

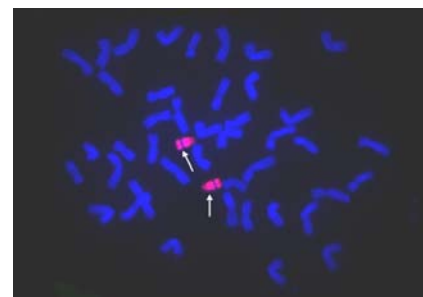
# ÚJ ŐSZI BÚZA/ ŐSZI ÁRPA DISZÓMÁS ADDÍCIÓS VONALAK AZONOSÍTÁSA FLUORESZCENS *IN SITU* HIBRIDIZÁCIÓVAL ÉS MOLEKULÁRIS MARKEREKKEL

Kruppa Klaudia, Szakács Éva, Cseh András, Lángné Molnár Márta,  
MTA Mezőgazdasági Kutatóintézet, Martonvásár  
Génmegőrzési és Organikus Nemesítési Osztály

Mv  
Martonvásár

## Bevezetés

A búza és az árpa keresztezése lehetővé teszi a két faj kedvező tulajdonságainak egyesítését az utódokban. A két faj között fennálló inkompatibilitás miatt a két nemzetség keresztezése rendkívül nehéz feladat, ezért a világon eddig kevés helyen hoztak létre *Triticum aestivum* L. × *Hordeum vulgare* L. hibrideket, fertilis utódvonalak előállításáról pedig eddig csak Ausztráliában és Japánban számoltak be. Martonvásáron célul tűztük ki agronómiai szempontból értékes árpa és búza fajtákkal történő hibrid előállítását, majd azokból az egyes árpa kromoszómákat tartalmazó búza/árpa addíciós vonalak létrehozását. A tudatos génátviteli munka elősegítése szempontjából rendkívül fontos az utódok kromoszóma összetételének meghatározása, melynek kiváló eszköze a fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH). A búza háttérben az idegen fajú kromoszómák genomi *in situ* hibridizációval (GISH) kimutathatók. Célunk volt a Martonvásáron létrehozott Mv9kr1 × Igrí és az Asakaze komugi × Manasz búza/árpa addíciós vonalakban az árpa kromoszómák azonosítása FISH-sel, GISH-sel és SSR markerekkel.



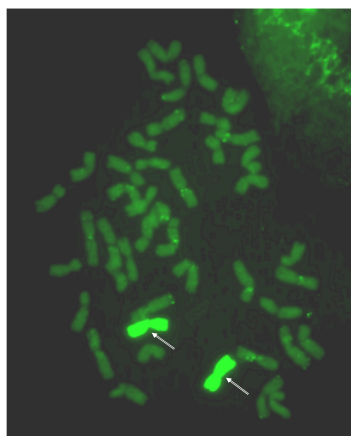
1. ábra. Mv9kr1/Igrí 6HS diteloszómás vonalban 6HS árpa kromoszómáinak kimutatása GISH-sel. A teljes árpa genomi DNS-t Fluororeddel jelöltük, így az árpa kromoszómák piros, a búza kromoszómák kékek.

## FISH próbák

## SSR markerek

HvT01 GAA	2H	Bmag0125 (2HL) Ebmca0415 (2HL)
HvT01 GAA	4H	HvM40 (4HS) HvM67 (4HL)
HvT01 Afa-family pTa71	6H	Bmag0040 (6HS) Bmag0009 (6HL)
HvT01 Afa-family	7H	Bmag0021 (7HS) HvID (7HL)

## Anyag és módszer



3. ábra. A 4H árpa kromoszópár (zöld, nyílak) kimutatása GISH-sel a 4H Asakaze komugi/Manasz addíciós vonalban. A teljes árpa genomi DNS-t biotinnal jelöltük, majd Streptavidin-FITC-vel detektáltuk (zöld), a búza kromoszómák jelöletlenek.

### Növényi anyag:

Mv9kr1 (*Triticum aestivum* L.) × Igrí (*Hordeum vulgare* L.) és az Asakaze komugi (*Triticum aestivum* L.) × Manasz (*Hordeum vulgare* L.) hibrieiből előállított búza/árpa addíciós vonalak (Molnár-Láng et al. 2005, Szakács és Molnár-Láng, 2007).

### FISH, GISH:

Gyökércsúcsból készített kromoszóma preparátum.

DNS próbák: FISH: Afa family, GAA, HvT01, pAs1, pTa71

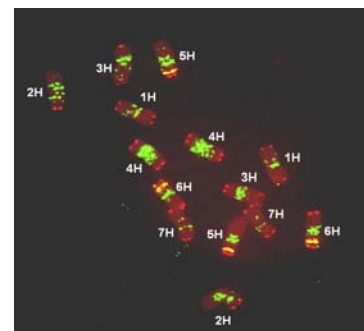
GISH próba: Teljes árpa genomi DNS

Jelölés: Nick transláció, Fluorored, Biotin, Digoxigenin

Detektálás: Streptavidin-FITC, Antidig-rhodamin

*In situ* hibridizáció: 37 ill. 42 °C, Szakács és Molnár-Láng (2007) által leírt módon

SSR- marker analízis: 15 SSR- marker vizsgálata. Módszer: Molnár-Láng et al. (2005)

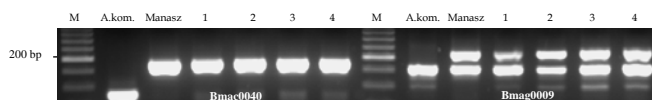


4. ábra. Három különböző színnel jelölt FISH próba - GAA (zöld), HvT01 (piros) és pTa71 (sárga) - kombinációjával azonosított árpa kromoszómák.

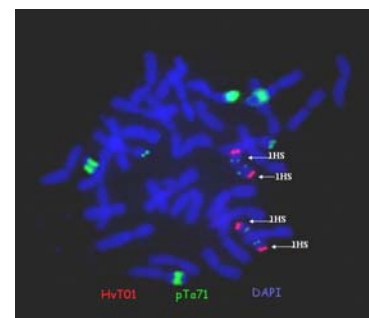
## Eredmények és következtetések

Mv9kr1 × Igrí kombinációból a következő addíciós vonalakkal rendelkezünk: diszómás 2H, 3H, 4H, 7H, diteloszómás 6HS és egy vonal, amely 1 pár 1HS izokromoszómát tartalmaz. Az addíciós sorozat egyes vonalai jellegzetes kalászmorfológiát mutatnak, melynek alapján felismerhetők. Genetikai stabilitásuk eltérő: legstabilabb a 2H és 3H, legkevésbé stabil az 1HS vonal. Asakaze komugi × Manasz kombinációból eddig 2H, 4H, 6H, és 7H diszómás addíciós vonalakkal rendelkezünk, és újabb addíciók azonosítása várható. Az árpa kromoszómákat GISH-sel (1., 3. ábra.) mutattuk ki és azonosításukat repetitív DNS próbákkal FISH-sel (2., 4., 6. ábra) végeztük. A citológiai azonosítást SSR markerekkel is megerősítettük (5. ábra.).

Az előállított addíciós vonalak értékes genetikai alapanyagok az egyes árpakromoszómákon lokalizált gének meghatározásához, térképezéséhez. Kiváló kiindulási alapanyagok továbbá az egyes árpa kromoszómákon lokalizált, hasznos agronómiai tulajdonságokért felelős gének beépítéséhez a búza genomba, búza/árpa transzlokációs vonalak létrehozásához.



5. ábra. A 6H Asakaze komugi × Manasz búza/árpa addíciós vonalban (1-4) a 6H kromoszóma azonosítása a Bmag0040 és Bmag0009 SSR markerekkel.



6. ábra. Mv9kr1 × Igrí hibridből származó 1HS izokromoszómákat tartalmazó vonal azonosítása HvT01 (piros) és pTa71 (zöld) FISH próbák alkalmazásával.

Kutatásainkat a Generation Challenge Program SP3 G4007.23, az OTKA K75381 és az AGRISAFE 203288 sz. EU-FP7-REGPOT 2007-1 pályázatok támogatták.

## Irodalom:

- Molnár-Láng, M., Novotny, C., Linc, G., Nagy, D. E. (2005): Changes in the meiotic pairing behaviour of a winter wheat- winter barley hybrid maintained for a long term in tissue culture, and tracing the barley chromatin in the progeny using GISH and SSR markers. *Plant Breeding* **124**, 247-251
- Szakács, É., Molnár-Láng, M. (2007): Development and molecular cytogenetic identification of new winter wheat - winter barley ('Martonvásári 9 kr1' - 'Igrí') disomic addition lines. *Genome* **50**, 43-50.