Bírálat

Molnár István

Az idegenfajú génátvitelt segítő strukturális genomikai kutatások *Aegilops* fajokban c. Akadémiai Doktori értekezéshez

Bíráló: Dr. Hegedűs Attila, DSc.

Molnár István MTA doktori értekezése a martonvásári Mezőgazdasági Intézet nemzetközi hírű molekuláris citogenetikai műhelyének utóbbi, közel két évtizedet felölelő tevékenységéhez kötődik. A világ túlnépesedése miatt és a növénytermesztés előtt álló egyre jelentősebb környezeti-társadalmi kihívások okán minden szóba jöhető módszert fel kell használni arra, hogy az alapvető tápláléknövények (köztük a búza) termését minél nagyobb mennyiségben és minél jobb minőségben tudjuk biztosítani. Ehhez bizonyosan szükség lesz a búza vad rokonfajaiban potenciálisan rendelkezésre álló, hasznos allélváltozatokra is. Ezek kiaknázása a legfőbb célja az értekezésben bemutatott előnemesítési munkának és az ezt segítő molekuláris citogenetikai vizsgálatok és markerekre alapozott szelekciós eljárások kidolgozásának.
Összefoglalóan elmondható, hogy az értekezés hihetetlenül nagy adatmennyiségen alapuló, ezáltal megbízható következtetések levonására is alapot adó, magas színvonalú tudományos munkát mutat be. A Jelölt munkája során az elméleti háttérismeretek bővítésén túl a nemesítési gyakorlatban hatékonyan használható szelekciós eljárásokat, módszertani fejlesztéseket dolgozott ki, és donor genotípusként alkalmazható növényvonalakat is létrehozott. Mindezek a szakterület nemzetközi szinten is új tudományos eredményeinek fogadhatók el. A kutatási időszak alatt a terület leginkább korszerű mérési technikáit vetette be azok evolúciója mentén a kitűzött célok elérése érdekében. Az értekezés logikusan tagolt, szerkezete letisztult. A szöveg megfogalmazása, az illusztrációk szakmai tartalma és formai megvalósítása egyaránt magas színvonalú munkát tükröz, egyes fejezetei véleményem szerint egyetemi tananyagként is jól használhatók lennének.

Az értekezés szerkezetére vonatkozó észrevételek

Az összesen 140 számozott oldalból álló MTA doktori értekezés szerkezeti szempontból a tudományos dolgozatok esetében megszokott fejezeteket tartalmazza. Egyedüli kritikai észrevételem, hogy a Bevezetés című fejezetnek a Bevezetés és célkitűzés cím találóbb lett volna, hiszen a célkitűzés is itt történik meg, ami a fejezet egyetlen alfejezetét képezi. Az értekezés legfontosabb, az Eredmények és megvitatásuk című fejezete három részből áll: 1) a vad fajokból áramlási citometriával történő kromoszómaizolálás, 2) ezek genomikai célú vizsgálata, és 3) az *Aegilops biunciális*-ból termesztett búzába történő introgressziós génátvitelt segítő markeres és molekuláris citogenetikai technikák kidolgozása. A hagyományostól eltérő módon, Jelölt az eredmények ismertetését és azok megvitatását nem együtt és nem is külön fejezetekbe izolált módon adta közre, hanem a valamelyest elkülönülő témakörök eredményeinek bemutatását követően a megvitatást külön alfejezetekben szerepelteti. A második témakör esetén a COS markerekkel, illetve a genetikai térképezéssel és kromoszómaszekvenálással kapcsolatos részeket is külön-külön elemzi. Ez a fajta szerkesztés kétségkívül eredeti, de véleményem szerint jól követhető is és segíti az értekezés logikai összefüggéseinek átlátását.

Az értekezés igen nagy volumenű munka, a megállapítások mögött meghúzódó adatmennyiség nem publikálható más módon, mint online adatbázisok útján. A Jelölt kétféle megoldást választott erre a célra, egyfelől az értekezés alapjául szolgáló tudományos közleményeknek, a folyóiratok honlapján szabadon hozzáférhető elektronikus kiegészítő adatai között, másrészt az MTA Könyvtárának szabadon hozzáférhető repozitóriumában (REAL) jelölte meg ezek elérhetőségét.
Az Összefoglalás és az Új tudományos eredmények fejezetek összevonását is szerencsésnek érzem, az összefoglalás részeken hasznos támpontot kap az olvasó ahhoz, hogy a megfogalmazott tézispontok újszerűségét átlássa. A szerkezet felkínálta lehetőséggel azonban, vagyis hogy a tézispontokat minél lényegre törőbben, sallangmentesen lehetne megfogalmazni, a Jelölt nem minden pont esetében tudott élni.

Az értekezés szakmai, tudományos értékére vonatkozó észrevételek

A közönséges búzával (*Triticum aestivum*) és ennek rokon vad fajaival foglalkozó kutatók számára kétségkívül az egyik jelentős nehézséget, legalább is a növényekkel történő ismerkedés szakaszában, az jelenti, hogy szinte minden fajnak van szinonim elnevezése, bizonyos fajoknak ráadásul igen szép számban. A Jelölt a munkája szempontjából fontos *Aegilops biuncialis* esetében például négy szinonim elnevezést is megemlít. Sajnos azonban nem sikerült minden faj esetében a konzekvens névhasználat. Az értekezés elején szereplő *Aegilops caudata* fajt az Eredmények fejezettől kezdődően *Ae. markgrafii*-ként hivatkozza a Jelölt. Ez nyilván a fajokat jól ismerő kutatóknak nem jelent nehézséget, de a fajokat közelebbről nem ismerő érdeklődőknek kis nyomozásra van szükségük ahhoz, hogy megértsék az összefüggéseket. A legélesebben a 8. ábra esetében jelentkezik ez a probléma, ahol az ábrákon az *Ae. caudata* név szerepel, de az ábraaláírásban *Ae. markgrafii*, ugyanakkor sehol nincs megemlítve, hogy ezek szinonim elnevezések. Tekintettel arra, hogy az NCBI Taxonomy adatbázisban is az *Aegilops markgrafii* (Greuter) K.Hammer név szerepel jelenleg használatos elnevezésként, javasolnám ennek konzekvens használatát. Ilyen esetekben tovább segíti az olvasót, ha a szóba jöhető szinonim elnevezéseket a faj első említésekor felsoroljuk. Sajnos a fenti esetben ez sem történt meg. Azt is hiányolom, hogy bár ez a faj igen sokszor előfordult a vizsgálatokban, a 2.1.2. fejezetből teljes mértékben kimaradt a bemutatása.
A 2.1.1. alfejezetben található egy leírás a poliploidizációt követő kromoszóma-átrendeződésekről és ezek következményeiről. Javasoltam volna megemlíteni, hogy a poliploidizáció révén paralóg génkópiák keletkeznek, hiszen a továbbiakban taglalt neo- és szubfunkcionalizáció is a paralóg gének előtt álló különböző evolúciós forgatókönyvek.
A 2.1.3. alfejezetben a kolchicinről az olvasható, hogy azt az őszi kikerics magjából és „hagymájából" izolálják. Természetesen elfogadom, hogy a leírás célja a nemesítési szempontból nagy jelentőségű alkaloid vegyület, a kolchicin bemutatása, ugyanakkor éppen ezért az értékes hozzájárulásáért megérdemli ez a növény, hogy a vegyületet termelő szervét helyesen nevezzük meg, ez ugyanis nem hagyma, hanem hagymagumó. Az elnevezések ugyan kissé hasonlóak, de botanikailag igen eltérő eredetű és szerkezetű szervről van szó!
Tekintettel arra, hogy az MTA doktori értekezés egy szigorúan tudományos munka, értelemszerűen elfogadható, hogy eltekintünk bizonyos genetikai szakkifejezések értelmezésétől (monoszómia, diszómia, diteloszóma stb.), viszont kérdéses, hogy akkor a talán ezektől is szélesebb körben ismert, alapvető genetikai fogalmak (pl. heterozigótaság) magyarázata miért szükséges (25. old.). A homológ és homeológ kifejezések tisztázása viszont célszerű lett volna, mert a tézispontok megfogalmazásakor is keveredik ezek használata.
A 29. oldalon, a 2. ábra forrása nem világos. A Jelölt Giorgi és mtsai., 2013 munkájának leírása során hivatkozza az ábrát, ugyanakkor az ábraaláírásban nem szerepel a hivatkozás és az ábrát

nem is találtam meg a hivatkozott cikkben. Honnan származik ez az ábra, egy mások által írt publikációból vagy saját eredmény?
A 37. oldalon a BLASTx analízissel kapcsolatban a kérdező szekvencia helyett a kereső szekvencia elnevezés használatát javaslom. Olyan megállapítások esetén, amik nem szerepelnek táblázatban/ábrán (pl. „..a vizsgált *Ae. markgrafii* MvGB428 és MvGB607 genotípus FISH-mintázata közt egyik próba esetén sem találtunk különbséget") szerencsés lenne megjelölni, hogy ezek az adatok nem kerültek bemutatásra az értekezésben.
Az értekezésben több helyen előfordulnak olyan kifejezések, hogy „jelentős homológia", „nagyfokú homológia", „legnagyobb homológia" stb. Ezekben az esetekben a közlés nem félreérthető, ugyanakkor meg kell jegyeznem, hogy a homológia evolúciós rokonságot jelent, ami vagy megvan, vagy nincs, de semmiképpen nem kvantifikálható. Ha két szekvencia homológ, az közös evolúciós eredetre utal, ami nem lehet jelentős, vagy nagyfokú. Ezekben az esetekben a szekvenciák közötti hasonlóság, vagy a kolinearitás mértéke kvantifikálható, de nem a homológia.
Az *Aegilops* kromoszómák nyomon követésére tervezett, EST-alapú markerekkel kapcsolatban a 4.3.1 fejezetben az szerepel, hogy Jelölt 124 PCR primerpárt tesztelt, melyek közül 50 bizonyult polimorfnak. Itt hivatkozza az értekezés a 4. online mellékletet, ahol viszont 37 primerpár adatai és az általuk felszaporított amplikonok méretei találhatók meg. Kérdésem, hogy a maradék 13 primerpár adatait miért nem közölte? További megjegyzésem, hogy az „50 marker (…) produkált polimorf amplikont…" megállapítás nem pontos, hiszen a munka során kizárólag a prezencia/abszcencia típusú, valamint az amplikonok méretében jelentkező polimorfizmust mutatták ki. Feltételezhető azonban, hogy azokban az esetekben, ahol ilyen eltérések nem voltak, tehát ugyanolyan méretű fragmentum keletkezett mind a búza, mind a vizsgált *Aegilops* fajok esetében, a szekvencia-polimorfizmus (SNP-k jelenléte) nem zárható ki. Tehát a megfogalmazás úgy helyes, hogy 50 olyan marker volt, melyek kizárólag az *Aegilops* fajok esetében vezettek amplifikációhoz vagy a búzához képest eltérő méretű fragemtumok felszaporításához.
A 88. oldalon a következő mondat szerepel: „…egy primerpárt terveztünk az exon utolsó 100 bp régiójára (forward primer) és az intron első 500 bp régiójára (reverse primer)." Ez esetben is érthető, hogy mi történt, de szeretném a figyelmet felhívni a megfogalmazás pontatlanságára: olyan primereket terveztek, melyekkel az exon utolsó 100 bp és az intron első 500 bp-os szakaszát lehet amplifikálni, és természetesen nem az exon 100 bp-os ill. az intron 500 bp-os szakaszára tervezték a primereket.
A DNS-molekulaméret marker esetén szerencsés lenne megadni pontosan, hogy melyik forgalmazó, melyik típusú markerét használták.

Formai észrevételek

Az értekezés egészét tekintve igényes munka, a mondatok gördülékenyek, jól követhetők, és a nagy terjedelem ellenére viszonylag kevés formai, és igen kevés helyesírási hiba található a szövegben, véletlen betűhiba csak elvétve. Mindez a Jelölt munkájának gondosságát, igényességét tükrözi. Az alábbiakban kiemelnék néhány olyan formai hibát, amit említésre méltónak lehet tekinteni. A „tradicionális" szó helyesírása minden esetben tévesen, hosszú í betűvel szerepel. Ugyanilyen a strukturális szó, ami helytelenül, hosszú ú-val íródott. A „kromoszomális" szó is hosszú ó-val szerepel minden esetben, holott itt is a rövid o lenne helyes. Az idiogram egy m-mel helyes (47. oldal). Szintén problémás a lókusz szó írásmódja, amivel kapcsolatban már az MTA Biológiai Tudományok és Orvosi Tudományok Osztályán is sok vita felmerült. Tudomásom szerint a Nyelvtudományi Intézet a megkeresésre azt a választ adta, hogy tudományos szövegben a latin írásmóddal (*locus*), míg a nagyközönségnek szánt

szövegekben a magyaros írásmóddal (lókusz) használandó a szó. A Jelölt által választott „lokusz” írásmód azonban bizonyosan nem támogatott.
Az illusztrációs anyagok, ábrák és táblázatok nagyon jó minőségűek, jól követhetők és általánosságban rendelkeznek az értelmezésükhöz szükséges információkkal. Tévedést csak a 7. ábra aláírásában láttam, ahol a GISH a megjelölt C és D ábrákkal szemben a C és E ábrákon látható.
A 9. ábra az 54. oldalon van hivatkozva, a 10. ábrára történő hivatkozás után. Így vagy meg kellett volna cserélni az ábraszámokat, vagy még inkább megfelelő lett volna, ha a 9. ábrára elhelyez a Jelölt egy hivatkozást az 52. oldal alján, ahol az *Aegilops* kromoszómák FISH-analíziséhez használt ismétlődéseket bemutatja. A 25. és 26. ábrákra sehol nem találtam hivatkozást a szövegben.
Genetikai munkákban a keresztezés jelölésére nem a kis x-betűt használjuk, hanem a keresztezést jelölő szimbólumot: ×. Néhány esetben a földrajzi nevek leírása nem helyes (pl. a Földközi-tenger, Észak-Afrikában, Dél-Európában) egyaránt kötőjellel írandó, nem külön. A későbbiekben hasonló szerkezetek helyesen szerepeltek, ezért itt valószínűleg véletlen hibáról lehet szó. A Hoagland-tápoldat és az Eppendorf-cső szintén kötőjeles.
A 3.2.1 alfejezet címe után nem kell pontot tenni

Kisebb jelentőségű hibák jegyzéke

A Jelölt a szövegközi hivatkozásoknál az „mtsai” rövidítést használja, viszont a rövidítést jelző pontot nem teszi ki. Még érdekesebb, hogy az értekezés bizonyos részein a hivatkozásoknál teljesen kiírja a „munkatársai” szót, ami fölöslegesen növeli a terjedelmet.
16. old.: a felsorolásszerűen egy szóba írandó, bár a Word tévesen a szó szétbontását javasolja.
16. old.: a „homoeológ” szó az angol írásmódból maradhatott tévesen, helyesen homeológ
17. oldal: véleményem szerint Robertson-transzlokáció vagy robertsoni transzlokáció lehet a helyes írásmód, de az elsőt javasolnám
A BAC (Bacterial Artificial Chromosome) rövidítés magyarázata a 19. oldal után a 21. oldalon is szerepel, redundáns módon.
22. old.: helyesen chipek („cippek” helyett)
22. old.: a növényfaj egy szóba írandó
23. old.: oligonukleotid írandó oligonucleotid helyett
35. old.: az amiprofos vegyület nevét a magyar helyesírás szabályai szerint amiprofosz formában javaslom leírni
35. old.: 1.25 mM helyett 1,25 mM írandó
53. old.: submetacentrikus helyett szubmetacentrikus
60. old.: kariotrípus helyett kariotípus
65. oldal: A faj neve helyesen *T. urartu*
67. old.: a PCR-termékek hosszpolimorfizmusát elegánsabb méretpolimorfizmusnak nevezni
72. old.: 10 %-ál helyett 10%-nál
85. old.: *Aegilaps* helyett *Aegilops*

Néhány esetben elmaradt a bekezdés első sorának behúzása (pl. 17., 54., 106. oldal).
Érdekes a szövegközi hivatkozások rendezésének módja. A legtöbb esetben, amikor több irodalomra is hivatkozik a Jelölt, azok megjelenésének éve szerint kerülnek felsorolásra a legrégebb megjelent munkától a legfrissebb munkáig. Ez azonban nem mindig így történik, pl. 20., 24., 25., 109. old.
Az angol fragment szó helyett a latin alak, fragmentum használatát elegánsabbnak érzem tudományos szövegben.

Új tudományos eredmények

A Jelölt által felsorolt 12 új tudományos eredmény újdonságát nem vitatom, azok lényegi elemeit elfogadhatónak tartom. Egyedül a 7. tézispontból az alábbi részeredményt nem érzem helytállónak: „Szintén kimutattuk, hogy az *Ae. speltoides* (mint a hexaploid búza B genomjának feltételezett őse) kromoszómái mutatták a legnagyobb homológiát a búzakromoszómákkal." Természetesen nem vitatom, hogy Jelölt számot adott ilyen irányú kutatási eredményekről, amiket a 19. ábrán nagyon meggyőzően be is mutatott, ám ezt nem tartom új eredménynek, inkább egy korábbi feltételezés megerősítésének. Talán más megfogalmazással elfogadható lehetne, például hogy az eredmények alátámasztották, megerősítették a búza B genom eredetére vonatkozó feltételezéseket, kísérletes bizonyítékot adtak erre vonatkozóan. Ennek szakirodalmi háttere egyébként nem is szerepel az értekezésben, sem az Irodalmi áttekintés, sem az Eredmények megvitatása fejezetekben nem találtam hivatkozást olyan cikkekre, amelyek ezt a kapcsolatot valószínűsítik (pl. Haider, 2013. Russ J Genet, 49: 263-274; Miki et al., 2019. DNA Res., 26: 171-182; Salse et al., 2008. BMC Genom, 9: 1-12), és amelyek függvényében értékelhetnénk a kísérleti eredmények újdonságértékét. A tézispontok nagy részét ugyanakkor javaslom rövidíteni és átfogalmazni, mert bizonyos részletek elhagyásával koherensebben megfogalmazhatók a tényleges új eredmények, illetve a korábban említett hibás megfogalmazások (pl. „nagy mértékben homológ") kiküszöbölhetők. A 9. tézispontnál keveredik a homológ/homeológ fogalmak használata. Itt úgy javítanám a leírást, hogy az 1U, 2U és 3U kromoszóma csaknem teljesen kolineáris a búza 1D, 2D és 3D homeológ kromoszómákkal. Ugyanitt a búza 5D kromoszómájával homeológ 5U kromoszóma a 4D kromoszóma hosszú karjával homológ genomi fragmentumot hordoz. A jelentősen átrendeződött 6U kromoszóma homológ régiókat tartalmaz a búza 1D, 2D, 4D, 6D és 7D kromoszómákkal.

A tézispontok változtatására az alábbi javaslatot fogalmazom meg:

1. Egyparaméteres áramlási citometria alkalmazásával meghatározta az U és M genom donorfajainak áramlási kariotípusát, a kariotípuscsúcsok kromoszomális összetételét és kimutatta, hogy méret alapján nagy tisztaságban izolálható az *Ae. umbellulata* 1U, 3U és 6U, valamint az *Ae. biuncialis* 1U kromoszómája.
2. Meghatározta a hexaploid búza diploid őseinek, a *T. urartu*-nak, *Ae. speltoides*-nek és *Ae. tauschii*nak áramlási kariotípusát. Méret alapján sikerrel izolált tiszta frakciókat e fajok 5A, 5S és 5D kromoszómája esetében.
3. Meghatározta a C genommal rendelkező *Aegilops* fajok, a diploid *Ae. markgrafii*, valamint az allotetraploid *Ae. cylindrica* ($C^cC\ ^cD^cD^c$) és *Ae. triuncialis* ($C^tC\ ^tU^tU^t$) kromoszómáinak áramlási kariotípusát és a kariotípuscsúcsok kromoszomális összetételét. Kimutatta, hogy az *Ae. markgrafii* 4C és 5C kromoszómájából, az *Ae. triuncialis* MvGB585 genotípusban jelenlévő $6U^tS.6U^tL$-$5C^tL$ transzlokációból és a $7C^t$ kromoszómából, valamint az *Ae. cylindrica* $1C^c$ és $5D^c$ kromoszómájából tiszta frakciók izolálhatók.
4. Kétparaméteres áramlási citometria segítségével meghatározta az *Ae. umbellulata, Ae. comosa, Ae. speltoides, Ae. markgrafii, Ae. sharonensis* és *Ae. biuncialis* 'dot plot' áramlási kariotípusát és azonosította a kariotípusokat alkotó részecskepopulációk kromoszomális összetételét. Kimutatta, hogy az U, M, C, S genomok összes egyedi kromoszómája, valamint az S^{sh} kromoszómák többsége nagy tisztaságban izolálható a diploid *Aegilops* fajokból.
5. Kétparaméteres áramlási citometriával nagy tisztaságban izolálta az *Ae. biuncialis* 1U, 6U, 3U, 2M, 3M és 7M kromoszómáját búza (Mv9kr1)-*Ae. biuncialis* (MvGB642) addíciós vonalakból, valamint az *Ae. umbellulata* 2U kromoszómájának rövid és hosszú karját, illetve a 7U kromoszóma hosszú karját búza-*Ae. umbellulata* diteloszómás addíciós vonalakból.

6. 51 búzaspecifikus COS marker 169 lókuszát azonosította az U és M genom diploid őseinek, illetve az allotetraploid *Ae. biuncialis* és *Ae. geniculata* faj kromoszómáin.
7. Az *Ae. umbellulata*, *Ae. comosa*, *Ae. speltoides* és *Ae. markgrafii* egyedi kromoszómáin 100 db. búza COS markert azonosított. Kimutatta, hogy az M genom kromoszómái jelentős mértékű egyezést mutatnak a búza D kromoszómáival, míg az U genomban a búzához képest számos átrendeződés történt az evolúció során. Az *Ae. markgrafii* esetében az 1C, 5C, 6C és 7C kromoszóma jelentős hasonlóságot mutatott a megfelelő búza homeológ kromoszómákkal, míg a genomátrendeződések következtében a 2C homológ régiókat tartalmaz a búza 2-es, 3-as és 4-es kromoszómáival, a 3C a 3-as és 7-es kromoszómákkal, míg a 4C szakaszai homológok a 4-es és 2-es kromoszómákkal.
8. Egy 224 egyedből álló *Ae. biuncialis* F2 szegregáló populáción 11317 DArTseq markert térképezve kimutatta, hogy az M genom kromoszómái nagy mértékben kolineárisak a megfelelő homeológ csoportba tartozó búzakromoszómákkal, míg az U genom inter- és intrakromoszomális transzlokációk és inverziók következtében jelentős mértékben átrendeződött a búzagenomokhoz képest.
9. Elkészítette az U és M genom kromoszómáinak *de novo* vázlatos genom-összeillesztéseit, az *Ae. umbellulata* kromoszómáin 25225 nagy megbízhatósággal rendelkező gént azonosítottunk. Kimutatta, hogy az 1U, 2U és 3U kromoszóma csaknem teljesen kolineáris a megfelelő homeológ búzakromoszómákkal, a 4U kromoszóma egyes régiói homológiát mutatnak a búza 4D, 5D és 6D kromoszómáival, valamint a búza 5D kromoszómájával homeológ 5U kromoszóma a 4D kromoszóma hosszú karjával homológ genomi fragmentumot hordoz. A jelentősen átrendeződött 6U kromoszóma homológ régiókat tartalmaz a búza 1D, 2D, 4D, 6D és 7D kromoszómákkal.
10. Az *Ae. umbellulata* és *Ae. comosa* kromoszómáinak genomösszeillesztéseit felhasználva 217, PCR segítségével validált, polimorf génalapú molekuláris markert fejlesztett, melyek közül 109 marker kromoszomális pozícióját búza-*Aegilops* addíciós vonalak segítségével is meghatározta. Új markerkapcsolt szelekciós rendszert dolgozott ki az U és M kromoszómák nyomon követésére *Ae. biuncialis*-ból történő génátviteli programokban.
11. Előállított egy 4U kromoszómát hordozó búza/*Ae. biuncialis* diszómás addíciós vonalat, valamint egy 4M(4D) és 5M(5D) diszómás szubsztitúciós vonalat, melyekben a kromoszómákat FISH-sel, GISH-sel és molekuláris markerekkel azonosította.
12. Azonosított 10 búza-*Ae. biuncialis* transzlokációs vonalat, melyek közül 6 transzlokációt diszómás állapotban is sikerült előállítani. A transzlokációs kromoszómákat (T4DS.4DL-M, T5DS.5DL-M, T5MS.5ML-2DL, T1US.2BL, T2DS.2DL-2U és T1DL.1DS-4U) egymást követő GISH és FISH technikákkal és molekuláris markerekkel azonosította.

Nyilatkozat

A doktori művet minden szempontból (a kutatási célok indokoltsága alapján, az elvégzett munka volumenét és minőségét tekintve, valamint a tudomány és a nemesítési gyakorlat számára egyaránt rendkívül ígéretes eredményei okán) a nyilvános vitára alkalmasnak tartom, sikeres védés esetén Jelöltnek az MTA doktora cím megítélését határozottan támogatom.

Kérdések

1) A 15. oldalon az szerepel, hogy „Áramlási citometriával az idegen kromoszómát nagy mennyiségben izolálni lehet, mely számos további genomikai és proteomikai vizsgálat alapjául szolgálhat.” Kérdésem, hogy pontosan milyen proteomikai vizsgálatok elvégzése lehet érdekes izolált kromoszómák esetében, milyen kérdésekre remélhetünk választ ezzel a megközelítéssel?

2) Az *Aegilops speltoides* kromoszómák közül a FISH-analízis során a 4S kromoszóma mutatta a legerősebb jelölődést GAA-hibridizáció esetén (10. ábra). Egy másik S genommal rendelkező faj, az *Ae. sharonensis* FISHIS segítségével történő, GAA-próbával végzett jelölését követően a 4S kromoszómákat tartalmazó populáció ugyanakkor kisebb FITC fluoreszcenciával volt jellemezhető, mint pl. a 2S és 7S kromoszómákat tartalmazó frakciók (14. ábra). Mi lehet a különbség oka?

3) A búza génszekvenciák alapján tervezett COS markerek az *Aegilops* fajoknál is jól használhatónak bizonyultak, mellyel kapcsolatban Jelölt megjegyezte, hogy a tervezés alapjául használt ortológ gének kevésbé tűnnek variábilisnak, mint az SSR régiókat közrefogó genomi szekvenciák. Kérdésem, hogy milyen konkrét kísérleti adatok igazolják ezt a szekvencia-variabilitásbeli különbséget, illetve milyen szakirodalmi adatok támasztják ezt alá, hiszen a mikroszatellit ismétlődéseket határoló szekvenciákat is általánosan konzerváltnak ismerjük (különös tekintettel az EST-SSR szekvenciákra)?

4) Az új tudományos eredmények közül gyakorlati szempontból kiemelkedik a búza-*Aegilops* szubsztitúciós és transzlokációs vonalak előállítása. Kérdésem, hogy Jelölt véleménye szerint mi az a legkorábbi időpont, amikor a piacra kerülhet egy új martonvásári búzafajta, melynek genetikai hátterének kialakításához hozzájárulhatnak ezek a vonalak valamely hasznos agronómiai tulajdonság donor genotípusaként?

Budapest, 2022. július 3.

……

Dr. Hegedűs Attila
egyetemi tanár, D.Sc.