

**Kecskebúza (*Aegilops*) U és M genom specifikus mikroszatellit markerek kiválogatása  
búza–*Aegilops biuncialis* és búza–*Aegilops geniculata* addíciós vonalak segítségével  
Záró beszámoló OTKA PD 75450**

**Bevezetés**

Az *Aegilops biuncialis* ( $2n=4x=28$ ,  $U^bU^bM^bM^b$ ) egy allotetraploid, búzával rokon vad faj (van Slageren 1994), amely számos rezisztencia gént tartalmaz (só- és szárazságtűrés, betegség-ellenállóság, különböző rozsdabetegségek elleni rezisztencia; Molnár mtsai, 2004; Colmer és mtsai, 2006; összefoglalva ld. Schneider és mtsai, 2008). Az *Ae. biuncialis* jelentős szerepet játszik a termesztett búza genetikai állományának javításában, diverzitásának növelésében (van Slageren, 1994; Zaharieva és Monneveux, 2006). Az idegen fajokból történő génátvitel egyik lehetséges módja az addíciós (Schneider-Linc és mtsai, 2005), majd transzlokációs vonalak előállítása, míg a másik lehetséges módja a kromoszóma átrendeződések indukálása besugárzás segítségével (Molnár és mtsai, 2009). A kromoszómákkal történő idegen fajú génátvitel során fontos, hogy az idegen kromoszómákat és kromoszóma szegmentumokat nyomon kövessük, melyre széles körben alkalmazott módszer az *in situ* hibridizáció (Jiang és Gill, 1994; Markova és Vyskot, 2009). Az *Ae. biuncialis* nagy adaptálódó képességgel rendelkezik, amely a diploid *Ae. umbellulata* ( $2n=2x=14$ , UU) és a szintén diploid *Ae. comosa* ( $2n=2x=14$ , MM), természetes hibridizációjának köszönhető. Ez a nagy genetikai variabilitás az egyes *Aegilops* fajokon belül, így az *Ae. biuncialis* és az *Ae. geniculata* ( $2n=4x=28$ ,  $U^sU^sM^sM^s$ ) különböző génbanki tételei között is, jelentős különbségeket (polimorfizmus) okoz az egyes kromoszómák fluoreszcens *in situ* hibridizációs (FISH) mintázataiban (Badaeva és mtsai, 1996 a,b; Schneider-Linc és mtsai, 2005; Molnár és mtsai, 2011). A nagyfokú FISH polimorfizmus miatt szükséges lenne a Martonvásáron előállított addíciós vonalakban ( $1U^b$ ,  $3U^b$ ,  $2M^b$ ,  $3M^b$  és  $7M^b$ ; Schneider-Linc és mtsai, 2005) az *Ae. biuncialis* kromoszómák FISH azonosítását molekuláris markerek (mikroszatellit, SSR markerek) segítségével megerősíteni.

A gabonafélék genomját napjainkig széleskörűen vizsgálták SSR markerek segítségével (összefoglalva ld. Landjeva és mtsai, 2007). Ennek ellenére kevés SSR markert írtak le a különböző *Aegilops* fajokon (Peil és mtsai, 1998; Lelley és mtsai, 2000; Pestsova és mtsai, 2000b; Zhang és mtsai, 2001; Adonina és mtsai, 2005) és az U ill. M genomok kromoszómáira specifikus mikroszatellit markerek száma is korlátozott (Dhaliwal és mtsai, 2002; Zaharieva és mtsai, 2003; Schneider és mtsai, 2010a). Kutatásaink célja, hogy az *Ae. biuncialis* U ill. M genomjának kromoszómáira specifikus búza mikroszatellit markereket

válogassunk ki. A búza mikroszatellit markerek nagy hányada, a termesztett búza és az *Ae. biuncialis* közeli rokonságának köszönhetően, PCR terméket ad az *Ae. biuncialis* is. Kísérleteink során az első feladat azoknak a búza mikroszatellit markereknek a kiválogatása, melyek polimorf, eltérő fragmenthosszal rendelkező PCR terméket adnak a búzához képest. Ezt követően a polimorf markerek U ill. M genom kromoszóma specifikitását vizsgáljuk a búza–*Ae. biuncialis* (Logojan és Molnár-Láng, 2000; Molnár-Láng és mtsai, 2002; Schneider-Linc és mtsai, 2005) és a búza–*Ae. geniculata* (Friebe és mtsai, 1999) addíciós sorozatok segítségével. Az U ill. M genom kromoszómákra specifikus markerek felhasználhatók lesznek a különböző *Ae. biuncialis* és/vagy *Ae. geniculata* kromoszómák és kromoszóma szegmentumok nyomon követésére a különböző genetikai anyagokban.

### **A pályázathoz szorosan kapcsolódó kutatások során elért eredmények**

#### **U ill. M genom specifikus búza SSR markerek vizsgálata búza–*Aegilops* addíciós vonalak segítségével**

Eddigi vizsgálataink során 194 db búza SSR markert vizsgáltunk az Mv9kr1 búzatörzsön és *Ae. biuncialis*on (1. táblázat, 1. és 2. ábra), melyek közül 151 db (77,83%) adott polimorf vagy nem polimorf PCR terméket az *Ae. biuncialis*on. Hetvenöt marker (38,65%) nem mutatott polimorfizmust az Mv9kr1 és az *Ae. biuncialis* között. Harminchárom marker (17,01%) esetében PCR termék keletkezését figyeltük meg az Mv9kr1-en, míg nem kaptunk PCR terméket az *Ae. biuncialis*on (1. táblázat). További 76 marker (39,18%) polimorfizmust mutatott az Mv9kr1 és az *Ae. biuncialis* között, tehát az Mv9kr1-en kapott termék fragmenthossza különbözött az *Ae. biuncialis*on kapott termék fragmenthosszától (1. táblázat, 1. és 2. ábra). Ezeket a markereket vizsgáltuk a rendelkezésre álló búza–*Ae. biuncialis* és a búza–*Ae. geniculata* addíciós vonalak segítségével. Eddigi vizsgálataink során 3 db (1,54%) búza SSR marker volt specifikus a vizsgált búza–*Aegilops* addíciós vonalak U ill. M genomjának valamely kromoszómájára (Schneider és mtsai, 2010 a,b). Lehetséges, hogy a többi polimorf marker, melyeket nem sikerült eddig lokalizálni, olyan kromoszómákon található, melyekből nem rendelkezünk addíciós vonallal. Az eddig vizsgált 194 db búza mikroszatellit markerből 72 db a búza A genomjára, 40 db a B genomjára, míg 82 db a D genomjára specifikus (1. táblázat). A 40 db B genom specifikus marker közül 27 db (67,5%) amplifikált PCR terméket az *Ae. biuncialis*on, míg a 72 db A genom specifikus és a 82 db D genom specifikus búza SSR marker közül 57 (79,16%) A genom specifikus, ill. 63 db (76,82%) D genom specifikus búza SSR marker adott PCR terméket az *Ae. biuncialis* genomján. Ez az eredmény alátámasztja a korábbi megfigyeléseket, melyek szerint a búza A

és D genomja nagyobb homeológiát mutat az U ill. M genomokkal, mint a búza B genomja (Fernandez-Calvin és Orellana, 1992; Cifuentes és Benavente, 2009).

A búza SSR markerek addíciós vonalakon történő vizsgálata előtt szükséges volt a kísérletekben felhasznált búza–*Ae. biuncialis* és búza–*Ae. geniculata* addíciós vonalak citológiai kontrolljára. A kromoszómaszám megállapítása elengedhetetlen annak megállapításához, hogy a növény, melyet felhasználunk az SSR analízishez ténylegesen tartalmazza az adott *Ae. biuncialis* vagy *Ae. geniculata* kromoszómapárt. A növényeket a DNS izoláláshoz fitotronban neveltük és fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH) ellenőriztük az idegen kromoszómapár jelenlétét. Az eddig Martonvásáron előállított addíciós vonalak közül mindegyik tartalmazta az *Ae. biuncialis* kromoszómapárt, míg az *Ae. geniculata* addíciós sorozat esetében a 3M<sup>s</sup> és a 6U<sup>s</sup> addíciós vonalokból eliminálódott az *Ae. geniculata* kromoszómapár, így az SSR analízishez ezeket az addíciós vonalakat nem tudtuk felhasználni.

Vizsgálataink során eddig 3 búza mikroszatellit marker (*Xgwm44*, *Xgdm61* és *Xbarc184*) adott specifikus sávot U ill. M genomok valamely kromoszómáján a vizsgált búza–*Aegilops* addíciós vonalakban (3. ábra, 4. ábra és 2. táblázat; Schneider és mtsai, 2010a). Az *Xgwm44*, a búza 7D kromoszómájára specifikus markerrel a búzára jellemző PCR termék mellett megfigyeltünk egy, a búzára jellemző sávnál nagyobb fragmentumot a búza–*Ae. biuncialis* 2M<sup>b</sup>, 3M<sup>b</sup> és 49/00 számú azonosítatlan addíciós vonalain (3. ábra, 4. ábra és 2. táblázat). Az *Ae. biuncialis* 2M<sup>b</sup>, 3M<sup>b</sup> és egy ismeretlen kromoszómájára specifikus marker sávja kb. 150 bp hosszú (3. ábra, 4. ábra és 2. táblázat). Ez a sáv nem volt látható a búza–*Ae. geniculata* 2M<sup>s</sup> addíciós vonalon. Az *Xgdm61*, (Pestsova et al. 2000a) a búza 4D kromoszómájára specifikus markerrel a búzára jellemző DNS fragmentum mellett egy a búza PCR termékénél nagyobb DNS fragmentumot láttunk a búza–*Ae. biuncialis* 2M<sup>b</sup>, 3M<sup>b</sup> és 49/00 számú azonosítatlan addíciós vonalain. Az *Ae. biuncialis* 2M<sup>b</sup>, 3M<sup>b</sup> és a 49/00 azonosítási számú ismeretlen addíciós vonal kromoszómájára specifikus marker sávja kb. 150 bp hosszú (3. ábra, 4. ábra és 2. táblázat). Ez a sáv nem volt megfigyelhető a búza–*Ae. geniculata* 2M<sup>s</sup> addíciós vonalon (3. ábra, 2. táblázat), tehát polimorfizmus jelnet meg a búza–*Ae. biuncialis* és a búza–*Ae. geniculata* addíciós vonalak között. Ez az eredmény azt mutatja, hogy az *Xgwm44* és *Xgdm61* marker csak a búza és az *Ae. biuncialis* 2M<sup>b</sup> és 3M<sup>b</sup> kromoszómák közötti kromoszóma átépülések követésére alkalmas. Az *Xbarc184*, (Somers et al. 2004) 7D és 4A kromoszóma specifikus marker esetében a búzára jellemző sáv mellett, amely kb. 200 bp hosszú, egy nagyobb kb. 400 bp hosszú DNS fragmentum jelent meg az *Ae. biuncialis*on, az *Ae. geniculata*on és a búza–*Ae. geniculata* 7U<sup>s</sup> addíciós vonalon (3. ábra és 2. táblázat). Az

*Xbarc184* markerrel kismértékű polimorfizmust figyeltünk meg az *Ae. biuncialis* MvGB642 és az *Ae. geniculata* MvGB613 és MvGB434 sávhossza között (nem látható a csatolt ábrákon).

Az *Ae. biuncialis* nagy genetikai diverzitása miatt az SSR markerekkel végzett vizsgálatok eredményei eltérhetnek egymástól, attól függően, hogy az *Ae. biuncialis* mely génbanki tételét használjuk az SSR analízis során. Az U ill. M genom kromoszómáira specifikus búza SSR markerek szelekciója során, ezért rendkívül fontos volt, hogy a búza–*Ae. biuncialis* és a búza–*Ae. geniculata* addíciós vonalak előállításához használt szülői *Ae. biuncialis* ill. *Ae. geniculata* génbanki tételket használjuk fel. Az SSR markerek kiválogatása során problémát okozhatott az is, hogy a búza–*Ae. biuncialis* és a búza–*Ae. geniculata* addíciós vonalak előállításához különböző búza genotípusokat használtak (Mv9kr1, Chinese Spring), amely szintén befolyásolhatja az addíciós sorozatokon kapott eredményeket, ezért az addíciós sorozatok SSR analízise során mindenképpen szükséges volt mindkét búza szülőpartner használata. Röder és mtsai (1998) a Chinese Spring modell búzafajtán írták le a búza SSR markerek lokalizációját, melyhez képest az Mv9kr1 búzatörzs több marker esetében is polimorfizmust mutatott (1. ábra), amely szintén befolyásolhatja a végeredményt. Az U ill. M genom specifikus molekuláris markerek szelekciója során világossá vált, hogy a búza SSR markerek nem lokalizálhatók teljes körűen az U ill. M genom kromoszómáin, mert nem rendelkezünk a teljes búza–*Ae. biuncialis* addíciós sorozattal, ill. a búza–*Ae. geniculata* addíciós vonalakon kapott eredmények nem adaptálhatók a Martonvásáron előállított búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalakra. Ez feltételezéseink szerint azzal magyarázható, hogy az *Ae. biuncialis* és az *Ae. geniculata* között nagy a genetikai variabilitás. Az előbb felsorolt okok miatt tehát hasznos lenne teljes búza–*Ae. biuncialis* addíciós sorozat előállítása az U ill. M genom specifikus markerek kiválogatásához és teljes körű kromoszómális lokalizációjához. Eddig Martonvásáron a 2M<sup>b</sup>, 3M<sup>b</sup>, 7M<sup>b</sup>, 1U<sup>b</sup> és 3U<sup>b</sup> búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalakat állítottuk elő (Schneider-Linc és mtsai, 2005), melyek nem szolgáltatnak teljes körű információt búza SSR markerek U ill. M genom kromoszómáin történő elhelyezkedéséről. Ezért kísérleteink során célunk volt új búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalak előállítása a búza–*Ae. biuncialis* hibridek utódainak BC<sub>2</sub> és BC<sub>3</sub> nemzedékeiből, melyek elősegítik a géntranszfert az *Ae. biuncialis*-ból a termesztett búzába és lehetővé teszik a búza SSR markerek teljes körű lokalizációját az *Ae. biuncialis* kromoszómáin.

Az U ill. M genom specifikus markerek szelekciójával kapcsolatos eredményekből egy nemzetközi publikáció megjelent az 'Euphytica' c. folyóiratban (IF: 1,597) és két további cikket közöltünk az 'Acta Agronomica Hungarica' c. folyóiratban.

Lókusz	Kromoszomális lokalizáció a búzában	Amplifikáció az <i>Ae. biuncialis</i> -on
<i>Xbarc1046</i>	7D	-
<i>Xbarc111</i>	7D	++
<i>Xbarc126</i>	7D	++
<i>Xbarc172</i>	7D	++
<b><i>Xbarc184</i></b>	<b>7D, 4A</b>	<b>++</b>
<i>Xbarc192</i>	7D	-
<i>Xbarc214</i>	7D	+
<i>Xbarc29</i>	7D	++
<i>Xbarc53</i>	7D	-
<i>Xbarc64</i>	7D	+
<i>Xcfa2019</i>	7D	+
<i>Xcfa2123</i>	7D	+
<i>Xcfa2257</i>	7D	-
<i>Xcfd69</i>	7D	+
<i>Xgdm130</i>	7D	-
<i>Xgdm142</i>	7D	++
<i>Xgdm150</i>	7D	++
<i>Xgdm34</i>	4D	++
<i>Xgdm35</i>	2D	+
<i>Xgdm46</i>	7D	++
<b><i>Xgdm61</i></b>	<b>4D</b>	<b>++</b>
<i>Xgdm67</i>	7D	-
<i>Xgdm84</i>	7D	+
<i>Xgdm86</i>	7D	++
<i>Xgdm98</i>	6D	++
<i>Xgwm10</i>	2A	+
<i>Xgwm102</i>	2D	+
<i>Xgwm106</i>	1D	nm
<i>Xgwm107</i>	4B	+
<i>Xgwm108</i>	6D	+
<i>Xgwm11</i>	1B	++

<i>Xgwm111</i>	7D	+
<i>Xgwm114</i>	3B, 3D	++
<i>Xgwm120</i>	2B	++
<i>Xgwm121</i>	5D, 7D	+
<i>Xgwm122</i>	2A	++
<i>Xgwm124</i>	1B	++
<i>Xgwm126</i>	5A	+
<i>Xgwm129</i>	2B, 5A	++
<i>Xgwm130</i>	7A	+
<i>Xgwm135</i>	1A	++
<i>Xgwm136</i>	1A	+
<i>Xgwm146</i>	7B	nm
<i>Xgwm148</i>	2B	-
<i>Xgwm149</i>	4B	-
<i>Xgwm154</i>	5A	+
<i>Xgwm155</i>	3A	++
<i>Xgwm156</i>	5A	++
<i>Xgwm157</i>	2D	++
<i>Xgwm16</i>	2B, 5D, 7D	+
<i>Xgwm160</i>	4A	+
<i>Xgwm161</i>	3D	+
<i>Xgwm162</i>	3A	+
<i>Xgwm164</i>	1A	++
<i>Xgwm165</i>	4A, 4B, 4D	+
<i>Xgwm169</i>	6A	+
<i>Xgwm174</i>	5D	++
<i>Xgwm179</i>	5A	++
<i>Xgwm181</i>	3B	+
<i>Xgwm182</i>	5D	++
<i>Xgwm183</i>	3D	+
<i>Xgwm186</i>	5A	+
<i>Xgwm190</i>	5D	++
<i>Xgwm192</i>	5D	++
<i>Xgwm194</i>	4D	+

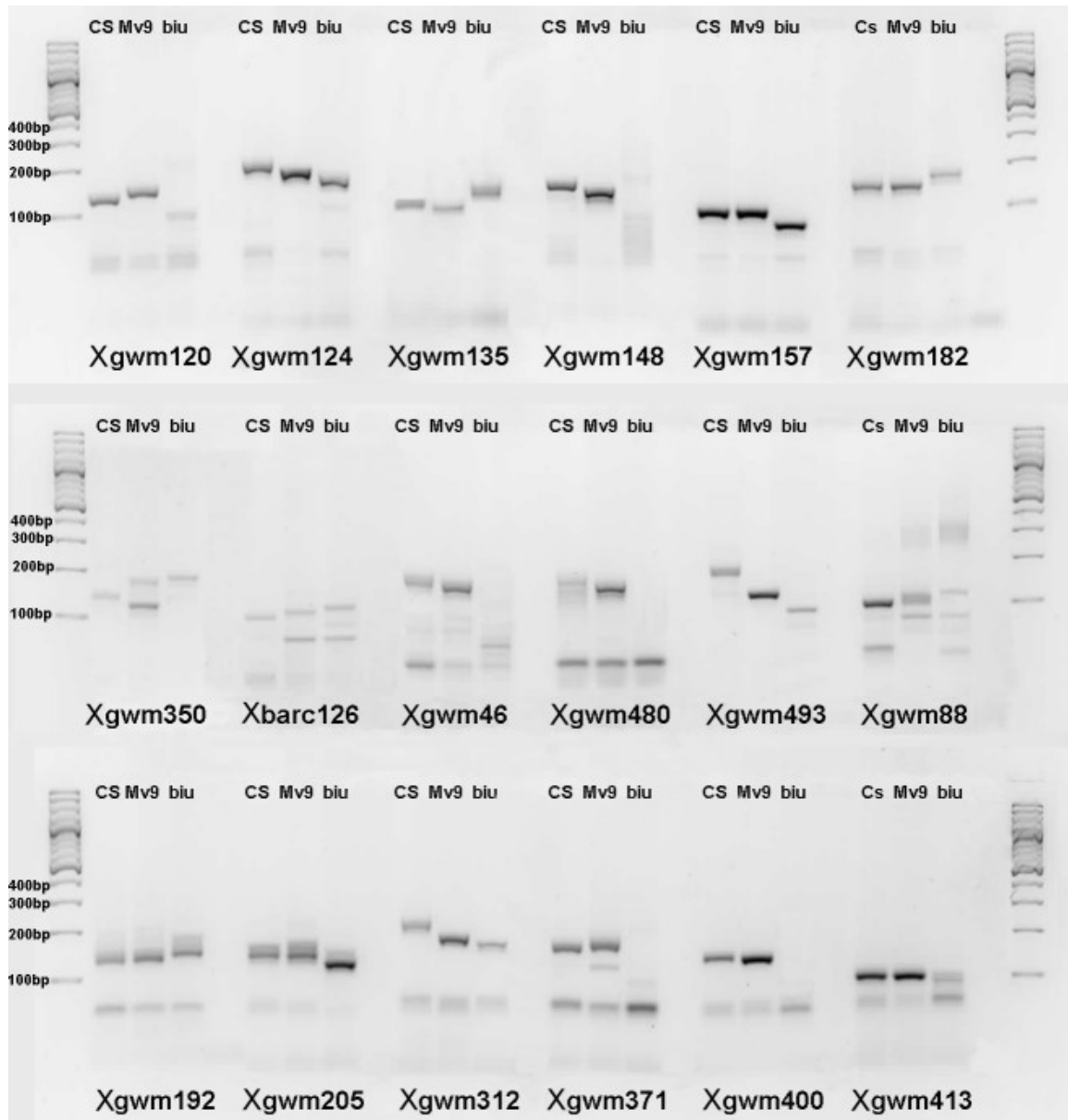
<i>Xgwm2</i>	3A, 3D	++
<i>Xgwm205</i>	5A, 5D	++
<i>Xgwm210</i>	2B, 2D	++
<i>Xgwm212</i>	5D	nm
<i>Xgwm219</i>	6B	++
<i>Xgwm232</i>	1D	++
<i>Xgwm233</i>	7A	+
<i>Xgwm234</i>	5B	+
<i>Xgwm249</i>	2D	++
<i>Xgwm251</i>	4B	++
<i>Xgwm257</i>	2B	++
<i>Xgwm269</i>	5D	+
<i>Xgwm260</i>	7A	nm
<i>Xgwm261</i>	2D	nm
<i>Xgwm271</i>	5D	+
<i>Xgwm272</i>	5D	-
<i>Xgwm275</i>	2A	+
<i>Xgwm276</i>	7A	-
<i>Xgwm282</i>	7A	nm
<i>Xgwm291</i>	5A	++
<i>Xgwm292</i>	5D	++
<i>Xgwm293</i>	5A	-
<i>Xgwm294</i>	2A	++
<i>Xgwm295</i>	7D	+
<i>Xgwm296</i>	2D, 2A	++
<i>Xgwm3</i>	3D	-
<i>Xgwm30</i>	2D, 3A	++
<i>Xgwm301</i>	2D	+
<i>Xgwm302</i>	7B	+
<i>Xgwm304</i>	5A	-
<i>Xgwm311</i>	2A, 2D	++
<i>Xgwm312</i>	2A	++
<i>Xgwm314</i>	3D	+
<i>Xgwm320</i>	2D	+

<i>Xgwm325</i>	6D	+
<i>Xgwm328</i>	2A	++
<i>Xgwm33</i>	A1, 1B, 1D	+
<i>Xgwm332</i>	7D	+
<i>Xgwm334</i>	6A	-
<i>Xgwm337</i>	1D	+
<i>Xgwm341</i>	3D	+
<i>Xgwm349</i>	2D	-
<i>Xgwm350</i>	7D, 7A	++
<i>Xgwm356</i>	2A	++
<i>Xgwm357</i>	1A	++
<i>Xgwm358</i>	5D	++
<i>Xgwm359</i>	2A	++
<i>Xgwm369</i>	3A	+
<i>Xgwm37</i>	7D	nm
<i>Xgwm371</i>	5B	-
<i>Xgwm372</i>	2A	+
<i>Xgwm382</i>	2A, 2B, 2D	++
<i>Xgwm383</i>	3D	++
<i>Xgwm391</i>	3A	+
<i>Xgwm397</i>	4A	-
<i>Xgwm4</i>	4A	+
<i>Xgwm400</i>	7B	-
<i>Xgwm408</i>	5B	-
<i>Xgwm410</i>	2B, 5A	++
<i>Xgwm413</i>	1B	+
<i>Xgwm415</i>	5A	-
<i>Xgwm425</i>	2A	++
<i>Xgwm427</i>	6A	-
<i>Xgwm428</i>	7D	-
<i>Xgwm437</i>	7D	++
<b><i>Xgwm44</i></b>	<b>7D</b>	<b>++</b>
<i>Xgwm445</i>	2A	++
<i>Xgwm448</i>	2A	++

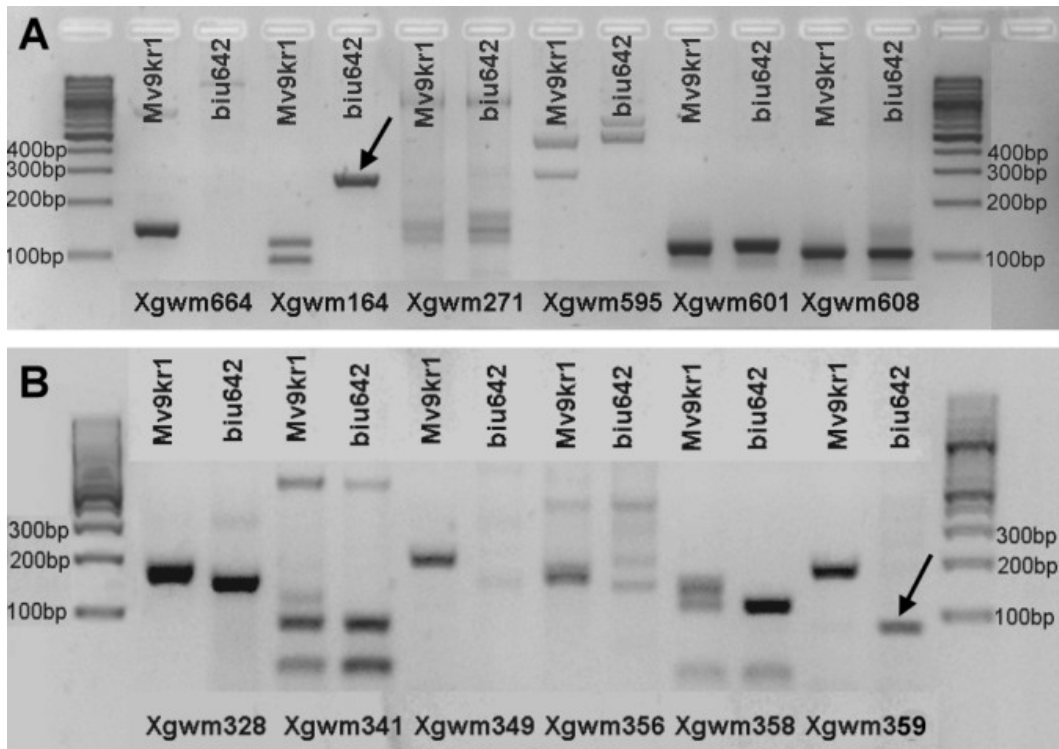
<i>Xgwm455</i>	2D	++
<i>Xgwm456</i>	3D	+
<i>Xgwm459</i>	6A	-
<i>Xgwm46</i>	7B	-
<i>Xgwm469</i>	6D	+
<i>Xgwm471</i>	7A	+
<i>Xgwm473</i>	2A	++
<i>Xgwm480</i>	3A	-
<i>Xgwm484</i>	2D	++
<i>Xgwm493</i>	3B	++
<i>Xgwm494</i>	6A	+
<i>Xgwm497</i>	1A, 2A, 3D	++
<i>Xgwm5</i>	3A	+
<i>Xgwm512</i>	2A	+
<i>Xgwm515</i>	2A, 2D	+
<i>Xgwm518</i>	6B	++
<i>Xgwm52</i>	3D	+
<i>Xgwm539</i>	2D	-
<i>Xgwm55</i>	2B, 6D	+
<i>Xgwm558</i>	2A	+
<i>Xgwm565</i>	5D	+
<i>Xgwm566</i>	3B	-
<i>Xgwm570</i>	6A	++
<i>Xgwm583</i>	5D	++
<i>Xgwm595</i>	5A	++
<i>Xgwm60</i>	7A	++
<i>Xgwm601</i>	4A	+
<i>Xgwm608</i>	2D, 4D	+
<i>Xgwm609</i>	4D	++
<i>Xgwm610</i>	4A	-
<i>Xgwm614</i>	2A	++
<i>Xgwm617</i>	5A, 6A	+
<i>Xgwm624</i>	4D	++
<i>Xgwm63</i>	7D	++

<i>Xgwm635</i>	7A, 7D	++
<i>Xgwm636</i>	2A	++
<i>Xgwm637</i>	4A	+
<i>Xgwm639</i>	5A, 5B, 5D	+
<i>Xgwm642</i>	1D	+
<i>Xgwm645</i>	3D	-
<i>Xgwm654</i>	5D	+
<i>Xgwm664</i>	3D	-
<i>Xgwm666</i>	1A, 3A, 5A, 7A	++
<i>Xgwm674</i>	3A	+
<i>Xgwm71</i>	2A, 3D	-
<i>Xgwm77</i>	3B	+
<i>Xgwm88</i>	6B	++
<i>Xgwm95</i>	2A	++
<i>Xgwm99</i>	1A	+
<i>Xwmc104</i>	6B	-
<i>Xwmc105</i>	6B	-
<i>Xwmc152</i>	6B	nm
<i>Xwmc182</i>	6B	+
<i>Xwmc417</i>	6B	+
<i>Xwmc419</i>	6B	+
<i>Xwmc506</i>	7D	+
<i>Xwmc539</i>	6B	nm
<i>Xwmc748</i>	6B	+
<i>Xwmc756</i>	6B	+
<i>Xwmc95</i>	6B	+

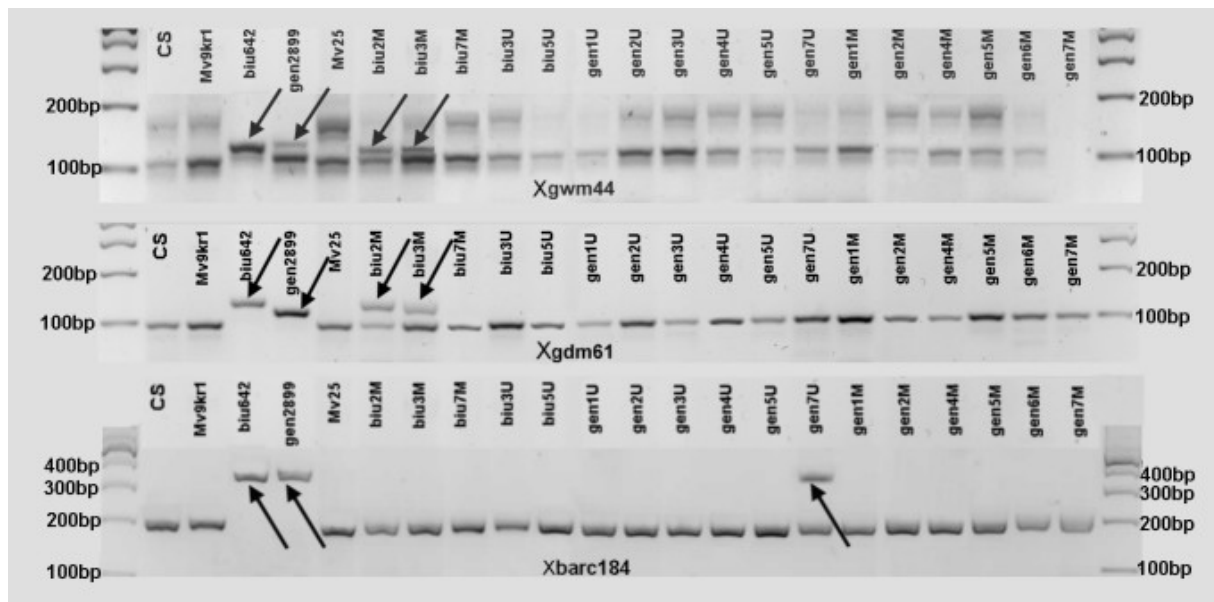
1. táblázat: a vizsgálatok során felhasznált búza mikroszatellit markerek listája a kromoszomális lokalizáció feltüntetésével (Röder és mtsai 1998, Pestsova és mtsai 2000a, Somers és mtsai 2004). A kromoszóma specifikus markerek félkövér betűvel vannak jelölve. (- nincs termék, + monomorf termék, ++ polimorf termék, nm nem működött a primer)



1. ábra: A Chinese Spring (CS), az Mv9kr1 (Mv9) búza genotípusok és az *Ae. biuncialis* MvGB642 számú génbanki tételének sávmintázata az *Xgwm120*, *Xgwm124*, *Xgwm135*, *Xgwm148*, *Xgwm157*, *Xgwm182*, *Xgwm350*, *Xbarc126*, *Xgwm46*, *Xgwm480*, *Xgwm493*, *Xgwm88*, *Xgwm192*, *Xgwm205*, *Xgwm312*, *Xgwm371*, *Xgwm400* és *Xgwm413* búza SSR markerekkel. Az előbb felsorolt markerek közül az *Xgwm120*, *Xgwm124*, *Xgwm135*, *Xgwm157*, *Xgwm182*, *Xgwm350*, *Xbarc126*, *Xgwm493*, *Xgwm88*, *Xgwm192*, *Xgwm205* és *Xgwm312* markerek adtak polimorf sávot az Mv9kr1-hez képest. A polimorf markerek közül a későbbi vizsgálatok során egy sem bizonyult az U ill. M genomok kromoszómáira specifikusnak.

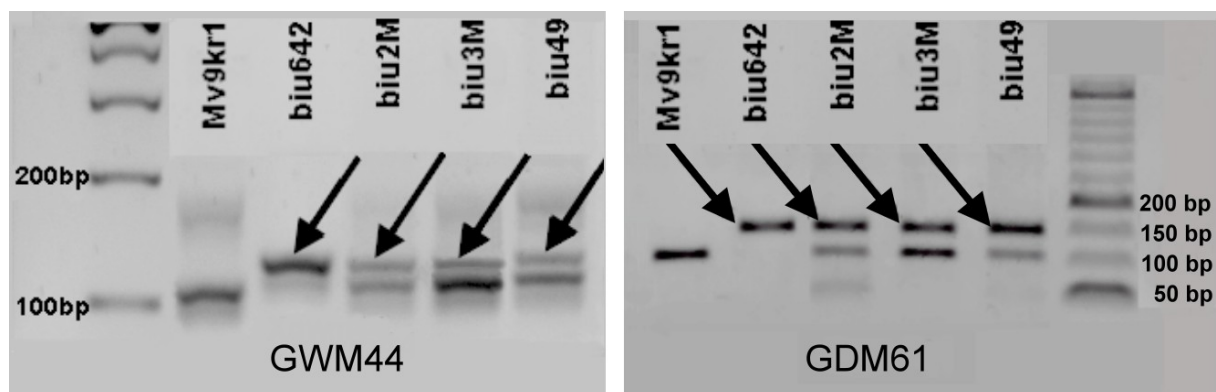


2. ábra: az Mv9kr1 (Mv9) búzatörzs és az *Ae. biuncialis* MvGB642 számú génbanki tételének sávmintázata A: az *Xgwm664*, *Xgwm164*, *Xgwm271*, *Xgwm595*, *Xgwm601* és *Xgwm608* búza SSR markerekkel B: az *Xgwm328*, *Xgwm341*, *Xgwm349*, *Xgwm356* és *Xgwm397* búza SSR markerekkel. A föbb, hosszpolimorfizmust mutató markerek PCR termékeit nyilakkal jelöltük.



3. ábra: Az *Xgwm44*, *Xgdm61* és *Xbarc184* búza SSR markerek vizsgálata a Chinese Spring (CS), Mv9kr1 (Mv9) búza genotípusokon, az *Ae. biuncialis* MvGB642 számú és az *Ae. geniculata* TA2889 számú génbanki tételén, az Mv25 búza genotípuson, a búza–*Ae. biuncialis* 2M<sup>b</sup>, 3M<sup>b</sup>, 7M<sup>b</sup>, 3U<sup>b</sup> és 5U<sup>b</sup> addíciós vonalakon és a búza–*Ae. geniculata* 1U<sup>s</sup>, 2U<sup>s</sup>, 3U<sup>s</sup>, 4U<sup>s</sup>, 5U<sup>s</sup>, 7U<sup>s</sup>, 1M<sup>s</sup>, 2M<sup>s</sup>, 4M<sup>s</sup>, 5M<sup>s</sup>, 6M<sup>s</sup> és 7M<sup>s</sup> addíciós vonalakon. A hosszpolimorfizmust mutató és az *Ae. biuncialis* vagy *Ae. geniculata* kromoszómáira specifikus sávokat nyilakkal jelöltük.





4. ábra: Az *Xgwm44* és *Xgdm61* búza SSR markerek sávmintázata az Mv9kr1 és Mv25 búza genotípusokon, az *Ae. biuncialis* MvGB642 (biu642) génbanki számú tételén, és a 2M<sup>b</sup> (biu2M), 3M<sup>b</sup> (biu3M) és 49/00 (biu49) azonosítási számú búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalakon. Az *Ae. biuncialis* kromoszómáira specifikus sávokat nyilakkal jelöltük.

Marker (irodalom)	Kromoszomális lokalizáció a búzában	U ill. M genom kromoszóma specifitás	Fragmenthossz a búza– <i>Aegilops</i> addíciós vonalakban
<i>Xgwm44</i> (Röder és mtsai 1998)	7D	2M <sup>b</sup> és 3M <sup>b</sup>	Kb. 150 bp
<i>Xgdm61</i> (Pestsova és mtsai 2000a)	4D	2M <sup>b</sup> és 3M <sup>b</sup>	Kb. 150 bp
<i>Xbarc184</i> (Somers és mtsai 2004)	7D és 4A	7U <sup>g</sup>	Kb. 400 bp

2. táblázat: Az *Xgwm44*, *Xgdm61* és *Xbarc184* U ill. M genom specifikus búza SSR markerek főbb tulajdonságai.

## Új búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalak előállítása

Vizsgálataink során négy búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalat és két perspektivikus búza–*Ae. biuncialis* vonalat állítottunk elő, melyek 3-3 különböző *Ae. biuncialis* kromoszómát tartalmaznak (5. és 6. ábra). A 1575/08 azonosítási számú vonal 42 db búza kromoszómát és az *Ae. biuncialis* 2U<sup>b</sup> kromoszómapárját tartalmazta (5. A ábra). A 2U<sup>b</sup> kromoszóma hibridizációs mintázata jellegzetes, pSc119.2 jelek vannak mindkét karon terminálisan és egy szubterminális Afa family jel található a hosszú karon. A 2U<sup>b</sup> kromoszóma akrocentrikusabb a 3U<sup>b</sup> kromoszómánál, ezért könnyen megkülönböztethetők egymástól annak ellenére, hogy a hibridizációs jelek hasonlók ezen a két kromoszómán. A 1564/08 számú vonalat 6M<sup>b</sup> búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalaként azonosítottuk a FISH mintázat alapján (5. B ábra). A 6M<sup>b</sup> szatellit kromoszómán egy terminális pSc119.2 és egy szubterminális Afa family hibridizációs jel figyelhető meg a hosszú karon, míg a szatellitjén egy gyenge és nem mindig detektálható Afa family hibridizációs jel látható. Ezen a kromoszómán a NOR régióban egy erős pTa71 jel helyezkedik el. A 6M<sup>b</sup> kromoszóma könnyen megkülönböztethető a többi szatellit *Ae. biuncialis* kromoszómától (1U<sup>b</sup>, 5U<sup>b</sup> és 1M<sup>b</sup>) a FISH mintázatok alapján. A 33/01 azonosítási számú vonal 42 db búza kromoszómát és egy 6U<sup>b</sup> kromoszómát tartalmazott (5. C ábra). A 6U<sup>b</sup> kromoszóma a legakrocentrikusabb az *Ae. biuncialis* kromoszómái közül, melyen egy erős terminális Afa family jel van a hosszú karon, míg a rövid karon egy proximális Afa family hibridizációs jel helyezkedik el. Az esetenként, a hosszú karon interkalárisan megfigyelhető pSc119.2 jel ezen a 6U<sup>b</sup> kromoszómán nem látható, de a kararánya megfelel a 6U<sup>b</sup> kromoszómának. A 1589/09 számú vonal 5U<sup>b</sup>, 3U<sup>b</sup> és 7U<sup>b</sup> kromoszómákat, míg a 1581/09 számú vonal 5M<sup>b</sup>, 6M<sup>b</sup> és 7M<sup>b</sup> kromoszómákat tartalmaz a búza kromoszómáin kívül (5. ábra D és E). Az előbb felsorolt kromoszómák FISH mintázata megegyezik a korábban leírt mintázatokkal (Schneider-Linc és mtsai, 2005; Molnár és mtsai, 2011). A 49/00 azonosítási számú vonal egy szubmetacentrikus *Ae. biuncialis* kromoszómapárt tartalmaz (5. F ábra). A FISH vizsgálat során nem volt hibridizációs jel látható az *Ae. biuncialis* kromoszómapáron a pSc119.2 és Afa family repetitív DNS próbákkal, ezért nem lehetett ezt az addíciós vonalat azonosítani (5. ábra F). A búza SSR markerek szelekciója során megfigyeltük, hogy az *Xgwm44* és *Xgdm61* búza mikroszatellit markerek specifikusak a 2M<sup>b</sup> és 3M<sup>b</sup> búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalakra, továbbá ez a kromoszóma specifikus sáv megfigyelhető volt a 49/00 számú azonosítatlan addíciós vonalban is (4. ábra). Ez alapján arra következtethetünk, hogy a 49/00 számú búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalban található *Ae. biuncialis* kromoszóma a 2M<sup>b</sup> és 3M<sup>b</sup>

kromoszómákkal homeológ szekvenciákat tartalmaz. A 49/00 vonalban található *Ae. biuncialis* kromoszóma azonosításához hibridizációt végeztünk a  $(GAA)_n$  szatellit DNS próba segítségével a  $2M^b$ ,  $3M^b$  és a 49/00 számú búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalakon. A  $(GAA)_n$  próbával történt hibridizáció alapján kijelenthetjük, hogy a 49/00 számú vonalban található *Ae. biuncialis* kromoszóma kararányai és  $(GAA)_n$  hibridizációs mintázata megfelelt a  $3M^b$  búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonal  $3M^b$  kromoszómájának (7. ábra). Badaeva és mtsai (1996a) megfigyelték, hogy a hibridizációs jelek mennyisége eltérő a  $3M$  kromoszómán a különböző *Aegilops* génbanki tételek között, sőt megfigyeltek olyan  $3M$  kromoszómát, melyen a hibridizációs jelek mennyisége nagyon kevés volt. Ez alapján azt feltételezhetjük, hogy a 49/00 azonosítási számú addíciós vonalban az *Ae. biuncialis* kromoszómáin a pSc119.2 és Afa family repetitív DNS szekvenciák mennyisége a kimutathatósági határ alá csökkent. Hasonló repetitív DNS szekvencia eliminációt már más *Triticum-Aegilops* hibridek utódaiban is megfigyeltek (Salina és mtsai, 2004; Baum és Feldman, 2010).

A 49/00 számú búza–*Ae. biuncialis* diszómás addíciós vonal kalásza különbözött  $2M^b$  és  $3M^b$  addíciók kalászeitől (nem látható a csatolt ábrákon). Az előbb felsorolt, Martonvásáron előállított addíciós vonalak kalászaik különböznek egymástól attól függően, hogy melyik *Ae. biuncialis* kromoszómát tartalmazzák. A  $2U^b$  addíciós vonal kalásza olyan jellegzetes morfológiai jegyeket mutat, melyek alapján szelektálható és felszaporítható a tenyészkerben és a fitotronban. A  $7U^b$ ,  $5U^b$  és  $3U^b$  kromoszómákat hordozó és a  $5M^b$ ,  $6M^b$  és  $7M^b$  kromoszómákat tartalmazó vonalak kalászaik az *Ae. biuncialis*hoz hasonlítanak (6. ábra). Az előállított addíciós vonalak utódait is megvizsgáltuk, hogy hordozzák-e az idegen kromoszómákat (3. táblázat). Vizsgálataink során megfigyeltük, hogy a  $2U^b$  búza–*Ae. biuncialis* diszómás addíciós vonal stabil, az utódok 91%-a tartalmazza a  $2U^b$  *Ae. biuncialis* kromoszómát (3. táblázat). Ezt az addíciós vonalat tenyészkerben és fitotronban is szaporítjuk, így a rendelkezésre álló növények és szemek száma folyamatosan nőni fog. A  $6M^b$  diszómás addíciós vonal egyetlen növényegyede sajnos steril volt, de ez a vonal még létezik monoszómás addíciós vonalaként, melyből kb. 80 növényrel rendelkezünk. Ezek a növények lehetővé teszik a  $6M^b$  diszómás addíció újbóli szelekcióját. A  $6U^b$  monoszómás addíciós vonal utódai nem tartalmazták a  $6U^b$  kromoszómát (3. táblázat). A  $7U^b$ ,  $5U^b$  és  $3U^b$  kromoszómákat hordozó és a  $5M^b$ ,  $6M^b$  és  $7M^b$  kromoszómákat tartalmazó vonalak nagyon gyenge fertilitással rendelkeztek, mindkét növényen 1-1 szemet kaptunk, de a szülőpartnerek lehetővé teszik, hogy újabb vonalakat válogassunk ki. A  $7U^b$ ,  $5U^b$  és  $3U^b$  kromoszómákat hordozó vonal utóda nagyon gyengén csírázott, ezért nem lehetett a FISH vizsgálatot

elvégezni ezen a növényen, mely később a vernalizáció során elpusztult. A 5M<sup>b</sup>, 6M<sup>b</sup> és 7M<sup>b</sup> kromoszómákat tartalmazó vonal utódában a 6M<sup>b</sup> és 7M<sup>b</sup> *Ae. biuncialis* kromoszómákat mutattuk ki FISH-sel (3. táblázat). A növény fitotronban történő felnevelése jelenleg folyamatban van. A 49/00 számú addíciós vonal stabil, a tenyészkertben is felszaporítottuk, ezért nagy mennyiségű növény és szem van ebből a vonalból. Az előbb ismertetett vizsgálataink is bizonyítják, hogy az addíciós vonalak kiválogatása hosszú folyamat, mely során több nemzedék szelekciója és felnevelése szükséges.

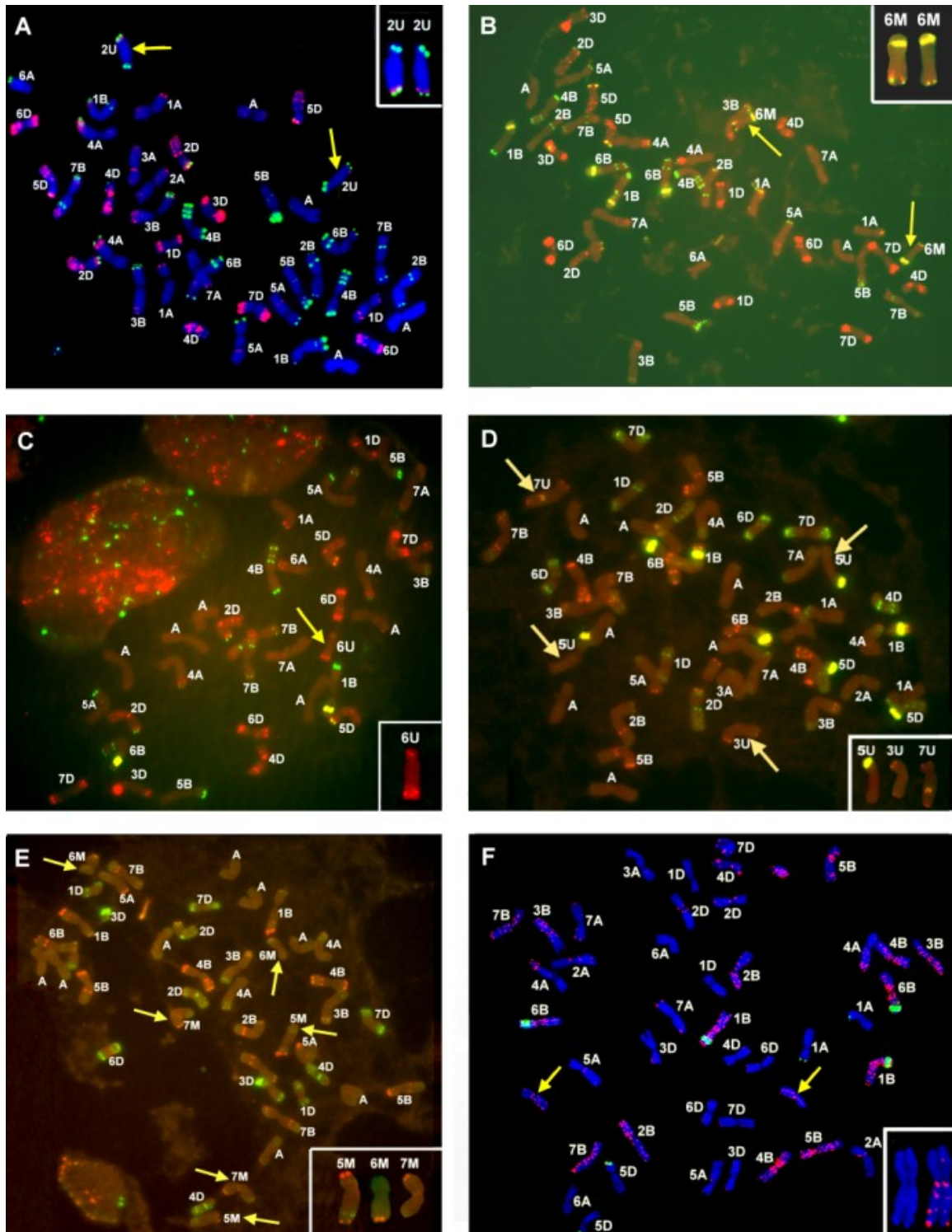
Az új addíciós vonalak kiválogatásával kapcsolatos eredményekből a kézirat elkészült, melyet a 'Journal of Genetics and Genomics' c. folyóiratban szeretnénk publikálni (IF 2010: 1,494).

### **A pályázathoz kapcsolódó egyéb kutatások során elért eredmények**

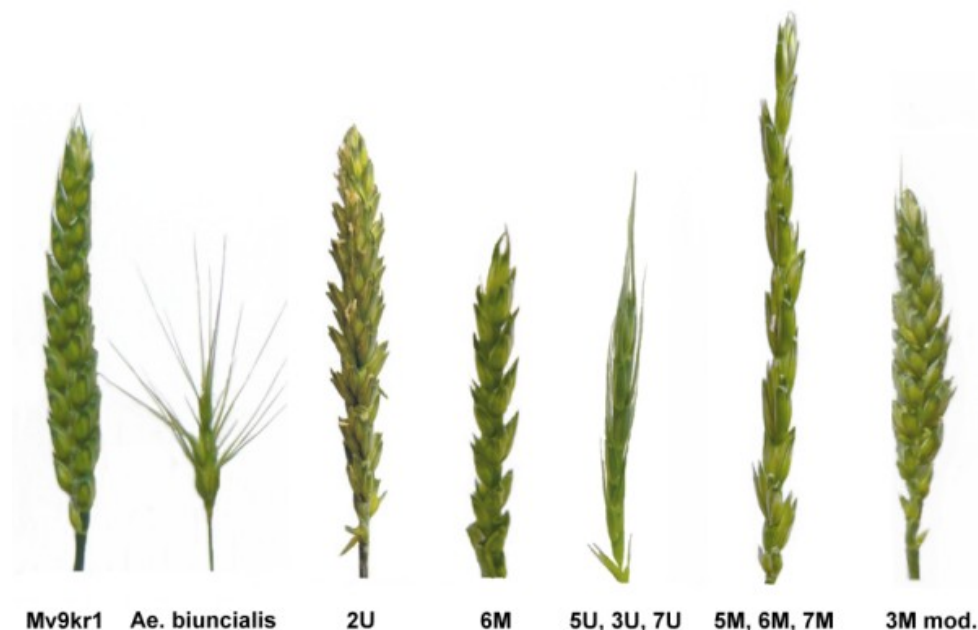
#### **A Szófiában előállított 2M<sup>s</sup>(2A) búza–*Ae. geniculata* szubsztitúciós vonal azonosítása FISH-sel**

A Szófiában előállított búza–*Ae. geniculata* szubsztitúciós vonal (Landjeva és mtsai, 2011) FISH kariotípusának elkészítését Martonvásáron Dr. Svetlana Landjeva bolgár kutató egy együttműködési pályázat keretében végezte el. A fluoreszcens és genomi *in situ* hibridizációs (FISH és GISH) elemzés során megállapították, hogy a szubsztitúciós vonalban valamely M<sup>s</sup> genomhoz tartozó kromoszómapár a 2A búza kromoszómapárt helyettesíti (Landjeva és mtsai, 2011). A ?M<sup>s</sup>(2A) szubsztitúciós vonal előállításához szülőpartnerként használt *Ae. geniculata* vonal sajnos már nem áll rendelkezésre, így a ?M<sup>s</sup>(2A) vonalban található M<sup>s</sup> kromoszóma mintázatát nem lehetett a szülőpartner *Ae. geniculata* vonal FISH mintázatához hasonlítani. A szubsztitúciós vonalban található M<sup>s</sup> kromoszóma FISH mintázatát összehasonlítottuk a búza–*Ae. geniculata* addíciós sorozat M<sup>s</sup> kromoszómát tartalmazó vonalainak FISH mintázatával. A ?M<sup>s</sup>(2A) vonalban található M<sup>s</sup> kromoszóma kararánya és FISH mintázata teljesen azonos volt a 2M<sup>s</sup> búza–*Ae. geniculata* addíciós vonalban megtalálható 2M<sup>s</sup> kromoszóma kararányával és FISH mintázatával (8. ábra). A vizsgálatok tehát megerősítik, hogy egy homeológ kromoszómapárt helyettesítő, kompenzáló típusú szubsztitúciót állítottak elő Bulgáriában. Ez a szubsztitúciós vonal a jövőben hasznosnak bizonyulhat a U ill. M genom specifikus markerek szelekciója során, az egyes markerek kromoszomális lokalizációjának megállapításakor.

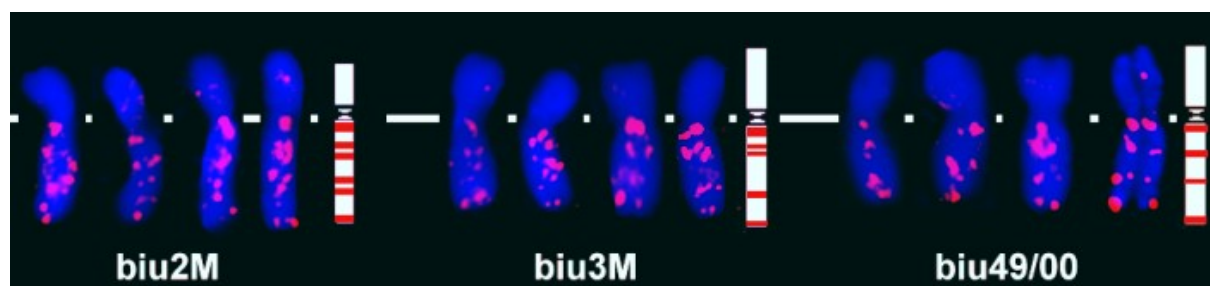
A 2M<sup>s</sup>(2A) búza–*Ae. geniculata* szubsztitúciós vonal előállításáról, molekuláris citogenetikai azonosításáról és fiziológiai tulajdonságainak vizsgálatáról egy cikk megjelenés alatt van a 'Plant Breeding' c. folyóiratban (IF 2010: 1,391), melyben a jelen OTKA pályázat témavezetője az egyik társszerző.



5. ábra: A búza–*Ae. biuncialis* BC<sub>2</sub> és BC<sub>3</sub> generációk fluoreszcens *in situ* hibridizációs (FISH) mintázata kromoszóma preparátumokon a mitózis metafázisában. Az *Ae. biuncialis* kromoszómákat nyilakkal jelöltük. Az *Ae. biuncialis* kromoszómákat a jobb alsó vagy jobb felső sarkokban kinagyítva láthatók. **A:** A 2U<sup>b</sup> búza–*Ae. biuncialis* diszómás addíciós vonal FISH mintázata pSc119.2 (zöld) és Afa family (piros) repetitív DNS próbákkal. **B, C:** A 6M<sup>b</sup> diszómás és a 6U<sup>b</sup> monoszómás addíciós vonal FISH mintázata pSc119.2 (zöld), Afa family (piros) és pTa71 (sárga) DNS próbákkal. **D:** Az 5U<sup>b</sup>, 3U<sup>b</sup> és 7U<sup>b</sup> kromoszómákat tartalmazó vonal FISH mintázata pSc119.2 (piros), Afa family (zöld) and pTa71 (sárga) DNS próbákkal. **E:** Az 5M<sup>b</sup>, 6M<sup>b</sup> és 7M<sup>b</sup> kromoszómákat hordozó vonal FISH mintázata a pSc119.2 (piros) és Afa family (zöld) DNS próbákkal. **F:** A 49/00 azonosítási számú búza–*Ae. biuncialis* diszómás addíciós vonal FISH mintázata a (GAA)<sub>n</sub> (piros) és pTa71 (zöld) DNS próbákkal. Az *Ae. biuncialis* kromoszómapár egyik tagjának FISH mintázata a pSc119.2, Afa family (balra) és a (GAA)<sub>n</sub> (piros), pTa71 (zöld) (jobbra) DNS próba kombinációkkal a jobb alsó sarokban kinagyítva láthatók.



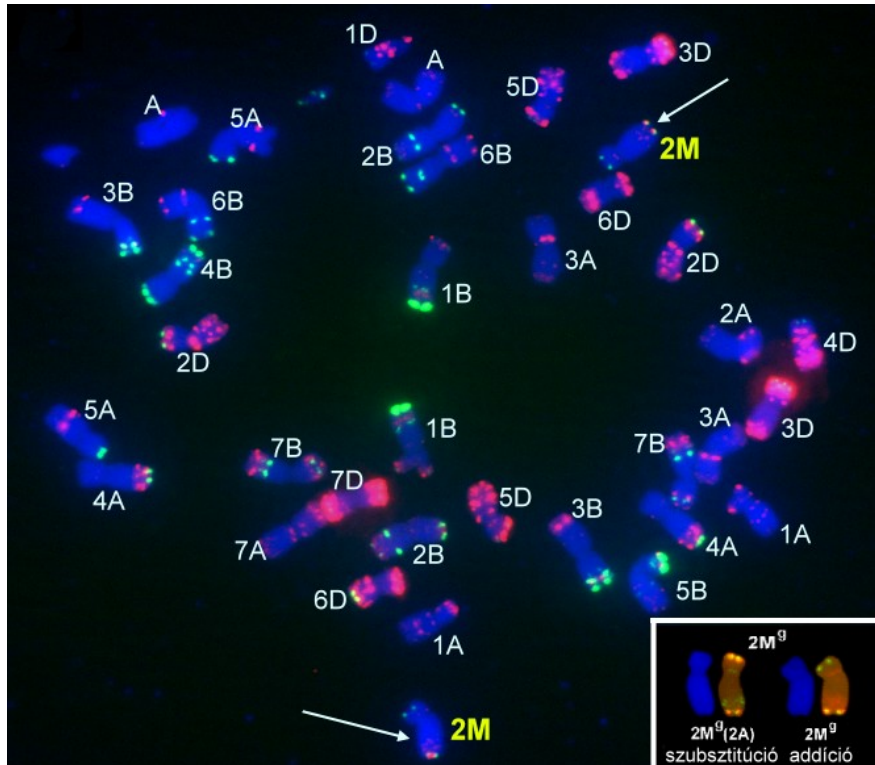
6. ábra: Balról jobbra az Mv9kr1 búzatörzs, az *Ae. biuncialis* MvGB642 génbanki számú tétel, a 2U<sup>b</sup> és 6M<sup>b</sup> diszómás búza–*Ae. biuncialis* vonal, az 5U<sup>b</sup>, 3U<sup>b</sup>, 7U<sup>b</sup> kromoszómákat és az 5M<sup>b</sup>, 6M<sup>b</sup>, 7M<sup>b</sup> kromoszómákat tartalmazó vonalak és a módosult 3M<sup>b</sup> kromoszómát hordozó 49/00 azonosítási számú diszómás addíciós vonal kalászei.



7. ábra: A 2M<sup>b</sup>, 3M<sup>b</sup> és 49/00 azonosítási számú búza–*Ae. biuncialis* diszómás addíciós vonalak 2M<sup>b</sup>, 3M<sup>b</sup> és azonosítatlan *Ae. biuncialis* kromoszómájának fluoreszcens *in situ* hibridizációs (FISH) mintázata és grafikus ábrázolása egyedi szomatikus kromoszómákon a (GAA)<sub>n</sub> mikroszatellit DNS próbával. Az ábrán megfigyelhető, hogy a 49/00 addíciós vonalban található *Ae. biuncialis* kromoszómák kararánya és FISH mintázata a 3M<sup>b</sup> búza–*Ae. biuncialis* addíciós vonalban található 3M<sup>b</sup> kromoszómák mintázatával egyezik meg.

Addíciós vonal azonosítási száma	<i>Ae. biuncialis</i> kromoszómák az addíciós vonalakban	Rendelkezésre álló növények száma	Rendelkezésre álló szemek száma	FISH-sel vizsgált szemek száma	<i>Ae. biuncialis</i> kromoszómák az addíciós vonalak utódaiban
1575/08	2U <sup>b</sup> diszómás	25	175	34	91,17%
1564/08	6M <sup>b</sup> diszómás	1	0	0	0
33/01	6U <sup>b</sup> monoszómás	1	100	39	0
1583/09	5U <sup>b</sup> , 3U <sup>b</sup> , 7U <sup>b</sup>	1	1	Nincs gyökér, nincs növény	Nincs gyökér, nincs növény
1581/09	5M <sup>b</sup> , 6M <sup>b</sup> , 7M <sup>b</sup>	1	1	1	6M <sup>b</sup> , 7M <sup>b</sup>
49/00	Modifikálódott 3M <sup>b</sup> diszómás	Több, mint 300	Több, mint 3000	70	99%

3. táblázat: A búza–*Ae. biuncialis* hibridek BC<sub>2</sub> és BC<sub>3</sub> nemzedékéből kiválogatott addíciós vonalakon végzett FISH vizsgálatok összefoglalása táblázat formájában.



8. ábra: A  $2M^g$  búza–*Ae. geniculata* diszómás addíciós vonal FISH mintázatának felhasználása a Szófiában, Bulgáriában előállított búza–*Ae. geniculata*  $2M^g(2A)$  szubsztitúciós vonal azonosításához. A hibridizáció a pSc119.2 (zöld) és Afa family (piros) DNS próbákkal történt. A  $2M^g(2A)$  szubsztitúciós vonal és a  $2M^g$  addíciós vonal  $2M^g$  kromoszómája a jobb alsó sarokban kinagyítva látható, melyen megfigyelhető a hibridizációs jelek elhelyezkedésének azonossága. [A jobb alsó sarokban a  $2M^g(2A)$  szubsztitúció kinagyított kromoszómáján (balra) a pSc119.2 DNS próba piros, az Afa family DNS próba zöld, míg a  $2M^g$  addíciós vonal kromoszómáján (jobbra) a pSc119.2 DNS próba zöld, az Afa family DNS próba piros.]

## Irodalomjegyzék

- Adonina, I.G., Salina, E.A., Pestsova, E.G., Röder, M.S., 2005. Transferability of wheat microsatellites to diploid *Aegilops* species and determination of chromosomal localizations of microsatellites in the S genome. *Genome* 48, 959–970.
- Badaeva, E.D., Friebe, B., Gill, B.S., 1996a. Genome differentiation in *Aegilops*. 1. Distribution of highly repetitive DNA sequences on chromosomes of diploid species. *Genome* 39, 293–306.
- Badaeva, E.D., Friebe, B., Gill, B.S., 1996b. Genome differentiation in *Aegilops*. 2. Physical mapping of 5S and 18S-26S ribosomal RNA gene families in diploid species. *Genome* 39, 1150–1158.
- Baum, B.R., Feldman, M., 2010. Elimination of 5S DNA unit classes in newly formed allopolyploids of the genera *Aegilops* and *Triticum*. *Genome* 53, 430–438.
- Cifuentes, M., Benavenete, E., 2009. Wheat-alien metaphase I pairing of individual wheat genomes and D genome chromosomes in interspecific hybrids between *Triticum aestivum* L. and *Aegilops geniculata* Roth. *Theor. Appl. Genet.* 119, 805–813.
- Colmer, T.D., Flowers, T.J., Munns, R., 2006. Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *J. Exp. Bot.* 57, 1059–1078.
- Dhaliwal, H.S., Harjit-Singh, William, M., 2002. Transfer of rust resistance from *Aegilops ovata* into bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and molecular characterisation of resistant derivatives. *Euphytica* 126, 153–159.
- Fernandez-Calvin, B., Orellana, J. 1992. Relationship between pairing frequencies and genome affinity estimations in *Aegilops ovata* x *Triticum aestivum* hybrids plants. *Heredity* 68, 165–172.
- Friebe, B., Tuleen, N., Gill, B.S., 1999. Development and identification of a set of *Triticum aestivum*–*Aegilops geniculata* chromosome addition lines. *Genome* 42, 374–380.
- Jiang, J., Friebe, B., Gill, B.S., 1994. Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica* 73, 199–212.
- Landjeva, S., Kocheva, K., Karceva, T., Sepsi, A., Molnár, I., Schneider, A., Ganeva, G., Georgiev, G., Molnár-Láng, M. 2011. Molecular cytogenetic identification of a wheat- *Aegilops geniculata* Roth spontaneous chromosome substitution and its effects on the growth and physiological responses of seedlings to osmotic stress. *Plant Breeding* (in press)
- Landjeva, S., Korzun, V., Börner, A., 2007. Molecular markers: actual and potential contributions to wheat characterisation and breeding. *Euphytica* 156, 271–296.
- Lelley, T., Stachel, M., Grausgruber, H., Vollmann, J., 2000. Analysis of relationships between *Aegilops tauschii* and the D genome of wheat utilizing microsatellites. *Genome* 43, 661–668.
- Logojan, A.A., Molnár-Láng, M., 2000. Production of *Triticum aestivum*–*Aegilops biuncialis* chromosome additions. *Cereal Res. Commun.* 28, 221–228.
- Markova, M., Vyskot, B., 2009. New horizons of genomic *in situ* hybridization. *Cytogenetic and Genome Research* 126, 368–375.
- Molnár, I., Benavente, E., Molnár-Láng, M., 2009. Detection of intergenomic chromosome rearrangements in irradiated *Triticum aestivum*–*Aegilops biuncialis* amphiploids by multicolour genomic *in situ* hybridization. *Genome* 52, 156–165.
- Molnár, I., Cifuentes, M., Schneider, A., Benavente, E., Molnár-Láng, M. 2011. Association between SSR-rich chromosome regions and intergenomic translocation breakpoints in natural populations of allopolyploid wild wheats. *Annals of Botany* 107, 65–76.



- Molnár, I., Gáspár, L., Sárvári, É., Dulai, S., Hoffmann, B., Molnár-Láng, M., Galiba, G., 2004. Physiological and morphological responses to water stress in *Aegilops biuncialis* and *Triticum aestivum* genotypes with differing tolerance to drought. *Functional Plant Biology* 31, 1149–1159.
- Molnár-Láng, M., Linc, G., Nagy, E.D., Schneider, A., Molnár, I., 2002. Molecular cytogenetic analysis of wheat-alien hybrids and derivatives. *Acta Agron. Hung.* 50, 303–311.
- Peil, A., Korzun, V., Schubert, V., Schumann, E., Weber, W.E., Röder, M.S. 1998. The application of wheat microsatellites to identify disomic *Triticum aestivum*-*Aegilops markgrafii* addition lines. *Theor. Appl. Genet.* 96, 138–146.
- Pestsova, E., Ganal, M.W., Röder, M.S., 2000a. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43, 698–697.
- Pestsova, E., Korzun, V., Goncharov, N.P., Hammer, K., Ganal, M.W., Röder, M.S., 2000b. Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 101, 100–106.
- 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.
- Salina, E.A., Numerova, O.M., Ozkan, H., Feldman, M., 2004. Alterations in subtelomeric tandem repeats during early stages of allopolyploidy in wheat. *Genome* 47, 860–867.
- Schneider, A., Linc, G., Molnár, I., Molnár-Láng, M., 2005. Molecular cytogenetic characterization of *Aegilops biuncialis* and its use for the identification of five derived wheat-*Aegilops biuncialis* disomic addition lines. *Genome* 48, 1070-1082.
- Schneider, A., Molnár, I., Molnár-Láng, M., 2008. Utilisation of *Aegilops* (goatgrass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. *Euphytica* 163, 1–19.
- Schneider, A., Molnár, I., Molnár-Láng, M., 2010a. Selection of U and M genome-specific wheat SSR markers using wheat-*Aegilops biuncialis* and wheat-*Ae. geniculata* addition lines. *Euphytica* 175, 357–364.
- Schneider, A., Molnár, I., Molnár-Láng, M., 2010b. Production and FISH identification of wheat-*Aegilops biuncialis* addition lines and their use for the selection of U and M genome specific molecular (SSR) markers. *Acta Agron. Hung.* 58, 151–158.
- Somers, D.J., Isaac, P., Edwards, K., 2004. A high-density wheat microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 109, 1105–1114.
- Van Slageren, M.W., 1994. Wild wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub and Spach) Eig (Poaceae). Wageningen, Wageningen Agricultural University papers
- Zaharieva, M., Monneveux, P., 2006. Spontaneous hybridization between bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and its wild relatives in Europe. *Crop Science* 46, 512–527.
- Zaharieva, M., Suenaga, K., William, H.M., Mujeeb-Kazi, A., 2003. Microsatellite markers for identification of *Aegilops geniculata* Roth. M- and U-genome chromosomes in wheat background. *Ann. Wheat Newsl.* 49, 75–78.
- Zhang, H., Reader, S.M., Liu, X., Jia, J.Z., Gale, M.D., Devos, K.M., 2001. Comparative genetic analysis of the *Aegilops longissima* and *Ae. sharonensis* genomes with common wheat. *Theor. Appl. Genet.* 103, 518–525.