



**SZENT ISTVÁN
EGYETEM**

GÖDÖLLŐ

**NÖVÉNYTUDOMÁNYI DOKTORI
ISKOLA**

**RÉGI MAGYAR BÚZAFAJTÁK KALÁSZFUZÁRIUM-
ELLENÁLLÓSÁGÁT MEGHATÁROZÓ GENETIKAI
FAKTOROK VIZSGÁLATA**

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Varga-László Emese

Gödöllő

2018

A doktori iskola

Megnevezése: Szent István Egyetem Növénytudományi

Doktori Iskola

Tudományága: Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok

Vezetője: Dr. Helyes Lajos

egyetemi tanár, MTA doktora
Szent István Egyetem
Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Kertészeti Technológiai Intézet

Témavezető Dr. Vida Gyula

tudományos osztályvezető
MTA Agrártudományi Kutatóközpont
Mezőgazdasági Intézet

az iskolavezető jóváhagyása

a témavezető jóváhagyása

A munka előzményei, kitűzött célok

A Kárpát-medence területe éghajlati adottságainál fogva a minőségi gabona-termesztésnek kedvez, a jó minőségű gabona exportja pedig hazánk egyik nemzet-gazdasági szinten is fontos bevételi forrása, ezért különös tekintettel kell lenni minden mennyiségi és minőségi károkat egyaránt okozó tényezőre. Amelyek közül kiemelkedő jelentőségűek a búzában csíranövény-pusztulás, gyökér- és szártőrothadás, továbbá kalász- és szemfertőződés okozó különböző *Fusarium* fajok. A legszembetűnőbb kórkép, a kalász fuzáriumos megbetegedése. A kalászfertőzés következtében drasztikusan csökkenhet a termés mennyisége, romolhat a sütőipari minőség és a csírázási erély. A minőségi és mennyiségi veszteségeken túl a *Fusarium* fajok másodlagos anyagcsereterméként humán- és állategészségügyi szempontból is veszélyes mikotoxinokat (dezoxinivalenol, nivalenol, zearalenon, T-2 toxin stb.) termelnek, melyek meghatározott határérték feletti előfordulása feldolgozásra alkalmatlanná teszi a terményt. Jelenlétük különösen káros és veszélyes, hiszen a szennyezett terményből utólagos eltávolításuk nem megoldott, hőstabil molekulákról lévén szó a feldolgozás során sem számolhatunk a lebomlásukkal.

A kalászfuzárium Magyarországon már az 1920-as évek óta ismert betegség, az első országos epidémia azonban csak 1970-ben következett be, ami az intenzívebbé váló termesztési eljárások és a fertőzéshez kedvező időjárási feltételek mellett a fajták fogékonyságával is magyarázható, ugyanakkor az 1920-as és az 1970-es évek között eltelt, országos epidémiától mentes időszakban megfigyelt elhanyagolható mértékű fertőzöttséghez nagy valószínűséggel a köztermesztésben lévő fajták genetikai háttere is hozzájárulhatott.

Jelen kutatás célja egy régi magyar és egy modern, martonvásári nemesítésű búzafajta keresztezéséből létrehozott populáció vizsgálatával a kalászfuzáriózissal szembeni ellenállóság felmérése, valamint a tulajdonságot kódoló genetikai faktorok, kromoszómarégiók azonosítása.

Anyag és módszer

A vizsgált növényanyag ismertetése

'BKT9086-95'

Martonvásáron korábban számos Bánkúti eredetű törzs szántóföldi kalászfuzárium rezisztenciáját vizsgáltuk. E kísérletben ismert rezisztencia-forrásokat, valamint fogékony kontroll fajtát is teszteltünk, melyeket a 'Bánkúti 1201' törzsekkel azonos módszerrel kezeltünk. A vizsgált törzsek közül a 'BKT9086-95' jelű törzs kalászfuzáriummal szemben konzekvensen az ellenálló kontroll fajtával ('Sumai 3') megegyező szinten rezisztensnek bizonyult, így ezt a törzset jelöltük ki a fuzárium-ellenállóságot meghatározó genetikai régió azonosítására felhasználandó térképező populáció rezisztens szülőjének.

'Mv Magvas'

Az Mv Magvas fajta a Martonvásáron rutinszerűen végzett kalászfuzáriózis-ellenállóság meghatározása alapján azonban a fajta a betegségre az átlagosnál érzékenyebbnek bizonyult. Ennek a tulajdonságnak az ismeretében választottuk ki fogékony keresztezési partnerként a populáció kialakítása során.

A térképező populáció előállítás

SSD módszerrel 250 törzset alakítottunk ki (Martonvásáron, 2001-től), e törzseket használva azonosíthatjuk a 'BKT9086-95' KF rezisztenciájával összefüggő kromoszómarégiókat (a vizsgálatokat F₅ generációtól kezdtük).

Rezisztenciavizsgálatok

A fertőzőanyag előállítása

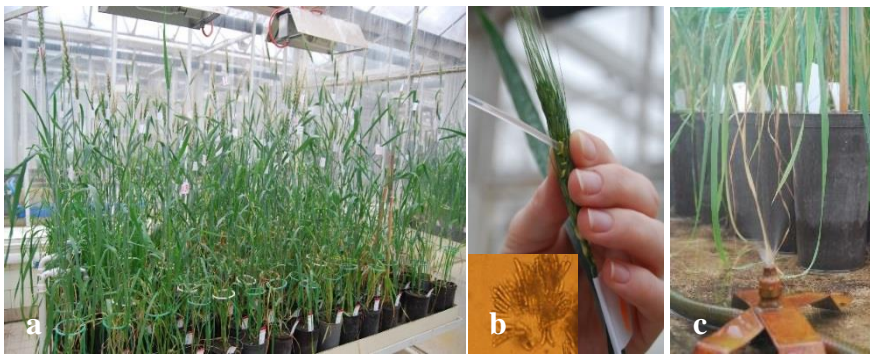
A fertőzéshez IFA66 *F. graminearum* és IFA104 *F. culmorum* izolátumot használtunk. Az izolátumokat tartós tenyészetekben tartottuk fent, sterilizált föld/homok keverékben. A monokonídiumos tenyészetet SNA (synthetischer Nährstoffarmer Agar) táptalajról indítottuk.

A mesterséges fertőzéshez szükséges mennyiséget *F. graminearum* esetében mungó-bab folyékony táptalajban, illetve a *F. culmorum* inokulumot autoklávban sterilizált búza-zab szemkeveréken szaporítottuk fel. A *Fusarium graminearum* tápoldatból vákuum szivattyú segítségével eltávolítottuk a képződött micéliumtömeget, majd szűrés után meghatároztuk a konídiumok koncentrációját. *Fusarium culmorum* esetében a búza-zab keverékről desztillált vízzel

mostuk le a makrokonídiumokat, és a szuszpenzió koncentrációját vizsgáltuk.

Mesterséges fertőzés és a fertőzöttség értékelése

A konídium koncentrációt mind az üvegházi, mind a szántóföldi fertőzés esetében $5 \cdot 10^5$ -en db/ml-re állítottuk be, majd a virágzó kalász felső egyharmadában lévő kalászká 1-1 virágába $5 \mu\text{l}$ szuszpenziót juttattunk. Az MTA Agrártudományi Kutatóközpont, Mezőgazdasági Intézetének kísérleti üvegházában ellenőrzött körülmények között 3 évben (2007-2009) végeztünk kísérleteket, melyek során a növényeket kalászkainjektáló módszerrel mesterségesen fertőztük, *F. culmorum* izolátummal (1. ábra). Minden kísérletben négy ismétlésben végeztük a teszteléseket.

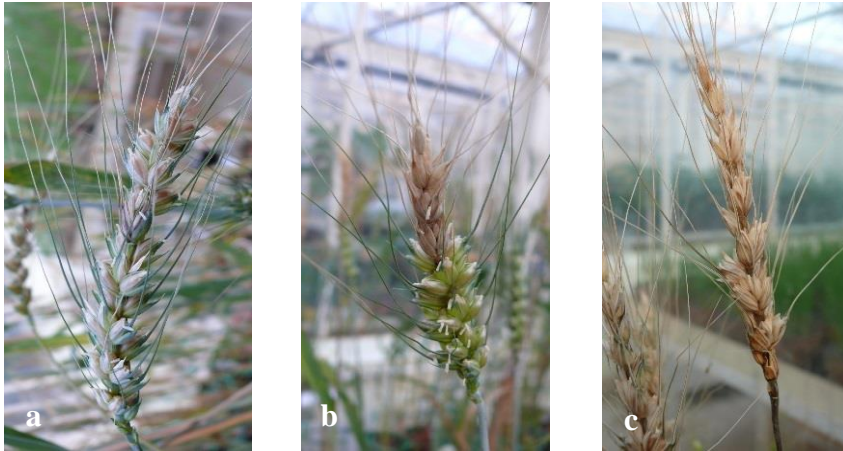


1. ábra: Növénynevelő kamra (a – térképező populáció, b – a mesterséges fertőzés menete, c – kiegészítő párasítással)
(Martonvásár, 2007).

A mesterséges fertőzést követően 3 napig speciális pára kamrában biztosítottuk a gomba számára kedvező magas páratartalmat (80-90%). A fertőzött kalászkákat a kalásztartó szártagra ragasztott öntapadó címkével jelöltük, a fertőzés időpontját is feltüntetve.

A szántóföldi kísérleteket intézetünk fuzárium tenyészkertjében végeztük el ($47^{\circ}18'47''$ észak, $18^{\circ}46'24''$ kelet) 2006-2011 között. A növényeket kétsoros parcellákba vetettük, melyek hossza 2 m, a sortávolság 20 cm volt. A fertőzéshez szükséges páratartalmat ködképző öntözéssel biztosítottuk. A fertőzendő kalászkákat öntapadó címkével jelöltük, minden esetben feltüntetve az ismétlés számát, a fertőzéshez használt kórokozót, valamint a fertőzés dátumát. Kórokozónként 5-5 növényt inokuláltunk. A szántóföldi kísérletekben felveteleztük a virágzás időpontját, a növény magasságát (talajtól a kalász csúcsáig), és a kalászkák hosszát is.

Az értékelést mind az üvegházi, mind pedig a szántóföldi körülmények között azonos rendszer szerint végeztük. A fertőzéssel egy időben feljegyeztük a fertőzött kalászkák kalászcsumától számított helyzetét, valamint az összes kalászkák számát is, a fertőzött kalászkák arányát %-ban adtuk meg. A tünetek kialakulását az injekciót követő 7. 14. és 21. napon értékeltük (2. ábra), a fertőzött kalászkák csúcsától számított pozíciójának megadásával.



2. ábra: 21. napi fertőzöttségi tünetek üvegházi kísérletben (a – ellenálló genotípus, b – mérsékelt ellenálló, c – fogékony) (Martonvásár, 2007).

A hétnaponta végzett fertőzött kalászkák számlálás eredményeiből kiszámítottuk a betegség előrehaladási görbe alatti terület nagyságát is (AUDPC, area under the disease progress curve), amely adatokból a fertőzés időbeni lefutására következtethetünk.

A fenotípusos adatok statisztikai értékelése

Az adatok statisztikai értékelését az R programcsomaggal végeztük, a paraméteres próbák követelményeinek megfelelően a minták eloszlását Shapiro-Wilk módszerrel vizsgáltuk, a szórás homogenitását Levene-tesztel ellenőriztük. Az összefüggések vizsgálatára variancia analízist és korreláció számítást alkalmaztunk.

Molekuláris vizsgálati módszerek

DNS kivonás növényi mintákból

A kísérletekben 250 törzs és a szülők növényi mintáiból Qiagen DNeasy Plant Mini Kittel történt a DNS kivonás, a gyártó előírásainak megfelelően (F₆ generációból). A minták DNS mennyiségét NanoDrop 1000 spektrofotométerrel (Thermo Scientific, USA)

határoztuk meg. Az így kapott templátokat a PCR reakció elvégzéséig -20 °C-on tároltuk.

DNS alapú markerek (SSR, AFLP, SNP)

Kezdeti lépésként a szülők közti eltéréseket vizsgáltuk a rendelkezésre álló SSR és AFLP primerekkel. A reakciótermékek elválasztását és a minták detektálását SSR markerek esetében Li-Cor 4200 (Li-Cor Biosciences, USA) készülékkel végeztük, 6%-os poliakrilamid gélen.

Az AFLP fragmentumokat 7%-os poliakrilamid gélen választottuk el, a mintázat elemzését Typhoon Trio™ (GE Healthcare, UK) rendszerrel végeztük (570 nm, 670 nm és 520 nm hullámhosszon).

Azokat a genotípusokat, amelyeknek üvegházban minden évben és minden ismétlésben teljes adatsorával rendelkezünk, Illumina Infinium (TraitGenetics, Németország) 20k búza chip használatával is elemeztük.

QTL meghatározás

Az AFLP és SSR markereken alapuló genetikai adatbázison marker-tulajdonság analízist végeztünk. Az SNP markerek pszeudo referencia genomban elfoglalt pozíciója alapján a GAPIT – Genome Association and Prediction Integrated Tool programcsomag felhasználásával vizsgáltuk a markerek és a kalászfuzáriózis közötti kapcsolat lehetőségét. Az egyes vonalak jellemzésére az üvegházi, illetve szántóföldi adatsor átlagait, valamint a teljes kísérletre vonatkoztatott BLUP (best linear unbiased prediction) értékeket használtuk. A BLUP értékeket az lme4 programcsomaggal számítottuk.

A több kísérleti helyen és évjáratban szignifikáns hatású Affimatrix markerek ismert szekvenciája alapján BLAST (basic local alignment search tool) elemzést végzünk.

Eredmények

A 'BKT9086-95/Mv Magvas' keresztezésből származó utódtörzsek II. típusú rezisztenciájának felmérése üvegházi körülmények között

A 21. napi kalászfertőzöttség (%) tekintetében a populációt alkotó búzatörzsek értékei a teljes fertőzöttségi skálát lefedték. Az átlagos fertőzöttség 2009-ben volt a legnagyobb (65,20%), de a 2007. évi átlag is hasonlóan alakult (53,59%). Ezzel szemben 2008-ban az átlagos fertőzöttség értéke mindössze 24,12% volt (1. táblázat).

1. táblázat: Törzsek és a szülők évenkénti átlagos fertőzöttsége üvegházi körülmények között (n=175, Martonvásár, 2007-2009).

Kalászfertőzöttség (%)					
Szülők			Törzsek (n=173)		
	'BKT9086-95'	'Mv Magvas'	Átlag	Terjedelem	Szórás
2007	32,25	95,24	52,95	4,09-95,91	24,75
2008	12,00	94,43	24,17	5,15-96,45	17,99
2009	38,06	97,52	65,20	3,85-100,00	25,44

Megállapítottuk, hogy a törzsek átlagos fertőzöttségi értékei minden évben közel kétszeresen meghaladták a jobbik szülő ('BKT9086-95') fertőzöttségi értékeit, valamint a fogékony szülő ('Mv Magvas') kalászában a kórokozó szinte minden kalászkába képes volt eljutni és ott tüneteket kiváltani

A fertőzöttségi értékek kéttényezős varianciaanalízise $p < 0,001$ szinten szignifikáns összefüggést mutatott a genotípusok és a fertőzöttségi adatok között, mind a kalászfertőzöttségi százalék, mind pedig az AUDPC értékek vonatkozásában (2. táblázat). Ugyanakkor megállapítható, hogy a fuzáriumos fertőzöttség arányára statisztikailag igazolhatóan hatott az évjárat.

Üvegházi eredményeink alátámasztják a genetikailag meghatározott fuzárium-ellenállóság jelenlétét a vizsgált populációban. A gyakorlati nemesítés számára is használható, megfelelő hatású QTL stabilan kifejeződik eltérő környezeti feltételek mellett is, így ennek meghatározására a populációt a továbbiakban részletes szántóföldi vizsgálatoknak vetettük alá.

2. táblázat: A varianciaanalízis eredménye a 21. napi fertőzöttségi értékek és AUDPC adatok átlaga alapján, üvegházi körülmények között (n= 173+2 szülő, Martonvásár, 2007 és 2009).

Bon21					
	Df	SQ	MQ	F-érték	Pr (>F)
Genotípus	174	448802	2579	4,001	1,45e ⁻¹⁰ ***
Év	1	5751	5751	2,461	0,035 *
Genotípus×Év	174	123863	712	0,552	1,000
Maradványértékek	796	1026146	1289		
AUDPC					
	Df	SQ	MQ	F-érték	Pr (>F)
Genotípus	174	51294274	294795	2,361	1,2e-15 ***
Év	1	50592	50592	0,405	0,525
Genotípus×Év	174	16902477	97141	0,778	0,979
Maradványértékek	796	99403034	124878		

Sznifikancia szintek: '***' 0,001 '*' 0,05					

Df: szabadsági fok, SQ: négyzetösszeg, MQ: tapasztalati szórásnégyzet, Pr (>F): valószínűség

A 'BKT9086-95/Mv Magvas' utódtörzsek II. típusú rezisztenciájának felmérése szántóföldi körülmények között

Kalászfertőzöttség (%) tekintetében a populációt alkotó búzatörzsek értékei széles skálán mozogtak a szántóföldi körülmények között is (3. táblázat), minden évben lefedve a teljes fertőzöttségi intervallumot. A legerősebb fertőzöttséget 2011-ben tapasztaltuk, mind a *F. culmorum* (53,16%), mind pedig a *F. graminearum* izolátum esetében (65,95%) a törzsek átlagában, míg a legkisebb átlagos fertőzöttséget 2006-ban figyeltük meg (25,27%). Az ellenálló- és a fogékony szülő mindhárom évben a rezisztencia szintjének megfelelő mértékben fertőződött.

Megállapítottuk, hogy a szülői genotípusok minden évben az ismert ellenálló képességüknek megfelelő pozíciót foglalták el. Minden évben azonosítottunk az ellenállóbb szülőnél kevésbé fertőződött genotípusokat, míg a fogékony 'Mv Magvas' az igen erős átlagos fertőzöttséggel jellemezhető 2011-es év kivételével a skála végpontján helyezkedett el. A legfontosabb azonban az a megfigyelés, hogy vizsgálataink során – az üvegházi megfigyeléseinkkel összhangban – azonosítottunk olyan genotípusokat, amelyekben a betegség nem, vagy csak minimális mértékben volt képes a fertőzés helyétől továbbterjedni.

3. táblázat: A törzsek és a szülők átlagos szántóföldi fertőzöttségi értékei (n=223, Martonvásár, 2006,2009,2011).

Kalászfertőzöttség (%)						
Szülők				Törzsek (n=221)		
	Tényező	'BKT 9086-95'	'Mv Magvas'	Átlag	Terjedelem	Szórás
2006	Fc	6,67	100,0	30,90	4,35-76,90	18,14
	Fg	8,51	92,86	25,27	4,35-92,56	14,14
2009	Fg	26,19	100,0	47,10	7,01-91,67	17,49
2011	Fc	25,53	72,75	53,16	8,95-100,00	18,83
	Fg	23,99	85,99	65,95	9,93-100,00	20,62
	Fc	16,10	86,38	42,03	4,37-100,00	18,22
	Fg	19,56	92,95	46,10	9,93-100,00	20,74
	Főátlag	18,18	89,67	44,48	11,19-90,83	12,99
Átlag	Növ. mag	125,0	85,00	115,6	85,00- 142,50	11,74
	Kal. idő	19,0	21,00	21,60	14,00-30,00	2,51
	Kal. töm.	1,67	2,50	2,10	1,53-2,78	0,28

Fc: *F. culmorum*, Fg: *F. graminearum*, Növ. mag: növénymagasság (cm), Kal. idő: kalászolási idő (május 1-től eltelt napok száma), Kal. töm.: kalásztömöttség (kalászsza db/cm)

A kalászfuzárium-ellenállásról a lehető legpontosabb kép többéves adatsorok vizsgálatával kapható. Ezért megvizsgáltuk a teljes kísérletre vonatkoztatva a genotípus, évjárat, fertőzési idő, növénymagasság, valamint a genotípus×évjárat kölcsönhatás fertőzöttségi értékekre gyakorolt hatását is. Mivel az egyes években eltérő ismétlésszámmal dolgoztunk, ezért a hároméves adatsor statisztikai értékelésénél kiegyensúlyozatlan ANOVA tesztet alkalmaztunk (4. táblázat).

Megállapítottuk, hogy a genotípus, az évjárat, valamint a fertőzési idő statisztikailag igazolhatóan hatással van mind a 21. napon tapasztalt fertőzöttségi értékekre, mind a betegség előrehaladási görbe alatti terület nagyságára. A növénymagasság és a kalásztömöttség a teljes kísérletre vonatkoztatva statisztikailag igazolhatóan hat a százalékban kifejezett fertőzöttségi értékekre, az AUDPC értékekre azonban nem. Ez a különbség arra utal, hogy a két mérőszám a közöttük lévő szoros összefüggés ellenére a rezisztencia szintjének jellemzése során egymást kiegészítő információval szolgálhat. A vonatkozó p és F-

értékek ismeretében megállapítható továbbá, hogy a betegség előrehaladási görbe alatti terület nagyságát kevésbé befolyásolja az évjárat hatása, mint a 21. napi fertőzöttségi értékeket. Az ANOVA eredménye alapján a genotípus×évjárat kölcsönhatás egyik vizsgált tulajdonság esetében sem volt statisztikailag igazolható. Ez azt bizonyítja, hogy bár a kalászfuzáriózis-ellenállóság mértékére az évjárat is hatást gyakorol, azonban az egyes évek között a genotípusok sorrendje statisztikai értelemben nem változott. Következésképpen a vizsgált populáció egyedei valóban genetikailag meghatározott kalászfuzárium-ellenállóságot hordozhatnak, amelynek molekuláris módszerekkel történő kimutatására a populációban tapasztalható variabilitás megfelelő.

4. táblázat: Kiegyensúlyozatlan ANOVA teszt eredményei, Bon21 és ANOVA értékek alapján ((Bon21: 21. napi kalászfertőzöttségi értékek, AUDPC: járványgörbe alatti terület, n=221, Martonvásár, 2006, 2009 és 2011 évek átlaga).

Anova táblázat				
Változó: Bon21				
	SQ	Df	F-érték	Pr (>F)
Genotípus	609534	220	2,9057	< 2,2e ⁻¹⁶ **
*				
Év	55986	2	5,4406	6,829e ⁻⁷ ***
Fertőzés dátuma	37636	12	3,3491	0,019742 *
Növénymagasság	5095	16	3,7365	7,247e ⁻⁵ ***
Kalásztömöttség	12525	25	3,3436	0,009695 **
Genotípus×Év	190936	192	1,0619	0,272454
Maradványértékek	685810	2868		

Változó: AUDPC				
	SQ	Df	F-érték	Pr (>F)
Genotípus	39177695	220	2,8577	< 2e ⁻¹⁶ ***
Év	1875384	2	1,9151	0,01534 *
Fertőzés dátuma	1610250	12	2,1925	0,0994 *
Növénymagasság	28482	16	0,4654	0,49518
Kalásztömöttség	385892	25	1,5763	0,17782
Genotípus×Év	12957508	192	1,1027	0,16585
Maradványértékek	75532613	2868		

Szignifikancia szintek: '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05				
Df: szabadsági fok, SQ: négyzetösszeg, Pr (>F): valószínűség				

Molekuláris vizsgálatok a 'BKT9086-95/Mv Magvas' utópopulációban

Mikroszatellit és AFLP markerek vizsgálata

A teljes populáció vizsgálatára elsősorban az irodalmi adatok alapján fuzárium-ellenállósággal kapcsolt, továbbá a minimum közepes erősségű jelet adó markereket választottuk ki, így a törzsek részletes vizsgálatát 33 SSR markerrel végeztük el. A teljes populációt összesen 32 AFLP primerkombinációval is teszteltük, amelynek eredményeként 286 eltérő mintázatot azonosítottunk. Mivel a rendelkezésünkre álló összesen 319 polimorf markerrel készíthető genetikai térkép nem terjedne ki a teljes búza genom minden kromoszómájára, ezért a kalászfuzárium-ellenállóság és a markerek közötti összefüggés vizsgálatára ANOVA tesztet alkalmaztunk. Párhuzamosan megvizsgáltuk az üvegházi és szántóföldi körülmények között az ellenállósággal kapcsolatban álló egyéb fenotípusos tulajdonságok összefüggéseit is az AFLP és SSR markerekkel.

Mivel a genetikai térkép alapján végzett QTL elemzés statisztikailag megbízhatóbb eredményt ad, mint a marker – tulajdonság asszociációjának vizsgálata, ezért csak azokat a markereket tekintettük valóban kapcsoltnak, amelyek az egyes kísérleti rendszereken belül minden vizsgálati évben és az átlagot tekintve is szignifikáns hatásúnak mutatkoztak. Összesen 30 olyan markert azonosítottunk (29 AFLP, 1 SSR), amely megfelelt az említett kritériumoknak. Mivel a fenotípusos adatok értékelése során a növénymagasság, kalásztömöttség és virágzási idő szignifikáns összefüggést mutatott a KF-ellenállóság kifejeződésével, ezért csak azokat a markereket tekinthetjük valóban a fuzárium-ellenállósággal kapcsolatban állóknak, amelyekre nem hatnak az említett tulajdonságok.

Összesen 6 olyan markert azonosítottunk, amely mind a két kísérleti rendszerben szignifikáns hatást gyakorolt a 21. napon tapasztalt fertőzöttségi értékekre. Az eredmények alapján az agat17, illetve a gtac2 és gtac3 markerek kizárólag a fuzárium kalászban való terjedésével szembeni rezisztenciát kódoló régióval állhatnak kapcsolatban.

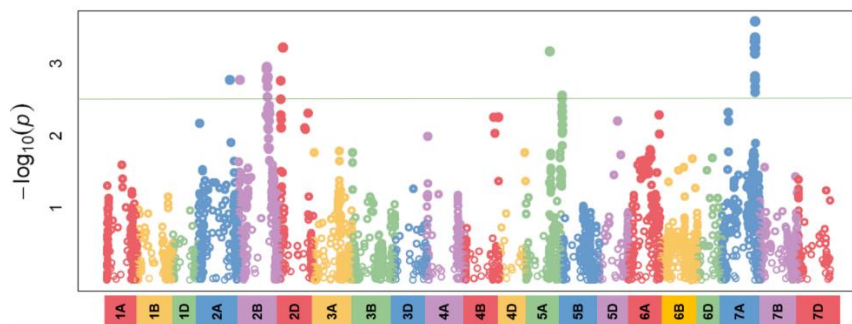
A betegség előrehaladási görbe alatti terület értékek esetén is elvégeztük az ANOVA vizsgálatot, amelynek eredményeképpen 25 olyan markert azonosítottunk, amelyek vagy üvegházi, vagy pedig szántóföldi körülmények között statisztikailag igazolhatóan összefüggésben álltak a törzsek AUDPC értékeivel. A fertőzöttségi

értékekkel és a fertőzés terjedésének sebességével szignifikáns összefüggésben álló markerek között részleges átfedés tapasztalható, 14 esetben azonosítottunk a két értékkel egyaránt kapcsolatban álló markert. A kizárólag az AUDPC értékekkel kapcsolt markerek azonban minden esetben egyéb fenotípusos tulajdonsággal is kapcsolatba hozhatóak.

Az *agat17*, *gtac2*, *gtac3* jelű markerek azonban a betegség előrehaladási görbe alatti terület esetében is statisztikailag igazolható hatással bírnak, amely alapján megállapítható, hogy a 'BKT9086-95/Mv Magvas' utódtörzsek nagy valószínűséggel genetikailag meghatározott fuzárium-ellenállóságot hordozhatnak.

A fertőzöttségi százalékkal összefüggésben álló genetikai háttér azonosítása

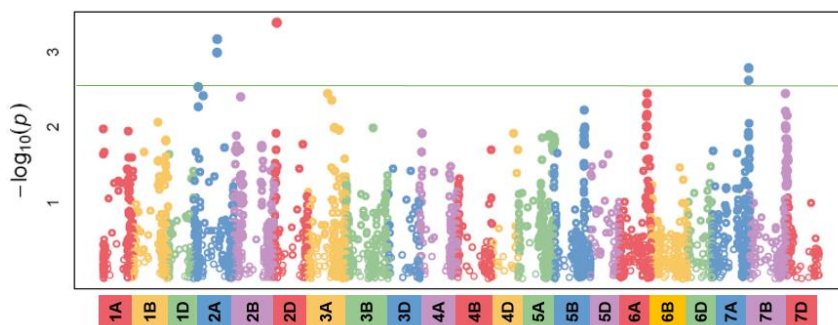
A vonalak jellemzésére az üvegházi és szántóföldi adatsorok átlagait használtuk. A GAPIT programcsomag K modellje alapján szignifikáns QTL-ek jelenlétét igazoltuk üvegházi körülmények között a 21. napi fertőzöttségi értékek vonatkozásában (1. ábra). A vizsgált tulajdonsággal 32 marker kapcsolatát mutattuk ki, összesen 5 kromoszómán. A legkisebb p-értékeket a 7A kromoszóma esetén számítottuk $p = 0,00026$ (Ra_c8394_1381), illetve $p = 0,00442$ (BobWhite_c30461_131) a búza fizikai térképének 645092185, illetve 647933749 nukleotid pozíciójában. A 7A kromoszómán üvegházi körülmények között összesen 14, a 21. napi fertőzöttségi értékekkel szignifikáns összefüggésben álló markert azonosítottunk. A 2B kromoszóma rövid karján 1 (Tdurum_contig29563_257, poz: 28339816), míg a hosszú karján 10, a vizsgált tulajdonsággal szoros összefüggést mutató markert azonosítottunk (AX-94393508 – BobWhite_c16130_362 markerek közötti régió). A 2D és 5A kromoszómák esetében további 3-3 kapcsolt marker található a 15967374 – 62023977, illetve a 466617397 – 702461388 nukleotid régiókban. A 2A kromoszómán egyetlen szignifikáns hatású SNP markert azonosítottunk (RAC875_c29716_871, poz: 607997395).



1. ábra: Manhattan plot, a 21. napi átlagos fertőzöttségi értékek üvegházi körülmények között, a markerek kromoszomális lokalizációja szerint (szignifikanciaszint: $-\log_{10}(p)$ 2,5; Martonvásár 2007, 2009 átlaga).

A 7A kromoszómán található QTL régió az egyes allélek hatásainak becslése alapján a fogékony szülőből származik ('Mv Magvas'), míg a 2A, 2B, 2D és 5A kromoszómán található régiók az ellenálló szülőhöz köthetőek ('BKT9086-95').

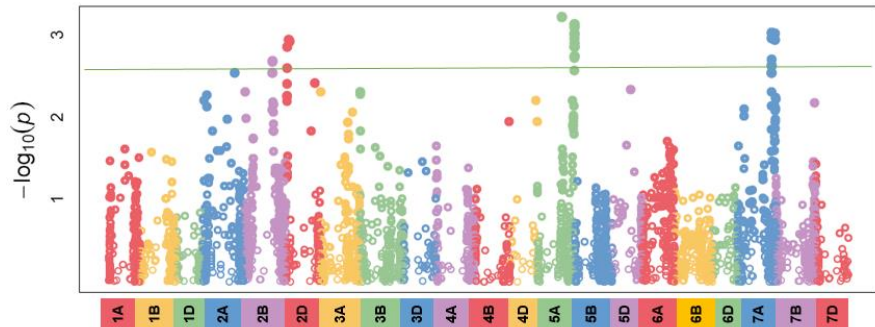
A teljes szántóföldi kísérletre vonatkoztatott fertőzöttségi százalék esetében azonban kisebb számban lehetett szignifikáns hatású genetikai régiót azonosítani. Összesen 6 markerrel tudunk kapcsoltságot kimutatni, a 2A, 2D és 7A kromoszómákon (2. ábra). A 2A kromoszómán 3 szignifikánsan kapcsolt markert azonosítottunk, melyek közül az RAC875_c29716_871 kontrollált körülmények között is genetikailag kódolt ellenállóság jelenlétére utalt. A 2D kromoszómán 1 szignifikáns hatású régiót azonosítottunk, a 7A kromoszóma esetében pedig kettőt. Az üvegházi vizsgálatoktól eltérően a 2B és 5A kromoszómákon kódolt ellenállósággal nem tudunk kapcsolatot igazolni szántóföldi körülmények között.



2. ábra: Manhattan plot, a 21. napi átlagos fertőzöttségi értékek szántóföldi körülmények között, a markerek kromoszomális lokalizációja szerint (szignifikancia szint: $-\log_{10}(p)$ 2,5; Martonvásár 2006, 2009, 2011 átlaga).

Mennyiségi tulajdonságok vizsgálata során a vonalak átlagos értékekkel történő jellemzése elfedheti a kis hatású QTL-ek jelenlétét, ezért a törzsek teljes kísérletre vonatkoztatott BLUP értékeivel is elvégeztük az elemzést (3. ábra), amelynek eredményeként 5 kromoszómán 37 kapcsolt markert azonosítottunk. A legnagyobb számú marker csoportot az 5A kromoszómán azonosítottuk, a wsnp_Ku_c38543_47157828 és wsnp_Ex_c2171_4074003 markerek által határolt régióban 16 markert, míg az AX-94978476 (poz: 466617397) markert ez előbbiektől eltérő pozícióban. A 7A kromoszómán 11 markerből álló csoportot azonosítottunk az AX-

94976788 és Kukri_rep_c98227_390 markerek által határolt pozícióban. A 2B kromoszómán 5 markerből álló csoport jelenlétét mutattuk ki az AX-94393508, illetve az AX-94507617 markerek által határolt pozícióban. A 2D kromoszómán 4 markerből álló csoportot azonosítottunk, míg a 2A kromoszómán egy marker esetében tudtunk összefüggést kimutatni (RAC875_c29716_871, poz: 607997395).



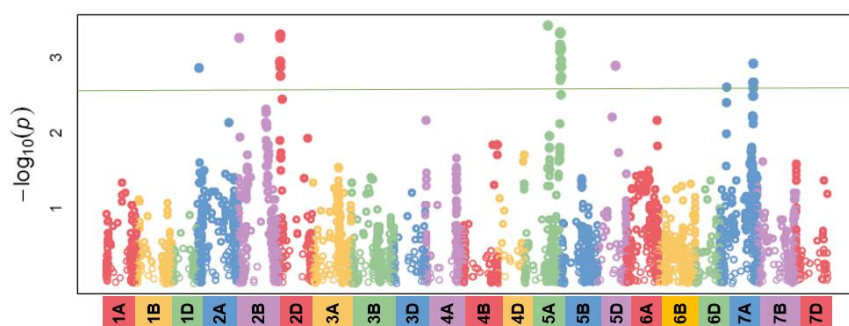
3. ábra: Manhattan plot, BLUP 21. napi fertőzöttségi értékek, teljes kísérletre vonatkoztatva, a markerek kromoszomális lokalizációja szerint (szignifikancia szint: $-\log_{10}(p)$ 2,5; Martonvásár 2006, 2007, 2009, 2011)

A kis, illetve közepes hatású mennyiségi jelleget meghatározó lokuszok sajátossága, hogy kimutatásuk eltérő környezeti feltételek mellett nem minden esetben lehetséges. Ezért évenkénti bontásban is megvizsgáltuk a kalászfuzáriózis-ellenállóság és a genotípusok összefüggéseit. A teljes kísérletre vonatkoztatva 12 kromoszómán igazoltuk a fuzárium kalászban történő terjedésre hatást gyakoroló genetikai régió jelenlétét. Az 1B, 3A és 4D kromoszómákon azonosított lokuszok azonban kizárólag egy meghatározott évben és azon belül egy-egy markerrel mutattak összefüggést.

A betegség előrehaladási görbe alatti terület nagyságával összefüggésben álló genetikai háttér azonosítása

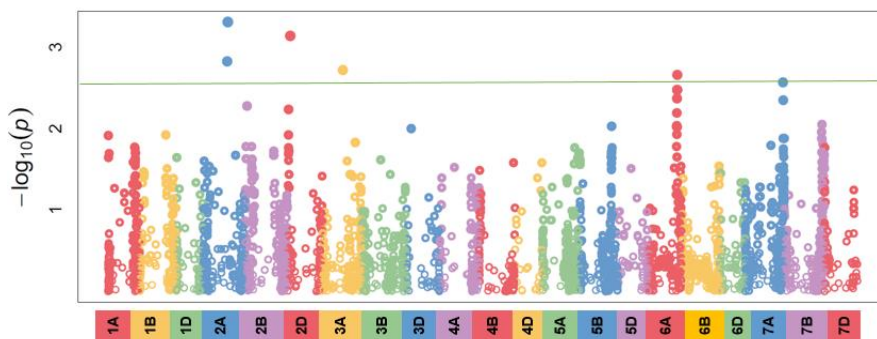
A betegség előrehaladási görbe alatti terület átlagos nagyságával szignifikáns összefüggésben üvegházi körülmények között 6 kromoszomális régióban összesen 37 markert azonosítottunk (4. ábra). A 2A, 2B, illetve 5D kromoszómákon egy-egy marker esetében volt kimutatható összefüggés. A 21. napi fertőzöttségi értékekhez képest különbséget jelent az 5D kromoszóma 349866506 nukleotid pozíciójában szignifikáns QTL jelenléte, amely azonban a 2A, 2B és 2D kromoszómák QTL-jeihez hasonlóan szintén BKT9086-95 eredetű. A 2D kromoszómán 7 markerből álló csoportot azonosítottunk, az AX-94908406, illetve AX-95124335 markerek által határolt pozícióban. Az 5A kromoszómán 16 szignifikáns marker

– tulajdonság kapcsolatot azonosítottunk, a legszorosabb összefüggést az AX-94978476 ($p=0,0004$) marker esetében figyeltük meg, amely a pszeudo-kromoszóma 466617397 nukleotid pozíciójában található. A kromoszómán a betegség előrehaladási görbe alatti terület nagyságával szignifikáns összefüggésben álló további 15 marker egy csoportba sorolódott, a kromoszomális lokalizáció alapján eltérő régióban. A 7A kromoszóma esetén 11, a vizsgált tulajdonsággal szignifikáns összefüggésben álló markert azonosítottunk, a markerek lokalizációja alapján két terület érintettsége feltételezhető. A 7A kromoszómán azonosított régió az AUDPC értékek esetében is a fogékony szülő genetikai hátteréből származik.



4. ábra: Manhattan plot, átlagos AUDPC értékek üvegházi körülmények között, a markerek kromoszomális lokalizációja szerint (szignifikancia szint: $-\log_{10}(p)$ 2,5; Martonvásár 2007, 2009 átlaga).

A betegség előrehaladási görbe alatti átlagos terület nagyságát vizsgálva szántóföldi körülmények között (5. ábra), a fertőzöttség arányához hasonlóan, kevesebb marker esetében állt fenn szignifikáns összefüggés. Öt kromoszómán összesen 6 marker állt kimutatható kapcsolatban a vizsgált tulajdonsággal.

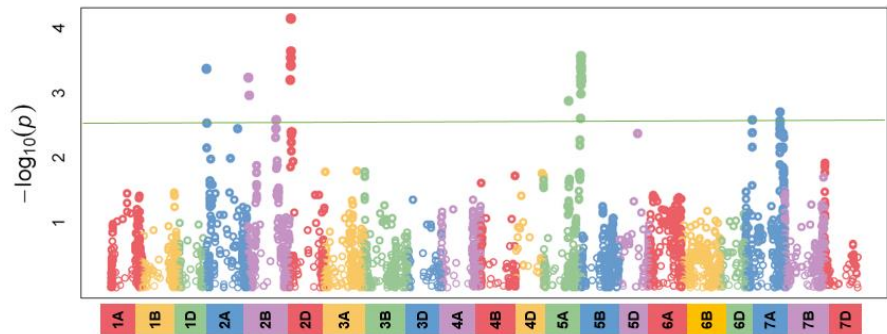


5. ábra: Manhattan plot, átlagos AUDPC értékek szántóföldi körülmények között, a markerek kromoszomális lokalizációja szerint (szignifikancia szint: $-\log_{10}(p)$ 2,5; Martonvásár 2006, 2009, 2011 átlaga).

A 2A kromoszómán azonosított Tdurum_contig915119_224 és AX-94551829 markerek kromoszomális lokalizációja azonban eltér az üvegházi körülmények között azonosított QTL helyzetétől. A 2D, valamint 7A kromoszómákon szántóföldi körülmények között is szignifikáns QTL hatás volt megfigyelhető. Az üvegházi megfigyelésekkel szemben ugyanakkor a 2B és 5A kromoszómákon szántóföldi körülmények között nem volt igazolható QTL. A 3A, illetve 6A kromoszómákon azonosított QTL régió viszont szántóföldi körülmények között volt csak kimutatható.

A betegség előrehaladási görbe alatti terület esetében is megvizsgáltuk, hogy a teljes kísérleti rendszerre vonatkoztatott BLUP értékek esetében mely kromoszómákon mutatható ki QTL jelenléte (6. ábra).

A 2A, 2B, 2D, 5A, illetve 7A kromoszómákon összesen 35 kapcsolt markert azonosítottunk. Legnagyobb számban az 5A, illetve 7A kromoszómán igazoltuk mennyiségi tulajdonságot meghatározó lokusz jelenlétét. Az ellenállóságot kódoló régió az 5A kromoszóma esetében a mérsékelt rezisztens szülő genetikai háttéréből származott.



6. ábra: Manhattan plot, Manhattan plot, AUDPC BLUP értékek, teljes kísérletre vonatkoztatva, a markerek kromoszomális lokalizációja szerint (szignifikancia szint: $-\log_{10}(p)$ 2,5; Martonvásár 2006, 2007, 2009, 2011).

A 21. napi fertőzöttségi értékekhez hasonlóan a betegség előrehaladási görbe alatti terület esetében is elvégeztük a marker – tulajdonság összefüggések vizsgálatát évenkénti bontásban. Összesen 11 kromoszóma esetében tudtunk legalább egy vizsgálati évben szignifikáns marker – tulajdonság összefüggést kimutatni, azonban az esetek felében ez az összefüggés nem volt konzekvensen kimutatható a vizsgálati évek, illetve rendszerek között. Az 5B, 5D, 6A, illetve 6B kromoszómákon egy-egy vizsgálati évben volt igazolható marker – tulajdonság összefüggés.

A 21. napi fertőzöttségi százalékkal és AUDPC értékekkel összefüggő genetikai régiók összehasonlítása

Mind a fertőzöttség, mind pedig az AUDPC értékek esetében 5 kromoszómán azonosítottunk olyan genetikai régiót, amelyek hatása több évben és kísérleti rendszerben szignifikáns hatásúnak bizonyult (2A, 2B, 2D, 5A, 7A). Az érintett QTL-ek valamennyi évben és termőhelyen az átlagos 21. napi fertőzöttségi százalék és az AUDPC értékek estén is megjelentek. Az ANOVA eredmények alapján a törzsek AUDPC értékeire kisebb mértékben hatottak a környezeti faktorok, ezért az megbízhatóbb mérőszámnak tekinthető. Mindezt alátámasztják a marker – tulajdonság összefüggés elemzés eredményei is, ugyanis az ANOVA értékekkel összefüggésben álló genetikai régió nagysága minden esetben szűkebb régióra korlátozódott. Az egyetlen kivétel ez alól az 5A kromoszómán található régió volt, ahol a két rezisztencia-mérőszámmal kapcsolt markerek számában az AUDPC javára volt kismértékű eltérés. Az azonosított QTL-ek közül a 7A kromoszómán kimutatott régió a fogékony szülő genetikai hátteréből származott.

Kalászfuzáriummal szembeni ellenállóság és egyéb fenotípusos tulajdonságok kapcsolata

A kalászfuzáriummal szembeni ellenállósággal kapcsolt QTL-ek gyakran egyéb fenotípusos tulajdonságért felelős génekkel megegyező pozícióban lokalizálódnak. A növénymagasság, kalászolási idő, valamint a kalásztömöttség az ANOVA vizsgálatok alapján is szignifikáns hatást gyakorolt a fertőzést követő 21. napon felvételezett betegségtünetekre. Az AUDPC értékeket ugyanakkor csak a virágzási idő befolyásolta. Ezért megvizsgáltuk, hogy a 'BKT9086-95/Mv Magvas' populáció egyedeiben mely kromoszómákon lehetséges az említett tulajdonságokat meghatározó régiókat azonosítani.

A növénymagassággal összefüggő lokuszt azonosítottunk a 2A, 2D, 4A, 4B, 4D, illetve 6A kromoszómákon, amelyek közül a 2A, illetve 2D régiók mutattak részleges átfedést a rezisztencia tulajdonságot meghatározó QTL-ekkel. Az átfedést mutató markerek esetében az ellenálló szülő hordozza a kedvező allélt. A korrelációvizsgálat eredményei alapján megállapítható, hogy a magasabb növényeken enyhébb tünetek jelentek meg, illetve a betegség lassabb ütemben fejlődött. A 2D kromoszómán található az *Rht8* törpeséggén, így ebben az esetben megállapítható, hogy a kalászfuzárium-ellenállóságot ennek jelenléte kedvezőtlenül befolyásolta. Mivel a kórokozót közvetlenül a virágba juttattuk, ezért feltételezhetően a

növénymagasság mikroklímát befolyásoló hatása kevésbé érvényesülhetett, tehát a növénymagasság és a KF-ellenálló képesség között összefüggés tapasztalható, ugyanakkor feltételezzük, hogy a kapcsolat nem pusztán a fenotípus hatásán alapszik. A kalásztömöttség esetében a 2A, 2B, illetve 2D kromoszómákon mutattunk ki statisztikailag igazolható összefüggést, amelyek pozíciója nagyrészt megegyezett a növénymagasságot meghatározó lokuszokéval.

A virágzási idővel kapcsolatban álló genetikai régiót szintén a 2A, 2B, illetve 2D kromoszómákon azonosítottunk, amelyek azonban a növénymagasságot és a kalásztömöttséget meghatározó régiókhoz képest eltérő területen találhatóak. Az általunk azonosított régiókban irodalmi adatok alapján különböző növényfejlődést befolyásoló gének lokalizálódnak. A 2A kromoszóma rövid karján a *Ppd-A1*, a 2B rövid karján a *Ppd-B1*, a 2D rövid karján pedig a *Ppd-D1* gének helyezkednek el. A mérsékelt rezisztens szülő átlagosan 2 nappal kalászolt és virágzott korábban. Az ANOVA eredmények és a korrelációanalízis alapján az általunk vizsgált populációban a koraiság előnyt jelentett a kalászfuzárium-ellenállóság területén. Amennyiben a növény már nem a fogékony fenofázisban találkozik a kórokozóval, abban az esetben passzív rezisztenciáról beszélünk.

A 2D kromoszóma esetében az egyéb fenotípusos tulajdonságok és az ellenálló képesség mutatói között az átfedés teljes, a 2A, illetve 2B kromoszómákon azonosított 2-2 marker csoport, illetve genetikai régió közül csak az egyik csoport esetében teljes az átfedés. Azaz mindkét kromoszómán azonosítható olyan genetikai régió, amely az általunk vizsgált tulajdonságok közül kizárólag a kalászfuzáriózis-ellenállósággal áll kapcsolatban. A mérsékelt rezisztens szülői genotípushoz köthető 5A QTL egyetlen vizsgált fenotípusos paraméterrel sem áll összefüggésben, tehát ebben az esetben valódi rezisztenciát kódoló régiót azonosítottunk.

Új tudományos eredmények

1. Üvegházi és szántóföldi körülmények között felmértük a 'BKT9086-95/Mv Magvas' eredetű törzsek kalászfuzárium-ellenállóságát. ANOVA vizsgálat alapján meghatároztuk, hogy a genotípus szignifikáns hatást gyakorol mind a 21. napon regisztrált fertőzöttségi értékekre, mind pedig a betegség előrehaladási görbe alatti terület nagyságára.
2. Eredményeink alapján az AUDPC értékek alakulására kevésbé hatnak az egyéb növénymorfológiai és -fenológiai jellemzők, ezáltal térképezési munkák során megfelelőbbnek tartjuk ezt alkalmazni a törzsek ellenállósági szintjének összehasonlítására. Megállapítottuk, hogy a genotípusok sorrendje statisztikailag igazolhatóan nem változott az egyes ismétlésekben, így módon igazoltuk, hogy a törzsek genetikailag kódolt ellenállóságot hordozhatnak.
3. A populáció genetikai variabilitását 33 SSR markerrel és 32 AFLP kombinációval vizsgáltuk. A genetikai háttér és a kalászfuzárium-ellenállóság kapcsolatát varianciaanalízissel igazoltuk 3 marker esetében, amelyek közül a *gtac2*, illetve *gtac3* markerek kodomináns mintázata további marker fejlesztési lehetőséget jelenthet.
4. Marker-fuzárium rezisztencia asszociációs vizsgálatokkal 12 kromoszómán igazoltuk a 21. napi fertőzöttségi értékekkel kapcsolatban álló genetikai régió jelenlétét. Több évben és mindkét (üvegházi és szántóföldi) kísérleti rendszerben a 2A, 2B, 2D, 5A és 7A kromoszómákon mutattunk ki konzekvensen megjelenő QTL-t.
5. Az AUDPC értékekkel összefüggésben 11 kromoszómán mutattunk ki a rezisztenciával kapcsolatos lokuszt. A stabilan kifejeződő QTL-ek megegyeztek a 21. napon regisztrált fertőzöttségi értékek esetében azonosítottakkal, azonban az 5A kromoszóma kivételével szűkebb régióra korlátozódtak.
6. A kalászfuzárium-rezisztenciát befolyásoló egyéb tulajdonságok (növénymagasság, virágzási idő, kalásztömöttség) és a rezisztencia QTL-ek molekuláris hátterének vizsgálata során megállapítottuk, hogy a 2D kromoszómán azonosított régió esetében teljes, míg a 2A illetve 2B kromoszómákon részleges átfedés tapasztalható.
7. A 'BKT9086-95' törzs esetében egy növényi védekezési mechanizmushoz köthető fehérjét kódoló DNS szakasz jelenlétét igazoltuk az 5A kromoszómán. Az alléltípus vizsgálata alapján megállapítható, hogy egy ritka változatot azonosítottunk.

Következtetések és javaslatok

A kalászfuzáriózis-ellenállóság fenotípusos vizsgálata

A QTL meghatározás sikerét, illetve pontosságát alapvetően meghatározza a fenotipizálás megbízhatósága. Mivel a kalászfuzáriummal szembeni rezisztencia több típusra osztható, a vizsgálni kívánt komponens meghatározza a mesterséges fertőzési módszer kiválasztását is. Általánosan használt inokulációs módszer a teljes kalász permetezése konídium szuszpenzióval, illetve a kalászkainjektálás. A kalászok permetezése esetén a kalászba jutással szembeni, illetve a kalászban terjedéssel szembeni rezisztencia hatása egymástól nem különíthető el, ezért a kezdeti vizsgálatok főképp a II. típusú (kalászban való terjedéssel szembeni) rezisztenciára összpontosítottak. A vizsgálandó anyag mennyisége szintén befolyásolja az alkalmazható módszereket, az SSD törzsek vetőmagmennyisége a kezdeti években csekély, ezért a kalászok permetezése még kisparcellás méretben sem volt megoldható. Továbbá a kontrollált üvegházi körülményeket csak korlátozott mennyiségű vizsgálati anyag esetében tudtuk biztosítani, ezért a törzsek vizsgálata esetén a II. típusú rezisztenciára összpontosítottunk.

A 'BKT9086-95' szülő szántóföldi rezisztenciája (I. + II. típus) nem különbözött szignifikánsan a rezisztens kontrollként alkalmazott 'Sumai3' értékeitől három vizsgálati év eredményei alapján. Ezt a megfigyelést a II. típusú rezisztencia vizsgálatok alapján nem tudtuk igazolni, üvegházi és szántóföldi vizsgálatok alapján a rezisztens szülőt a mérsékelt ellenálló kategóriába tartozónak értékeltük.

Üvegházi körülmények között átlagosan magasabb fertőzöttségi értékeket regisztráltunk a szántóföldi vizsgálatokhoz képest, mind a mérsékelt rezisztens szülő, mind pedig a törzsek vonatkozásában. A fogékony szülő ('Mv Magvas') esetében nem tapasztaltunk eltérést az üvegházi és a szántóföldi vizsgálatok között, ugyanakkor a törzsek sorrendje statisztikailag igazolhatóan nem változott a vizsgálati évek és helyszínek során, ezért a törzsek genetikailag kódolt ellenálló képességét igazoltnak tekinthetjük. Az eltérésre magyarázatul szolgálhat, hogy szántóföldi körülmények között a kalászfuzárium-rezisztenciával kapcsolatba hozott tulajdonságoknak (virágzási idő, növénymagasság, kalásztömöttség, illetve az általunk nem vizsgált szálkahossz és portok kilökődés) a betegség kifejlődésre gyakorolt hatása fokozottabban érvényre juthat.

Mind üvegházi, mind pedig szántóföldi körülmények között azonosítottunk olyan törzseket, amelyek az ellenálló szülőnél kisebb mértékben fertőződtek, ezeket a törzseket keresztezési partnernek jelöltük ki a nemesítés számára. Fontosnak tartanánk a törzsek szántóföldi rezisztenciáját is megvizsgálni, hiszen a különbség háttérében az I. és II. típusú rezisztencia együttes hatása is állhat. Az egyéb rezisztencia típusok vizsgálata is javasolt, hiszen csak így kaphatunk teljes képet a rendelkezésünkre álló populáció genetikai fuzárium-ellenállóságának tényleges összetételéről.

A fuzárium kalászban való terjedésével kapcsolt SSR és AFLP markerek meghatározása

A kalászfuzárium-rezisztencia genetikai háttérének tanulmányozására régi magyar fajta eredetű populáció esetében jelen kutatást megelőzően még nem végeztek kísérletet. Ezért a 'BKT9086-95/Mv Magvas' utódtörzsek esetében a szakirodalomban leírt kalászfuzárium-ellenállósággal kapcsolt QTL-ekkel összefüggésben álló SSR markereket válogattunk össze. A kísérlet tervezésekor az ismert kromoszomális lokalizációjú mikroszatellit markerek mellett a genom minél teljesebb markeres lefedettségét AFLP vizsgálatokkal terveztük elérni. A rendelkezésünkre álló adatokból azonban csak rendkívül töredezett térkép volt készíthető, amely a potenciális QTL-ek helyzetének meghatározására csak korlátozottan lett volna alkalmas, ezért Az AFLP és SSR vizsgálatok eredményein asszociációs vizsgálatot végeztünk. Kizárólag a KF-ellenálló képességgel 3 AFLP marker esetében volt kimutatható kapcsolat. A *gtac2*, illetve *gtac3* markerek kodomináns mintázata alapján a PCR termék alkalmas lehet diagnosztikai marker fejlesztésére, azonban szélesebb fajtakörön való tesztelés feltétlenül szükséges.

A fuzárium kalászban való terjedésével kapcsolt QTL-ek meghatározása

A 2A, 2B, 2D, illetve 5A kromoszómákon elhelyezkedő 'BKT9086-95' eredetű QTL-ek kapcsolatságot mutattak a fuzárium kalászban való terjedésével és a betegség előrehaladási görbe alatti terület nagyságával. A szakirodalomban leírt QTL-ekkel való összehasonlításban a búza génkatalógusban regisztrált eredményeket vettük alapul.

A 2A kromoszóma hosszú karján írtak le elsőként kis hatású QTL-t, 'Sumai-3/Stoa' rekombináns beltenyésztett törzsek üvegházi vizsgálatnak eredményeképp RFLP markereket használva. A

rezisztenciáért felelős régió a közepesen fogékony beporzó fajtából származott. Szintén a 2A kromoszóma hosszú karján, 'Arina/Forno' (rezisztens/fogékony) eredetű RIL-ek vizsgálatával azonosítottak kis hatású QTL-t amely ($R^2=6,8\%$) a vizsgálati évek és helyszínek között nem, csak a teljes kísérletre vonatkoztatva gyakorolt a szántóföldi rezisztenciára szignifikáns hatást. Vizsgálatainkban hasonló eredményeket figyeltünk meg, ugyanis sem a 21. napi fertőzöttséggel sem az AUDPC értékekkel kapcsolatban nem találtunk olyan markert, amely a vizsgálati évek és körülmények között konzekvensen azonsítható lett volna. Az ismert rezisztenciaforrások közül az AX-94551829 marker alapján az 'Arina' alléltípusa meghatározható, amely a 'BKT9086-95' törzstől eltérően a gyakoribb változatot hordozza a vizsgált pozícióban (96,7 szemben a 3,3%-os gyakorisággal).

A 2B kromoszómán a McIntosh génkatalógus alapján 2 QTL található. A *Qfhs.crc-2BL* rezisztencia lokusz a 'Strongfield' durum fajtából származik ($R^2=26\%$) és II. típusú rezisztenciáért felel. A 'Renan/Recital' keresztezés utódainak vizsgálatával szántóföldi körülmények között a 2B kromoszóma rövid karján is azonosítottak a kalászfuzárium-ellenállósággal összefüggő régiót, amely a fenotípusos variancia 12%-áért felelt. Saját megfigyeléseink szerint a 2B kromoszóma hosszú és rövid karján is azonosítottunk a fuzárium kalászban való terjedésével kapcsolt régiót. A szekvencia adatok összevetését az általunk kapcsoltként azonosított markerek esetében nem tudtuk elvégezni, ugyanis kizárólag a hosszú karról rendelkezünk kereshető szekvenciával, azonban ezek nagy része az adatbázisban nem megtalálható.

A 2D kromoszómán 'Ning894037/Alondra' keresztezésből származó RIL-ek vizsgálatával a fenotípusos variancia 12,1%-át magyarázó kis hatású QTL jelenlétét igazolták, amely a fogékony szülőből származott (*QFhs.pur-2D*). Az értékelési módszer azonban eltért az általunk alkalmazottól, ugyanis csak a fertőzési pont alatti elhalt kalászkákat tekintették valódi fertőzési tünetnek, míg az általunk végzett felmérésben nem kezeltük külön a kalászcács elhalást. A kalászfuzárium-ellenállósággal összefüggésbe hozott egyéb növényi tulajdonságok vizsgálata alapján arra következtethetünk, hogy a 2D kromoszómán általunk azonosított QTL passzív rezisztenciához köthető.

Az egyik leggyakrabban vizsgált kalászfuzárium-rezisztencia régió az 5A kromoszómán helyezkedik el. Ázsiai, dél- és észak-amerikai, valamint európai eredetű genotípusokon is mutattak ki QTL-eket ebben a kromoszóma régióban. A 'Wangshuibai' fajtában leírt *Fhb5*

gén a centromérához közel helyezkedik el, ugyanakkor az ellenálló képesség több agronómiailag fontos tulajdonsággal kapcsolatosan öröklődik, amelyekre nézve a rezisztens szülő kedvezőtlen allélt hordoz. Az általunk azonosított QTL azonban mind pozícióját, mind rezisztencia szintjét tekintve eltér az *Fhb5* géntől. Az 5A kromoszómán található *Qfhs.ifa-5A* 'CM-82036' eredetű rezisztencia lokusz a fenotípusos variancia 20%-áért felelt. A QTL hatása jobban érvényesült kalászfuzáriázási kísérletekben, ez alapján feltételezték, hogy a rezisztencia inkább a fuzárium kalászbahatolásával szemben nyújt védelmet. A tavaszi típusú 'Frontana' búzafajtában szintén kimutatták a fuzárium rezisztenciával kapcsolt QTL-t, amely egy növénymagasságot meghatározó QTL-lel átfedést mutatott. Ugyanakkor a 'BKT9086-95' esetében nem volt összefüggés a rezisztencia szintje és az egyéb vizsgált növényi jellemzők között. A szekvencia adatok alapján az AX-94387470 SNP marker egy védekezésért felelős fehérjét kódoló régióhoz kötődik. A fehérje funkcióját *Arabidopsis*-ben ciszteinben gazdag gombaellenes proteinként határozták meg. Az allélgyakoriságot vizsgálva megállapítottuk, hogy a régi magyar fajta eredetű mérsékelt rezisztens szülő rendkívül ritka alléltípust hordoz az adott pozícióban, amely a referencia genotípusok mindössze 15,6%-ában fordul elő. Mindezek alapján feltételezzük, hogy új, a szakirodalomban eddig még nem meghatározott rezisztencia lokuszt azonosítottunk.

A fogékony szülői genotípushoz köthetően a 7A kromoszómán azonosítottunk kalászfuzárium-rezisztenciával összefüggő genetikai régiót. A szakirodalmi adatok alapján a főképp kínai eredetű rezisztenciaforrásokból és 'Ritmo' fajtában azonosítottak QTL-t (Buerstmayr *et al.* 2009). Megbízhatóan azonban csak a 'Langdon' (durum) – *T. turgidum* ssp. *dicoccoides* szubsztitúciós vonalak esetében igazolták *Qfhs.fcu-7AL* QTL jelenlétét. Az 'Mv Magvas' származásának és a QTL lokalizációjának ismeretében feltételezzük, hogy a fogékony szülő esetében szintén eddig még le nem írt rezisztencia lokuszt azonosítottunk.

A régi magyar búzafajták mind beltartalmi tulajdonságaikban, mind pedig egyéb agronómiai tulajdonságok tekintetében heterogénebbek a jelenleg köztermesztésben lévő modern fajtáknál, ezért szükségesnek tartjuk a kalászfuzárium-ellenállóság genetikai hátterének vizsgálatát szélesebb fajtakörön is elvégezni, amelynek eredményeként validálhatóak a jelen kutatásban meghatározott QTL-ek, továbbá egyéb, kis gyakoriságú alléltípusok azonosítása is várható. Szükségesnek tartjuk továbbá a 'BKT9086-95/Mv Magvas' utópopuláció vizsgálatát a kalászfuzárium-ellenállóság egyéb típusainak tekintetében is.

Tudományos publikációk

Nemzetközi szerkesztésű, IF

Varga B, Vida Gy, Varga-László E, Hoffmann B and Veisz O.: Combined Effect of Drought Stress and Elevated Atmospheric CO₂ Concentration on the Yield Parameters and Water Use Properties of Winter Wheat (Triticum aestivum L.) Genotypes. Version of Record online: 19 May 2016 | DOI: 10.1111/jac.12176. Journal of Agronomy and Crop Science, IF: 2,44

Varga B, Vida G, Varga-Laszlo E, Bencze S, Veisz O.: Effect of Simulating Drought in Various Phenophases on the Water Use Efficiency of Winter Wheat. Journal of Agronomy and Crop Science 201:(1) pp. 1-9. (2015), IF: 2,44

Varga B, Varga-László E, Bencze Sz, Balla K, Veisz O.: Water use of winter cereals under well-watered and drought-stressed conditions. Plant Soil and Environment 59:(4) pp. 150-155. (2013), IF: 1,113

Varga B, Janda T, László E, Veisz O.: Influence of abiotic stresses on the antioxidant enzyme activity of cereals. Acta Physiologiae Plantarum 34: pp. 849-858. (2012), IF: 1,305

Kiss L, Sebestyén E, László E, Salamon P, Balázs E, Salánki K.: Nucleotide sequence analysis of peanut stunt virus Rp strain suggests the role of homologous recombination in cucumovirus evolution. Archives of Virology 153:(7) pp. 1373-1377. (2008), IF: 2,02

Hazai szerkesztésű

IF, angol nyelven

Bencze Sz, Vida Gy, Balla K, Varga-László E, Veisz O.: Response of wheat fungal diseases to elevated atmospheric CO₂ level. Cereal Research Communications 41:(2) pp. 409-419. (2013), IF: 0,624

László E, Puskás K, Vida Gy, Bedő Z, Veisz O.: Study of fusarium head blight resistance in old Hungarian wheat cultivars. Cereal

Research Communications 35:(2) pp. 717-720. (2007), IF: 1,19

IF nélküli, angol nyelven

László E, Varga B, Veisz O.: Composition of Fusarium species causing natural spike infection in wheat. Acta Agronomica Hungarica: a Quarterly of the Hungarian Academy of Sciences : an International Multidisciplinary Journal in Agricultural Science 59:(3) pp. 255-260. (2011)

Vida Gy, Cséplő M, Gulyás G, Karsai I, Kiss T, Komáromi J, László E, Puskás K, Wang ZL, Pace C, Bedő Z, Láng L, Veisz O.: Effectiveness of major resistance genes and identification of new sources for disease resistance in wheat. Acta Agronomica Hungarica: a Quarterly of the Hungarian Academy of Sciences: an International Multidisciplinary Journal in Agricultural Science 59:(3) pp. 241-248. (2011)

Kiss L, Sebestyén E, László E, Salamon P, Balázs E, Salánki K.: Nucleotide sequence analysis of peanut stunt virus RP Isolate, prove the role of recombination in cucumovirus evolution. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica 54:(Suppl.1.) pp. 62-63. (2007)

IF nélküli, magyar nyelven

Varga B, Varga-László E, Veisz O.: Az emelt légköri CO₂ koncentráció és a vízmegvonás kombinált hatásai őszi búzafajták produktivitására és vízhasznosító képességére. Gradus 3:(1) pp. 290-295. (2016)

Komáromi J, Vida Gy, Szunics L, László E, Veisz O.: Speciális liztharmat-rezisztenciátípusú búzagenotípusok azonosítása. Növényvédelem 45:(12) pp. 663-667. (2009)

László E, Puskás K, Szunics L, Veisz O, Vida Gy.: Régi magyar búzafajták kalászfuzárium-ellenállóságának vizsgálata mesterséges fertőzési körülmények között. Növényvédelem 45:(12) pp. 694-697. (2009)

Vida Gy, László E, Puskás K, Veisz O.: Kalászfuzárium rezisztenciaforrások azonosítása régi magyar búzafajták populációiban. Acta Agronomica Óváriensis: Nyugat-Magyarországi Egyetem Mosonmagyaróvári Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar Közleményei 49:(2) pp. 563-567. (2007)

Egyéb tudományos művek

Konferencia kiadványok-proceeding

magyar nyelven

Puskás K, Varga-László E, Veisz O, Vida Gy.: Martonvásári őszi búzafajták szerepe a kalászfuzáriummal szembeni védelemben. Georgikon for Agriculture: a Multidisciplinary Journal in Agricultural Sciences 19:(1) pp. 36-40. (2014)

Puskás K, Varga-László E, Veisz O, Vida Gy.: Búza kalászfuzárium-rezisztenciaforrások azonosítása kalászika injektálásos inokulációs módszerrel. in: Veisz Ottó (szerk.). Növénynemesítés a megújuló mezőgazdaságban: XX. Növénynemesítési Tudományos Nap. 522 p. Budapest, Magyarország, 2014.03.18 Budapest: MTA Agrártudományok Osztályának Növénynemesítési Tudományos Bizottsága, 2014. pp. 369-373. (ISBN:978-963-8351-42-5). (2014)

Bencze Sz, Balla K, Vida Gy, Varga-László E, Veisz O.: Búza levélbetegségek fertőzésének változása emelt légköri CO₂-koncentráción. In: Janda T (szerk.). II. ATK Tudományos Nap: Velünk Élő Tudomány (A Magyar Tudomány Ünnepe alkalmából). 273 p. Martonvásár, Magyarország, 2013.11.08 Martonvásár: MTA Agrártudományi Kutatóközpont, pp. 178-181. (ISBN:978-963-8351-41-8). (2013)

Puskás K, Varga-László E, Komáromi J, Veisz O, Vida Gy.: Búza kalászfuzárium-rezisztencia kutatások Martonvásáron. In: Janda T (szerk.). II. ATK Tudományos Nap: Velünk Élő Tudomány (A Magyar Tudomány Ünnepe alkalmából). 273 p. Martonvásár, Magyarország, 2013.11.08 Martonvásár: MTA Agrártudományi Kutatóközpont, pp. 110-113. (ISBN:978-963-8351-41-8). (2013)

Cséplő M, Balla K, László E, Rakszegi M, Fischl G, Veisz O, Vida Gy.: A búza genotípusok malomipari minőségének változása a Pyrenophora tritici-repentis fertőzés hatására. In: Harcsa M (szerk.) V. Növénytermesztési Tudományos Nap: Növénytermesztés: Gazdálkodás-Klíma-Társadalom . 267 p. Keszthely, Magyarország, 2009.11.19 Budapest: Akadémiai Kiadó, pp. 65-68. (ISBN:978 963 05 8804 1).(2009)

László E, Puskás K, Szunics L, Veisz O, Vida Gy.: Régi magyar búzafajták, mint lehetséges kalászfuzárium rezisztenciaforrások. In: Veisz O (szerk.) Hagyomány és

haladás a növénynevelésben: XV. Növénynevelési Tudományos Napok, Budapest, Magyarország, 2009.03.17. . 551 p. Budapest: MTA Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Tudományos Bizottsága, pp. 292-296. (ISBN:978-963-508-575-0). (2009)

angol nyelven

László E, Veisz O.: Identification of fusarium head blight pathogens in Hungary using classical methods. In: Veisz O (szerk.) Climate Change: Challenges and Opportunities in Agriculture: AGRISAFE Final Conference. 484 p. Budapest, Magyarország, 2011.03.21 -2011.03.23. Martonvásár: Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Science, pp. 254-257. (ISBN:978-963-8351-37-1).(2011).

Vida Gy, Cséplő M, Gulyás G, Karsai I, Kiss T, Komáromi J, László E, Puskás K, Wang ZL, Bedő Z, Láng L, Veisz O.: Molecular and traditional approaches for combating major diseases of wheat in Martonvásár. In: Veisz O (szerk.) Climate Change: Challenges and Opportunities in Agriculture: AGRISAFE Final Conference. 484 p. Budapest, Magyarország, 2011.03.21 -2011.03.23. Martonvásár: Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Science, pp. 273-276. (ISBN:978-963-8351-37-1). (2011)

László E, Puskás K, Uhrin A.: Molecular characterisation of Fusarium head blight resistance in the BKT9086-95/Mv Magvas wheat population. Cereal Research Communications 37:(Suppl. 1.) pp. 333-336. (2009)

László E, Karsai I, Vida Gy, Bedő Z, Veisz O.: Analysis of Fusarium head blight resistance in a Bánkúti 1201/Mv Magvas population using molecular tools. Cereal Research Communications 36:(Suppl.B) pp. 289-290. (2008)

Vida Gy, László E, Puskás K, Szunics L, Bedő Z, Veisz O.: Fusarium head blight resistance of old hungarian wheat varieties. Cereal Research Communications 36:(Suppl. B) pp. 183-184. (2008)

Konferencia absztraktok

magyar nyelven

Varga-László E, Varga B, Puskás K, Cseh A, Vida Gy.: Kalászfuzáriózis ellenállóságot meghatározó genetikai faktorok azonosítása Bánkúti 1201-8695/Mv magvas ősibúza

populációban In: Karsai Ildikó, Polgár Zsolt (szerk.) XXIV. Növénynevelési Tudományos Nap: Összefoglalók. 139 p. Budapest, Magyarország, 2018.03.06 Budapest: Magyar Tudományos Akadémia, 2018. p. 49. 1 p. (ISBN:978-615-00-1469-2)

Cséplő M, László E, Csősz L, Fischl G, Bakonyi J, Veisz O, Vida Gy.: Búza genotípusok felnőttkori Pyrenophora tritici-repentis és Phaeosphaeria nodorum ellenállóságának vizsgálata szántóföldi körülmények között. In: Veisz Ottó (szerk.) XXIII. Növénynevelési Tudományos Nap: összefoglalók. 161 p. Budapest, Magyarország, 2017.03.07 Budapest: Magyar Tudományos Akadémia, 2017. p. 93. (ISBN:978-963-8351-44-9)

Varga-László E, Varga P, Varga B, Vida Gy.: Az ózon gáz használatának hatása az őszi búza vetőmag felületi fuzáriumos fertőzöttségére és a csírázási tulajdonságokra. In: Veisz Ottó (szerk.) XXIII. Növénynevelési Tudományos Nap: összefoglalók. 161 p. Budapest, Magyarország, 2017.03.07 Budapest: Magyar Tudományos Akadémia, 2017. p. 159. (ISBN:978-963-8351-44-9)

Varga-László E, Vida Gy. : Az őszebúza kalászfuzárium-ellenállóság genetikai hátterének szélesítése egy régi magyar fajta eredetű törzs felhasználásával. In: Veisz Ottó, Polgár Zsolt (szerk.). XXII. Növénynevelési Tudományos Nap. Budapest, Magyarország, 2016.03.10 Budapest: Magyar Tudományos Akadémia, p. 124. (ISBN:978-963-396-085-1), (2016)

Cséplő M, Balla K, László E, Rakszegi M, Csősz L, Fischl G, Bakonyi J, Veisz O, Vida Gy.: Búza genotípusok malom- és sütőipari minőségének változása a Pyrenophora tritici-repentis és Phaeosphaeria nodorum fertőzés hatására. In: Veisz Ottó, Polgár Zsolt (szerk.) XXII. Növénynevelési Tudományos Nap. Budapest, Magyarország, 2016.03.10 Budapest: Magyar Tudományos Akadémia, p. 77. (ISBN:978-963-396-085-1). (2016)

Bencze Sz, Balla K, Vida Gy, Varga-László E, Veisz O.: A búza betegségekkel szembeni ellenállósága emelt légköri CO₂-szinten. In: Veisz Ottó (szerk.). XVIII. Növénynevelési Tudományos Napok: Magyar Tudományos Akadémia Székháza, Budapest, 2012. március 6.: Összefoglalók . 133 p. Budapest , Magyarország , 2012.03.06 Martonvásár: MTA

- Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Tudományos Bizottsága, p. 61. (ISBN:978-963-8351-38-8). (2012)
- Puskás K, Komáromi J, Vida Gy, Varga-László E, Veisz O.: A II. típusú kalászfuzárium-ellenállóság vizsgálata őszi búza genotípusokon. In: Veisz Ottó (szerk.). XVIII. Növénynevelési Tudományos Napok: Magyar Tudományos Akadémia Székháza, Budapest, 2012. március 6. : Összefoglalók. 133 p. Budapest, Magyarország, 2012.03.06 Martonvásár: MTA Agrártudományok Osztályának Növénynevelési Tudományos Bizottsága, p. 119. (ISBN:978-963-8351-38-8). (2012)
- Cséplő M, Balla K, László E, Rakszegi M, Fischl G, Veisz O, Vida Gy.: A búza genotípusok malomipari minőségének változása a Pyrenophora tritici-repentis fertőzés hatására. In: Harcsa M (szerk.) V. Növénytermesztési Tudományos Nap: Növénytermesztés: Gazdálkodás-Klíma-Társadalom. 267 p. Keszthely, Magyarország, 2009.11.19 Budapest: Akadémiai Kiadó, pp. 65-68. (ISBN:978 963 05 8804 1).(2009)
- László E, Puskás K, Szunics L, Bedő Z, Veisz O, Vida Gy.: Régi magyar búzafajták kalászfuzárium ellenállóságának vizsgálata. In: Falusi Eszter, Staszny-Havas Enikő, Jung Ivett, Bodnár Ákos (szerk.) XXIX. Országos Tudományos Diákköri Konferencia Agrártudományi Szekció: Gödöllő, 2009. április 6-8.: előadás kivonatok. 389 p. Gödöllő , Magyarország , 2009.04.06 -2009.04.08. Gödöllő: Szent István Egyetem, Egyetemi Kiadó, pp. 107-110. (ISBN:978-963-269-095-7). (2009)
- Kiss L, Sebestyén E, László E, Salamon P, Balázs E, Salánki K: In vivo rekombináns földimogyoró satnyulás vírus (peanut stunt virus) izolátum molekuláris jellemzése. In: Horváth József, Haltrich Attila, Molnár János (szerk.) 54. Növényvédelmi Tudományos Napok. 86 p. Budapest, Magyarország, 2008.02.27 -2008.02.28. Budapest: Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium (FVM), p. 29. (ISBN:963 8131 071). (2008)
- László E, Puskás K, Vida Gy, Bedő Z, Veisz O.: A Fusarium kalászon belüli terjedésével szembeni ellenállóság fenotípusos vizsgálata Bánkúti 1201 x Mv Magvas búzatörzsekben. In: Heszy L, Kiss J (szerk.) XIII. Növénynevelési Tudományos Napok. 181 p. Budapest, Magyarország,

angol nyelven

- Puskás K, Komáromi J, Varga-László E, Bürstmayr H , Lemmens M, Veisz O , Vida Gy.: Relationship between Fusarium head blight resistance and yield characteristics in a bread wheat mapping population. In: Lohwasser U , Börner A (szerk.) Cereals for Food, Feed and Fuel, Challenge for Global Improvement: Eucarpia Cereals Section - ITMI Joint Conference, Book of Abstract. 359 p. Wernigerode, Németország, 2014.06.29 -2014.07.04. p. 268. (2014)
- Puskás K, Varga-László E, Vida Gy, Komáromi J, Bedő Z, Veisz O.: Resistance of wheat cultivars against the spread of fusarium in spikes. In: Bedő Z, Láng L (szerk.). Plant Breeding for Future Generations: Proceedings of the 19th EUCARPIA General Congress. 448 p. Budapest, Magyarország, 2012.05.21 - 2012.05.24. Martonvásár: Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, p. 407. (ISBN:978-963-8351-39-5). (2012)
- Varga B, Varga-László E, Veisz O.: Water-use efficiency and productivity of cereals under well-watered and drought-stressed conditions. In: Bedő Z, Láng L (szerk.). Plant Breeding for Future Generations: Proceedings of the 19th EUCARPIA General Congress. 448 p. Budapest, Magyarország, 2012.05.21 -2012.05.24. Martonvásár: Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, p. 382. (ISBN:978-963-8351-39-5), (2012)
- Kiss L, Sebestyén E, László E, Salamon P, Balázs E, Salánki K.: Molecular characterization of a black locust strain of Peanut stunt virus. In: The 3rd Conference of the International Working Group on Legume and Vegetable Viruses (IWGLVV) Ljubljana, Slovenia 20-23 August. Ljubljana, Szlovénia, 2008.08.20 -2008.08.23. p. 61.
- Vida Gy, László E, Puskás K, Veisz O.: Fusarium head blight resistance of old hungarian wheat genotypes. In: Vogelgsang S, Jalli M, Kovács G, Vida Gy (szerk.) Proceedings of the COST SUSVAR Fusarium workshop: Fusarium diseases in cereals – potential impact from sustainable cropping systems . 53 p. Velence , Magyarország , 2007.06.01 -2007.06.02. pp. 41-44.

Egyéb tudományos szempontból értékelhető teljesítmények

- Varga-László E. Védekezési lehetőségek a búza kalászfuzáriózisa ellen. Agrárágazat 17: pp. 66-68. (2016).
- Varga B, Varga-László E, Veisz O.: A hatékony vízhasznosító képesség. Magyar mezőgazdaság: a Magyar Mezőgazdasági Művelődési Társaság lapja 71:(7) pp. 28-30. (2016)
- Puskás K, Varga-László E, Veisz O, Vida Gy.: Búza kalászfuzárium-rezisztencia vizsgálatok mesterségesen fertőzött tenyészkertben. Martonvásár 26:(1) pp. 20-21. (2014)
- Vida Gy, László E, Bedő Z, Láng L, Veisz O.: A búza kalászfuzárium ellenállóságáról - lehetőségek és realitások a búzanemesítésben. Martonvásár 23:(2) pp. 12-14. (2011)
- László E, Puskás K, Szunics L, Bedő Z, Veisz O, Vida Gy.: Kalászfuzárium-ellenállóság. Magyar Mezőgazdaság: a Magyar Mezőgazdasági Művelődési Társaság Lapja 65:(3) p. 17. (2010)
- Vida Gy, Gál M, Károlyi-Cséplő M, László E, Puskás K, Pribék D, Karsai I, Szunics L, Uhrin A, Bedő Z, Láng L, Veisz O.: Őszi búza genotípusok betegség-ellenállóságának javítása hagyományos és molekuláris módszerekkel. In: Veisz O (szerk.). A martonvásári agrárkutatások hatodik évtizede.: 1999-2009 . 240 p. Martonvásár: MTA Mezőgazdasági Kutatóintézet, 2009. pp. 65-70. (ISBN:978-963-8351-35-7)