

**XX. Növénynevelési Tudományos Nap**  
(2014. március 18.)

**Növénynevelés a megújuló mezőgazdaságban**

*A Szervező Bizottság tagjai:*

Bedó Zoltán  
Bóna Lajos  
Heszky László  
Kertész Zoltán  
Matuz János  
Veisz Ottó

*A kötetben megjelent tudományos dolgozatok lektoráltak.*

ISBN: 978-963-8351-42-5

*Kiadja:*

A Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományok Osztályának  
Növénynevelési Tudományos Bizottsága

*Felelős szerkesztő:*

Veisz Ottó

A könyv anyaga nem másolható a kiadó írásos engedélye nélkül.

# Növénynevelés a megújuló mezőgazdaságban

XX. Növénynevelési Tudományos Nap  
Budapest, 2014. március 18.

*Triticum timococcum*: VAD FAJOK EGYIDEJŰ KIAKNÁZÁSA  
A BÚZANEMESÍTÉSBEN

MIKÓ PÉTER, MEGYERI MÁRIA, MOLNÁR ISTVÁN, LÁNGNÉ MOLNÁR MÁRTA

MTA Agrártudományi Kutatóközpont Mezőgazdasági Intézet, Martonvásár

A rokon vad fajok bevonásával javítható a búza betegségellenállósága és alkalmazkodóképessége az előnevelés során. A *Triticum timopheevii* Zhuk., mint lehetséges génforrás alkalmazhatóságát a *Triticum monococcum* L.-mal előállított hibrid felhasználásával vizsgáljuk, mivel mindkét faj kiemelkedő rezisztenciával rendelkezik a búza legfontosabb gombabetegségeivel szemben. A Martonvásári Gabona Génbankban tárolt 56 *T. timopheevii* tétel részletes jellemzését követően választottuk ki azt a genotípust (MVGB845), amellyel a már korábban, Martonvásáron előnevelített féltörpe *T. monococcum* vonalat (1T-1) keresztezve mesterségesen elő tudunk állítani egy új hexaploid fajt, a *Triticum timococcum*-ot. Az új szintetikus amphiploidban molekuláris citogenetikai módszerekkel (FISH, mcGISH) mindkét szülőpartner genomját kimutattuk. Kidolgoztuk a szülői kariotípusokat, melyek segítségével a két faj kromoszómái nagy biztonsággal elkülöníthetők egymástól. Az általános morfológiai vizsgálat mellett végzett rezisztencia vizsgálat az amphiploid nagyfokú betegségellenállóságát igazolta.

**Kulcsszavak:** *Triticum timococcum*, szintetikus amphiploid, *in situ* hibridizáció, búza előnevelés

*Triticum timococcum*: SIMULTANEOUS UTILIZATION OF WILD  
RELATIVES IN WHEAT BREEDING

P. MIKÓ, M. MEGYERI, I. MOLNÁR, M. MOLNÁR-LÁNG

Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research  
Hungarian Academy of Sciences, Martonvásár

One possible way to improve the resistance and adaptability of bread wheat is the utilization of its wild relatives in prebreeding. The present study is focusing on the simultaneous utilization of *Triticum timopheevii* Zhuk. and *Triticum monococcum* L. through their hybrid, because both of them have outstanding resistance to the main wheat fungal diseases. The detailed description of the 56 *T. timopheevii* accessions preserved in the Martonvásár Cereal Gene Bank led to the selection of one accession (MVGB845) and made it possible to create a new hexaploid species, *Triticum timococcum* after crossing it with a semi-dwarf *T. monococcum* line (1T-1) prebred earlier in Martonvásár. The verification of the presence of the parental genomes in the new synthetic amphiploid was successfully carried out by molecular cytogenetic methods (FISH, mcGISH). As a result of this work, karyotypes were also developed and the chromosomes of the parental genomes could be securely distinguished from each other with their help. Besides the common morphologic assessments, disease resistance of the amphiploid was also examined and was proved to be excellent.

**Key words:** *Triticum timococcum*, synthetic amphiploid, *in situ* hybridisation, bread wheat prebreeding

## Bevezetés

A búzával (*Triticum aestivum* L.) közeli rokonságban álló fajok számos rezisztenciagént hordoznak, melyeket eddig is nagy sikerrel hasznosítottak a búzanemesítésben. Azonban a hexaploid búzanemesítési bázis diverzitásának további növelésére egyéb rokon fajokat, illetve azok kombinációit is szükséges bevonni. Az egyik ilyen ígéretes tetraploid rokon faj a *Triticum timopheevii* Zhuk. ( $2n=4x=28$ ,  $A^1A^1GG$ ), mely számos rezisztencia génnel rendelkezik a búza fontosabb gomba kórokozói ellen (lisztharmat, levélrozsdá, szárrozsdá, porüszög) (Järve *et al.* 2002). Ezek mellett a faj szárazságtűrése is kiemelkedő.

A legtöbb nemesítő eddig közvetlen génátvitelt alkalmazott a *T. timopheevii* és a búza között (Peusha *et al.* 1996). Azonban egy köztes hexaploid hibrid beiktatásával (bridge-keresztelés) nemcsak a kromoszómapárosodást tehetjük hatékonyabbá az azonos ploidszint miatt, hanem a hibrid másik szülőjét adó diploid faj hasznos génjeit is kiaknázzhatjuk (Mujeeb-Kazi és Rajaram 2002). A *T. timopheevii* egyik lehetséges diploid keresztelési partnere a *Triticum monococcum* L. ( $2n=2x=14$ ,  $A^m A^m$ ), mely számos rezisztencia gént hordoz, és kiemelkedő minőségi (magas tokol és karotin tartalom), morfológiai (féltörpe típusa is van) és agronómiai (télállóság, allelopátia) tulajdonságokkal rendelkezik, amely szintén beépíthető a búzába (Megyeri *et al.* 2011). A *T. timopheevii* × *T. monococcum* hexaploid hibridet először Kostov állította elő, ezért ez a kombináció a *Triticum timococcum* Kost. nevet kapta (Goncharov *et al.* 2009).

Kutatásunk elsődleges célja a *T. timococcum* ismételt előállítására olyan szülői genotípusok felhasználásával, amelyek tervszerű előnemesítésen estek át, így hozva létre egy teljesen új genotípusát ennek a szintetikus hibridnek. Ahhoz, hogy a keresztelések sikerességét és a kromoszómák átrendeződését követni tudjuk, molekuláris citogenetikai módszereket használunk, melynek első lépéseként a 3 genom kariotípusának kidolgozását végeztük el.

## Anyag és módszer

Összesen 56 *Triticum timopheevii* Zhuk. génbanki tételt (MVGB) vizsgáltunk a Martonvásár Gabona Génbankban: az alapfaj mellett 2 alfaj (ssp. *timopheevii* [a f. *militinae* alkategóriája külön csoportot alkot]; ssp. *armeniicum* [régebben *T. araraticum* Jakubz.]) és ezek 8 változatának (var.) több tételét jellemeztük.

A *Triticum timococcum* apai szülőjét adó, előnemesített, féltörpe alakor törzset (*T. monococcum* L. ssp. *monococcum* 1T-1) Martonvásáron állították elő (Kovács *et al.* 2012).

A keresztelhetőségi vizsgálat után kiválasztott *T. timopheevii* génbanki tétel és az 1T-1 alakor hibridjének genomját kolhicinnel dupláztuk meg, ezért a továbbiakban a hexaploid *T. timococcum* C<sub>2</sub> (az F<sub>1</sub> növények utódai) és C<sub>3</sub> generációja szerepel. A betegségrezisztencia vizsgálata során egy érzékeny őszi búzafajtát, az Mv Emesét használtuk kontrollként, míg a háromleveles állapotú növények fitotroni mesterséges rozsdafertőzésénél az Alcedo fajtát.

A molekuláris citogenetikai vizsgálatoknál használt teljes genomi DNS-t a *Triticum urartu* Tumanian ex Gandilyan – MVGB115 (A genom) és az *Aegilops speltoides* Tausch – MVGB905 (S genom, a G genom őse) génbanki tételek leveleiből vontuk ki.

## VAD FAJOK SZIMULTÁN HASZNÁLATA A BÚZANEMESÍTÉSSEN

A génbanki tételek részletes, 12 évre kiterjedő fenológiai és agronómiai jellemzése eredményeként a martonvásári tenyészertben gyűjtött adatokat elemeztük. Felvételeztük a tételek növekedési típusát, növekedési formáját, kalászos és virágzási idejét, növénymagasságát, valamint az ezerszem tömegét és betegségellenállóságát (lisztharmat, levélrozsda, sárgarozsda és vírusfertőzés). Ezen tulajdonságokra (valamint kalászmorfológiai jellemzőkre) megvizsgáltuk a *T. timococcum* különböző generációit is szántóföldi és fitotroni körülmények között.

A molekuláris citogenetikai vizsgálatok során gyökércsúcsi metafázisos sejtek kromoszómapreparátumain végeztünk fluoreszcens *in situ* hibridizációt (multicolour FISH és GISH) Molnár és mtsai. (2009) leírása alapján. A FISH minták (Afa-family, pSc119.2, pTa71 repetitív DNS próbák) detektálását követő mosási eljárás után a már lefotózott sejteket újrhibridizáltuk a *T. urartu* (zöld: biotin-16-dUTP) és az *Ae. speltoides* (vörös: digoxigenin-11-dUTP) különböző színnel (nick translációval) jelölt teljes genomi DNS próbáival (mcGISH). Blokkolóként jelöletlen S genomi DNS-t használtunk a próbák 50-szeres mennyiségében. Az *in situ* hibridizációt (FISH vagy mcGISH) követő detektálás után a preparátumokat Zeiss AxioImager.M2 fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk (100× objektív), a fényképeket az AxioVision 4.8.2 számítógépes programmal értékeltük ki. A *T. timopheevii* és a *T. monococcum* A genomjának elkülönítése Megyeri és mtsai. (2012) eredményein alapult, míg a G kromoszómák egyenkénti azonosítását Uhrin és mtsai. (2012) eredményei segítették.

### Eredmények és következtetések

A szántóföldi felvételezések során gyűjtött adatok kiértékelése alapján megállapítható, hogy az alapfajhoz és a ssp. *timopheevii* alfajhoz tartozó 38 génbanki tétel élesen elkülönült a ssp. *armeniicum* alfajhoz tartozó 18 tételtől. Ez utóbbi genotípusok viszonylag korai kalászosulásúak, azonban fogékonyabbak a betegségekre, elterülő növekedésűek és alacsonyabb ezerszem tömeggel rendelkeznek, melynek következtében hasznosításuk a búzanevelésben kisebb hatékonysággal vihető véghez. Mivel a keresztezési partnernek szánt 1T-1 alkalor törzs 10-14 nappal korábban kalászosul, mint a *T. timopheevii* tételek többsége, ezért az első csoportba tartozó 38 génbanki tétel közül a legkorábban kalászosuló 11 *T. timopheevii* tételt választottuk ki a további keresztezhetőségi vizsgálathoz. Ennek eredménye alapján választottuk ki azt a genotípust (*T. timopheevii* Zhuk. var. *rubiginosum*, MVGB845), mely segítségével létrehoztuk az új szintetikus amfiploid fajt (1. táblázat).

1. táblázat *Triticum timococcum* kialakításának és termékenyülésének eredménye

Keresztezési kombináció		Alap-keresztelés szemkötése (%)	Hibrid szemek csírázási erélye (%)	Kolhici-nezés előtti növény-szám (F <sub>1</sub> )	Kolhici-nezés utáni növény-szám (C <sub>1</sub> )	Kolhici-nezési mortalitás (%)	Izolált C <sub>1</sub> kalászosok száma	C <sub>2</sub> szemek száma	izolált C <sub>1</sub> növények szemkötése (%)
anya (♀)	apa (♂)								
<i>Triticum timopheevii</i> var. <i>rubiginosum</i> (MVGB845)	<i>Triticum mon. ssp. mon.</i> '1T-1'	13,3	91,1	173	140	19,08	948	1497	4,18

Az új amfiploid morfológiai tulajdonságai többségére az intermedier jelleg a jellemző, azonban növénymagasságban, szőrözöttségben az anyai szülőhöz hasonlított. A szüleinél hosszabb és lazább kalászokat fejlesztett, de intermedier jellege így is megmaradt (1. ábra). A kísérlet során az amfiploid fakultatív jellegét is bizonyítottuk, mivel őszi és tavaszi vetésben is kikalászolt.

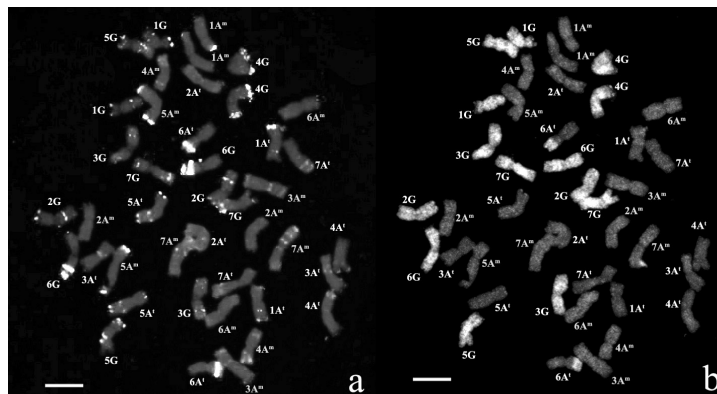
A *T. timococcum*-on végzett mesterséges levélrozsdá-fertőzés eredménye igazolta, hogy az amfiploid (csakúgy, mint a szülei) nagymértékben rezisztens a kontrollhoz képest. A szántóföldi megfigyelések alapján a lisztharmat és a sárgarozsda sem tudta megfertőzni.

A *T. timococcum* C<sub>2</sub> utódain végzett FISH kiértékelését nagyban segítették a szülők sejtjeiből készített kariotípusok, melyek alapján sikeresen azonosítottuk be az új amfiploid kromoszómáit. Megállapítottuk, hogy a vizsgált amfiploid mindkét szülő teljes genomját tartalmazza (összesen 42 kromoszómát). A FISH-t követően végzett multicolour genomi *in situ* hibridizáció (mcGISH) paramétereinek beállítása eredményes volt, így az azonos *T. timococcum* sejten végzett mcGISH által vizuálisan is elkülöníthetővé vált a G genom a kétféle A genomtól. Továbbá ezzel az eljárással sikerült kimutatni, hogy a *T. timopheevii*-re általánosan jellemző transzlokációk (6A<sup>1</sup>S/1GS és 4GS/4A<sup>1</sup>L) az amfiploidban is jelen vannak (2. ábra).

Az előállított hexaploid *Triticum timococcum* (2n=6x=42, A<sup>1</sup>A<sup>1</sup>GGA<sup>m</sup>A<sup>m</sup>) bevonásával egy új előnemesítési program vette kezdetét, melynek során a búzába tervezünk beépíteni rezisztenciáért felelős géneket.



1. ábra *Triticum monococcum* 1T-1 (balra), *T. timococcum* (középen) és *T. timopheevii* MVGB845 (jobbra) kifejlett egyedei (a) és kalásza (b)



2. ábra *Triticum timococcum* C<sub>2</sub> sejt mitotikus kromoszómáinak FISH (a) és mcGISH (b) fluoreszcens mintázata. Élénk színnel a pSc119.2 és pTa71 mintázat (a), valamint a G genom kromoszómái (b), míg halványabban az Afa-family mintázat (a) és az A genomok kromoszómái (b) láthatók (skála=10 µm)

### Köszönetnyilvánítás

A kutatásokat az NKTH (TECH-08-A3/2-2008-0397 - CONFU\_08 és OM00363 - ALKOBEEER) valamint az EU FP7 (KBBE 245058 – SOLIBAM [továbbá annak kiegészítő pályázata: EU\_BONUS\_12-1-2012-0032]) konzorciális pályázatok segítségével végeztük.

### Irodalom

- Goncharov, N. P., Golovkina, K. A., Kondratenko, E. Y. (2009): Taxonomy and molecular phylogeny of natural and artificial species. *Breed. Sci.*, **59**, 492-498.
- Järve, K., Jakobson, I., Enno, T. (2002): Tetraploid wheat species *Triticum timopheevii* and *Triticum militinae* in common wheat improvement. *Acta Agron. Hung.*, **50**, 463-477.
- Kovács, G., Megyeri, M., Mikó, P., Rakszegi, M., Láng, L. (2012): Organic breeding of einkorn (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum*): Development of semi-dwarf variety and its possible use in evolutionary plant breeding. *EUCARPIA 19<sup>th</sup> General Congress*, Budapest, pp 444.
- 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 Agron. Hung.*, **60**, 87-95.
- Megyeri, M., Mikó, P., Molnár, I., Kovács, G. (2011): Development of synthetic amphiploids based on *Triticum turgidum* × *T. monococcum* crosses to improve the adaptability of cereals. *Acta Agron. Hung.*, **59**, 267-274.
- Molnár, I., Benavente, E., Molnár-Láng, M. (2009): Detection of intergenomic chromosome rearrangements in irradiated *Triticum aestivum/Aegilops biuncialis* amphiploids by multicolour genomic *in situ* hybridization. *Genome*, **52**, 156–165.
- Mujeeb-Kazi, A., Rajaram, S. (2002): Transferring alien genes from related species and genera for wheat improvement. *FAO Plant Production and Protection Series*, 30.
- Peusha, H. O., Enno, T. M., Priilinn, O. (1996): Genetic analysis of disease resistance in wheat hybrids, derivatives of *Triticum timopheevii* and *Triticum militinae*. *Acta. Agron. Hung.*, **44**, 237-244.
- Uhrin, A., Szakács, É., Láng, L., Bedő, Z., Molnár-Láng, M. (2012): Molecular cytogenetic characterization and SSR marker analysis of a leaf rust resistant wheat line carrying a 6G(6B) substitution from *Triticum timopheevii* (Zhuk.). *Euphytica*, **186**, 45-55.