Hivatalos Bírálat

Molnár István:

„Az idegenfajú génátvitelt segítő strukturális genomikai kutatások Aegilops fajokban”

című

akadémia doktori értekezéséről

A kecskebúza fajok (Aegilops sp.) a termesztett búza nagy genetikai változatossággal rendelkező közeli vad rokonaiként a búzanemesítés ígéretes génforrásai. Így nem csoda, hogy a búza x kecskebúza keresztezések igen hosszú, több mint százötvenéves múltra tekintenek vissza, mely időszak alatt számos amfiploid hibrid, addíciós és transzlokációs búza vonal került előállításra a világ számos laboratóriumában, azonban az ezekben a fajkeresztezésekben rejlő lehetőségeket még messze nem sikerült kiaknázni. Martonvásáron az 1990-es évek közepén Lángné Molnár Márta indított úttörő jellegű Triticum aestivum x Aegilops biuncialis fajkeresztezéseket egy speciális martonvásári búza törzs (Mv9 kr1) és egy kiváló adaptációs és betegségellenállósági tulajdonságokkal rendelkező Aegilops biuncialis törzs (MvGB642) felhasználásával. A sikeres keresztezés számos morfológiailag és citogenetikailag jellemzett amfiploid illetve addíciós búza vonalat eredményezett, azonban a végső cél eléréséhez, vagyis Ae. biuncialis géneknek a búza genomba történő hatékony és célzott beépítéséhez, ekkor még nem álltak rendelkezésre sem megfelelő módszerek, sem a vad faj genetikai szerveződésével kapcsolatos szükséges ismeretek.

A jelölt még PhD hallgatóként kapcsolódott be ezekbe a kutatásokba, majd PhD értekezésének megvédését (2008) követően célul tűzte ki egy olyan marker-kapcsolt szelekciós rendszer kiépítését, amely jelentősen növeli az ivaros keresztezésen alapuló génátvitel hatékonyságát Aegilops fajokból a termesztett búzába. MTA doktori értekezésében ezt a szisztemikus, jellegében és volumenében nemzetközileg is kiemelkedő kutató és fejlesztő munkát foglalja össze.

<u>Az értekezés formai és tartalmi megfelelősége</u>

A dolgozat, hasonlóan az alapjául szolgáló kutatásokhoz, logikusan és jól felépített. Stílusa, nyelvezete jó, szakmailag korrekt.

A Bevezetés és az Irodalmi áttekintés fejezetek kellő hátteret adnak a dolgozatban tárgyalt eredmények megértéséhez. A jelölt az idegenfajú génátvitel génforrás-koncepciójától kiindulva, a fajok ismertetését követően bemutatja a területen eddig elért fontosabb eredményeket, a meglévő problémákat és az azok megoldását szolgáló modern módszertani lehetőségeket.

Az Anyag és módszerek fejezet kellően részletes; a módszertani leírások és a külső hivatkozásokra való utalások logikusak és arányosak.

A kutatások jellegéből következően az értekezés Eredmények és megvitatásuk fejezete rendkívül adatgazdag. A dolgozat olvasmányosságát a jelölt számos külső forrásra mutató „link” beszúrásával, illetve az olvasónak a megjelent publikációkhoz való irányításával próbálta meg fenntartani, amit alapvetően jó megoldásnak tartok. Így a dolgozat nem veszik el a részletekben, hanem a lényegre fókuszálva egy-egy kiragadott példával illusztrálva mutatja be a jelölt eredményeit. Az eredmények három egymásra épülő, de jól elkülöníthető részre vannak bontva. Nem szokványos, de jó megoldás,

hogy az egyes részeket rögtön követi a megvitatásuk. Az eredmények „történetiségükben" kerültek bemutatásra és így szemléletesen tükrözik azt a hatalmas változást, amit a kísérleti módszerek elmúlt évtizedben bekövetkezett jelentős fejlődése okozott a területen, és amit a jelölt maximálisan törekedett ki is használni. Feltehetően ennek a „történetiségnek" a következménye, hogy a 4.1.1.1. szakaszban ill. a 3. ábrán bemutatja a repetitív próbák in situ hibridizációra és kromoszóma azonosításra történő használatát Aegilops fajok esetében, de csak jóval később, a 4.1.2 szakaszban részletezi, hogy ezek az egyes kromoszómákon milyen mintázatot kell, hogy adjanak a referencia kariotípus alapján. Egy további észrevételem, hogy a 53. oldalon a szövegben 45S, a 10. ábrán 18S próba szerepel. A bíráló szerint az első a helyes. Ha mégsem, akkor ez a különbség az oka a 3. és 10. ábrán a rDNS próbáknak az egyes kromoszómákhoz való hibridizációjával kapott látszólagos eltéréseknek, vagy az pusztán az in situ hibridizáció jellegéből fakadó technikai különbség? Összességében az eredmények bemutatása logikus és színvonalas ábrákkal jól szemléltetett. Megjegyzés: némely ábra részletei a kis betűméret miatt nehezen tanulmányozhatóak.

A dolgozat egy rövid, de mégis kellően részletes összefoglalóval zárul, melyben a jelölt 12 pontban foglalja össze új tudományos eredményeit, felvázolva a továbblépési lehetőségeket is. Ezek mindegyikét elfogadom, amit az alábbiakkal indokolok.

Új tudományos eredmények

Az eredmények első szakasza azt a nemzetközi együttműködésben végzett úttörő munkát mutatja be, melynek során a jelölt kidolgozta azokat a kromoszóma jelölési és áramlási citometriai paramétereket, melyek segítségével számos búzával rokon vad növény faj, elsősorban Aegilops fajok, egyedi kromoszómái nagy tisztaságban izolálhatóvá váltak. Ez a metodikai áttörés utat nyitott ezen fajok genomjának részletekbe menő elemzéséhez és összehasonlításához, a genom és kromoszóma szerkezettől kiindulva egészen az egyedi gének DNS szekvencia szintjéig. Az eredmények második részében a vizsgált Aegilops fajok genom analízisével kapcsolatos eredményeit mutatja be a jelölt: feltárta a vad fajok és a termesztett búza genomszerveződésének hasonlóságait és eltéréseit, igazolt az evolúció során bekövetkezett számos kromoszómaszerkezeti változást, és meghatározta az egyes fajok azonos kromoszómái közötti kolinearitás mértékét. A jelölt és munkatársai elsőként készítették el az Aegilops biuncialis genetikai térképét, ami alapján részleteiben meghatározták az U és M kromoszómák és a megfelelő búzakromoszómák közötti kolinearitást, az M genom esetében ezt is elsőként. Elkészítették az Aegilops umbellulata és az Aegilops comosa U és M kromoszómáinak egyelőre még vázlatosan összeillesztett genom szekvenciáját, az előbbi esetében már több mint 25000 gént sikerült prediktálniuk és részleteiben igazolták az U genom és a búza D genom közötti kromoszómális homeológia kapcsolatokat. Mindezeknek a módszertani fejlesztéseknek és ismereteknek köszönhetően, különböző megközelítéseket használva, több száz olyan molekuláris markert fejlesztett, melyek feltehetően igen hasznosnak bizonyulnak majd a búza introgressziós nemesítése során. Ez utóbbi célt szolgálják a harmadik szakaszban bemutatott eredmények is, melyek új búza x Aegilops hibridek, addíciós és transzlokációs vonalak előállításáról és citogenetikai jellemzéséről számolnak be.

Az értekezés olvasása során csak néhány érdeklődő jellegű kérdés merült fel bennem, amiket feltennék a jelöltnek:

A 78. oldalon írja, hogy eredményeik alapján javasolták az Aegilops markgrafii kromoszómáinak átnevezését, ami teljesen megalapozottnak tűnik. Sikerült-e ezt elérni?

Dolgozatában az MvGB642 genotípus martonvásári levélrozsda törzsekkel szembeni ellenállóságáról beszél. Ez milyen mértékű ellenállóságot jelent valójában? Milyen elterjedtségűek és agronómiai jelentőségűek ezek a törzsek?

Van-e a disszertáció elkészülte óta előrelépés az Aegilops biuncialis agronómialig értékes génjeinek térképezésében, és ha igen, vannak-e ebből a szempontból ígéretes addíciós/transzlokációs vonalak?

A búza és Aegilops kromoszómák homeológ régióinak ismerete hogyan segíti elő az introgressziós nemesítést? Egyelőre úgy tűnik, hogy az addíciós és transzlokációs vonalak előállítása véletlenszerű.

A hiányzó búza x Ae. biuncialis addíciós vonalakat két nekifutásra sem sikerült előállítani. Ez csak idő és erőfeszítés kérdése, vagy lehet, hogy genetikai háttere van?

Hogyan látja a hosszútávú lehetőségeket, melyik vezethet rövidebb távon és/vagy nagyobb valószínűséggel gyakorlati eredményre, a keresztezésen alapuló marker-asszisztált idegenfajú génátvitel vagy a genetikai térképen/szekvencia analízisen alapuló génizolálást követő genomszerkesztés?

Összefoglalva, az értekezés kiválóan megírt, szakmailag igen magas színvonalú munka, amely jól tükrözi a Molnár István széleskörű szakmai ismereteit, elméleti és módszertani felkészültségét. A jelölt eredményei a kutatási terület élvonalába tartoznak köszönhetően a több évtizedes citogenetikai tapasztalat és a legmodernebb molekuláris genetikai módszerek kombinációjának. Ez a kombináció a tudományt számos új genomszerveződési információval, szekvencia adattal, jól használható genetikai markerrel, növény törzzsel gazdagította egyben megalapozva mindezek gyakorlati alkalmazásának a lehetőségét.

Fentiek alapján a doktori művet formai és tartalmi szempontból egyeránt alkalmasnak tartom a nyilvános vitára.

Szeged, 2022. 08. 04.

Fehér Attila Sándor

az MTA doktora