

Szent István Egyetem

Gödöllő

**BÚZA GENETIKAI ALAPANYAGOK ELŐÁLLÍTÁSA,
AGRONÓMIAI ÉS CITOGENETIKAI ELEMZÉSE**

Doktori értekezés tézisei

Kőszegi Béla

Gödöllő

2002

Doktori iskola:

Tudományterület: Agrártudományok
Tudományág: Növénytermesztési és kertészeti tudományok, D62i
Növénytudományi Doktori Iskola
Vezető: Dr. Virányi Ferenc, egyetemi tanár, az MTA doktora
SZIE Növényvédelemtani Tanszék, Gödöllő, 2103.
Titkár: Dr. Gyulai Gábor, egyetemi docens, a biol. tud. kandidátusa
SZIE Genetika és Növénynevelés Tanszék, Gödöllő, 2103.

Doktori program

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

Témavezető:

Dr. Lángné dr. Molnár Márta, tudományos főmunkatárs, a mg. tudomány kandid.
MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete
Martonvásár

Gödöllő: 2002.

Jóváhagyta:

.....
Dr. Virányi Ferenc,
DSc
iskolavezető

Dr. Heszky László,
MTA I. tagja
programvezető

Dr. Lángné, dr. Molnár Márta
a mg. tud. kandidátusa
témavezető

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK

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

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

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

A világ búzanemesítésére igen nagy hatást gyakorolt az a transzlokáció, melynek során az 1B búzakromoszóma rövid karja centrális fúzió révén kicserélődött az 1R rozs kromoszóma rövid karjára. Az 1RS/1BL transzlokációt hordozó búza genotípusokban tehát egy olyan kromoszómapár található, amelynek rövid karja a rozs 1R kromoszóma rövid karja, hosszú karja pedig a búza 1B kromoszóma hosszú karja. Irodalmi adatok alapján közel négyszáz búzafajta hordozza ezt a transzlokációt, a magyar fajtákra vonatkozóan azonban csak a kilencvenes évek elejéről vannak erre vonatkozó adatok. Indokoltnak tűnt tehát egy újabb vizsgálat, amely lehetőség szerint kiterjed az egész magyar fajtasortimentre. A nemesítők a transzlokációs kromoszóma 1RS karjára vonatkozó rekombinációk létrehozására is törekszenek, tehát fontos információt jelent számukra az, hogy mely fajtkában, milyen genetikai háttérben fordul elő a transzlokáció.

Dolgozatomban három kísérletsorozatot foglaltam össze:

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

A **második** kísérletsorozat célja a szárazságtűrés genetikai kontrolljának feltárása volt. Ilyen gének lokalizálása céljából a rendelkezésünkre álló Chinese Spring/*Agropyron elongatum* és Chinese Spring/Imperial rozs addíciós, valamint Chinese Spring/Cappelle Desprez szubsztitúciós vonalak szárazságtűrésességének a martonvásári fitotronban történt vizsgálatával azonosítottunk e tulajdonság kialakulásáért felelős kromoszómákat és kromoszóma szegmentumokat.

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

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

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

A KÍSÉRLETEKBEN FELHASZNÁLT ANYAGOK

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

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

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

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

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

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

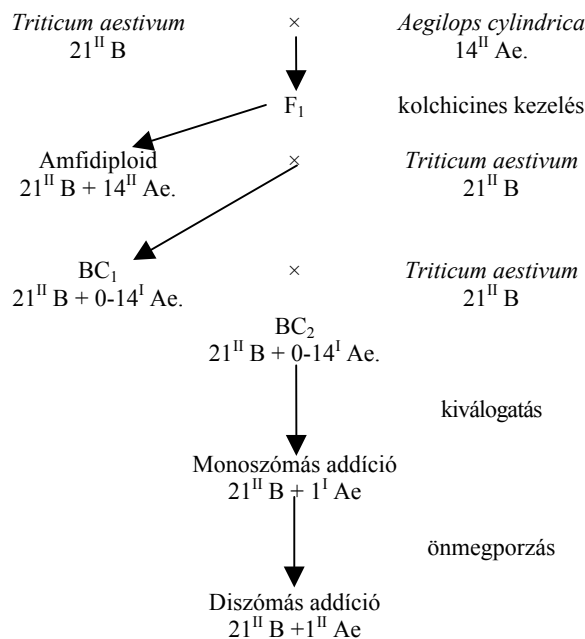
Az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete által nemesített fajták közül pedig az alábbiakat választottuk ki vizsgálatra

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

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

KÍSÉRLETI MÓDSZEREK

A diszómás addíciót az alábbi keresztezési séma szerint állítottuk elő.



A kromoszómaszámot gyökércsúcsban és pollenanyasejtben **Feulgen módszerrel** határoztuk meg.

A kromoszómák azonosítására a **Giemsa C-sáv** módszert használtuk (Friebe és Gill, 1994).

A **szárazságtűrés genetikai elemzését** célzó kísérleteknél a felsorolt szubsztitúciós és addíciós vonalak, valamint a recipiens és donor fajták növényeit az egyes genotípusok igényeinek megfelelő vernalizáció (pl. Cappelle Desprez, CS/CD 5A szubsztitúció 42 nap, Chinese Spring, CS/CD egyéb szubsztitúciós vonalak 21 nap) után 5 kg, sterilizált (24 h, 82 °C) földet (kerti talaj: humusz : homok 3:1:1 arányú keveréke) tartalmazó 20 × 20 × 20 cm-es edényekbe ültettük. Minden edénybe három növény került, majd a növényeket a martonvásári fitotron PGB-96-os kamrájában neveltük fel. A kísérletet három ismétlésben, véletlen blokk elrendezésben állítottuk be. A növényeket 17 héten keresztül neveltük a 3.1. táblázatban megadott körülmények között. A relatív páratartalom: nappal 64 %; éjszaka 76 % volt a kísérlet teljes időtartama alatt. A megvilágítást három fokozatban kapcsoltuk be (és ki), így a fotoszintetikus foton fluxus sűrűség (PPFD) 270, 320 és 350 μmol/m².s. A megvilágítás intenzitása pedig 60, 70 és 74 J/m²/s volt.

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

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

A növények öntözésével három csoportot alakítottunk ki:

E1: a kísérlet teljes időtartama alatt öntözött kontroll

E2 "középidőszaki" szárazságstressz: a virágzás kezdetétől a virágzás befejezéséig szünetelt az öntözés, majd utána folytatódott a teljes érésig

E3: "érésidőszaki" szárazságstressz: az öntözést a virágzás befejeztével, a magtelítődés kezdetével beszüntettük.

A szárazságtűrés kísérletben vizsgált paraméterek

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

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

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

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

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

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

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

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

Az adatok feldolgoása

A kapott adatok feldolgoása SPSS statisztikai programban, kéttényezős variancia-analízissel történt (Farshadfar és mtsai., 1994).

Az 1RS/1BL kromoszóma transzlokáció azonosításánál a Giemsa C-sávozáson túl **genomi *in situ* hibridizációt** (Reader és mtsai., 1994) és **poliakrilamid gél elektroforézist** alkalmaztunk (Jackson és mtsai, 1996).

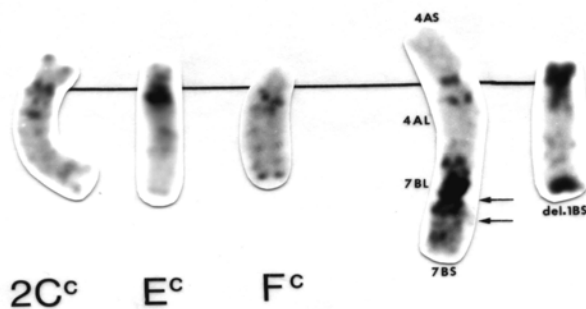
Citológiai vizsgálatainkhoz és a fényképezéshez beépített, automata fényképező berendezéssel, illetve digitális kamerával rendelkező Zeiss (Opton), Zeiss Axioskop és digitális kamerával felszerelt Zeiss Ultraphot mikroszkópokat használtunk, a felvételeket 1000×-es nagyítással készítettük.

3. EREDMÉNYEK

A *TRITICUM AESTIVUM* × *AEGILOPS CYLINDRICA* DISZÓMÁS ADDÍCIÓS VONALAK ELŐÁLLÍTÁSÁBAN ELÉRT EREDMÉNYEK

A önmegporzott BC₂ utódok közül kiválogatott 44 kromoszómás vonalakat C-sávozással elemeztük. Az 1. ábra azokat az *Ae. cylindrica* kromoszómákat mutatja, amelyeket ezekben a vonalakban a búza kromoszómaszerelvényen kívül találtunk, továbbá ezen az ábrán tüntettünk fel két átrendeződött búzakromoszómát. A C-sáv elemzés alapján tehát a 44 kromoszómás vonalak között a 2C^c, a E^c és az F^c kromoszómákat hordozó diszómás addíciós vonalakat lehetett azonosítani.

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



1. ábra A 44 kromoszómás vonalakban C-sávozással kimutatott *Ae. cylindrica* kromoszómák (2C^c, E^c, F^c), valamint transzlokációs és deléciós búzakromoszómák a BC₂ nemzedékből

A SZÁRAZSÁGTŰRÉS GENETIKAI ELEMZÉSÉNEK EREDMÉNYEI

A CS/CD szubsztitúciós sorozat vizsgálata alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a szárazságtűrés komplex poligénes tulajdonság és a stresszadaptációt szabályozó gének több kromoszómán lokalizáltak. Ezek közül szignifikánsan kiugró hatású régiók lokalizálhatók az 5-ös és a 7-es homeológ csoport kromoszómáin.

A CS/*A. elongatum* és a CS/Imperial rozs diszómás addíciós vonalak elemzése szintén e két homeológ csoport meghatározó szerepét támasztotta alá. Ezek a vizsgálatok

igazolják Sutka és mtsai. (1995) abiotikus stresszadaptációt elősegítő, az 5A, 5R és 5E kromoszómákon található génkomplexekre vonatkozó hipotézisét. Ezekben a génkomplexekben, az abiotikus stresszadaptációt elősegítő gének különböző alléljainak kedvező együttese található.

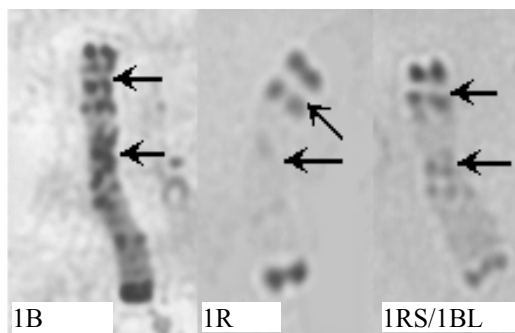
Snape és mtsai. (1985), Sutka és Snape (1989) a vernalizációért felelős *Vrn1* és a fagyűrészért felelős *Fr1* géneket lokalizálták az 5A búza kromoszómán. RFLP markerek segítségével Sutka és mtsai., (1995) e géneket 2,1 cM távolságra térképezték egymástól. Galiba és mtsai. (1992; 1993) igazolták, hogy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

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

AZ 1RS/1BL TRANSZLOKÁCIÓK KIMUTATÁSÁRA VÉGZETT KÍSÉRLETEK EREDMÉNYEI

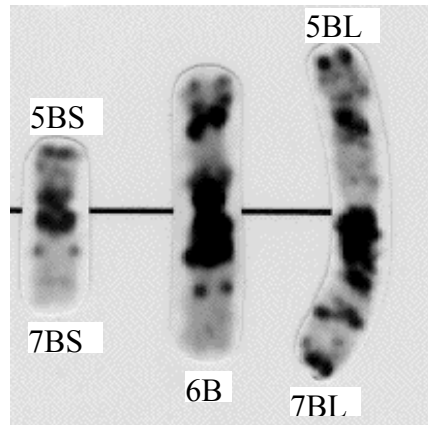
Az 1RS/1BL transzlokáció elemzése Giemsa C-sáv módszerrel

A centrikus fúzió révén létrejött 1RS/1BL transzlokációs kromoszóma C-sáv módszerrel viszonylag egyszerűen kimutatható. Az 1B búza kromoszóma hosszú karján erősen festődő interkaláris és terminális sávok vannak, a centromeron közelében pedig heterokromatikus sávkomplexum található. A satellites 1B kromoszóma rövid karja jól megkülönböztethető az 1R kromoszóma rövid karjától, mivel az 1BS karon számos centromeron közeli és intersticiális sáv található, ezzel szemben a satellittel szintén rendelkező 1R kromoszóma rövid karján egy erősen festődő, nagyon jellegzetes telomérás és a másodlagos befűződés alatt egy ugyancsak jellegzetes szubtelomérás sáv látható. A centroméra közelében egy keskenyebb heterokromatikus sáv figyelhető meg (2. ábra).



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

A Giemsa C-sáv elemzés során egy, a részletesebben tárgyalt 1RS/1BL transzlokáción kívül egy másik transzlokációt az ábrán bemutatott 5BL/7BL;5BS/7BS transzlokációt is azonosítottunk a GK Öthalom fajtában (3. ábra).



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

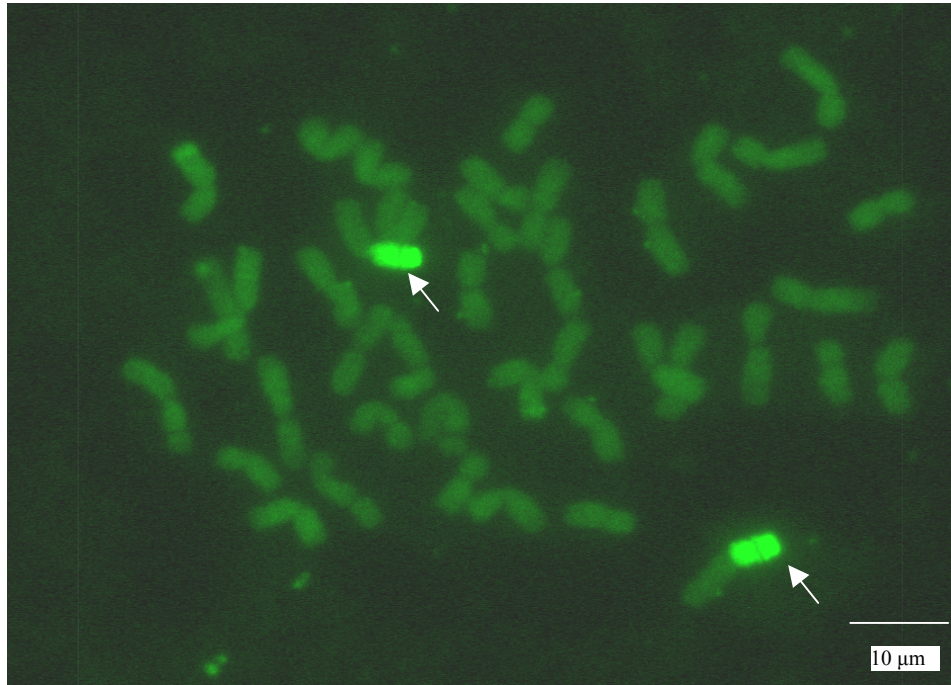
Ez a transzlokáció fordul elő pl. a Vilmorin 27 fajtában (Friebe és Gill, 1994) és az 1RS/1BL transzlokációhoz hasonlóan minden valószínűség szerint úgy jött létre, hogy a meiózis metafázisában az érintett kromoszómák univalens állapotban a centromerennél eltörtek, majd átrendeződve újraegyesültek. A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

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

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

Az 1RS/1BL transzlokáció kimutatása in situ hibridizációval

Néhány olyan fajtán, amelyekben az SDS-PAGE és a Giemsa C-sáv módszerrel a 1RS/1BL transzlokációt ki lehetett mutatni *in situ* hibridizációt végeztünk teljes rozs DNS-sel. Ebbe a körbe bevontuk pl. az egyik legperspektívikusabb martonvásári fajtát az Mv Csárdást is (4. ábra).



4. ábra Az Mv Csárdás szomatikus kromoszómái a mitózis metafázisában genom *in situ* hibridizáció (GISH) után. A GISH eredményeként a rozs kromoszómakarok fluoreszkálnak, a képen világos színűek (fluoregreennel a teljes rozs DNS-t jelöltük). Az ábrákon a nyilak a rozs kromoszómaszegmentumot jelölik

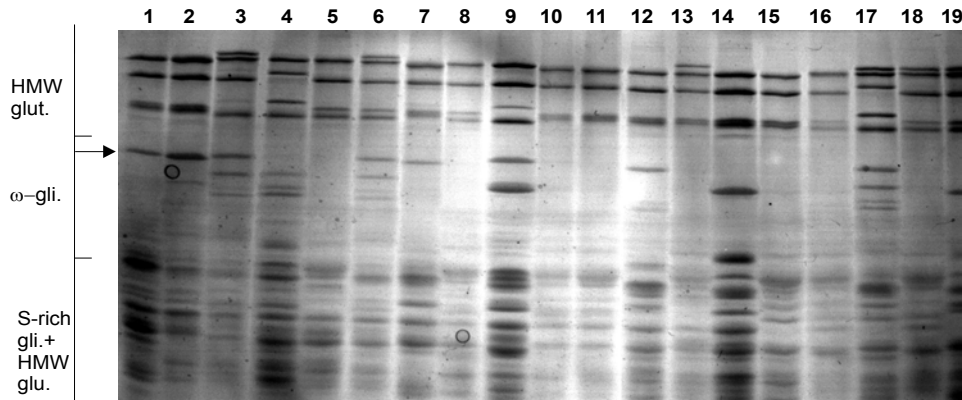
Az IRS/IBL transzlokáció kimutatása SDS-PAGE segítségével

A vizsgálatokba bevont, 1978-1999. között minősített mind a 66 magyar kenyérbúza-fajta és 9 durumbúza-fajta SDS-PAGE elemzését elvégeztük. Kontroll fajtákként az Avrora és Kavkaz fajtákat, mint ismert, transzlokációt hordozó fajtákat és a Chinese Springet, mint a transzlokációt biztosan nem hordozó fajtát használtuk. Az eredmények egy részletét az 5. ábra mutatja.

A bemutatott eredmények alapján megállapítható, hogy az SDS-PAGE, a Giemsa C-sáv technika és a genom *in situ* hibridizáció egyaránt alkalmas az IRS/IBL búza-rozs transzlokáció kimutatására.

Eredményeink szerint az 1978-1999. között minősített 66 magyar búzafajta közül 35, azaz a fajtasortiment 53%-a hordozza az IRS/IBL transzlokációt, míg a vizsgált durumbúza-fajták között nem volt olyan, amelyben a transzlokációt ki lehetett mutatni.

A különböző növényfajoknál időről időre jelentkező veszély valamely kedvező gén vagy génkomplexum nagyarányú feldúsulása a nemesítési anyagokban és a termesztett fajtákban. Erre jó példa az IRS/IBL búza-rozs transzlokáció nagy gyakorisága a termesztett búzafajtákban. Ez a későbbiekben jelentős kockázat forrása lehet.



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

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

A búza/rozs transzlokáció kimutatását a kiválasztott fajták és törzsek esetében C-sávozás módszerével és genom *in situ* hibridizáció segítségével végeztük. A két használt módszer közül a C-sávozás egyszerűbb és jóval kevésbé költséges, továbbá viszonylag gyors. A vizsgálatokat, a csíráztatást is beleszámítva egy héten belül el lehet végezni. Az *in situ* hibridizáció alkalmazása inkább akkor indokolt, ha a transzlokáció méretét is vizsgálni akarjuk. A módszer jóval bonyolultabb és költségesebb, mint a C-sávozás. A vizsgálatot megelőző pedigré analízis lehetővé teszi, hogy a transzlokációt biztosan tartalmazó (minden szülő hordozza) genotípus, ill. a biztosan nem transzlokáns (egyik szülő sem tartalmazza) törzsek költségesebb vizsgálatát ne kelljen elvégezni. A nemesítési anyag genetikai hátterének jobb megismerése nagyban hozzásegít szélesebb genetikai bázisú új populációk létrehozásához. Ennek egyik jele, hogy a 2000-ben minősített martonvásári fajták között olyan fajtával is találkozhatunk, amelyik az 1RS/1AL transzlokációt hordozza. Ez a fajta a Dalma. Az olyan fajta, amelyik ezt a transzlokációt hordozza, értelemszerűen rendelkezik az 1B kromoszóma rövid karján lévő tartalékfehérje-génekekkel, amelyek a minőség szempontjából kedvezőbbek, és hordozza az 1R kromoszóma rövid karján lévő rezisztencia-géneket is.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. *Aegilops cylindrica* Host. × *Triticum aestivum* L. (Chinese Spring, illetve Mv 14) keresztezésekből kiindulva búza/*Ae. cylindrica* diszómás addíciós vonalakat állítottunk elő, amelyekben 2C^c, E^c és F^c *Aegilops cylindrica* kromoszómákat azonosítottunk. A keresztezési program során olyan növényeket azonosítottunk, amelyekben transzlokációs és deléciós búza kromoszómákat lehetett kimutatni. A 44 kromoszómás vonalak közül 16 BC₂F₂ generációban fenn van tartva.

2. Chinese Spring/Cappelle Desprez szubsztitúciós sorozat, továbbá Chinese Spring/*Agropyron elongatum* és Chinese Spring/Imperial rozs diszómás addíciós sorozatok segítségével vizsgáltuk a búza szárazságtűrésének genetikai kontrollját. A CS/CD szubsztitúciós sorozat vizsgálata alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a szárazságtűrés komplex poligénes tulajdonság és a stresszadaptációt szabályozó gének több kromoszómán lokalizáltak. Megállapítottuk, hogy a szárazságtűréssel összefüggő vizsgált tulajdonságok (relatív víztartalom, relatív vízvesztés, szárazság-érzékenységi index valamint a szemtermés) közül legtöbbet a búza esetében az 1A, 5A, 7A, 1B, 4B, 5B, 3D és 5D, az *Agropyron* esetében az 5E és 7E, a rozs esetében az 1R, 3R 4R, 5R és 7R kromoszómákon lévő gének kontrollálnak. Ezek közül szignifikánsan kiugró hatású régiók lokalizálhatók az 5-ös és a 7-es homeológ csoport kromoszómáin.

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

IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- ALI-DIB, T., MONNEVEUX, P. H., ARAUS, J. L. (1990): Breeding durum wheat for drought tolerance. Analytical, synthetical approaches and their connection. In. Wheat breeding, prospects and future approaches. Bulgarian Agricultural Academy, Bulgaria, pp. 224-240.
- ALLARD, R. W. (1988): Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. *J. Hered.*, **79**, 225–238.
- ENDO, T. R. (1988): Induction of chromosomal structural changes by a chromosome of *Aegilops cylindrica* L. in common wheat. *J. Heredity*, **79**, 366–370
- FARSHADFAR, E., GALIBA G., KŐSZEGI B., SUTKA J. (1993): Some aspects of the genetic analysis of drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cer. Res. Commun.*, 21/4, 323-331.
- FRIEBE, B., GILL, B. S. (1994): C-band polymorphism and structural rearrangements detected in common wheat (*Triticum aestivum*). *Euphytica*, **78**, 1–5.
- GALIBA, G., SIMON-SARKADI, L., KOCSY, G., SALGÓ, A., SUTKA, J. (1992): Possible chromosomal location of genes determining the osmoregulation of wheat. *Theor. Appl. Genet.*, **85**, 415–418.
- GALIBA, G., TUBEROSA, R., KOCSY, G., SUTKA, J. (1993): Involvement of chromosomes 5A and 5D in cold-induced abscisic acid accumulation in and frost tolerance of wheat calli. *Plant Breed.*, **110**, 237–242.
- JACKSON, E. A., MORELL, M. H., STROHM, T., BRANLARD, G., METAKOVSKY, E. V., REDAELLI, R. (1996): Proposal for combining the classification systems of alleles of *Gli-1* and *Glu-3* loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Genet & Breed.*, **50**, 321–336.
- PETRÓCZI, I. M. (2000): Öthalmi búzák új generációja: GK Miska és GK Petur. *Gyakorlati Agroforum*. **11/10**. 25.
- READER, S. M., ABBO, S., PURDIE, K. A., KING, I. P., MILLER, T. E. (1994): Direct labelling of plant chromosomes by rapid *in situ* hybridization. *Trends Genet.*, **10**, 265–266.
- SUTKA, J., GALIBA, G., QUARRIE, S. A., VEISZ, O., SNAPE, J. W. (1995): Cytogenetic studies on frost resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Proc. of the workshop on crop adapt. to Cool Climates*, COST 814, 13–14 Oct., Hamburg, Germany.
- SUTKA, J., SNAPE, J. W. (1989): Location of a gene for frost resistance on chromosome 5A of wheat. *Euphytica*, **42**, 41–44.

5. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Lektorált tudományos cikkek:

Kőszegi B., Sutka J. (1990): *Aegilops cylindrica* L. em. Thell. × *Triticum aestivum* L. F₁ hibridek elemzése. Növénytermelés, 39/4, 289-295.

Belea A., **Kőszegi B.**, Kramarikné Kissimon J. (1991): A *Triticum* L. nemzetség evolúciójának néhány kérdése. Növénytermelés, 40/1, 79-87.

Farshadfar, E., Galiba G., **Kőszegi B.**, Sutka J. (1993): Some aspects of the genetic analysis of drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Cer. Res. Commun., 21/4, 323-331.

E. Farshadfar, **B. Kőszegi**, T. Tischner, J. Sutka (1995): Substitution analysis of drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Breeding, 114, 542-544.

J. Sutka, E. Farshadfar, **B. Kőszegi**, B. Friebe, B. S. Gill (1995): Drought tolerance of disomic chromosome additions of *Agropyron elongatum* to *Triticum aestivum* L. Cereal Res. Commun., 23, 351-357.

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

Lángné Molnár Márta, **Kőszegi Béla**, Linc Gabriella, Sutka József (1996): Búza (*Triticum aestivum* L)/*Triticum timopheevii* Zhuk. addíció, szubsztitúció és búza/rozs transzlokáció kimutatása C-sávozással és *in situ* hibridizációval. Növénytermelés, 45, 237-245.

B. Kőszegi, E. Farshadfar, A. Vágújfalvi and J. Sutka (1996): Drought tolerance studies on wheat/rye chromosome addition lines. Acta Agr. Hung., 44, 121-126.

T. Tischner, **B. Kőszegi** and O. Veisz, (1997): Climatic programmes used in Martonvásár phytotron most frequently in recent years. Acta Agr. Hung., 45, 85-104.

T. Tischner, K. Rajkainé Végh, **B. Kőszegi** (1997) Effect of growth medium on the growth of cereals in the phytotron. Acta Agr. Hung. 45. 187-193.

B. Kőszegi, B. Friebe, J. Sutka (1998): Cytogenetic studies on *Triticum aestivum* × *Aegilops cylindrica* hybrids and derivatives. Acta Agr. Hung., 46, 1-7.

Tischner, T., **Kőszegi B.**, Veisz, O., Sutka, J. (1998): A növénynevelés környezeti kontrolljának jellemzői a martonvásári fitotronban. Növénytermelés, 47, 87-96.

Tischner, T., Végh R., K., **Kőszegi B.**, Rajkai, K. (1998): Talajkomponensek hatásának vizsgálata kalászos gabonák fitotroni felnevelésénél. Növénytermelés, 47, 339-346.

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

Impakt faktor: 1.876

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

Nemzetközi konferenciák kiadványai

J. Sutka, G. Kovács, G. Galiba, **B. Kőszegi** (1988): Substitution analysis of frost resistance in wheat callus culture. Proc. 7th Int. Wheat Gen. Symp., Cambridge, pp. 891-894.

J. Sutka, A. Belea, L. Láng, L.C. Marton, J. Kramarik, **B. Kőszegi** (1994): The Cereal Gene Bank in Martonvásár. "Global Genetic Resources" International Scientific Conference, August 9-11, St.Petersburg, Russia

J. Sutka, A. Vágújfalvi, **B. Kőszegi**, G. Galiba (1997): Inheritance of frost resistance and drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Proc. of the Latv. Acad. Sci., 51. 33-38.

O. Veisz, **B. Kőszegi**, J. Sutka, T. Tischner (1997): Climatic programmes used for frost testing of cereals in the Martonvásár phytotron. In: Proceeding of the International Symposium on Cereal adaptation to low temperature stress in controlled environment. June 2-4, Martonvásár, Hungary, pp. 302-306.

Linc, G., B. R. Friebe, R. G. Kynast, M. Molnár-Láng, **B. Kőszegi**, J. Sutka, B. Gill (1999): Genome differentiation in *Aegilops cylindrica* Host. In: Proc. Plant and Animal Genome VI. January 18-22, 1998, San Diego, CA USA, p. 106 (poszter)

Egyéb publikációk

J. Sutka, B. Barnabás, G. Kovács, O. Veisz, L. Sági, É. Szakács, **B. Kőszegi**, G. Galiba (1987): Genetic studies and tissue culture. Ann. Wheat Newslett. 33, 55.

Kőszegi B., Sutka J. (1988): Chromosome identification in cereals. Abstr. of the 18th Congr. of the Hung. Biol Soc., Keszthely, 64.

J. Sutka, **B. Kőszegi**, B. Barnabás, G. Kovács, G. Galiba, O. Veisz, M. Molnár-Láng, L. Sági, É. Szakács (1988): Genetic studies and tissue culture. Ann. Wheat Newslett., 34.

Sutka J. **Kőszegi B.** (1990): Citogenetikai kutatások intézetünkben. Martonvásár, 1990/1., 13-14.

J. Sutka, M. Molnár-Láng, O. Veisz, **B. Kőszegi** (1992): Intervarietal substitutions - alien additions - genetic analysis. EWAC Newslett., 54-57.

Kőszegi B., Belea A., Lángné Molnár M., Láng L., Sutka J. (1993): A Martonvásári Gabona Génbank. XXXV. Georgikon Napok, Keszthely, pp. 543-547.

Belea, A., **Kőszegi, B.**, Kramarikné-Kissimon, J. (1993): Génbank a genetikusok és a nemesítők szolgálatában. Martonvásár, 93/2, 13-14.

J. Sutka, Molnár-Láng M., Galiba G., and **Kőszegi B.** (1993): Genetic studies. Ann. Wheat Newslett., 39, 165-166.

Farshadfar Mohsen, Lángné Molnár Márta, **Kőszegi Béla**, Sutka József (1994): *Triticum timopheevii* × *Triticum aestivum* hibridek előállítása és citogenetikai jellemzése. Növénynemesítési Tudományos Napok 1993. MTA Budapest, január 11-12., Abstract, 97.

Farshadfar, E., Galiba, G., **Kőszegi B.**, Sutka, J.: (1994) A búza szárazságtűrésének genetikai variabilitása. Növénynemesítési Tudományos Napok '93., Bp. 1994. jan. 11-12., 95.

Sutka, J., Galiba, G. Molnár-Láng, M., **Kőszegi, B.** E. Farshadfar, M. Farshadfar, O. Veisz, G. Linc: (1994) Genetic studies. Ann. Wheat Newslett., 40, 123.

E. Farshadfar, **B. Kőszegi**, J. Sutka (1994): Chromosome substitution analysis of drought tolerance indicators in wheat. Magyar Genetikusok Egyesületének III. konferenciája, Debrecen, dec. 8-9. Abstract, 116.

J. Sutka, M. Molnár-Láng, G. Galiba, **B. Kőszegi**, E. Farshadfar, O. Veisz, M. Farshadfar (1995): Cytogenetic research at Martonvásár with special reference to frost resistance and drought tolerance in wheat. EWAC Newslett.

Sutka J., G. Galiba, M. Molnár-Láng, **B. Kőszegi**, E. Farshadfar, M. Farshadfar O. Veisz, G. Linc: (1994) Genetic studies. Annual Wheat Newslett., 40, 123.

Sutka J., Farshadfar E., **Kőszegi B.** (1995): A búza szárazságtűrésének javítása fajidegen kromoszóma addíció segítségével. II. Növénynemesítési Tudományos Napok, Bp. 1995. jan. 16-17., 32.

J. Sutka, G. Galiba, A. Vágújfalvi, B. Kőszegi, J. W. Snape (1997): Genes for frost resistance and drought tolerance on chromosome 5A in wheat (*Triticum aestivum* L.) EWAC Newslett., 1997

Lángné Molnár, M., G. Linc, **B. Kőszegi**, E. D.Nagy, J. Sutka (1999) Idegen fajú kromoszómák és kromoszóma-szegmentumok beépítése a búzába és kimutatásuk molekuláris citogenetikai módszerekkel. Martonvásár 50 éves, 1999. június 2-3, Martonvásár.