



Szent István Egyetem

**Búza–*Aegilops* introgressziós vonalak előállítása, 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 doktor
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

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK

A búza (*Triticum aestivum* L.) az emberiség egyik legfontosabb tápanyagforrása, a Föld teljes népessége által elfogyasztott kalória 20%-át biztosítja (Braun és mtsai. 2010). A kenyérbúza genetikai változatossága már a faj létrejöttekor a két szülő populációinak genetikai diverzitására korlátozódott, amely a domesztikáció és a többezer 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.

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 és további visszakeresztezésekkel a vad fajokban található hasznos gének, allélek átvihetők a búzába.

A *Triticeae* nemzetségcsoporton belül a kecskebúza (*Aegilops*) nemzetségnek 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. 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 vonalok 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. Tan és mtsai. (2009) búza–*Ae. biuncialis* részleges amfiploid, majd később Zhou és mtsai. (2014) egy $1U^b$ addíciós vonal létrehozásáról számoltak be. A Génmegőrzési Osztályon Molnár (2008) hozott létre egy $3M^b$ szubsztitúciós- és egy búza–*Ae. biuncialis* $3M^b$ centrikus fúziós vonalat az *Ae. biuncialis* MvGB642-es genotípussal. Célul tűztük ki a szubsztitúciós- és a centrikus fúziós vonalak részletes molekuláris citogenetikai (FISH) jellemzését, a szülői vonalakkal együtt az agronómiai tulajdonságaik – köztük a mikroelem-tartalom – meghatározását, ugyanis ezt a tulajdonságot eddig nem vizsgálták az *Ae. biuncialis*-ban.

A szintetikus amfiploidok értékes előnemesítési anyagnak számítanak, fertilisek és öntermékenyítéssel is fenntarthatók. Keresztezési hídként tekinthetünk rájuk a vad fajokból a hexaploid búzába történő génátviteli munkában. Célul tűztük ki durumbúza–*Ae. umbellulata* és *Ae. uniaristata* szintetikus amfiploidok létrehozását, annak érdekében, hogy e két faj hasznos agronómiai tulajdonságai is hozzáférhetőek legyenek a búzanemesítésben.

A fajkereszteзések 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 *Triticeae* törzsbe tartozó fajok molekuláris citogenetikai analízise során a leggyakrabban használt repetitív próbakombináció az Afa family, pSc119.2 és a pTa71, azonban ezek a próbák sok esetben az *Aegilops* fajok kromoszómáinak interkaláris régiójában kevés hibridizációs jelet adnak. A mikroszatellit szekvenciák általánosan előfordulnak a *Triticeae* és *Aegilops* fajok genomjaiban, néhányukat pedig *in situ* hibridizációs próbaként alkalmazzák a búza és árpa citogenetikai vizsgálatára. Az *Aegilops* fajok mikroszatellit szekvenciákkal elkészített, jól definiált kariotípusa megkönnyítené az idegen kromoszómák és kromoszómaátrendeződések azonosítását búza genetikai háttérben, mivel ezek a próbák az eddig nem jellemzett kromoszómarégiókban is adhatnak jelet.

Kutatásaink során a következő célkitűzéseket fogalmaztuk meg:

- 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–*Ae. biuncialis* előnemesítési vonalak kiválogatása

- búza–*Ae. biuncialis* transzlokációs vonalak előállítása
- 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 amfiploidok létrehozása.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Növényi anyag

A mikroszatellit szekvenciák FISH próbaként való alkalmazását a következő *Aegilops* fajok génbanki tételein ellenőriztük: *Ae. comosa* (TA2760), *Ae. markgrafii* (MvGB428), *Ae. speltoides* (MvGB905), *Ae. tauschii* (MvGB605), *Ae. umbellulata* (AE740/03) és *Ae. uniaristata* (JIC2120001).

A búza–*Ae. biuncialis* introgressziós vonalak előállításához a következő növényi anyagot használtuk fel: ‘Mv9kr1’, *Ae. biuncialis* MvGB642, *Ae. biuncialis* MvGB382, *Ae. biuncialis* MvGB1112.

A búza–*Ae. biuncialis* introgressziós vonalak mikroelem-meghatározásához felhasznált növényi anyag: búza–*Ae. biuncialis* 3M^b addíciós vonal (Schneider és mtsai. 2005), búza–*Ae. biuncialis* 3M^b(4B) szubsztitúciós vonal, búza–*Ae. biuncialis* 3M^b.4BS centrikus fúzió (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.

2.2. Növénynevelés szántóföldön és fitotroni növénynevelő kamrákban, keresztezések

A növénynevelés és a keresztezések szántóföldön (Martonvásár, Tükrös tenyészkert), fitotroni kamrákban, illetve üvegházban történtek. Kasztrálás után az anyanövényeket izoláltuk, majd 2–4 nap múlva pörgetéses módszerrel poroztuk be őket. A *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Ae. umbellulata* AE740/03 és a *T. turgidum* subsp. *durum* 'GK Novodur' × *Ae. uniaristata* JIC2120001 F₁ növényeket kolchicinnel kezeltük.

2.3. Molekuláris citogenetikai vizsgálatok

2.3.1. Genomi *in situ* hibridizáció (GISH)

A búza háttérben történő *Aegilops* genomok kimutatásához a következő fajok jelölt genomi DNS-ét használtuk: *Ae. comosa*, *Ae. tauschii*, *Ae. umbellulata*, *Ae. uniaristata*. A totál genomi DNS-t indirekten, random priming módszerrel jelöltük digoxigenin-11-dUTP-vel és biotin-14-dCTP-vel. A prehibridizációs mosásokat és a próbák detektálását Molnár és mtsai. (2011) által leírt módon végeztük.

2.3.2. Fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH)

A búza- és az *Aegilops*-kromoszómák azonosításához az Afa family, a pSc119.2 és a pTa71. Az Afa family próba felszaporítását Nagaki és mtsai. (1995) által leírt módon, PCR-rel végeztük *Ae. tauschii* genomi DNS-t használva templákként. A pSc119.2 szekvenciákat rozs genomi DNS-ből amplifikáltuk Contento és mtsai. (2005) szerint. A pTa71 (Gerlach és Bedbrook 1979) 18S alegységének felszaporítását rizsből, Chang és mtsai. (2010) alapján végeztük. A PCR során keletkezett reakciótermékeket (mindhárom próbánál) nicktranszlációs módszerrel,

indirekt módon jelöltük. Az Afa familyt digoxigenin-11-dUTP-vel, a pSc119.2-t biotin-14-dATP-vel, 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 reakciótermékeket nicktranszlációval jelöltük digoxigenin-11-dUTP-vel és biotin-14-dATP-vel. A prehibridizációs mosások, a próbák detektálása és a fluoreszcens jelek detektálása Molnár és mtsai. (2011) által leírt módszer alapján történt. SSR markeranalízis

2.3.3. 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).

2.4. Üvegházi levélrozsdafertőzés

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 levélrozsd ellenállóságát mesterséges, üvegházi fertőzéssel. A rozsdafertőzést Stakman és mtsai. (1962) által kidolgozott skála szerint értékeltük.

2.5. Mikroelem-tartalom 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 genotípusok szemtermésének teljes örleményében atomabszorpciós

spektrofotométerrel határoztuk meg a mikroelem-tartalmat (Farkas és mtsai. 2014)

2.6. 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.

3. EREDMÉNYEK

3.1. Mikroszatellit szekvenciák FISH próbaként való alkalmazása

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 a pSc119.2, Afa family és pTa71 próbák segítségével. A vizsgált *Aegilops* fajok genotípusai kromoszómáinak a korábban publikált kariotípusokéihoz hasonló FISH mintázataik voltak, segítségükkel az említett fajok összes kromoszómáját egyértelműen sikerült azonosítani. A referencia-kariotípusok elkészítése után a $(GAA)_n$, $(ACG)_n$, $(CAG)_n$, $(AAC)_n$, $(ACT)_n$, és $(CAC)_n$ mikroszatellit-szekvenciákat hibridizáltuk ugyanazokra a kromoszómapreparátumokra. 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, diagnosztikus sávokat a 3M, 4M, 1D, 2D, 2S, 2C, 3C, 6C és a 7C kromoszómákon azonosítottunk. Az $(ACG)_n$ motívum főleg centroméra környéki hibridizációs mintázatot mutat az U, M, N, S és C genomokon. Diagnosztikus $(ACG)_n$ sávokat

azonosítottunk a 4D, 4C, 7C, 4U, 3M, 4M, 7M, 2N és a 7N kromoszómákon. Az *Ae. uniaristata* 1N és a 7N kromoszómáján a (CAG)_n adott diagnosztikus jeleket.

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

A *T. aestivum* ‘Mv9kr1’ × *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. Az ‘Mv9kr1’ × *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.

3.3. 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 szubsztitúciós vonal és a 3M^b centrikus fúziós vonal részletes molekuláris citogenetikai (FISH) jellemzése során 3M^b(4B) szubsztitúciós- és 3M^b.4BS centrikus fúziós vonalnak azonosítottuk. A citológiai eredményeket a 4BS és a 4BL kromoszómákra specifikus mikroszatellit markerekkel is megerősítettük.

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 (23,4 és 38,2%-kal), mint a búza szülő. A bokrosodási képességben, a kalászok hosszában és a főkalásonkénti kalászkaszámban a 3M^b.4BS centrikus fúzió esetében nem volt szignifikáns különbség a búza szülőhöz képest. A genotípus termése ugyan elmarad az 'Mv9kr1'-től, azonban az introgressziós vonalak közül a legtöbb volt.

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

Durumbúza × *Ae. uniaristata* és durumbúza × *Ae. umbellulata* szintetikus amfiploidokat hoztunk létre. A növények genomösszetételét GISH-sel és FISH-sel határoztuk meg. A 'GK Novodur' × *Ae. umbellulata* amfiploid csíranövénykori levélrozda-fertőzéssel szemben immunis volt.

3.5. 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' × *Ae. biuncialis* (MvGB642, MvGB382, MvGB1112) BC₂ és BC₃ utódokat állítottunk elő. Az 'Mv9kr1' × *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 szignifikánsan nagyobb volt a kálium-, vas-, cink- és mangántartalma, mint az 'Mv9kr1' búzáé.

6. Kimutattuk, hogy a 3M^b.4BS centrikus fúzió szemtermésének szignifikánsan nagyobb volt a cink és mangántartalma, mint az 'Mv9kr1' búza szülőé.

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 levélrozsdafertőzés során immunisnak bizonyultak.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS A JAVASLATOK

4.1. 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 búza × *Ae. biuncialis* 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 jelölés) a jövőben megvalósulhat az *Ae. uniaristata* egyedi kromoszómáinak szétválasztása is.

4.2. ‘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 az eddig létrehozott introgressziós vonalak alulképviseltek.

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 vonalaknak a további visszakeresztezésével, 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 levélrozsdá-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 levélrozsdá-fertőzését.

Az introgressziós vonalak szelekciójára főként citogenetikai módszereket használtak, azonban a kiválogatást meggyorsíthatná a PCR alapú molekuláris markerek használata. Ehhez rendelkezésre állnak az *Ae. umbellulata* kromoszómáinak szekvenálásából (Illumina HiSeq2000) származó kromoszóma-specifikus szekvenciaadatok. A 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*-kromoszóma-specifikus, illetve a búza és az *Aegilops* között hosszpolimorfizmust mutató markerek.

4.3. 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 háttérébe 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 természetű búzafajtáknál nagyobb mikroelem-tartalmú és jó agronómiai tulajdonságú genotípus létrehozása a cél.

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.

4.4. 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.

5. IRODALOMJEGYZÉK

- BRAUN, H.J., ATLIN, G., ÉS PAYNE, T. (2010): Multi-location testing as a tool to identify plant response to global climate change. *In* Climate change and crop production. Szerkesztette M.P. Reynolds. CABI, Wallingford. o. 115–138.
- 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. Elsevier Inc.
- 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.
- GERLACH, W.L., ÉS BEDBROOK, J.R. (1979): Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. *Nucleic acids research* 7(7): 1869–85. Oxford University Press.
- MOLNÁR, I. (2008): *Triticum aestivum* - *Aegilops biuncialis* kromoszóma átépülések indukálása és molekuláris citogenetikai jellemzése. *Doktori értekezés*: 1–114.
- MOLNÁR, I., CIFUENTES, M., SCHNEIDER, A., BENAVENTE, E., ÉS MOLNÁR-LÁNG, M. (2011): 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

- 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.
- 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.

6. A SZERZŐ PUBLIKÁCIÓS TEVÉKENYSÉGE

Tudományos publikációk

Nemzetközi, tudományos lapokban megjelent publikációk:

- RAKSZEGI M, MOLNÁR I, LOVEGROVE A, DARKÓ É, **FARKAS A**, LÁNG L, BEDŐ Z, DOLEŽEL J, MOLNÁR-LÁNG M, SHEWRY P (2017) Addition of Aegilops U and M Chromosomes Affects Protein and Dietary Fiber Content of Wholemeal Wheat Flour *Frontiers in Plant Science* 8: Paper 1529. **IF: 4,298**
- MEGYERI M, MIKÓ P, **FARKAS A**, MOLNÁR-LÁNG M, MOLNÁR I (2017) 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:(1) pp. 67-70. **IF: 1,655**
- MOLNÁR I, VRÁNA J, BURESOVÁ V, CÁPAL P, **FARKAS A**, DARKÓ É, CSEH A, KUBALÁKOVÁ M, MOLNÁR-LÁNG M, DOLEZEL 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. *Plant Journal* 88:(3) pp. 452-467. **IF: 5,901**
- MIKÓ P, MEGYERI M, **FARKAS A**, MOLNÁR I, MOLNÁR-LÁNG M (2015) Molecular cytogenetic identification and phenotypic description of a new synthetic amphiploid, *Triticum timococcum* (AtAtGGAmAm) *Genetic Resources and Crop Evolution* 62:(1) pp. 55-66. **IF: 1.482**
- MOLNÁR I, VRÁNA J, **FARKAS A**, KUBALÁKOVÁ M, CSEH A, MOLNÁR-LÁNG M, 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) pp. 189-200. **IF: 3.654**
- FARKAS A**, MOLNÁR I, DULAI S, RAPI S, OLDAL V, CSEH A, KRUPPA K, MOLNÁR-LÁNG M (2014) Increased micronutrient content (Zn, Mn) in the 3M^b(4B) wheat–*Aegilops biuncialis* substitution and 3M^b.4BS translocation identified by GISH and FISH. *Genome* 57:(2) pp. 61-67. **IF: 1.424**
- MOLNAR I, KUBALAKOVA M, SIMKOVA H, **FARKAS A**, CSEH A, MEGYERI M, VRANA J, MOLNAR-LANG M, DOLEZEL 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) pp. 1091-1104. **IF:3.79**

- FARKAS A, MOLNAR I, KISS T, KARSAI I, MOLNAR-LANG M** (2014) Effect of added barley chromosomes on the flowering time of new wheat/winter barley addition lines in various environments *Euphytica* 195:(1) pp. 45-55. **IF: 1,385**
- TÜRKÖSI E, FARKAS A, ARANYI NR, HOFFMANN B, TÓTH V, MOLNÁR-LÁNG M** (2014) Improvement of the agronomic traits of a wheat–barley centric fusion by introgressing the 3HS.3BL translocation into a modern wheat cultivar *Genome* 57:(11/12) pp. 601-607. **IF: 1.424**
- MOLNÁR I, ŠIMKOVÁ H, LEVERINGTON-WAITE M, GORAM R, CSEH A, VRÁNA J, FARKAS A, DOLEŽEL J, MOLNÁR-LÁNG M, 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) Paper e70844. **IF: 3.534**

Nemzetközi, tudományos lapokban megjelent publikációk:

- MEGYERI M, FARKAS A, VARGA M, KOVÁCS G, MOLNÁR-LÁNG M, MOLNÁR I** (2012) Karyotypic analysis of *Triticum monococcum* using standard repetitive DNA probes and simple sequence repeats. *Acta Agronomica Hungarica*, 60(2): 87–95. DOI: 10.1556/AAgr.60.2012.2.1

Egyéb tudományos művek

Konferencia kiadványok:

- Molnár-Láng M, Türkösi E, **Farkas A**, Cseh A, Kruppa K, Icsó D, Rakszegi M, Szakács É, Hoffmann B, Linc G (2014) Evaluation of flowering time, β -glucan content and tillering of wheat/barley introgression lines. In: Ulrike Lohwasser and Andreas Börner (eds.) EUCARPIA Cereals Section-I T M I Joint Conference Wernigerode, Germany, June 29–July 4, 2014, Cereals for Food, Feed and Fuel-Challenge for Global Improvement, Book of abstracts
- Molnár I., Simková H., Kubaláková M., Leverington-Waite M., Goram R., Cseh A., **Farkas A.**, Molnár-Láng M., Griffiths S., Dolezel J. (2012) Extending the chromosome-based genomics for wild wheat species with U and M genomes. In: Bedő Z., Láng L. (szerk.) Plant Breeding for Future Generations: Proceedings of the 19th EUCARPIA General Congress. Budapest, Magyarország, 2012.05.21-2012.05.24. Martonvásár: Agricultural Institute, Centre

- for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, ISBN:978-963-8351-39-5, pp. 94-97.
- Molnár I, Šimková H, Kubaláková M, Leverington-Waite, Goram MR, Cseh A, **Farkas A**, Molnár-Láng M, Griffiths S, Doležel J (2012) Flow-cytometric dissection the U and M genomes facilitate the physical mapping of *Aegilops* species. In: A. Börner and B. Kobiljski (eds.) European Cereals Genetics Co-operative Newsletter, 2012; Proceedings of the 15th International EWAC Conference, 7-11 November 2011, Novi Sad, Szerbia, pp.42-47.
- Molnár-Láng M., Szakács É., Kruppa K., Cseh A., Linc G., Rakszegi M., **Farkas A.**, Hoffmann B., Darkó É., Dulai S. (2012) Evaluation of morphological and agronomic traits of wheat/barley introgression lines developed in Martonvásár. In: A. Börner and B. Kobiljski (eds.) European Cereals Genetics Co-operative Newsletter, 2012; Proceedings of the 15th International EWAC Conference, 7-11 November 2011, Novi Sad, Szerbia, pp.30-35.
- Molnár-Láng M., Szakács É., Kruppa K., Linc G., Cseh A., Molnár I., **Farkas A.**, Dulai S., Darkó É., Hoffmann B. (2011): Production and characterization of wheat-barley introgression lines. In: Climate change: challenges and opportunities in agriculture. Ed.: Ottó Veisz AGRISAFE final conference March 21-23, 2011, Budapest, Hungary, ISBN: 978-963-8351-37-1, pp. 94-98.

Konferencia absztraktok:

- Molnár I, **Farkas A**, Jan V, Darkó É, Ivanizs L, Pázsik K, Jaroslav D, Andrzej K (2017) Az *Aegilops biuncialis* DArTseq alapú F2 genetikai térképének előállítás. In: Veisz Ottó (szerk.) XXIII. Növénynevelési Tudományos Nap: összefoglalók. 161 p. Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2017.03.07 Budapest: Magyar Tudományos Akadémia, 2017. p. 41.
- Rakszegi M, Lovegrove A, Molnár I, Darkó É, Farkas A, Láng L, Bedő Z, Doležel J, Lángné Molnár M, Shewry P (2017) *Aegilops* kromoszóma addíciók (U és M) hatása a búza teljes őrlemény rostanyag tartalmára és összetételére. In: Veisz Ottó (szerk.) XXIII. Növénynevelési Tudományos Nap: összefoglalók. 161 p. Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2017.03.07 Budapest: Magyar Tudományos Akadémia, p. 37.
- Pázsik K, **Farkas A**, Ivanizs L, Szakács É, Molnár I (2017) Az *Aegilops* fajok kromoszóma készletének jellemzése és azonosítása mikroszatellit szekvenciák felhasználásával. In: Veisz Ottó (szerk.) XXIII. Növénynevelési Tudományos Nap: összefoglalók. 161 p.

- Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2017.03.07
Budapest: Magyar Tudományos Akadémia, p. 132.
- Rakszegi M, Darkó É, Lovegrove A, Molnár I, **Farkas A**, Vida Gy, Láng L, Bedő Z, Lángné Molnár M, Shewry (2018) A szárazságstressz hatása a búza teljesőrlemény fehérje- és rostanyag tartalmára búza/Aegilops addíciós vonalakban In: Karsai Ildikó, Polgár Zsolt (szerk.) XXIV. Növénynevelési Tudományos Nap: Összefoglalók. 139 p. Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2018.03.06
Budapest: Magyar Tudományos Akadémia, p. 34.
- Szőkéné Pázi K, **Farkas A**, Ivanizs L, Szakács É (2018) A Kriszta élő rozs (*Secale cereanum*) kromoszómakészletének vizsgálata mikroszatellit-szekvenciákkal. In: Karsai Ildikó, Polgár Zsolt (szerk.) XXIV. Növénynevelési Tudományos Nap: Összefoglalók. 139 p. Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2018.03.06
Budapest: Magyar Tudományos Akadémia, 2018. p. 133.
- Ivanizs L, Pázi K, **Farkas A**, Linc G, Türkösi E, Makai Sz, Lángné Molnár M, Molnár I (2017) Az árpa 6H kromoszómát hordozó búza–árpa transzlokációk kiválogatására alkalmas markerszelekciós rendszer létrehozása. In: Veisz Ottó (szerk.) XXIII. Növénynevelési Tudományos Nap: összefoglalók. 161 p. Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2017.03.07
Budapest: Magyar Tudományos Akadémia, p. 107.
- Marianna Rakszegi, István Molnár, Alison Lovegrove, Éva Darkó, **András Farkas**, László Láng, Zoltán Bedő, Jaroslav Doležel, Márta Molnár-Láng, Peter Shewry (2017) Addition of Aegilops U and M chromosomes affects protein and dietary fiber content of wholemeal wheat flour CEREAL RESEARCH COMMUNICATIONS 45:(S1) pp. 68-69. 4th Conference of Cereal Biotechnology and Breeding (CBB4). Budapest, Magyarország: 2017.11.06 -2017.11.09.
- Megyeri M, Molnár I, **Farkas A**, Mikó P, Lángné Molnár M (2015) A *Triticum monococcum* molekuláris citogenetikai elemzése és felhasználása az előnevelésben In: Veisz Ottó (szerk.) XXI. Növénynevelési Tudományos Napok: Összefoglalók. 155 p. Konferencia helye, ideje: Martonvásár, Magyarország, 2015.03.11-2015.03.12. Martonvásár: MTA ATK, 2015. p. 31.
- Megyeri M, Linc G, Mikó P, **Farkas A**, Molnár I, Láng L, Kuti C, Molnár-Láng M (2015) Martonvásár Cereal Genebank In: Lohwasser U, Börner A (szerk.) Seeds for future generations – Determinants of longevity: Book of abstracts. Konferencia helye, ideje: Wernigerode, Németország, 2015.07.05-2015.07.08. Wernigerode: p. 65.
- Molnár-Láng M, Türkösi E, Farkas A, Cseh A, Kruppa K, Icsó D, Rakszegi M, Szakács É, Hoffmann B, Linc G (2014) Evaluation of

- flowering time, β -glucan content and tillering of wheat/barley introgression lines. In: Lohwasser U, Börner A (szerk.) Cereals for Food, Feed and Fuel, Challenge for Global Improvement: Eucarpia Cereals Section - ITMI Joint Conference, Book of Abstract. 359 p. Konferencia helye, ideje: Wernigerode, Németország, 2014.06.29-2014.07.04.p. 60.
- Türkösi E, **Farkas A**, Tóth V, Lángné Molnár M (2015) A 3HS.3BL búza/árpa centrikus fúzió introgressziója egy modern martonvásári búzafajtában. In: Veisz Ottó (szerk.) XXI. Növénynevelési Tudományos Napok: Összefoglalók. 155 p. Konferencia helye, ideje: Martonvásár, Magyarország, 2015.03.11-2015.03.12. Martonvásár: MTA ATK, 2015. p. 134.
- Molnár-Láng M, Linc G, Szakács É, Cseh A, Kruppa K, **Farkas A**, Molnár I, Darkó É, Rakszegi M, Dulai S, Hoffmann B, Türkösi E (2013) Development and characterization of new wheat/winter barley introgression lines. In: Program and Abstract Book. The 12th International Wheat Genetic Symposium. September 8-14, 2013. Yokohama, Japan. p. 120.
- Megyeri M, **Farkas A**, Kovács G†, Molnár I, Molnár-Láng M (2013) Cytomolecular genome analysis of Triticum monococcum (Fishing in the gene pool using FISH) In: Bragason A, Ortiz R (szerk.) Pre-breeding – fishing in the gene pool.: Abstracts of oral presentations and posters of the EUCARPIA European Plant Genetic Resources Conference. Konferencia helye, ideje: Alnarp, Svédország, 2013.06.10-2013.06.13.p. 70.
- Farkas A.**, Molnár I., Karsai I., Lángné Molnár M. (2013) A búza genomba beépített árpa kromoszómák hatása a koraiságra. In: Hoffmann B., Kollaricsné Horváth M. (szerk.) XIX. Növénynevelési Tudományos Nap: Összefoglalók, Keszthely, Magyarország, 2013.03.07 Budapest: MTA Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Bizottsága, p. 88.
- Farkas A**, Molnár I, Dulai S, Rapi S, Oldal V, Cseh A, Kruppa K, Molnár-Láng M (2013) Identification of wheat - Ae.biuncialis introgression lines containing chromosome 3Mb and evaluate their potential to improve micronutrient content of wheat In: Kőszegi I, Pósa T (szerk.) Our Future. Konferencia helye, ideje: Keszthely, Magyarország, 2013.05.15 Martonvásár: Pannonian Plant Biotechnology Association, 2013. pp. 16-17.
- Molnár-Láng M, **Farkas A**, Cseh A, Szakács É, Molnár I, Kruppa K, Rakszegi M, Linc G (2013) Agronomic Traits (flowering time, β -glucan content) of New Wheat/Barley Introgression Lines Produced with Winter Barley Cultivars Manas and Igri. International Plant &

- Animal Genome XXI / January 12-16, 2013 - San Diego, CA, USA, (<https://pag.confex.com/pag/xxi/webprogram/Paper5756.html>).
- Molnár I, Kubaláková M, Šimková H, **Farkas A**, Cseh A, Megyeri M, Vrána J, Molnár-Láng M, Doležel J (2013) Laying foundations of chromosome genomics in diploid progenitors of hexaploid wheat. International Plant & Animal Genome XXI / January 12-16, 2013 - San Diego, CA, USA, (<https://pag.confex.com/pag/xxi/webprogram/Paper5544.html>).
- Lángné Molnár M., Szakács É., Cseh A., Kruppa K. **Farkas A.**, Rakszegi M., Linc G. (2012): Búza/árpa introgressziós vonalak azonosítása és agronómiai tulajdonságaik értékelése. Janda T. (szerk.) I. ATK tudományos Nap Összefoglalók 2012. november 14. p 52.
- Farkas A**, Megyeri M, Molnár-Láng M, Molnár I. The use of simple sequence repeats for the karyotypic analysis of wild relatives of wheat. In: Bedő Z., Láng L. (szerk.) Plant Breeding for Future Generations: Proceedings of the 19th EUCARPIA General Congress. Budapest, Magyarország, 2012.05.21-2012.05.24. Martonvásár: Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, , p. 250.
- Molnár I, Martis MM, Simková H, Kubaláková M, Vrána J, **Farkas A**, Megyeri M, Cattonaro F, Lángné Molnár M, Mayer K, Doležel J. Kromoszóma-alapú genomikai kutatások a Triticeae és Aegilops családokban. In: Veisz Ottó (szerk.) XVIII. Növénynevelési Tudományos Napok: Összefoglalók. Budapest, Magyarország, 2012.03.06 Budapest: p. 39.
- Farkas A**, Megyeri M, Lángné Molnár M, Molnár I. Mikroszatellit szekvenciák próbaként való alkalmazása Aegilops és Triticeae fajok FISH genomanalízisében. In: Veisz Ottó (szerk.) XVIII. Növénynevelési Tudományos Napok: Összefoglalók. Budapest, Magyarország, 2012.03.06 Budapest: p. 74.

Összesített impaktfaktor: 28,547

Összes idézetek száma (független/függő): 85 (37/48)