

Szent István Egyetem
Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Genetika és Biotechnológiai Intézet

**EURÓPAI BÚZAFAJTÁK LEVÉLROZSDA ELLENÁLLÓSÁGÁNAK GENETIKAI
JELLEMZÉSE MOLEKULÁRIS MARKEREKKEL**

Készítette: Kapás Mariann
Évfolyam: Mezőgazdasági biotechnológus MSc II. évfolyam

Belső konzulens: Dr. Kiss Erzsébet
Beosztása: egyetemi tanár

Külső konzulens: Dr. Purnhauser László
Beosztása: osztályvezető

Gödöllő
2014

1. TARTALOMJEGYZÉK

1.	TARTALOMJEGYZÉK	2
2.	BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	3
3.	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
3.1.	Búza levélrozsdá jelentősége a világban és hazánkban.....	4
3.2.	A búza-rozsdá kölcsönhatás genetikai háttere	5
3.2.1.	A levélrozsdá rezisztenciagének	5
3.2.2.	A búza válaszreakciói a levélrozsdá fertőzésre	8
3.3.	A levélrozsdá elleni védekezés	10
3.3.1.	Vegyszeres növényvédelem	10
3.3.2.	Rezisztencianemesítés	10
3.3.2.1.	<i>Hagyományos rezisztencianemesítés</i>	10
3.3.2.2.	<i>Molekuláris növénynemesítés</i>	11
3.3.3.	Markerekre alapozott szelekció, markerekre alapozott növénynemesítés	12
3.3.4.	Molekuláris markerek	14
3.3.4.1.	<i>Molekuláris markerek fogalma</i>	14
3.3.4.2.	<i>A molekuláris markerek típusai, különös tekintettel munkánk során felhasznált markerekre</i>	15
4.	MÓDSZEREK	18
4.1.	Felhasznált növényanyag	18
4.1.1.	CORNET pályázat.....	19
4.1.2.	BIOCEREAL pályázat	19
4.2.	DNS izolálás.....	19
4.2.1.	Az izolált DNS mennyiségének becslése	20
4.3.	A vizsgált gének azonosítása molekuláris markerekkel	20
4.3.1.	Az <i>Lr14a</i> gén azonosítása molekuláris markerekkel	20
4.3.2.	Az <i>Lr16</i> gén azonosítása molekuláris markerekkel	21
4.3.3.	Az <i>Lr26</i> gén azonosítása molekuláris markerekkel	22
4.3.4.	Az <i>Lr34</i> gén azonosítása molekuláris markerekkel	22
4.3.5.	Az <i>Lr37</i> gén azonosítása molekuláris markerekkel	23
5.	EREDMÉNYEK	24
5.1.	Azonosított <i>Lr</i> gének és gyakoriságuk a vizsgált búza fajtákban	24
5.2.	A magyar, szerb és nyugat-európai nemesítő központok jellemzése fajtáik <i>Lr</i> géntartalma alapján.....	27
5.3.	A fajták jellemzése levélrozsdá rezisztenciagének gyakorisága alapján.....	28
6.	ÉRTÉKELES ÉS KÖVETKEZTETÉSEK	30
7.	ÖSSZEFOGLALÁS.....	35
8.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	37
9.	IRODALOMJEGYZÉK.....	38
10.	NYILATKOZAT	44

2. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A közönséges búza (*Triticum aestivum* L.) legjelentősebb betegségei közé tartoznak a rozsdagombák. Hazánkban a levélrozsdá (*Puccinia tritica* Erikss.) a leggyakoribb rozsdakórokozó (VIDA *et al.* 2009). Minden évben előfordulhat, a fogékony fajtákban akár 50 %-os termésvesztést is okozhat (MCINTOSH *et al.* 1995, PURNHAUSER & CSŐSZ 2013). A vegyszeres növényvédelem a termelési költség 15 %-ára tehető (PURNHAUSER 2006), ami nemcsak drága, de a fungicidek használata élelmezés-egészségügyi és környezetvédelmi szempontból is kockázatot jelent. A rezisztens fajták termesztésével költséghatékonyan állíthatunk elő egészséges élelmiszert. A betegségellenállóság hátterében a búza genomjában található rezisztenciagének állnak. Az optimális genetikai védelem kialakítását megkönnyíti ha ismerjük, hogy a gazdaságilag jelentős fajták milyen rezisztenciagénekkel rendelkeznek.

A rezisztenciagének meghatározása hagyományos mesterséges fertőzéses módszerrel rendkívül időigényes és nehéz feladat. Molekuláris markerek alkalmazásával ezek a hátrányok kiküszöbölhetővé válnak (TAR 2012). A nemesítők munkáját nagyban segíti, hogy mára több mint 70 levélrozsdá rezisztenciagént (*Lr* gént) írtak le (MCINTOSH *et al.* 2013) és e gének nagy része molekuláris markerekkel jól azonosítható.

2013 májusában csatlakoztam a Gabonakutató Nonprofit Kft. Molekuláris Genetika Osztályának kutatómunkájához, melynek fő feladata búzafajták rezisztenciagénjeinek markerekkel való azonosítása, és a rezisztenciagének átvitele fogékony fajtákba és törzsekbe markerekre alapozott szelekcióval.

Munkánk során a következő célokat fogalmaztuk meg:

1. A kiválasztott 10 hazai és 39 külföldi búzafajta levélrozsdá ellenállóságának genetikai jellemzése molekuláris markerekkel.
2. Öt levélrozsdá rezisztenciagén jelenlétének felmérése ezen fajtákban molekuláris markerekkel.
3. A genetikai diverzitás felmérése és összevetése a szegedi, az újvidéki és a nyugat-európai búzafajták körében.
4. Az egyes nemesítő központok jellemzése az általuk felhasznált levélrozsdá rezisztenciagének tükrében.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. Búza levélrozsa jelentősége a világban és hazánkban

A búza levélrozsa (nevezik még vörösrozsdának, vagy az angol irodalomban barnarozsdának) (*Puccinia. recondita* Rob. Ex Desm. f. sp. *tritici*, vagy *P. triticina* Erikss.) a búza egyik legfontosabb biotróf kórokozója világszerte. Általános elterjedtségét magyarázza, hogy a búza termesztéséhez szükséges környezeti tényezők kedvezőek számára (SINGH *et al.* 2002), emellett spóráit a szél kontinenseken át képes szállítani. Ha a gomba számára megfelelő, 15-25 °C közötti párás meleg az időjárás, akkor a gomba gyorsan szaporodik és már virágzás előtt fertőzi a zászlós levelet, ami járvány kialakulásához vezet fogékony fajták termesztése esetén (CHESTER 1946). Epidémia következtében a termésveszteség akár az 50 %-ot is elérheti (PURNHAUSER & CSÖSZ 2013).

Hazánkban a három gabonarozsa faj közül (levélrozsdán kívül a szár- és a sárgarozsa) a levélrozsa a leggyakoribb (VIDA *et al.* 2009). Szinte minden évben megjelenik, ami főként a fajták érzékenységének és az időjárási körülményeknek a függvénye (CSÖSZ 2014). Epidémia minden tíz évből átlagosan négy évben lép fel, ráadásul a járványos évek eloszlása is egyenlőtlen, ami nehezíti a megfelelő védekezés kialakítását. A legutolsó nagy járvány Magyarországon 2010-ben tört ki (1. táblázat).

1. táblázat: Levélrozsa járványok Magyarországon (SZUNICS *et al.* 2000, CSÖSZ 2007, CSÖSZ közöletlen adatok nyomán)



A levélrozsa fontosságát tovább növeli, hogy rasszspektruma rendkívül széles és változékony, ezért egy rezisztens fajta néhány év alatt fogékonnyá válhat (SIBIKEEV *et al.* 1996). Észak-Amerikában például évente 40-60 új rasszt azonosítanak (KOLMER 2005). Az új patotípusok megjelenése egy adott területen a mutációknak, valamint fajtaváltás esetén az addig gyéren előforduló rasszok gyors felszaporodásának köszönhető. A rezisztencianemesítést nagyban segíti a búza levélrozsa rassz összetételének és virulenciájának nyomon követése; hazánkban az MTA Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézetében végeznek ilyen vizsgálatokat (VIDA *et al.* 1999).

A gabonarozsda jelentőségénél fogva világszinten nemzetközi együttműködések alakultak ki a hatékonyabb védekezés érdekében. Nemzetközi konzorciumra példa a Borlaug Global Rust Initiative (BGRI), melyet az ICAR (Indian Council of Agricultural Research), az ICARDA (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas), a CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center), az UN-FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations) és a Cornell Egyetem 2008-ban alapított meg. Több száz nemzetközi intézet több mint ezer kutatójának közös célja a búza termékenységeinek növelésével a világélelmezés biztonságának növelése. Ennek megvalósulása érdekében a BGRI egy olyan globális kommunikációs hálózatot tart fenn, aminek feladata a rozsdafajok monitorozása, rezisztenciagének felfedezése, teszt módszerek fejlesztése, ellenálló fajták honosítása és K + F tevékenységek. Ezt olyan források és projektek által valósítja meg, mint a DRRW (Durable Rust Resistance in Wheat), GRRC (Global Rust Reference Center), MAS Wheat, Rust Tracker, vagy a Wheat Atlas ([http1](http://1)).

Az Euro Wheat Project egy olyan internetes felület, ami a búza integrált növényvédelmét segíti elő európai országok növényvédelmi gyakorlatának bemutatásával és szaktanácsadók, növénytermesztők informálásával. Hazánkban a Szent István Egyetem az Euro Wheat partnerintézete (JØRGENSEN *et al.* 2010).

A hazai búzanemesítés és -kutatás összehangolását tűzte ki célul a „Búza-konzorcium” 2001 és 2004 között „A hazai nemesítésű búzák adaptációs képességének és termésbiztonságának javítása” című K+F program keretein belül (DUDITS 2005). A 11 partnerintézet a genetikai, élettani, kórtani alapismeretekről és a nemesítési módszerek fejlesztéséről rendszeresen szakmai egyeztetéseket tartott, ami nagyban segítette az új rezisztens búzafajták előállítását és elterjedését. Eredményei közé sorolandó a funkcionális genomikai kutatások beindítása és az új génbeépítési rendszerek kifejlesztése mellett a rozsdarezisztencia gének azonosításához szükséges markerek fejlesztése (DUDITS 2005).

3.2. A búza-rozsda kölcsönhatás genetikai háttere

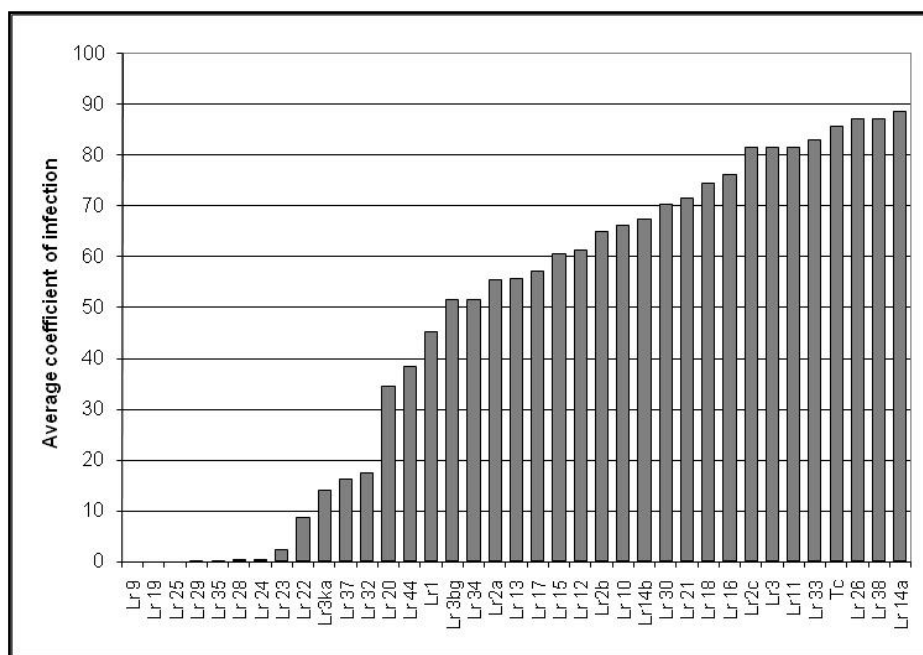
3.2.1. A levélrozsda rezisztenciagének

Egy adott búza növény reakcióját a levélrozsda fertőzéssel szemben a növény genomjában található rezisztenciagének határozzák meg. A rezisztenciagén fenotípusos expresszációja függ a növény–gomba kölcsönhatástól, a hőmérséklettől, a növény fejlődési fázisától, valamint a rezisztenciagén–szupresszor, rezisztenciagén–rezisztenciagén kölcsönhatásoktól

(KOLMER 1996). Ma már több mint 70 levélrozsdaszisztenciagént (*Lr* gén) írtak le, melyek egy részét térképezték is a búza kromoszómáin (MCINTOSH *et al.* 2013).

A legtöbb gén a közönséges búzából (*Triticum aestivum*) származik (*Lr1*, *Lr2*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr11*, *Lr12*, *Lr13*, *Lr14*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr20*, *Lr27*, *Lr30*, *Lr31*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr68*), de vannak gének, melyek a búza más rokonfajaiból (*T. umbellulatum*: *Lr9*; *T. timopheevii*: *Lr18*; *T. tauschii*: *Lr21*, *Lr22*, *Lr32*, *Lr41*, *Lr42*, *Lr43*; *T. ventricosum*: *Lr37*; *T. speltoides*: *Lr28*, *Lr35*, *Lr36*, *Lr71*; *Thinopyrum ponticum*: *Lr19*, *Lr24*, *Lr29*; *Thinopyrum intermedium*: *Lr38*; *Secale cereale*: *Lr25*, *Lr26*) kerültek át keresztezéssel egy-egy búzafajtába (MCINTOSH *et al.* 1995, HERRERA-FOESSEL *et al.* 2012, SINGH *et al.* 2013), majd azokon keresztül a világ számos más búzafajtájába. Legutóbb az *Lr71* rezisztenciagén azonosítása és térképezése történt meg 2013-ban (SINGH *et al.* 2013).

A levélrozsdaszisztenciagének miatt a rezisztenciagének nem egyforma védelmet biztosítanak, számos *Lr* gén elvesztette hatásosságát az évek alatt (KOLMER 1989). Vida és mtsai (2011) mesterséges inokulációval hét éven át vizsgálták egyes *Lr* gének hatékonyságát, és azt találták, hogy kitűnő rezisztenciát az *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr29* és *Lr35* gén biztosít (1. ábra). Az *Lr37* gén közepesen hatékony génnek számít. Jelentős azoknak az *Lr* géneknek a száma, amelyek mára teljesen elvesztették hatékonyságukat (pl. *Lr14a*, *Lr26* és *Lr38*) (VIDA *et al.* 2011).



1. ábra. 'Thatcher'-alapú közel-izogén vonalak levélrozsdaszisztenciája (Tc a 'Thatcher' kontroll fajta). Martonvásár, 2004-2010 (VIDA *et al.* 2011).

Munkánk során öt levélrozsa rezisztenciagént (*Lr14a*, *Lr16*, *Lr26*, *Lr34* és *Lr37*) azonosítottunk. Az *Lr14a* rezisztenciagént McIntosh és mtsai fedezték fel (1967): a gén a búza 7BL kromoszómáján található a *Pm5* lisztharmat rezisztenciagénnel, valamint az *Sr17* szárrozsa rezisztenciagénnel kapcsoltn. A gén maga a tetraploid kétszemű tönkebúza (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides*) 'Yaroslav' fajtájából származik (MCFADDEN 1930), forrásai még a 'Hope', a 'H-44' fajták és azok leszármazottjai (MCINTOSH *et al.* 1967). 1970-ben írták le a gén két allélját (DYCK & SAMBORSKI 1970). Sajnálatosan a gén mára hatástalanná vált.

Az *Lr16* rezisztenciagént először Dyck és Samborski írta le (1968). Ez a már csíranövénykorban megnyilvánuló *Lr* gén a közönséges búza 'Warden' nevű ausztrál fajtájából származik (MACINDOE & WALKDEN BROWN 1968). A 2BS kromoszómán lokalizálódó gén az *Sr23* szárrozsa rezisztenciagénnel kapcsoltn öröklődik (MCINTOSH & LUIG 1973). A mára már hatástalanná vált gén más génekkel (pl. *Lr34*) kombinálva hatásosabb rezisztenciát biztosíthat (GERMAN & KOLMER 1992).

Az 1BL.1RS transzlokációt az 1930-as években Németországban állították elő 'Zorba' és 'Salzmünder Bartwiezen' fajtákban (ZELLER & HSAM 1983). A transzlokációban a búza 1B hosszú karja helyet cserélt a rozs (*Secale cereale* L.) 1R rövid karjával, értékes génkomplexet örökítve a búzának. A transzlokációt hordozó új búzafajták (főleg az orosz 'Kavkaz' és 'Avrora' fajták révén) kiváló betegségellenállóságuk és nagyobb termőképességük miatt gyorsan elterjedtek a világon (ZHAO *et al.* 2012). Mára világszerte több százra tehető azon fajták és nemesítési vonalak száma, mely hordozza a rozs ezen értékes kromoszóma régióját (RABINOVICH 1998), amelyben számos betegség rezisztenciagén megtalálható – pl. levélrozsa (*Lr26*), szárrozsa (*Sr31*), sárgarozsa (*Yr9*) és lisztharmat (*Pm8*) (ZELLER 1973).

Az *Lr34* levélrozsa rezisztenciagén a búza 7DS kromoszómáján található (DYCK 1987). A felnőttkori, tartós rezisztenciát kialakító gén az *Yr18* sárgarozsa rezisztenciagénnel (SINGH 1992a), a levélcúcs nekrózis morfológiai markerével (*Ltn1* gén), a lisztharmat *Pm38* rezisztenciagénjével, valamint az árpa sárga törpülés vírus elleni *Bydv1* rezisztenciagénnel is kapcsoltn öröklődik (SINGH 1992b, SPIELMEYER *et al.* 2005). A főként a közönséges búza 'Frontana' fajtájából származó gén bár közepesen hatásos, de fokozza más rezisztenciagének hatását (GERMAN & KOLMER 1992). Ha például egy érzékeny fajta 100 % fertőzöttségű, akkor egy *Lr34* génnel rendelkező változatának fertőzöttsége 40 %-os, ha viszont az *Lr34* gén mellé 2-3 másik *Lr* gént is beépítünk, akkor a fertőződés csupán 1-5 %-os

lesz (SINGH & RAJARAM 1992). Az *Lr34* legfőbb előnye azonban az, hogy az általa örökített rezisztencia tartós, azaz új patogén rasszok megjelenése nem változtatja meg az általa örökített ellenállóságot. Az *Lr34* gént hordozó brazíliai 'Frontana' búzafajta ezért is volt olyan kedvelt nemesítési alapanyag a világ számos országában (ROELFS 1988).

Az *Lr37* felnőttkori rezisztenciát biztosító gén egyfajta génklaszterként (*Lr37 – Yr17 – Sr38*) a *Triticum ventricosum* (Tausch) fajból transzlokáció útján került át a közönséges búzába (HELGUERA *et al.* 2003). A 2NS.2AS transzlokáció a 'VPM1' búzafajtában következett be (BARIANA & MCINTOSH 1993).

3.2.2. A búza válaszreakciói a levélrozsa fertőzésre

A gazdanövénynek a fertőzésre adott válasza a rozsdarassznak, a fajta genetikai hátterének és az *Lr* gének kölcsönhatásának függvénye. A heterogén *Lr* génösszetételű nemesítési vonalak eltérő morfológiai jellegeket mutathatnak, ezen kívül a fertőzés tünetének jellege, intenzitása és lefolyása is eltérhet egymástól (PÓS 2010). Egy adott búza genotípus reakciója egy adott rozsdarasszra négyféle lehet: hiperszenzibilitás; tolerancia (azaz a rozsa jelenléte esetén sem csökkenő termés); nagyon erős terméseszkökenéssel reagálás még enyhébb rozsafertőzésre is; valamint álrezisztencia (a korai fajták beérése a rozsa megjelenése előtt) (KOLTAY & BALLA 1975).

A búza lehetséges válaszreakcióinak egyik típusa a rasszspecifikus rezisztencia, melynek jellemzője, hogy nem nyújt minden egyes gombarassz ellen védelmet, csak a prevalens rasszokkal szemben hatásos, adott ökológiai viszonyok között. Ennek lehetséges magyarázata az ún. „gene-for-gene”, azaz „gén génnel szemben” elmélet. A hipotézis alapja, hogy – rezisztencia esetében – a kórokozó domináns avirulencia génje egy speciális elicítort termel, melyet a gazdanövény domináns rezisztencia génjének terméke, mint receptor felismer, és sejtelhalással járó hiperszenzitív reakciót vált ki, ezzel akadályozva meg a kórokozó elterjedését a növényben (FLOR 1942, 1956, 1971). Fajtafogékonyaság akkor áll fenn, ha a kórokozó virulens az adott rezisztencia génre (nem termel elicítort), vagy ha a gazdanövényben hiányzik a komplementer domináns rezisztenciagén. A búza fenotípusos válaszreakciói igen széles skálán mozognak, azonban az infekciós típusba történő besorolással jellemezhető a kapcsolat. Igen elterjedt Stakman és mtsai-nak (1962) besorolása egy 5-fokozatú skálába, ahol 0 jelenti az immunis, azaz tünetmentes fenotípust, míg a 4-es a hiperszenzitív klorotikus foltok nélküli nagy, sporuláló uredotelepekkel rendelkező fogékony típust. A rasszspecifikus rezisztencia a közvetlen és specifikus hiperszenzitív válasz miatt

nagyon hatékony védelmet biztosít, azonban a gomba gyorsan változó patotípusai miatt nem tartós, egy rezisztens fajta néhány év alatt fogékonnyá válhat (ROBERTS & CALDWELL 1970, BENNETT 1984).

A nem rasszspecifikus, vagy más néven horizontális rezisztencia sajátossága, hogy több gén kölcsönhatásán alapszik és nem ad hiperszenzitív választ. Hasonló védelmet nyújt mindegyik rasszal szemben (VAN DER PLANK 1963, SINGH & RAJARAM, 2002). Ez a védelem nem teljes körű, de a búza képes lassítani a gomba szaporodását és elterjedését. A nem rasszspecifikus gének jellegzetessége, hogy általában felnőttkori rezisztenciát örökítenek és rendszerint mennyiségi bélyegként (QTL – Quantitative Trait Locus) öröklődnek (PURNHAUSER 2006). A vizsgált *Lr* gének közül például az *Lr34* ilyen széles spektrumú rezisztenciagén.

A nem rasszspecifikus rezisztencia tartós rezisztencia. Tartós rezisztenciáról abban az esetben beszélünk, ha az a fajta széleskörű termesztése és a patogénnek kedvező környezeti feltételek esetén is generációkon át hatékony marad (JOHNSON 1988). A hiperszenzitív reakciót adó gének helyett az ún. „slow rusting” (lassan sporuláló) rezisztenciatípusokért felelős génekkel függ össze (SINGH *et al.* 2000). Két-három gén egy fajtába való beépítésével mérsékelt immunitást érhetünk el, a teljes immunitás pedig négy-öt gén halmozásával érhető el (SINGH *et al.* 2005). Több gén piramidálása egy fajtába az *Lr* gének használatának egy hatékony módja a tartós rezisztencia növelésében (KHAN *et al.* 2013).

A rezisztenciagének megnyilvánulásuk alapján lehetnek felnőttkori, vagy fiatalkori/csíranövénykori gének. A gének többsége már csíranövénykorban (pl. *Lr1* és *Lr9*), mások felnőttkorban (pl. *Lr12* és *Lr37*) nyújtanak védelmet (2. ábra).

A rezisztencia patogén köre	Lr gén (példa)	Fenotípusos válasz		
		Időzítés	A tünetek jellege	
rassz-specifikus	<i>Lr3</i>	csíranövénykori	Hiperszenzitív reakció (HR)	erőteljes foltokkal
	<i>Lr2a</i>			enyhe foltokkal
	<i>Lr3ka, Lr3bg, Lr11</i>		kisebb uredíniumok	+ klorotikus gyűrű
	<i>Lr16</i>			+ nekrotikus gyűrű
	<i>Lr12, Lr13, Lr22a</i>	felnőtt egyedben erőteljesebb	HR vagy kevés uredíniumú típusok	
nem rassz-specifikus	<i>Lr34</i>	felnőttkori	kisebb, ritkább uredíniumok „lassan spórázók”	klorózis / nekrózis nélkül
	<i>Lr46</i>			+ klorózis

2. ábra. *Lr* gének által biztosított, eltérő rezisztencia-típusok (PÓS 2010).

3.3. A levélrozsdá elleni védekezés

A XXI. századi fogyasztói magatartás eredményeként ételeink 80 %-a növényi eredetű. A korszerű növényvédelem nem csak ezen követelmény kielégítését szolgálja, hanem hangsúlyt fektet a minőségi paraméterekre, valamint a környezet védelmére is. Ennek jegyében az integrált növényvédelem a fenntarthatóságot szolgálja (AMBRUS *et al.* 2013).

A búza legtöbb betegsége többféle módszer együttes alkalmazásával jól kezelhető. A proaktív technológiák közé sorolandó a vetésforgó, a késleltetett, vagy lépcsőzetes vetés, az ellenálló fajták termesztése. Reaktív technológia a vegyszeres növényvédelem (HERSHMAN 2012).

3.3.1. Vegyszeres növényvédelem

Noha a fungicidek használata csak egy az alkalmazandó technológiák közül, a termesztők néha túl nagy hangsúlyt fektetnek rá és gyakran szükségtelenül kezelik növényállományukat. Intenzív termesztéstechnológia esetén hazánkban gyakori a három-négy fungicides kezelés évente (MESTERHÁZY 2006), ami magas költségekkel jár (általában a termelési költség 15%-a) (PURNHAUSER 2006). Fontos annak megértése, hogy a gombaölőszerek a kezeletlen állományhoz képest csak abban az esetben eredményeznek nagyobb hozamot, ha a betegség elég nagy infekciós nyomást gyakorol és szignifikánsan csökkenti a termésmennyiséget (HERSHMAN 2012). Bizonyított, hogy vegyszerekhez csak akkor szabad folyamodni, ha fogékony fajtát termesztünk (ROJAS 2013).

3.3.2. Rezisztencianemesítés

3.3.2.1. Hagyományos rezisztencianemesítés

Klasszikus növénynemesítésről Magyarországon 1865 óta beszélhetünk (KOLTAY & BALLA 1975). A rozsdáellenállóság először 1937-ben lett megemlítve a nemesítői célok között (LEGÁNY 1937), de előtérbe csak a II. világháború után került (KOLTAY & BALLA 1975). A XX. század második felében megkezdődött a szár- és levélrozsdá-rezisztens formák felkutatása (KOVÁCS 1952, KIRÁLY 1957), továbbá kifejlesztették a rezisztenciára nemesítés módszereit is (LELLEY 1957). Kezdetét vette a hazai rozsdá rasszspektrum tanulmányozása (BÓCSA & SÓS 1959), ezen kívül mesterséges rozsdafertőzőzési módszereket is kidolgoztak (LELLEY 1962, MANNINGER 1962).

A levélrozsa elleni rezisztencianemesítés alapját a rezisztencia genetikai hátterének (BIFFEN 1905), a patogének fiziológiai specializálódásának (STAKMAN & LEVINE 1962) és a gene-for-gene interakciónak (FLOR 1956) a felfedezése adja. A nemesítés első időszakában a rassz-specifikus rezisztenciatípus volt kedvelt a nemesítők körében. Az új patogén rasszok megjelenésével a termesztett fajták nagy károkat szenvedtek, a rozsa adaptálódása és a fajták ellenállósága közötti versenyfutás állandósult (MESTERHÁZY 2006). Annak ellenére, hogy a rasszspecifikus rezisztencia nemesítésének folyamata egyszerűnek mondható, a kutatók alternatív megoldások felé orientálódtak, és Van der Plank publikációja (1963) után (melyben tisztázza a rezisztencia elméleti alapját) újra felfedezték a nem rasszspecifikus rezisztenciát (CALDWELL 1968). Jelenleg a tartós rezisztenciával rendelkező fajták nemesítése a cél. A CIMMYT most futó programjában (Global Wheat Improvement Program) a két legfőbb keresett rezisztencia jellemvonás a tartósság és a diverzitás.

A hatékony rezisztenciagének azonosítása, majd bejuttatása nagy termőképességű, de fogékony genotípusokba hagyományos növénynemesítés útján rendkívül idő-, költség- és munkaigényes feladat (PURNHAUSER 2006). A rezisztencia teszteléséhez minden egyes szelekciós lépéskor mesterségesen kell fertőzni a növényállományt, amihez a kórokozó virulens rasszát indokolt fenntartanunk. Ma már a molekuláris genetikai módszerek hagyományos nemesítésbe integrálásával a rezisztencianemesítés jelentősen felgyorsítható és jóval hatékonyabbá tehető.

3.3.2.2. *Molekuláris növénynemesítés*

A molekuláris növénynemesítés tágabb értelemben a DNS szintjén végzett genetikai manipuláció (pl. génmérnökség, marker támogatott szelekció) kedvezőbb tulajdonságú növényfajták előállítására céljából (JIANG 2013). Szűkebb értelemben a molekuláris növénynemesítés olyan nemesítési stratégiákat foglal magába, mint a markerekre alapozott szelekció („marker-assisted selection”, MAS), a markerekre alapozott visszakeresztezés („marker-assisted backcrossing”, MABC), vagy a markerekre alapozott rekurrens szelekció („marker-assisted recurrent selection”, MARS) (RIBANT *et al.* 2010). A molekuláris növénynemesítés célja elsősorban a konvencionális, tehát a mendeli alaptörvényeken nyugvó nemesítés kiegészítése, ezáltal hatékonyságának növelése (KISS 2005).

A levélrozsa nemesítésnek többféle stratégiája létezik, melyekben a molekuláris növénynemesítés módszerei is felhasználandók a siker elérése érdekében (MESTERHÁZY 2006):

- Rasszspecifikus rezisztencianemesítés. Bizonyított, hogy a közönséges búzából származó *Lr* gének mára elveszítették hatásosságukat. A búza rokon fajai, ill. nemzetségei tartalmaznak még hatékony *Lr* géneket, melyeket transzlokációval be lehet juttatni búzába. Azonban ez sok munkával jár: a transzlokált kromoszómadarabon a termést, a minőséget, ill. egyéb tulajdonságokat általában negatívan befolyásoló gének is megtalálhatóak, ezért előnemesítésre, valamint a gének idegen származása miatt a közvélemény elfogadására van szükség.
- Hatékony gének piramidálása. Hatékony gének egy genotípusba történő halmozásához már MAS-ra van szükség. A MAS a rezisztenciagének nyomon követéséhez szükséges, hiszen a fenotípusosan teljes rezisztenciát adó rezisztenciagének nem különíthetők el egymástól molekuláris genetikai vizsgálatok nélkül.
- Tartós rezisztencia kialakítása. A kevésbé hatékony gének additív, szinergista hatásával nagyfokú rezisztenciát érhetünk el (SINGH & RAJARAM 1992). A garantált siker érdekében érdemes a rasszspecifikus és nem rasszspecifikus rezisztenciagéneket egymással kombinálni, a hosszú távú és stabil rezisztencia kialakítása érdekében.

3.3.3. Markerekre alapozott szelekció, markerekre alapozott növénynemesítés

A MAS a molekuláris növénynemesítés egyik fő területe, amely során a szelekció a hagyományos fenotípusszelekció helyett (pl. mesterséges inokuláció útján) a rezisztens genotípus alapján valósul meg. A kívánt genotípus azonosítása a tulajdonságot kódoló gén és az azzal kapcsolatosan lokalizálódó molekuláris marker alapján történik (KISS 2005). A molekuláris markerek alkalmazásának lehetősége a nemesítésben rendkívül szerteágazó. A génpiramidálás alatti szelekció elősegítése, a nemesítési törzsek, fajták azonosítása, a fajtákon belül különböző tulajdonságokat kódoló gének meghatározása mind megkönnyíthető a molekuláris markerek segítségével (COLLARD & MACKILL 2008). A hagyományos rezisztencianemesítéshez képest a markerekre alapozott nemesítés során nincs szükségünk mesterséges fertőzésre, ezért a rozsdarasszok fenntartása is kiváltható. Markerek alkalmazásával egy rezisztens vonal kialakításának ideje felére is lecsökkenthető (PURNHAUSER 2006) (2. táblázat).

2. táblázat: Hagyományos és markerekre alapozott növénynemesítés összehasonlítása (PURNHAUSER 2006)

	Hagyományos növénynemesítés	MAB
Szántóföldi, vagy üvegházi teszt	Kell	Nem kell
Patogén rasszok fenntartása	Kell	Nem kell
Egy ciklus tesztelési időtartama	2 – 10 hónap	2 – 3 hét
Kölcsönhatás a környezettel	Van	Nincs
Rezisztens vonal kialakításának ideje	6 – 8 év	3 – 4 év
Költség	Magas	Alacsony

A molekuláris markerek 1980-as és 1990-es évekbeli kifejlesztésének köszönhetően a markerekre alapozott növénynemesítés („marker-assisted breeding”, MAB) és a markerekre alapozott szelekció ma már széleskörűen alkalmazott eljárás. A MAS és a MAB egymást fedő fogalmak elterjedtségüket előnyeiknek köszönhetik, melyek a következők (XU & CROUCH 2008, JIANG 2013):

- Bármilyen kívánt tulajdonság öröklődése követhető, ha a tulajdonságot kódoló génre van kifejlesztett molekuláris marker. A nemesítésre szánt idő lerövidül markerek használatával, hiszen már a fenotípusos megnyilvánulás előtt információkhoz jutunk az adott lokusz meglétéről. Ez a visszakeresztezés és a rekurrens szelekció során nagyon hasznos, mivel az újabb keresztezéseket már a szelektált tulajdonságú egyedek között hajtják végre.
- A MAB folyamatát nem befolyásolják egyes környezeti tényezők. Ez levélrozsdá rezisztencianemesítés esetében kifejezetten előnyös, hiszen a rozsdarasszok fertőzésére nagyban kihat a terület időjárása. A molekuláris markerek megbízhatósága ebből következik: használatukat nem befolyásolja a mesterséges fertőzés eredményét torzító időjárás (PURNHAUSER 2006).
- Kodomináns markerek használatával a kívánt gén heterozigóta állapotban levő recesszív alléljai könnyebben kisselektálhatók, mely szükségtelenné teszi a további tesztkeresztezéseket és öntermékenyítéseket.
- A génpiramidálás eredményességét hagyományos módszerekkel szinte lehetetlen igazolni, az egyes gének beépítése nehezen követhető. A markerekre alapozott génpiramidálás („Marker-assisted gene pyramiding”, MAGP) a molekuláris markerek legértékesebb felhasználási módja, hiszen nem csak a gének válnak nyomunkkövethetővé általa, hanem a génhalmozáshoz szükséges időt és költségeket is lecsökkenti (PURNHAUSER 2006, MIEDANER & KORZUN 2012).
- A molekuláris markerezési technikák a poligénes tulajdonságok (QTL, mennyiségi jellegek, mint a tartós rezisztencia) vizsgálatát is lehetővé teszik (HOISINGTON *et al.* 2002).

- A molekuláris markereket gyakran használják a különböző fajták, populációk vagy rokon fajok közötti genetikai diverzitás felméréséhez (HOISINGTON *et al.* 2002).

Nemesítői szempontból nézve a MAB nem egy univerzális módszer, ami valaha is képes lenne felváltani a hagyományos nemesítést. A módszer korlátai közé tartozik, hogy léteznek kevésbé felhasználóbarát markertípusok, és nem minden marker alkalmazható az egész populációban a polimorfizmus és a kapcsoltság korlátozottsága miatt (JIANG 2013). A markerek és a gének esetleges rekombinációja pontatlan szelekcióhoz vezethet. Ezeken kívül számos nemesítő központ nem engedheti meg magának a nagy befektetési költséggel járó laborháttér kiépítését és fenntartását.

3.3.4. Molekuláris markerek

3.3.4.1. Molekuláris markerek fogalma

A molekuláris markerek az egyedek DNS-ében megnyilvánuló különbségek, tehát DNS (nukleotid) szintű variációk (HOISINGTON *et al.* 2002). A DNS olyan szakaszai, melyek azonosítható kromoszómális lokalizációval rendelkeznek és öröklődésük Mendel törvényei szerint követhető (KISS 2005). A molekuláris marker lehet egy gén is, de általában egy ismeretlen funkciójú DNS szakasz. Genotípusonként eltérő szekvenciákat, a tulajdonságok kialakításában részt nem vevő, semleges alléleket hordozó lokusz a kromoszómán (KISS 2005). A molekuláris markerek gyakran speciális génekkel kapcsolt pozíciójúak, egyfajta útjelzőként mutatva a keresett gén jelenlétét. Szoros kapcsoltság esetén a markerek közvetve alkalmazhatóak a kívánatos allélek kiválasztásához (HOISINGTON *et al.* 2002).

Az ideális DNS markerek az alábbi ismertetőjegyekkel rendelkeznek (KISS 2005, PURNHAUSER 2006, TAR 2012, JIANG 2013):

- felhasználóbarát jelleg, azaz nagyszámú egyed könnyű és olcsó vizsgálata automatizált körülmények között;
- nagyfokú polimorfizmus;
- szoros kapcsoltság vagy együtt szegregálás a kívánt génnel;
- kodomináns öröklődés;
- gyakori előfordulás a genomban;
- jó megkülönböztethetőség;
- könnyű hozzáférhetőség;
- könnyű, gyors és költséghatékony, automatizált vizsgálat;
- validálhatóság, különböző genetikai háttér esetében is megfelelő detektálhatóság;

- laboratóriumtól független reprodukálhatóság;
- az adatok egyszerű cserélhetősége a laboratóriumok között;
- nincs káros hatása a fenotípusra.

Tehát a genetikai marker a DNS egy olyan, mutációkat és variációkat felfedő fragmentje, mely különböző genotípusok vagy génallélek közötti polimorfizmus kimutatására szolgál (JIANG 2013). A polimorfizmus detektálására két alapszám módszer létezik: az egyik a Southern hibridizáció (SOUTHERN 1975), a másik a polimeráz-láncreakció, vagy PCR (MULLIS 1990). Mindkét technikát elektroforézis követi (pl. PAGE – poliakrilamid gélelektroforézis; AGE – agaróz gélelektroforézis; CE – kapilláris elektroforézis). A polimorfizmus azonosítása a termék tulajdonságainak – hossza, mobilitása – a függvénye. A hibridizáció és PCR alapú módszereken kívül ma már léteznek a DNS hibridizációt és jelölt nukleotid próbát magába foglaló chip, valamint szekvenáló technikák (szekvenálás során polimorfizmus detektálása) (JIANG 2013).

3.3.4.2. *A molekuláris markerek típusai, különös tekintettel munkánk során felhasznált markerekre*

Az első, még Southern hibridizáción alapuló markermódszer, az RFLP (restriction fragment length polymorphism, azaz restrikciós fragmentum-hossz polimorfizmus) publikálása óta eltelt 34 évben számos PCR alapú technikát fejlesztettek ki. A PCR módszerek közül a széleskörűben alkalmazott markertechnikák a következők: AFLP (amplified fragment length polymorphism, azaz amplifikált fragmentumhossz polimorfizmus), RAPD (random amplified polymorphic DNA, azaz véletlen amplifikált polimorf DNS), SSR (simple sequence repeat, azaz egyszerű szekvencia ismétlődés), valamint SNP (single nucleotide polymorphism, azaz egyetlen nukleotid polimorfizmus) (JIANG 2013).

Gupta és mtsai (2001) a molekuláris markereket az SNP-k (szekvencia variációk, pl. RFLP), valamint a nem SNP-k (hossz variációk, pl. SSR) kategóriájába sorolta. Ezen kívül a módszereket három fő csoportba lehet sorolni (GUPTA *et al.* 2001):

- első generációs molekuláris markerek: RFLP, RAPD, és módosított változataik;
- második generációs molekuláris markerek: SSR, AFLP, és módosított változataik;
- harmadik generációs molekuláris markerek: EST és SNP markerek (EST: expressed sequence tag, azaz expresszált szekvencia szakasz).

A molekuláris markerek típusai közül, helyhiány miatt jelen dolgozatban csak az általunk használtakat mutatjuk be:

RAPD típusú markerek:

A PCR alapú RAPD típusú markerek kifejlesztésénél a PCR-t 9-12, véletlenszerű, random nukleotidokból álló primerekkel indítjuk. A kapott egy és tíz közötti fragmentumok száma a komplementer szakaszok számától függ. A módszer előnye, hogy szekvenciaismeretet nem igényel, nagyfokú polimorfizmust mutat, valamint kis mennyiségű – nanogramm nagyságrend – DNS minta elegendő a vizsgálathoz. Hátránya, hogy megismételhetősége a kísérleti paraméterek függvénye, érzékeny a DNS tisztaságára és minőségére, valamint domináns öröklődést mutat (KISS 2005).

SCAR típusú markerek:

A SCAR (sequence characterized amplified regions, azaz szekvencia-jellemzett amplifikált régió) típusú markerek a RAPD markerek továbbfejlesztett változatai. A RAPD markerrel felszaporított, majd elválasztott polimorf mintázatból a különbséget jelentő fragmentum szekvenálásával már megtervezhetőek a szekvenciaspecifikus SCAR primerek, melyek reprodukálható eredményeket adnak, valamint kodominánsak is lehetnek (KISS 2005).

STS típusú markerek:

Az STS (sequence-tagged sites, azaz szekvenciával megjelölt helyek) a DNS egy olyan rövid (200-500 bázispár (bp.) hosszúság) szakasza, amely a genomban csak egyszer fordul elő, pontos szekvenciája sehol máshol nem található meg. A szekvencián belül repetitív elemek előfordulhatnak, de az egyedi határszekvenciákra két rövid, körülbelül 20 nukleotid hosszú primer tervezhető (DOGETT 1992, OLSON *et al.* 1989). Az STS típusú markerek szintén a RAPD markerek továbbfejlesztett verziói. Kombinálják a RAPD egyszerűségét az SSR markerek specifikusságával, ezáltal megbízhatóbbak és reprodukálhatóbbak, a RAPD esetében jelentkező elmosódó DNS folt is elmarad. Gyakran kodominánsak (OLSON *et al.* 1989, PERRY & BOUSQUET 1998).

SSR típusú markerek:

Az SSR, mikroszatellit, vagy SSLP (simple sequence length polymorphism, azaz egyszerű szekvencia hosszúság polimorfizmus) típusú markerek alapját a növényi genomban egyenletesen fellelhető rövid – maximum 5 nukleotidból álló –, monoton ismétlődő motívumok adják. Tehát az SSR-ek rövid, ismétlődő DNS szekvenciák, melyek a legtöbb

növényi genomban megtalálhatóak (HOISINGTON *et al.* 1998). Az első SSR markereket 1989-ben fejlesztették ki (WEBER & MAY 1989). A motívumok konzervatív határszekvenciáira tervezett primerekkel hossz-polimorfizmust mutató fragmentumokat szaporíthatunk fel. A polimorfizmust a repetitív szekvenciák replikációja során végbemenő csúszás (slippage) biztosítja. A módszer előnyei a kodominancia, a reprodukálhatóság, a pontos allélmérettel jellemzett fragmentumok és a leegyszerűsített információcsere (számadatok bázispárban), hátrányai a munka- és költségigényes primertervezés és a nagy felbontóképességű elválasztó gél szükségessége (KISS 2005).

4. MÓDSZEREK

A méréseket a NAIK (Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ), Gabonakutató Nonprofit Kft. (Szeged) Kalászos Gabona Főosztály Molekuláris Genetika Osztályán 2013. és 2014. évben végeztem el.

4.1. Felhasznált növényanyag

Munkánk során olyan hazai, illetve Magyarországon is jól termesztethető külföldi búzafajtákat vizsgáltunk, melyek a Gabonakutató Nonprofit Kft. (Szeged) két nemzetközi pályázatában is szerepeltek (a CORNET pályázatból 11 osztrák, 1 angol, 1 francia, 10 szegedi és 8 német fajta, a BIOCEREAL pályázatból pedig 18 szerb fajta (3. táblázat)).

3. táblázat: Vizsgált fajták származás szerint

Pályázat	Származás	Fajták száma (db)	Fajta	
CORNET	Magyarország (HU)	10	GK Békés GK Berény GK Csongrád GK Fény GK Hunyad	GK Kalász GK Körös GK Petur GK Rába GK Szala
	Ausztria (AT)	11	Bitop Capo Element Energó Eurofit Eurojet Exklusiv	Komárom Midas Tacitus Ubicus
	Egyesült Királyság (UK)	1	Robigus	
	Franciaország (FR)	1	Premio	
	Németország (D)	8	Brilliant Format Hybred Hyland	JB Asano Pamier Pegassos Tiger
BIOCEREAL	Szerbia (SRB)	18	NS 40S NS Arabeska NS Artemida NS Avangarda NS Desetka NS Emina NS Enigma NS Etida NS Futura	NS Ilina NS Natalija NS Nataša NS Pobeda NS Rapsodija NS Renesansa NS Simonida NS Tavita NS Zvezdana

4.1.1. CORNET pályázat

A 2010-ben létrehozott ún. CORNET (Collective Research NETworking) nemzetközi kísérletbe eredetileg 25 (köztük két hibridbúza), Ausztria, Franciaország, Németország, Magyarország és az Egyesült Királyság területén jól termesztethető őszi búzafajtát vontak be. Célja három ország, Ausztria, Németország és Magyarország 11 eltérő klimatikus adottságú helyszínén a fajták különböző fenotípusos adatainak összegyűjtése és kiértékelése, ezáltal a fajták stressztűrésének jellemzése („Wheat Stress” kutatási program) (PAUK *et al.* 2010).

4.1.2. BIOCREAL pályázat

A 2012. február 1. és 2013. szeptember 30. között lezajló IPA pályázat keretében organikus termesztésnek leginkább megfelelő vajdasági és hazai fajták kiválasztására és javaslatára került sor. A határmenti együttműködési programban a Gabonakutató Nonprofit Kft.-n kívül az MTA Szegedi Biológiai Központ, a Bácskátópolyai Megatrend Egyetem és az Újvidéki Mezőgazdasági Kutatóintézet, mint partnerintézmények vettek részt (BERÉNYI *et al.* 2014).

4.2. DNS izolálás

A minták DNS-ének izolálását Rogers és Bendich (1985) CTAB módszerének módosított változata szerint végeztük el. A friss csíranövényekről leválasztott 2-3 levelet 1 mL extrakciós CTAB-puffer (1 M Tris pH 7,5; 5 M NaCl; 0,5 M EDTA pH 8,0; RNase; CTAB) hozzáadásával 2 mL-es Eppendorf csőbe helyeztük, majd QIAGEN TissueLyser II típusú homogenizátorral homogenizáltuk (30 Hz) 2 x 1 percen át (180°-os fordítás). A homogenizátumot 60 °C-os vízfürdőben inkubáltuk 30 percen át, 10 perces időközönkénti döntögetéssel. Majd 10 perc szobahőmérsékleten történő hűtés után hozzáadtunk 450 µL kloroform/izoamil-alkoholt (24:1), döntögetéssel kevertük, és 15 percig 6600 percenkénti fordulatszámon centrifugáltuk. Ezt követően a DNS-t tartalmazó felülúszót 1,5 mL-es eppendorf csőbe törmelékmentesen pipettáztuk át, és a DNS kicsapódása érdekében 750 µL jéghideg izopropanol hozzáadást követően döntögettük a mintákat. 20 perc fagyasztás után 10 perces centrifugálás (6600 rpm) következett. A felülúszó óvatos leöntése után a DNS-t 700 µL jéghideg 76%-os etil-alkohol/10 mM ammónium-acetát keverékkel mostuk át. Ezek után 5 percig, 12000 percenkénti fordulatszámon centrifugáltuk mintáinkat, majd a felülúszó gondos leöntése után a DNS-t 500 µL etil-alkohollal átmostuk. Ezen lépés megismétlését követően az

etanol maradéktalan leszívása után a teljes száradásig steril boxban, 15 percig szárítottuk mintáinkat. Ettől kezdve a DNS-t 100 µL frissen autoklávozott TE pufferben (Trisz-EDTA puffer: 1 M TRIS pH 7,5; 0,5 M EDTA pH 8,0) oldottuk fel. 5 perces 60 °C-os vízfürdő után a mintákat a vizsgálatokig -20 °C-on tároltuk.

4.2.1. Az izolált DNS mennyiségének becslése

Az izolált DNS mennyiségét és minőségét agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük. Mintáink töménységét ismert koncentrációjú (5, 10, 50, 100, 150 és 200 ng/µL), hasítatlan λ fág DNS minták standard sorozatához viszonyítva (1,5 %-os agaróz gélen, 150 V-on történő futtatást, etídium bromidos festést és UV-fény használatát követően) becsültük meg.

4.3. A vizsgált gének azonosítása molekuláris markerekkel

Az egyes búzafajtákban a választott rezisztenciagéneket más szerzők által leírt molekuláris markerekkel azonosítottuk. A markerek amplifikálásához szükséges primerek szekvenciáját a markereket leíró publikációkból kerestük ki (4. táblázat).

4. táblázat: Felhasznált markerek tulajdonságai

Lr gén	Kromoszóma régió	Mol. marker neve	Mol. marker távolsága a géntől	Kapcsoltság más génekkel	Mol. marker típusa	Molekuláris marker szekvenciája	Termék mérete	Irodalom
Lr14a	7BL	Xgwm146-7B	7,5 cM	Sr17, Pm5	SSR	5' CCAAAAAAAGCTGCCTGCATG 3' 5' CTCTGGCATTGCTCCTTGG 3'	174 bp	Röder <i>et al.</i> 1998
Lr16	2BS	Xwmc 764	<10 cM	Sr23	SSR	5' CCTCGAACCTGAAGCTCTGA 3' 5' TTCGCAAGGACTCCGTAACA 3'	180 bp	McCartney <i>et al.</i> 2005
Lr26	1B 1BL/1RS transzlok.	OPH 20		Sr31, Yr8, Pm8	RAPD	5' GGGAGACATC 3'	1500 bp	Francis <i>et al.</i> 1995
Lr34	7DS	csLV 34	0,4 cM	Yr18, Pm38, Ltn1, Bydv1	STS	5' GTTGGTTAAGACTGGTGATGG 3' 5' TGCTTGCTATTGCTGAATAGT 3'	150 bp	Lagudah <i>et al.</i> 2006
Lr37	2AS 2NS/2AS transzlok.	VENTRIUP LN2	"Diagnostic"	Sr38, Yr17	SCAR	5' AGGGGCTACTGACCAAGGCT 3' 5' TGCAGCTACAGCAGTATGTACACAAAA 3'	259 bp	Helguera <i>et al.</i> 2003

4.3.1. Az Lr14a gén azonosítása molekuláris markerekkel

Az Lr14a gént az Xgwm 146-7B nevű SSR markerrel azonosítottuk (RÖDER *et al.* 1998). A PCR reakció az alábbi összetevőket tartalmazta 20 µL végtérfogatban: 10 ng DNS, 200 µM PCR Master Mix (Fermentas), 0,2 µM primer (Merck). A reakciót GeneAmp® PCR System 9700 típusú PCR készülékben végeztük az alábbi kondíciókkal: elődenaturálás 94 °C-on 8 percig, majd 40 cikluson keresztül a denaturálás 94 °C-on 5 másodpercig, a primer kapcsolódás 60 °C-on 5 másodpercig, az elongáció 72 °C-on 8 másodpercig, majd a végső elongáció 72 °C-on 5 percig.

A primer által amplifikált fragmentumokat 5%-os denaturáló poliakrilamid gélelektroforézissel választottuk el 80 W-on 1 x TBE pufferben (Trisz-borát-EDTA puffer) (BIO-RAD vertikális futtatókád), majd ezüstfestéssel tettük láthatóvá, Budowle és mtsai (1991) általunk módosított módszere alapján (Promega Protocol Q4132).

A 38 x 30 cm méretű poliakrilamid gél elkészítése (elszívófülke alatt) az alábbi módon történt: az üveglap megtisztítása után (mosás detergenssel, majd a száraz üveglap letörölése desztillált vízzel és 96 %-os etanollal) áttöröltük Kimwipes (SIGMA) papírtörölő segítségével ún. binding solution (900 µL 96 %-os etanol; 4,4 µL cc. ecetsav; 6,3 µL Bind silane) oldattal. 5 perc szárítás után az üveglapot újra áttöröltük desztillált vízes, majd 96 %-os etanolos papírtörölővel. A puffertartály megtisztítása az üveglap tisztításával megegyezően (mosás detergenssel, majd a száraz üveglap letörölése desztillált vízzel és 96 %-os etanollal) történt, ezt követően a tartályt 600 µL ún. szilanizáló oldattal töröltük át Kimwipes papírtörölővel. A készülék összeszerelését követően készítettük el a még folyékony halmazállapotú akrilamid gélt (60 mL gel stock – összetevők: urea, 5x TBE, desztillált víz, 40% akrilamid-biszakril), 60 µL TEMED (tetrametil-etiléndiamin) 470 µL APS (ammónium-perszulfát)), melyet fecskendő segítségével oszlattunk szét az üveglap és a puffertartály között. Az akrilamid polimerizációja 60 percig tartott.

Az ezüstfestés, majd az előhívás rázógépen, elszívófülke alatt történt. Kezdő lépésként a gélt 30 percen át 1 L ún. Fix/Stop (900 mL desztillált víz és 100 mL cc. ecetsav) oldatban áztattuk (fixálás), majd 2 x 3, ezután 1 x 2 percen át 1 L desztillált vízzel öblítettük át. A vizes lemosást követően az ezüstfestés következett: 30 percig 1 L ún. Staining solution (1000 mL desztillált víz, 1 g AgNO₃ és 1,5 mL cc. formaldehid (37 %)) oldatban áztatással. Ezután 3 L desztillált vízben átöblögettük a gélt, majd a sávokat 1 L ún. Developing solution (1000 mL desztillált víz, 30 g Na₂CO₃, 200 µL 10 mg/mL Na₂S₂O₃ és 1,5 mL cc. formaldehid (37 %)) oldattal hívtuk elő. Majd a megtartott Fix/Stop oldattal pezsgés jelenségének kíséretében leállítottuk a reakciót, végül a gélt desztillált vízben áztattuk 30 percig.

4.3.2. Az *Lr16* gén azonosítása molekuláris markerekkel

Az *Lr16* gént az *Xwmc 764* nevű, McCartney és mtsai által (2005) térképezett SSR markerrel azonosítottuk. A PCR reakciót az *Lr14a* génnél leírtakkal (4.3.1. fejezet) megegyező összetevőkkel és kondíciókkal végeztük el, azonban a primer kapcsolódása ebben az esetben 55 °C-on történt.

A primer által amplifikált fragmentumokat 5%-os denaturáló poliakrilamid gélelektroforézissel választottuk el 80 W-on 1 x TBE pufferben (BIO-RAD vertikális futtatókád), majd ezüstfestéssel tettük láthatóvá, Budowle és mtsai általunk módosított módszere (1991) alapján (Promega Protocol Q4132), a 4.3.1. bekezdés szerint.

4.3.3. Az *Lr26* gén azonosítása molekuláris markerekkel

Az *Lr26* gént az *OPH20* nevű RAPD molekuláris markerrel (FRANCIS *et al.* 1995) azonosítottuk. A 20 µL végtérfogatú reakcióelegybe az alábbi koncentrációjú komponenseket mértük össze: 10 ng DNS, 1 x PCR puffer (DyNAzyme II. 511), 0,1 mM dNTP mix (Fermentas), 0,35 µM primer (Merck) és 0,3 U Taq DNS polimeráz (DyNAzyme II. 501L). A reakciót GeneAmp® PCR System 9700 típusú PCR készülékben végeztük az alábbi kondíciókkal: elődenaturálás 94 °C-on 2 percig, majd 40 cikluson keresztül denaturálás 94 °C-on 30 másodpercig, a primerek feltapadása 36 °C-on 30 másodpercig, az elongáció 72 °C-on 2 percig, majd a végső elongáció 72 °C-on 10 percig. Az amplifikált termékek elválasztásához 1,5 %-os agaróz gél-t használtunk, melyeket a 30 perces 100 V-on való futtatás után (BIO-RAD futtatókád) etidium bromid vizes oldatában 30 percen át festettünk meg, és UV-fényben tettünk láthatóvá. A dokumentálást digitális kamerával (Olympus Camedia C-2000) végeztük.

4.3.4. Az *Lr34* gén azonosítása molekuláris markerekkel

Az *Lr34* levélrozsa rezisztenciagén jelenlétét a vizsgált fajtákban a *csLV34* nevű, Lagudah és mtsai által (2006) térképezett STS markerrel határoztuk meg. A PCR elegy az alábbi összetevőkből állt 20 µL végtérfogatra vonatkoztatva: 10 ng DNS, 1 x PCR puffer (Fermentas), 1,5 mM MgCl₂(Fermentas), 200 µM dNTP mix (Fermentas), 0,2 µM primer (Merck), 0,5 U Taq DNS polimeráz (Fermentas). A reakciót MJ Research PTC-200 típusú PCR készülékben végeztük el az alábbi körülmények között: az elődenaturálás 94 °C-on 5 percig tartott, majd 30 cikluson át denaturálás 94 °C-on 30 másodpercig, primerek feltapadása 58 °C-on 30 másodpercig, az elongáció 72 °C-on 50 másodpercig, a végső elongáció pedig 72 °C-on 3 percig tartott. Az amplifikált termékek elválasztását és detektálását a 4.3.3. fejezetben leírtaknak megfelelően 1,5 %-os agaróz gélen végeztük el.

4.3.5. Az *Lr37* gén azonosítása molekuláris markerekkel

Az *Lr37* gént a vizsgált fajtákban a Helguera és mtsai által (2003) térképezett *VENTRIUP-LN2* SCAR markerrel determináltuk. A PCR reakció az *Lr34* gén detektálásához is szükséges összetevőket tartalmazta 20 µL végtérfogatban (4.3.4. fejezet). A reakciót GeneAmp® PCR System 9700 típusú PCR készülékben végeztük az alábbi körülmények között: elődenaturálás 94 °C-on 2 percig, majd 40 cikluson keresztül denaturálás 94 °C-on 45 másodpercig, primer kapcsolódás 60 °C-on 30 másodpercig, elongáció 72 °C-on 1 percig, a végső elongáció 72 °C-on, 7 percig. Az amplifikált termékek elválasztását és detektálását a 4.3.3. fejezetben leírtaknak megfelelően 1,5 %-os agaróz gélen végeztük el.

5. EREDMÉNYEK

5.1. Azonosított *Lr* gének és gyakoriságuk a vizsgált búza fajtákban

A fajták rezisztenciagénjeinek azonosítása során vizsgáltuk az *Lr14a*, az *Lr16*, az *Lr34* gének, valamint az *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8* rezisztenciagéneket hordozó 1BL.1RS, és az *Lr37/Sr38/Yr17* rezisztenciagéneket hordozó 2NS.2AS transzlokációk jelenlétét (5. táblázat). A vizsgált 49 fajtában a leggyakoribb rezisztenciagén az *Lr37* gén (20,4 %) volt, melyet az *Lr14a*, ill. az *Lr34* gén követett 12,2 -ill. 12,2 %-os gyakorisággal (3. ábra). Négy fajtában az *Lr26* gént (8,2 %), kettő fajtában pedig az *Lr16* gént (4,1 %) azonosítottuk (6. táblázat).

5. táblázat: Az *Lr14a*, *Lr16*, *Lr26*, *Lr34* és *Lr37* géneket jelző markerek kimutatása európai búzafajtákban

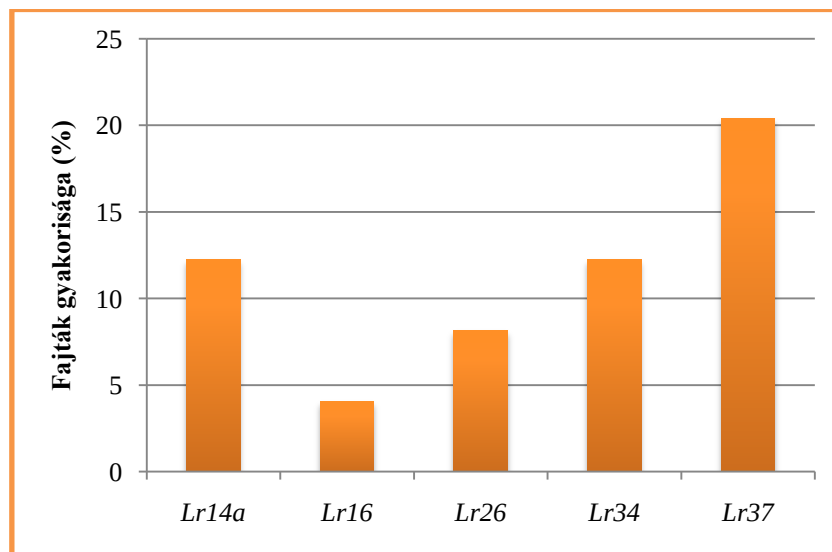
Fajta neve	Eredet	<i>Lr14a/Sr17</i>	<i>Lr16/Sr23</i>	<i>Lr26/Sr31/Yr9</i>	<i>Lr34/Yr18</i>	<i>Lr37/Sr38/Yr17</i>
		<i>Xgwm146-7B</i>	<i>Xwmc 764</i>	<i>OPH 20</i>	<i>csLV 34</i>	<i>VENTRIUP/LN2</i>
Bitop	AT	0	0	0	0	0
Capo	AT	0	0	0	0	0
Element	AT	0	0	0	0	0
Energo	AT	0	0	0	0	0
Eurofit	AT	0	0	0	0	0
Eurojet	AT	0	0	0	0	0
Exklusiv	AT	0	0	0	0	0
Komárom	AT	0	0	0	0	0
Midas	AT	0	0	0	0	1
Tacitus	AT	0	0	0	0	1
Ubicus	AT	0	0	0	0	1
Robigus	UK	0	0	0	0	0
Premio	FR	0	0	0	0	1
GK Békés	HU	0	0	0	0	0
GK Berény	HU	0	0	0	0	0
GK Csongrád	HU	0	0	0	0	0
GK Fény	HU	0	0	0	0	0
GK Hunyad	HU	0	0	0	1	0
GK Kalász	HU	0	0	0	0	0
GK Körös	HU	0	0	1	0	0
GK Petur	HU	0	0	0	0	0
GK Rába	HU	0	0	0	1	0

Fajta neve	Eredet	<i>Lr14a/Sr17</i>	<i>Lr16/Sr23</i>	<i>Lr26/Sr31/Yr9</i>	<i>Lr34/Yr18</i>	<i>Lr37/Sr38/Yr17</i>
		<i>Xgwm146-7B</i>	<i>Xwmc 764</i>	<i>OPH 20</i>	<i>csLV 34</i>	<i>VENTRIUP/LN2</i>
GK Szala	HU	1	0	0	1	0
Brilliant	D	0	0	1	0	0
Format	D	0	0	0	0	1
Hybred	D	0	0	0	0	1
Hyland	D	0	0	1	0	0
JB Asano	D	0	0	0	0	0
Pamier	D	0	0	1	0	1
Pegassos	D	0	0	0	0	0
Tiger	D	0	0	0	0	0
NS 40S	SRB	1	0	0	0	1
NS Arabeska	SRB	0	0	0	0	0
NS Artemida	SRB	1	0	0	0	0
NS Avangarda	SRB	0	0	0	0	0
NS Desetka	SRB	0	1	0	0	0
NS Emina	SRB	1	0	0	0	1
NS Enigma	SRB	0	0	0	0	0
NS Etida	SRB	1	0	0	0	0
NS Futura	SRB	0	0	0	1	0
NS Ilina	SRB	0	0	0	0	1
NS Natalija	SRB	0	0	0	1	0
NS Nataša	SRB	0	0	0	0	0
NS Pobeda	SRB	0	0	0	1	0
NS Rapsodij	SRB	0	0	0	0	0
NS Renesansa	SRB	1	0	0	0	0
NS Simonida	SRB	0	1	0	0	0
NS Tavita	SRB	0	0	0	0	0
NS Zvezdana	SRB	0	0	0	0	0

Megjegyzés: 1 = molekuláris marker jelenléte; 0 = molekuláris marker hiánya

Az *Lr14a* gént öt újvidéki és egy magyar fajtában találtuk meg. A nyugat-európai fajták egyikében sem sikerült igazolnunk a gén jelenlétét (4. ábra).

Az *Lr16* rezisztenciagént összesen két újvidéki fajtában azonosítottuk. E gén mind a magyar, mind a nyugat-európai fajtákból hiányzott.



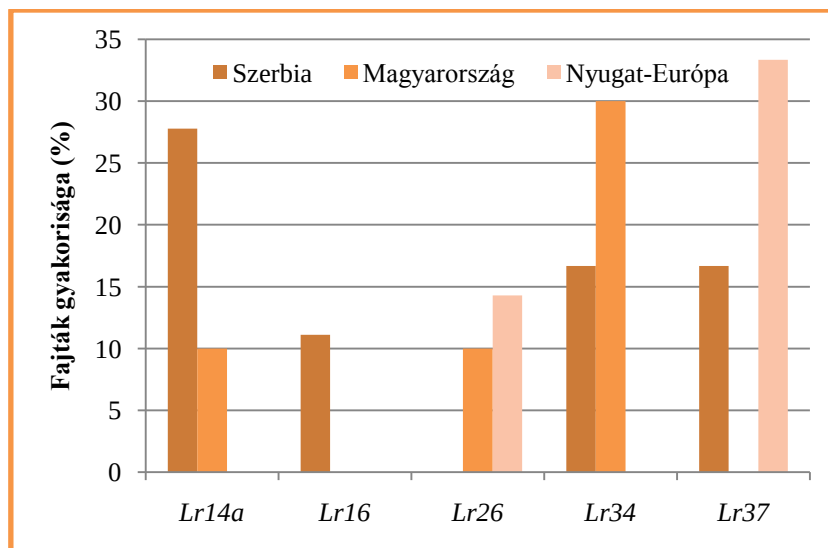
3. ábra. *Lr* gének előfordulása a vizsgált búza fajtákban (n=49).

Az *Lr26* rezisztenciagént is tartalmazó 1BL.1RS transzlokációt a vizsgált fajták 8,2 %-a hordozta (5. táblázat). A négy fajtából egy hazai, három pedig német eredetű volt. *Lr26* gént hordozó szerb fajtákra nem találtunk példát.

6. táblázat: *Lr* gének gyakorisága a vizsgált fajták származása szerint

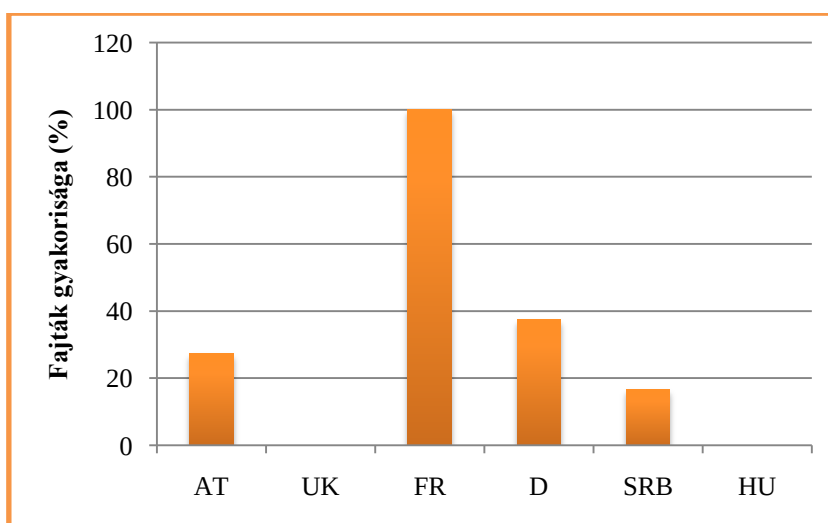
Eredet	Fajták száma	Fajták <i>Lr14a</i> génnel		Fajták <i>Lr16</i> génnel		Fajták <i>Lr26</i> génnel		Fajták <i>Lr34</i> génnel		Fajták <i>Lr37</i> génnel	
		száma	%	száma	%	száma	%	száma	%	száma	%
Magyarország	10	1	10,0	0	0,0	1	10,0	3	30,0	0	0,0
Ausztria	11	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	27,3
Egyesült Királyság	1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Franciaország	1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	100,0
Németország	8	0	0,0	0	0,0	3	37,5	0	0,0	3	37,5
Szerbia	18	5	27,8	2	11,1	0	0,0	3	16,7	3	16,7
Nyugat-Európa összesen	21	0	0,0	0	0,0	3	14,3	0	0,0	7	33,3
Összesen	49	6	12,2	2	4,1	4	8,2	6	12,2	10	20,4

A tartós rezisztenciát örökítő *Lr34* gén vizsgált markere a szegedi fajták 30 %-ában, és az újvidéki fajták 16,7 %-ában volt jelen (5. táblázat). A nyugat-európai fajtákban viszont a gént nem sikerült kimutatni.



4. ábra. *Lr* gének előfordulási százaléka a fajták származása szerint (fajták száma: Szerbia n=18; Magyarország n=10; Nyugat-Európa: n=21).

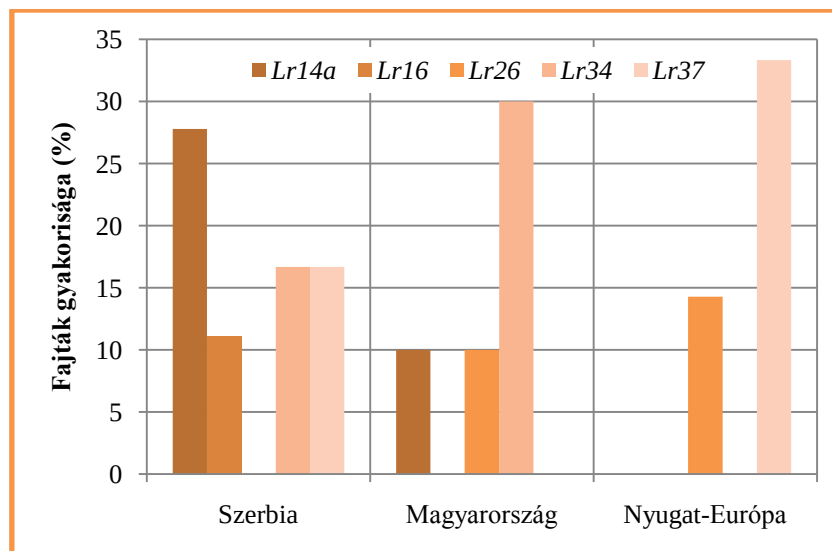
Az *Lr37* nemcsak gyakoriságával – a 49 fajtából 10 fajtában mutattuk ki –, de elterjedtségével is kitűnt a többi gén közül. Három szerb fajtán kívül három osztrák, három német és egy francia fajtában sikerült azonosítanunk a gént (5. ábra). A szegedi fajtákban azonban nem tudtuk kimutatni a gént.



5. ábra. *Lr37* gén előfordulási százaléka a fajták származása szerint (fajták száma: AT: n=11; UK: n=1; FR: n=1; D: n=8; SRB: n=18; HU: n=10).

5.2. A magyar, szerb és nyugat-európai nemesítő központok jellemzése fajtáik *Lr* géntartalma alapján

A Szegedről, Szerbiából vagy Nyugat-Európa egyes országaiból származó fajták a vizsgált rezisztenciagének gyakorisága alapján nagy különbséget mutattak (6. ábra).



6. ábra. Szegedi, újvidéki és nyugat-európai fajták összehasonlítása a vizsgált fajták *Lr* géntartalma alapján (fajták száma: Szerbia: n=18; Magyarország: n=10; Nyugat-Európa: n=21).

Az azonosított *Lr* gének számát illetően kiemelkedtek a szerb búzafajták, hiszen bennük négyféle gént is azonosítottunk, bár *Lr26* gént hordozó újvidéki fajtára nem találtunk példát. A BIOCEREAL pályázat 18 szerb fajtájából öt fajtánál a *Lr14a* gént (27,8 %), kettő fajtánál az *Lr16* gént (11,1 %), három-három fajtánál pedig az *Lr34* és *Lr37* géneket (16,7- és 16,7 %) mutattuk ki (6. táblázat).

A Gabonakutató Nonprofit Kft. fajtáinak 10- ill. 10 %-ában mutattuk ki az *Lr14a* gént ill. az *Lr26* gént hordozó 1BL.1RS transzlokációt. Az *Lr16* és *Lr37* gének hiányoztak a hazai fajtákban, az *Lr34* gén viszont 30 % gyakorisággal fordult elő. Ez a felnőttkori, tartós rezisztenciát kialakító gén a magyar fajtákban volt a leggyakoribb.

A CORNET pályázat nyugat-európai fajtáiban csak két gént, a két transzlokáció által hordozott *Lr26* és *Lr37* géneket találtuk meg. Míg az 1B.1R transzlokáció a nyugat-európai fajták 14,3 %-ában volt jelen, addig az *Lr37* gént a fajták 33,3 %-ában azonosítottuk molekuláris markerek segítségével.

5.3. A fajták jellemzése levélrozsda rezisztenciagének gyakorisága alapján

A vizsgált 49 fajta közül összesen 24 fajtában azonosítottuk a vizsgált öt rezisztenciagén jelenlétét. A 24 fajtából 20 fajta (40,8 %) csak az egyik rezisztenciagénnel, négy fajta (8,2 %) viszont kettő génnel is rendelkezett (7. táblázat). Egy szegedi fajtában ('GK Szala') az *Lr14a*

+ *Lr34* géneket, egy német fajtában ('Pamier') az *Lr26* + *Lr37* géneket, kettő szerb fajtában ('NS 40S' és 'NS Emina') pedig az *Lr14a* + *Lr37* géneket azonosítottunk.

7. táblázat: Nemesítő központok fajtáinak jellemzése a vizsgált rezisztenciagének gyakorisága alapján.

Eredet	Fajták száma	Fajták két génnel		Fajták egy génnel		Fajták gén nélkül	
		száma	%	száma	%	száma	%
Magyarország (Szeged)	10	1	10,0	3	30,0	6	60,0
Szerbia (Újvidék)	18	2	11,1	9	50,0	7	38,9
Nyugat-Európa	21	1	4,8	8	38,1	12	57,1
Összesen	49	4	8,2	20	40,8	25	51,0

6. ÉRTÉKELÉS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

Munkánk során négy molekuláris markerezési technika alkalmazásával (RAPD, SCAR, STS és SSR PCR-technikák) nyugat-európai (osztrák, angol, francia és német), magyar és szerb őszi búzafajtákban öt levélrozsa rezisztenciagént (*Lr14a*, *Lr16*, *Lr26*, *Lr34* és *Lr37*) azonosítottunk e génekkel szoros kapcsoltságban öröklődő molekuláris markerek segítségével. Ennek során a vizsgált gének közül a legtöbbet a szerbiai fajtákban azonosítottuk (*Lr14a*, *Lr16*, *Lr34* és *Lr37*), a legkisebb *Lr* géndiverzitással rendelkező fajtacsoport pedig a nyugat-európai országok fajtáiból került ki. A vizsgált 49 fajtában a leggyakoribb rezisztenciagén az *Lr37* gén (az összes vizsgált fajta 20,4 %-ában) volt, melyet az *Lr14a*, ill. az *Lr34* gén követett 12,2 –ill. 12,2 %-os gyakorisággal.

Az *Lr14a* gént az *Xgwm146-7B* nevű SSR marker (RÖDER *et al.* 1998) felhasználásával összesen egy magyar és öt szerb fajtában találtuk meg, ami a vizsgált fajták 12,2 %-a. Az *Lr14a* gén a NS (Novi Sad, azaz Újvidék) fajtákban gyakorinak mondható (27,8 %). A gén a *Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides* faj 'Yaroslav' fajtájából származik. Ez a fajta – bár az Egyesült Államokat szokták származásaként megjelölni –, Oroszországból származik (CLARK & BAYLES 1935), ami megmagyarázhatja a gén elterjedtségét a szerb fajtákban. Kettő szerb fajta ('NS 40S' és 'NS Emina') esetében az *Lr14a* gén mellett az *Lr37* gént is azonosítottuk. E két gén egy fajtába történő piramidálásával valószínűleg nagyobb fokú ellenállóság jöhet létre – ezt látszik alátámasztani, hogy az 'NS 40S' fajta 2011-ben a Gabonatermesztők Országos Szövetsége (GOSZ) által szervezett ún. őszi búza posztregisztrációs fajtakísérletben (GOSZ-VSZT 2011) a súlyos levélrozsdajárvány ellenére kiváló levélrozsa rezisztenciát mutatott – elképzelhető, hogy e két szerb búzafajta közeli rokonságban áll egymással. A 'GK Szala' magyar fajtában szintén két *Lr* gén, az *Lr14a* és az *Lr34* jelenlétét bizonyítottuk. Ez a fajta ezáltal erőteljesebb tartós rezisztenciával rendelkezhet a csak *Lr34* gént hordozó fajtákhoz képest.

Az *Lr16* rezisztenciagén jelenlétét mindössze két újvidéki fajtában ('NS Desetka' és 'NS Simonida') azonosítottuk az *Xwmc764* SSR marker (MCCARTNEY *et al.* 2005) segítségével. Vizsgálataink során arra az eredményre jutottunk, hogy sem a nyugat-európai, sem a hazai GK fajták nem hordozzák az *Lr16* gént. Ebből a szempontból eredményünket alátámasztja, hogy az *Lr16* gént egy átfogóbb európai kutatás során sem azonosították (WINZELER *et al.* 2000).

Az *Lr26* rezisztenciagént az egész világon elterjedt 1BL.1RS búza-rozs transzlokáció hordozza. A rozs 1RS transzlokálódó kromoszóma régióját tartalmazó genotípusokat

évtizedeken át széles körben felhasználták a nemesítési programokban (ZHAO *et al.* 2012). Ennek köszönhetően már 1998-ban több száz fajtnak és nemesítési vonalnak tulajdonították ezt a transzlokációt (RABINOVICH 1998).

Munkánk során az *OPH20* RADP markerrel azonosítottuk a transzlokációt (FRANCIS *et al.* 1995). A vizsgált növényanyagból összesen három német és egy magyar fajtában találtuk meg az *Lr26* gént. A nyolc vizsgált német fajta 37,5 %-ában fellelhető gén nagy aránya nem véletlen, hiszen a német nemesítési programok a transzlokáció létrejöttének az élén jártak hajdanán (ZELLER & HSAM 1983). Stêpieň és mtsai (2003) ezen kívül svájci, cseh, angol, olasz és lengyel fajtákban is azonosította e gént, ami bizonyítja a transzlokáció európai elterjedtségét.

A hazai fajták levélrozsdá ellenállóságának genetikai hátterében az *Lr10* és *Lr13* mellett az *Lr26* gén is szerepet játszhatott (CSŐSZ *et al.* 1999). Az 1975 és 2005 között hazánkban államilag elismert mintegy 180 búzafajta 25 %-ában található meg ez a gén (PURNHAUSER *et al.* 2013). Eredményünk (mi csupán egyetlen magyar fajtában találtuk meg a gént) azzal magyarázható, hogy Purnhauser és mtsai nem csak szegedi, hanem martonvásári fajtákat is vizsgáltak. Az ún. 'Mv' fajtákban (Martonvásár) ugyanis hatszor gyakoribb az *Lr26* gén előfordulása a 'GK' fajtákhoz képest. A két nemesítő központ szározsdára történő szelekciója közben más *Sr* géneket részesített előnyben: míg martonvásári nemesítők az *Lr26* génnel kapcsolt *Sr31* szározsdá rezisztenciagénre szelektáltak, addig a szegediek az *Sr36* szározsdá rezisztenciagénekkal rendelkező vonalakat részesítették előnyben. A szegediek döntése nem véletlen, hiszen az egyik legelső, később donorként szolgáló szározsdá rezisztens szegedi fajta, a 'GK Kincső' (állami elismerés: 1980) ellenállóságának hátterében is az *Sr36* gén áll (CSŐSZ *et al.* 2001). Az *Lr26* gén viaszorulását az utóbbi időben az is magyarázza, hogy e gén már nem nyújt kellő védelmet a jelenleg elterjedt levélrozsdá rasszokkal szemben, ezen kívül az 1BL.1RS transzlokáció sajnos a búza sikerminőségére kedvezőtlen gént is hordoz (GRAYBOSCH 2001).

Az *Lr34* gént a vizsgált fajtákban a *CsLV34* nevű kodomináns STS markerrel azonosítottuk (LAGUDAH *et al.* 2006). A 49 fajtából összesen hat fajtában, a fajták 12,2 %-ában találtuk meg a gént. A hat pozitív fajtából három fajta szegedi (ez a szegedi fajták 30 %-a), három pedig szerb származású (a szerb fajták 16,67 %-a). Nyugat-európai fajtákban nem diagnosztizáltuk ezt a hatásos, tartós rezisztencia kialakításáért felelős gént.

Az *Lr34* gén jelenlétét az 1970 és 2005 között államilag elismert hazai fajtákban TAR (2012) is vizsgálta *CsLV34* markerrel. Az általa vizsgált 71 szegedi fajta 23,9 % százalékában

találta meg a gént. A jelentős mértékű elterjedtséget mi is igazoltuk. Fontos különbség, hogy TAR-ral ellentétben a 'GK Hunyad' fajtában kimutattuk e gén jelenlétét. A gén jelenléte annak is betudható, hogy a 'GK Hunyad' fajta több őse is az *Lr34* egyik fő forrásának tekintett 'Bezostaja 1' fajtából származik (http2).

Az *Lr34* gén nagyobb hazai gyakoriságát az is alátámasztja, hogy az *Lr34* gént a hazai fajtaszortimentbe az 1960-ban hazánkban állami elismerést kapott 'Bezostaja 1' fajtával hozták be (TAR 2012). 1971-ben lettek elismerve az első, *Lr34* génnel rendelkező szegedi ('GKF 3' és 'GKF 2'), illetve martonvásári ('Martonvásári 1') nemesítésű fajták, melyek mind a 'Bezostaja 1' fajta utódjainak tekinthetők.

Annak ellenére, hogy ez a felnőttkori és tartós rezisztenciát biztosító gén világszinten elterjedt, a nyugat-európai fajtákban nem diagnosztizáltuk. Kolmer és mtsai (2008) vizsgálatukhoz a világ búza fajtagyűjteményből 80 nyugat-európai (angol, osztrák, belga, dán, francia, német, holland és svéd) fajtát vizsgáltak az általunk is felhasznált *CsLV 34* markerrel, melyből 30 fajtában jelen volt a marker. Azt is megállapították, hogy Amerikában a brazil 'Frontana' fajtának, Európában pedig az orosz 'Bezostaja 1' fajtának köszönhető az *Lr34* gén széles körű elterjedtsége (KOLMER *et al.* 2008). A 'Bezostaja 1' fajtában TAR (2012) is bizonyította a gén jelenlétét.

Az *Lr37* gén jelenlétét Helguera és mtsai által (2003) azonosított *VENTRIUP/LN2* SCAR markerpárral azonosítottuk. Az általunk vizsgált rezisztenciagének közül ez az a gén, amelyik a legnagyobb gyakorisággal, a fajták 20,4 %-ában fordult elő munkánk során. Jelenléte javarészt nyugat-európai fajtákra volt jellemző (a hét *Lr37* gént hordozó fajtából három osztrák, három német és egy francia), továbbá három újvidéki fajta is tartalmazta a gént. Mások 37 európai búzafajtából (svájci, cseh, német, francia, angol, olasz és lengyel eredet) tíz fajtában azonosították a gént (STĚPIEŇ *et al.* 2003), ami a saját eredményeinkhez hasonló 27 %-os gyakoriságot jelent. Winzeler és mtsai (2000) megfigyelték, hogy az európai fajtákban az *Lr13* mellett az *Lr37* a leggyakoribb felnőttkori rezisztenciát biztosító gén.

A gén széleskörű elterjedtségének oka nem másban, mint a gén eredetében keresendő. Valószínű, hogy Európa óceáni, vagy nedves kontinentális éghajlatú területein a hűvösebb, csapadékosabb klímát igénylő sárgarozsda elleni hagyományos nemesítés során előnyben részesítették az *Yr17* gén mellett az *Lr37* gént is tartalmazó 2NS.2AS transzlokációt magukba foglaló fajtákat.

A hazai fajtákban nem igazoltuk ennek a rasszspecifikus, hatásos rezisztenciagénnek a jelenlétét. Ezt a tényt igazolja Purnhauser és mtsai-nak (2013) vizsgálata is, akik

megállapították, hogy a fajták mindösszesen 1 %-a tartalmazta ezt a gént. Ez az eredmény összefügghet azzal, hogy a sárgarozsdát igen ritka előfordulása miatt hazánkban nem tekintették fontos betegségnek. Sajnos, ez a felkészületlenség lehet az oka annak, hogy a legutóbbi két évben, de különösen a 2014. évben fellépő sárgarozsda járvány súlyos gondokat okozott a többnyire fogékony hazai fajtákban.

A négy nyugat-európai ország (Ausztria, Egyesült Királyság, Franciaország és Németország) hazánkban is jól természetű 21 fajtájában a vizsgált öt *Lr* génből kettő gént tudtunk azonosítani. Munkánk alapján az *Lr26* gén három (a nyugat-európai fajták 14,3 %-a), míg az *Lr37* gén hét európai fajta (a fajták 33,3 %-a) rezisztenciáját alakítja ki. A 'Pamier' német fajta DNS-e mind a két gént tartalmazta, egy génnel a fajták 38,1 %-a rendelkezett. A fajták több mint felénél (57,1 %-ánál) nem tudtuk kimutatni egyik vizsgált rezisztenciagén jelenlétét sem.

Egy több éven át tartó, tíz országot és 72 búzafajtát, ill. nemesítési vonalat magába foglaló szabadföldi kísérletben kimutatták, hogy az európai fajták rezisztenciáját az *Lr3a*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr20*, *Lr26* és *Lr37* gének alakítják ki (WINZELER *et al.* 2000). Eredményeink beleillenek ebbe a kísérletbe (*Lr26*, *Lr37* azonosítása, *Lr34* hiánya), azonban mi az *Lr14a* gént nem mutattuk ki nyugat-európai fajtákban. A szabadföldi kísérlet során az osztrák 'Capo' fajtát, mint kítűnő rezisztenciaforrás jellemezték, azonban mi egyik vizsgált rezisztenciagént sem találtuk meg genomjában. E fajta magas fokú ellenállóságát talán az általunk nem vizsgált, de Winzeler és mtsai (2000) által benne kimutatott *Lr13* génnek is köszönheti.

Ami a szegedi fajtasortimentet illeti elmondható, hogy a tíz vizsgált GK fajtában *Lr14a*, *Lr26* és az *Lr34* géneket mutattuk ki. A fajták az *Lr16* és az *Lr37* géneket nem hordozzák. Egy fajta ('GK Szala') 2 génnel (*Lr14* és *Lr34*), három fajta pedig egy-egy génnel ('GK Hunyad', ill. 'GK Rába': *Lr34*, 'GK Körös': *Lr26*) rendelkezett. A fajták 60 %-ában viszont nem amplifikálódott egyik rezisztenciagén markere sem.

A hazai fajtákban az *Lr10*, *Lr13* és *Lr26* gének bizonyítottak (CSŐSZ *et al.* 1999). Egy átfogó vizsgálat kimutatta, hogy fajtáinkban az *Lr26* (25 %), az *Lr34* (22 %), az *Lr10* (20 %) és az *Lr1* (19 %) gének gyakoriak, ezzel szemben az *Lr20*, *Lr52* és az *Lr37* gének a fajták csak 1-2 százalékában találhatók meg (PURNHAUSER *et al.* 2013). Vizsgálati adataink beleillenek ezen vizsgálat eredményeibe.

Egy 2010-ben elvégzett martonvásári szabadföldi kísérletben bizonyították, hogy hatékony védelmet az *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr29* és *Lr35* rezisztenciagének

biztosítanak. Azóta megkezdődött a gének bevitele különböző fajtákba a martonvásári nemesítő központban (BEDŐ *et al.* 2011).

A levélrozsa rezisztenciagének genetikai sokfélesége a szerb fajtákban volt a legnagyobb. A magyar-szerb határmenti együttműködési program szerb fajtáiban a vizsgált öt rezisztenciagén közül négyet sikerült azonosítanunk a munkánk során. A BIOCEREAL pályázat 18 NS fajtájából öt fajta (27,8 %) az *Lr14a*, három fajta (16,7 %) az *Lr34*, másik három fajta (16,7 %) az *Lr37*, kettő fajta (11,1 %) pedig az *Lr16* gént hordozta. Az 'NS 40S' és az 'NS Emina' fajtákban két gént is azonosítottunk (*Lr14a* és *Lr37*). Nagyon hasonló eredményt kaptunk Purnhauser és Csősz (2013) egy korábbi eredményével: ők molekuláris markerezési technikával vizsgálták szegedi és szerb fajtákban az *Sr31*, *Lr34* és *Lr37* gének gyakoriságát. A két munka közötti egyedüli eltérés a szegedi minták *Lr37* gén gyakoriságában mutatkozott. Az, hogy Purnhauser és Csősz vizsgálatában a szegedi fajták 22,2 %-a hordozta az *Lr37* gént annak köszönhető, hogy ők új búzatörzseket vizsgáltak fajták helyett (Purnhauser személyes közlése).

Munkánk hozzájárulhat az új búzafajták levélrozsa rezisztenciájának genetikai hátterének jobb megismeréséhez, ezáltal optimálisabb genetikai hátterű levélrozsa rezisztens búzafajták kialakításához. Tekintve, hogy a jelenlegi fajták levélrozsa ellenállósága többnyire nem kielégítő, újabb génforrások bevonása (pl. rezisztencia génforrások cseréje) és azokkal kedvező génkombinációk kialakítása már a közeljövő rezisztencianemesítési programjaiban is fontos szerepet játszhat majd. Ebben nyújthat nagy segítséget a molekuláris markerek és a hagyományos rezisztencia nemesítési módszerek kombinált használata.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A levélrozsa (*Puccinia tritici* Eriks.) a búza egyik legsúlyosabb betegsége. Ennek is betudható, hogy a gombának a patogenitása, rasszainak változása, a rezisztencia-gén kölcsönhatások és a sokféle rezisztencia-fenotípus feltárása mellett egyre jobban előtérbe került a rezisztenciát kialakító gének azonosítása, majd azok tudatos felhasználása a nemesítésben.

A rezisztencia genetikai hátterének jobb megismerésére mára nagy segítséget nyújt a molekuláris markerek használata mind a génazonosításban, mind a szelekcióban. A rezisztenciagénekkel szoros kapcsolttságban öröklődő molekuláris markerek mindamellett, hogy munka- és költséghatékonyabbak a hagyományos rezisztenciateszteken alapuló módszerekhez képest, további új lehetőséget nyújtanak a rezisztencianemesítés számára a tartós rezisztencia kialakításában (pl. génpiramidálás).

Munkánk során négy molekuláris markerezési technika alkalmazásával (RAPD, SCAR, STS és SSR PCR-technikák) magyar, valamint Magyarországon is jól termesztendő nyugat-európai és szerb fajtákban kapcsolt molekuláris markereket azonosítottunk öt *Lr* gén (*Lr14a*, *Lr16*, *Lr26*, *Lr34* és *Lr37*) esetében. Vizsgálataink során a vizsgált *Lr* gének közül a legtöbbet, négy levélrozsa rezisztenciagént (*Lr14a*, *Lr16*, *Lr34* és *Lr37*) a szerbiai fajtákban azonosítottunk, a nyugat-európai országok fajtáiban viszont csupán kettő levélrozsa rezisztenciagént (*Lr26* és *Lr37*) találtunk. Az *Lr14a* és *Lr16* géneket hazai és a szomszédos szerbiai fajtákban azonosítottuk, a nyugat-európai fajtákból hiányoztak. Az *Lr14a* gént a szerb fajták 27,8 %-a és a magyar fajták 10 %-a, az *Lr16* gént pedig mindösszesen a szerb fajták 11,1 %-a tartalmazta. Számos *Lr* gén már önmagában is hatástalan, azonban más *Lr* génekkel kombinálva valószínűleg nagyobb rezisztencia érhető el. A korábban igen elterjedt *Lr26* gént most csak a hazai és a német fajtákban találtuk meg, összesen négy fajtában, ami az összes 49 fajta 8,2 %-a. A nem rasszspecifikus *Lr34* levélrozsa rezisztencia csak a hazai (a GK fajták 30 %-ában) és a szerb (az NS fajták 16,7 %-ában) fajtákban volt kimutatható. Az *Lr37* gén bár a nyugat-európai fajtákban igen gyakori volt (a 21 fajta 33,3 %-ában), a hazai és a szerb fajtasortimentből hiányzott. Ez azzal magyarázható, hogy az *Lr37* génnel kapcsoltan öröklődő *Yr17* gén fontos szerepet játszik a Nyugat-Európában gyakran fellépő sárgarozsa betegség elleni küzdelemben.

Reményeink szerint munkánk hosszabb távon hozzájárulhat a levélrozsa elleni optimális genetikai védelem kialakításához. Eredményeinkből kitűnik, hogy a különböző nemesítő központok a közvetve más rozsafajokra történő szelekció miatt, vagy egyéb

okokból adódóan más és más *Lr* génekre szelektáltak búzafajtáik nemesítése közben. A fajták levélrozsda ellenállósága nem kielégítő, a levélrozsda új rasszai miatt tovább fejlesztendő. Partnerkapcsolatok kiépítésével és egymás segítségével a nemesítő központok megkönnyíthetik egymás munkáját és elősegíthetik a megfelelő levélrozsda ellenállósággal rendelkező fajták nemesítését.

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom külső konzulensemnek, Dr. Purnhauser Lászlónak, aki rámutatott témám fontosságára és örömmel fogadott be munkacsoportjába. Köszönöm neki, hogy az utóbbi két évben bármikor fordulhattam hozzá, mindig lelkesen igyekezett szakmai hiányosságaimat pótolni, és ezáltal szaktudásomat bővíteni. Hálás vagyok neki eredményeim kiértékelésében nyújtott segítségéért, a gyakorlatban megszerzett tapasztalataimért, kitartó munkájáért, mellyel TDK dolgozatom, illetve későbbi diplomadolgozatom elkészültét segítette, segíti. Köszönöm neki, hogy a különböző konferenciákra történő invitálásával is megpróbálta tudásomat kiszélesíteni. Továbbá köszönöm neki a magminták, illetve DNS minták, valamint a felhasznált vegyszerek biztosítását.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Kiss Erzsébetnek, hogy elvállalta belső konzulensi feladatkörét. Köszönöm neki, hogy széleskörű molekuláris genetikai szaktudását átadta nekem óráin. Hálás vagyok érte, hogy mikor ideje engedte, beszélhettem neki eddigi eredményeimről, további terveimről.

Külön köszönöm Lajtár Tímea vegyésztechnikusnak a rengeteg szeretetet és energiát, amivel munkám előremenetelét támogatta. Hálával tartozom neki, hogy állandó ottlétével segítette és irányította a markerezési technikák elsajátítását. Köszönöm neki, hogy végtelen türelemmel újra és újra elmagyarázta a poliakrilamid gél kiöntésének, illetve a minták előhívásának menetét.

Köszönöm a csapat többi tagjának, Szőke Anitának és Gajdács Klárának a segítségét. Nagyon szépen köszönöm Szőke Anitának a szakirodalmazásban és kísérletek tervezésében nyújtott segítségét és tanácsait, a csapatnak a jó hangulatban eltöltött napokat.

A kutatásunkat a CORNET_6_08_WHEATSTR' NKTH (OM-00887/2009), a BIOCEREAL (HUSRB/1002/214/045) és a SZIE Kutató Kari Kiválósági Támogatás-17586-4/2013/TUDPOL. pályázat támogatta.

Nem utolsó sorban köszönöm családomnak és barátaimnak, hogy támogatásukkal és türelmükkel elősegítették munkám elkészültét.

9. IRODALOMJEGYZÉK

- AMBRUS, Á., BASKY, Z., GÁBRIEL, G., HORVÁTH, A., JORDÁN, L., JÓZSEF, C., KÁDÁR, A., GYÖRFI, K., KISS, B., KÖMÍVES, T., NECHAY, E., MIHÁLY, B., SIMON, G., SZALKAI, G., TÚRI, M., SZÉKÁCS, A., TÁNCZOS, L., TERPÓ, I., LIPPAI, E. & TÓKÉS, G. (2013): National Plant Protection Action Plan 2012. Ministry of Rural Development, Hungary. National Food Chain Safety Office Directorate of Plant Protection and Agri-environment. Budapest.
- BARIANA, H.S. & MCINTOSH, R.A.(1993): Cytogenetic studies in wheat XIV. Location of rust resistance genes in VPM1 and their genetic linkage with other disease resistance genes in chromosome 2A. – *Genome* 36: 476-482.
- BEDŐ, Z., LÁNG, L., VEISZ, O., VIDA, G., RAKSZEGI, M., KARSAI, I., MÉSZÁROS, K., BENCZE, S. & GULYÁS, G. (2011): Breeding. – In: RAUPP, W.J. (szerk.): Annual Wheat Newsletter. Vol. 57. 2011. aug. 1. pp. 16-19.
- BENNETT, F.G.A. (1984): Resistance to powdery mildew in wheat: A review of its use in agriculture and breeding programmes. – *Plant Pathology* 33: 279-300.
- BERÉNYI J., SIKORA V., CSŐSZ LÁSZLÓNÉ, PURNHAUSER L., MATUZ J., MIHÁNY R., FÓNAD P., FALUSI J., BÓNA L., ÓVÁRI J., PALÁGYI A., PETRÓCZI I., KÖNYVES T., CSEUZ L., BOŠKOVIC' J. & PAUK J. (2014): Gabonafélék organikus (öko) termesztése. – *GabonaKutató Híradó* 28. évf. 1.sz.: 9.
- BIFFEN, R.H. (1905): Mendel's laws of inheritance and wheat breeding. – *J. Agr. Sci.*, 1: 4-48.
- BÓCSA I. & SÓS E. (1959): A búza szár- és levéltrozsa fiziológiai specializálódása Magyarországon 1956-ban. – *Növénytermelés*. Budapest. 8: 325-332.
- BUDOWLE, B., CHAKRABORTY, R., GIUSTI, A.M., EISENBERG, A.J. & ALLEN R.C. (1991): Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. – *Am J Hum Genet.* 48: 137-144.
- CALDWELL, R.M. (1968): Breeding for general and/or specific plant disease resistance. In *Proc. 3rd Int. Wheat Genetics Symp.* Canberra, Australia. pp. 263-272.
- CHESTER, K.S. (1946): The nature and prevention of the cereal rusts as exemplified in the leaf rust of wheat. In *Chronica botanica*. Waltham, MA, USA. p.269.
- CLARK, J.A. & BAYLES, B.B. (1935): Classification of wheat varieties grown in the United States. – In: *Technical Bulletins No. 459*. U.S. Department of Agriculture. United States Government Printing Office. Washington. pp. 144-146.
- COLLARD, B.C.Y. & MACKILL, D.J. (2008): Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. – *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363: 557-572.
- CSŐSZ, M., BARTOS, P., MESTERHÁZY, Á., PURNHAUSER, L. & GYULAI, G. (1999): Postulated resistance genes of several Hungarian wheat cultivars to leaf rust in seedling stage. – *Disease Resistance and Cereal Leaf Pathogens Beyond the Year 2000*. COST 817 Workshop 9-14 November 1999 (Abstract) p. 31.
- CSŐSZ, M., BARTOS, P. & MESTERHÁZY, Á. (2001): Identification of stem rust resistance gene *Sr36* in the wheat cultivar GK Kincso and in its derivatives. – *Cereal Res. Commun.* 29: 267-273.
- CSŐSZ M. (2007): Növénykórtani és rezisztencia vizsgálatok az őszi búza rozsa, lisztharmat és levélfoltosságok kórokozóival. – *Doktori Értekezés*. Pannon Egyetem, Keszthely.
- CSŐSZ M. (2014): Eltérő évjáratok hatása az őszi búza levéltetedségeire. – *Agrofórum Extra* 55. 2014. március: 44-47.
- DOGETT, N.A. (1992): The Polymerase Chain Reaction and Sequence-tagged Sites. – *Los Alamos Science*. 20: 128-134.
- DUDITS D. (2005): Bevezetés – A búzakonzorcium mint mérföldkő a hazai búzafutásban. In: DUDITS D. (szerk.) *A búza nemesítésének tudománya. A funkcionális genomikától a vetőmagig*. MTA Szegedi Biológiai Központ – Winter Fair Kft. Szeged. pp. 11-15.
- DYCK, P.L. & SAMBORSKI, D.J. (1968): Host-parasite interactions involving two genes for leaf rust resistance in wheat. In: *Proceedings of the Third International Wheat Genetics Symposium*. (FINDLAY, K. W. & SHEPHERD, K. W. szerk.) pp. 245-250. (Australian Academy of Science: Canberra, Australia)

- DYCK, P.L. & SAMBORSKI, D.J. (1970): The genetics of two alleles for leaf rust resistance at the *Lr14* locus in wheat. – Canadian Journal of Genetics and Cytology. 12: 689-694.
- DYCK, P.L. (1987): The association of a gene for leaf rust resistance with the chromosome 7D suppressor of stem rust resistance in common wheat. – Genome 29: 467-469.
- FLOR, H.H. (1942): Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. – Phytopathology 32: 653-669.
- FLOR, H.H. (1956): The complementary genetic systems in flax rust. – Adv. Genetics. New York – London. 8: 29-54.
- FLOR, H.H. (1971): Current status of the gene-for-gene concept. – Annual Review of Phytopathology 9: 275-296.
- FRANCIS, H.A., LEITCH, A.R. & KOEBNER, R.M.D. (1995): Conversion of a RAPD-Generated PCR product, containing a novel dispersed repetitive element, into a fast and robust assay for the presence of rye chromatin in wheat. – Theoretical and Applied Genetics 90: 636-642.
- GERMAN, S.E. & KOLMER, J.A. (1992): Effect of gene *Lr34* in the enhancement of resistance to leaf rust of wheat. – Theor. Appl. Genet. 84: 97-105.
- GOSZ-VSZT (2011): GOSZ-VSZT Őszi Búza Posztregisztrációs Fajtakísérletek 2011. eredményei
- GRAYBOSCH, R.A. (2001): Uneasy unions: Quality effects of rye chromatin transfers to wheat. – J Cereal Sci 33: 3-16.
- GUPTA, P.K., ROY, J.K. & PRASAD, M. (2001): Single nucleotide polymorphisms: a new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. – Current Science 80: 524-535.
- HELGUERA, M., KHAN, I. A., KOLMER, J., LIJAVETZKY, D., ZHONG-QI, L. & DUBCOVSKY J. (2003): PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. – Crop Science 43: 1839-1847.
- HERRERA-FOESSEL, S.A., SINGH, R.P., HUERTA-ESPINO, J., ROSEWARNE, G.M., PERIYANNAN, S.K., VICCARS, L., CALVO-SALARAZ, V., LAN, C. & LAGUDAH, E.S. (2012): *Lr68*: a new gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. – Theor. Appl. Genet. 124: 1475-1486.
- HERSHMAN, D.E. (2012): Fungicide Use in Wheat. Working Paper. – Cooperative Extension Service, University of Kentucky.
- HOISINGTON, D., LISTMAN, G.M. & MORRIS, M.L. (1998): Varietal development: applied biotechnology. In MORRIS, M. L. (szerk.) Maize seed industries in developing countries. – Boulder, CO, USA, Lynne Rienner Publishers, CIMMYT. pp. 77-102.
- HOISINGTON, D., BOHOROVA, N., FENNELL, S., KHAIRALLAH, M., PELLEGRINESCHI, A. & RIBAUT, J.M. (2002): The application of biotechnology to wheat improvement. In: CURTIS, B. C., RAJARAM, S. & MACPHERSON, H. G. (szerk.) Bread Wheat – Improvement and Production - FAO Plant Production and Protection Series. No. 30. pp. 202-229.
- JIANG, G-L. (2013): Molecular Markers and Marker-Assisted Breeding in Plants. In: ANDERSEN, S. B. (szerk.): Plant Breeding from Laboratories to Fields. – InTech. pp. 45-83.
- JOHNSON, R. (1988): Durable resistance to yellow (stripe) rust in wheat and its implications in plant breeding. In Simmonds, N. W. & Rajaram, S. (szerk.) Breeding strategies for resistance to the rusts of wheat. Mexico, DF, CIM-MYT. pp. 63-75.
- JØRGENSEN, L.N., HOVMØLLER, M.S., HANSEN, J.G., LASSEN, P., CLARK, B., BAYLES, R., RODEMANN, B., JAHN, M., FLATH, K., GORAL, T., CZEMBOR, J., CHEYRON, P.D., MAUMENE, C., POPE, C.D. & NIELSEN, G.C. (2010): EuroWheat.org: a new research-based website supporting integrated disease management in wheat. From Science to Field Wheat Case Study – Guide. Number 3.
- KIRÁLY Z. (1957): Adatok a búza rozsdabetegségeinek patológiájához és kórélettanához. Kandidátusi disszertáció. Budapest. 56.
- KISS E. (2005): Molekuláris növénynemesítés. In: HESZKY L., FÉSÜS L. & HORNOK L. (szerk.): Mezőgazdasági Biotechnológia. Agroiinform Kiadó, Budapest. pp. 194-210.
- KHAN, M.H., BUKHARI, A., DAR, Z.A. & RIZVI, S.M. (2013): Status and Strategies in Breeding for Rust Resistance in Wheat. – Agricultural Sciences. 4 (6): 292-301.

- KOLMER, J.A. (1989): Virulence and race dynamics of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in Canada during 1956 – 1987. – *Phytopathology*. 79: 349-356.
- KOLMER, J.A. (1996): Genetics of resistance to wheat leaf rust. – *Annual Review of Phytopathology*. 34: 435-455.
- KOLMER, J.A. (2005): Tracking wheat rust on a continental scale. – *Curr. Opin Plant Biol.* 8 (4): 441-449.
- KOLMER, J.A., SINGH, R.P., GARVIN, D.F., VICCARS, L., WILLIAM, H.M., HUERTA-ESPINO, J., OGBONNAYA, F.C., RAMAN, H., ORFORD, S., BARIANA, H.S. & LAGUDAH, E.S. (2008): Analysis of the Lr34/Yr18 rust resistance region in wheat germplasm. – *Crop Sci.* 48: 1841-1852.
- KOLTAY Á. & BALLA L. (1975): Búzátermesztés és –nemesítés. – *Mezőgazdasági Könyvkiadó*. Budapest. pp. 153-164. 184-187.
- KOVÁCS A. (1952): Adatok búzafajta-gyűjteményeink betegség-ellenállóságához. – *Növénytermelés*, Budapest. 1: 179-188.
- LAGUDAH, E.S., MCFADDEN, H., SINGH, R.P., HUERTA-ESPINO, J., BARIANA, H.S. & SPIELMEYER, W. (2006): Molecular genetic characterization of the Lr34/Yr18 slow rusting resistance gene region in wheat. – *Theoretical and Applied Genetics* 114: 21-30.
- LEGÁNY Ö. (1937): A nemesített búzafajták jelentősége az országos búzátermésátlagok megjavítása terén. *Köztelek*, Budapest. 65-66. 661-662.
- LELLEY, J. (1957): Neue Rostinfizierungsmethode im Dienste der pathologischen Resistenzzüchtung. *Züchter*, Berlin-Göttingen-Heidelberg. 27: 81-85.
- LELLEY, J. (1962): Some results of a research on methods applied in wheat breeding. Symposium on Wheat Genetics and Breeding. Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences. Martonvásár. pp. 501-504.
- MACINDOE, S.L. & WALKDEN BROWN, C. (1968): Wheat Breeding and Varieties in Australia. *Science Bulletin* No. 76. (New South Wales Department of Agriculture: Sydney)
- MANNINGER, M. (1962): Studies on the resistance of wheat varieties to stem rust of cereals (*Puccinia graminis tritici* Eriks. et. Henn.) and leaf rust of wheat (*Puccinia triticina* Eriks.) in Martonvásár 1960-1961. – Symposium on Genetics and Breeding of Wheat. Martonvásár. pp. 313 – 328.
- MCCARTNEY, C.A., SOMERS, D.J., MCCALLUM, B.D., THOMAS, J., HUMPHREYS, D.G., MENZIES, J.G. & BROWN, P.D. (2005): Microsatellite tagging of the leaf rust resistance gene Lr16 on wheat chromosome 2BSc. – *Molecular Breeding* 15: 329–337.
- MCFADDEN, E.S. (1930): A successful transfer of emmer characters to vulgare wheat. – *J. Am. Soc. Agron.* 22: 1020-1034.
- MCINTOSH, R.A., LUIG, N.H. & BAKER, E.P. (1967): Genetic and cytogenetic studies of stem rust, leaf rust and powdery mildew resistances in Hope and related wheat cultivars. – *Australian Journal of Biological Sciences*. 20: 1181-1192.
- MCINTOSH, R.A. & LUIG, N.H. (1973): Linkage of genes for reaktion to *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* and *P. recondita* in Selkirk wheat and related cultivars. – *Australian Journal of Biological Sciences* 26: 1145-1152.
- MCINTOSH, R.A., WELLINGS, C.R. & PARK, R.F. (1995): Wheat Rusts – An Atlas of Resistance Genes. Plant Breeding Institute, The University of Sydney. CSIRO, Australia. pp. 1-28.
- MCINTOSH, R.A., DUBCOVSKY, J., ROGERS, W.J., MORRIS, C., APPELS, R. & XIA, X.C. (2013): Catalogue of Gene Symbols for Wheat: 2013-2014 Supplement. 12th International Wheat Genetics Symposium. Yokohama, Japan.
- MESTERHÁZY Á. (2006): Molekuláris markerek a rezisztenciagének nyomon követéséhez. Bevezetés. In: DUDITS D. (szerk.) A búza nemesítésének tudománya. A funkcionális genomikától a vetőmagig. MTA Szegedi Biológiai Központ – Winter Fair Kft. Szeged. pp. 287-288.
- MIEDANER, T. & KORZUN, V. (2012): Marker-Assisted Selection for Disease Resistance in Wheat and Barley Breeding. – *Phytopathology*. 102 (6): 560-566.
- MULLIS, K. 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. – *Scientific American* 262 (4): 56–61, 64–65.

- OLSON, M., HOOD, L., CANTOR, C. & BOTSTEIN, D. (1989): A common language for physical mapping of the human genome. – *Science*. 245: 1434-1435.
- PAUK, J., MIHÁLY, R., LANTOS, CS., FLAMM, C., TEIZER, B., ZECHNER, E., LIVAJA, M., SCHMOLKE, M., CSEUZ, L. & RUTHNER, SZ. (2010): Wheat under environmental stress: experiments with 25 elite genotypes within the CORNET network. – *Agung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs*. 61: 135-139.
- PERRY, D.J. & BOUSQUET, J. (1998): Sequence-Tagged-Site (STS) Markers of Arbitrary Genes: Development, Characterisation and Analysis of Linkage in Black Spruce. – *Genetics* 149: 1089-1098.
- PÓS V. (2010): Levélrozsa illetve kadmium által indukált változások búza és árpa apoplazt fehérjemintázatában. – *Doktori Értekezés*. Budapesti Corvinus Egyetem. Budapest.
- PURNHAUSER L. (2006): Molekuláris markerek a rezisztenciagének nyomon követéséhez. In: DUDITS D. (szerk.) *A búza nemesítésének tudománya. A funkcionális genomikától a vetőmagig*. MTA Szegedi Biológiai Központ – Winter Fair Kft. Szeged. pp. 289 – 299.
- PURNHAUSER, L. & CSŐSZ, M. (2013): Disease resistance of Hungarian and Serbian wheat cultivars observed by field and laboratory methods. In: IPA project BIOCEREAL: Improvement of cereals for conventional production and biofarming. – *Closing Conference. Programme Booklet*. 2013.06.18. Bački Petrovac, Serbia. pp. 12-15.
- PURNHAUSER L., TAR M., ÓVÁRI J. & CSŐSZ M. (2013): Levélrozsa rezisztenciagének azonosítása és felhasználása hazai búzafajtákban molekuláris markerek segítségével. In: HOFFMAN B. & HORVÁTH M. (szerk.) *XIX. Növény-nemesítési Tudományos Nap Összefoglalók*. Pannon Egyetem, Keszthely. p. 51.
- RABINOVICH, S.V. (1998): Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L. – *Euphytica* 100: 323-340.
- RIBANT, J.M., de VICENTE, M.C. & DELANNAY, X. (2010): Molecular Breeding in Developing Countries: Challenges and Perspectives. – *Current Opinion in Plant Biology*. 13: 1-6.
- ROBERTS, J.J. & CALDWELL, R.M. (1970): General resistance (slow mildewing) to *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* in Knox wheat. – *Phytopathology* 60: 1310.
- ROELFS, A.P. (1988): Resistance to leaf rust and stem rust in wheat. In: SIMMONDS, N. W. & RAJARAM, S. (szerk.) *Breeding strategies for resistance to the rusts of wheat*. – Mexico, DF, CIMMYT. pp. 10-22.
- ROGERS, S.O. & BENDICH, A.J. (1985): Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant-tissues. – *Plant Molecular Biology*. 5: 69-76.
- ROJAS, K. (2013): *An Ecodynamic Analysis of Foliar Fungicides Used in Northeast Texas Wheat Production*. (Thesis) Texas A & M University – Commerce.
- RÖDER, M.S., KORZUN, V., WENDEHAKE, K., PLASCHKE, J., TIXIER, M-H., LEROY, P. & GANAL, M.W. (1998): A microsatellite map of wheat. – *Genetics* 149: 2007-2023.
- SIBIKEEV S.N., KRUPNOV V.A., VORONINA S.A. & ELESIN V.A. (1996): First report on leaf rust pathotypes virulent to highly effective Lr-genes transferred from *Agropyron* species to bread wheat. – *Plant Breeding* 115 (4): 276-278.
- SINGH, R.P. (1992a): Genetic association of leaf rust resistance gene *Lr34* with adult plant resistance to stripe rust in bread wheat. – *Phytopathology* 82: 835-838.
- SINGH, R.P. (1992b): Genetic association between gene *Lr34* for leaf rust resistance and leaf tip necrosis in bread wheats. – *Crop Science* 32: 874-878.
- SINGH, R.P. & RAJARAM, S. (1992): Genetics of adult-plant resistance to leaf rust in 'Frontana' and three CIMMYT wheats. – *Genome*, 35: 24-31.
- SINGH, R.P., HUERTA-ESPINO, J. & RAJARAM, S. (2000): Achieving near-immunity to leaf and stripe rusts in wheat combining slow rust resistance genes. – *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*. 35: 133-139.
- SINGH, R.P. & RAJARAM, S. (2002): Breeding for disease resistance in wheat. – In: CURTIS, B.C., RAJARAM, S. & MACPHERSON, H.G. (szerk.) *Bread Wheat. Improvement and Production*. FAO Plant Production and Protection Series. No. 30. pp. 166-182.

- SINGH, R.P., HUERTA-ESPINO, J. & ROELFS, A.P. (2002): The wheat rusts. – In: CURTIS, B.C., RAJARAM, S. & MACPHERSON, H.G. (szerk.) Bread Wheat. Improvement and Production. FAO Plant Production and Protection Series. No. 30. pp. 260-284.
- SINGH, R.P., HUERTA-ESPINO, J. & WILLIAM, H.M. (2005): Genetics and breeding of durable resistance to leaf and stripe rusts in wheat. – Turkish Journal of Agriculture and Foetry. 29: 121-127.
- SINGH, D., MOHLER, V. & PARK, R.F. (2013): Discovery, characterization and mapping of wheat leaf rust resistance gene *Lr71*. – Euphytica 190: 131-136.
- SOUTHERN, E.M. (1975): Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. – Journal of Molecular Biology 98: 503-517.
- SPIELMEYER, W., MCINTOSH, R.A., KOLMER, J. & LUGDAH, E.S. (2005): Powdery mildew resistance and *Lr34/Yr18* genes for durable resistance to leaf and stripe rust, cosegregate at a locus on the short arm of chromosome 7D of wheat. – Theoretical and Applied Genetics. 111: 731-735.
- STAKMAN, E.C. & LEVINE, M.N. (1962): Analytical key for the identification of physiologic races of *Puccinia graminis tritici*. – (Processed) Division of Cereal Crops and Dis., USDA, Minnesota Agric. Exp. Sta. 7
- STAKMAN, E.C., STEWART, D.M. & LOEGERING, W.Q. (1962): Identification of physiological races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. – Agricultural Research Service E617. USDA, Washington, D. C.
- STĚPIEŇ, ě., GOLKA, L. & CHEŁKOWSKI, J. (2003): Leaf rust resistance genes of wheat: identification in cultivars and resistance sources. – J. Appl. Genet. 44(2): 139-149.
- SZUNICS, L., POCSAI, E., SZUNICS, L. & VIGA, G. (2000): Viral diseases on cereals in central Hungary. – Acta Agr. Hung. 48 (3): 237-250.
- TAR M. (2012): PCR alapú molekuláris markerek azonosítása és felhasználása a búza levélrozsa rezisztenciára való nemesítésben. – Doktori Értekezés. Szent István Egyetem. Gödöllő.
- VAN DER PLANK, J.E. (1963): Plant Diseases: Epidemics and Control. – Academic Press, New York, London.
- VIDA G., MANNINGER S.N.É., SZUNICS L., SZUNICS L. & GÁL M. (1999): A búza levélrozsa rezisztencia kutatások eredményeiből. – Jubil. Tudom. Ülés 1999. június 2-3. Mv Elitmag Kft.
- VIDA G., GÁL M., KÁROLYINÉ CS. M., LÁSZLÓ E., PUSKÁS K., PRIBÉK D., KARSAI I., SZUNICS L., UHRIN A., BEDŐ Z., LÁNG L. & VEISZ O. (2009): Őszi búza genotípusok betegség-ellenállóságának javítása hagyományos és molekuláris módszerekkel. In: VEISZ O. (szerk.) A martonvásári agrárkutatások hatodik évtizede. 1999-2009. – A Magyar Tudományos Akadémia Mezőgazdasági Kutatóintézete, Martonvásár. pp. 65-70.
- 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. & 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.
- WEBER, J.L. & MAY, P.E. (1989): Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. – Am. J. Hum. Genet. 44: 388-396.
- WINZELER, M., MESTERHÁZY, Á. & PARK, R.F. (2000): Resistance of European winter wheat germplasm to leaf rust. – Agronomie. IEDP Sciences. 20(7): 783-792.
- XU, Y. & CROUCH, J.H. (2008): Marker-assisted selection in plant breeding: From publications to practice. – Crop Sci. 48: 391-407.
- ZELLER, F.J. (1973): 1B/1R wheat-rye chromosome substitutions and translocations. In 'Proceedings of the 4th International Wheat Genetics Symposium'. Record Number: 19751625251. (EdsERSears,LMS Sears) pp. 209–221. (Agricultural Experiment Station, College of Agriculture, University of Missouri: Columbia, MO)
- ZELLER, F.J. & HSAM, S.L.K. (1983): Broadening the genetic variability of cultivated wheat by utilizing rye chromatin. In: SAKAMOTO, S. (szerk.) Processing of the 6th International Wheat Genetics Symposium. – Plant Germ-Plasm Institute, Faculty of Agriculture, Kyoto University. Kyoto, Japan. pp. 161-173.
- ZHAO, C.H., CUI, F., WANG, X.Q., SHAN, S.C., LI, X.F., BAO, X.G. & WANG, H.G. (2012): Effects of 1BL/1RS translocation in wheat on agronomic performance and quality characteristics. – Field Crops Research. 127: 79-84.

http1: a BGRI hivatalos honlapja. <http://www.globalrust.org/about-bgri> [2014.10.24.]

http2: a 'GK Hunyad' filogramja. <http://wheatpedigree.net/sort/renderPedigree/26766> [2014.10.24.]

10. NYILATKOZAT

Alulírott Kapás Mariann, a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Mezőgazdasági Biotechnológus mesterképzési szak nappali tagozatvégzős hallgatója nyilatkozom, hogy a dolgozat saját munkám, melynek elkészítése során a felhasznált irodalmat korrekt módon, a jogi és etikai szabályok betartásával kezeltem. Hozzájárulok ahhoz, hogy Tudományos Diákköri dolgozatom egyoldalas összefoglalója felkerüljön a Kar / Intézet /Szak honlapjára. A digitális verzióban (pdf formátumban) leadott dolgozatom elérhető legyen a témát vezető intézetben, illetve a kialakításra kerülő Kari központi nyilvántartásában, a jogi és etikai szabályok teljes körű betartása mellett.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem.

Gödöllő, 2014. 10. 27.

hallgató aláírása

A dolgozat készítőjének konzulense nyilatkozom arról, hogy a Tudományos Diákköri dolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmak korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A Tudományos Diákköri dolgozatot védeésre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem.

Gödöllő, 2014. 10. 27.

témavezető aláírása