbákkal, ami alapján a fajok vizsgált genotípusainak összes kromoszómája nyomon követhető az előnemesítési folyamatok során.
2. Meghatároztuk a $(GAA)_n$, $(ACG)_n$, $(CAG)_n$, $(AAC)_n$, $(ACT)_n$, és $(CAC)_n$ mikroszatellit-próbák kromoszomális lokalizációját az *Ae. umbellulata* AE740/03, *Ae. comosa* TA2760, *Ae. uniaristata* JIC2120001, *Ae. tauschii* MvGB605, *Ae. speltoides* MvGB905 és az *Ae. markgrafii* MvGB428 fajoknál. Kimutattuk, hogy a legtöbb diagnosztikus sávot a $(GAA)_n$ és az $(ACG)_n$ próbák adták, ezek potenciálisan az *Ae. comosa*, *Ae. tauschii*, *Ae. markgrafii* és az *Ae. uniaristata* kromoszómáinak azonosítására használhatók.
3. 'Mv9kr1' \times *Ae. biuncialis* (MvGB642, MvGB382, MvGB1112) BC₂ és BC₃ utódokat állítottunk elő. Az 'Mv9kr1' \times *Ae. biuncialis* MvGB642 BC₃ növények között a 2U, 4U, 5U, 6U és 6M kromoszómákat, illetve 1DL.1DS-U, 5DS.5DL-M, 4DS.4DL-M, 3DS.3DL-M, ML.MS-búza transzlokációkat, az MvGB1112-es BC₂ növények között az 5U, 7U, 1M–7M és egy 3DS.3DL-U transzlokációs vonalat, az MvGB382-es BC₂ generációban pedig az 1U, 2U, 4U, 5U, 6U, 6M és a 7M kromoszómákat azonosítottuk.
4. *Ae. biuncialis* 3M^b diszómás szubsztitúciót és centrikus fúziót tartalmazó vonalat 3M^b(4B) szubsztitúciós és 3M^b.4BS centrikus fúziót tartalmazó vonalnak azonosítottuk *in situ* hibridizáció és mikroszatellit markerek segítségével.
5. Kimutattuk, hogy az *Ae. biuncialis* MvGB642-es és az MvGB382-es genotípusok szemtermésének teljes örleményében szignifikánsan nagyobb volt a kálium-, vas-, cink- és mangántartalom, mint az 'Mv9kr1' búzában.

6. Kimutattuk, hogy a 3M^b.4BS centrikus fúzió szemtermésének teljes örleményében szignifikánsan nagyobb volt a cink- és mangántartalom, mint az 'Mv9kr1' búza szülőében.

7. *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Ae. uniaristata* és *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Ae. umbellulata* szintetikus amfiploidokat hoztunk létre. Az amfiploidok genomösszetételét genomi és fluoreszcens *in situ* hibridizációval határoztuk meg. A *durum* × *Ae. umbellulata* amfiploidok mesterséges, csíranövénykori levélrozsdá-fertőzés során immunisnak bizonyultak.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

5.1. Mikroszatellit szekvenciák FISH próbaként való alkalmazása

A mikroszatellit szekvenciák FISH próbaként való alkalmazása tovább növelte az *Aegilops* kromoszómákon található potenciálisan diagnosztikus sávok számát, melyek nélkülözhetetlenek a kromoszómák azonosításakor. A gabonafélék kromoszómaínak FISH analíziséhez leggyakrabban használt próbákkal (Afa family, pSc119.2, pTa71) az összes általunk vizsgált *Aegilops* faj kromoszómája azonosítható, azonban a kromoszómák interkaláris régiójában kevesebb jelet adnak. A búza × *Ae. biuncalis* keresztezésekből származó transzlokációs vonalakban az *Aegilops* eredetű kromoszómaszegmentumot több esetben nem sikerült azonosítani. Az idegen kromoszómaszegmentumok pontosabb azonosítására a mikroszatellit-FISH-próbák közül a (GAA)_n és az (ACG)_n potenciálisan alkalmasak lehetnek.

Az általunk kariotipizált *Aegilops* fajok összes kromoszómáját előzőleg sikerült áramlásos citometriával izolálni, az *Ae. uniaristata* kivételével. A kromoszómaméret, illetve a (GAA)_n és az (ACG)_n SSR próbák fluoreszcens jelintenzitása alapján (FISHIS) a jövőben megvalósulhat az *Ae. uniaristata* egyedi kromoszómaínak szétválasztása is.

5.2. ‘Mv9kr1’–*Aegilops biuncialis* introgressziós vonalak előállítása

Az utóbbi évtizedekben több *Aegilops* fajjal hoztak létre addíciós, szubsztitúciós és transzlokációs vonalakat. Az *Aegilops* fajok genetikai változatosságát tekintve eddig létrehozott introgressziós vonalak alulképviseltek. Az introgressziós vonalak szelekciójára főként citogenetikai módszereket használtak (C-sávozás, FISH, GISH), melyek kis áteresztőképességűek, nagyobb növényi anyag vizsgálata rendkívül idő- és pénzigényes. A próbák limitált mennyisége sok esetben lehetetlenné teszi az egyes transzlokációk azonosítását. A genomi *in situ* hibridizáció felbontási képessége korlátozott, ezért sok esetben a nagyon kis méretű transzlokációk láthatatlanok maradnak. Az introgressziós vonalak hatékonyabb kiválogatására a megoldás a PCR alapú molekuláris markerek használata lehet. Az utóbbi években megkezdődött az *Ae. umbellulata* (U genommal rendelkezik) áramlásos citometriával izolált kromoszómaínak shot-gun szekvenálása (Illumina HiSeq2000), mely javaslatunk

szerint alapul szolgálhatna *Aegilops*-kromoszóma-specifikus, génalapú INDEL markerek létrehozásához. E markerek fejlesztése végett a búzakromoszómák génspecifikus szekvenciáit (EST-k) illesztjük az *Aegilops* 1U, 2US, 2UL, 3U, 4U, 5U, 6U, 7U és 7UL kromoszómáinak szekvenciáihoz (multiBLAST), majd kiválasztjuk azokat az *Aegilops*-szekvencia-töredékeket (kontigokat), amelyek a búzához képest eltérőek, inszerciós vagy deléciós régiókat tartalmaznak. Ezekre a régiókra primereket tervezve előállíthatók *Aegilops*-specifikus, illetve a búza és az *Aegilops* között hosszpolimorfizmust mutató markerek.

Az *Ae. biuncialis* MvGB642-es és az MvGB382-es genotípusaival előállítottunk egy kétszülős térképezési populációt, majd az F₂ növények allélösszetételét DArTseq technológiával határoztuk meg. A szülői allélek gyakorisága alapján elkészíthető az *Ae. biuncialis* genetikai térképe. A térképen kitüntetett pozícióban (a kromoszómakarok teloméra és centroméra közeli régiói) elhelyezkedő DArT markerek PCR alapú markerekké alakíthatók át, s ezek szintén felhasználhatóak lesznek az adott *Aegilops*-kromoszómák nyomon követésére az előnemesítési programok során.

Az 'Mv9kr1'-*Ae. biuncialis* introgressziós vonalak előállítása során több olyan *Aegilops*-kromoszómát azonosítottunk, amelyekből eddig nem sikerült addíciós vonalat létrehozni az *Ae. biuncialis* MvGB642, az MvGB382 és az MvGB1112 genotípussal. Ezeknek a vonalnak a további visszakeresztesésével, majd öntermékenyítésével létrehozhatók új diszómás addíciós vonalak. Ugyanez vonatkozik az eddig csak monoszómás állapotban azonosított transzlokációkra is, ahol a cél a stabil diszómás állapot létrehozása.

Az *Ae. biuncialis* MvG642 genotípus egyik kiemelten fontos tulajdonsága a levélrozsda-rezisztencia. A tulajdonságért felelős genomi régió kromoszomális lokalizációja még nem ismert, ezért a jövőben tervezzük az eddig létrehozott és az új keresztezésekből származó növények mesterséges levélrozsda-fertőzését. A korai BC generációkban erre a tulajdonságra kívánunk szelektálni, majd a BC₃-BC₄-ben, illetve ezek öntermékenyített generációiban molekuláris markerekkel és citogenetikai módszerekkel vizsgáljuk a növényeket.

5.3. 3M^b(4B) szubsztitúció és a 3M^b.4BS centrikus fúzió azonosítása, agronómiai tulajdonságai és mikroelem-tartalma

A 3M^b.4BS centrikus fúzió búza genetikai háttere nem túl előnyös, mivel jelentős mértékben tartalmaz 'Chinese Spring' eredetű alléleket. Indokolt lenne ezért a 3M^b.4BS centrikus fúziót egy jó agronómiai tulajdonságokkal rendelkező elit búzafajta genetikai hátterébe átvinni, és kedvező tulajdonságok esetén integrálni a búzanemesítési programokba. Ezt a célt szolgálja az a nemrég indított keresztezési program, melynek célja a 3M^b.4BS centrikus fúziónak a 'Mv Ménrót' őszi búzafajtába – amely modern, köztermesztésben levő búzafajta, 2014-ben állami elismerést kapott – való átvitele. Ennek a programnak a keretében a jelenleg termesztett búzafajtáknál nagyobb mikroelem-tartalmú és jó agronómiai tulajdonságú genotípus létrehozása a cél.

A 3M^b.4BS centrikus fúziót tartalmazó vonalnál az *Aegilops* eredetű 3M^b szegmentumot nem sikerült teljes mértékben azonosítani, nem tudni, hogy a 3M^b rövid vagy a hosszú karja vesz-e részt a centrikus fúzió létrehozásában. A korábban említett, az *Ae. biuncialis* genetikai térképén található markerek segítségével a 3M^b kromoszómakar pontosan azonosítható lesz.

DARtseq technikával szintén genotipizáltunk egy diverz, különböző földrajzi élőhelyekről származó *Ae. biuncialis* populációt. Ez a populáció, valamint az F₂ kétszülős térképezési populáció későbbi generációi alkalmasak lehetnek a nagyobb mikroelem-tartalomért felelős QTL-ek azonosítására. Így a nagyobb mikroelem-tartalomért felelős génekkel szorosan kapcsolt markerek reményeink szerint felhasználhatóak lesznek a célzott géneknek a búzába, markerszelekcióval való átvitelére.

5.4. Szintetikus amfiploidok előállítása

T. turgidum subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Ae. uniaristata* és *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Ae. umbellulata* szintetikus amfiploidok olyan növényi anyagot képviselnek, melyek keresztezési hídként alkalmasak e két vad faj hasznos tulajdonságainak mind a hexaploid, mind a tetraploid búzába való átvitelére. Fertilitásuknak köszönhetően fenntarthatóak, és feltételezhetően jól keresztezhetőek a búzával. A szintetikus amfiploidokkal további célunk a 'Chinese Spring' *ph1b*

mutáns genotípussal történő keresztezésük, a búza- és az *Aegilops*-kromoszómák közötti homeológ rekombinációk indukálása céljából.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A búza Földünk legelterjedtebb gabonaféléje, kitüntetett szerepet játszik a világ népességének ételmezésében. Termésmennyiségét az abiotikus stresszfactorok, valamint a különböző növénybetegségek jelentősen csökkentik. A termesztett búza abiotikus és biotikus stresszekkel szembeni ellenállóképességének fokozására az egyik lehetséges módszer a búzával rokon vad fajok hasznos agronómiai tulajdonságainak faj- és nemzetségkeresztezés révén való átvitele. Ez a módszer alternatívaként szolgál a genetikai transzformációval történő génátvitel mellett. A *Triticum* nemzetséggel legközelebbi rokonságban a kecskebúza (*Aegilops*) nemzetség áll. Széles körű elterjedési területe a nemzetség jó adaptációs képességét jelzi. Nagyfokú a genetikai variabilitása, ezért kiváló biotikus és abiotikus stresszrezisztencia-forrás, de a búza biofortifikációjára is felhasználható. Idegenfajú keresztezésekkel már eddig is számos hasznos tulajdonságot vittek át az *Aegilops* fajokból a kenyérbúzába, azonban a bennük rejlő genetikai diverzitás nagyrészt kiaknázatlan.

Kísérleteinkben célul tűztük ki az *Aegilops* fajok, elsősorban az *Ae. biuncialis* kedvező tulajdonságainak a hexaploid búzába való átvitelét, búza–*Aegilops* introgressziós vonalak előállításával, illetve a génátviteli munka során használt molekuláris citogenetikai módszerek fejlesztését.

Elkészítettük a $(GAA)_n$, $(ACG)_n$, $(CAG)_n$, $(AAC)_n$, $(ACT)_n$, és a $(CAC)_n$ mikroszatellit szekvenciák fluoreszcens *in situ* hibridizációs kariotípusát az *Ae. umbellulata*, *Ae. comosa*, *Ae. uniaristata*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltoides* és az *Ae. markgrafii* fajoknál. A kísérletek eredményeként rendelkezésre állnak olyan fluoreszcens *in situ* hibridizációs próbák, amelyek diagnosztikus sávokat adnak az eddig nem jellemzett kromoszómarégiókon is.

Az *Ae. biuncialis* fajjal ez idáig nem állítottak elő hasznos agronómiai tulajdonságokat mutató búza–*Aegilops* transzlokációkat. Martonvásáron a korábbi években létrehoztak addíciós vonalakat az MvGB642 genotípussal, azonban ez a sorozat még nem teljes. A teljes addíciós sorozat létrehozása és további tulajdonságok átvitele végett az *Ae. biuncialis* két másik genotípusát (MvGB382, MvGB1112) is bevontuk a keresztezésekbe. A *T. aestivum* 'Mv9kr1' \times *Ae. biuncialis* (MvGB642, MvGB382, MvGB1112) amfiploidokból visszakeresztezéses módszerrel BC₂ és BC₃ utódokat állítottunk elő. Az utódokat fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH, GISH) vizsgáltuk. Mindhárom genotípussal létrehozott BC utódokban

azonosítottunk olyan *Aegilops*-kromoszómákat, melyek korábban nem voltak jelen addíciós vonal formájában. E genotípusok visszakeresztezésével, illetve öntermékenyítésével új búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalak létrehozása várható. Az MvGB642 és az MvGB1112 genotípussal létrehozott visszakeresztezett utódok között öt, illetve egy transzlokációs vonalat azonosítottunk.

Molekuláris citogenetikai módszerekkel (GISH, FISH) és molekuláris markerekkel azonosítottuk a korábban létrehozott ‘Mv9kr1’–*Ae. biuncialis* MvGB642 3M^b diszómás addíciós vonal és a ‘Chinese Spring’ *ph1b* keresztezéséből származó búza–*Ae. biuncialis* diszómás szubsztitúciót és centrikus fúziót hordozó vonalat. A vonalakat 3M^b(4B) szubsztitúciós és 3M^b.4BS centrikus fúziót tartalmazó vonalnak azonosítottuk. Megvizsgáltuk a szülői genotípusok (‘Mv9kr1’, *Ae. biuncialis* MvGB642) és a vele létrehozott introgressziós vonalak (3M^b addíciós, 3M^b[4B] szubsztitúciós és 3M^b.4BS centrikus fúziót hordozó vonalak) száraz szemtermésének vas-, cink- és mangántartalmát atomabszorpciós, káliumtartalmát pedig atomemissziós spektrofotometriás módszerrel. Az *Ae. biuncialis* MvGB642 szülő mikroelem-, és káliumtartalma szignifikánsan nagyobb volt, mint az ‘Mv9kr1’ búza szülői genotípusé. A 3M^b.4BS centrikus fúzió szignifikánsan több cinket és mangánt tartalmazott, mint a búza szülő, ezenkívül az introgressziós vonalak közül a legjobb agronómiai tulajdonságai voltak. Az eredmények alapján feltételezhető, hogy a centrikus fúzióban található 3M^b kromoszómakaron a szemtermés Zn- és Mn-tartalmát befolyásoló régiók találhatóak. A teljes szemtermés magasabb mikroelem-tartalma azonban csak akkor lehet előnyös a búzanemesítés szempontjából, ha az megjelenik az endospermiumban, illetve ehez kötődően a liszt frakcióban is.

A szintetikus amfiploidok fertilitásuknak köszönhetően értékes előnemesítési növényi anyagnak számítanak. Napjainkig számos betegségrezisztencia-gént vittek át segítségükkel a búza vad rokon fajaiból a durum-, illetve a hexaploid búzába. Durumbúza × *Ae. umbellulata* és durumbúza × *Ae. uniaristata* F₁ hibridet, majd a hibrid kolchicinkezelésével (BBAAUU, illetve BBAANN genomösszetételű) amfiploidot állítottunk elő mindkét *Aegilops* fajjal. Az amfiploidok genomösszetételét genomi és fluoreszcens *in situ* hibridizációval határoztuk meg. A durumbúza × *Ae. umbellulata* amfiploidok mesterséges, csíranövénykori levélrozsdafertőzéssel szemben immunisnak bizonyultak. A létrehozott amfiploidokra génátviteli hídként tekinthetünk.

6.1. Summary

The wheat is the most widespread cereals in the World which plays prominent role in the human diet. The annual yield of wheat can be significantly reduced by abiotic stressfactors and plant diseases. One of the possible method for improving the stress resistance is the transfer of useful agronomic traits from wild relatives into wheat by interspecific or intergeneric hybridisation. This method serve as an alternative for the genetic transformation for improving the genetic diversity of wheat.

Goatgrasses (*Aegilops*) are the closest relatives of *Triticum*. The wide distribution area indicates the good adaptation ability of the genus. *Aegilops* species have considerable genetic variability, therefore they are excelent sources for stress resistance and biofortification of wheat. Beside the fact that several useful traits have been transfered from *Aegilops* species to wheat by interspecific hybridisation, their genetic diversity is largely underutilised.

The goal of our study were the transfer of useful traits from *Aegilops* species, especially from *Ae. biuncialis*, into hexaploid wheat by development of wheat–*Aegilops* introgression lines and the improvement of molecular cytogenetic methods used during the chromosome-mediated genetransfer.

We developed the fluorescent *in situ* hybridisation karyotype of *Ae. umbellulata*, *Ae. comosa*, *Ae. uniaristata*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltoides* and *Ae. markgrafii* with the microsatellite repeat probes (GAA)_n, (ACG)_n, (CAG)_n, (AAC)_n, (ACT)_n and (CAC)_n. Our experiments resulted in FISH probes with new diagnostic bands in the non-characterised chromosome regions.

No wheat–*Ae. biuncialis* translocations with useful agronomic traits has been produced until now.

In the last decade some wheat–*Aegilops* addition lines were produced using the *Ae. biuncialis* accession MvGB642 in Martonvásár, but this set is still incomplete. In order to produce complete set of addition lines and to transfer of additional traits, two other *Ae. biuncialis* accessions (MvGB382, MvGB1112) have been involved in the crossing programmes. We developed BC₂ and BC₃ progenies from the *T. aestivum* 'Mv9kr1' × *Ae. biuncialis* (MvGB642, MvGB382, MvGB1112) amphyploids by backcross method. These progenies were investigated by fluorescent *in situ* hybridisation (FISH, GISH) and many chromosomes which didn't represented in the addition lines were identified. These genotypes are potential sources for the production of new wheat–*Ae. biuncialis* addition lines. We also identified five and

one wheat–*Ae. biuncialis* translocation lines within the backcross progenies of accessions MvGB642 and MvGB1112, respectively. We identified the wheat–*Ae. biuncialis* disomic substitution and centric fusion lines originated from the crossing of ‘Mv9kr1’–*Ae. biuncialis* MvGB642 3M^b disomic addition line and ‘Chinese Spring’ *ph1b* mutant by molecular cytogenetic methods (FISH, GISH). These lines were identified as genotypes carrying 3M^b(4B) substitution or 3M^b.4BS centric fusion.

The iron, zinc, and manganese content of dry seeds were investigated by atomic absorption and potassium content by atomic emission spectrophotometric methods in the introgression lines 3M^b addition, 3M^b(4B) substitution and 3M^b.4BS centric fusion together with their parental lines ‘Mv9kr1’ and *Ae. biuncialis* MvGB642. The micronutrient and potassium content of *Ae. biuncialis* MvGB642 parent were significantly higher than the wheat parental genotype ‘Mv9kr1’. The 3M^b.4BS centric fusion exhibited significantly higher zinc and manganese content than the wheat parental line and it has the best agronomical traits among the investigated introgression lines. These results suggest that the 3M^b chromosome arm contains genomic regions affecting the yield and the grain zinc and manganese content. If this higher micronutrient content is also present in the endospermium than this genotype could be used for the biofortification of wheat in the future.

Thanks to their fertility, the synthetic amphyploids are considered as valuable prebreeding material. With their help, several pest resistance genes have been transferred from the wild relatives into the bread and durum wheat.

Durum wheat x *Ae. umbellulata* and durum wheat x *Ae. uniaristata* F₁ hybrids and amphiploids (BBAAUU and BBAANN) were developed. The genome constitution of the amphiploids were characterised by genomic- and fluorescence *in situ* hybridisation. The durum wheat × *Ae. umbellulata* amphiploid was immune for leaf rust infection at the seedling stage. The newly developed amphiploids can be considered as bridge materials for the chromosome mediated gene transfer into wheat.

7. MELLÉKLETEK

M1. Irodalomjegyzék

- AGHAEI-SARBARZEH, M., FERRAHI, M., SINGH, S., SINGH, H., FRIEBE, B., GILL, B.S.,
ÉS DHALIWAL, H.S. (2002): *Ph¹*-induced transfer of leaf and stripe rust-
resistance genes from *Aegilops triuncialis* and *Ae. geniculata* to bread wheat.
Euphytica 127(3): 377–382.
- AL-KAFF, N., KNIGHT, E., BERTIN, I., FOOTE, T., HART, N., GRIFFITHS, S., ÉS MOORE,
G. (2008): Detailed dissection of the chromosomal region containing the *Ph1*
locus in wheat *Triticum aestivum*: With deletion mutants and expression
profiling. *Annals of Botany* 101(6): 863–872.
- AXELSEN, K.B., ÉS PALMGREN, M.G. (1998): Evolution of substrate specificities in
the P-type ATPase superfamily. *Journal of Molecular Evolution* 46(1): 84–101.
- BADAEVA, E.D., AMOSOVA, A. V., GONCHAROV, N.P., MACAS, J., RUBAN, A.S.,
GRECHISHNIKOVA, I. V., ZOSHCHUK, S.A., ÉS HOUBEN, A. (2015): A set of
cytogenetic markers allows the precise identification of all A-genome
chromosomes in diploid and polyploid wheat. *Cytogenetic and Genome
Research* 146: 71–79.
- BADAEVA, E.D., AMOSOVA, A. V., SAMATADZE, T.E., ZOSHCHUK, S.A., SHOSTAK,
N.G., CHIKIDA, N.N., ZELENIN, A. V., RAUPP, W.J., FRIEBE, B., ÉS GILL, B.S.
(2004): Genome differentiation in *Aegilops*. 4. Evolution of the U-genome
cluster. *Plant Systematics and Evolution* 246(1–2): 45–76.
- BADAEVA, E.D., DEDKOVA, O.S., ZOSHCHUK, S.A., AMOSOVA, A. V., READER, S.M.,
BERNARD, M., ÉS ZELENIN, A. V. (2011): Comparative analysis of the N-genome
in diploid and polyploid *Aegilops* species. *Chromosome Research* 19(4): 541–
548.
- BADAEVA, E.D., FRIEBE, B., ÉS GILL, B.S. (1996a):. Genome differentiation in
Aegilops. 1. Distribution of highly repetitive DNA sequences on chromosomes
of diploid species. *Genome* 39(2): 293–306.
- BADAEVA, E.D., FRIEBE, B., ÉS GILL, B.S. (1996b):. Genome differentiation in

Aegilops. 2. Physical mapping of 5S and 18S-26S ribosomal RNA gene families in diploid species. *Genome* 39(6): 1150–1158.

- BADAEVA, E.D., RUBAN, A.S., ZOSHCHUK, S.A., SURZHIKOV, S.A., KNÜPFER, H., ÉS KILIAN, B. (2016): Molecular cytogenetic characterization of *Triticum timopheevii* chromosomes provides new insight on genome evolution of *T. zhukovskyi*. *Plant Systematics and Evolution* 302(8): 943–956.
- BAI, D., SCOLES, G.J., ÉS KNOTT, D.R. (1994): Transfer of leaf rust and stem rust resistance genes from *Triticum triaristatum* to durum and bread wheats and their molecular cytogenetic localization. *Genome* 37(3): 410–418.
- BAI, D., SCOLES, G.J., ÉS KNOTT, D.R. (1995): Rust resistance in *Triticum cylindricum* Ces. (4x, CCDD) and its transfer into durum and hexaploid wheats. *Genome* 38: 8–16.
- BANDOPADHYAY, R., SHARMA, S., RUSTGI, S., SINGH, R., KUMAR, A., BALYAN, H.S., ÉS GUPTA, P.K. (2004): DNA polymorphism among 18 species of *Triticum-Aegilops* complex using wheat EST-SSRs. *Plant Science* 166(2): 349–356.
- BARDSLEY, D., CUADRADO, A., JACK, P., HARRISON, G., CASTILHO, A., ÉS HESLOP-HARRISON, J.S. (1999): Chromosome markers in the tetraploid wheat *Aegilops ventricosa* analysed by *in situ* hybridization. *Theoretical and Applied Genetics* 99: 300–304.
- BARLOY, D., LEMOINE, J., DREDRYVER, F., ÉS JAHIER, J. (2000): Molecular markers linked to the *Aegilops variabilis*-derived root-knot nematode resistance gene *Rkn-mn1* in wheat. *Plant Breeding* 118: 169–172.
- BARTOŠ, J., PAUX, E., KOFLER, R., HAVRÁNKOVÁ, M., KOPECKÝ, D., SUCHÁNKOVÁ, P., ŠAFÁ, J., ŠIMKOVÁ, H., TOWN, C.D., LELLEY, T., FEUILLET, C., ÉS DOLEŽEL, J. (2008): A first survey of the rye (*Secale cereale*) genome composition through BAC end sequencing of the short arm of chromosome 1R. *BMC Plant Biology* 8: 1–12.
- BEDBROOK, J.R., JONES, J., O'DELL, M., THOMPSON, R.D., ÉS FLAVELL, R.B. (1980): A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species. *Cell* 19(2): 545–560.

- BELEA, A. (1986): Faj- és nemzetségkeresztezések a növényvilágban. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- BENAVENTE, E., ALIX, K., DUSAUTOIR, J.-C., ORELLANA, J., ÉS DAVID, J.L. (2001): Early evolution of the chromosomal structure of *Triticum turgidum* - *Aegilops ovata* amphiploids carrying and lacking the *Ph1* gene. *Theoretical and Applied Genetics* 103(8): 1123–1128.
- BENNETZEN, J.L. (2000): Transposable element contributions to plant genome evolution. *Plant Mol Biol* 42: 251–269.
- BERTIN, I., ZHU, J.H., ÉS GALE, M.D. (2005): SSCP-SNP in pearl millet-a new marker system for comparative genetics. *Theoretical and Applied Genetics* 110(8): 1467–1472.
- BHULLAR, R., NAGARAJAN, R., BENNYPAUL, H., SIDHU, G.K., SIDHU, G., RUSTGI, S., VON WETTSTEIN, D., ÉS GILL, K.S. (2014): Silencing of a metaphase I-specific gene results in a phenotype similar to that of the Pairing homeologous 1 (*Ph1*) gene mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111(39): 14187–14192.
- BLAKESLEE, A.F., ÉS AVERY, A.G. (1937): Methods of inducing doubling of chromosomes in plants: By treatment with colchicine. *Journal of Heredity* 28(12): 393–411.
- BRAUN, H.J., ATLIN, G., ÉS PAYNE, T. (2010): Multi-location testing as a tool to identify plant response to global climate change. 115–138. p. In: M.P. Reynolds (Szerk.): *Climate change and crop production*. CABI, Wallingford.
- BUONGIORNO-NARDELLI, M., ÉS AMALDI, F. (1970): Autoradiographic detection of molecular hybrids between rRNA and DNA in tissue sections. *Nature* 225(5236): 946–948.
- BURT, C., ÉS NICHOLSON, P. (2011): Exploiting co-linearity among grass species to map the *Aegilops ventricosa*-derived *Pch1* eyespot resistance in wheat and establish its relationship to *Pch2*. *Theoretical and Applied Genetics* 123(8): 1387–1400.
- CAKMAK, I. (2008): Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic

biofortification? *Plant and Soil* 302(1–2): 1–17.

CAKMAK, I., CAKMAK, O., EKER, S., ÖZDEMİR, A., WATANABE, N., ÉS BRAUN, H.J. (1999a):. Expression of high zinc efficiency of *Aegilops tauschii* and *Triticum monococcum* in synthetic hexaploid wheats. *Plant and Soil* 215(2): 203–209.

CAKMAK, I., ÖZKAN, H., BRAUN, H.J., WELCH, R.M., ÉS ROMHELD, V. (2000): Zinc and iron concentrations in seeds of wild, primitive, and modern wheats. *Food and Nutrition Bulletin* 21(4): 401–403.

CAKMAK, I., TOLAY, I., ÖZKAN, H., ÖZDEMİR, A., ÉS BRAUN, H.J. (1999b):. Variation in zinc efficiency among and within *Aegilops* species. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 162(3): 257–262.

CALDERINI, D.F., ÉS ORTIZ-MONASTERIO, I. (2003a):. Are synthetic hexaploids a means of increasing grain element concentrations in wheat? *Euphytica* 134(2): 169–178.

CALDERINI, D.F., ÉS ORTIZ-MONASTERIO, I. (2003b):. Grain position affects grain micronutrient concentration in wheat. *Crop Science* 43: 141–151.

CALDERINI, D.F., SANTIAGO, T.-L., ÉS SLAFER, G.A. (1995): Consequences of wheat breeding on nitrogen and phosphorus concentration and associated traits. *Annals of Botany* 76: 315–322.

CAMERON, D.R., ÉS MOAV, M.R. (1956): Inheritance in *nicotiana tabacum* XXVII. pollen killer, an alien genetic locus inducing abortion of microspores not carrying it. *Genetics* 42(3): 326–335.

CASPERSSON, T., FARBER, S., FOLEY, G.E., KUDYNOWSKI, J., MODEST, E.J., SIMONSSON, E., WAGH, U., ÉS ZECH, L. (1968): Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Experimental Cell Research* 49(1): 219–222.

CELLIER, M., PRIVÉ, G., BELOUCHI, A., KWAN, T., RODRIGUES, V., CHIA, W., ÉS GROS, P. (1995): Nramp defines a family of membrane proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92(October): 10089–10093.

CEOLONI, C., STRAUSS, I., ÉS FELDMAN, M. (1986): Effect of different doses of group-2 chromosomes on homoeologous pairing in intergeneric wheat hybrids. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 28(2): 240–246.

- CHANG, K.D., FANG, S.A., CHANG, F.C., ÉS CHUNG, M.C. (2010): Chromosomal conservation and sequence diversity of ribosomal RNA genes of two distant *Oryza* species. *Genomics* 96(3): 181–190.
- CHAPMAN, V., MILLER, T.E., ÉS RILEY, R. (1976): Equivalence of the A genome of bread wheat and that of *Triticum urartu*. *Genetical Research* 27(1): 69–76.
- CHARMET, G. (2011): Wheat domestication: Lessons for the future. *Comptes Rendus - Biologies* 334(3): 212–220.
- CHEN, P.D., TSUJIMOTO, H., ÉS GILL, B.S. (1994): Transfer of *Phl* genes promoting homoeologous pairing from *Triticum speltooides* to common wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 88(1): 97–101.
- CHHUNEJA, P., DHALIWAL, H.S., BAINS, N.S., ÉS SINGH, K. (2006): *Aegilops kotschyi* and *Aegilops tauschii* as sources for higher levels of grain iron and zinc. *Plant Breeding* 125(5): 529–531.
- CHHUNEJA, P., KAUR, S., GOEL, R.K., AGHAE-SARBARZEH, M., PRASHAR, M., ÉS DHALIWAL, H.S. (2008): Transfer of leaf rust and stripe rust resistance from *Aegilops umbellulata* Zhuk. to bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 55(6): 849–859.
- COLMER, T.D., FLOWERS, T.J., ÉS MUNNS, R. (2006): Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany* 57(5): 1059–1078.
- CONTENTO, A., HESLOP-HARRISON, J.S., ÉS SCHWARZACHER, T. (2005): Diversity of a major repetitive DNA sequence in diploid and polyploid *Triticeae*. *Cytogenetic and Genome Research* 109(1–3): 34–42.
- CUADRADO, A., CARDOSO, M., ÉS JOUVE, N. (2008): Physical organisation of simple sequence repeats (SSRs) in *Triticeae*: structural, functional and evolutionary implications. *Cytogenetic and Genome Research* 120(3–4): 210–219.
- CUADRADO, A., ÉS SCHWARZACHER, T. (1998): The chromosomal organization of simple sequence repeats in wheat and rye genomes. *Chromosoma* 107(8): 587–594.
- CUADRADO, A., SCHWARZACHER, T., ÉS JOUVE, N. (2000): Identification of different

chromatin classes in wheat using in situ hybridization with simple sequence repeat oligonucleotides. *Theoretical and Applied Genetics* 101(5–6): 711–717.

DAI, S., ZHAO, L., XUE, X., JIA, Y., LIU, D., PU, Z., ZHENG, Y., ÉS YAN, Z. (2015): Analysis of high-molecular-weight glutenin subunits in five amphidiploids and their parental diploid species *Aegilops umbellulata* and *Aegilops uniaristata*. *Plant Genetic Resources* 13(2): 186–189.

DAMANIA, A.B., ÉS PECETTI, L. (1990): Variability in a collection of *Aegilops* species and evaluation for yellow rust resistance at two locations in Northern Syria. *Journal of Genetics & Breeding* 44(2): 97–102.

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

DEVOS, K.M., ÉS GALE, M.D. (1993): Extended genetic maps of the homoeologous group 3 chromosomes of wheat, rye and barley. *Theoretical and Applied Genetics* 85(6–7): 649–652.

DHALIWAL, H., HARJIT-SINGH, ÉS WILLIAM, M. (2002): Transfer of rust resistance from *Aegilops ovata* into bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and molecular characterisation of resistant derivatives. *Euphytica* 126(2): 153–159.

DHALIWAL, H.S., FRIEBE, B., GILL, K.S., ÉS GILL, B.S. (1990): Cytogenetic identification of *Aegilops squarrosa* chromosome additions in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 79(6): 769–774.

DISTELFELD, A., CAKMAK, I., PELEG, Z., OZTURK, L., YAZICI, A.M., BUDAK, H., SARANGA, Y., ÉS FAHIMA, T. (2007): Multiple QTL-effects of wheat *Gpc-B1* locus on grain protein and micronutrient concentrations. *Physiologia Plantarum* 129(3): 635–643.

DOLEŽEL, J., KUBALÁKOVÁ, M., PAUX, E., BARTOŠ, J., ÉS FEUILLET, C. (2007): Chromosome-based genomics in the cereals. *Chromosome Research* 15: 51–66.

DOSBA, F., DOUSSINAULT, G., ÉS RIVOAL, R. (1978): Extraction, identification and utilization of the addition lines *T. aestivum*-*Ae. ventricosa*. 332–337. p. In: Ramanujam (Szerk.): *Proceedings of the 5th international wheat genetics symposium*. New Delhi, India.

- DRETS, M.E., ÉS SHAW, M.W. (1971): Specific Banding Patterns of Human Chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 68(9): 2073–2077.
- DRISCOLL, C. (1972): Genetic suppression of homoeologous chromosome pairing in hexaploid wheat. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 14: 39–42.
- DRISCOLL, C.J. (1973): Minor genes affecting homoeologous pairing in hybrids between wheat and related genera. *Genetics* 74: 66.
- DULAI, S., MOLNÁR, I., SZOPKÓ, D., DARKÓ, É., VOJTKÓ, A., SASS-GYARMATI, A., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2014): Wheat-*Aegilops biuncialis* amphiploids have efficient photosynthesis and biomass production during osmotic stress. *Journal of Plant Physiology* 171(7): 509–517.
- DVOŘÁK, J. (1987): Chromosomal distribution of genes in *Elytrigia elongata* which promote or suppress pairing of wheat homoeologous chromosomes. *Genome* 29: 34–40.
- DVORÁK, J., TERLIZZI, P., ZHANG, H.B., ÉS RESTA, P. (1993): The evolution of polyploid wheats: identification of the A genome donor species. *Genome* 36(1): 21–31.
- DVORÁK, J., ÉS ZHANG, H.B. (1990): Variation in repeated nucleotide sequences sheds light on the phylogeny of the wheat B and G genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87(24): 9640–9644.
- DYER, A.F. (1963): The use of lacto-propionic orcein in rapid squash methods for chromosome preparations. *Stain Technology* 38(2): 85–90.
- EHRENBERG, L., GUSTAFSSON, A., ÉS LUNDQVIST, U. (1961): Viable mutants induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. *Hereditas* 47(2): 243–282.
- EIGSTI, O.J., ÉS DUSTIN, A.P. (1955): Colchicine-in agriculture, Medicine, Biology and Chemistry. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- EKMEKCI, Y., ÉS TERZIOGLU, S. (2002): Changes in the electrophoretic pattern of soluble shoot proteins of wild and cultivated tetraploid wheats following cold

- acclimation and freezing. *Israel Journal of Plant Sciences* 50(2): 95–102.
- ELLSTRAND, N.C., PRENTICE, H.C., ÉS HANCOCK, J.F. (1999): Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review of Ecology and Systematics* 30: 539–563.
- ENDO, T.R. (1990): Gametocidal chromosomes and their induction of chromosome mutations in wheat. *The Japanese Journal of Genetics* 65(3): 135–152.
- ENDO, T.R. (2007): The gametocidal chromosome as a tool for chromosome manipulation in wheat. *Chromosome Research* 15(1): 67–75.
- ENDO, T.R., ÉS GILL, B.S. (1996): The Deletion Stocks of Common Wheat. *Journal of Heredity* 87(4): 295–307.
- FALK, D.E., ÉS KASHA, K.J. (1983): Genetic studies of the crossability of hexaploid wheat with rye and *Hordeum bulbosum*. *Theoretical and Applied Genetics* 64: 303–307.
- FARKAS, A., MOLNÁR, I., DULAI, S., RAPI, S., OLDAL, V., CSEH, A., KRUPPA, K., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2014b): Increased micronutrient content (Zn, Mn) in the 3M^b(4B) wheat - *Aegilops biuncialis* substitution and 3M^b.4BS translocation identified by GISH and FISH. *Genome* 57(2): 61–67.
- FAROOQ, S., SHAH, T.M., ÉS ASGHAR, M. (1996): Intergeneric hybridization for wheat improvement: V. Production of and metaphase 1 chromosome analysis in F1 hybrids of wheat (*Triticum aestivum*) with *Aegilops ovata* L. *Cereal Research Communications* 24(2): 155–161.
- FEDAK, G. (1999): Molecular aids for integration of alien chromatin through wide crosses. *Genome* 42(4): 584–591.
- FELDMAN, M. (1966): The effect of chromosomes 5B, 5D, and 5A on chromosomal pairing in *Triticum aestivum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 55(6): 1447–1453.
- FELDMAN, M., ÉS SEARS, E.R. (1981): The wild gene resources of wheat. *Scientific American* 244(1): 102–112.
- FINCH, R.A., MILLER, T.E., ÉS BENNETT, M.D. (1984): „Cuckoo” *Aegilops* addition

chromosome in wheat ensures its transmission by causing chromosome breaks in meiospores lacking it. *Chromosoma* 90(1): 84–88.

- FRANCKI, M.G., CRASTA, O.R., SHARMA, H.C., OHM, H.W., ÉS ANDERSON, J.M. (1997): Structural organization of an alien *Thinopyrum intermedium* group 7 chromosome in U.S. soft red winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome* 40(5): 716–22.
- FRIEBE, B., JIANG, J., KNOTT, D.R., ÉS GILL, B.S. (1994): Compensation indices of radiation-induced wheat-*Agropyron elongatum* translocations conferring resistance to leaf rust and stem rust. *Crop science* 34: 400–404.
- FRIEBE, B., JIANG, J., RAUPP, W.J., MCINTOSH, R.A., ÉS GILL, B.S. (1996a): Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. *Euphytica* 91(1): 59–87.
- FRIEBE, B., JIANG, J., TULEEN, N., ÉS GILL, B.S. (1995a): Standard karyotype of *Triticum umbellulatum* and the characterization of derived chromosome addition and translocation lines in common wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 90(1): 150–156.
- FRIEBE, B., QI, L.L., NASUDA, S., ZHANG, P., TULEEN, N.A., ÉS GILL, B.S. (2000): Development of a complete set of *Triticum aestivum*-*Aegilops speltoides* chromosome addition lines. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 51–58.
- FRIEBE, B., SCHUBERT, V., BLÜTHNER, W.D., ÉS HAMMER, K. (1992): C-banding pattern and polymorphism of *Aegilops caudata* and chromosomal constitutions of the amphiploid *T. aestivum* - *Ae. caudata* and six derived chromosome addition lines. *Theoretical and Applied Genetics* 83: 589–596.
- FRIEBE, B., TULEEN, N.A., BADAIEVA, E.D., ÉS GILL, B.S. (1996b): Cytogenetic identification of *Triticum peregrinum* chromosomes added to common wheat. *Genome* 276: 272–276.
- FRIEBE, B., TULEEN, N.A., ÉS GILL, B.S. (1995b): Standard karyotype of *Triticum searsii* and its relationship with other S-genome species and common wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 248–254.
- FRIEBE, B.R., BADAIEVA, E.D., KAMMER, K., ÉS GILL, B.S. (1996c): Standard

karyotypes of *Aegilops uniaristata*, *Ae. mutica*, *Ae. comosa* subspecies *comosa* and *heldreichii* (*Poaceae*). *Plant Systematics and Evolution* 202: 199–210.

FRIEBE, B.R., TULEEN, N.A., ÉS GILL, B.S. (1999): Development and identification of a complete set of *Triticum aestivum* - *Aegilops geniculata* chromosome addition lines. *Genome* 42(3): 374–380.

FRIEBE, B.R., TULEEN, N.A., JIANG, J., ÉS GILL, B.S. (1993): Standard karyotype of *Triticum longissimum* and its cytogenetic relationship with *T. aestivum*. *Genome* 36: 731–742.

FULTON, T.M., VAN DER HOEVEN, R., EANNETTA, N.T., ÉS TANKSLEY, S.D. (2002): Identification, analysis, and utilization of conserved ortholog set markers for comparative genomics in higher plants. *The Plant cell* 14(7): 1457–1467.

GAITHER, L.A., ÉS EIDE, D.J. (2001): Eukaryotic zinc transporters and their regulation. *BioMetals* 14(3–4): 251–270.

GALL, J.G., ÉS PARDUE, M. LOU. (1969): Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 63(1): 378–383.

GENC, Y., VERBYLA, A.P., TORUN, A.A., ÇAKMAK, I., WILLSMORE, K., WALLWORK, H., ÉS McDONALD, G.K. (2009): Quantitative trait loci analysis of zinc efficiency and grain zinc concentration in wheat using whole genome average interval mapping. *Plant and Soil* 314(1–2): 49–66.

GERLACH, W.L., ÉS BEDBROOK, J.R. (1979): Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. *Nucleic acids research* 7(7): 1869–1885.

GILES, R.J., ÉS BROWN, T.A. (2006): *GluDy* allele variations in *Aegilops tauschii* and *Triticum aestivum*: Implications for the origins of hexaploid wheats. *Theoretical and Applied Genetics* 112(8): 1563–1572.

GILL, B.S., ÉS KIMBER, G. (1974): Giemsa C-banding and the evolution of wheat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 71(10): 4086–4090.

GILL, B.S., LI, W., SOOD, S., KURAPARTHY, V., FRIEBE, B.R., SIMONS, K.J., ZHANG,

- Z., ÉS FARIS, J.D. (2007): Genetics and genomics of wheat domestication-driven evolution. *Israel Journal of Plant Sciences* 55(3): 223–229.
- GILL, B.S., SHARMA, H.C., RAUPP, W.J., BROWDER, L.E., HATCHETT, J.H., HARVEY, T.L., MOSEMAM, J.G., ÉS WAINES, J.G. (1985): Evaluation of *Aegilops* species for resistance to wheat powdery mildew, wheat leaf rust, Hessian fly, and greenbug. *Plant Disease* 69(4): 314–316.
- GILL, R.S., DHALIWAL, H.S., ÉS MULTANI, D.S. (1988): Synthesis and evaluation of *Triticum durum* - *T. monococcum* amphiploids. *Theoretical and Applied Genetics* 75(6): 912–916.
- VAN GINKEL, M., ÉS OGBONNAYA, F. (2007): Novel genetic diversity from synthetic wheats in breeding cultivars for changing production conditions. *Field Crops Research* 104(1–3): 86–94.
- GIORGI, B., ÉS BARBERA, F. (1981): Increase of homoeologous pairing in hybrids between *T. turgidum* L. var. *durum* and two tetraploid species of *Aegilops*: *Ae. kotschyi* and *Ae. cylindrica*. *Cereal Research Communications* 9: 205–211.
- GIORGI, B., ÉS CUOZZO, L. (1980): Homoeologous pairing in a *Ph* mutant of tetraploid wheat crossed with rye. *Cereal Research Communications* 8(3): 485–490.
- GIORGI, D., FARINA, A., GROSSO, V., GENNARO, A., CEOLONI, C., ÉS LUCRETTI, S. (2013): FISHIS : Fluorescence *in situ* hybridization in suspension and chromosome flow sorting made easy. *Plos One* 8(2): e57994.
- GONG, W., LI, G., ZHOU, J., LI, G., LIU, C., HUANG, C., ZHAO, Z., ÉS YANG, Z. (2014): Cytogenetic and molecular markers for detecting *Aegilops uniaristata* chromosomes in a wheat background. *Genome* 57(9): 489–497.
- GREER, E., MARTÍN, A. C., PENDLE, A., COLAS, I., JONES, A. M.E., MOORE, G., ÉS SHAW, P. (2012): The *Ph1* locus suppresses Cdk2-type activity during premeiosis and meiosis in wheat. *The Plant Cell* 24(1): 152–162.
- GRIFFITHS, S., SHARP, R., FOOTE, T.N., BERTIN, I., WANOUS, M., READER, S., COLAS, I., ÉS MOORE, G. (2006): Molecular characterization of *Ph1* as a major chromosome pairing locus in polyploid wheat. *Nature* 439(7077): 749–752.

- GUADAGNUOLO, R., BIANCHI, D.S., ÉS FELBER, F. (2001): Specific genetic markers for wheat, spelt, and four wild relatives: comparison of isozymes, RAPDs, and wheat microsatellites. *Genome* 44(4): 610–621.
- GUERINOT, M. LOU. (2000): The ZIP family of metal transporters. *Biochimica et Biophysica Acta* 1465(1–2): 190–198.
- GUPTA, P.K., RUSTGI, S., SHARMA, S., SINGH, R., KUMAR, N., ÉS BALYAN, H.S. (2003): Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat. *Molecular Genetics and Genomics* 270(4): 315–323.
- GUSTAFSON, J.P., BUTLER, E., ÉS MCINTYRE, C.L. (1990): Physical mapping of a low-copy DNA sequence in rye (*Secale cereale* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87(5): 1899–1902.
- HAN, F.P., FEDAK, G., BENABDELMOUNA, A., ARMSTRONG, K., ÉS OUELLET, T. (2003): Characterization of six wheat × *Thinopyrum intermedium* derivatives by GISH, RFLP, and multicolor GISH. *Genome* 46(3): 490–495.
- HART, G.E., ISLAM, A.K.M.R., ÉS SHEPHERD, K.W. (1980): Use of isozymes as chromosome markers in the isolation and characterization of wheat-barley chromosome addition lines. *Genetical Research* 36(3): 311–325.
- HAVAS, J.L. (1939): Growth of induced plant tumours. *Nature* 143: 789–791.
- HE, C., HOLME, J., ÉS ANTHONY, J. (2014): SNP Genotyping: The KASP Assay. 75–86. p. In: Fleury D. és Whitford R. (Szerk.): *Crop Breeding. Methods in Molecular Biology* (Methods and Protocols), vol 1145. Humana Press, New York. NY
- HERNÁNDEZ, P., RUBIO, M.J., ÉS MARTÍN, A. (1996): Development of RAPD markers in tritordeum and addition lines of *Hordeum chilense* in *Triticum aestivum*. *Plant Breeding* 115(1): 52–56.
- HODGKIN, T., ADHAM, Y.J., ÉS POWELL, K.S. (1992): A preliminary survey of wild *Triticum* and *Aegilops* species in the world's genebanks. *Hereditas* 162: 155–162.
- HOWARD, T., REJAB, N. A., GRIFFITHS, S., LEIGH, F., LEVERINGTON-WAITE, M.,

- SIMMONDS, J., UAUY, C., ÉS TRAFFORD, K. (2011): Identification of a major QTL controlling the content of B-type starch granules in *Aegilops*. *Journal of Experimental Botany* 62(6): 2217–2228.
- HUANG, S., SIRIKHACHORNKIT, A., SU, X., FARIS, J., GILL, B., HASELKORN, R., ÉS GORNICKI, P. (2002): Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum/Aegilops* complex and the evolutionary history of polyploid wheat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99(12): 8133–8138.
- THE INTERNATIONAL WHEAT GENOME SEQUENCING CONSORTIUM (IWGSC). (2014): A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. *Science* 345(6194): 1251788
- IQBAL, N., READER, S.M., CALIGARI, P.D.S., ÉS MILLER, T.E. (2000): Characterization of *Aegilops uniaristata* chromosomes by comparative DNA marker analysis and repetitive DNA sequence *in situ* hybridization. *Theoretical and Applied Genetics* 101(8): 1173–1179.
- ISLAM, A.K.M.R., ÉS SHEPHERD, K.W. (1992): Substituting ability of individual barley chromosomes for wheat chromosomes. 1. Substitutions involving barley chromosomes 1, 3 and 6. *Plant Breeding* 109: 141–150.
- JACCOUD, D., PENG, K., FEINSTEIN, D., ÉS KILIAN, A. (2001): Diversity arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic acids research* 29(4): e25.
- JAHIER, J., ABELARD, P., TANGUY, A.M., DEDRYVER, F., RIVOAL, R., KHATKAR, S., ÉS BARIANA, H.S. (2001): The *Aegilops ventricosa* segment on chromosome 2AS of the wheat cultivar „VPM1” carries the cereal cyst nematode resistance gene *Cre5*. *Plant Breeding* 120(2): 125–128.
- JAUHAR, P.P. (2007): Meiotic restitution in wheat polyhaploids (amphihaploids): A potent evolutionary force. *Journal of Heredity* 98(2): 188–193.
- JAUHAR, P.P., ÉS PETERSON, T.S. (2006): Cytological analyses of hybrids and derivatives of hybrids between durum wheat and *Thinopyrum bessarabicum*, using multicolour fluorescent GISH. *Plant Breeding* 125(1): 19–26.

- JIANG, J., FRIEBE, B., ÉS GILL, B.S. (1994): Recent advances in alien gene-transfer in wheat. *Euphytica* 73: 199–212.
- JOHN, H.A., BIRNSTIEL, M.L., ÉS JONES, K.W. (1969): RNA-DNA hybrids at the cytological level. *Nature* 223(5206): 582–587.
- JOPPA, L.R., ÉS WILLIAMS, N.D. (1988): Langdon durum disomic substitution lines and aneuploid analysis in tetraploid wheat. *Genome* 30(2): 222–228.
- KIHARA, H. (1924): Cytologische und genetische studien bei wichtigen getreidearten mit besonderer ruecksicht auf das verhalten der chromosomen und die sterilitaet in den bastarden. Kyoto Imperial University, Kyoto. 1-200 p.
- KIHARA, H., ÉS LILIENFELD, F. (1949): A new synthesized 6x-wheat. *Hereditas* 35(1 S): 307–319.
- KILIAN, B., MAMMEN, K., MILLET, E., SHARMA, R., GRANER, A., SALAMINI, F., HAMMER, K., ÉS ÖZKAN, H. (2011): *Aegilops*. 1–76. p. In: C. Kole. (Szerk.): *Wild Crop Relatives: Genomic and breeding resources: Cereals*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- KIMBER, G. (1967): The addition of the chromosomes of *Aegilops umbellulata* to *Triticum aestivum* (var. Chinese Spring). *Genetical Research* 9: 111–114.
- KING, I.P., PURDIE, K.A., REZANOOR, H.N., KOEBNER, R.M.D., MILLER, T.E., READER, S.M., ÉS NICHOLSON, P. (1993): Characterization of *Thinopyrum bessarabicum* chromosome segments in wheat using random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) and genomic *in situ* hybridization. *Theoretical and Applied Genetics* 86(8): 895–900.
- KRUPPA, K., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2016): Simultaneous visualization of different genomes (J, JSt and St) in a *Thinopyrum intermedium* × *Thinopyrum ponticum* synthetic hybrid (*Poaceae*) and in its parental species by multicolour genomic *in situ* hybridization (mcGISH). *Comparative Cytogenetics* 10(2): 283–293.
- KRUPPA, K., TÜRKÖSI, E., MAYER, M., TÓTH, V., VIDA, G., SZAKÁCS, É., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2016): McGISH identification and phenotypic description of leaf rust and yellow rust resistant partial amphiploids originating from a wheat x *Thinopyrum* synthetic hybrid cross. *Journal of applied genetics* 57: 427–437

- KUBALÁKOVÁ, M., KOVÁROVÁ, P., SUCHÁNKOVÁ, P., CÍHALÍKOVÁ, J., BARTOS, J., LUCRETTI, S., WATANABE, N., KIANIAN, S.F., ÉS DOLEZEL, J. (2005): Chromosome sorting in tetraploid wheat and its potential for genome analysis. *Genetics* 170(2): 823–829.
- KUMAR, U., MATHPAL, P., MALIK, S., KUMAR, N., KUMAR, S., CHUGH, V., SHEIKH, I., SHARMA, P., SINGH, T., DHALIWAL, H.S., ÉS KUMAR, S. (2015): Evaluation of iron and zinc in grain and grain fractions of hexaploid wheat and its related species for possible utilization in wheat biofortification. *Plant Genetic Resources* 14(2): 101-111.
- KYNAST, R.G., FRIEBE, B., ÉS GILL, B.S. (2000): Fate of multicentric and ring chromosomes induced by a new gametocidal factor located on chromosome 4M^E of *Aegilops geniculata*. *Chromosome Research* 8(2): 133–139.
- LANGER-SAFER, P.R., LEVINE, M., ÉS WARD, D.C. (1982): Immunological method for mapping genes on *Drosophila* polytene chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 79(14): 4381–4385.
- LÁNGNÉ MOLNÁR, MÁRTA KŐSZEGI, B., LINC, G., ÉS SUTKA, J. (1996): Búza (*Triticum aestivum* L.)/*Triticum timopheevii* Zhuk. addíció, szubsztitúció és búza/rozs transzlokáció kimutatása C-sávozással és *in situ* hibridizációval. *Növénytermelés* 45(3): 237–245.
- LE, H.T., ARMSTRONG, K.C., ÉS MIKI, B. (1989): Detection of rye DNA in wheat-rye hybrids and wheat translocation stocks using total genomic DNA as a probe. *Plant Molecular Biology Reporter* 7(2): 150–158.
- LEITCH, I.J., LEITCH, A.R., ÉS HESLOP-HARRISON, J.S. (1991): Physical mapping of plant DNA sequences by simultaneous *in situ* hybridization of two differently labelled fluorescent probes. *Genome* 34(3): 329–333.
- LELLEY, J., ÉS RAJHÁTHY, T. (1955): A búza és nemesítése. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- LELLEY, T. (1976): Induction of homoeologous pairing in wheat by genes of rye suppressing chromosome 5B effect. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 18: 485–489.

- LI, H., GILL, B.S., WANG, X., ÉS CHEN, P. (2011): A *Tal-Ph^I* wheat genetic stock facilitates efficient alien introgression. *Genetic Resources and Crop Evolution* 58(5): 667–678.
- LICHTER, P., TANG, C., CALL, K., HERMANSON, G., EVANS, G., HOUSMAN, D., ÉS WARD, D. (1990): High-resolution mapping of human chromosome 11 by *in situ* hybridization with cosmid clones. *Science* 247(4938): 64–69.
- LINC, G., SEPSI, A., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2012): A FISH karyotype to study chromosome polymorphisms for the *Elytrigia elongata* E genome. *Cytogenetic and Genome Research* 136(2): 138–144.
- LOEGERING, W., ÉS SEARS, E. (1963): Distorted inheritance of stem-rust resistance of timstein wheat caused by a pollen-killing gene. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 5: 65–72.
- LUKASZEWSKI, A.J., ÉS CURTIS, C.A. (1993): Physical distribution of recombination in B-genome chromosomes of tetraploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 86(1): 121–127.
- LUO, M.C., YEN, C., ÉS YANG, J.L. (1992): Crossability percentages of bread wheat landraces from Sichuan Province, China with rye. *Euphytica* 67: 1–7.
- MAESTRA, B., ÉS NARANJO, T. (1998): Homoeologous relationships of *Aegilops speltoides* chromosomes to bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 97(1–2): 181–186.
- MAKKOUK, K.M., COMEAU, A., ÉS GHULAM, W. (1994): Resistance to barley yellow dwarf luteovirus in *Aegilops* species. *Canadian Journal of Plant Science* 74(3): 631–634.
- MARAIS, G.F., BEKKER, T.A., EKSTEEN, A., MCCALLUM, B., FETCH, T., ÉS MARAIS, A.S. (2010): Attempts to remove gametocidal genes co-transferred to common wheat with rust resistance from *Aegilops speltoides*. *Euphytica* 171(1): 71–85.
- MARTÍN-SÁNCHEZ, J.A., GÓMEZ-COLMENAREJO, M., DEL MORAL, J., SIN, E., MONTES, M.J., GONZÁLEZ-BELINCHÓN, C., LÓPEZ-BRAÑA, I., ÉS DELIBES, A. (2003): A new Hessian fly resistance gene (*H30*) transferred from the wild grass *Aegilops triuncialis* to hexaploid wheat. *Theoretical and applied genetics* 106:

1248–1255.

- MARTÍNEZ-PÉREZ, E., SHAW, P., ARAGÓN-ALCAIDE, L., ÉS MOORE, G. (2003): Chromosomes form into seven groups in hexaploid and tetraploid wheat as a prelude to meiosis. *Plant Journal* 36(1): 21–29.
- MARTÍNEZ-PÉREZ, E., SHAW, P., ÉS MOORE, G. (2001): The *Ph1* locus is needed to ensure specific somatic and meiotic centromere association. *Nature* 411(6834): 204–207.
- MARTÍNEZ-PÉREZ, E., SHAW, P., READER, S., ARAGÓN-ALCAIDE, L., MILLER, T., ÉS MOORE, G. (1999): Homologous chromosome pairing in wheat. *Journal of cell science* 112: 1761–1769.
- MARTIS, M.M., ZHOU, R., HASENEYER, G., SCHMUTZER, T., VRANA, J., KUBALAKOVA, M., KONIG, S., KUGLER, K.G., SCHOLZ, U., HACKAUF, B., KORZUN, V., SCHON, C.-C., DOLEZEL, J., BAUER, E., MAYER, K.F.X., ÉS STEIN, N. (2013): Reticulate evolution of the rye genome. *The Plant Cell* 25: 3685–3698.
- MATSUOKA, Y. (2011): Evolution of polyploid *Triticum* wheats under cultivation: The role of domestication, natural hybridization and allopolyploid speciation in their diversification. *Plant and Cell Physiology* 52(5): 750–764.
- MAYER, K.F.X., MARTIS, M., HEDLEY, P.E., ŠIMKOVÁ, H., LIU, H., MORRIS, J.A., STEUERNAGEL, B., TAUDIEN, S., ROESSNER, S., GUNDLACH, H., KUBALÁKOVÁ, M., SUCHÁNKOVÁ, P., MURAT, F., FELDER, M., NUSSBAUMER, T., GRANER, A., SALSE, J., ENDO, T., SAKAI, H., TANAKA, T., ITOH, T., SATO, K., PLATZER, M., MATSUMOTO, T., SCHOLZ, U., DOLEŽEL, J., WAUGH, R., ÉS STEIN, N. (2011): Unlocking the Barley Genome by Chromosomal and Comparative Genomics. *The Plant Cell* 23: 1249–1263.
- MCDONALD, G.K., GENC, Y., ÉS GRAHAM, R.D. (2008): A simple method to evaluate genetic variation in grain zinc concentration by correcting for differences in grain yield. *Plant and Soil* 306(1–2): 49–55.
- MCINTOSH, R., WELLINGS, C., ÉS PARK, R. (1995): Wheat Rusts: an Atlas of Resistance Genes. CSIRO, Australia.

- MEGYERI, M., MIKÓ, P., FARKAS, A., MOLNÁR-LÁNG, M., ÉS MOLNÁR, I. (2016): Cytomolecular discrimination of the A^m chromosomes of *Triticum monococcum* and the A chromosomes of *Triticum aestivum* using microsatellite DNA repeats. *Journal of Applied Genetics* 58:67–70.
- MEGYERI, M., MIKÓ, P., MOLNÁR, I., ÉS KOVÁCS, G. (2011): Development of synthetic amphiploids based on *Triticum turgidum* × *T. monococcum* crosses to improve the adaptability of cereals. *Acta Agronomica Hungarica* 59(3): 267–274.
- MELLO-SAMPAYO, T. (1971): Genetic regulation of meiotic chromosome pairing by chromosome 3D of *Triticum aestivum*. *Nature New Biology* 230: 22–23.
- MERKER, A. (1979): The breeding behaviour of some rye wheat chromosome substitutions. *Hereditas* 91: 245–255.
- MIKÓ, P., MEGYERI, M., FARKAS, A., MOLNÁR, I., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2015): Molecular cytogenetic identification and phenotypic description of a new synthetic amphiploid, *Triticum timococcum* (A^tA^tGGA^mA^m). *Genetic Resources and Crop Evolution* 62(1): 55–66.
- MILLER, T., READER, S., MAHMOOD, A., PURDIE, K., ÉS KING, I. (1995): Chromosome 3N of *Aegilops uniaristata* – a source of tolerance to high levels of aluminium for wheat. 1037–1042. p. In: Li, Z. és Xin, Z. (Szerk.): *Proceedings of the 8th international wheat genetics symposium*. China Agricultural Sciencetech, Beijing.
- MILLER, T.E. (1983): Preferential transmission of alien chromosomes in wheat. 173–182. p. In: Brandham, P. és Bennett, M. (Szerk.): *Proceedings of 2nd Kew chromosomes conference*. George Allen & Unwin, London.
- MILLER, T.E., IQBAL, N., READER, S.M., MAHMOOD, A., CANT, K.A., ÉS KING, I.P. (1997): A cytogenetic approach to the improvement of aluminium tolerance in wheat. *New Phytologist* 137(1): 93–98.
- MILLER, T.E., ÉS READER, S.M. (1987): A guide to the homeology of chromosomes within the *Triticeae*. *Theoretical and Applied Genetics* 74(2): 214–217.
- MILLET, E., AVIVI, Y., ZACCAI, M., ÉS FELDMAN, M. (1988): The effect of substitution of chromosome 5S¹ of *Aegilops longissima* for its wheat

- homoeologues on spike morphology and on several quantitative traits. *Genome* 30(4): 473–478.
- MIRZAGHADERI, G., HOUBEN, A., ÉS BADAIEVA, E.D. (2014): Molecular-cytogenetic analysis of *Aegilops triuncialis* and identification of its chromosomes in the background of wheat. *Molecular Cytogenetics* 7(1): 91.
- MOLNÁR-LÁNG, M., ÉS LINC, G. (2015): Wheat–barley hybrids and introgression lines. 315–345. In: Molnár-Láng, M., Ceoloni, C. és Doležel, J. (Szerk): *Alien Introgression in Wheat*. Springer, Cham.
- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., FRIEBE, B.R., ÉS SUTKA, J. (2000a): Detection of wheat-barley translocations by genomic *in situ* hybridization in derivatives of hybrids multiplied *in vitro*. *Euphytica* 112(2): 117–123.
- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., LOGOJAN, A., ÉS SUTKA, J. (2000b): Production and meiotic pairing behaviour of new hybrids of winter wheat (*Triticum aestivum*) x winter barley (*Hordeum vulgare*). *Genome* 43(6): 1045–1054.
- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., NAGY, E.D., SCHNEIDER, A., ÉS MOLNÁR, I. (2002): Molecular cytogenetic analysis of wheat-alien hybrids and derivatives. *Acta Agronomica Hungarica* 50(3): 303–311.
- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., ÉS SUTKA, J. (1996): Transfer of the recessive crossability allele *kr1* from Chinese Spring into the winter wheat variety Martonvásári 9. *Euphytica* 90: 301–305.
- MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., ÉS SZAKÁCS, É. (2014a): Wheat–barley hybridization: the last 40 years. *Euphytica* 195(3): 315–329.
- MOLNÁR-LÁNG, M., MOLNÁR, I., SZAKÁCS, É., LINC, G., ÉS BEDŐ, Z. (2014b): Production and molecular cytogenetic identification of wheat-alien hybrids and introgression lines. 255–283. p. In: Tuberosa, R., Graner, A. és Frison, E. (Szerk.): *Genomics of Plant Genetic Resources*. Springer, Dordrecht.
- MOLNÁR, I. (2008): *Triticum aestivum* - *Aegilops biuncialis* kromoszóma átépülések indukálása és molekuláris citogenetikai jellemzése. *Doktori értekezés*: 1–114.
- MOLNÁR, I., BENAVENTE, E., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2009): Detection of intergenomic chromosome rearrangements in irradiated *Triticum aestivum* -

Aegilops biuncialis amphiploids by multicolour genomic *in situ* hybridization. *Genome* 52(2): 156–165.

MOLNÁR, I., CIFUENTES, M., SCHNEIDER, A., BENAVENTE, E., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2011a): Association between simple sequence repeat-rich chromosome regions and intergenomic translocation breakpoints in natural populations of allopolyploid wild wheats. *Annals of Botany* 107(1): 65–76.

MOLNÁR, I., DULAI, S., CSERNÁK, Á., PRÓNAY, J., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2005): Photosynthetic responses to drought stress in different *Aegilops* species. *Acta Biologica Szegediensis* 49: 141–142.

MOLNÁR, I., GÁSPÁR, L., SÁRVÁRI, É., DULAI, S., HOFFMANN, B., MOLNÁR-LÁNG, M., ÉS GALIBA, G. (2004): Physiological and morphological responses to water stress in *Aegilops biuncialis* and *Triticum aestivum* genotypes with differing tolerance to drought. *Functional Plant Biology* 31: 1149–1159.

MOLNÁR, I., KUBALÁKOVÁ, M., ŠIMKOVÁ, H., CSEH, A., MOLNÁR-LÁNG, M., ÉS DOLEŽEL, J. (2011b): Chromosome isolation by flow sorting in *Aegilops umbellulata* and *Ae. comosa* and their allotetraploid hybrids *Ae. biuncialis* and *Ae. geniculata*. *PLoS ONE* 6(11): e27708.

MOLNÁR, I., KUBALÁKOVÁ, M., ŠIMKOVÁ, H., FARKAS, A., CSEH, A., MEGYERI, M., VRÁNA, J., MOLNÁR-LÁNG, M., ÉS DOLEŽEL, J. (2014): Flow cytometric chromosome sorting from diploid progenitors of bread wheat, *T. urartu*, *Ae. speltoides* and *Ae. tauschii*. *Theoretical and Applied Genetics* 127(5): 1091–1104.

MOLNÁR, I., LINC, G., DULAI, S., NAGY, E.D., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2007): Ability of chromosome 4H to compensate for 4D in response to drought stress in a newly developed and identified wheat-barley 4H(4D) disomic substitution line. *Plant Breeding* 126(4): 369–374.

MOLNÁR, I., ŠIMKOVÁ, H., LEVERINGTON-WAITE, M., GORAM, R., CSEH, A., VRÁNA, J., FARKAS, A., DOLEŽEL, J., MOLNÁR-LÁNG, M., ÉS GRIFFITHS, S. (2013): Syntenic Relationships between the U and M genomes of *Aegilops*, wheat and the model species *Brachypodium* and rice as revealed by COS markers. *PLoS ONE* 8(8): e70844.

- MOLNÁR, I., VRÁNA, J., BUREŠOVÁ, V., CÁPAL, P., FARKAS, A., DARKÓ, É., CSEH, A., KUBALÁKOVÁ, M., MOLNÁR-LÁNG, M., ÉS DOLEŽEL, J. (2016): Dissecting the U, M, S and C genomes of wild relatives of bread wheat (*Aegilops* spp.) into chromosomes and exploring their synteny with wheat. *The Plant Journal* 88(3): 452-467.
- MOLNÁR, I., VRÁNA, J., FARKAS, A., KUBALÁKOVÁ, M., CSEH, A., MOLNÁR-LÁNG, M., ÉS DOLEŽEL, J. (2015): Flow sorting of C-genome chromosomes from wild relatives of wheat *Aegilops markgrafii*, *Ae. triuncialis* and *Ae. cylindrica*, and their molecular organization. *Annals of Botany* 116(2): 189–200.
- MONASTERIO, J.I., ÉS GRAHAM, R.D. (2000): Breeding for traces minerals in wheat. *Food and Nutrition Bulletin* 21(4): 392–396.
- MOTSNY, I.I., ÉS SIMONENKO, V.K. (1996): The influence of *Elymus sibiricus* L. genome on the diploidization system of wheat. *Euphytica* 91(2): 189–193.
- MUJEEB-KAZI, A., ROLDAN, S., SUH, D.Y., SITCH, L.A., ÉS FAROOQ, S. (1987): Production and cytogenetic analysis of hybrids between *Triticum aestivum* and some caespitose *Agropyron* species. *Genome* 29: 537–553.
- MUJEEB-KAZI, A., ROSAS, V., ÉS ROLDAN, S. (1996): Conservation of the genetic variation of *Triticum tauschii* (Coss.) Schmalh. (*Aegilops squarrosa* auct. non L.) in synthetic hexaploid wheats (*T. turgidum* L. s.lat. x *T. tauschii*; 2n=6x=42, AABBDD) and its potential utilization for wheat improvement. *Genetic Resources and Crop Evolution* 43(2): 129–134.
- MUKAI, Y., NAKAHARA, Y., ÉS YAMAMOTO, M. (1993): Simultaneous discrimination of the three genomes in hexaploid wheat by multicolor fluorescence *in situ* hybridization using total genomic and highly repeated DNA probes. *Genome* 36(3): 489–494.
- NAGAKI, K., TSUJIMOTO, H., ISONO, K., ÉS SASAKUMA, T. (1995): Molecular characterization of a tandem repeat, Afa family, and its distribution among *Triticeae*. *Genome* 38(3): 479–486.
- NAGY, E.D., ÉS LELLEY, T. (2003): Genetic and physical mapping of sequence-specific amplified polymorphic (SSAP) markers on the 1RS chromosome arm of rye in a wheat background. *Theoretical and Applied Genetics* 107(7): 1271–

1277.

- NAGY, E.D., MOLNÁR-LÁNG, M., LINC, G., ÉS LÁNG, L. (2002): Identification of wheat-barley translocations by sequential GISH and two-colour FISH in combination with the use of genetically mapped barley SSR markers. *Genome* 45(6): 1238–1247.
- NAGY, E.D., MOLNÁR, I., SCHNEIDER, A., KOVÁCS, G., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2006): Characterization of chromosome-specific S-SAP markers and their use in studying genetic diversity in *Aegilops* species. *Genome* 49(4): 289–296.
- NAKATA, N., YASUMORO, Y., ÉS SASAKI, M. (1977): An acetocarmine-giemsa staining of rye chromosomes. *The Japanese journal of genetics* 52(4): 315–318.
- NASMYTH, K. (1996): Viewpoint: putting the cell cycle in order. *Science* 274(5293): 1643–1645.
- NASUDA, S., FRIEBE, B., BUSCH, W., KYNAST, R.G., ÉS GILL, B.S. (1998a): Structural rearrangement in chromosome 2M of *Aegilops comosa* has prevented the utilization of the Compair and related wheat-*Ae. comosa* translocations in wheat improvement. *Theoretical and Applied Genetics* 96(6–7): 780–785.
- NASUDA, S., FRIEBE, B., ÉS GILL, B.S. (1998b): Gametocidal genes induce chromosome breakage in the interphase prior to the first mitotic cell division of the male gametophyte in wheat. *Genetics* 149(2): 1115–1124.
- NATARAJAN, A., ÉS UPADHYA, M. (1964): Localized chromosome breakage induced by ethyl-methane-sulfonate and hydroxylamine in *Vicia faba*. *Chromosoma* 15: 156–169.
- NEELAM, K., RAWAT, N., TIWARI, V.K., GHANDHI, N., ARUN, P.C., KUMAR, S., TRIPATHI, S.K., RANDHAWA, G.S., PRASAD, R., ÉS DHALIWAL, H.S. (2013): Development and molecular characterization of wheat-*Aegilops longissima* derivatives with high grain micronutrients. *Australian Journal of Crop Science* 7(4): 508–514.
- NEELAM, K., RAWAT, N., TIWARI, V.K., KUMAR, S., CHHUNEJA, P., SINGH, K., RANDHAWA, G.S., ÉS DHALIWAL, H.S. (2011): Introgression of group 4 and 7 chromosomes of *Ae. peregrina* in wheat enhances grain iron and zinc density.

Molecular Breeding 28(4): 623–634.

NESBITT, M., ÉS SAMUEL, D. (1996): From staple crop to extinction? The archaeology and history of the hulled wheats. *Hulled wheats. Proceedings of the First International Workshop on Hulled Wheats* 4: 41–100.

NETZLE, S., ÉS ZELLER, F.J. (1984): Cytogenetic relationship of *Aegilops longissima* chromosomes with common wheat chromosomes. *Plant Systematics and Evolution* 145(1–2): 1–13.

NIRANJANA, M. (2017): Gametocidal genes of *Aegilops*: segregation distorters in wheat–*Aegilops* wide hybridization. *Genome* 60(8): 639–647.

O'MARA, J.G. (1940): Cytogenetic studies on triticale. I. a method for determining the effects of individual *Secale* chromosomes on *Triticum*. *Genetics* 25(4): 401–408.

ORTIZ-MONASTERIO, J., SAYRE, K., RAJARAM, S., ÉS MCMAHON, M. (1997): Genetic progress in wheat yield and nitrogen use efficiency under four nitrogen rates. *Crop Science* 37: 898–904.

OZKAN, H., BRANDOLINI, A., TORUN, A., ALTINTAS, S., EKER, S., KILIAN, B., BRAUN, H.J., SALAMINI, F., ÉS CAKMAK, I. (2007): Natural variation and identification of microelements content in seeds of einkorn wheat (*Triticum monococcum*). 455–462. p. In: Buck, H.T., Nisi, J.E. és Salomón, N. (Szerk.): *Wheat Production in Stressed Environments. Developments in Plant Breeding*, vol 12. Springer, Dordrecht.

OZTURK, L., YAZICI, M.A., YUCEL, C., TORUN, A., CEKIC, C., BAGCI, A., OZKAN, H., BRAUN, H.J., SAYERS, Z., ÉS CAKMAK, I. (2006): Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. *Physiologia Plantarum* 128(1): 144–152.

ÖZGEN, M., YILDIZ, M., ULUKAN, H., ÉS KOYUNCU, N. (2004): Association of gliadin protein pattern and rust resistance derived from *Aegilops umbellulata* Zhuk. in winter *Triticum durum* Desf. *Breeding Science* 54: 287–290.

PEDERSEN, C., ÉS LANGRIDGE, P. (1997): Identification of the entire chromosome complement of bread wheat by two-colour FISH. *Genome* 40: 589–593.

- PEDERSEN, C., ÉS LINDE-LAURSEN, I. (1994): Chromosomal locations of four minor rDNA loci and a marker microsatellite sequence in barley. *Chromosome Research* 2(1): 65–71.
- PEDERSEN, C., RASMUSSEN, S.K., ÉS LINDE-LAURSEN, I. (1996): Genome and chromosome identification in cultivated barley and related species of the *Triticeae* (*Poaceae*) by *in situ* hybridization with the GAA-satellite sequence. *Genome* 39(1): 93–104.
- PEIL, A., KORZUN, V., SCHUBERT, V., SCHUMANN, E., WEBER, W.E., ÉS RÖDER, M.S. (1998): The application of wheat microsatellites to identify disomic *Triticum aestivum*-*Aegilops markgrafii* addition lines. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 138–146.
- PELEG, Z., ÇAKMAK, I., ÖZTURK, L., YAZICI, A., JUN, Y., BUDAK, H., KOROL, A.B., FAHIMA, T., ÉS SARANGA, Y. (2009): Quantitative trait loci conferring grain mineral nutrient concentrations in durum wheat × wild emmer wheat RIL population. *Theoretical and Applied Genetics* 119(2): 353–369.
- PINKEL, D., STRAUME, T., ÉS GRAY, J.W. (1986): Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83(9): 2934–2938.
- PLAMENOV, D., BELCHEV, I., KIRYAKOVA, V., ÉS SPETSOV, P. (2009): Fungal resistance of *Triticum durum* - *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* amphiploid. *Journal of Plant Diseases and Protection* 116(2): 60–62.
- POWELL, W., MACHRAY, G.C., ÉS PROVEN, J. (1996): Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science* 1(7): 215–222.
- QI, L.L., ECHALIER, B., CHAO, S., LAZO, G.R., BUTLER, G.E., ANDERSON, O.D., AKHUNOV, E.D., DVOŘÁK, J., LINKIEWICZ, A.M., RATNASIRI, A., DUBCOVSKY, J., BERMUDEZ-KANDIANIS, C.E., GREENE, R.A., KANTETY, R., LA ROTA, C.M., MUNKVOLD, J.D., SORRELLS, S.F., SORRELLS, M.E., DILBIRLIGI, M., SIDHU, D., ERAYMAN, M., RANDHAWA, H.S., SANDHU, D., BONDAREVA, S.N., GILL, K.S., MAHMOUD, A.A., MA, X.F., MIFTAHUDIN, GUSTAFSON, J.P., CONLEY, E.J., NDUATI, V., GONZALEZ-HERNANDEZ, J.L., ANDERSON, J.A., PENG, J.H.,

- LAPITAN, N.L. V., HOSSAIN, K.G., KALAVACHARLA, V., KIANIAN, S.F., PATHAN, M.S., ZHANG, D.S., NGUYEN, H.T., CHOI, D.W., FENTON, R.D., CLOSE, T.J., MCGUIRE, P.E., QUALSET, C.O., ÉS GILL, B.S. (2004): A chromosome bin map of 16,000 expressed sequence tag loci and distribution of genes among the three genomes of polyploid wheat. *Genetics* 168(2): 701–712.
- QUEEN, R.A., GRIBBON, B.M., JAMES, C., JACK, P., ÉS FLAVELL, A.J. (2004): Retrotransposon-based molecular markers for linkage and genetic diversity analysis in wheat. *Molecular Genetics and Genomics* 271(1): 91–97.
- QURASHI, U.M., ABROUK, M., BOLOT, S., PONT, C., THROUDE, M., GUILHOT, N., CONFOLENT, C., BORTOLINI, F., PRAUD, S., MURIGNEUX, A., CHARMET, G., ÉS SALSE, J. (2009): Genomics in cereals: from genome-wide conserved orthologous set (COS) sequences to candidate genes for trait dissection. *Functional and Integrative Genomics* 9(4): 473–484.
- RAKSZEGI, M., MOLNÁR, I., LOVEGROVE, A., DARKÓ, É., FARKAS, A., LÁNG, L., BEDŐ, Z., DOLEŽEL, J., MOLNÁR-LÁNG, M., ÉS SHEWRY, P. (2017): Effect of *Aegilops* U and M chromosomes on the dietary fiber content and composition of wheat wholemeal. *Frontiers in Plant Science* 8: 1529.
- RAMANNA, M.S., ÉS NATARAJAN, A.T. (1966): Chromosome breakage induced by alkyl-alkane-sulfonates under different physical treatment conditions. *Chromosoma* 59: 44–59.
- RAWAT, N., NEELAM, K., TIWARI, V.K., RANDHAWA, G.S., FRIEBE, B., GILL, B.S., ÉS DHALIWAL, H.S. (2011): Development and molecular characterization of wheat – *Aegilops kotschy* addition and substitution lines with high grain protein, iron, and zinc. *Genome* 54(11): 943–953.
- RAWAT, N., TIWARI, V.K., NEELAM, K., RANDHAWA, G.S., CHHUNEJA, P., SINGH, K., ÉS DHALIWAL, H.S. (2009a): Development and characterization of *Triticum aestivum*– *Aegilops kotschy* amphiploids with high grain iron and zinc contents. *Plant Genetic Resources* 7(3): 271–280.
- RAWAT, N., TIWARI, V.K., SINGH, N., RANDHAWA, G.S., SINGH, K., CHHUNEJA, P., ÉS DHALIWAL, H.S. (2009b): Evaluation and utilization of *Aegilops* and wild *Triticum* species for enhancing iron and zinc content in wheat. *Genetic*

Resources and Crop Evolution 56(1): 53–64.

RAYBURN, A.L., ÉS GILL, B.S. (1985): Use of biotin-labeled probes to map specific DNA sequences on wheat chromosomes. *The Journal of Heredity* 76(2): 78–81.

RAYBURN, A.L., ÉS GILL, B.S. (1986): Molecular identification of the D genome chromosomes of wheat. *The Journal of Heredity* 77: 253–255.

REKIKI, D., MONNEVEUX, P., ÉS HAVAUX, M. (1997): The *in vivo* tolerance of photosynthetic membranes to high and low temperatures in cultivated and wild wheats of the *Triticum* and *Aegilops* genera. *Journal of Plant Physiology* 150(6): 734–738.

RESTA, P., ZHANG, H.-B., DUBCOVSKY, J., ÉS DVORAK, J. (1996): The origins of the genomes of *Triticum biunciale*, *T. ovatum*, *T. neglectum*, *T. columnare*, and *T. rectum* (*Poaceae*) based on variation in repeated nucleotide sequences. *American Journal of Botany* 83(12): 1556–1565.

REY, E., MOLNÁR, I., ÉS DOLEŽEL, J. (2015): Genomics of Wild Relatives and Alien Introgressions. 347–381. p. In: Molnár-Láng, M., Ceoloni, C. és Doležel, J.(Szerk.): *Alien Introgression in Wheat*. Springer, Cham.

RICK, C.M. (1966): Abortion of male and female gametes in the tomato determined by allelic interaction. *Genetics* 53(1): 85–96.

RILEY, R. (1966): The genetic regulation of meiotic behaviour in wheat and its relatives. 395–408. p. In: Mac Key, J. (Szerk): *Proceedings of 2nd international wheat genetic symposium*. Hereditas, Lund, Svédország.

RILEY, R., ÉS CHAPMAN, V. (1958): Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. *Nature* 182(4637): 713–715.

RILEY, R., ÉS CHAPMAN, V. (1967a): The inheritance in wheat of crossability with rye. *Genetical Research* 9(3): 259–267.

RILEY, R., ÉS CHAPMAN, V. (1967b): Effect of 5BS in suppressing the expression of altered dosage of 5BL on meiotic chromosome pairing in *Triticum aestivum*. *Nature* 216: 324–325.

RILEY, R., CHAPMAN, V., ÉS JOHNSON, R. (1968a): Introduction of yellow rust

- resistance of *Aegilops comosa* into wheat by genetically induced homoeologous recombination. *Nature* 217: 383–384.
- RILEY, R., CHAPMAN, V., ÉS JOHNSON, R. (1968b): The incorporation of alien disease resistance in wheat by genetic interference with the regulation of meiotic chromosome synapsis. *Genetical Research* 12(2): 199–219.
- RILEY, R., CHAPMAN, V., ÉS MILLER, T. (1973): The determination of meiotic chromosome pairing. 731–738. p. In: Sears, E.R. és Sears, L.M.S. (Szerk): *Proceedings of the 4th international wheat genetics symposium*. Columbia, University of Missouri.
- RILEY, R., ÉS KEMPANNA, C. (1963): The homeologous nature of the non-homo-deficient for chromosome V (5B). *Heredity* 18: 287–306.
- RÖDER, M.S., KORZUN, V., WENDEHAKE, K., PLASCHKE, J., TIXIER, M.H., LEROY, P., ÉS GANAL, M.W. (1998): A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149(4): 2007–2023.
- ŠAFÁŘ, J., BARTOŠ, J., JANDA, J., BELLEC, A., KUBALÁKOVÁ, M., VALÁRIK, M., PATEYRON, S., WEISEROVÁ, J., TUŠKOVÁ, R., ČÍHALÍKOVÁ, J., VRÁNA, J., ŠIMKOVÁ, H., FAIVRE-RAMPANT, P., SOURDILLE, P., CABOCHE, M., BERNARD, M., DOLEŽEL, J., ÉS CHALHOUB, B. (2004): Dissecting large and complex genomes: Flow sorting and BAC cloning of individual chromosomes from bread wheat. *Plant Journal* 39: 960–968.
- SAKAMOTO, S. (1982): The Middle East as a cradle for crops and weeds. 97–109. p. In: Holzner, W. és Numata, M. (Szerk.): *Biology and ecology of weeds*. Springer Netherlands, Dordrecht.
- SAKAMURA, T. (1918): Kurze Mitteilung über die Chromosomenzahlen und die Verwandtschaftsverhältnisse der Triticum-Arten. *Shokubutsugaku Zasshi* 32(379): 150–153.
- SALAMINI, F., ÖZKAN, H., BRANDOLINI, A., SCHÄFER-PREGL, R., ÉS MARTIN, W. (2002): Genetics and geography of wild cereal domestication in the near east. *Nature reviews Genetics* 3(6): 429–441.
- SÁNCHEZ-MORÁN, E., BENAVENTE, E., ÉS ORELLANA, J. (1999): Simultaneous

identification of A, B, D and R genomes by genomic *in situ* hybridization in wheat-rye derivatives. *Heredity* 83: 249–252.

SANO, Y. (1990): The genic nature of gamete eliminator in rice. *Genetics* 125(1): 183–191.

SAX, K., ÉS SAX, M.J. (1924): Chromosome behaviour in a genus cross. *Genetics* 9: 454–464.

SCHMIDT, T., ÉS HESLOP-HARRISON, J.S. (1996): The physical and genomic organization of microsatellites in sugar beet. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(16): 8761–8765.

SCHNEIDER, A., LINC, G., MOLNÁR, I., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2005): Molecular cytogenetic characterization of *Aegilops biuncialis* and its use for the identification of 5 derived wheat-*Aegilops biuncialis* disomic addition lines. *Genome* 48(6): 1070–1082.

SCHNEIDER, A., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2012): Detection of various U and M chromosomes in wheat-*Aegilops biuncialis* hybrids and derivatives using fluorescence *in situ* hybridisation and molecular markers. *Czech J. Genet. Plant Breed* 2012(4): 169–177.

SCHNEIDER, A., MOLNÁR, I., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2008): Utilisation of *Aegilops* (goatgrass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. *Euphytica* 163(1): 1–19.

SCHNEIDER, A., RAKSZEGI, M., MOLNÁR-LÁNG, M., ÉS SZAKÁCS, É. (2016): Production and cytomolecular identification of new wheat-perennial rye (*Secale cereanum*) disomic addition lines with yellow rust resistance (6R) and increased arabinoxylan and protein content (1R, 4R, 6R). *Theoretical and Applied Genetics* 129(5): 1045–1059.

SCHWARZACHER, T., LEITCH, A.R., BENNETT, M.D., ÉS HESLOP-HARRISON, J.S. (1989): *In situ* localisation of parental genomes in a wide hybrid. *Annals of Botany* 64: 315–324.

SEABRIGHT, M. (1971): A rapid banding technique for human chromosomes. *The Lancet* 298(7731): 971–972.

- SEARS, E. (1977): An induced mutant with homoeologous pairing in common wheat. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 19: 585–593.
- SEARS, E.R. (1956): The transfer of leaf-rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat. *Brook-haven Symposia in Biology* 9:1-22.
- SEARS, E.R. (1981): Transfer of alien genetic material to wheat. 75–89. p. In: Evans, L.T. és Peacock, W.J. (Szerk.): *Wheat science - today and tomorrow*. Cambridge University Press, New York.
- SEARS, E.R. (1982): A wheat mutation conditioning an intermediate level of homoeologous chromosome pairing. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 24: 715–719.
- SEARS, E.R. (1984): Mutations in wheat that raise the level of meiotic chromosome pairing. 295–300. p. In: Gustafson, J. (Szerk.): *Gene Manipulation in Plant Improvement (16th Stadler Symposium)*. Springer US, New York.
- SEPSI, A., MOLNÁR, I., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2009): Physical mapping of a 7A.7D translocation in the wheat-*Thinopyrum ponticum* partial amphiploid BE-1 using multicolour genomic *in situ* hybridization and microsatellite marker analysis. *Genome* 52(9): 748–754.
- SEPSI, A., MOLNÁR, I., SZALAY, D., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2008): Characterization of a leaf rust-resistant wheat-*Thinopyrum ponticum* partial amphiploid BE-1, using sequential multicolor GISH and FISH. *Theoretical and Applied Genetics* 116(6): 825–834.
- SETHI, G.S., ÉS PLAHA, P. (1988): The nature of rye (*Secale cereale* L.) chromatin introgression into wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell) via triticale (\times *Triticosecale* Wittmack). 433–438. p. In: *Proceedings of the 7th International Wheat Genetics Symposium*. Cambridge, U.K.
- SHEPHERD, K.W., ÉS ISLAM, A.K.M.R. (1988): Fourth compendium of wheat-alien chromosome lines. 1373–1398. p. In: Miller, T.E. és Koebner, R.M.D.(Szerk.): *Proceedings of the seventh international wheat genetics symposium*. Cambridge, U.K.
- SHI, R., LI, H., TONG, Y., JING, R., ZHANG, F., ÉS ZOU, C. (2008): Identification of

quantitative trait locus of zinc and phosphorus density in wheat (*Triticum aestivum* L.) grain. *Plant and Soil* 306(1–2): 95–104.

SLAFER, G.A., ANDRADE, F.H., ÉS FEINGOLD, S.E. (1990): Genetic improvement of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) in Argentina: relationships between nitrogen and dry matter. *Euphytica* 50(1): 63–71.

VAN SLAGEREN, M.W. (1994): Wild wheats : a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. & Spach) Eig (*Poaceae*). Agricultural University, Wageningen; International Center for Agricultural Research in Dry Areas, Aleppo, Syria.

SNAPE, J.W., CHAPMAN, V., MOSS, J., BLANCHARD, C.E., ÉS MILLER, T.E. (1979): The crossabilities of wheat varieties with *Hordeum bulbosum*. *Heredity* 42(3): 291–298.

SNOW, R. (1963): Alcoholic hydrochloric acid-carmines as a stain for chromosomes in squash preparations. *Stain technology* 38: 9–13.

SOMERS, D.J., ISAAC, P., ÉS EDWARDS, K. (2004): A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 109(6): 1105–1114.

SPETSOV, P., MINGEOT, D., JACQUEMIN, J.M., SAMARDJIEVA, K., ÉS MARINOVA, E. (1997): Transfer of powdery mildew resistance from *Aegilops variabilis* into bread wheat. *Euphytica* 93(1): 49–54.

STAKMAN, E.C., STEWARD, D.M., ÉS LOEGERING, W.Q. (1962): Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service.

STEIN, A.J., NESTEL, P., MEENAKSHI, J. V, QAIM, M., SACHDEV, H.P.S., ÉS BHUTTA, Z.A. (2007): Plant breeding to control zinc deficiency in India: How cost-effective is biofortification? *Public Health Nutrition* 10(5): 492–501.

STOILOVA, T., ÉS SPETSOV, P. (2006): Chromosome 6U from *Aegilops geniculata* Roth carrying powdery mildew resistance in bread wheat. *Breeding Science* 56: 351–357.

SUMNER, A.T., EVANS, H.J., ÉS BUCKLAND, R.A. (1971): New technique for

- distinguishing between human chromosomes. *Nature: New biology* 232(27): 31–32.
- SUTKA, J. (2004): Növényi citogenetika. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- SZAKÁCS, É., SCHNEIDER, A., RAKSZEGI, M., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2016): Addition of chromosome 4R from Hungarian rye cultivar Lovászipatonai confers resistance to stripe rust and outstanding end-use quality in wheat. *Journal of Cereal Science* 71: 204–206.
- TABBITA, F., PEARCE, S., ÉS BARNEIX, A.J. (2017): Breeding for increased grain protein and micronutrient content in wheat: Ten years of the *GPC-B1* gene. *Journal of Cereal Science* 73: 183–191.
- TÁBORSKÁ, J., VOJTKÓ, A., DULAI, S., ÉS SCHMOTZER, A. (2015): Distribution of *Aegilops cylindrica* Host in Hungary. *Thaiszia – Journal of Botany* 25(1): 41–72.
- TAN, F., ZHOU, J., YANG, Z., ZHANG, Y., PAN, L., ÉS REN, Z. (2009): Characterization of a new synthetic wheat – *Aegilops biuncialis* partial amphiploid. *Journal of Biotechnology* 8(14): 3215–3218.
- TANG, K., ÉS HART, G. (1975): Use of isozymes as chromosome markers in wheat-rye addition lines and in triticale. *Genetical Research* 26(2): 187–201.
- TAUTZ, D. (1989): Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research* 17(16): 6463–6471.
- TAUTZ, D., ÉS RENZ, M. (1984): Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research* 12(10): 4127–4138.
- THOMSON, A.M., GILLESPIE, P.J., ÉS BLOW, J.J. (2010): Replication factory activation can be decoupled from the replication timing program by modulating *Cdk* levels. *Journal of Cell Biology* 188(2): 209–221.
- TISCHNER, T., KŐSZEGI, B., ÉS VEISZ, O. (1997): Climatic programmes used in the Martonvasar phytotron most frequently in recent years. *Acta Agronomica Hungarica* 45(1): 85–104.

- TIWARI, V.K., RAWAT, N., NEELAM, K., KUMAR, S., RANDHAWA, G.S., ÉS DHALIWAL, H.S. (2010): Substitutions of 2S and 7U chromosomes of *Aegilops kotschy* in wheat enhance grain iron and zinc concentration. *Theoretical and Applied Genetics* 121(2): 259–269.
- TIWARI, V.K., RAWAT, N., NEELAM, K., RANDHAWA, G.S., SINGH, K., CHHUNEJA, P., ÉS DHALIWAL, H.S. (2008): Development of *Triticum turgidum* subsp. *durum*--*Aegilops longissima* amphiploids with high iron and zinc content through unreduced gamete formation in F1 hybrids. *Genome* 51(9): 757–766.
- TSUNEWAKI, K. (2009): Plasmon analysis in the *Triticum-Aegilops* complex. *Breeding Science* 59: 455–470.
- UAUY, C., DISTELFELD, A., FAHIMA, T., BLECHL, A., ÉS DUBCOVSKY, J. (2006): A *NAC* gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science* 314(1298): 1298–1301.
- VALKOUN, J., HAMMER, K., KUČEROVÁ, D., ÉS BARTOŠ, P. (1985): Disease resistance in the genus *Aegilops* L. - stem rust, leaf rust, stripe rust, and powdery mildew. *Die Kulturpflanze* 33(2): 133–153.
- VIDA, G., CSÉPLŐ, M., GULYÁS, G., KARSAI, I., KISS, T., KOMÁROMI, J., LÁSZLÓ, E., PUSKÁS, K., WANG, Z.L., DE PACE, C., BEDŐ, Z., LÁNG, L., ÉS VEISZ, O. (2011): Effectiveness of major resistance genes and identification of new sources for disease resistance in wheat. *Acta Agronomica Hungarica* 59(3): 241–248.
- VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M., VANDELEE, T., HORNES, M., FRIJTERS, A, POT, J., PELEMAN, J., KUIPER, M., ÉS ZABEAU, M. (1995): AFLP: a new technique for DNA-fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23(21): 4407–4414.
- WALL, A.M., RILEY, R., ÉS CHAPMAN, V. (1971a): Wheat mutants permitting homoeologous meiotic chromosome pairing. *Genetical Research* 18(3): 311–328.
- WALL, A.M., RILEY, R., ÉS GALE, M.D. (1971b): The position of a locus on chromosome 5B of *Triticum aestivum* affecting homoeologous meiotic pairing. *Genetical Research* 18(3): 329–339.

- WANG, H.C., ÉS FEDOROFF, S. (1972): Banding in human chromosomes treated with trypsin. *Nature New Biology* 235: 52–54.
- WANG, R.R.C., CHEN, J., ÉS JOPPA, L.R. (1995): Production and identification of chromosome specific RAPD markers for Langdon durum-wheat disomic substitution lines. *Crop Science* 35(3): 886–888.
- WANG, R.R.C., LI, X.M., HU, Z.M., ZHANG, J.Y., LARSON, S.R., ZHANG, X.Y., GRIEVE, C.M., ÉS SHANNON, M.C. (2003): Development of salinity-tolerant wheat recombinant lines from a wheat disomic addition line carrying a *Thinopyrum junceum* chromosome. *International Journal of Plant Sciences* 164(1): 25–33.
- WANG, S., YIN, L., TANAKA, H., TANAKA, K., ÉS TSUJIMOTO, H. (2011): Wheat-*Aegilops* chromosome addition lines showing high iron and zinc contents in grains. *Breeding Science* 61(2): 189–195.
- WARHAM, E.J., MUJEEB-KAZI, A., ÉS ROSAS, V. (1986): Karnal bunt (*Tilletia indica*) resistance screening of *Aegilops* species and their practical utilization for *Triticum aestivum* improvement. *Canadian Journal of Plant Pathology* 8(1): 65–70.
- WEBER, J.L., ÉS MAY, P.E. (1989): Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American journal of human genetics* 44(3): 388–96.
- WEISING, K., WEIGAND, F., DRIESEL, A.J., KAHL, G., ZISCHLER, H., ÉS EPPLEN, J.T. (1989): Polymorphic simple GATA/GACA repeats in plant genomes. *Nucleic Acids Research* 17(23): 10128.
- WELCH, R.M., ÉS GRAHAM, R.D. (2004): Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *Journal of Experimental Botany* 55(396): 353–364.
- WERNER, J.E., ENDO, T.R., ÉS GILL, B.S. (1992): Toward a cytogenetically based physical map of the wheat genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89: 11307–11311.
- WILLIAMS, J.G., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A., ÉS TINGEY, S. V.

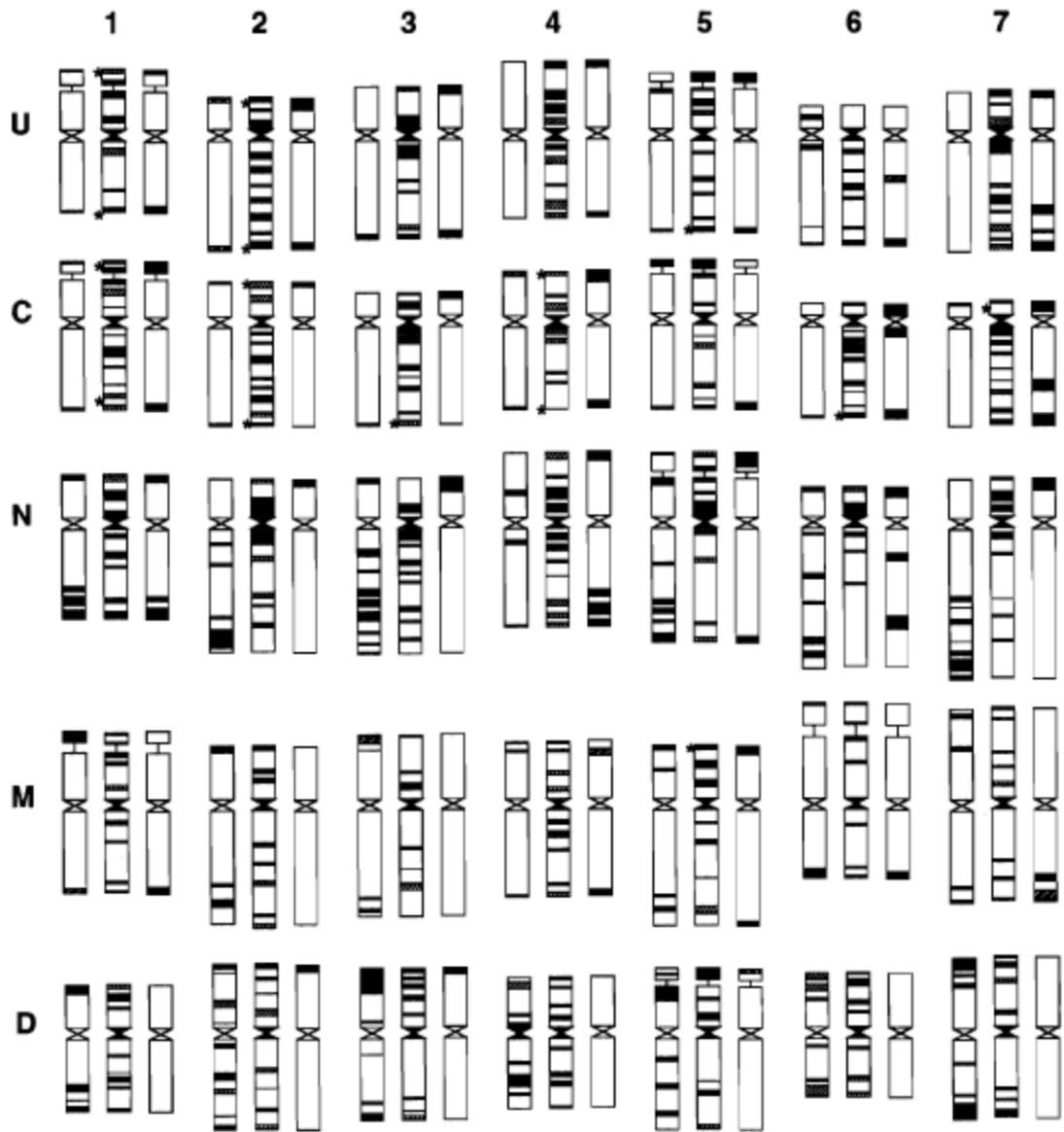
- (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research* 18(22): 6531–6535.
- YANG, Y.-C., TULEEN, N.A., ÉS HART, G.E. (1996): Isolation and identification of *Triticum aestivum* L. em. Thell. cv Chinese Spring-*T. peregrinum* Hackel disomic chromosome addition lines. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 591–598.
- YU, J.-K., LA ROTA, M., KANTETY, R. V, ÉS SORRELLS, M.E. (2004): EST derived SSR markers for comparative mapping in wheat and rice. *Molecular genetics and genomics* 271: 742–751.
- ZEVEN, A.C. (1987): Crossability percentages of some 1400 bread wheat varieties and lines with rye. *Euphytica* 36(1): 299–319.
- ZHANG, H., READER, S.M., LIU, X., JIA, J.Z., GALE, M.D., ÉS DEVOS, K.M. (2001): Comparative genetic analysis of the *Aegilops longissima* and *Ae. sharonensis* genomes with common wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 36: 518–525.
- ZHANG, X., ÉS JIN, Y. (1998): Sensitivity to Ptr ToxA and tan spot infection responses in *Aegilops/Triticum* complex. *Canadian Journal of Plant Pathology* 20: 415–418.
- ZHENG, Y., LUO, M., YEN, C., ÉS YANG, J. (1992): Chromosome location of a new crossability gene in common wheat. *Wheat Information Service* 75: 36–40.
- ZHOU, J.P., YAO, C.H., YANG, E.N., YIN, M.Q., LIU, C., ÉS REN, Z.L. (2014): Characterization of a new wheat-*Aegilops biuncialis* addition line conferring quality-associated HMW glutenin subunits. *Genetics and Molecular Research* 13(1): 660–669.
- ZHU, L.C., SMITH, C.M., FRITZ, A., BOYKO, E.V., ÉS FLINN, M.B. (2004): Genetic analysis and molecular mapping of a wheat gene conferring tolerance to the greenbug (*Schizaphis graminum* Rondani). *Theoretical and Applied Genetics* 109(2): 289–293.

M2. A munka során felhasznált primerek neve, szekvenciái, olvadáspontjuk és a felszaporított termékek mérete

| Oligonukleotid neve | Forward primer | Reverz primer | Olvadási hőmérséklet (T _m ; °C) | PCR profil | Termék hossza (bp) |
|---------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|--|--------------------|
| Afa family | GATGATGTGGCTTTGAAT GG | GCATTTCAAATGAACTCTG A | 55 | 94 °C 3 min; 29 ciklus: 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 2 min; és 72 °C 10 min | 340 |
| pSc119.2 | GTGCTGATGACCGAAACG | GCACTCGCAGTTTTGGCCG | 60 | 94 °C 5 min; 35 ciklus: 94 °C 30 sec, 60 °C 30 sec, 72 °C 1 min 30 sec; és 72 °C 5 min | 120 |
| pTa71 18S | CGAACTGTGAACTGCGA ATGGC | TAGGAGCGACGGGCGGTG TG | 68 | 94 °C 5 min; 35 ciklus: 94 °C 35 sec, 68 °C 50 sec, 72 °C 1 min 40 sec; és 72 °C 5 min | 1600 |
| AAC | AACAACAACAACAACA CAACAAC | TTGTTGTTGTTGTTGTTGTT GTT | 62 | 94 °C 5 min; 35 ciklus: 94 °C 35 sec, 62 °C 50 sec, 72 °C 1 min 40 sec; és 72 °C 5 min | (AAC) _n |
| ACG | ACGACGACGACGACGA | CGTCGTCGTCGTCGTC | 64 | 94 °C 5 min; 35 ciklus: 94 °C 35 sec, 64 °C 50 sec, 72 °C 1 min 40 sec; és 72 °C 5 min | (ACG) _n |
| ACT | ACTACTACTACTACTACT ACTACTACTACTACT | AGTAGTAGTAGTAGTAGTA GTAGTAGTAGTAGT | 50 | 94 °C 5 min; 35 ciklus: 94 °C 35 sec, 50 °C 50 sec, 72 °C 1 min 40 sec; és 72 °C 5 min | (ACT) _n |
| CAC | CACCACCACCACCACC | GTGGTGGTGGTGGTGG | 63 | 94 °C 5 min; 35 ciklus: 94 °C 35 sec, 63 °C 50 sec, 72 °C 1 min 40 sec; és 72 °C 5 min | (CAC) _n |
| CAG | CAGCAGCAGCAGCAGC | GTCGTCGTCGTCGTCG | 64 | 94 °C 5 min; 35 ciklus: 94 °C 35 sec, 64 °C 50 | (CAG) _n |

| | | | | | |
|-----------|------------------------------------|---------------------------------------|----|--|--------------------|
| GAA | GAAGAAGAAGAAGAAGA AGAA | CTTCTTCTTCTTCTTCTTCT T | 54 | sec, 72 °C 1 min 40 sec; és 72 °C 5 min 94 °C 5 min; 35 ciklus: 94 °C 35 sec, 54 °C 50 sec, 72 °C 1 min 40 sec; és 72 °C 5 min | (GAA) _n |
| Xbarc1045 | GCG TGT AAT AAA ACT GGT TGG ATA | GCG AGT ATG GTA ATT TCT AGG GAG TC | 55 | 94 °C 3 min; 29 ciklus: 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 2 min; és 72 °C 10 min | 170 |
| Xgwm113 | ATT CGA GGT TAG GAG GAA GAG G | GAG GGT CGG CCT ATA AGA CC | 55 | 94 °C 3 min; 29 ciklus: 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 2 min; és 72 °C 10 min | 148 |
| Xgwm368 | CCA TTT CAC CTA ATG CCT GC | AAT AAA ACC ATG AGC TCA CTT GC | 60 | 94 °C 3 min; 29 ciklus: 94 °C 1 min, 60 °C 1 min, 72 °C 2 min; és 72 °C 10 min | 259 |
| Xgwm149 | CAT TGT TTT CTG CCT CTA GCC | CTA GCA TCG AAC CTG AAC AAG | 55 | 94 °C 3 min; 29 ciklus: 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 2 min; és 72 °C 10 min | 161 |
| Xgwm251 | CAA CTG GTT GCT ACA CAA GCA | GGG ATG TCT GTT CCA TCT TAG | 55 | 94 °C 3 min; 29 ciklus: 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 2 min; és 72 °C 10 min | 110 |
| Xgwm165 | TGC AGT GGT CAG ATG TTT CC | CTT TTC TTT CAG ATT GCG CC | 60 | 94 °C 3 min; 29 ciklus: 94 °C 1 min, 60 °C 1 min, 72 °C 2 min; és 72 °C 10 min | 188 |

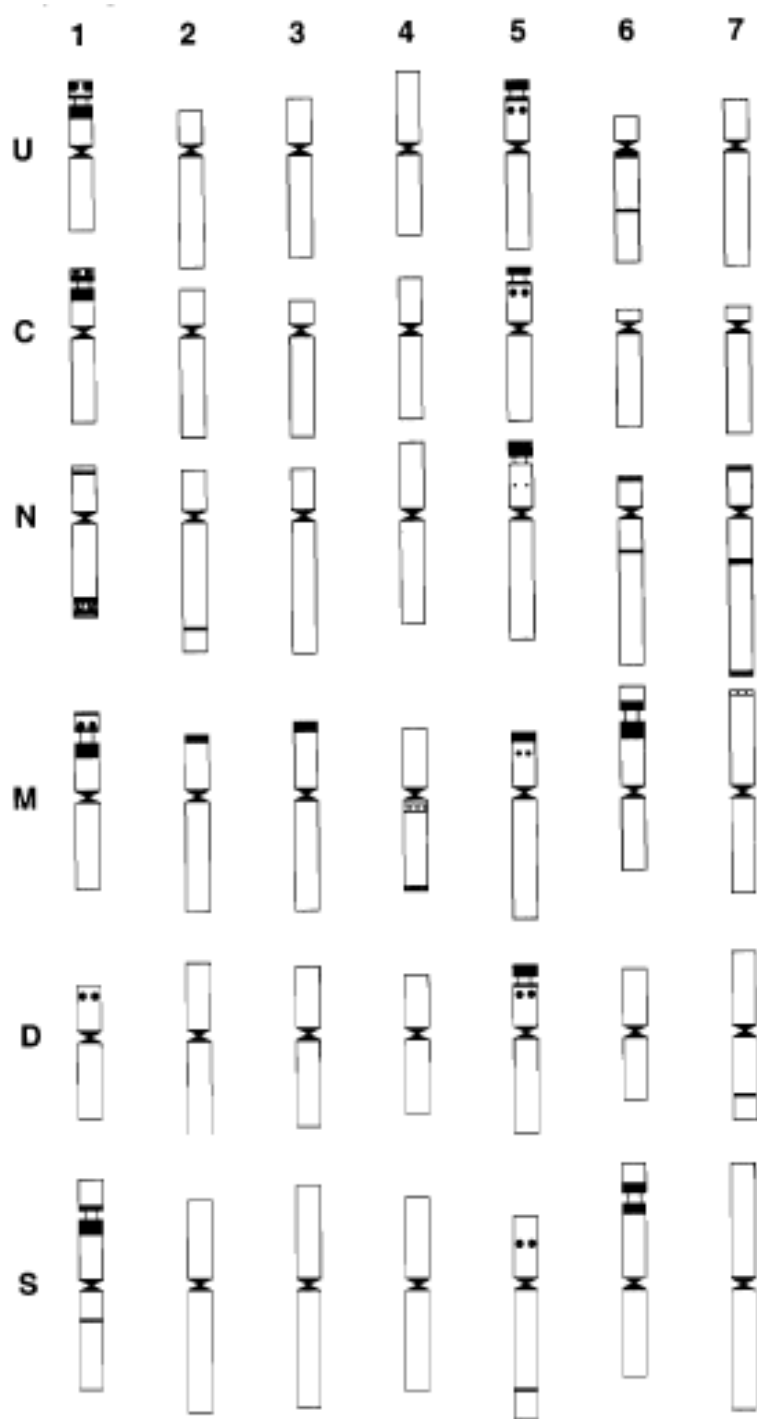
M3. Az *Aegilops* fajok kromoszómainak azonosításához felhasznált FISH kariogramok



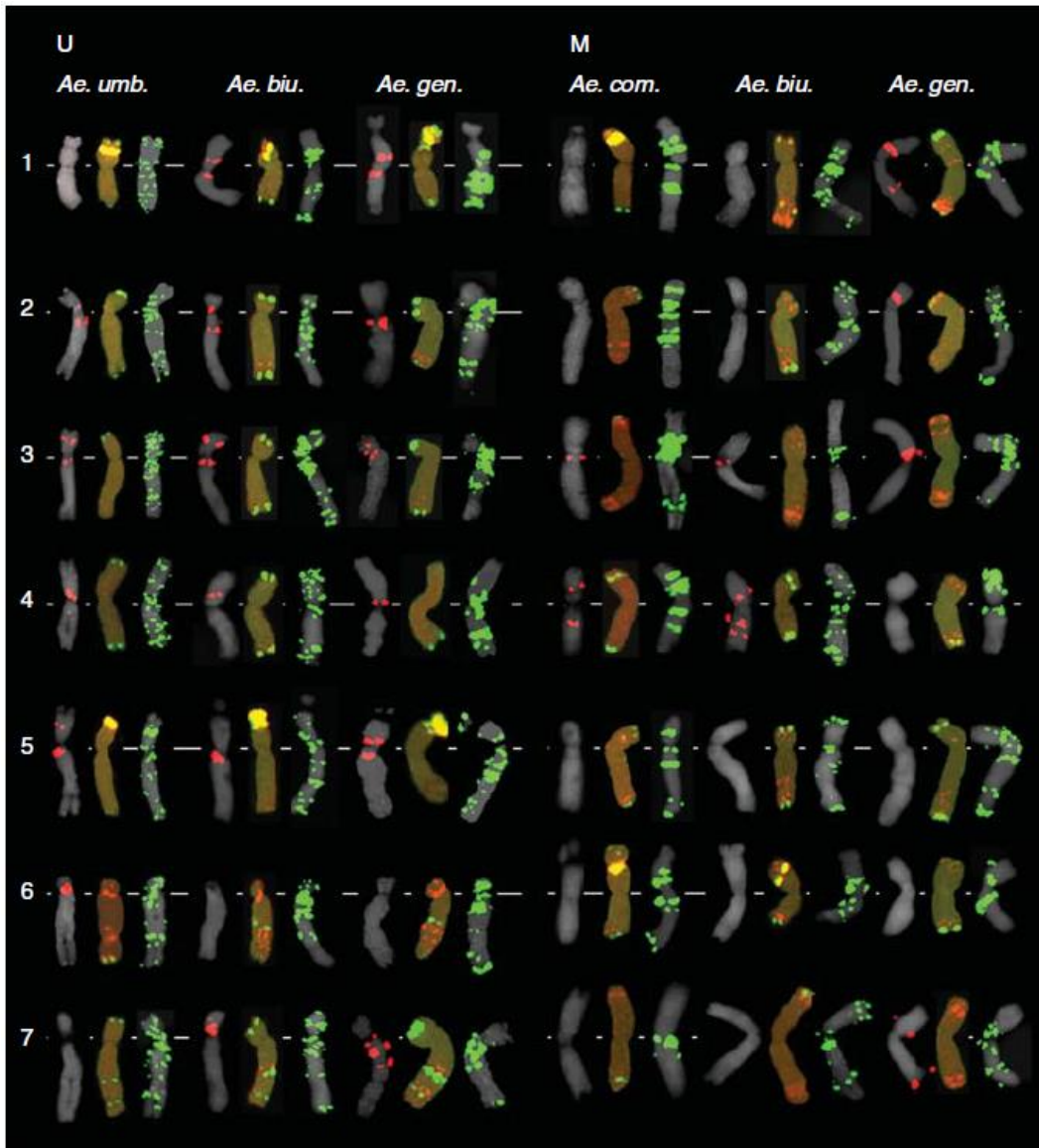
24. ábra. Az *Aegilops umbellulata* (U), *Aegilops caudata* (C), *Aegilops uniaristata* (N), *Aegilops comosa* (M) és az *Aegilops tauschii* (D) idiogramja. Balra az Afa family, jobbra a pSc119.2, középen a C-sávok láthatók (Badaeva és mtsai. 1996a nyomán).



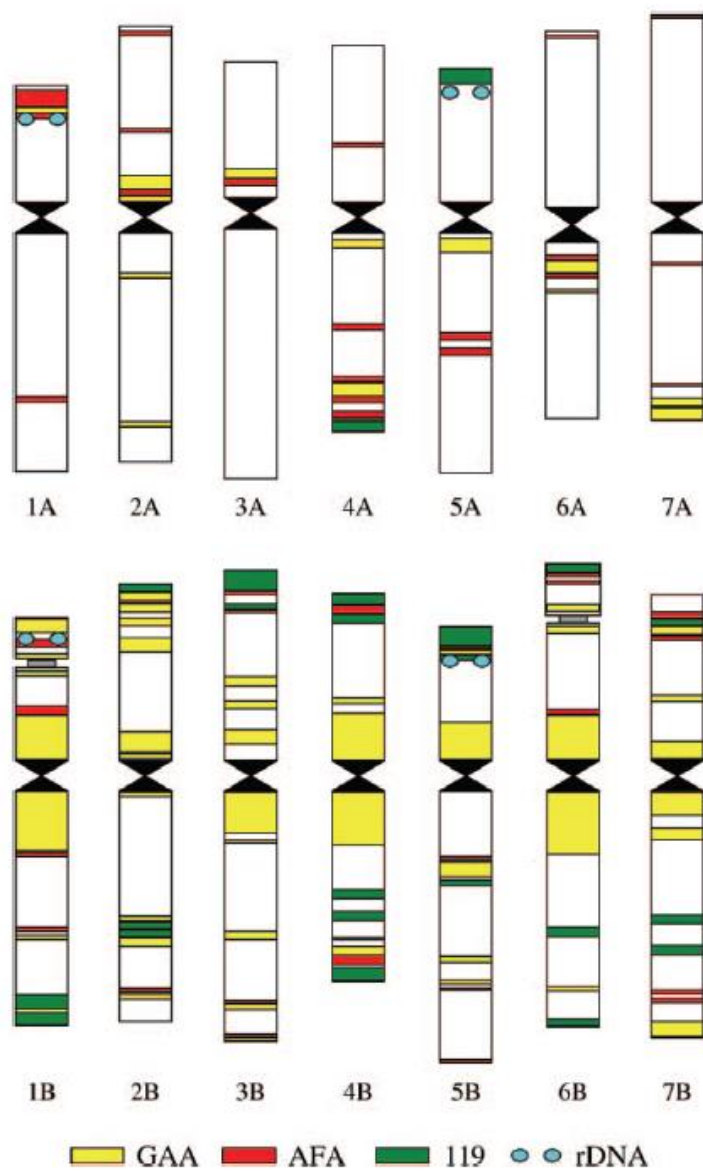
25. ábra. Az *Aegilops speltoides* (S) idiogramja C-sávozás (balra) és a pSc119.2 repetitív DNS-próba (jobbra) használata után (Badaeva és mtsai. 1996a nyomán).



26. ábra. Az 5S (körök) és a 18S-26S (négyzetek) próbák idiogramja az *Aegilops umbellulata* (U), *Aegilops caudata* (C), *Aegilops uniaristata* (N), *Aegilops comosa* (M), *Aegilops tauschii* (D) és az *Ae. speltoides* (S) kromoszómáin (Badaeva és mtsai. 1996b nyomán)



27. ábra. Középen az *Aegilops umbellulata* (MvGB420), *Ae. comosa* (JIC211001), *Ae. biuncialis* (AE354/78) és az *Aegilops geniculata* (AE393/78) kariotípusa a pTa71 (sárga), Afa family (piros) és pSc119.2 (zöld) próbákkal. A piros (ACG)n és a zöld (GAA)n próbák FISH mintázata jobbra, ill. balra látható (Molnár és mtsai. 2011a).



28. ábra.A 'Langdon' durumbúza FISH ideogramja a GAA (sárga), Afa family (piros), pSc119.2 (zöld) és a 5S rDNS próbákkal (Kubaláková és mtsai. 2005 nyomán).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Molnár Istvánnak, hogy szakmailag mindvégig irányította a kutatómunkámat. Hálás vagyok szakmai észrevételeiért és javaslataiért, példaértékű hozzáállásáért.

Köszönöm a Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományi Kutatóközpont Mezőgazdasági Intézetének jelenlegi főigazgatójának Dr. Balázs Ervinnek, volt főigazgatójának Dr. Bedő Zoltánnak és Dr. Veisz Ottó igazgató úrnak, hogy biztosították azokat a szellemi, tárgyi és anyagi feltételeket, amelyek szükségesek voltak a PhD munkám elvégzéséhez.

Köszönet illeti a Génmegőrzési Osztály jelenlegi tudományos osztályvezetőjét Dr. Hegedűs Attilát, volt vezetőit Dr. Linc Gabriellát és kiváltképpen Dr. Lángné Dr. Molnár Mártát, aki lehetővé tette, hogy bekapcsolódhassak az osztályán folyó génátviteli munkákba.

Köszönöm a Génmegőrzési Osztályon a korábbi és jelenlegi munkatársaimnak, hogy segítették munkámat. Köszönöm Dr. Szakács Éva, Dr. Türkösi Edina, Dr. Cseh András, Dr. Kruppa Klaudia, Dr. Megyeri Mária, Dr. Mikó Péter, Ivanizs László, Tóth Fanni, Dr. Könyvesné Lakner Ildikó és Bucsi Istvánné segítségét.

Köszönöm Dr. Vida Gyula és Károlyné Dr. Cséplő Mónika segítségét a rezisztenciakísérletekben nyújtott segítségükért, Dr. Dulai Sándor, Dr. Rapi Sándor és Oldal Vince segítségét a mikrolem-tartalom meghatározásában.

Köszönöm családomnak, szüleimnek, hogy támogatták tanulmányaimat, feleségemnek pedig türelmét és ösztönző szavait.

Köszönöm Szórád György lektori munkáját.