

TARTALOMJEGYZÉK

1	Bevezetés	3
2	Rövidítések jegyzéke	4
3	Irodalmi bevezetés	5
3.1	<i>Búza és eredete</i>	5
3.2	<i>A búzanemesítés kezdetei, a tájfajták jelentősége</i>	5
3.2.1	A magyar búzanemesítés kezdetei	6
3.2.2	Régi magyar fajták és jelentőségük	8
3.3	<i>A búza tartalékfehérjei és csoportosításuk</i>	9
3.3.1	Kénben szegény prolaminok	11
3.3.2	Kénben gazdag prolaminok	12
3.3.3	Nagy molekulatömegű (HMW-) prolaminok	13
3.3.4	A búzaprolaminok genetikája és polimorfizmusa	14
3.4	<i>A siker kialakulása és kölcsönhatásai</i>	17
3.4.1	Kovalens kölcsönhatások – a ciszteinek jelentősége	18
3.4.2	A glutenin polimerek kialakulása - glutenin modellek	19
3.4.3	Polimerek méreteloszlása	21
3.4.4	Nem kovalens fehérje kölcsönhatások a sikerben, a gliadinok szerepe	22
3.5	<i>A búzaminőség fogalma</i>	23
3.6	<i>A sikérszerkezet összefüggései a sikerminőséggel</i>	27
3.6.1	HMW és LMW glutenin alegységek relatív jelentősége (Payne-score)	27
3.6.2	A prolaminfrakciók minőségi és mennyiségi hatásainak vizsgálata	28
3.6.3	A kölcsönhatások (szinergetikus hatások) potenciális jelentősége a sikérszerkezet és funkció megismerésében	29
3.7	<i>Molekuláris markerek alkalmazása a növénynemesítésben</i>	30
4	Célkitűzések	32
5	Anyagok és módszerek	33
5.1	<i>Növényi anyag</i>	33
5.2	<i>Tartalékfehérje összetétel meghatározása</i>	33
5.2.1	Fehérje extrakció	33
5.2.2	Tartalékfehérjék elválasztása	34
5.3	<i>A HMW-glutenin alegységek vizsgálata molekuláris markerekkel</i>	35
5.3.1	DNS izolálás	35
5.3.2	Tesztelés HMW-glutenin alegység gén specifikus primerekkel	35
5.3.3	A pontmutáció azonosítása	35
5.3.4	A mutáns 1Ax2* gén amplifikálása és a gén C-terminális felének szekvenálása	36
5.4	<i>A tartalékfehérjék mennyiségi meghatározása</i>	37
5.4.1	Növényi anyag	37
5.4.2	SE-HPLC	37
5.4.3	RP-HPLC	37
5.5	<i>Sütőipari technológiai vizsgálatok</i>	38
5.5.1	Sikértulajdonságok jellemzése a magyar szabványok alapján	38
5.5.2	Reológiai tulajdonságok vizsgálata mikrotesztekkel	38
5.6	<i>Statisztikai vizsgálatok</i>	39
6	Eredmények és értékelésük	40

6.1	<i>Tartalékfehérje összetétel</i>	40
6.1.1	Glutenin alegység összetétel	40
6.1.2	Gliadin összetétel	41
6.1.3	Értékelés	42
6.2	<i>A HMW-glutenin alegységek vizsgálata molekuláris markerekkel</i>	44
6.2.1	Tesztelés HMW-glutenin alegység gén specifikus primerekkel	44
6.2.2	A pontmutáció azonosítása	45
6.2.3	A mutáns 1Ax2* gén amplifikálása és a gén C-terminális felének szekvenálása	49
6.2.4	Értékelés	49
6.3	<i>A tartalékfehérjék mennyiségének meghatározása</i>	52
6.3.1	SE-HPLC	52
6.3.2	RP-HPLC	52
6.3.3	A tartalékfehérjék allélösszetételének összefüggései a fehérjefrakciók mennyiségeivel	53
6.3.4	Értékelés	55
6.4	<i>A Bánkúti 1201 sütőipari technológiai vizsgálata</i>	58
6.4.1	A Bánkúti 1201 siker tulajdonságainak jellemzése a magyar szabványok alapján	58
6.4.2	A Bánkúti 1201 törzseinek reológiai jellemzése mikrotesztekkel	58
6.4.3	Értékelés	60
6.5	<i>Összefüggések a Bánkúti 1201 tartalékfehérje összetétele és funkcionális tulajdonságai között</i>	62
6.5.1	Összefüggések az allélösszetételekkel	62
6.5.2	A tartalékfehérje frakciók mennyiségének összefüggései a funkcionális tulajdonságokkal	73
6.5.3	Tartalékfehérje allélek kölcsönhatásai és szinergikus hatások	76
6.5.4	Minőségi és mennyiségi tulajdonságok együttes hatása a funkcionális tulajdonságok kialakulásában	78
6.5.5	Értékelés	85
7	Eredmények összefoglalása és következtetések	86
7.1	<i>A Bánkúti 1201 fajta tartalékfehérjéinek genetikai variabilitása</i>	86
7.2	<i>Minőségi és mennyiségi tulajdonságok jelentősége a fajta funkcionális tulajdonságainak kialakulásában</i>	88
7.3	<i>Agronómiailag jelentős tartalékfehérjék azonosítása és alkalmazhatóságuk a nemesítésben</i>	89
8	Irodalomjegyzék	92
9	Függelék	102

1 Bevezetés

A Bánkúti 1201 populáció egyes tulajdonságait tekintve hasonló a tájfajtákhoz. A tájfajták élőhelyükhöz kiválóan adaptálódva olyan kedvező tulajdonságokkal rendelkezhetnek, melyek a termesztett búzafajtákból a viszonylag szűk genetikai bázis következményeként hiányzanak. Tartalékfehérje összetételük számos esetben speciális, a modern búzafajtákban kis gyakorisággal előforduló allélekkel, allélkombinációkkal rendelkezhetnek. A különböző biokémiai és biotechnológiai módszerek és az elválasztási technikák fejlődésének következtében a régi búzafajtáknak, mint minőségi génforrásnak a felhasználására számos lehetőség kínálkozik. Ezért ezeknek a ma már inkább csak génbankokban fenntartott tájfajtáknak és régi búzafajtáknak a részletes biokémiai és molekuláris genetikai elemzése nagyon fontos.

Magyarországon a múlt század első felének egyik legközkedveltebb fajtája a Bánkúti 1201 búzafajta volt. A jó sütőipari minőségének köszönhetően a fajta nemesítési alapanyagul szolgált a környező országokban is. A fajta a hetvenes évek elején kiszorult a köztermesztésből, ma már csak génbankokban tartják fenn.

Az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézetében 1994 óta folynak a régi magyar búzafajtákkal és kiemelten a Bánkúti 1201 búzafajtával kapcsolatos kísérletek. Ezeknek a vizsgálatoknak az elsődleges célja a fajtapopuláció HMW-glutenin allélösszetétele és sütőipari tulajdonságok közötti összefüggéseinek megállapítása volt. A HMW-glutenin alegység összetételben tapasztalt nagy heterogenitás csak részben adott magyarázatot a törzsek jó minőségi tulajdonságaira.

A HMW-glutenin összetétel mellett az LMW-glutenin és a gliadin allélek is fontos szerepet játszanak a különböző minőségi tulajdonságok kialakulásában. A fehérje szintű vizsgálatok mellett további információkat szolgáltat a tartalékfehérjéket kódoló gének vizsgálata. A molekuláris biológiai módszerek segítségével olyan különbségek is kimutathatóak, melyek a ma már rutinszerűen alkalmazott fehérje elektroforézises technikák során rejtve maradnak.

A genotípusban kifejeződő allélek ill. allélkombinációk mellett az egyes tartalékfehérje frakciók mennyisége és arányaik is jelentős hatással vannak a sikér komplex szerkezetének, ezáltal a tészta minőségének kialakulására.

Dolgozatunkban különböző elválasztási és molekuláris biológiai módszereket felhasználva arra szeretnénk választ kapni, hogy melyek azok a tartalékfehérje minőségi és mennyiségi tényezők, melyek elsődlegesen hozzájárulnak a Bánkúti 1201 búzafajta jó sütőipari tulajdonságainak kialakulásához.

2 Rövidítések jegyzéke

A-PAGE – savas poliakrilamid gélelektroforézis

bp – bázispár

C% - keresztkötő ágens az akrilamid monomer %-ában

CBB – Coomassie-Brillant Blue

CTAB – cetil-trimetil-ammónium bromid

DNS – dezoxiribonukleinsav

DNTP – dezoxinukleotid trifoszfát (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)

DTT - dithiothreitol

E. coli – *Escherichia coli*

HMW-glutenin – nagy molekulatömegű glutenin (high molecular weight)

kb - kilobázispár

kDa – kilo Dalton

LMW-glutenin – kis molekulatömegű glutenin (low molecular weight)

PCR – polimeráz lánreakció (polymerase chain reaction)

PVDF – polivinilidén difluorid

RP-HPLC – fordított fázisú - nagy nyomású folyadék kromatográfia (Reversed Phase – High Pressure Liquid Chromatography)

SDS – Na-dodecil-szulfát

SDS-PAGE – Na-dodecilszulfát poliakrilamid gélelektroforézis

SE-HPLC – méretkizárásos – nagy nyomású folyadék kromatográfia (Size Exclusion – High Pressure Liquid Chromatography)

T% - teljes polimerképző tartalom

Ta – kapcsolási hőmérséklet (annealing temperature)

Taq – *Thermus aquaticus*

TCA – triklór-ecetsav

U - unit

3 Irodalmi bevezetés

3.1 Búza és eredete

A búza az emberiség legfontosabb kultúrnövénye. Haszonnövényként való termesztésével kapcsolatos nyomok az i.e. 8000-10000-ig vezethetők vissza. Az ősi alakok előfordulása alapján Kis-Ázsia tekinthető az elsődleges géncentrumnak (Orth és Shellenberger, 1988). A közönséges búza (*Triticum aestivum* L.) a számos termesztett fajt tartalmazó pázsitfűfélék családjába tartozik. A búza nemzetség (*Triticum* L.) poliploid sorozatot alkot: diploid ($2n=2x=14$), tetraploid ($2n=4x=28$) és hexaploid ($2n=6x=42$). A hexaploid búza három homeológ genomot (A, B és D (vagy G)), minden genomban hét pár kromoszómát tartalmaz (Belea, 1987). Az A genom a vad diploid búzákra (*T. urartu* és *T. boeoticum*) eredeztethető vissza. A termesztett tetraploid búzák kialakulásában két vad típus a *T. dicoccoides* (AABB) és a *T. araraticum* (AAGG) játszottak fontos szerepet. A hexaploid búzafajok (*T. aestivum*, *T. spelta*, *T. vavilovi*, *T. macha*, *T. compactum* és *T. sphaerococcum*) a tetraploid *T. dicoccum* (AABB) és a diploid *T. tauschii* (DD) természetes hibridizációjával alakultak ki (Miller, 1987).

3.2 A búzanemesítés kezdetei, a tájfajták jelentősége

A topográfiai és geológiai izoláció erősen meghatározza, hogy egy növényfaj populációi milyen mértékben különülnek el egymástól. Az ismert növényfajok típusainak begyűjtése és rendszerezése alapján meghatározhatóak ún. földrajzi diverzitás centrumok, ahol az adott növényfajon belüli legnagyobb variabilitás figyelhető meg (Vavilov, 1926, 1951). Anatólia, Szíria, Palesztina és a Kaukázuson túli vidék területein más búzatípusok figyelhetőek meg, mint Európa vagy Szibéria területén (Zohary, 1970). További genetikai diverzitás forrásokat képeznek az Etióp fennsíkon, és a Mediterrán medencében előforduló durum ill. Afganisztánban előforduló kenyérbúza tájfajták (CIMMYT, 1996).

A tudatos nemesítés legkorábbi szakaszában használt tájfajták közé sorolható, ezáltal a mai modern fajták pedigreiben számos esetben fellelhető tájfajták a Sheriff's Squarehead, Zeeuwse Witte, Turkey, Blount's Lambrigg, Purple Straw, Hard Red Calcutta és a Fife. A galíciai eredetű Fife nemcsak a Kárpátok peremvidékén előforduló tájfajták kialakulásában játszik nagy szerepet, de számos észak-amerikai és ausztrál tavaszi fajta eredeztethető rá vissza. Az indiai eredetű Hard Red Calcutta a másik ugyancsak jelentős tájfajta Észak-Amerika tavaszi búzafajtáinak kialakulásában (CIMMYT, 1996)

A tájfajták a hosszú természetes szelekció következtében alaktanilag kiegyenlítődték és tiszta származéksorok keverékének tekinthetők. A heterogén származás és az időnként ismétlődő spontán keresztezések folytán genetikai összetételük változatos, az adaptáció elsődlegesen azokra a tulajdonságokra vonatkozik, melyek a helyi ökológiai viszonyokhoz történő alkalmazkodásokra vonatkoznak (pl. tél-, fagyállóság, szárazságtűrés). Ugyanakkor a szaporodás mértékét kevésbé befolyásoló tulajdonságok esetében, mint pl. a minőség, a betegségrezisztencia vagy a termőképesség a tájfajták felbontásakor rendszerint nagy változatosság tapasztalható, köszönhetően a kisebb mértékű szelekciós hatásoknak. Így a természetes populációknál az egyes tulajdonságok a különböző értékű fajtaelemek átlagaként alakulnak ki.

3.2.1 A magyar búzanemesítés kezdetei

A magyar búzanemesítés története az 1800-as évek elejéig nyúlik vissza, ekkor már minden arra alkalmas területen termesztettek búzát. Az ország nyugati részében a talaj- és éghajlati viszonyok lehetővé tették a nyugat-európai búzafajták elterjedését, az ország többi területén a gazdaságokban ekkor ismeretlen eredetű ősi tájfajtákat termesztettek. Az 1863-as évi nagy aszály igen nagy hatással volt az ország búzatermesztésére. Az elpusztult termés pótlására Lengyelországból hoztak be búzát, így az ország keleti részén az eredeti tájfajták lengyel származású búzával cserélődtek le (Lelley-Rajháthy, 1955). A szélsőséges, különösen szárazságra hajló magyar éghajlat hatására a behozott idegen tájfajták néhány évtized alatt átalakultak, így mire Magyarországon a tudatos búzanemesítés elindult, az ország különböző területein már újra jellegzetes tájtípusok alakultak ki (Mokry, 1875). A magyar búzanemesítés első eredményei Mokry Sámuel, majd Kenessey Kálmán és Wagner László nevéhez fűződnek. A búzanemesítési kísérletek tanintézeteken belüli folytatására Zichy József földművelésügyi miniszter tett utasítást az 1873-as rozsdafertőzés okozta katasztrófa következtében.

Az első keresztezéseket Szilvay végezte, az angol származású Nursery búzát keresztezte Bánsági tájfajtákkal. A 70-es évek végén a diószegi uradalomban a felvidéki tájfajtákból tömegszelekcióval hozták létre a Diószegi búzákat. A Diószegi 2 szelekciója Fibras nevéhez fűződik, az alapanyagul szolgáló tájfajta az Alföldről került a Felvidékre. A magyar tájfajták begyűjtése és elemzése Székács Elemér nevéhez fűződik. Fajtaikat többnyire a hazai tájfajtákból egyedszelekcióval állította elő, melyek közül számos fajta (pl. Székács 1055, 1242) kiváló agronómiai és minőségi tulajdonságainak köszönhetően állami elismerést kapott. A Magyarországon termesztett búzák 1900-1905 évi minőségi vizsgálatáról Kossutány számolt

be az 1906-ban megjelent Kísérletügyi Közleményekben (Kossutány, 1906). A pontosan ellenőrzött kísérletekben 50 hazai, az ország különböző területeiből, gazdaságaiból származó búza minőségi tulajdonságait vizsgálták. A vizsgált évek során az 1905-ös év a minőségre nézve kiemelkedő, az 1904-es év közepesnek mondható, míg az 1902-03-as évek kifejezetten gyenge minőséget eredményeztek. Az 1903-as és az 1905-ös évek minőségi adataiból jól látszik, hogy a főbb tájfajták (mint pl. a tiszavidéki, bántási, bántási tájfajták) minősége meglehetősen széles skálán mozgott de kiemelhető a tiszavidéki és a bántási búzák jó minősége (1. táblázat).

1. táblázat Néhány magyar tájfajta minőségi adatai 1903-1905 között (Kossutány, 1906)

Búza eredete	Fehérje %			Nedves sikér %			Száras sikér %		
	1903	1904	1905	1903	1904	1905	1903	1904	1905
Tiszavidéki	12,34	13,22	16,00	30,00	31,76	42,19	10,14	11,32	13,79
Bántási	12,92	12,92	15,62	32,12	29,38	46,07	10,74	10,38	13,33
Bántási	11,94	13,23	12,75	28,96	32,94	31,31	9,6	11,13	10,48
Felvidéki	11,41	-	-	26,37	-	-	9,05	-	-
Diószegi	-	13,14	16,86	-	32,33	34,85	-	10,67	14,73
Bácskai	13,75	14,89	14,90	32,73	36,67	40,50	11,91	12,33	12,05

Az 1900-as évek elején Bánkúton Baross László és Zechmeister Sándor először a Tiszavidéki magyar búzák pedigrényesztésével próbálkoztak, majd 1917-ben megkezdték a kanadai tavaszi búzafajta, a Marquis ősziését. Az ősziített és elszájkásodott Marquist a Tiszavidéki búzából pedigrényesztéssel előállított Bánkúti 5-tel keresztezték, majd a keresztezési származékból egyedszelekcióval válogatták ki a Bánkúti 1201, a Bánkúti 1205 és a Bánkúti 1014 számú törzseket, melyek 1931-ben állami elismerést kaptak (Lelley és Rajháthy, 1955).

Ugyancsak erre az időszakra tehető Fleischmann Rudolf munkásságának a kezdete, aki először a rumai uradalomban, majd Székács felkérésére Kompolton folytatta nemesítési munkáját. A Szerémségi tájfajtából egyedszelekcióval kiválogatott Rumai 244 törzset keresztezte a Székács 1 őszi búzával, majd összehasonlító törzskísérletet végezve választotta a 481-es törzset, mely F481 néven 1926-ban kapott országos elismerést. 1934-36 között végzett kísérletek célja az F481 x Kanred keresztezésből az eredeti F481 típusú, de annál jobb minőségű Fleischmann 481 előállítás, melyet 1942-ben vettek állami törzskönyvezésbe.

A Hatvani-142, -1200 és -5612 búzafajták nemesítése Fibras, Legány és Mórász nevéhez fűződik. A Gyórszentmártoni, a Lovászpatonai, a Mezőhegyesi, az Eszterházy, az Ilocska-

pusztai uradalomban induló kísérletek szintén számos elismert fajtát eredményeztek. A Sopronhorpácsi Növénynevelési Intézetben a Bánkúti 1201-ből szelektált Bétabánkúti 1951-ben kapott állami elismerést (Lelley és Rajháthy, 1955, Lelley és Mándy 1963).

3.2.2 Régi magyar fajták és jelentőségük

Kelet-Európa tájfajtái igen fontos szerepet játszottak a minőségre történő nemesítésben. A régi tájfajták használatának számos előnye van a genetikai variabilitás növelése esetében. A hagyományosan jó minőségű fajták használata, az alkalmazkodóképes fajtákra történő szelektálás és a genetikailag heterogén populációk génforrásként történő alkalmazása fontos forrásai az új genotípusok előállításának és nemesítésének. Ez különös igaz az egyes minőségi tulajdonságokra, mivel mind több és több információ áll rendelkezésre e tulajdonságok genetikai hátteréről.

2. táblázat Néhány régi magyar fajta származása (Lelley-Rajháthy, 1955, Lelley-Mándy, 1963)

Fajta	Pedigré	Nemesítő, bejelentés éve
Székács 1055	Tájfajtákból szelekcióval	Székács, 1938
Diószegi 2	Tájfajtákból szelekcióval	Fibras, 1939
Bánkúti 5	Tiszavidékiből szelektálva	Baross, 1931
Bánkúti 1201	Bánkúti 5/ Marquis	Baross, 1931
Bánkúti 1205	Bánkúti 5/ Marquis	Baross, 1931
Bétabánkúti	Bánkúti 1201-ből szelektálva	Sedlmayr, Csitkovics, 1951
Fleischmann 481	Rumai 244/Székács 1//Kanred	Fleischmann, 1942
Fertődi 293	Bánkúti 1201/Kawvale// Bánkúti 1201	Beke, 1957

A régi magyar búzafajták számos tulajdonságukat tekintve a tájfajtákhoz hasonlóan populáció jellegűek, heterogének. Egy részüket Magyarország különböző részein előforduló tájfajtákból egyedszelekcióval válogatták ki, más részüket pedig e szelektált fajták, mint nemesítési alapanyagok felhasználásával állították elő (3.2.1 fejezet és 2. táblázat). A század első felében termesztett Bánkúti 1201, amit a Marquis és a Bánkúti 5 fajták keresztezéséből nemesítettek, kedvelt fajta volt Magyarországon, változatai a szomszédos országokban (pl. Ausztriában az Austro Bankut és az Austro Kolben), de távolabb (Svédországban az Eroica fajtát egy Bánkúti törzs felhasználásával állították elő) is fontos nemesítési alapanyagul szolgáltak (Bedő és mtsai., 1995, Vida és mtsai., 1998). 1931-től 1972-ig volt köztermesztésben, nem csak Magyarországon, de a környező országokban is elterjedt fajta és nemesítési alapanyag

volt. Az elmúlt ötven év Magyarországon minősített őszi búzafajtái közül és a jelenleg köztermesztésben álló fajták közül jó néhány fajta pedigreje visszavezethető a Bánkúti 1201-re (3. táblázat).

3. táblázat A Bánkúti 1201-re visszavezethető magyar fajták és pedigréjük

Fajta	Min. éve	Pedigré	Fajta	Min. éve	Pedigré
Fertődi 293	1957	Bánkúti 1201/Kawvale// Bánkúti 1201	Mv 25	1993	F29/3/Mv3/SKC1055//Bez2/K1
Mv 2	1977	Bez1/Fertődi 293//Bez 1	Mv Magdaléna	1996	Jub50/F29//MvMA
Kompolti 1	1973	Bez 1/Fertődi 293	Mv Magvas	1998	F26-70/MvK2//MvMA
Mv 3	1973	Bez 1/Fertődi 293//Bez 1	Mv Csárdás	1999	Jub50/F29//MvMA
MvMA		Kavkaz/Olsen//TP114-65A/Mv3	Mv Palotás	2000	MvMA/Mv8//F2098
Mv Emma	1994	Mv15/Mv8//MvMA			

A Bánkúti 1201 vetésterülete az ötvenes évek végéig az összes vetésterület 40-60 %-át tette ki. Nagy szármagasságának, gyenge szárszilárdságának és a különböző betegségekre való érzékenységének köszönhetően vetésterülete a hatvanas évek közepére 10% alá csökkent, helyét az intenzív termesztési körülményeknek sokkal inkább megfelelő Bezosztaja 1 és származékai vették át. Ezután a többi régi magyar fajtához hasonlóan már csak a nemesítési intézetek fajtafenntartási kísérleteiben és a génbankokban volt megtalálható (Koltay és Balla, 1982).

Tulajdonságaikat tekintve a régi magyar fajtákra általánosan jellemző a nagy szármagasság (átl. 100 cm felett), vékony szalma, jó szárazságtűrés, és különböző betegségekkel szembeni érzékenység. Sütőipari minőségük nagyon jó, nagy fehérje és sikér tartalommal, A1-B1 farinográf értékkel ugyanakkor nagy sikerterülettel jellemezhetőek. Ezek a jó tulajdonságok már az alapanyagul szolgáló tájfajtákban is megfigyelhetőek voltak (1. táblázat).

Az 1972 és 75 között Martonvásáron elvégzett minőségi vizsgálatok alapján a Bánkúti 1201 fajta a négy év átlagában a legnagyobb fehérje- (16,8%) és sikermennyiséggel rendelkezett (47,4%) az akkor Magyarországon termesztett búzafajták körében. Sikérminősége kiváló, a belőle készített tészta nagyon jól nyújtható volt. Reológiai tulajdonságai alapján stabilan az A1 farinográf kategóriába sorolható (Pollhamer, 1981).

3.3 A búza tartalékfehérjei és csoportosításuk

A növényi fehérjék csoportosítása két kritériumon alapul, ezek a funkció és a molekuláris/biokémiai összefüggések. Funkciójuk alapján beszélhetünk tartalékfehérjéről,

melyek elsődleges szerepe a nitrogén, szén- és kénraktározás, metabolikusan aktív fehérjékről, melyek az egyedfejlődésben elengedhetetlenek és védőfehérjékről, melyek a különböző abiotikus és biotikus stresszhatások kialakulása során játszanak fontos szerepet (Shewry és Casey, 1999).

Egy jóval korábbi csoportosítási mód a fehérjék különböző oldószerekben mutatott oldhatóságán alapul. Az első növényi szövetekkel, többek között növényi magvakkal végzett oldószeres kísérletek az 1700-as évek végére nyúlnak vissza, de az első szisztematikusan felépített kísérletsorozatot Osborne írta le (Osborne, 1907, 1924). Vizsgálatai alapján a növényi szövetekben előforduló egyszerű fehérjék besorolhatóak négy fő csoportja az albuminok, a globulinok, a prolaminok és a glutelinek.

Az albuminok vízben oldhatóak, hő hatására koagulálódnak, gabonafélékben, hüvelyesekben kis mennyiségben fordulnak elő. A globulinok vízben nem oldódnak, de sóoldhatóak. A prolaminok 70%-os alkoholban oldhatóak, vízben és sóoldatban oldhatatlanok. A negyedik frakciót Osborne glutelineknek nevezte el, ezek a fehérjék semleges oldatokban, sóoldatokban, alkoholban nem oldódnak, de híg savakban, lúgokban igen. A glutelinek a búza, kukorica és rizs esetében részletesen tanulmányozott csoportot alkotnak.

A növényi magvak tartalékfehérjéi mind a négy Osborne-féle frakcióba besorolhatóak. A prolaminok a zab és a rizs kivételével a gabonafélék fő tápanyag-raktározó fehérjéi. A kétszikűek legtöbb családjában, továbbá a rizs és a zab esetében a globulinok a legfontosabb tartalékfehérjék. A prolaminokat a búza esetében gliadinnak, a kukoricánál zeinnek, a rozsnál szekalinnak nevezik. A glutelineket a búza esetében gluteninnek, a kukoricánál glutelinnek, a rizsnél orizeninnek nevezték el (Shewry és Tatham, 1990).

A tartalékfehérjék a sejtekben fehérje zárványok formájában raktározódnak. Expressziójuk erős szabályozás alatt áll, specifikus szövetekhez, fejlettségi állapothoz és tápanyag ellátottsághoz kötött. A legtöbb gabonaféle prolaminjai tartalmaznak kénben szegény és kénben gazdag fehérjéket. A talaj magas N ellátottsága az egyes prolaminfrakciók arányának megváltozásához vezet, különösen, ha ez alacsony kén ellátottsággal társul. Ennek eredményeképpen a kénben szegény prolaminfrakció aránya nő (Shewry és mtsai., 1983, Randall és Wrigley, 1986).

A búzaszem fehérjéinek első frakcionálós vizsgálatát Beccari végezte több mint 250 évvel ezelőtt. A lisztet vizes mosás után két frakcióra osztotta, az egyik a vízoldható, amit amylonak (ma keményítő) nevezett el és a másik a vízben nem oldható frakció, aminek a glutinis (ma gluten, azaz siker) nevet adta (Beccari, 1745). További munkák igazolták, hogy ez a glutinin,

vizes alkoholban való oldhatósága alapján egy oldható és egy oldhatatlan frakcióra bontható, hasonló eredményekre vezettek a rozsliszttel és az árpával végzett kísérletek is (Parmentier, 1773, Taddei, 1819). Ezen kísérletek folytatásának tekinthető Osborne alapos vizsgálatsorozata (Osborne, 1907, 1924).

Az egyes fehérjék szerkezetéről és más fehérjékkel való kapcsolatáról szerzett későbbi információk alapján ez a csoportosítási mód korrekcióra szorult, hiszen számos glutelin fehérjéről kiderült, hogy szerkezetüket tekintve a prolaminokhoz hasonlóak, de alkoholban nem oldhatóak, diszulfidhidakkal stabilizált nagy molekulatömegű polimereket képeznek. Figyelembe véve azt a tényt, hogy a glutelin polimerekből redukálószer hatására kapott alegységek szintén alkohololdhatóak, továbbá a prolaminokhoz hasonlóan szintén nagy a prolin és glutaminsav tartalmuk, ma már sokkal elfogadottabb a tartalékfehérjék összességére vonatkozó prolamin elnevezés (Miflin és mtsai., 1983).

Az így egy csoportba sorolt prolaminok általános jellemzői a következők (Shewry és Tatham, 1999):

1. Natív állapotban vízben és sóoldatokban nem oldódnak. Ugyanakkor víz-alkohol elegyben vagy natív formában, vagy a molekulák közötti diszulfidhidak redukálása után oldhatóak.
2. A legtöbb prolamin jelentős mennyiségű prolint, glutamint és néhány egyéb aminosavat (pl. fenilalanint, glicint, hisztidint, ciszteint és metionint) tartalmaz. Ez a szokatlan aminosavösszetétel a prolaminok repetitív régióira jellemző néhány aminosavból álló ismétlődő motívumoknak köszönhető.
3. Valamennyi prolamin a sejtekben protein testek formájában raktározódik.
4. Valamennyi prolamin a csírázáshoz és a növény fejlődéséhez szükséges aminosavraktározási funkciót tölt be.

A prolaminok aminosav összetételük és szekvenciájuk alapján három nagyobb csoportba oszthatóak: kénben gazdag, kénben szegény és nagy molekulatömegű (HMW-) prolaminokra (Shewry és Tatham, 1990).

3.3.1 Kénben szegény prolaminok

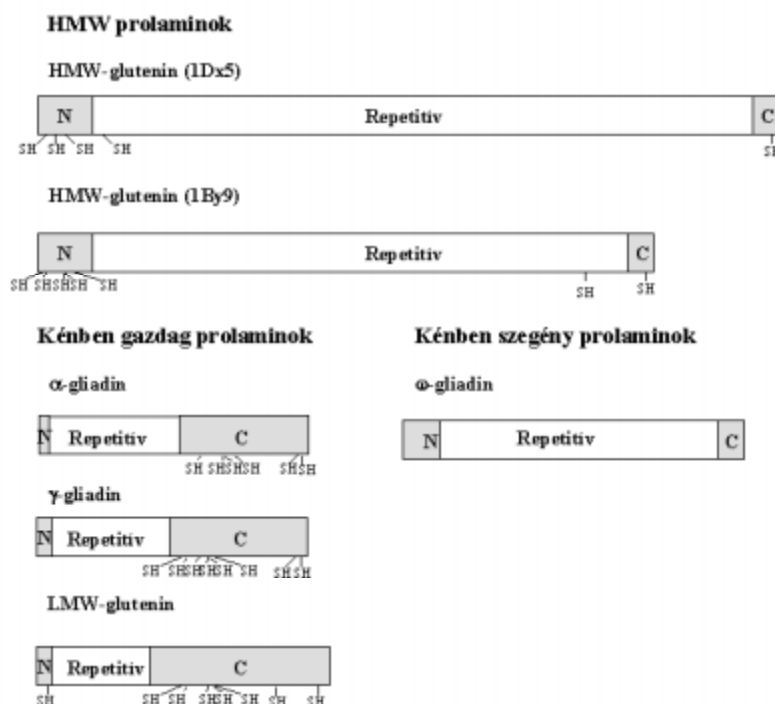
A búza kénben szegény prolaminjai az ω -gliadinok, az összes prolaminfrakció kb. 10%-t teszik ki. Molekulatömegük 44-78 kDa közötti, aminosav összetételük alapján jellemzően glutaminból, glutaminsavból, prolinból és fenilalaninból állnak. Az ω -gliadinok monomerek, diszulfid hidak képzésére alkalmas cisztein aminosavat nem tartalmaznak (1. ábra). A monomerek között általában nem kovalens kölcsönhatások jönnek létre, de Payne és Masci

vizsgálatai alapján az ω -gliadinok egy kis csoportja egyes genotípusokban monomerként, másokban LMW alegységeként viselkedik, azaz egy pontmutáció révén rendelkezik egy ciszteinnel, így képes diszulfid hidak kialakításra. Ezt a csoportot LMW – D alegységeknak nevezik (Payne és mtsai., 1988, Masci és mtsai., 1993). Másodlagos szerkezetüket tekintve a kénben szegény prolaminok α -hélixet és β -lemezeket nem tartalmaznak, a szerkezeti vizsgálatok főleg β -fordulatok (β -turn) jelenlétére utalnak a repetitív régióban, a molekula kompakt szerkezetű.

3.3.2 Kénben gazdag prolaminok

A kénben gazdag tartalékfehérjék az összes prolaminfrakció kb. 80%-át teszik ki. Molekulatömegük 36 és 44 kDa között változik. Alapfelépítésük szerint hasonló aminosav összetétellel és szerkezettel rendelkeznek, egy rövid N-terminális régiót (gyakran el is marad), egy prolin gazdag repetitív régiót és egy a ciszteinek nagy részével vagy összességével (ált. 8 cisztein) rendelkező C-terminális domént tartalmazó molekulák (1. ábra). Szerkezetbeli különbségeik alapján három csoportba oszthatóak: γ -gliadinok, α -gliadinok és aggregált, S-ben gazdag prolaminok (kis molekulatömegű (LMW-) gluteninek).

1. ábra Búzaprolaminok szerkezete Shewry és Tatham (1999) nyomán



A γ -gliadinok legtöbbje monomer, molekuláikat 4 belső diszulfid- híd stabilizálja, de mind a búzában, mind az árpadban és a rozsban előfordulnak polimer változataik is (Shewry és

mtsai., 1983b, Shewry és mtsai., 1983c, Tao és Kasarda, 1989). A búza esetében ezek a polimerkötés kialakítására képes γ -gliadin és a hasonló tulajdonságokkal rendelkező α -gliadin analógok képezik az LMW-gluteninek C csoportját. C-terminális doménjük α -hélix szerkezettel rendelkeznek, a repetitív régió β -fordulatokból álló laza spirálja (β -spirál) következtében a molekula pálca alakú.

Az α -gliadinok szintén monomerek, hasonló molekulák árpában és rozsbán nem fordulnak elő. Monomer molekuláikat három diszulfid-híd stabilizálja, egyes α -gliadinok azonban intermolekuláris diszulfidkötések kialakításra is alkalmasak (ld. fent) (Shewry és Tatham, 1997b). A γ -gliadinokhoz hasonló másodlagos szerkezeti elemekkel rendelkeznek, de a molekulák sokkal kompaktabb szerkezetűek (Popineau és Pineau, 1988). A korábban mobilitásuk alapján külön csoportként kezelt β -gliadinok szerkezetük és aminosavszekvenciáik alapján hasonlóságot mutatnak az α -gliadinokhoz, ezért ezeket a fehérjéket is az α -gliadinok közé sorolják.

Az aggregált, S-ben gazdag prolaminok képezik az LMW-gluteninek B csoportját. Polimer molekulák, melyeket intra- és intermolekuláris diszulfidhidak stabilizálnak. N-terminális doménjük rövid, egy cisztein kodont tartalmazhat, a prolin gazdag repetitív régió két heptapeptid motívumból épül fel. A C-terminális hosszú, az itt kódolt 7 cisztein minimum egy molekulák közötti, továbbá molekulán belüli diszulfid hidak kialakításra képes. A szerkezeti vizsgálatok alapján a C-terminális α -hélix szerkezettel rendelkeznek, a repetitív régió β -spirálja a többi S-ben gazdag prolaminhoz viszonyítva kevésbé egységes (Shewry és Tatham, 1990).

3.3.3 Nagy molekulatömegű (HMW-) prolaminok

A búza endospermium nagy molekulatömegű prolaminfrakciója, a HMW-gluteninek szintén csak polimer formában találhatóak meg a búzaszemben. Kenyérbúzában általában 3-5 fehérjealegységből felépülő polimerek figyelhetők meg, melyek stabilitását intra- és interspecifikus S-S hidak biztosítják (Lawrence és Shepherd, 1980). A fehérjealegységek molekulatömege 67-88 kDa között változik. Aminosav összetételük alapján nagy glicin, glutamin és prolin tartalommal jellemezhetőek (Shewry és Tatham, 1990).

Molekulatömegük és aminosav szekvenciájuk alapján két csoportra oszthatóak: az x-típusú alegységek SDS-PAGE gélen mutatott relatív mobilitása kisebb, molekulatömegük 83-88 kDa közötti, a nagyobb relatív mobilitású y-típusú alegységek mérete pedig 67-74 kDa közötti (Payne és mtsai., 1981a). Valamennyi HMW-glutenin alegység analóg domén struktúrával

rendelkezik: a 81-104 aminosavból álló N-terminális és a 42 aminosavból álló C-terminális között hexapeptid és nonapeptid motívumokból felépülő repetitív régió található. Általában a két terminális domén tartalmazza valamennyi cisztein aminosavat: az N-terminális az x-típusú alegységeknél általában 3, az y-típusnál általában 5 ciszteint tartalmaz, a C terminális mindkét típusnál 1 ciszteint. Ettől eltérő azonban az 1Dx5 alegység szerkezete: Az 1Dx5 egy extra ciszteint tartalmaz a repetitív szakasz N-terminális felőli végén. Az y-típusú alegységekre általánosan jellemző (Anderson és mtsai., 1989) a repetitív régió C-terminális felőli végén található plusz cisztein. A HMW-alegységek másodlagos szerkezete az LMW-gluteninekéhez hasonlóan nyújtott, a két globuláris terminális között egy hosszabb, laza β -spirálból álló repetitív szakasz található.

Spektroszkópiai vizsgálatok alapján másodlagos szerkezetük a többi kénben gazdag prolaminhoz hasonló, a terminális domének α -hélix szerkezettel rendelkeznek, a repetitív szakasz β -spirál szerkezetű, ennek megfelelően a HMW-glutenin alegységek is pálca alakúak.

3.3.4 A búzaprolaminok genetikája és polimorfizmusa

Klasszikus és molekuláris genetikai vizsgálatok alapján a búza prolaminok génjei az 1-es és 6-os homeológ kromoszóma csoport komplex lokuszain, géncsaládokban kódoltak (4. táblázat) (Shewry és mtsai., 1984, Payne és mtsai., 1984a).

4. táblázat A búza tartalékfehérje génjeinek kromoszómális elhelyezkedése

Géncsalád	Lokusz	Kromoszóma	Kódolt fehérjék
Kénben szegény prolaminok	Gli-1	1A, 1B, 1D rövid kar	ω -gliadinok
	Gli-A3, Gli-B3	1A, 1B rövid kar	ω -gliadinok/ LMW glutenin – D alegységek
Kénben gazdag prolaminok	Gli-1	1A, 1B, 1D rövid kar	γ -gliadinok
	Glu-3	1A, 1B, 1D rövid kar	LMW-glutenin B- és C alegységek
	Gli-2	6A, 6B, 6D	α -gliadinok
HMW-prolaminok	Glu-1	1A, 1B, 1D hosszú kar	HMW glutenin alegységek

A géncsaládok jelenléte a prolaminok nagy változatosságát, polimorfizmusát vonja maga után. A búza tartalékfehérjeinek egymással és más gabonafélék prolaminjaival mutatott szekvenciahomológiája evolúciós rokonságra utal. Különböző gabonafélék S-ben gazdag prolaminjainak C-terminális szekvenciáit vizsgálva Kreis és munkatársai (1985a, b) megállapították, hogy ezeknek a fehérjéknek a kialakulása több egymást követő evolúciós folyamat eredménye.

A közönséges búza kétdimenzós gélelektroforézissel meglehetősen komplex, több száz tartalékfehérjéből álló mintázatot mutat. Tkachuk és Mellish (1988) 398 glutenin, 112 gliadin, 418 albumin és 344 globulin foltot azonosított.

Az egyes búzafajtákban megfigyelhető gliadinmintázat genotípusos tulajdonság (Sozinov és Poperelelya, 1980, Zillman és Bushuk, 1979). Régóta ismeretes, hogy az ω - és γ -gliadinok a Gli-1 lokuszban szorosan kapcsoltnak lokalizáltak. Az egyes lokuszok között a gének rekombinációja kicsi, ennek megfelelően ezek a fehérjék ún. kapcsoltsági blokkokba sorolhatóak (Sozinov és mtsai., 1982). A blokkok allélvariánsait összehasonlítva megállapították, hogy a Gli-1 lokusz genetikai variabilitásának kialakulásában spontán pontmutációk valamint kis deléciók/inszerciók voltak jelentősek (Okita és mtsai., 1985, Sumner-Smith és mtsai., 1985).

A Gli-1 lokusz valamennyi allélja legalább két, együtt öröklődő gliadin gént tartalmaz, a gliadin allélek részleges, vagy teljes hiánya (nullallélek) meglehetősen ritka (Metakovsky, 1991, Payne és mtsai., 1984c, Lafiandra és mtsai., 1987a, b).

A Gli-2 lokuszban lokalizált α -gliadinok génjeinek számát a termesztett és vad búzafajokban 25 és 150 közöttire becsülik (Harberd és mtsai., 1985, Reeves és Okita, 1987). Az allélekben mutatkozó nagy variabilitás a többi prolaminhoz hasonlóan feltételezhetően a génszegmensek duplikációinak/delécióinak a következménye (D' Ovidio és mtsai., 1992a). Már számos α -gliadin gén szekvenciája ismert, melyek nukleotid sorrendjük alapján egy egységes géncsaládot alkotnak (Anderson és Green, 1997, Anderson és mtsai., 1997).

Az LMW-glutenin B és C alegységeinek többsége a Glu-3 lokuszban kódolt az 1-es kromoszómák rövid karján (Singh és Shepherd, 1988). Az LMW-D alegységeket kódoló gének a Gli-3 lokuszon találhatóak (4. táblázat). Jackson és munkatársai vizsgálata alapján szoros kapcsoltság figyelhető meg a Gli-1 és Glu-3 lokuszok között, ez korábban, az elválasztási technikák fejletlensége miatt nagyon megnehezítette az LMW-glutenin alegységek beazonosítását (Jackson és mtsai., 1983, Payne és mtsai., 1981a). A genetikai variabilitás tanulmányozására mind durum, mind kenyérbúzában folytak SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel kísérletek. Kromoszóma szubsztitúciós vonalakat alkalmazva azonosították az egyes fehérje sávok kombinációit és kromoszómális elhelyezkedésüket, a fehérjesáv kombinációk alapján az alléleket betűkódokkal jelölték (Gupta és Shepherd, 1988, 1990, Jackson és mtsai., 1996). A tetraploid és hexaploid búzafajokban előforduló LMW-glutenin alegységek génjeit vizsgálva számos allélikus változat azonosítható (Cassidy és

mtsai., 1998, Ciaffi és mtsai., 1998, Okita és mtsai., 1985, Colot és mtsai., 1989, Van Campenhout és mtsai., 1995, D' Ovidio és mtsai., 1992b).

A HMW-glutenin alegységeket kódoló gének az 1-es kromoszóma hosszú karján a Glu-1 lokuszban lokalizáltak. Mindhárom genom egy x- és egy y-típusú HMW-glutenin alegységet kódol (Harberd és mtsai., 1986). Ennek megfelelően a hexaploid búza genomja hatféle HMW-glutenin alegységet kódoló gént tartalmaz, de a valóságban az expresszálandó fehérje molekulák száma 3 és 5 között változik. Az 1Bx, 1Dx és 1Dy alegységek általában valamennyi búzafajtában kimutathatóak, ugyanakkor elég nagy számban találhatóak olyan genotípusok, amelyekben az 1Ax és 1By fehérjealegységek nem expresszálandóak (Shewry és Tatham, 1997a). Az 1Ay alegységek *aestivum* genotípusokban nem mutathatóak ki, de más vad búzafajokban, pl. *T. dicoccoides* vagy *T. urartu* fajtákban expresszálandóak. A Glu-A1y gén működőképes változatát találták néhány svéd hexaploid nemesítési vonalban (Margiotta és mtsai., 1996), ezekbe a nemesítési anyagokba a működőképes 1Ay gének valószínűleg egy, a nemesítés folyamata során keresztezésre használt vad fajból jutottak be.

A HMW-gluteninek a legrészletesebben tanulmányozott prolamin csoport, köszönhetően az alacsony gén kópiaszámnak (6 gén/genotípus) és a siker funkcionális tulajdonságainak kialakulásában mutatott jelentőségének. Az x és y-típusú gének lokuszonként szorosan kapcsolatosak, együtt öröklődnek, a gének közötti rekombináció gyakorisága 0,11% (Payne és mtsai., 1983).

Az egyes allélikus változatok feltérképezése Payne és Lawrence (1983) nevéhez fűződik. A HMW-glutenin alegységeket szubsztitúciós vonalak segítségével térképezték és SDS-PAGE-n mutatott növekvő elektroforetikus mobilitásuk alapján sorszámokkal látták el. Az x-y kombinációk együttes megjelenése, mint allél betűkódot kapott (pl. az 1Dx5+1Dy10 kombináció a Glu-D1-d allél).

A sütőipari tulajdonságokat leginkább befolyásoló HMW-glutenin gének közül a közönséges kenyérbúza (*T. aestivum*) esetében tíznek (köztük két pszeudo génnek) található meg a szekvenciája az adatbankokban, de ezek mellett számos más a *Graminacea* családba tartozó faj HMW-glutenin alegységeinek génjeiről is van már hozzáférhető szekvenciaadat.

Az A, B, D kromoszómán kódolt HMW-glutenin allélek közötti különbségek megállapítására illetve a szekvenciáik meghatározására számos kutatócsoport végzett kísérleteket (Alvarez és mtsai., 1997, D'Ovidio és mtsai., 1994, 1995, 1996b, Anderson és mtsai., 1989, Anderson és Green, 1989). Munkáik során több olyan új HMW-glutenin alegység allélt is találtak, melyek SDS-PAGE-val nem, vagy alig voltak megkülönböztethetőek más ismert HMW-glutenin

alegység allélektől. A HMW-glutenin alegységgének közötti igen nagy homológia és a hasonló felépítés bizonyítja, hogy az allélikus változatok hasonló módon, pontmutációkkal, deléciókkal, vagy inszerciókkal alakultak ki egymásból.

Egy szerin - cisztein pontmutáció a leglényegesebb különbség a két leggyakrabban előforduló 1Dx alegységgén, az 1Dx5 és 1Dx2 között. Az egyszerű hexa- vagy nonapeptid deléciókra, inszerciókra példa az a két 6, ill. 9 aminosavkodonból álló inszerció, amely az 1Ax1 gén eltérését eredményezi az 1Ax2* géntől. Az 1Dx2 gén inszerció révén kialakult változatai az 1Dx2.2 és 1Dx2.2* gének (Alvarez és mtsai., 1997). Az 1Dx2.2* gén amplifikálása, majd emésztése NcoI restriktions endonukleázzal egy kb. 560 bp hosszúságú inszert létét bizonyította. Az inszert klónozása majd szekvenálása az 1Dx2 gén repetitív régiójának egy szakaszára homológ nukleotidsorrendet eredményezett (D' Ovidio és mtsai., 1996a)

A Fiorello fajtában talált 1Dx5* alegységgén, mely mérete alapján SDS-PAGE-n vizsgálva az 1Dx5-hoz hasonlít, megfelelő primerekkel amplifikálva, majd restriktions endonukleázokkal emésztve az 1Dx2 alegység gén restriktions mintázatának megfelelő mintázatot adott (Alvarez és mtsai., 1997). Ugyancsak érdekesek az 1Ay génekkel kapcsolatos megfigyelések (Halford és mtsai., 1989, Margiotta és mtsai., 1996). D'Ovidio és társai a Glu-A1y két allélikus változatát találták a hexaploid Cheyenne és Chinese Spring fajtákban. A Cheyenne 1Ay génjében egy belső STOP kodon akadályozza a gén kifejeződését, a Chinese Spring 1Ay nukleotid szekvenciájában pedig néhány pontmutációt és egy kb. 8 kb méretű transzpozon szerű inszerciót azonosítottak (D' Ovidio és mtsai., 1996b).

3.4 A siker kialakulása és kölcsönhatásai

Közismert, hogy a búza endospermiumában található tartalékfehérjék döntő jelentőségűek a kenyérminőség kialakulásában. A búza tartalékfehérjéire jellemző unikális tulajdonság, hogy víz és dagasztás hatására a hidratálódott fehérjékből egy stabil térhálós szerkezet, a siker alakul ki. A tészta kb. 10 %-t kitevő siker közel 80 %-a (száraz a.) fehérje, a többi része főként keményítőből és lipidekből áll. A keményítő szennyezés, de a lipidek a hidratált komplex szerves részét képezik. A dagasztás, kelesztés és a sütés során a gáz-víz és gáz-olaj felületek kialakulása és stabilizálása lipidek és lipid-fehérje komplexek bevonásával történik. A viszkoelasztikus sikermátrix szabályozza a lipoprotein filmek által stabilizált gázbuborékok tágulását is (Marion és Dubreil, 1998).

A sikermátrixnak jelentős szerepe van a tészta reológiai tulajdonságainak, rugalmasságának és nyújthatóságának kialakulásában. Ezeknek a tulajdonságoknak a kialakulása és a köztük levő egyensúly elengedhetetlen a kenyérbélesztés során: túlzott rugalmasság limitálja a tészta

tágulását, az elszakad, az elégtelen rugalmasság lehetetlenné teszi a megfelelő mértékű gázvisszatartást. A keverés során a tésztába kerülő levegőzárványok a fermentáció során keletkező CO₂-dal a sütés során kitágulnak és kialakul egy porózus szerkezet (Shewry és mtsai., 1995).

A végső tésztaszerkezet kialakulása a dagasztás során több fázisra osztható: tészta kialakulása, tészta stabilitása és ellágyulása (MacRitchie, 1992). A kezdeti szakaszban a liszt hidratálódik és egy ragadós massa jön létre. További dagasztás hatására a sikerfehérjék egy folytonos, stabil térhálós szerkezetté alakulnak, majd túldagasztás hatására a siker mátrix elszakadozik, a tészta ellágyul, stabilitása csökken.

A minőség kialakulásában valamennyi sikerfehérje szerepet játszik. A funkcionális tulajdonságok az egyes sikerfehérje típusok szerkezetétől, valamint ezek egymással és az egyéb komponensekkel (lipidekkel, szénhidrátokkal) kialakított kölcsönhatásaitól függenek (Lásztity, 1996).

A rugalmasság a fehérjékre – növényi fehérjékre különösen - nem jellemző tulajdonság. Az állatvilágban fellelhető rugalmas fehérjék (pl. elasztin, titin) esetében a keresztkötések egyike sem származik cisztin diszulfid hidakból (Shewry és mtsai., 1995, Wrigley, 1996, Tatham és mtsai., 2001). A rugalmasság kialakulásában a HMW-gluteninek szerepe különösen fontos. Irodalmi adatok szerint a siker rugalmassága pozitívan korrelál a nagy molekulatömegű polimerek ($M_r > 10^6$) mennyiségével, melyek nagy mennyiségben tartalmaznak HMW-glutenineket (Field és mtsai., 1983). Ugyancsak ezt a tényt bizonyítják azok a megfigyelések, melyek szerint technológiai minőségben mutatózó különbségek erősen korrelálnak a HMW-glutenin allélösszetétellel, az expresszált alegységek számával, szerkezetével, tulajdonságaival (Payne, 1987, Shewry és mtsai., 1992). A gliadinok egymással és a glutenin polimerrel nem kovalens kölcsönhatásokon keresztül (hidrogén hidak, hidrofób kölcsönhatások) kapcsolódnak és a tészta formálhatóságát, nyújthatóságát biztosítják.

3.4.1 Kovalens kölcsönhatások – a ciszteinek jelentősége

A sikerfehérjék háromféle kovalens kötéstípust tartalmaznak. Ezek az aminosavakon belüli kötések, a peptidkötések és a diszulfidkötések. A tészta reológiai tulajdonságainak kialakulásánál a diszulfidkötések és egyes esetekben a peptid kötések is fontos szerepet játszanak (Bushuk, 1998). A diszulfid hidak viszonylag stabil keresztkötéseket képeznek a polipeptid láncokon belül és a láncok között, továbbá stabilizálják a hidrogén és a hidrofób kötések. A dagasztás során a polipeptid láncok közötti diszulfidhidak ún. diszulfid cserereakciókban vehetnek részt, új molekulákon belüli és molekulák közötti keresztkötéseket

alakíthatnak ki. Ezekhez a reakciókhoz szabad szulfhidril csoportokra van szükség, melyek iniciálják a diszulfid cserét (Goldstein, 1957). A kialakuló keresztkötéseknek csak egy része aktív reológiai, ezek a glutenin polimer láncok közötti keresztkötések kialakításában vesznek részt (Blokma és Bushuk, 1988). A polimerek közötti keresztkötöttség mértéke határozza meg a tészta rugalmasságát, a S-S hidak számának kis változása a reológiai tulajdonságok jelentős változásához vezet.

A diszulfidkötések jelentőségét bizonyítja a Békés és mtsai. (1994a) által végzett redukciós-reoxidációs kísérlet. Kis mennyiségben alkalmazott redukálószer (4 μ M DTT) hatását vizsgálták a tészta erősségére 2g-os mixográffal. A DTT hatására a diszulfidkötések elhasadtak, ami a tésztaerősség és ennek mérhető jeleként a dagasztási paraméterek (PR, MT csökkent, RBD nőtt) romlásához vezetett. Ehhez a részlegesen redukált tésztához oxidálószer adva a dagasztási paraméterek közel a kiindulási (kontroll) paramétereknek megfelelő értékeket mutattak. A vizsgálatok alapján a redukciós folyamat a polimerek átlagos molekulatömegének csökkenésével járt, míg a reoxidációs lépést az eredeti molekulatömeg visszaállása kísérte.

A diszulfid hidak jelentősége a dagasztást követően a kelesztés, majd a sütés során sem elhanyagolható. Sülés alatt a hő hatására keletkező újabb diszulfid hidak hozzájárulnak a lazított bélszerkezet kialakulásához (Wrigley és mtsai., 1998)

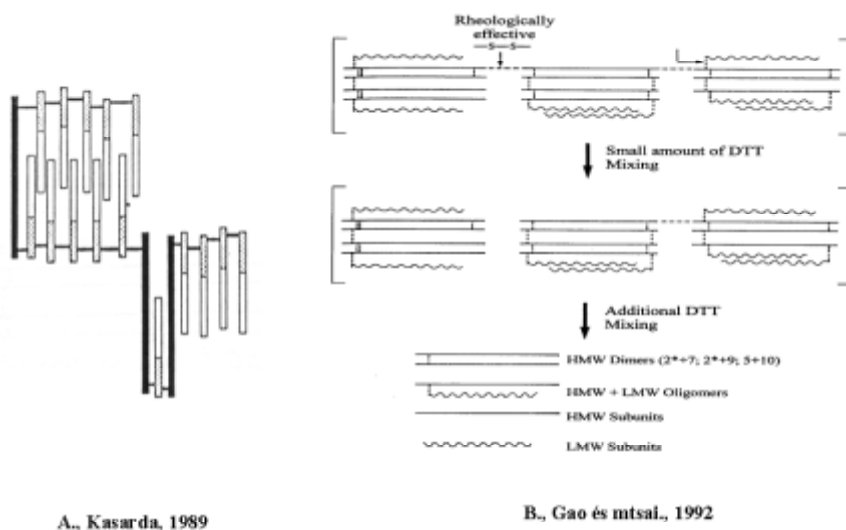
3.4.2 A glutenin polimerek kialakulása - glutenin modellek

A siker térhálós szerkezetének kialakulására számos modell és elképzelés létezik, valamennyi modell szerint a glutenin polimerek HMW- és LMW–glutenin alegységek diszulfidhidakon keresztüli kapcsolódásával jönnek létre. A modellek két irányzatot képviselnek: az egyikbe a lineáris, elágazásmentes modellek tartoznak, míg a másik modellesz csoport elágazásokkal rendelkező sikerstruktúrát ír le. Ewart elmélete szerint (Ewart 1968, 1972, 1987, 1988) az alegységek a polimerben lineárisan és véletlenszerűen kapcsolódnak egymáshoz. Hasonlóan lineáris rendszerként értelmezi a sikért Lásztity is (Lásztity 1969, Lásztity és mtsai., 1970). Lawrence és Payne a glutenin polimereket részlegesen redukálva HMW-glutenin dimereket mutatott ki (Lawrence és Payne, 1983). A dimerekben az x-típusú alegységek főleg y-típusú alegységekhez kapcsolódtak. Minden HMW-glutenin alegység legalább két intermolekuláris diszulfid kötés kialakítására alkalmas ciszteinnel rendelkezik, Graveland modellje alapján ezek a fej-vég x-y alegység kapcsolódások képezik a glutenin polimer gerincét (Graveland és mtsai., 1985). Amennyiben az alegység kettőnél több szabad ciszteint tartalmaz, akkor arról az alegységről leágazások (LMW-glutenin alegységekből álló rövidebb láncok) alakulhatnak

ki. Kasarda (1989) modelljében az egyes HMW-glutenin alegységeket hosszabb-rövidebb, LMW alegységekből álló láncok kapcsolják össze (2. ábra).

Graveland és mtsai. (1985) modelljét felhasználva Gao és mtsai. egy a sikér reológiai tulajdonságaival összhangban álló modellt írtak le (Gao és mtsai., 1992). A modell alapján a sikér polimer különböző típusú és számú polipeptidekből álló szerkezeti egységekből épül fel, melyeket reológiaiilag effektív diszulfidhidak kapcsolnak össze.

2. ábra Elágazásos glutenin polimer modellek



3.4.3 Polimerek méreteloszlása

A búzaszem fejlődése során a glutenin polimerek kialakulása az alegységek poszttranszlációs módosulásával, a diszulfid hidak kialakulásával történik. Ennek eredménye egy kémiaailag hasonló, de eltérő molekulatömegű komponensekből álló polidiszperz fehérje. A polimerizációs képességtől függően az egyes polimerek molekulatömege elérheti a 10^6 nagyságrendet is (Jones és mtsai., 1961, Schofield és mtsai., 1983, Stevenson és Preston 1996, Wahlund és mtsai., 1996). A polimerek növekedésének az ún. lánctermináló alegységek kapcsolódása szab határt. Ezek vagy egy intermolekuláris kötés kialakítására alkalmas ciszteinnel rendelkező alegységek (általában mutáns α -és γ -gliadinok (Okita és mtsai., 1985, Sugiyama és mtsai., 1986)), vagy kis molekulatömegű tiol vegyületek lehetnek (Ewart, 1985). A sikér polimerek molekulatömeg eloszlása kétféleképpen változhat: egyrészt a monomer és polimer fehérjék relatív mennyiségének függvényében, másrészt a polimerek méreteloszlásának változásával (Southan és MacRitchie, 1999). Mind a monomer/polimer arány, mind a moltömegeloszlás genetikailag kontrollált tulajdonság. Az elválasztási technikák fejlődésével a monomer és a polimer fehérjék mennyisége mérhetővé vált, de az ideális extrakciós ill. molekulatömeg meghatározási módszerek hiánya miatt még mindig nehézségekbe ütközik. A molekulatömeg eloszlás meghatározására közelítően alkalmas módszerek a SE-HPLC, a Flow Field-Flow Fractionation (FFF) és a több rétegű PAGE.

Az egyik legújabb technika az FFF, viszonylag széles tartományban képes a makromolekulák elválasztására. A módszert búza tartalékfehérjéire alkalmazva Wahlund és mtsai. (1996) 440000 és 11 millió Da közöttre becsülték a gluteninpolimerek tömegét.

A polimer fehérje relatív mennyiségében mutatkozó eltérések genotípusfüggőek, meghatározó az expresszált glutenin alegységek száma, milyensége (allélek) és az expresszió mértéke (Singh és mtsai., 1990). Az LMW- és HMW-glutenin alegységek mennyiségének arányát Huebner és Bietz (1985) LMW:HMW = min. 2:1-re, míg Kasarda 6:1-re becsüli (Kasarda, 1989). Megállapítható, hogy a nagy molekulatömegű glutenin alegységek mennyiségének növekedése a polimerek molekulatömeg eloszlási görbáját a nagyobb tömegű tartományba tolja el (Larroque és mtsai., 1997). Gupta és mtsai. ugyancsak az LMW-HMW arány hatását vizsgálták deléciós vonalakkal (Gupta és mtsai., 1991, 1995). Megállapították, hogy azokban a genotípusokban, ahol a HMW-glutenin alegységek nem expresszáldtak jóval drasztikusabb mértékben csökkent a nagy polimerek mennyisége, mint a Glu-3 hiányos típusokban.

A polimer fehérjék molekulaméret eloszlása szoros korrelációt mutat a sikerminőséggel (Graveland és mtsai., 1982, Moonen és mtsai., 1982). Gupta vizsgálatai igazolták, hogy a tészta erősség kialakulása elsődlegesen a nagyobb méretű polimerfrakció mennyiségétől és nem az összes polimer frakció mennyiségétől függ (Gupta és mtsai., 1993).

3.4.4 Nem kovalens fehérje kölcsönhatások a sikerben, a gliadinok szerepe

A sikerfehérjék nem kovalens kölcsönhatásai – a hidrogén kötések és a hidrofób kölcsönhatások ugyancsak fontos szerepet játszanak a tészta szerkezetének kialakulásában.

A glutenin alegységek molekuláin belül és molekulái között kialakuló hidrogén kötések a térhálós szerkezet stabilizálásában játszanak fontos szerepet. A hidrogén kötések kialakulását a tartalékfehérjék nagy glutamintartalma, valamint a keményítőben és a pentozánokban levő hidroxilcsoportok biztosítják. A H-H kötés erőssége kicsi, de a sok kötés együttes megléte kötés kooperativitás kialakulásához vezet. A diszulfidkötésekhez hasonlóan cserereakciókban vehetnek részt, melyek a polipeptid láncok újrendeződéséhez, a fehérje konformáció stabilizálásához járulnak hozzá. A kötések karbamiddal történő megbontása a dagasztási tulajdonságok romlásához vezet (Wrigley és mtsai., 1998).

A tartalékfehérjék apoláris oldalláncai között kialakuló hidrofób kölcsönhatások a tészta plasztikus és elasztikus tulajdonságainak kialakulását segítik elő (Pomeranz, 1988). A hidrofób kötések erőssége a hőmérséklet emelkedésével nő, aminek sülés közben szerkezet stabilizáló hatása van. A siker fehérjék közül a gliadinok főként hidrofób kölcsönhatásokat alakítanak ki egymással és a siker mátrixba beépülő lipidekkel. Az így kialakuló lipid kettős

réteg biztosítja a tészta plasztikusságát, míg a fehérjék közötti szerkezetstabilizáló kötések kialakulása hozzájárul a tészta rugalmasságához. A siker fehérjéinek viszonylag kevés az ionizálható oldallánca, de ionos kötések kialakulhatnak mind a lipidek, mind a pentozánok ionos csoportjaival. Az ionos kötések energiatartalma a kovalens kölcsönhatások energiájához hasonló, ezért viszonylag kevés ionos kötés is jelentős mértékben járul hozzá a szerkezet kialakulásához.

A glutenin polimerek összekuszálódott szerkezete (entanglement)

Polimerkéimiai analógiák alapján a reológiai tulajdonságok kialakulásában nagyon fontos szerepet játszik a glutenin makropolimer láncainak laza összegabalyodása (entanglement). (MacRitchie, 1992). Nyújtás hatására a láncok az ilyen laza csomópontok mentén elcsúszhatnak egymáson, de a kovalens kötésekkel szemben, ezek az ún. átmeneti keresztkötések sokkal rugalmasabbak, biztosítják a bonyolult térhálós szerkezet különböző erőhatásokkal szembeni ellenállását. A dagasztás során a nyújtott polimerek bonyolult összekuszálódott makropolimerré alakulnak át, a tészta erőssége nő, eléri maximumát, majd túldagasztás hatására ezek az átmeneti kölcsönhatások megszűnnek, ami a tészta ellágyulásához vezet.

3.5 A búzaminőség fogalma

A gabonakémikusok szerint a minőséget a búzaliszt különböző végtermékek (kenyér, tészta, keksz, stb.) előállítására való alkalmasságaként lehet definiálni. A minőség meglehetősen komplex fogalom, a nyersanyag őrlési, kémiai, reológiai és gyártási körülményei határozzák meg elsődlegesen, hogy milyen termék készülhet belőle. A különböző kenyértípusok előállítása is más és más technológiai paraméterek mellett történik. Európában és főként Magyarországon a búzanesemesítés kenyérbúza centrikus, a kenyérrel szemben támasztott minőségi előírások a más országok kenyereihez és egyéb termékeihez viszonyítva nagyobb dagasztási igényt, hosszabb fermentációt, erősebb tésztát követelnek. A világ más részein a gabonatudomány és a nemesítés nem ennyire sütőipar centrikus, az ázsiai országok tésztái, az arab lepénykenyerek, a különböző keksz és süteményfélék és egyéb termékek előállításához meglehetősen eltérő összetételű és minőségű búzafajtákra van szükség. Ezeknek a termékeknek a minőségét elsősorban nem a siker, hanem sokkal inkább a keményítő összetétele határozza meg. Az elmúlt év kutatásai alapján a keményítő összetétele a sikeréhez hasonlóan nagy variabilitást mutat, amely lehetővé teszi mind a hagyományos, mind a modern nemesítési módszerekkel történő szelekciót.

A minőséget meghatározó fizikai és kémiai tulajdonságok az 5. táblázatban találhatóak (Halverson és Zeleny, 1988).

5. táblázat A búza minőségét meghatározó paraméterek

Fizikai tulajdonság	Kémiai tulajdonság
Hektolitertömeg	Nedvesség tartalom
Ezerzsemtömeg	Fehérje tartalom
Szem alakja	Fehérje minőség
Szemkeménység	α -amiláz aktivitás
Szín	Szabad zsírsavak mennyisége
Sérült szemek	Nyersrost- és hamu tartalom
Keveréktartalom - káros keverék - könnyű keverék Őrlési minőség	

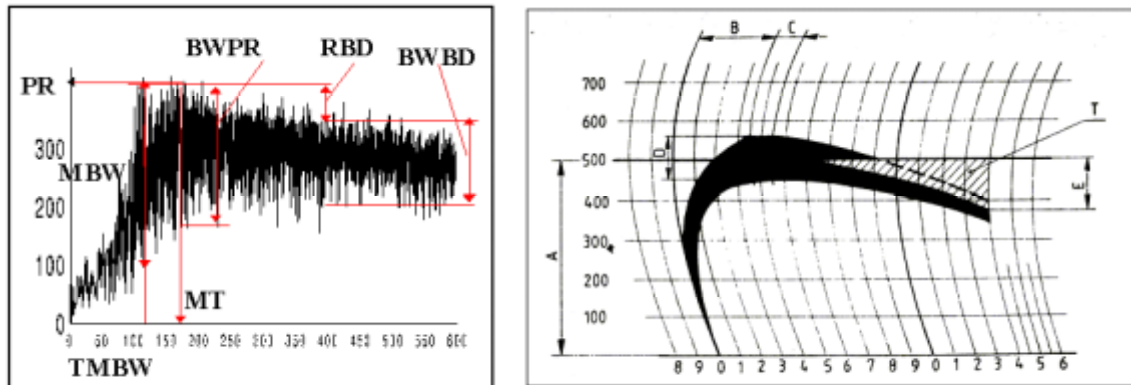
A liszt funkcionális tulajdonságait a genotípus, a környezet, az őrlési körülmények és a liszt kémiai összetétele határozzák meg. A kenyérsütésre alkalmas liszt jellemzése a sikermennyiség és -minőség és a végtermék minőségének vizsgálatával történik. A siker minőségét a belőle dagasztott tészta reológiai tulajdonságai (erőssége, stabilitása, nyújthatósága) és a siker proteolites állapota (sikerterülés) határozza meg. A végtermék minőségének megállapításában a kenyértérfogat, a bélzet és héjtulajdonságok jelentősek. A kenyérsütésre való alkalmasságuk alapján a búzaliszteket alapvetően két csoportba sorolhatjuk: gyenge és erős lisztek (Pomeranz, 1988).

Az erős lisztek viszonylag nagy fehérje tartalommal rendelkeznek, amelyből a dagasztás során erős, rugalmas, jól formálható és nyújtható tészta dagasztható. A gáztartó képessége nagy, ennek alapján nagy térfogatú, jó bélzet- és héjtulajdonságokkal rendelkező kenyér süthető belőle. A gyenge lisztek általában alacsony fehérje tartalmúak, sikerjük lágy, kevésbé elasztikus, gázvisszatartó képességük gyenge (Pomeranz, 1988).

A siker minőségének jellemzése történhet közvetlenül, a reológiai tulajdonságok mérése útján és közvetett módszerekkel. A közvetett módszerek közül a tészta-labdapróba (Pelschenke-teszt, AACC Method 56-50) és a Zeleny-szedimentációs teszt (AACC Method 56-61A) a legelterjedtebbek, értékük a siker mennyiségétől és minőségétől is függ. A szedimentációs teszt előnye a Pelschenke teszttel szemben, hogy gyorsabb és a nemesítés korai fázisában is információt ad a genotípus potenciális tésztaerősségéről (Halverson és Zeleny, 1988).

A siker reológiai tulajdonságainak mérése alkalmas berendezések két fő típusra oszthatóak: a tészta dagasztásán és a nyújtásán alapuló készülékekre. A dagasztáson alapuló készülékek a tészta dagasztásához szükséges erőt ill. a tészta stabilitását mérik (3. ábra). Az ebbe a csoportba tartozó mérési módszerek további két csoportra oszthatóak: az erőátvitel történhet tűs (Mixográf) ill. Z alakú (Brabender Farinográf, Valorigráf) dagasztókarral.

3. ábra A 2g Mixográfval és a Brabender Farinográfval rögzített görbék és a róluk leolvasható paraméterek



A, Mixográfos görbe

B, Farinográfos görbe

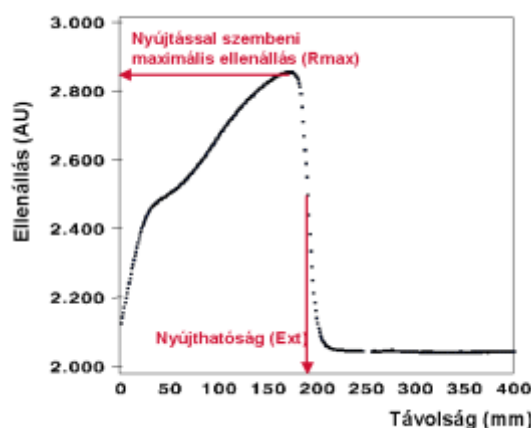
A., A mixográfos görbéről leolvasható paraméterek: MT- dagasztási idő (másodperc), PR- csúcs rezisztencia (MU), MBW- maximális görbeszélesség (MU), TMBW- a maximális görbeszélességnél mért dagasztási idő (ms), BWPR- a csúcs rezisztenciához tartozó görbeszélesség (MU), RBD- ellágyulás (MU), BWBD- ellágyulásnál mért görbeszélesség (MU).

B., A farinográfos görbéről leolvasható paraméterek: A- adott térfogatú vízzel készített tészta konzisztenciája (FE), B- tészta kialakulási idő (perc), C- tészta stabilitása, D- görbeszélesség a tészta kialakulás időpontjában (FE), E- a tészta ellágyulása (FE), T- a sütőipari érték meghatározásához alkalmas farinográfus terület (cm²)

A standard (Swanson-Working Mixográf: 35 g (AACC Method 54-40), Brabender Farinográf: 50g (ICC Method 115/1)) lisztmennyiséggel dolgozó készülékek mellett az utóbbi években a nemesítés korai generációinak tesztelésére is alkalmas gyors teszterek kialakulása figyelhető meg. A Rath és mtsai (1990) által kifejlesztett 2g-os Mixográf a 2 g lisztből (3-4 g búza) készített, míg a Z-arm Mixer, a valorigráf 4 g lisztel dolgozó változata (Tömösközi és mtsai., 2000) 4 g lisztből készült tészta reológiai tulajdonságainak rögzítésére alkalmas.

A tészta nyújthatóságának és ellenállásának vizsgálatára alkalmas berendezések a Brabender Extenzográf és a Chopin Alveográf. Az Extenzográf 2g tészta nyújthatóságának mérésére alkalmas változata a Rath és mtsai. (1994) által kifejlesztett Micro Extension Tester. A nyújthatóság vizsgálatokor felvett görbét és a mérhető paramétereket az 4. ábra szemlélteti.

4. ábra Extenzográfós görbe és rögzített paraméterek



Ext- nyújthatóság (mm), Rmax- maximális rezisztencia (AU)

A búza és a liszt minőségével kapcsolatos követelmények és az azok mérésére alkalmazott módszerek szabványokban rögzítettek. A használatban levő szabványos módszerek (ICC és AACC) lehetővé teszik az egyes paraméterek mérőhelytől független reprodukálható meghatározását. A búza minőségi osztályokba történő besorolásával kapcsolatos szabványok országonként változnak, de az egyes paraméterek meghatározásához a helyi követelményeknek megfelelő vizsgálati módszerekkel kiegészítve a nemzetközi előírások szolgálnak alapul. A magyar búzaminősítési rendszer számos pontjában különbözik az egyéb országok, pl. Németország hatályos búzaszabványától (Juhász és mtsai., 2000). A magyar búzák megítélése elsődlegesen kenyérsütésre való alkalmasságukon alapul. Az osztályokba történő besorolás a mennyiségi tulajdonságokon (nyersfehérje-, sikértartalom) kívül a sikerminőségre utaló paramétereket (Zeleny szedimentációs érték, sikerterület) is figyelembe veszi (MSZ 6383-1998). A sikerterület a tészta erőhatások nélkül, spontán bekövetkező stabilitás csökkenését határozza meg. A területi érték a liszt endopeptidáz tartalmára és az enzimes lebontás hatására bekövetkező sikerpolimer méret csökkenésére és közvetett módon nyújthatóságára utal. Mérésére más országok szabványaiban nem szerepel utalás.

A búza reológiai tulajdonságait Magyarországon egy komplex fogalom a sütőipari érték határozza meg (MSZ ISO 5530-1). A reológiai tulajdonságok vizsgálata Magyarországon farinográffal vagy valorigráffal történhet. A farinográffal felvett görbe kiértékelése a 3. ábrán látható. A sütőipari értékszám meghatározása a 3.b ábrán jelölt T terület cm^2 -ben megadott értéke alapján történik (MSZ 6369/6-1998). A terület nagyságát a tészta erőssége, stabilitása és az ellágyulás mértéke együttesen határozza meg. A területérték alapján meghatározott sütőipari értékszám, ill. a hozzá tartozó kategória alapján a búzafajták hat sütőipari minőségi

csoportba sorolhatóak: az A₁-A₂ a legjobb, a C₁-C₂ a leggyengébb liszteket jellemzi. A magyar szabvány más országok szabványaival ellentétben nem tartalmaz a végtermékkel szemben támasztott követelményeket (kenyértérfogat, bélzettulajdonságok, stb.). A sütőipari tulajdonságokra ugyancsak a sütőipari értékszám és kategória ad utalást.

3.6 A sikérszerkezet összefüggései a sikerminőséggel

3.6.1 HMW és LMW glutenin alegységek relatív jelentősége (Payne-score)

A tartalékfehérjék és a sütőipari minőség közötti összefüggések régóta ismeretesek, a gluteninek az elasztikusságot, míg a gliadinok a nyújthatóságot befolyásolják. Az egyes lokuszok és a minőség összefüggéseinek tanulmányozására Payne és mtsai (1984a) jó ill. gyenge minőségű szülőkkel végzett keresztezésekből származó utódok tartalékfehérje összetételét vizsgálták SDS- és savas-poliakrilamid gélelektroforézissel. Az utódok minőségét SDS-szedimentációs teszttel állapították meg. A legszorosabb összefüggéseket az egyes technológiai tulajdonságokkal a Glu-1 gén allélikus változatai esetében találtak (Payne és mtsai 1979, 1981b, Burnouf és mtsai., 1980, Moonen és mtsai., 1982). Vizsgálataik alapján a technológiai tulajdonságokban jelentkező különbségek elsődlegesen a HMW- és LMW-glutenin allélösszetételben jelentkező különbségekkel magyarázhatóak, a minőségre gyakorolt hatásuk alapján a lokuszok sorrendje Glu-1 > Gli-1/Glu-3 > Gli-2.

A HMW-glutenin alegységek technológiai tulajdonságokra gyakorolt hatása a Payne-féle Glu-1 értékkel vehető figyelembe (Payne és mtsai., 1987). Egy genotípus Glu-1 értéke az egyes HMW-glutenin alléljeire kapott pontszámok összegeként értelmezhető. Irodalmi adatok szerint a jó minőséggel rendelkező fajták az 1D kromoszómán általában 5+10 allélt tartalmaznak, míg a 2+12 allél jelenléte általában rosszabb sütőipari minőséggel társul (Payne, 1987, Burnouf és Bouriquet, 1980, Gupta és mtsai., 1994, Popineau és mtsai., 1994). Payne és munkatársai szerint a technológiai minőség poligénes tulajdonság, a technológiai tulajdonságokban jelentkező eltérések az általuk vizsgált fajtasoron mintegy 60%-ban magyarázhatóak az előforduló HMW-glutenin alegység allélösszetétellel és ezen belül kb. 28,4%-ban határozható meg az A kromoszómán és 23,6%-ban a D kromoszómán kódolt allélek szerepe. Az 5-ös alegységnek a siker minőségre gyakorolt pozitív hatásáról számos eredmény jelent meg (Payne és mtsai., 1981b, Hamer és mtsai., 1992, Ng és Bushuk, 1988, Branlard és Dardevet, 1985, Seilmeier és mtsai., 1991).

Az egyes LMW-glutenin alegységeknek a funkcionális tulajdonságokra gyakorolt hatása közel sem annyira részletesen tanulmányozott, mint a HMW-glutenineké, részben a technikai

nehézségeknek, részben pedig a rendelkezésre álló kevés szekvenciaadatnak köszönhetően. Az LMW-glutenin allélek tészta erősségre gyakorolt hatását a durum búzánál Pogna és mtsai. (1990), a kenyérbúzánál Gupta (1987) ill. Gupta és mtsai. (1988, 1989, 1991) vizsgálták. Az aestivum búzánál az LMW-glutenin alegységek szorosabb összefüggéseket mutattak az extenzográffal mért nyújthatósággal, mint a HMW-glutenin alegységek (Gupta és Shepherd, 1988, Gupta és mtsai., 1989, 1991, Metakovsky és mtsai., 1990). A glutenin alegység összetétel és a tészta tulajdonságok összefüggéseit vizsgálva megállapítható, hogy az LMW alegységek mind a tészta stabilitásra, mind a nyújthatóságra hatással vannak (Gupta és mtsai., 1991). Az alegységekben levő ciszteinek számától és elhelyezkedésétől függően az LMW-alegységek lánctermináló ill. polimerméret növelő hatásúak egyaránt lehetnek (Lew és mtsai., 1992).

3.6.2 A prolaminfrakciók minőségi és mennyiségi hatásainak vizsgálata

Számos kutatócsoport vizsgálatai alapján megállapítható, hogy a minőség becslésére nem elegendő csupán a HMW-glutenin alléllösszetétel ismerete, hanem azok abszolút mennyiségeinek ill. relatív arányainak ismeretére is szükség van (Marchylo és mtsai., 1989, Sutton, 1991, Seilmeier és mtsai., 1991). Wieser és mtsai (1994a, b) szoros összefüggéseket találtak a HMW-glutenin alegységek mennyisége és az extenzográfus R_{max} , valamint a glutenin-gliadin arány és a nyújthatóság (Ext) között. Schropp és Wieser (1996) különböző mennyiségben és kombinációban tisztított HMW-glutenin alegységeket, illetve a lisztek saját gluteninjét és gliadinját adagolták egy jó és egy gyenge minőségű alapliszthez. Kísérleteik alapján megállapítható, hogy a gliadin mennyiség növelése, azaz a Glu/Gli csökkenése a nyújthatóság növekedéséhez és az R_{max} érték csökkenéséhez vezetett. Reoxidációs kísérleteik alapján a HMW-glutenin mennyiség növelése a sikérerősség javulását eredményezte (Schropp és Wieser, 1996, Wieser és mtsai., 1994a,b). A $KBrO_3$ -tal ill. KIO_3 -tal végzett reoxidációs kísérletek alapján a gluteninek polimerizáltságának mértéke a kötött és szabad –SH csoportok arányától függött. Ha a szabad tiol csoportok aránya 100% az gyenge és nyúlós sikért eredményez, míg 0% szabad –SH jelenléte alacsony polimerizáltsági fokhoz vezet. A megfelelő polimerizáltsági fok és ezáltal az optimális molekulaméreteloszlás kialakulás feltétele a szabad –SH csoportok jelenléte. Ezt támasztják alá Békés és társai kísérletei is (1994b), mely során az 1Bx20 HMW-glutenin alegységet hozzákeverték, ill. reoxidációs kísérlet során beépítették alacsonyabb és magasabb fehérje tartalmú alaplisztekbe.

3.6.3 A kölcsönhatások (szinergetikus hatások) potenciális jelentősége a sikérszerkezet és funkció megismerésében

Az egyes glutenin alegységek allél- és mennyiségi összetételén kívül számos kutatócsoport vizsgálta a HMW-glutenin alegységek, ill. a HMW- és LMW-glutenin alegységek jelenlétének együttes hatását a funkcionális tulajdonságokra. Békés és mtsai. (1994c) *E. coliban* expresszált majd tisztított, az 1D kromoszómán kódolt HMW-glutenin alegységek hatását vizsgálták mikrotesztekkel. Az egyes fehérjéket ellenőrzött reoxidációs eljárás mellett építették be a Glu-D1 alegységeket eredetileg nem tartalmazó lisztbe. Az x és y-típusú alegységek együttes beépítése szinergetikus hatást gyakorolt a mixográfus tulajdonságokra. Uthayakumaran és mtsai. (2000) hasonló kísérleteket végeztek a Glu-1B lokuszról származó 7 és 8 alegységek beépítésére is. A Glu-D1 5 és Glu-D1 10 alegységek együttes beépítésekor tapasztalt szinergetikus hatásokkal ellentétben a Glu-B1 7 alegység térszaerősségre gyakorolt hatása nagyobb volt, mint akár a 8-as alegység, akár a 7+8 együttes beépítésekor tapasztalt hatások. Kísérleteik igazolják azokat a korábbi tapasztalatokat is, melyek szerint az 5+10 alegységpár jelenlétének kedvezőbb a hatása az egyes technológiai tulajdonságokra, mint a 2+12 alegységpár jelenlétének. Eredményeik alapján az egyes alegységek mérete továbbá az x- , és y-típusú alegységek megfelelő kombinációja jelentős mértékben hozzájárul a sikérszerkezet és funkció közötti összefüggések feltárásához.

Gupta és mtsai. Glu-3 és Glu-1 allélek hatását vizsgálták extenzográfus paraméterekre (Gupta és mtsai., 1994, Gupta és MacRitchie, 1994). Megfigyeléseik alapján szignifikáns különbségek voltak kimutathatóak bizonyos Glu-3 allélek együttes jelenléte esetén, így pl. a Glu-A3c és Glu-B3b alléleket együttesen hordozó genotípusok szignifikánsan nagyobb Rmax értékekkel rendelkeztek, mint a kevésbé pozitív hatású Glu-A3e és Glu-B3c alléleket együttesen hordozó fajták. Azokban az esetekben, ahol egy pozitív és egy kevésbé pozitív hatású alléllal kombinálódott az Rmax-ban jelentkező hatás a két szélső érték közötti volt. HMW-glutenin alegység-kombinációk esetében a 17+18 (Glu-B1) és 5+10 (Glu-D1) allélek együttes jelenléte szignifikánsan pozitívabb hatású volt a térszaerősségre, mint akár a 20 (Glu-B1) és 2+12 (Glu-D1) allélek vagy keverékek jelenlétének hatása. Ugyancsak szignifikáns különbségeket tudtak kimutatni abban az esetben, ha a genotípusokat HMW- és LMW-allélösszetételük együttes figyelembevételével csoportosították. Bizonyos kombinációk együttes kifejeződése a sikér erősség szignifikáns növekedéséhez vezetett. Varianciánálízis alapján az egyes Glu-1 és Glu-3 lokuszok közötti kölcsönhatások túlmutatnak a lokuszok

additív hatásán, vagyis egy allél relatív hatását befolyásolja az is, hogy a többi lokuszon milyen allélek találhatóak.

Ugyancsak szignifikáns kölcsönhatásokat mutattak ki a Glu-1 és Glu-3 lokuszok között a szedimentációs értékre vonatkozóan Rodriguez-Ouijano és Carrillo (1996). Gupta és mtsai. eredményei szerint a búzagenotípusok reológiai tulajdonságai megbecsülhetőek a Glu-1 és Glu-3 allélösszetételük alapján. Az általuk vizsgált 74 random szelektált beltenyésztett törzs extenzográfus R_{max} értékében mutatkozó eltérések 90%-a magyarázható az allélösszetétellel (Gupta és mtsai., 1994a). A Glu-1 lokusz 60%-ban, a Glu-3 lokusz 20%-ban és a lokuszkölcsönhatások 10%-ban magyarázta a tészta stabilitásban mutatkozó különbségeket.

3.7 Molekuláris markerek alkalmazása a növénynemesítésben

A molekuláris markerek alkalmazása elősegítette a növényi molekuláris biológia és a növénynemesítési kutatások gyors fejlődését is. A rutinszerű faj és fajtaazonosítási kísérleteken és a genetikai térképek készítésén túl a növénynemesítők az igényeiknek megfelelő nemesítési programokat tervezhetnek és hajthatnak végre. A legtöbb növénynemesítési program célja valamilyen kedvező tulajdonság átvitele az utódokba. Az eddig kizárólag szántóföldi kísérleteket igénylő vizsgálatok molekuláris markerek segítségével üvegházban nevelt növényeken is elvégezhetőek, valamint egyes költséges és veszélyes tesztek (pl. vírus-, baktérium-, gomba-, rovarrezisztencia-tesztek) kapcsolt DNS-markerek használatával elkerülhetőek. Mennyiségi vagy poligénes tulajdonságok (QTL) térképezésével céltudatos minőségjavító nemesítési programok dolgozhatóak ki.

A molekuláris markerek használatának egyik leggyakoribb módja a génjelölés. A módszert recesszív gének, több gén által meghatározott mennyiségi jellegek (pl. terméshozam), költséges ill. veszélyes vizsgálatokat igénylő rezisztencia vizsgálatok vagy erős környezeti hatások esetében használják. Ezekben az esetekben egy kapcsolt RFLP- vagy PCR markerekkel a tulajdonságot meghatározó gén közvetlen közelét vagy magát a gént lehet követni az utódokban. A génjelölés egy másik alkalmazási területe a génhalmaz, ahol két vagy több, azonos fenotípusért felelős gént egy egyedbe juttatnak be. A módszer kiemelt alkalmazási területe a rezisztencianemesítés. Ebben az esetben a molekuláris markerekkel jelölt rezisztenciagének szegregációja követhető, és a többszörös rezisztenciagéneket hordozó egyedek kiválogathatóak (Kiss és Endre, 1999). Az agronómiai szempontokból lényeges tulajdonságok döntő többsége poligénes tulajdonság. Mennyiségi tulajdonságok öröklődésének vizsgálatával lehetőség nyílik a mennyiségi lokuszok számának és hatásuk nagyságának meghatározásán túl olyan jelenségek tanulmányozására is, mint az allélek, ill.

különböző gének interakciójának kimutatása, mennyiségi tulajdonságokra ható környezeti tényezők felderítése, valamint a heterózis és a transzgresszió (Tanksley, 1993)

Az egyes biológiai jelenségek, folyamatok és funkciók molekuláris hátterének tanulmányozása során nagy jelentőséggel bír a folyamatokban résztvevő gének száma, géntermékek funkciója. Ennek következtében a molekuláris biológia nagyon fontos részterülete a gének izolálása, azok szekvenálása, expressziójuk tanulmányozása és a funkciók feltárása. A gének izolálására használt egyik leggyakoribb módszer a térképezésen alapuló génizolálás.

A nemesítés egy alternatív útjává válhat a közeljövőben a géntranszformálás. A módszer előnye, hogy a „szülő” jó tulajdonságai célirányosan egészíthetők ki egy-egy előnyösebb tulajdonságot hordozó génnel. Ehhez a rendelkezésre álló genotípusok alapos tanulmányozására, az agronómiailag jelentős gének ill. a szabályozott működést lehetővé tevő DNS-régiók (transzkripciós promoterek, erősítő elemek (enhanszerek), terminációs szekvenciák) azonosítására és izolálására van szükség. A nemesítés szempontjából a transzgénikus növények előállításának célja általában valamilyen rezisztenciatulajdonság (betegség-ellenállóság, környezeti stressz tolerancia) kialakítása a növényben; a növény élettani folyamataiba, fejlődésébe való kedvező beavatkozás (pl. termésérés kontrollálása, hímsterilitás); növényi anyagcseretermékek megváltoztatása (fehérjeminőség javítása, növényi magvak olajtartalmának megváltoztatása, szénhidrát-anyagcsere befolyásolása) (Fehér, 1999).

4 Célkitűzések

A munkánk célja a Bánkúti 1201 búzafajta tartalékfehérjéinek részletes vizsgálata volt. Az intézetben létrehozott Bánkúti 1201 populációt vizsgálva Bedő és mtsai. (1995) megállapították, hogy a fajta a többi régi magyar fajtához hasonlóan genetikailag heterogén, pl. különböző tartalékfehérje összetételű törzsekből áll. A populációt HMW-glutenin összetételük alapján törzsekre bontva, a Glu-D1 kromoszómára egységesen a 2+12 HMW-glutenin alegységösszetétel jellemző, míg a Glu-A1 és Glu-B1 kromoszómán több allélváltozat is előfordul (Bedő és mtsai.,1995, Vida és mtsai.,1998). A Glu-D1 kromoszómán kódolt 2+12 allélösszetételük ellenére a törzsek kiváló minőségi tulajdonságokkal rendelkeznek.

Ezekből az eredményekből kiindulva célunk annak megállapítása volt, hogy a Bánkúti 1201 búz populáció tartalékfehérje összetételében melyek azok a minőségi és mennyiségi tényezők, melyek hozzájárulnak a fajta kiváló minőségének kialakulásához:

1. Poliakrilamid gélelektroforézissel vizsgáltuk a populáció HMW-, LMW-glutenin alegység és gliadin allél összetételét.
2. Génspecifikus PCR markerek segítségével vizsgáltuk a HMW-glutenin alegységeket kódoló géneket, annak megállapítására, hogy van-e valamilyen magyarázat gén szinten a 2+12 alegységösszetétel melletti jó sütőipari minőségre.
3. A fajta tartalékfehérjéinek minőségi összetétele mellett HPLC-s technikákkal vizsgáltuk az egyes fehérjefrakciók mennyiségét.
4. Vizsgáltuk a populáció vonalainak sütőipari minőségét mikroteszttekkel és a magyar minőségi szabvány szerinti vizsgálatokkal.
5. Összefüggéseket kerestünk a minőségi, mennyiségi fehérje összetétel és a funkcionális tulajdonságok között.
6. Azonosítottunk néhány olyan tartalékfehérje allélt, melyek a géntranszformálás és a minőségre történő nemesítés számára jelentősek lehetnek.

5 **Anyagok és módszerek**

5.1 **Növényi anyag**

A MTA Mezőgazdasági Kutatóintézetében 1994 óta folynak a Bánkúti 1201 fajtaival kapcsolatos kísérletek. 1995-ben a populációt HMW-glutenin alegység összetétel alapján törzsekre bontották és a homogén törzseket kalászatúdsorokba vetették az intézet tenyészkertjében. A tartalékfehérje vizsgálatokhoz a populáció 52 törzsből álló, 1997-ben aratott termését használtuk fel. A vizsgált Bánkúti 1201 vonalak részletes felsorolása a Függelék I. táblázatában található.

5.2 **Tartalékfehérje összetétel meghatározása**

5.2.1 **Fehérje extrakció**

Gliadinok

A gliadinok extrakciójához Jackson és mtsai. (1996) leírását az alábbiak szerint módosítottuk: A csírarész eltávolítása után valamennyi eldörzsölt búzaszemhez 125 µl 70 V/V %-os etanolt adtunk, összekevertük és 30 percig 65 °C-os vízfürdőben extraháltuk. Ezután 14000 g-n 5 percig centrifugáltuk, a felülúszót új csövekbe tettük és hozzáadtunk 90 µl 0,05 m/V % Pironin-G-t és 80 V/V % glicerint tartalmazó próbapuffert. A törzsek homogenitásának ellenőrzéséhez törzsenként 4 párhuzamos elemzést végeztünk.

HMW- és LMW-glutenin alegységek

A glutenin alegységek extrakcióját Jackson és mtsai. (1996) módosított leírása alapján végeztük. A glutenin allélek meghatározásához a gliadin extrakció maradék fázisát használtuk fel. A gliadinok teljes eltávolítása érdekében a 70 V/V %-os etanos extrakció maradék fázisához 250 µl 55 V/V % izo-propanolt adtunk, 10 percig ultrahangos vízfürdőben, majd 30 percig 65 °C-os vízfürdőben extraháltuk. Centrifugálást (14000 g, 5 perc) és a felülúszó elöntését követően kétszer megismételtük a lépést. A glutenin polimer redukálására minden mintához 100 µl 1 m/V % DTT-t, 27,5 V/V % izo-propanolt és 0,02 mM Tris-HCl-t (pH 8,0) tartalmazó oldatot adtunk. Alapos keverés, majd 10 perc ultrahangos és 30 perc 65 °C-os vízfürdőben történő extrahálást követően 5 percig 14000 g-n centrifugáltuk. Ezután a glutenin alegységeket 100 µl, a redukciós pufferrel megegyező összetételű, de az 1 m/V % DTT helyett 1 m/V % jódcetamidot tartalmazó oldattal 15 percig alkiláltuk. 5 perc centrifugálás (14000 g) után a felülúszó 100 µl-éhez hozzáadtunk 100 µl 2 V/V % SDS, 0,02 % brómfenolkék, 0,02 mM Tris-HCl (pH 8,0) és 40 V/V % glicerin tartalmú próbapuffert.

5.2.2 Tartalékfehérjék elválasztása

A-PAGE (pH 3,1)

A 4.2.1 pont szerint feltárt gliadinok elválasztását 0,25 m/V % Al-laktát, 0,1 m/V % aszkorbinsav, 0,45 V/V % tejsav és 0,0018 m/V % $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ tartalmú poliakrilamid gélben végeztük (T = 8,3 m%, C = 3,61 m%). A futtatópuffer (pH 3,1) 0,19 V/V % tejsavat és 0,0248 m/V % Al-laktátot tartalmazott. Az elválasztás 10 percig 15 mA/gél, majd 170 percig 35 mA/gél állandó áramerősség mellett történt. A futtatást követően a géleket 10 %-os metanolban fixáltuk, 0,13 m/V % CBB R250 és 1,3 V/V % TCA tartalmú festékkel festettük, majd desztillált vízzel mostuk és fotóztuk.

SDS-PAGE (pH 8,2)

A glutenin alegységek elválasztását 1 mm vastagságú, két rétegű gélen végeztük. Az elválasztó gél (alsó gélréteg) 0,375 mM Tris-HCl (pH 8,8), 0,1 m/m % SDS és 2,5 V/V % glicerin tartalmú poliakrilamid gél (T = 12,3 %, C = 2,6 %). A gyűjtő gél (felső réteg, T = 5,6 %, C = 2,6 %) 0,14 mM Tris-HCl (pH 6,8)-t és 0,1 % SDS-t tartalmaz. A futtatópuffer 0,25 mM Tris-HCl-t (pH 8,3), 1 m/V % SDS-t és 14,8 m/V % glicint tartalmazott. A zsebekbe 15 μl a 5.2.1 pontban leírtak szerint kivont és redukált glutenin extraktumot mértünk be, majd 8 mA/gél állandó áramerősség mellett kb. 16 órán keresztül futtattuk. A futtatást követően a géleket a 5.2.2 pontban leírtak szerint fixáltuk és festettük.

A HMW-, LMW-glutenin alegységek és a Gli-1 allélek azonosítása

A HMW-gluteninek azonosítását Payne és Lawrence (1983) leírása alapján végeztük, standardként a Chinese Spring, a Bezostaja 1 és a Hereward fajtákat használtuk, melyek allélösszetétele a Függelék II. táblázatban látható. Az LMW-glutenin alegységek azonosítása Jackson és mtsai. (1996) módszere alapján történt. A publikáció alapján kiválasztottunk 18 európai fajtát, melyeket Prof. G. Branlard bocsátott rendelkezésünkre. A fajták származása és allélösszetételei a Függelék II. táblázatában láthatóak. A Bánkúti 1201 törzsekben előforduló LMW-glutenin allélösszetételek megállapításához a 18 standard fajtát és a publikációban közölt alléltérképet használtuk (Függelék II. ábra).

A gliadinok közül csak a Gli-1 lokuszban kódolt alléleket azonosítottuk Jackson és mtsai (1996) módszere és Metakovsky (1991) nomenklatúrája alapján. Az allélek pontos azonosításához ebben az esetben is a Függelék II. táblázatában található 18 standard fajtát és a publikációban közölt ábrát (Függelék II. ábra) használtuk.

A vizsgálatok a Münchener Műszaki Egyetem Növénynevelési és –termesztési Tanszékén F.J. Zeller professzor úr irányításával történtek 1997-98-ban.

5.3 A HMW-glutenin alegységek vizsgálata molekuláris markerekkel

5.3.1 DNS izolálás

A HMW-gluteninek gén szintű vizsgálatához a Bánkúti 1201 populáció 1996-ban aratott 52 törzsét használtuk fel. A genomi DNS-t három hetes, üvegházban nevelt növények zászlósleveléből CTAB és 2-merkaptoetanol tartalmú pufferrel (Dweikat és mtsai., 1993) egy Ravenel Specialities (Seneca, SC, USA) növényi extraktor segítségével izoláltuk.

5.3.2 Tesztelés HMW-glutenin alegység gén specifikus primerekkel

A törzseket egy a Glu-D1x5 gén N-terminális régiójára specifikus primerpárral (D' Ovidio és mtsai., 1994) teszteltük (prim51: 5' GCCTAGCAACCTTCACAATC 3' és prim52: 5' GAAACCTGCTGCGGACAAG 3'). A publikációban megadott eredeti körülményektől eltérően emelt templát DNS koncentrációt, és alacsonyabb T_a kapcsolási hőmérsékletet alkalmaztunk. A reakció végtérfogata 100 μ l, a koncentrációk: 250 ng/primer, 300 μ M dNTP, 2,5 U Taq polimeráz (Promega), 200 ng genomiális DNS, 1 térfogat Taq PCR puffer (Promega). A reakció körülményei 30 cikluson keresztül 94 °C 60 s, 55 °C 60 s, 72 °C 80 s. Az 1Dx5 génre specifikus termék mérete 450 bp, két primerkötődési hiba esetén azonos méretű fragment várható az 1Dx2 génre is. D' Ovidio szerint 100 ng templát DNS mennyiség felett egy a 2+12 alléllal rendelkező genotípusokra jellemző 1160 bp fragment is képződhet.

5.3.3 A pontmutáció azonosítása

A PCR reakció optimalizálása a melléktermékek kizárása érdekében:

A fenti feltételeket úgy módosítottuk, hogy a Mg^{2+} koncentrációt a x 1,5-re emeltük és 55 °C-ról 60 °C-ra emeltük a T_a kapcsolási hőmérsékletet.

A PCR termékeket QIAGEN oszlopon (QIAquick PCR purification Kit Protocol) tisztítottuk.

Klónozás

A tisztított PCR terméket pGEM-T vektorba (Promega pGEM-T System) ligáltuk a standard protokollnak megfelelően, majd a ligátumot *E.coli* JM109 kompetens sejtbe transzformáltuk (BIO-RAD *E.coli* Gene Pulser). A transzformánsokból kék-fehér szelekcióval kiválasztottuk a pozitív klónokat, majd a pozitív klónokból univerzális Forward és Reverse primerekkel azonosítottuk az 1300 bp méretű inszertet tartalmazó pozitív klónokat.

Az 1300 bp fragment szekvenálása

A szekvenálást a Bánkúti 1201 fajta 3 különböző, az előzetes tesztelés szerint az 1300-as fragmentet tartalmazó törzsen (B1201/B11, B1201/B20, B1201/B29), mindegyik törzsnél 3-3 klónból végeztük el.

JET-Star oszlopon (Plasmid purification system, GENOMED) tisztított plazmidban univerzális Forward és Reverse primerek segítségével ABI PRISM™ BigDye™ Terminator Sequencing Kitet (PE Applied Biosystem) alkalmazva automata szekvenátorral meghatároztuk a beépített DNS fragment nukleotid sorrendjét.

A szekvencia adatok értékeléséhez az EMBL és Genbank adatbázisokat és a GCG (Genetics Computer Group, Madison, Wis., USA) szoftvercsomagot használtuk.

PCR analízis a prim52 bekapcsolódási hely körüli szekvencia felderítésére

A prim52 primer kötődési helyének tisztázására a kapott és az ismert szekvencia adatok alapján primerpárt szerkesztettünk a GCG-Prime program segítségével. A primerek szekvenciái: a, 5'- GCAACAATCAACACAAGAG -3' (az ismert 1Ax2* gén cDNS szekvenciájához a 978 bp-nál kapcsolódik be) és b, 5'- TTGCTCCCCTTGTCTTTG - 3', az 1Ax2* gén szekvenciájához 1299 bp-nál kapcsolódik be. A reakció végtérfogata 100 µl, a koncentrációk: 250 ng / primer, 300 µM dNTP, 2,5 U Taq polimeráz (Promega), 200 ng genomiális DNS, 1 térfogat Taq PCR puffer (Promega). A reakció körülményei 30 cikluson keresztül 94 °C 30 s, 58 °C 25 s, 72 °C 30 s. A kapott PCR terméket QIAGEN oszlopon (QIAquick PCR purification Kit Protocol) tisztítottuk, majd a 4.3.4. pontban leírtak szerint klónoztuk és szekvenáltuk.

5.3.4 A mutáns 1Ax2* gén amplifikálása és a gén C-terminális felének szekvenálása

A teljes gén amplifikálásához D' Ovidio és társai által (1995) az 1Ax típusú HMW-glutenin génekre tervezett primerpárt (AxA: 5' AGATGACTAAGCGGTTGGTTC 3', AxB: 5' CTGGCTGGCCAACAATGCGT 3') és módszert használtuk. A reakciókörülmények 30 cikluson át 95 °C 60 s, 60 °C 60 s, 72 °C 150 s. A várt termék mérete 2445 bp.

A gént amplifikálását követően pCR 2.1-TOPO vektorba (Invitrogen) klónoztuk. A klónozott gént a GCG-Map program segítségével kiválasztott restrikciós enzimmel (Tth111I enzim) hasítottuk. A kapott restrikciós termékek méreteik alapján egyértelműen megkülönböztethetőek (1046 bp és 1399 bp). A gén C-terminális részét is tartalmazó kb. 1400 bp méretű fragmentet a 4.3.3 pontban leírt módon szubklónoztuk, majd a klónokat Hinc II enzimmel hasítottuk. Az így kapott kb. 430 bp, 280 bp és 690 bp fragmenteket további szubklónozást követően mindkét irányból szekvenáltuk.

5.4 A tartalékfehérjék mennyiségi meghatározása

5.4.1 Növényi anyag

A tartalékfehérje frakciók mennyiségének meghatározásához a Bánkúti 1201 populáció 52 törzséből kiválasztottunk 21 törzset, melyek a populációra jellemző tulajdonságokat, tartalékfehérje összetételeket jól reprezentálják. A törzsek és eredményeik a függelék IV. táblázatában találhatóak. A kromatográfiás vizsgálatokat, továbbá a reológiai tulajdonságok meghatározását a CSIRO Plant Industry (North Ryde, Ausztrália) és az intézet között fennálló együttműködés keretében Dr. Békés Ferenc irányításával végeztük.

5.4.2 SE-HPLC

A minták összes glutenin-, gliadin és albumin + globulin tartalmát SE-HPLC technikával, Batey és mtsai. (1991) módosított módszere alapján határoztuk meg.

10 mg liszthez hozzáadtunk 1 ml 0,5 V/V %-os SDS-foszfát puffert (pH 6,9), majd 15 s-ig szonikáltuk. A szonikálást követően centrifugáltuk és a felülúszót 0,45 µm PVDF szűrőn szűrtük. Az analízishez Phenomenex BIOSEP-SEC 4000 oszlopot alkalmaztunk. A futtatás ideje 10 perc (áramlási sebesség 2ml/perc). Az alkalmazott eluens vizes acetonnitril puffer volt (0,05 V/V % trifluorecetsav vízben és 0,05 V/V % acetonnitrilben). A fehérjéket 214 nm hullámhosszon detektáltuk.

Az oldhatatlan polimer frakció (UPP) mennyiségének meghatározásához Gupta és MacRitchie módszerét alkalmaztuk (Gupta és MacRitchie, 1994). A mintafeltáráshoz az előbbi SDS-foszfát puffert alkalmaztuk, az extrahálás két lépésben, először szonikálás nélkül, majd szonikálással történt. Az elválasztás és a detektálás körülményei a fentiekkel megegyeznek. Az oldhatatlan polimer frakció relatív mennyiségét az összes fehérje polimer frakció mennyiségének és az oldhatatlan fehérje frakció polimer mennyiségének arányából számíthatjuk ki.

5.4.3 RP-HPLC

A HMW- és LMW-gluteninek mennyiségének, valamint az egyes HMW-glutenin alegységek relatív mennyiségeinek meghatározásához Marchylo és mtsai. (1989) módosított módszerét használtuk. 50 mg lisztből 1 ml 70 V/V %-os etanollal, majd kétszer 1 ml 50 V/V %-os propanollal extraháltuk a gliadinokat. A glutenin polimereket 1 ml 1 m/V % DTT-t tartalmazó pufferrel (50 V/V % propanol, 2 M karbamid és 0,2 M Tris-HCl (pH 6,6)) redukáltuk, majd 10 µl 4-vinyl-pyridinnel alkiláltuk. Centrifugálást és szűrést (0,45 µm PVDF szűrőn)

követően a főleg HMW- és LMW-glutenin alegységekből álló szűrletet Vydac C18 oszlopon (Beckman System Gold HPLC) választottuk el.

5.5 Sütőipari technológiai vizsgálatok

5.5.1 Sikértulajdonságok jellemzése a magyar szabványok alapján

A magyar standardek szerinti sütőipari vizsgálatokat a Bánkúti 1201 populáció 96-97-es éveinek terméséből végeztük. A törzsek fehérjetartalmát Tecator Kjeltec 1035 Autoanalyzeren határoztuk meg. Az adatokat szárazanyag tartalomra átszámítva, $N \times 5,7$ faktorról közöljük.

A nedvessikér tartalmat lisztből az ICC 137/1 szabvány alapján határoztuk meg. A gluténindexet az ICC 155 szabvány alapján Perten módszerét figyelembe véve számítottuk, a sikér terület értékeit az MSZ 6369/5-87 szabvány szerint állapítottuk meg. Az SDS ülepedési térfogatot (SDS – szedimentációs érték) 3 g teljes őrleményből Soltek SDS System automata készülékkel mértük, a kapott értékeket átszámítási táblázat alapján állapítottuk meg.

A fehérjetartalom meghatározásához és az SDS teszthez a teljes őrlemény előállítása Perten Laboratory Mill 3100, a sikérvizsgálathoz szükséges liszt őrlése Brabender Junior malmon történt.

5.5.2 Reológiai tulajdonságok vizsgálata mikrotesztekkel

A tartalékfehérjék mennyiségi meghatározásához felhasznált 21 törzs lisztjéből készült tésztaminták reológiai tulajdonságait kis anyagmennyiségekkel dolgozó ún. small-scale teszterekkel vizsgáltuk. A 3,5 g-os tésztaminták dagasztásához 2g-os Mixográfot használtunk (TMCO, Lincoln, NE, USA). Valamennyi törzsből két párhuzamos vizsgálatot végeztünk, a tészta kialakulásához szükséges időt Gras és mtsai. (1990) módszere alapján számítottuk. A Mixográfal rögzített paraméterek a következők: MT - dagasztási idő (sec), PR - csúcsrezisztencia (AU), BWPR – a csúcsrezisztenciánál mért görbeszélesség (AU), RBD – 3 percnél túldagasztásnál mért rezisztencia értéke a maximum %-ában, BWBD – az RBD-nél mért csúcshélesség, TMBW – a maximális csúcshélességnél mért idő (s). MBW- maximális csúcshélesség (AU). A 2g-os Mixográfal dagasztott tészta hengerek nyújthatóságát Micro Extension Testerrel vizsgáltuk. Minden mintából két párhuzamos vizsgálatot végeztünk. A tészta nyújthatóságát (Extension – mm) és a nyújtással szembeni maximális ellenállást (R_{max} – AU) Rath és mtsai. (1994) leírása alapján határoztuk meg. 2,4 g tésztából próbasütést végeztünk Gras és Békés leírása alapján (1996), itt is minden mintából párhuzamos vizsgálatokkal. A kiértékelés során mértük a cipók magasságát. A mikrosütésnél a próbacipó

magassága lineáris összefüggést mutat a cipótérfogattal, ezáltal a kenyérminőség meghatározására alkalmazható módszer.

5.6 Statisztikai vizsgálatok

A statisztikai vizsgálatokhoz a magyar technológiai vizsgálatok esetében nem rendelkezünk ismétlésekkel, ezért a két év (1996-97) vizsgálati eredményeit tekintettük ismétlésnek (Vida és mtsai., 1998). Így a statisztikai vizsgálatokat $2 \times 52 = 104$ mintaszámon végeztük el. A vizsgálatokhoz a STATISTICA 6,0 programcsomagot (StatSoft Inc., USA) használtuk.

A különböző tartalékfehérje típusok és a minőségi tulajdonságok összefüggéseit először korreláció analízissel vizsgáltuk. Az egyes lokuszokat allélenként kódokkal láttuk el, illetve külön kódoltuk az előforduló HMW-, LMW-glutenin típusokat és gliadin típusokat. A technológiai tulajdonságok és tartalékfehérje allélek közötti összefüggéseket Rank korrelációval vizsgáltuk.

A magyar technológiai vizsgálatok esetében az 52 törzsből hatféle HMW-, ötféle LMW-glutenin és nyolcféle gliadin allélösszetétel fordul elő. Ennek alapján a lehetséges kombinációk száma $6 \times 5 \times 8 = 240$. A vizsgált 52 vonalban viszont ezek közül összesen húszféle típus fordul elő. A nagyon hiányos mátrix következtében a technológiai tulajdonságokra a lokusz ill. allél kölcsönhatásokat is figyelembe vevő variancianalízis nem végezhető el. Így egyrészt variancianalízissel vizsgáltuk a tartalékfehérje típusok és a lokuszok fő hatásait, az egyes lokuszokon belül az allélek közötti különbségeket pedig több próbás t-próbával (Post Hoc teszttel) állapítottuk meg.

Mivel a magyar funkcionális vizsgálatok között közvetlen reológiai vizsgálatok nem szerepeltek, ezért az egyes alléleknek a dagasztási ill. nyújthatósági paraméterekre gyakorolt hatását a 21 törzssel végzett statisztikai elemzésekkel végeztük el. Hasonlóan az előbbiekhöz az itt előforduló HMW - LMW - gliadin kombinációk száma 11, ami messze elmarad a lehetséges $6 \times 4 \times 5 = 120$ kombinációtól. Itt is Rank-korrelációval vizsgáltuk a dagasztási tulajdonságok és az allélösszetétel közötti összefüggéseket, majd varianciaanalízissel vizsgáltuk a tartalékfehérje csoportok, majd a lokuszok fő hatásait. Az allélek közötti különbségek feltárására itt is Post Hoc tesztet alkalmaztunk. Az egyes allélkombinációk kölcsönhatását itt sem tudtuk vizsgálni. A kölcsönhatásokkal nem egyenértékű, de azok meglétére és erősségére utal a különböző allélkombinációknak a minőségi paraméterekre gyakorolt együttes hatása.

Hasonlóan Rank korrelációval, majd Post Hoc teszttel vizsgáltuk a tartalékfehérje frakciók mennyiségei és a glutenin és gliadin allélösszetételek közötti összefüggéseket is.

6 Eredmények és értékelésük

6.1 Tartalékfehérje összetétel

6.1.1 Glutenin alegység összetétel

HMW-glutenin alegység összetétel

A vizsgált 52 Bánkúti 1201 törzs HMW-glutenin alegységeit Payne és mtsai. (1983) módszere alapján azonosítottuk a Függelék I. ábrája segítségével. A törzsek egyik HMW-glutenin lokuszon sem voltak homogén, de a törzseken belül a párhuzamos vizsgálatok során heterogenitást nem tapasztaltunk. A Glu-A1 lokuszon az **1** és **2***, a Glu-B1 lokuszon **6+8**, **7+8** és **7+9** allélek, míg a Glu-D1 lokuszon a **2+12** és **5+10** allélek fordultak elő (6. táblázat).

6. táblázat A Bánkúti 1201 populációban előforduló HMW-, LMW-glutenin és gliadin allélek és gyakoriságuk

HMW-glutenin			LMW-glutenin			Gliadin		
Glu-A1	1	17,3%	Glu-A3	a	36,5%	Gli-A1	a	30,8%
	2*	82,7%		d	1,9%		e	1,9%
				f	61,5		f	3,9%
				m	63,4%			
Glu-B1	6+8	1,9%	Glu-B3	b	1,9%	Gli-B1	b	1,9%
	7+8	38,5%		g	1,9%		m	98,2%
	7+9	59,6%		i	96,2%			
Glu-D1	2+12	96,2%	Glu-D3	a	7,7%	Gli-D1	a	78,9%
	5+10	3,8%		c	92,3%		b	3,9%
							g	17,2%

Ezek az allélek, ahogy azt a 7. táblázat is mutatja a vizsgált 52 törzsben összesen hatféle kombinációban jelentek meg, melyek közül a két leggyakoribb, a fajtára legjellemzőbb allélkombináció a **2* 7+9 2+12** és a **2* 7+8 2+12** volt. Az **5+10** allél jelenléte a fajtára nem volt jellemző, a vizsgált törzsek közül mindössze két törzsben azonosítottuk.

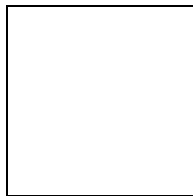
7. táblázat A Bánkúti 1201 törzseiben előforduló HMW-, LMW-glutenin és gliadin allélosztétel típusok és gyakoriságuk.

HMW-glutenin alegység összetétel típusok				LMW-glutenin alegység összetétel típusok		Gliadin összetétel típusok	
1	6+8	5+10	1,9%	a b c	1,9%	a b g	1,9%
1	7+8	2+12	7,7%	a i a	3,9%	a m a	21,2%
1	7+8	5+10	1,9%	a i c	30,8%	a m b	3,9%
1	7+9	2+12	5,8%	d g a	1,9%	a m g	3,9%
2*	7+8	2+12	28,9%	f i c	61,5%	e m g	1,9%
2*	7+9	2+12	53,9%			f m g	3,9%
						m m a	59,6%
						m m g	3,9%

LMW-glutenin alegység összetétel

A populáció LMW-glutenin alegységösszetétele ugyancsak heterogén mind a három Glu-3 lokuszon, de a törzsekben belül különbséget nem találtunk. A Glu-A3 és a Glu-B3 lokuszon három-három allélt, a Glu-D3 lokuszon pedig 2 allélt azonosítottunk a Függelék II. ábráján látható alléltérkép és a standard fajták (Függelék II. táblázat) segítségével. Az előforduló allélek közül a törzsek az A kromoszómán 61,5%-ban az **f** allélt és kb. 36,5 %-ban az **a** allélt tartalmazzák. A kontroll fajtákhoz viszonyítva a Bánkúti 1201 törzseire néhány kisebb mobilitású fehérje fragment jellemző, melyeket a Glu-B3 **i** allél fragmentjeiként azonosítottunk. A Glu-B3 lokuszon a törzsek több mint 95%-a ezt az **i** allélt tartalmazza, míg a Glu-D3 lokuszon a törzsek legnagyobb részében a **c** allélt azonosítottuk (6. táblázat). Összesen ötféle allélkombináció fordult elő (7. táblázat), az **f-i-c** allélkombináció volt a leggyakoribb (közel 62 %) és ugyancsak jellemző típus az **a-i-c** összetétel (30,8 %). A Bánkúti 1201-ben előforduló jellegzetesebb HMW- és LMW-glutenin alegység-összetételeket mutatja be az 5. ábra.

5. ábra A Bánkúti 1201 populációban előforduló jellegzetesebb HMW- és LMW-glutenin alegység-összetételek



1-B20; 2,3 – B22; 4 – Chinese Spring; 5 – Hereward; 6,7 – B23; 8,9 – B25; 10,13 – B26; 11 – Bezostaja 1; 12 – Marquis; 14,15 – B30; 16,17 – B33; 18 – B61 A csillaggal jelölt LMW-glutenin allél típus az f-i-c allélösszetételt, a rombuszsal jelölt LMW-glutenin allél típus az a-i-c allélösszetételt jelöli.

6.1.2 Gliadin összetétel

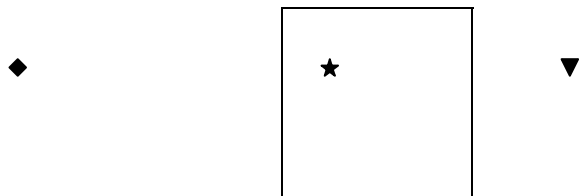
Savas poliakrilamid gélelektroforézis segítségével a gliadinok közül csak a Gli-1 lokusz alléleit azonosítottuk. A három vizsgált lokusz közül a legnagyobb variabilitást a Gli-1 lokuszon figyeltük meg. A Gli-A1 lokuszban négyféle allélt, a Gli-B1 lokuszon kétféle allélt azonosítottunk és ugyancsak három alléltípust találtunk a Gli-D1 lokuszon (7. táblázat). Az allélek azonosításához a Függelék II. ábráját és a standard fajtákat (Függelék II. táblázat) használtuk segítségül. A gliadin allélösszetétel alapján nyolc különböző típust tudtunk megkülönböztetni a populáción belül, de a törzsekben belül heterogenitást nem tapasztaltunk. Az egyes allélösszetétel típusok közül néhány csak egy-egy törzsből fordult elő.

Gyakoribb allélkombináció volt az **a-m-a**, ami az 52 törzsből 11-ben volt azonosítható, a leggyakoribb kombináció az esetek több mint 59%-ában előforduló **m-m-a** allélösszetétel

volt. A 6. ábrán a populációra legjellemzőbb **a-m-a** és **m-m-a** valamint egy kisebb gyakorisággal előforduló allélösszetétel az **a-b-g** látható.

Mindhárom tartalékfehérje lokuszt (Glu-1, Glu-3, Gli-1) figyelembe véve a fajtán belül összesen 17 tartalékfehérje összetétel típust különböztettünk meg, melyek a Függelék III. táblázatában találhatóak. Ez a nagymérvű heterogenitás is alátámasztja a fajtával kapcsolatos korábbi megfigyeléseket, miszerint a Bánkúti 1201 egyes tulajdonságait tekintve a tájfajtákhoz hasonlóan különböző tulajdonságú törzsek keveréke. A megfigyelt tartalékfehérje alegység-összetételek közül kiemelhető azonban két-három olyan típus, amely a Bánkúti 1201 fajtára jellemző. A vizsgált 52 törzs közel 50%-a a **2* 7+9 2+12, f-i-c, m-m-a** allélösszetétellel rendelkezik, de ugyancsak gyakoriak a **2* 7+8 2+12, a-i-c, a-m-a** (7 törzsnél) és a **2* 7+8 2+12 f-i-c, m-m-a** (5 törzsnél) allélösszetételek is.

6. ábra A Bánkúti 1201 populációban előforduló néhány Gli-1 alléltípus



1, 2, 3, 4 – B24; 5 – Chinese Spring; 6, 7, 8, 9 – B44; 10 – Bezostaja 1, 11, 12, 13, 14 – B48; 15 – Marquis
A rombuszal jelölt típus az m-m-a gliadin allélösszetételt, a csillaggal jelölt az a-b-g allélösszetételt, míg a háromszöggel jelölt az a-m-a allélösszetételt jelzi.

6.1.3 Értékelés

A Bánkúti 1201, más régi magyar fajtákhoz hasonlóan tartalékfehérje összetételét tekintve heterogén, különböző tartalékfehérje összetételű törzsek keveréke (Kárpáti és mtsai., 1995, Bedő 1994, Bedő és mtsai., 1995, Hänsel és mtsai., 1995). A Glu-A1 lokuszon **1** és **2*** alegységeket, a Glu-B1 lokuszon a **7+8** és a **7+9** alléleket ill. egy törzs esetében **6+8** allélt azonosítottunk.

A Glu-D1 lokuszon az **5+10** allél kis számban, és csak két kombinációban fordult elő, 1D kromoszómán a fajta inkább **2+12** allélösszetétellel jellemezhető. A Bánkúti 1201 búzafajta egyik szülője, a Bánkúti 5 oldaláról szoros rokonságot mutat a Tiszavidéki tájfajtával. Irodalmi adatok alapján a tájfajták és régi búza populációk számos esetben jellemezhetőek **2+12** alléllal a Glu-D1 lokuszon. Igrejas és mtsai. (1997) vizsgálatai alapján a több mint 150 éve termesztésben levő portugál Barbela fajta szintén heterogén összetételű, az 1D kromoszómán a vizsgált törzsek több mint 90%-a **2+12** alléllal rendelkezik. Ugyancsak

főként **2+12** allélt azonosítottak afgán (Lagudah és mtsai., 1987) és pakisztáni tájfajtákban (Tahir és mtsai., 1996).

A HMW-glutenin alegységek mellett az LMW-glutenin alegységek kevésbé tanulmányozottak. Az európai fajtaszortimentre jellemzőbb allélösszetételek megállapítására Jackson és Garrett (1994) és Jackson és mtsai. (1996) végeztek kísérleteket. 49 európai fajtát vizsgálva megállapítható néhány gyakoribb allélösszetétel. Így a természetben levő angol, olasz, francia, német fajtákra a kisebb molekulatömegű fehérje fragmentek jellemzőbbek pl. a Glu-A3 lokuszon az **a** allél előfordulása meglehetősen gyakori, ugyancsak gyakoriak az **f** és **d** allélek. A Glu-B3 lokuszon az **f**, a **b** allélek fordulnak elő nagyobb gyakorisággal, míg a Glu-D3 allélen az **a** és **c** allélek jellemzőbbek. Az európai tájfajtákkal az LMW-glutenin allélösszetétel tekintetében nem találtunk olyan jellemző hasonlóságot, mint a Glu-D1 HMW-glutenin alléleknél. Igrejas és mtsai. (1997) a Barbela tájfajtára a Glu-A3**a**, Glu-A3**e**, Glu-B3**f** és Glu-D3**c** LMW-glutenin alléleket találták jellemzőnek. A Bánkúti 1201 populáció LMW-glutenin alegység és gliadin összetételét elemezve ugyancsak nagy heterogenitást tapasztaltunk. A Glu-A3 lokuszon az **f** és **a** allélek fordultak elő nagyobb gyakorisággal, amelyek a ma köztermesztésben álló fajtákra is jellemzőek, a Glu-D3 lokuszon a **c** allélt azonosítottuk a legtöbbször, ami ugyancsak gyakori LMW-glutenin allélnek tekinthető. A Glu-B3 lokuszon a vizsgált 52 törzs közel 96%-a az **i** allélt tartalmazta, amely a rendelkezésre álló irodalmi adatok szerint nem gyakori a termesztett európai fajták körében (Jackson és Garrett, 1994, Jackson és mtsai., 1996). Az LMW-glutenin allélösszetételeket észak-amerikai, elsősorban kanadai (Wheat Quality Electrophoresis, 1998) valamint ausztrál fajtákkal (Cornish, 2001) összehasonlítva megállapítható, hogy a Glu-B3**i** allél összemérhetően nagyobb gyakorisággal fordul elő a kanadai fajták között, mint akár az európai, akár az ausztrál fajtaszortimentben. 168 kanadai aestivum búzafajtából 19% hordozza ezt az allélt és kb. 27% tartalmazza a Glu-B3**i** alléltől alig különböző Glu-B3**h** allélt. Ugyanennek a két allélnek a gyakorisága az ausztrál fajtákban (301 búzafajtát vizsgálva) 2% ill. 14% volt.

Az európai és a Bánkúti 1201, ill. a többi régi magyar búzafajta (Juhász és mtsai., 2000) allélösszetételének különbözősége jól magyarázható az e fajták és a régi magyar fajták között fennálló kis genetikai rokonsággal. Az ICIS adatbázist használva a Függelék II. táblázatában található 18 európai fajta, valamint más európai fajták pedigrije többnyire németalföldi, dél-európai, kisázsiai és angol tájfajtákra (Zeeuwse Witte, Dikkop, Squarehead, Purple Straw, Ricti, Iumillo, Turkey, Fultz) vezethető vissza (ICIS, 2000). A Bánkúti 1201 egyik szülője, a kanadai Marquis révén a Hard Red Calcutta és a Red Fife fajtáktól származtatható, ez utóbbi

a Bánkúti 1201 másik szülőjéhez a Bánkúti 5-höz hasonlóan galíciai eredetű. Észak-amerikai, kanadai és ausztrál fajták pedigvizsgálatai alapján a Bánkúti 1201 a legszorosabb rokonságot a kanadai fajtákkal mutat. Számos ma is köztermesztésben levő kanadai fajta pedigréje vezethető vissza a Red Fife és a Hard Red Calcutta fajtáig. Így pl. a kanadai extra erős sikértulajdonságokkal rendelkező Glenlea fajta pedigréjének kialakulásához a Red Fife 14,58 %-ban a Hard Red Calcutta 11,94 %-ban járul hozzá.

A Gli-1 lokuszon kódolt gliadinok alléllösszetétele a Bánkúti 1201 esetében ugyancsak jellegzetes képet mutat. Míg a Jacksonék által vizsgált európai fajtákra inkább a Gli-A1a, Gli-A1o, Gli-A1b, Gli-B1b, Gli-D1b, Gli-D1k allélek a jellemzőek, addig a Bánkúti 1201 esetében **m-m-a**, **a-m-a**, **m-m-g** alléllösszetételeket találtunk nagyobb gyakorisággal. Az irodalmi adatok alapján a Gli-1 és Glu-3 lokuszok szorosan kapcsolatosak (Payne és mtsai., 1981a). Az általunk vizsgált populációban az irodalmi adatoknak megfelelően a Gli-A1a/Glu-A3a, Gli-B1b/Glu-B3b, Gli-B1m/Glu-B3i, Gli-D1a/Glu-D3a, Gli-D1g/Glu-D3a allélpárok mutattak kapcsoltságot.

6.2 A HMW-glutenin alegységek vizsgálata molekuláris markerekkel

6.2.1 Tesztelés HMW-glutenin alegység gén specifikus primerekkel

Egy az 1Dx5 gén N-terminális szakaszára specifikus primerpárral teszteltük a Bánkúti 1201 populáció 52 törzsét, kontrollként Chinese Spring (- 7+8 2+12) és Cheyenne (2* 7+9 5+10) fajtákat alkalmaztunk.

7. ábra A Bánkúti 1201 populációban előforduló PCR mintázatok a prim51-prim52 primerpárral



A Bánkúti 1201 törzseinél azonosított fragment összetételek: A: 1300 bp + 1160 bp + (450 bp), B: 1300 bp + 450 bp, C: 1160 bp + 450 bp. Kontrollok: Chinese Spring (1160 bp + (450 bp)), Cheyenne (450 bp)

A Bánkúti 1201 törzsei esetében a várt 450 bp méretű és 1160 bp méretű termékek mellett egy 1300 bp méretű fragment is képződött (7. ábra). A populáció a fragment összetétel

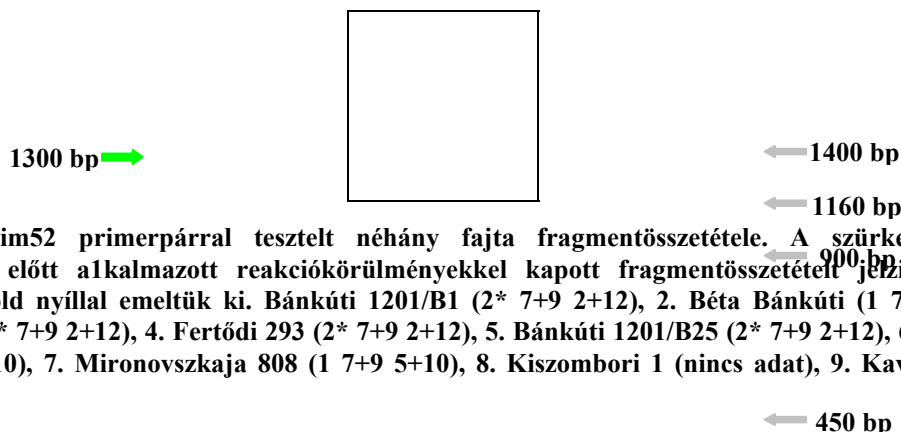
alapján 3 csoportba osztható :A csop.: 1300 bp + 1160 bp (+ 450 bp), B csop.: 1300 bp + 450 bp, C csop.: 1160 bp + 450 bp. A vizsgált vonalak kb. 73 %-a tartalmazza ezt az 1300 bp méretű DNS fragmentet, mely nem képződött egyik kontroll mintában sem.

A primerpárral további fajtákat, többek között a Bánkúti 1201 rokonsági körébe tartozó más régi magyar fajtákat és más későbbi nemesítésű fajtákat is teszteltünk (8. ábra). A genotípusokat az elmúlt 50 év magyar fajtáiból Martonvásáron fenntartott gyűjteményből választottuk ki. Az 1300 bp méretű fragmentet csak a Bánkúti 1201 törzseiben azonosítottuk.

6.2.2 A pontmutáció azonosítása

Az 1300 bp méretű fragment, mint műtermék keletkezését kizárása érdekében optimalizáltuk a PCR reakciót. Mivel az extra fragment a kapcsolási hőmérsékletet 5 °C-os növelése ellenére is egyértelműen azonosítható maradt, ezért az 1300 bp méretű fragmentet mindkét irányból megszekvenáltuk. Az adatbázisok DNS szekvenciáival végzett összehasonlítás (Fasta – GCG) alapján a legnagyobb hasonlóságot a tartalékfehérje génekkel találtunk.

8. ábra A prim51-prim52 primerpárral tesztelt további genotípusok fragmentösszetétele



A Prim51-prim52 primerpárral tesztelt néhány fajta fragmentösszetétele. A sziürke nyilak az optimalizálás előtt alkalmazott reakciókörülményekkel kapott fragmentösszetételeket jelölik, az extra fragmentet zöld nyíllal emeltük ki. Bánkúti 1201/B1 (2* 7+9 2+12), 2. Béta Bánkúti (1 7+9 2+12), 3. Karcagi 21 (2* 7+9 2+12), 4. Fertódi 293 (2* 7+9 2+12), 5. Bánkúti 1201/B25 (2* 7+9 2+12), 6. Bezosztaja 1 (2* 7+9 5+10), 7. Mironovszkaja 808 (1 7+9 5+10), 8. Kiszombori 1 (nincs adat), 9. Kavkaz (2* 7+9 5+10)

A nukleotid és a származtatott aminosav szekvenciák alapján a fragment nukleotid sorrendje legnagyobb homológiát (több mint 90 %) az 1Ax típusú gének megfelelő szakaszainak nukleotid sorrendjével mutatott (8. táblázat). Az adatbázisban hozzáférhető 1Ax típusú gének szekvenciáival összehasonlítva legnagyobb (100 %-os) homológiát az 1Ax2* gén megfelelő szakaszával tapasztaltunk. Ez az eredmény összhangban van az előbbi fejezetben ismertetett HMW-glutenin vizsgálatok eredményeivel valamint a korábbi SDS-PAGE vizsgálatokkal, miszerint a vizsgált Bánkúti 1201 genotípusok Glu-A12* fehérje alegységet tartalmaznak (Bedő és mtsai., 1994, Vida és mtsai., 1998).

8. táblázat Az 1300 bp méretű fragment szekvenciahomológiája a GeneDoc és EMBL adatbázisokban megtalálható x típusú HMW-glutenin gének szekvenciájához

Hasonlóság	Gén + azonosító kód	Referencia
100 % 1280 bp	Glu-A1x2* M22208	Anderson és Green., 1989
98,2 % 830 bp	Glu-A1x1 X61009	Halford és mtsai., 1992
98 % 830 bp	Glu-A1x gén U 19774	Xin és mtsai., 1995
70,1 % 1122 bp	Glu-D1x5 X 12928	Anderson és mtsai., 1989
68,5 % 783 bp	Glu-D1x2 X 03346	Sugiyama és mtsai., 1985

A HMW-glutenin gének közötti nagy mértékű szekvencia homológia miatt a Bánkúti 1201 valamennyi HMW-glutenin alléljében (1Ax2*, 1Dx2, 1Bx7, 1By9, 1Dy12) valamint az 1Ax1 és 1Dx5 allélekben is megvizsgáltuk, hogy képes-e a primerpár kapcsolódni és amplifikálja-e az 1300 bp hosszú fragmentet, vagy a kapott termékek valamelyikét. Specifikus kötődést csak az 1Dx5 gén megfelelő régiójához találtunk és a primerpár csak több-kevesebb hibával tudna bekapcsolódni a többi gén megfelelő szakaszához (9. ábra). Az 1300 bp fragment keletkezésének lehetőségét vizsgálva megállapítható, hogy a prim51 bekapcsolódási helyétől számított kb. 1300 bp távolságra csak abban az esetben lenne képes kötődni a prim52 primer, ha a reakció feltételek 6 hibás kapcsolódást is lehetővé tennének.

9. ábra A prim51 és prim52 primerek bekapcsolódási lehetőségei a főtermék esetén és az 1300 bp fragment esetében

A prim51 primer bekapcsolódási helyei az egyes HMW-glutenin génekre

prim51		~~~~GCCTAG-CAACCTTCACAATC~~~~	
1Dx5	-87	TAAAAGCCTAG-CAACCTTCACAATCTTATC	-58
1Dx2	-88	TAAAAGCCTAGTTAACCTTCACAATCTTATC	-58
1Ax2*	-88	TAAAAGCCTAGCCAACCTTCACAATCTCTTC	-58
1Ax1	-88	TAAAAGCCTAGCCAACCTTCACAATCTCTTC	-58
1Bx7	-88	TAAAAGCCCATCCAACCTTCACAATCTCATC	-58
1By9	-88	TAAAAGCCCAACCAATCTCCACAATCTCATC	-58
1Dy12	-89	TAAAAGCCCAACCAATCTCCACAATTTTCATC	-59

A prim52 bekapcsolódási helyei a D' Ovidio által leírt 450 bp főtermék esetén

prim52		~~~~CTTGTCCGCAGCAGGTTTC~~~~	
1Dx5	345	TGTAACCTTGTCCGCAGCAGGTTTCATACT	373
1Dx2	342	TGTAACCTTCTCCGCAGCAGGTTTCATACT	370
1Ax2*	336	TGTAACCTTCTCCGCAGCAGGTTTCATACT	364
1Ax1	336	TGTAACCTTCTCCGCAGCAGGTTTCATACT	364
1Bx7	357	CCAAGCTTCTCCCAACAGTCAGGACAAG	385
1By9	350	AACATCTTCACAAACAGTACAAGGGTATT	382
1Dy12	354	AACATCTTCACAAACAGTACAAGGGTATT	382

A prim52 bekapcsolódási lehetőségei a prim51-től kb. 1300 bp távolságban

prim52		~~~~CTTGTCCGCAGCAGGTTTC~~~~	
1Dx5	1266	CCCAACTTCTCCGCAGCAGTCAGGACAAG	1294
1Dx2	1326	CCTAACTTCTCCGCAGCAGTCAGGACAAG	1354
1Ax2*	1173	CCCAACTTCTCCGCAGCAGCCAGGACAAG	1201
1Ax1	1191	CCCAACTTCTCCGCAGCAGCCAGGACAAG	1219

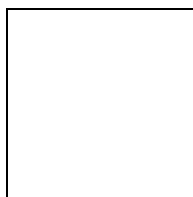
1Bx7	1206	CCCAACTTCTCCACAGCAGTCAGGACAAG	1234
1By9	1209	CCCAGCTTCTCTGCAGCAGGTAGGACAAG	1237
1Dy12	1284	CCCAACTTCTCTGCAGCAGCCAGGACAAG	1312

Az 1Ax1 és 1Ax2* gének közötti leglényegesebb különbség az adatbankban található szekvenciák alapján, hogy az 1Ax1 gén repetitív szakasza két inszerciót (18 nukleotid és 27 nukleotid hosszúságban) tartalmaz az 1Ax2*-hoz képest. Ezeknek az inszercióknak az egyike a gének általunk is vizsgált szakaszára esik, de az 1300 bp fragment nukleotid szekvenciája nem tartalmazta ezt az inszerciót.

A prim52 primer bekapcsolódási helyének elemzése

Az elvégzett PCR kísérletek és a szekvenciákkal végzett összehasonlító vizsgálatok mind megerősítették azt a feltételezésünket, hogy az 1300 bp-os fragmentet tartalmazó gén az 1Ax2* mutációval létrejött változata, de a szekvenciaazonosság alapján a mutáció feltételezhetően a prim52 primer bekapcsolódási helyén van. Ennek ellenőrzésére a korábbi szekvenálások ismeretében olyan primerpárt terveztünk, amely segítségével az 1300 bp hosszú fragment 3' vége körüli DNS szakasz, azaz a prim52 primer bekapcsolódási helyének nukleotid sorrendje határozható meg. Az amplifikált kb. 300 bp méretű fragmentet klónoztuk, majd szekvenáltuk. A szekvenciákat a HMW-glutenin gének szekvenciáival összehasonlítva egy pontot leszámítva 100%-os azonosságot tapasztaltunk az 1Ax2* gén homológ szakaszával. Az egyetlen különbség egy az 1Ax2* gén kódoló régiójának 1181 bp pontjánál található C - G pontmutáció volt, ami lehetővé tette a prim52 primer kapcsolódását és az 1300 bp méretű termék képződését (10. ábra).

10. ábra A TCT – TGT pontmutáció azonosítása az 1300 bp fragment 3' végén



Az 1300 bp fragment szekvenálása után primerpárt terveztünk a prim52 kötődési helye körüli régió szekvenciájának megállapítására. A kapott 300 bp terméket megszekvenálva az egyetlen különbséget az ábrán jelölt C-G pontmutáció jelentette. Az 1Ax2* gén a cDNS 1181 bp pontjánál különbözik a Bánkúti 1201/B11 törzséből származó klón szekvenciájától. A háromszögek a primerek bekötődési helyét, az általuk közrefogott szakaszok a kapott 1300 bp ill. 300 bp méretű PCR termékeket jelzik.

A pontmutációnak hatása volt a származtatott aminosavszekvenciára is. A TCT, szerint kódoló triplet TGT-re módosult és ez a kodon megfelel a ciszteint kódoló egyik nukleotidhármasnak (11. ábra.)

11. ábra Az 1Ax2* és a Bánkúti 1201 1Ax2*B génjének származtatott aminosavsorrendje. A cisztein aminosavakat fekete jelöléssel emeltük ki.

	1				50
1Ax2*	MTKRLVLF	AA VVVALVALTA	AEGEASGQLQ	C CERELQEHS	KA C RQVVDQQ
1Ax2*B	MTKRLVLF	AA VVVALVALTA	AEGEASGQLQ	C CERELQEHS	KA C RQVVDQQ
	51				100
1Ax2*	LRDVSPE C QP	VGGGPVARQY	EQQVVVPPKG	GSFYPPGETTP	PQQLQQSILW
1Ax2*B	LRDVSPE C QP	VGGGPVARQY	EQQVVVPPKG	GSFYPPGETTP	PQQLQQSILW
	101				150
1Ax2*	GIPALLRRYY	LSVTSPQQVS	YYPGQASSQR	PGQGQQEYYL	TSPQQSGQWQ
1Ax2*B	GIPALLRRYY	LSVTSPQQVS	YYPGQASSQR	PGQGQQEYYL	TSPQQSGQWQ
	151				200
1Ax2*	QPGQGQSGYY	PTSPQQSGQK	QPGYYPTSPW	QPEQLQQPTQ	GQQRQQPGQG
1Ax2*B	QPGQGQSGYY	PTSPQQSGQK	QPGYYPTSPW	QPEQLQQPTQ	GQQRQQPGQG
	201				250
1Ax2*	QQLRQGQQGQ	QSGGQPRYY	PTSSQQPGQL	QQLAQGGQGQ	QPERGQQGQQ
1Ax2*B	QQLRQGQQGQ	QSGGQPRYY	PTSSQQPGQL	QQLAQGGQGQ	QPERGQQGQQ
	251				300
1Ax2*	SGQGQQLGQG	QQGQPGQKQ	QSGGQGGYY	PISPQQLGQG	QQSGGQQLGY
1Ax2*B	SGQGQQLGQG	QQGQPGQKQ	QSGGQGGYY	PISPQQLGQG	QQSGGQQLGY
	301				350
1Ax2*	YPTSPQQSGQ	GQSGYYPTSA	QQPGQLQQST	QEQQLGQEQQ	DQSGGGRQG
1Ax2*B	YPTSPQQSGQ	GQSGYYPTSA	QQPGQLQQST	QEQQLGQEQQ	DQSGGGRQG
	351				400
1Ax2*	QQSGQRQQDQ	QSGGQQPGQ	RQPGYYSTSP	QQLGQGQPRY	YPTSPQQPGQ
1Ax2*B	QQSGQRQQDQ	QSGGQQPGQ	RQPGYYSTSP	QQLGQGQPRY	YPT C PQQPGQ
	401				450
1Ax2*	EQQPRQLQQP	EQGQQGQPE	QGQQGQQRQ	GEQGQQPGQG	QQGQQPGQGQ
1Ax2*B	EQQPRQLQQP	EQGQQGQPE	QGQQGQQRQ	GEQGQQPGQG	QQGQQPGQGQ
	451				500
1Ax2*	PGYYPTSPQQ	SGQGQPGYYP	TSPQQSGQLQ	QPAQGQQPGQ	EQQGQQPGQG
1Ax2*B	PGYYPTSPQQ	SGQGQPGYYP	TSPQQSGQLQ	QPAQGQQPGQ	EQQGQQPGQG
	501				550
1Ax2*	QQPGGQPGY	YPTSPQQSGQ	EQQLEQWQSS	GQGQPGHYPT	SPLQPGGQP
1Ax2*B	QQPGGQPGY	YPTSPQQSGQ	EQQLEQWQSS	GQGQPGHYPT	SPLQPGGQP
	551				600
1Ax2*	GYYPTSPQQI	GQGQPGQLQ	QPTQGQQGQ	PGQGQQGQP	GEGQQQQPG
1Ax2*B	GYYPTSPQQI	GQGQPGQLQ	QPTQGQQGQ	PGQGQQGQP	GEGQQQQPG
	601				650
1Ax2*	QGQPGGQGP	GYYPTSLQQS	GQGQPGQWQ	QPGGQPGYY	PTSSLQPEQG
1Ax2*B	QGQPGGQGP	GYYPTSLQQS	GQGQPGQWQ	QPGGQPGYY	PTSSLQPEQG
	651				700
1Ax2*	QQGYYPTSQQ	QPGGQPGQ	WQSGGQGG	YYPTSPQQSG	QGQPGQWLQ
1Ax2*B	QQGYYPTSQQ	QPGGQPGQ	WQSGGQGG	YYPTSPQQSG	QGQPGQWLQ
	701				750
1Ax2*	PGQWLQSGYY	LTSPQQLGQG	QQPRQLQPR	QGQQGYYPTS	PQQSGGQQL
1Ax2*B	PGQWLQSGYY	LTSPQQLGQG	QQPRQLQPR	QGQQGYYPTS	PQQSGGQQL
	751				800
1Ax2*	GQGQQGYYPT	SPQQSGGQ	GYDSPYHVSA	EHQAASLKVA	KAQQLAAQLP
1Ax2*B	GQGQQGYYPT	SPQQSGGQ	GYDSPYHVSA	EHQAASLKVA	KAQQLAAQLP
	801		815		
1Ax2*	AM C RLEGGDA	LLASQ			
1Ax2*B	AM C RLEGGDA	LLASQ			

6.2.3 A mutáns 1Ax2* gén amplifikálása és a gén C-terminális felének szekvenálása

A Bánkúti 1201 fajtában azonosított mutáns 1Ax típusú gén amplifikálására a D' Ovidio és társai (1995) által publikált 1Ax-génspecifikus primerpárt használtuk. A kapott kb. 2500 bp méretű fragment mérete megfelelt az adatbázisokban közölt 1Ax2* gén cDNS méretének. A gén második felének szekvenálásához a pCR 2.1-TOPO vektorba klónozott gént Tth111I restrikciós enzimmel hasítottuk. A Tth111I enzim a klónozó vektort nem, az 1Ax2* gént egy helyen az 1046 bp-nál hasítja. Az emésztés során kapott két fragment mérete alapján (1046 bp és 1399 bp) megkülönböztethető. A gén C-terminális részét tartalmazó 1399 bp méretű fragmentet szubklónozás után HincII restrikciós enzimmel 430 bp, 280 bp és 690 bp méretű fragmentekre hasítottuk, majd ezeket további szubklónozás után szekvenáltuk. A kapott szekvenciaadatok 100 %-os homológiát mutattak a vad típusú 1Ax2* gén megfelelő szakaszaival.

Ezeknek a szekvenciaadatoknak megfelelően a Bánkúti 1201 törzseiben azonosított és izolált 1Ax típusú gén az ismert 1Ax2* gén egyetlen pontmutációban különböző változata. A pontmutáció eredményeként az 1Ax2*^B génnek (ill. 2*^B fehérjealegységnek) elnevezett mutáns HMW-glutenin alegység gén származtatott aminosavsorrendje a 394. aminosavnál szerinről ciszteinre módosult. Ez alapján a 2*^B fehérjealegység az x-típusú HMW-glutenin alegységekre általában jellemző 4 cisztein aminosav helyett 5 ciszteint tartalmaz (11. ábra). A törzsek 73,1 %-ban azonosítható 2*^B alegység miatt módosulnak a megfigyelt allélgyakoriságok és HMW-glutenin alegység összetételek is (9. táblázat és Függelék IV. táblázat). A Glu-A1 lokuszon az 52 törzs 17,3 %-a a Glu-A11, 9,6 %-a a Glu-A12* allélt a többi a 2*^B allélt tartalmazza.

9. táblázat A molekuláris analízis következtében módosult HMW-glutenin összetételek

HMW-glut. összetétel				HMW-glut. összetétel			
1	6+8	5+10	1,9%	2* ^B	7+8	2+12	25,0%
1	7+8	2+12	7,7%	2* ^B	7+9	2+12	48,1%
1	7+8	5+10	1,9%	2*	7+8	2+12	3,9%
1	7+9	2+12	5,8%	2*	7+9	2+12	5,8%

6.2.4 Értékelés

A búza tartalékfehérjékben megfigyelhető allélikus változatok néhány ősi gén hasonló módon, inszerciókkal, deléciókkal, pontmutációkkal kialakult változatai. A HMW-glutenin gének között fennálló nagymértékű homológiát igazolják a genetikai adatbázisokban közölt szekvenciaadatok. A hasonlóság különösen igaz az azonos kromoszómán kódolt, azonos

típusú (x- vagy y-típusú) HMW-glutenin allélekre. Az eddig azonosított allélváltozatokra jellemzőbbek az SDS-PAGE-val is meghatározható, inszerciókkal, deléciókkal kialakuló méretbeli különbségek. A GrainGenes adatbázisban közölt HMW-glutenin alegységek száma 61, ezen belül ebben az adatbázisban összesen nyolcféle Glu-D1x alegységet publikáltak már, de a részlegesen vagy teljesen megszekvenált és publikált alegység gének szekvenciáinak száma nem éri el a húszat.

Inszerciós és deléciós különbségekre például szolgálhatnak a már említett 1Ax1-1Ax2*, 1Dx2-1Dx2.2*, 1Dx5-1Dx5* génpárok (ld. 3.3. fejezet) A pontmutációk következtében kialakuló ismert allélváltozatok száma kevesebb. Ezek között akadnak olyan pontmutációk, melyek a fehérje alegység aminosav sorrendjében nem okoznak változást, vagy a létrejött változás a fehérje fizikai, funkcionális tulajdonságait kevésbé befolyásolja, mint pl. az 1Dx2 és 1Dx5 géneknél megfigyelhető prolin – glutamin mutációk. Ugyanakkor más pontmutációk a génen belül terminációs kodonok kialakulásához, ezáltal a gén működésképtelenné válásához vezethetnek, mint pl. az 1Ay gének vagy az 1Axn gén esetében.

A tartalékfehérjék funkcionalitása szempontjából legjelentősebb pontmutációra példa az irodalomból jól ismert, az 1Dx2 és 1Dx5 gének között meglevő szerin-cisztein mutáció (Anderson és mtsai., 1989). Ezzel megegyező a Bánkúti 1201 1Ax2*^B génjében azonosított TCT (Ser) – TGT (Cys) pontmutáció. Hasonló, de a pontmutáció hiányát igazoló példa egy *T. tauschii* genotípusból izolált 1Dx43-nak elnevezett alegységgén (Tilley és mtsai., 2000). Az 1Dx43 gén az 1Dx5 szekvenciájától egy hexapeptid inszercióban és az N-terminális felőli 4. cisztein aminosav (az extra cisztein) hiányában különbözik. A cisztein kodonja helyett ebben az esetben is a szerin kodonjának megfelelő bázishármas figyelhető meg, ugyanakkor az 1Dx43 szekvenciája az 1Dx2 szekvenciájával sem egyezik meg.

Az 1Dx5 esetében az extra cisztein jelenléte bizonyítottan a funkcionális tulajdonságok, elsősorban a térszta erősségével kapcsolatos paraméterek javulásához vezet (ld. 3.6. fejezet). A glutenin polimerek kialakulásában a végeiken diszulfid hidakkal összekapcsolt x- és y-típusú HMW-glutenin alegységeknek van a legnagyobb szerepük. Az 1Dx5 génben az extra cisztein a molekula repetitív régiójában, annak az N-terminális felőli végén található, az 1Ax2*^B gén esetében pedig a molekula közepén helyezkedik el.

A CYSPRED program segítségével megvizsgáltuk, hogy mennyire alkalmasak a Glu-D15 és Glu-A12*^B fehérje alegységekben található ciszteinek a molekulán belüli diszulfid hidak képzésére (Fariselli és mtsai. 1999). A program a számításokat a molekula profilja, a kérdéses aminosav entrópiája, töltése és hidrofóbicitása alapján végzi. A 10. táblázatban összefoglalt

eredményekből megállapítható, hogy amíg az 5-ös fehérje alegységben az extra cisztein a molekulán belüli diszulfid hidak kialakításában kisebb valószínűséggel vesz részt, addig a 2*^B esetében aktív diszulfidhíd képző. A glutenin alegységeken belüli és az alegységek közötti diszulfid hidak kialakulása entrópiafüggő folyamat. A diszulfid hidak közül elsődlegesen a belső diszulfid hidak jönnek létre, ezek stabilizálják a molekulák harmadlagos szerkezetét, majd a szomszédos fehérje molekulákban meglévő potenciális –SH csoportok jelenléte esetén alakulnak ki az intermolekuláris S-S kötések. Ezeket figyelembe véve feltételezhető, hogy a Bánkúti 1201 búzafajta 2*^B fehérjealegységének extra ciszteinje elsődlegesen belső, molekulán belüli kötések kialakításában vesz részt és az 5-ös alegység extra ciszteinjénél jóval kisebb gyakorisággal alakít ki intermolekuláris kötések.

10. táblázat A ciszteinnek molekulán belüli diszulfidhídképzési valószínűsége a két extra ciszteint tartalmazó x-típusú HMW-glutenin alegység esetében. A két extra ciszteint kékkel jelöltük.

Glu-D1x5			Glu-A1x2* ^B		
Cisztein pozíciója	Kötés valószínűsége	Diszulfidhíd ?	Cisztein pozíciója	Kötés valószínűsége	Diszulfidhíd ?
31	0,967	IGEN	31	0,982	IGEN
48	0,490	NEM	43	0,214	NEM
63	0,853	IGEN	58	0,898	IGEN
121	0,041	NEM	391	0,932	IGEN
847	0,403	NEM	795	0,226	NEM

Annak megállapítására, hogy az így elhelyezkedő ciszteinnek milyen a minőségi és a mennyiségi tulajdonságokra gyakorolt hatása a 6.5. fejezetben leírt statisztikai elemzések nyújtanak választ.

6.3 A tartalékfehérjék mennyiségének meghatározása

6.3.1 SE-HPLC

A kiválasztott 21 Bánkúti 1201 törzsben SE-HPLC-vel mértük az összfehérje extraktum relatív glutenin, gliadin és albumin + globulin tartalmát. Az egyes tartalékfehérje frakciók mennyiségei viszonylag széles tartományban változtak. A kapott átlageredményeket a 11. táblázat tartalmazza, az egyes törzsek részletes mérési eredményei a Függelék V. táblázatában találhatóak. Az összfehérje relatív glutenintartalma 34,2 % és 41,45 % között változott. Ezekhez az értékekhez képest a törzsekben viszonylag magas relatív gliadin mennyiségek voltak mérhetőek (47,35 % - 55,54 %), a minták átlagos gliadintartalma 52,74 % volt. A törzsek közel 62 %-ában mértünk ennél az átlagos értéknél magasabb relatív gliadin tartalmat. A számított glutenin - gliadin arány értékei a törzsekben 0,62 és 0,88 között változtak. Az oldhatatlan polimer fehérje frakció relatív mennyiségét (UPP%) az oldhatatlan fehérje frakcióban mért polimer frakció és az összfehérje frakcióban mért polimer frakció arányaként határoztuk meg. Ennek értékei 35,81 % és 62,14 % között változtak, az átlagos érték 48,39 % volt. 9 törzs esetében a számított UPP% értékek meghaladták az átlagot, három törzs 58 % feletti UPP% tartalommal rendelkezik.

11. táblázat A mért fehérje frakciók mért és számított értékei a vizsgált Bánkúti 1201 törzsekben

SE-HPLC									
	Fehérje %	Glutenin %	Gliadin %	Alb.+ Glob. %	Glu/Gli	UPP %			
Minimum	11,70	34,20	47,35	9,34	0,62	35,81			
Maximum	15,20	41,45	55,54	12,69	0,88	62,14			
Átlag	14,20	36,83	52,74	10,43	0,70	48,39			
Szórás	0,78	2,09	2,45	0,77	0,07	6,46			
RP-HPLC									
	HMW %	LMW %	HMW/LMW	Ax	Bx	Dx	By	Dy	x/y
Minimum	31,45	53,67	0,46	10,49	30,95	13,70	6,37	8,85	2,54
Maximum	46,33	68,55	0,86	18,82	52,32	25,16	13,42	15,09	5,57
Átlag	37,54	62,46	0,61	15,51	39,45	20,81	11,15	13,08	3,22
Szórás	3,13	3,13	0,09	2,48	7,35	2,99	1,87	1,79	0,73

6.3.2 RP-HPLC

A HMW- és LMW-glutenin alegységek relatív mennyiségét, valamint az egyes HMW-glutenin alegységek százalékos megoszlását a glutenin polimer redukálása és alkilezése után RP-HPLC technikával határoztuk meg. A törzsek átlagos adatait a 11. táblázat, a részletes adatokat a Függelék V. táblázata tartalmazza. A törzsekben mért relatív HMW-glutenin mennyiség átlagosan 37,54 % volt, maximális értéként 46,33 % mértünk, 10 törzs esetében

kaptunk az átlagértéknél magasabb HMW% értékeket. Az LMW-gluteninek mennyisége 53,67 % és 68,55 % között változott, az ezekből az értékekből számított HMW – LMW arány átlagosan kb. 2/3. A HMW-glutenin frakción belül meghatároztuk minden egyes HMW-glutenin alegység relatív mennyiségét is. Kiemelkedően magas értékeket kaptunk a Bx alegységek relatív mennyisége esetén, itt az értékek 30,95 % és 52,32 % között változtak, 45 % feletti értékeket 7 törzsnél kaptunk. A magas Bx mennyiségeknek köszönhetően az x/y aránya is magasabb, a számított értékek 2,54 és 5,57 között változtak.

6.3.3 A tartalékfehérjék allélosztételének összefüggései a fehérjefrakciók mennyiségeivel

Az egyes tartalékfehérje lokuszok és a mennyiségi paraméterek közötti összefüggéseket Rank-korrelációval vizsgáltuk, az eredményeket a 12. táblázat tartalmazza. Az SDS-PAGE eredmények alapján a Glu-D1 lokuszon valamennyi vizsgált törzs **2+12** alléllal rendelkezett, ennek megfelelően a Glu-D1 lokusz variabilitásának hiánya miatt felerősödtek a többi lokusz hatásai. A HMW-glutenin alegységek közül a B kromoszómán kódolt allélek voltak szignifikáns hatással az oldhatatlan polimer frakció (UPP%) mennyiségére. A gliadintartalom a Glu-A3 és a Gli-A1 lokuszok összetételével mutatott erősen szignifikáns összefüggést.

A különböző allélosztételek jelenlétének az egyes fehérje frakciók mennyiségére gyakorolt hatását Post Hoc teszttel vizsgáltuk. Ennek részletes eredményeit a Függelék VI-VIII. táblázata tartalmazza.

12. táblázat Az SE-HPLC-vel mért tartalékfehérje frakciók mennyiségei és az allélosztételek közötti Rank-korrelációs koefficiensek abszolút értékei

Lokusz	Glu%	Gli%	Glu/Gli	Alb+Glob	UPP%
Glu-A1	0,31*	0,20	0,21	0,02	0,06
Glu-B1	0,21	0,32*	0,29	0,47**	0,65***
Glu-A3	0,51***	0,55***	0,60***	0,41**	0,39**
Glu-B3	0,06	0,26	0,20	0,45**	0,40**
Glu-D3	0,21	0,07	0,08	0,37*	0,22
Gli-A1	0,59***	0,65***	0,69***	0,46**	0,23
Gli-B1	0,28	0,28	0,26	0,26	0,32*
Gli-D1	0,06	0,10	0,02	0,22	0,31*

A *-k a p = 5 %-os (*), 1 %-os (**) ill. 0,1 %-os (***) valószínűségi szinten szignifikáns korrelációs koefficienseket jelölik.

Ha pl. az UPP% tartalmat az egyes tartalékfehérje típusoknak megfelelően allélosztételek függvényében ábrázoljuk, akkor a HMW-glutenin összetétel szempontjából a Glu-B1 lokuszon **7+8** alléllal rendelkező törzseknél mértünk szignifikánsan magasabb glutenin és UPP tartalmat (12. ábra). A Bánkúti 1201-re jellemzőbb **7+9** allélosztételeknél szignifikáns

különbséget találtunk a csoportok között attól függően, hogy melyik Glu-A1 allélt tartalmazták, a legnagyobb értékeket a 2*^B allél jelenléte esetén mértük.

Az LMW-glutenin és gliadin allélösszetétel esetén a fajtára jellemző **f-i-c** (Glu-3) ill. **m-m-a** (Gli-1) allélösszetételek jelenléte a gliadin tartalom növekedését eredményezte. Az UPP és glutenin tartalom pedig a Bánkúti 1201 búzafajtára kevésbé jellemző **a-b-c** (Glu-3) ill. **a-b-g** (Gli-1) kombinációknál volt a legnagyobb.

12. ábra A különböző tartalékfehérje allélösszetételek hatása az oldhatatlan polimer frakció (UPP%) mennyiségére



Az ábrán a különböző HMW-glutenin, LMW-glutenin ill. Gli-1 gliadin allél kombinációknak az UPP tartalomra gyakorolt hatása látható. Az egyes kombinációk közötti legkisebb szignifikáns differenciát (SzD_{5%}) méretarányosan jelöltük.

Az összes glutenin mennyiségén belül a relatív HMW- és LMW-glutenin tartalom a Glu-1 lokuszokkal nem mutatott összefüggést. Az LMW-gluteninek és az ezzel szorosan kapcsolt Gli-1 gliadinok közül az A kromoszóma alléljei mutattak szoros összefüggéseket az egyes glutenin frakciók relatív mennyiségeivel (13. táblázat). Az egyes HMW-glutenin alegységek mennyiségével a Glu-B1 lokusz alléljei mutattak erősen szignifikáns szoros összefüggéseket.

13. táblázat Az RP-HPLC-vel mért tartalékfehérje frakciók mennyiségei és az allélösszetételek közötti Rank korrelációs koefficiensek relatív értékei

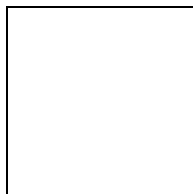
	HMW%	LMW%	HMW/LMW	Ax%	Bx%	Dx%	By%	Dy%	x / y
Glu-A1	0,07	0,07	0,07	0,21	0,01	0,07	0,01	0,02	0,01
Glu-B1	0,06	0,06	0,06	0,49**	0,78***	0,81***	0,66***	0,75***	0,76***
Glu-A3	0,39**	0,39**	0,39**	0,30	0,03	0,08	0,02	0,06	0,07
Glu-B3	0,02	0,02	0,01	0,03	0,06	0,05	0,16	0,16	0,06
Glu-D3	0,18	0,18	0,18	0,26	0,22	0,15	0,33*	0,15	0,27
Gli-A1	0,52***	0,52***	0,51**	0,40**	0,01	0,06	0,04	0,11	0,09
Gli-B1	0,19	0,19	0,18	0,28	0,28	0,06	0,09	0,34*	0,24
Gli-D1	0,18	0,18	0,17	0,10	0,12	0,23	0,30	0,08	0,17

A *-k a p = 5 %-os (*), 1 %-os (**) ill. 0,1 %-os (***) valószínűségi szinten szignifikáns korrelációs koefficienseket jelölik.

A különböző HMW-glutenin alegységek relatív mennyiségét a HMW-glutenin allélösszetétel szempontjából vizsgálva ezeknél a mennyiségi paramétereknél is elsődlegesen az a meghatározó, hogy a Glu-B1 lokuszon **7+8** vagy **7+9** allél található-e (13. ábra és Függelék IX. táblázat). A **7+8** allél jelenléte szignifikánsan növeli a Bx alegység relatív mennyiségét, azaz szignifikánsan nagyobb mennyiségben expresszálódik a Bx típusú alegység, ha mellette By8 alegység található. A többi alegység mennyisége és az allélösszetételek között hasonlóan

egyértelmű összefüggések nem vonhatóak le. Az RP-HPLC-vel mért fehérje frakciók mennyiségei és az LMW-glutenin valamint a gliadin allélösszetételek közötti összefüggések a Függelék X. és XI. táblázataiban találhatóak.

13. ábra A különböző HMW-glutenin allél összetételű csoportok HMW-glutenin alegységeinek mennyisége



6.3.4 Értékelés

A tartalékfehérje összetétel mellett az egyes tartalékfehérje frakciók ill. alegységek mennyisége ugyancsak fontos szerepet játszik a technológiai tulajdonságok kialakulásában. Az irodalmi összefoglalóban leírtak szerint a siker tulajdonságok kialakulásában különösen fontos szerepet játszik a nagyon nagy méretű oldhatatlan polimer frakció mennyisége, illetve a gluteninek és gliadinok relatív mennyisége. Ismert, hogy a gliadinok mennyisége elsősorban a nyújthatósági paraméterekre, míg a glutenin és oldhatatlan polimer frakció a tészta erősségével és rugalmasságával hozható összefüggésbe. A Bánkúti 1201 a múlt század első felében főként arról volt ismert, hogy belőle nagy térfogatú kenyér, ill. kitűnően nyújtható rétestészta készíthető. Ezek a tulajdonságok és a speciális tartalékfehérje összetétel feltételezte, hogy a tartalékfehérje frakciók mennyisége és arányaik is hozzájárulnak a fajta minőségének kialakulásához.

Az egyes tartalékfehérje frakciók mennyiségét vizsgálva a Bánkúti 1201 búzafajta néhány sajátos tulajdonsággal jellemezhető. A tartalékfehérje allélösszetételhez hasonlóan az egyes frakciók mennyiségét tekintve is heterogén a fajta.

A Bánkúti 1201 fajta az irodalmi átlagnak megfelelő glutenin mennyiségek mellett, az átlagosnál magasabb gliadin mennyiségekkel rendelkezik, melyek viszonylag alacsony glutenin/gliadin értékeket eredményeztek (átlag 0,7). Az oldhatatlan polimer fehérje frakció (UPP%) mennyisége átlagosnak, más **2+12** alléllal rendelkező fajtákénál magasabb (Ciaffi és mtsai., 1996, Larroque és mtsai., 1999, Gupta és MacRitchie, 1994). Az egyes HMW-glutenin alegységek relatív mennyiségét tekintve a Bánkúti 1201 más fajtákénál nagyobb mennyiségű Bx alegységet tartalmaz.

Az átlagos adatok mellett kiemelendő a fajtában megnyilvánuló nagy heterogenitás. A 21 törzsből mért adatok erősen szórnak, tulajdonságaikat tekintve a törzsek két nagyobb csoportba oszthatóak. A törzsek egy része viszonylag magas, a fajtára jellemző glutenin -

gliadin aránynál magasabb Glu/Gli értékekkel jellemezhetők. Az e csoportba tartozó törzsek száma a vizsgált mintaszám kb. egyharmada. Ugyanezek a törzsek magasabb UPP% értékekkel jellemezhetőek, a számított adatok három törzs esetében magasabbak, mint az extra erős siker minőségéről ismert Glenlea esetében. Larroque és Butow személyes közlései (2001) alapján a Glenlea 57,8 %-os UPP tartalommal és 0,82 Glu/Gli aránnyal jellemezhető. A vizsgált Bánkúti 1201 törzsek közül a B96 törzsnél a számított érték 62,14%. A HMW-glutenin alegységek mennyisége törzsenként vizsgálva szintén nagyon változó. A már többször említett Glenlea fajta irodalmi adatok alapján ismert arról, hogy a Bx típusú HMW-glutenin alegység az átlagosnál nagyobb mennyiségben expresszálódik. A Glenlea esetében mért Bx% = 48,07% (Larroque és Butow szem. közlések, 2001). Ezzel az értékkel összevetve a Lelley és mstai. által (1996) német búzafajtákban mért értékek a Bx alegységre vonatkozóan kb. 30-35% közöttiek. A Bánkúti 1201 törzseinél a Bx% minimális értéke 30,95 %, így a törzsek a más fajtáknál nagyobb mennyiségben expresszálják a Bx alegységet. Ezek az értékek 7 törzs esetében megközelítik, ill. meghaladják a Glenlea-ben képződő Bx alegység mennyiségét. A többi HMW-glutenin alegység mennyisége a más fajtákkal összevetve átlagosnak mondható, a Dx alegység mennyisége alacsonyabb, mint a német fajtákban mért Dx mennyiségek és valamivel alacsonyabb a Glenlea hasonló típusú alegységének mennyiségénél, ugyanakkor az Ax % átlagos értéke közel 4,5 %-kal magasabb a Bánkúti 1201 esetében.

A fajtában előforduló tartalékfehérje összetételeket figyelembe véve mind a magasabb glutenin%, mind a nagyobb UPP% és Bx% értékek azokban a törzsekben figyelhetőek meg, ahol a Glu-B1 lokuszon **7+8** allél fordult elő. Az irodalmi adatok alapján a polimer és az oldhatatlan polimer tartalomra a három HMW-glutenin lokusz közül a Glu-D1 lokusznak van a legnagyobb hatása, a két leggyakoribb allél közül magasabb az említett fehérjefrakciók mennyisége, ha a genotípus **5+10** alléllal rendelkezik és általában a **2+12** allél jelenléte negatív hatással van a mennyiségi paraméterekre (ld. 1.6 fejezet). A Bánkúti 1201 vizsgált törzseiben csak **2+12** allélt azonosítottuk, ezért a Glu-D1 lokusznak a mennyiségi paraméterekre gyakorolt hatását nem tudtuk megállapítani. Ennek megfelelően felerősödött a másik két lokusz, elsődlegesen a Glu-B1 hatása. A Glu-B1 **7+8** allél pozitív hatása a glutenin és az oldhatatlan polimer mennyiségére az irodalmi adatoknak (Payne-féle Glu-1 érték) megfelelő.

A gliadin mennyiségére, valamint az LMW-glutenin tartalomra elsődlegesen a Glu-A3 ill. a Gli-A1 lokuszok gyakoroltak nagyobb hatást. Szignifikánsan kisebb gliadin és LMW-glutenin

tartalom volt mérhető annál a néhány, a Bánkúti 1201 fajtára kevésbé jellemző allélösszetételnél, ahol a Glu-A3a és Gli-A1a, vagy a Glu-B3b és Gli-B1b alléleket azonosítottuk. Ezek a megfigyelések is alátámasztják a Glu-3 és Gli-1 lokuszok szoros kapcsoltságát. A Bánkúti 1201 fajtára elsődlegesen jellemző **f-i-c** LMW-glutenin valamint **m-m-a** Gli-1 allélkombinációkkal rendelkező törzsek esetében általában a magasabb monomer és kisebb polimertartalom volt jellemző.

Ha a HMW-, LMW-glutenin és a gliadin allélek hatását együtt vesszük figyelembe, akkor azonos Glu-3 és Gli-1 allélösszetétel mellett a Glu-B1 lokusz eltérő alléljei gyakorolják a legnagyobb hatást a különböző fehérje frakciók mennyiségére.

6.4 A Bánkúti 1201 sütőipari technológiai vizsgálata

6.4.1 A Bánkúti 1201 sikér tulajdonságainak jellemzése a magyar szabványok alapján

A minőségi vizsgálatokat az 1995-96-os évek terméseiből végeztük el. A rendelkezésre álló kisebb mintamennyiség következtében a fajtát elsődleges a sikér mennyiségi és minőségi tulajdonságaival jellemeztük. A mért technológiai paraméterek jellemző adatait a két év átlagában a 14. táblázat tartalmazza. A törzsekre vonatkozó részletes eredményeket a Függelék I. táblázata mutatja be.

A vizsgált 52 törzs átlagos fehérje tartalma nagyon magas, 17,24 % volt, az értékek 15,10 % és 18,55 % között változtak, a törzsek több mint 88 %-a esetében az értékek meghaladták a 16 %-t. Ehhez a magas fehérje tartalomhoz magas nedves sikér tartalom is társul, az átlagos sikér tartalom 46,27 % volt és csak 2 törzs esetében mértünk 40 % alatti értékeket. A sikér minőségére jellemző paraméterek, mint pl. a szedimentációs érték vagy a gluténindex ugyancsak magas értékek. A szedimentációs értékek 66,5 és 101 közöttiek, az 52 törzs átlagos értéke 78,77 volt. A gluténindex ugyancsak magas, átlagosan 72,11 volt. A minták 75 %-a esetében a gluténindex meghaladta a 60-t, közel 20 %-uknál ezek az értékek 90 feletti értékűek voltak. A korábbi eredmények alapján a régi magyar fajtákra magas sikér terülés értékek jellemzőek. A vizsgálataink során mért értékek törzsenként meglehetősen tág határok között változtak, a terülés az 52 törzs átlagában 7 mm/h volt, de 12 mm/h értéket is mértünk. A populáció vizsgált törzseinek kb. 17 %-ra volt jellemző a 4mm/óra alatti érték.

14. táblázat Az 1995-96-ban aratott Bánkúti 1201 törzsek átlagos sikérminőség adatai

	N	Átlag	Minimum	Maximum	Szórás
SDS-szedimentáció	52	78,77	66,50	101,00	7,10
Fehérje tartalom%	52	17,24	15,10	18,55	0,63
Nedves sikér %	52	46,27	36,80	51,65	3,17
Sikér terülés mm/h	52	7,00	1,75	12,00	2,28
Gluténindex	52	72,11	33,65	99,2	16,47

6.4.2 A Bánkúti 1201 törzseinek reológiai jellemzése mikrotesztekkel

A Bánkúti 1201 törzseinek reológiai tulajdonságainak jellemzésére 2 g-os Mixográfot és Micro Extension Testert használtunk, a próbasütést 2,4 g tésztaból készült mikrocipókkal modelleztük. A vizsgálatokat azokon a HPLC-s vizsgálatokba bevont 21 Bánkúti 1201 törzsön végeztük, melyek tartalékfehérje összetételük alapján jól reprezentálják a populációt.

A 2g Mixográffal és a Micro Extension Testerrel rögzített paramétereket az 3.5 fejezet 3.a és 4. ábrái szemléltetik.

A vizsgált törzsek reológiai tulajdonságait a Függelék XII. táblázatában foglaltuk össze. Az egyes paraméterek jellemzőbb értékeit a 15. táblázat tartalmazza. A mért dagasztási idők (MT) 103 és 423,5 s között változtak, az átlagos érték 213,55 s volt. A törzsek több mint 28%-nál a mért MT értékek meghaladták a 250 s-t, és 2 törzs volt jellemezhető 300 s feletti dagasztási idővel. A dagasztással szembeni ellenállás értékei (PR) 356 és 506 MU között változtak, az átlagos ellenállás 410,82 MU volt, ami az irodalmi adatokhoz viszonyítva átlagosnak mondható érték. A törzsek téztastabilitása meglehetősen széles tartományban változott (2-35 MU). Ennél a paraméternél az alacsony értékek utalnak stabil, a túldagasztásnak ellenálló téztaszervezetre. A 21 törzs 85,7 %-a 10-25 MU RBD értékkel jellemezhető és összesen két törzs esetében mértünk 10 MU érték alatti RBD értéket.

A fajta az elvégzett extenzográfus adatok alapján jó nyújthatósággal rendelkezik, a mért nyújthatósági értékek (Ext) meglehetősen szórnak, a minimális érték 613,25 mm a maximális érték 1355 mm volt. A törzsek több mint fele 1000 mm feletti nyújthatósággal jellemezhető és 14 % esetében ez az érték meghaladja az 1200 mm-t. A nyújtással szemben mutatott ellenállás (Rmax) értékei ugyancsak széles tartományban változnak, meglehetősen nagy szórással. A minimális és maximális érték közötti különbség megközelíti a 800 AU-t, ami ugyancsak a törzsekben meglehetősen nagy heterogenitásra utal.

Egy búzafajta minőségéről legpontosabb információt a belőle készített próbapipó paraméterei nyújtják. A 2g-os Mixográffal dagasztott tésztákból gyűszűméretben készített cipók csak közelítően modellezik a kenyér minőségét, de az így készült cipók magassága jó összefüggéseket mutat a standard módszerek alapján készített kenyértérfogattal. A Bánkúti 1201 esetében ilyen módon meghatározott kenyérmagasságok átlagos ill. magas kenyértérfogatra utalnak, a mért magassági értékek 31,05 és 36,92 mm között változnak. 1 törzset leszámítva valamennyi vizsgált törzs cipómagassága meghaladja az irodalmi átlagnak megfelelő 32 mm-t és a törzsek egyharmada esetében ezek az értékek meglehetősen magasak, 35 mm feletti.

A magyar szabvány alapján elvégzett siker minőségvizsgálati módszerek és a mikrotesztek közötti összefüggéseket a 16. táblázatban bemutatott korrelációs értékek jellemzik. Ezek alapján megállapítható, hogy a fehérjetartalom nincs szignifikáns összefüggésben egyik reológiai paraméterrel sem.

A másik mennyiségi tényező a sikértartalom a tészta erősséggel kapcsolatos paraméterekkel, mint pl. a dagasztási idő (MT) vagy a TMBW szoros és erősen szignifikáns negatív összefüggésben áll, amiből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a tészta erősségének kialakulásában nem annyira a siker mennyisége, hanem sokkal inkább a minősége játszik szerepet (ld. SDS vs. MT $r = 0,86^{***}$).

15. táblázat Az 1999-ben aratott Bánkúti 1201 törzsek átlagos reológiai paraméterei

<i>N = 21</i>	Minimum	Maximum	Átlag	Szórás
MT (s)	103,00	423,50	213,55	71,93
PR (MU)	356,00	506,00	410,82	38,67
BWPR (MU)	205,00	285,50	238,10	20,45
RBD (MU)	2,00	35,00	18,88	6,35
BWBD (MU)	2,00	59,00	32,69	11,96
TMBW (s)	68,00	271,75	136,51	45,82
MBW (MU)	269,00	379,00	314,26	33,93
EXT (mm)	613,25	1355,00	991,37	211,83
Rmax (AU)	197,00	979,00	490,51	212,98
Cipóm. (mm)	31,05	36,92	34,21	1,37

Ugyanakkor a tészta stabilitásának valamint nyújthatóságának kialakulásában a siker mennyiség és a minőség egyaránt szerepet játszik, a mennyiségi adatok inkább pozitív összefüggéseket mutatnak, a minőségiek pedig negatív korrelációban állnak a nyújthatósággal kapcsolatos paraméterekkel.

16. táblázat A magyar sikérvizsgálati módszerek és a mikromódszerekkel mért reológiai tulajdonságok közötti összefüggések Pearson korrelációs koefficiensei

Sikér mennyiség		Tészta erősség				Stabilitás	Nyújthatóság				Cipóm.
		MT	PR	TMBW	Rmax	RBD	BWPR	BWBD	MBW	EXT	
Sikér mennyiség	Fehérje	-0,02	0,43	-0,10	0,05	0,11	0,38	0,06	0,41	0,05	0,31
	Sikér	-0,70***	-0,03	-0,71***	-0,60**	0,68***	-0,12	0,63**	-0,09	0,56**	-0,36
Sikér minőség	SDS	0,86***	0,17	0,84***	0,70***	-0,70***	0,41	-0,70***	0,40	-0,72***	0,72***
	GI	0,90***	0,18	0,87***	0,77***	-0,77***	0,32	-0,79***	0,35	-0,69***	0,72***
	Sikter	-0,91***	-0,20	-0,88***	-0,76***	0,80***	-0,25	0,80***	-0,27	0,71***	-0,65**

6.4.3 Értékelés

A búzafajták kenyérminőségét meghatározó módszerek alapvetően két típusba sorolhatóak. Az úgynevezett közvetett módszerek valamilyen, a tészta minőségével szoros összefüggésben álló fizikai tulajdonságot határoznak meg (pl. az ülepedési képesség – szedimentációs érték), míg az ún. közvetlen módszerek a tészta reológiai tulajdonságairól (erősség, stabilitás, nyújthatóság) adnak információt. A magyar búzaszabványban kiemelkedő jelentőséggel bírnak a siker mennyiségi és minőségi tulajdonságai és ugyancsak lényeges a reológiai paraméterek farinográfus meghatározása. A kalászutódsorokban fenntartott Bánkúti 1201

populációból nem állt rendelkezésünkre a szabvány szerinti reológiai vizsgálatokhoz és a próbasütéshez szükséges mennyiségű minta, ezért a magyar búzaszabvány (MSZ 6383:1998) alapján a fehérjetartalom és a sikérmennyiség meghatározását ill. néhány a siker minőségére utaló paraméter meghatározását végeztük el. Ezek a mért paraméterek is igazolták a fajtára jellemző, az irodalmi adatokból jól ismert magas fehérje- és sikértartalmat valamint a magas SDS és GI értékekben jelentkező jó siker minőséget. Az elsődlegesen a siker minőségi paramétereknél tapasztalt nagy szórás értékek a funkcionális tulajdonságokon keresztül is a fajta heterogenitására utalnak. A búzaszabványban előírt határértékek alapján a Bánkúti 1201 valamennyi vizsgált törzse nedvessikér és fehérjetartalma alapján a javítóbúza kategóriába sorolható (Határértékek: nedvessikér % = 34 %, Fehérje % = 12,5 %), a sikerterülés értékei egyes törzseknél a javítóbúza kategóriának (2-5 mm/h), a törzsek nagyobb részében a malmi kategóriának (3-8 mm/h) megfelelőek. A szabványban előírt Zeleny-szedimentációs érték helyett SDS-szedimentációs értéket mértünk. A magas SDS értékek ugyancsak a fajta nagyon jó minőségére utalnak.

A magyar vizsgálatokhoz hasonlóan a mikrotesztekkel végzett eredmények is nagy variabilitást tükröztek a törzsek között. Irodalmi adatok alapján a 210 s feletti dagasztási idő erős tészta tulajdonságokra utal, 330 s felett pedig nagyon erős a tészta (Finney és Shogren, 1972). Ezeket a határértékeket figyelembe véve a vizsgált törzsek 57,1 %-a közepesen erős, 38 %-a erős és 4,76 %-a nagyon erős tészta tulajdonságokkal rendelkezik, de nem éri el a Glenlea 540-600 s-os kiemelkedően magas dagasztási idő értékét. A vizsgált törzsek tulajdonságai alapján a Bánkúti 1201 populáció átlagos, ill. magas MT értékekkel és ugyanakkor nagy nyújthatósággal jellemezhető. A többi régi magyar fajtához hasonlóan a vizsgált Bánkúti 1201 törzsek meglehetősen magas siker területi értékekkel rendelkeznek (Kárpáti és mtsai., 1995). A siker terület a nyújthatósággal mutatott szoros összefüggést. A két paraméter közötti fontos különbség azonban az, hogy míg a nyújthatóság (Ext) értéke a tészta erőhatás ellenében történő nyúlásáról ad információt, addig a siker terület erőhatások nélküli, a proteáz aktivitás következtében bekövetkező szerkezetváltozás.

A mért paraméterek korrelációs analízise alapján az irodalmi adatoknak megfelelően a siker mennyisége elsődlegesen a nyújthatósággal kapcsolatos paraméterekkel korrelál pozitívan, míg a siker minőségéről jellemzést adó paraméterek, mint az SDS-szedimentációs érték vagy a GI a tészta erősségével állnak szoros, pozitív összefüggésben.

6.5 Összefüggések a Bánkúti 1201 tartalékfehérje összetétele és funkcionális tulajdonságai között

6.5.1 Összefüggések az alléloszétételekkel

HMW-glutenin alléloszététel

A HMW-glutenin lokuszok siker tulajdonságokra és a reológiai tulajdonságokra gyakorolt hatását először Rank korrelációval ellenőriztük (17-18. táblázat). A Glu-D1 lokuszon a vizsgált 52 törzsből összesen 2 törzs esetében azonosítottunk 5+10 allélt, ezért a kis variabilitás következtében a Glu-D1 lokusz hatásai a többi lokusz hatásához képest háttérbe szorulnak. A Glu-B1 lokusz erős szignifikáns összefüggésben áll mind a siker mennyiségi, mind a siker minőségi paraméterekkel. Ugyancsak szignifikáns összefüggéseket mutattunk ki a Glu-B1 lokusz és a mixográfus ill. a nyújthatósági paraméterek között. A vizsgált összesen 15 paraméter közül kiválasztottunk néhányat, melyek a különböző technológiai tulajdonságokra, így pl. siker mennyiségre (fehérje-, sikértartalom), siker minőségre (SDS-szedimentáció, siker terület, gluténindex) tézta erősségre (MT, Rmax), stabilitásra (RBD) és a nyújthatóságra (Ext) jellemzőek. Az egyes tartalékfehérje típusok, továbbá az egyes lokuszok ill. allélek hatását ezeken a paramétereken tanulmányoztuk.

17. táblázat Összefüggések a magyar standard szerinti minőségi tulajdonságok és a tartalékfehérje csoportok ill. lokuszok között (Rank-korrelációs koefficiensek abszolút értékei)

N=104	Fehérje %	Siker %	SDS – szedim. ml	Siker terület mm/h	GI
Glu-A1	0,11	0,06	0,08	0,12	0,17
Glu-B1	0,10	0,33***	0,19	0,44***	0,44***
Glu-D1	0,17	0,02	0,03	0,003	0,16
Glu-A3	0,03	0,20*	0,11	0,22*	0,21*
Glu-B3	0,01	0,20*	0,06	0,30	0,25**
Glu-D3	0,07	0,16	0,08	0,19	0,08
Gli-A1	0,07	0,26**	0,14	0,33***	0,33***
Gli-B1	0,12	0,21*	0,01	0,23*	0,21*
Gli-D1	0,15	0,24*	0,03	0,25*	0,23*

A tartalékfehérje lokuszokon tapasztalt nagy heterogenitás miatt varianciánálízissal csak a főhatásokat tudtuk vizsgálni. A különböző technológiai tulajdonságokra gyakorolt hatások mértékét a varianciánálízis F értékeinek összehasonlításával állapítottuk meg (19. táblázat). Mind a sikértartalomra, mind a sikerterületre és a gluténindexre a HMW-glutenin alléloszétételnek van a legnagyobb hatása. A siker tartalom esetében az F értékek alapján a HMW-glutenin alegység összetétel hatása közel tízszerese az LMW-glutenin alegység összetételnek és közel négyszerese a gliadin alléloszétételnek.

18. táblázat A reológiai tulajdonságok és a tartalékfehérje lokuszok és csoportok közötti összefüggések (Rank korrelációs koeficiens abszolút értékei)

N =42	MT (s)	PR (MU)	BWPR (MU)	RBD (MU)	BWBD (MU)	TMBW (s)	MBW (MU)	Ext (mm)	Rmax (AU)	LH (mm)
Glu-A1	0,31*	0,02	0,06	0,20	0,28	0,37*	0,17	0,12	0,24	0,10
Glu-B1	0,47**	0,45**	0,42**	0,22	0,23	0,44**	0,39*	0,34*	0,39*	0,11
Glu-A3	0,25	0,001	0,21	0,17	0,08	0,19	0,10	0,63***	0,23	0,14
Glu-B3	0,51***	0,07	0,07	0,51***	0,48**	0,46**	0,03	0,33*	0,45**	0,27
Glu-D3	0,33*	0,11	0,23	0,36*	0,28	0,26	0,19	0,17	0,29	0,19
Gli-A1	0,41**	0,14	0,24	0,25	0,24	0,33*	0,24	0,63***	0,40**	0,17
Gli-B1	0,37*	0,10	0,12	0,34*	0,37*	0,37*	0,14	0,29	0,33*	0,18
Gli-D1	0,47**	0,16	0,09	0,43**	0,41**	0,37*	0,15	0,24	0,49***	0,22

Még jelentősebbek ezek a különbségek a sikerterülés esetében, ahol a HMW-glutenin alegységösszetétel kb.17-szer jelentősebb, mint az LMW-glutenin összetétel. A siker minőséggel összefüggésben álló gluténindex esetében az LMW-glutenin alegység- és a gliadin allélösszetétel hatása közel azonos mértékű és ennél kb 3,5x nagyobb a HMW-glutenin allél összetétel hatása. Az LMW-glutenin összetételnek a reológiai paraméterekre gyakorolt hatását vizsgálva az LMW-glutenin típusok varianciái egymáshoz képest nem mutatnak szignifikáns eltérést, így hatásuk nem értékelhető.

19. táblázat A tartalékfehérje típusok fő hatásai a funkcionális tulajdonságokra (Anova F értékek)

Hatás	Siker %	Siker ter. mm/h	Gluténindex	MT	RBD	Ext	Rmax
				N = 104			N =42
HMW-glut. összetétel	4,47***	6,90***	8,44***	23,22***	18,83** *	7,09***	3,43*
LMW-glut. összetétel	0,45	0,41	2,25				
Gli-1 összetétel	1,15	2,19	2,52*	7,43*	1,08	0,17	16,34***

20. táblázat Néhány fontosabb sikértulajdonság kialakulásában szerepet játszó lokusz hatása a funkcionális tulajdonságokra (Anova F értékek)

Hatás	Siker %	Siker ter. mm/h	GI	MT	RBD	Ext	Rmax
				N = 104			N =42
Glu-A1	1,21	2,11	0,63	9,77***	21,68***	4,65*	0,17
Glu-B1	9,70***	11,48***	15,53***	21,69***	0,40	4,77*	7,44*
Glu-D1	1,38	3,39	14,62***				
Glu-A3	0,62	0,35	0,02	0,07	13,52***	1,35	3,18
Glu-D3	6,80*	6,75*	1,04				
Gli-A1	0,75	1,19	0,70	0,67	15,62***	0,13	10,11**
Gli-D1	1,34	0,92	0,80	2,69	17,64***	0,43	0,59

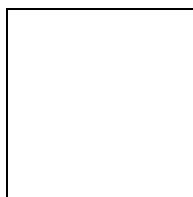
Az egyes lokuszokra vonatkozó eredményeket a 20. táblázat tartalmazza. A sikérvizsgálatoknál a Glu-B3 és Gli-B1, a reológiai vizsgálatoknál a Glu-D1, Glu-B3, Glu-D3

és Gli-B1 lokuszok varianciája nulla, ezek hatása statisztikailag ugyancsak értékelhetetlen. Mivel a kapott eredmények a kis mintaszám miatt nem objektívek, ezért a lokuszok és ezen belül az egyes allélek hatását Post Hoc teszttel vizsgáltuk (21. táblázat). Mint az a 21. táblázatból megállapítható csak a Glu-B1 lokusz esetében tapasztalhatóak szignifikáns eltérések a sikér tartalomban, a **7+9** allél jelenléte szignifikánsan nagyobb sikértartalommal társult. A gluténindex esetében mindhárom lokusz allélösszetételében szignifikáns különbségek figyelhetők meg. Ezek alapján a **2*^B**, a **7+8** és az irodalmi adatokkal ellentétben a **2+12** allélek társultak nagyobb gluténindex értékekkel.

A reológiai paraméterek esetében a Glu-D1 lokuszon tapasztalt homogenitás miatt csak az A és B kromoszómán kódolt allélek hatását vizsgáltuk. A Glu-A1 lokuszon belül szignifikánsak voltak az eltérések mind a MT, mind az RBD esetében, ugyanakkor az egyes allélek nem okoztak egyértelmű különbséget a nyújthatósági paraméterekben. A Glu-B1 lokusz esetében a **7+8** allél szignifikánsan nagyobb dagasztási idővel (MT) és nyújtással szembeni maximális extenzográfus ellenállás (Rmax) értékekkel társult, melyek erősebb téztszerkezetre utalnak. A tézstabilitási értékei is a **7+8** allél esetében voltak magasabbak.

A törzseket HMW-glutenin allélösszetétel szempontjából csoportosítva megállapítható, hogy az 1B kromoszómán **7+9** alléllal rendelkező csoportok általában magasabb sikértartalommal jellemezhetőek (14. ábra és 22. táblázat). A magasabb sikér tartalom a fajtára jellemző HMW-glutenin csoportok többségénél alacsonyabb gluténindex-szel társult, mint pl. ahogy az a **2*^B** **7+9** **2+12** és a **2*^B** **7+8** **2+12** csoportok összehasonlításából megállapítható.

14. ábra A gluténindex a HMW-glutenin allélösszetétel és a sikértartalom függvényében



A Glu-A1 allélektől függetlenül valamennyi csoport esetében a **7+9** allél jelenléte nagyobb nyújthatósággal (Ext) és kisebb ellenállással (Rmax) társult. A **7+8** allélt tartalmazó csoportok esetében megfigyelhető tendencia ezzel ellentétes: a lisztjükből készült tézsták nyújthatósága kisebb és ezzel párhuzamosan a nyújtással szembeni ellenállása nagyobb volt, mint a **7+9** típusok tézstáié. A nagyobb ellenállás az erősebb téztszerkezetre utaló paraméter, amit a **7+8** alléllal rendelkező csoportok nagyobb dagasztási ideje (MT) is bizonyít. A vizsgált törzseknek azonban csupán közel 40%-a rendelkezett a **7+8** alléllal és nagyobb hányaduk **7+9** allélt hordoz az 1B kromoszómán. Ezek az allélarányok részben magyarázhatják a fajtára

egyaránt jellemző magas siker tartalmat és nyújthatóságot, ugyanakkor az erős tézta szerkezetet, de a HMW-glutenin összetétel mellett főként a tézta nyújthatóságában nagy szerepet játszik az LMW-glutenin és gliadin összetétel, valamint a törzsek tartalékfehérje frakcióinak mennyisége is.

21. táblázat A Glu-1 allélek hatása a sikér minőségi és reológiai paraméterekre Post Hoc teszt alapján

A táblázat az egyes allélekhez tartozó átlagadatokat, a legkisebb szignifikáns differencia értékét 5%-os valószínűségi szinten ($SzD_{5\%}$) valamint az ennek megfelelő csoportosítást tartalmazza

Lokusz	Allél	Sikér %		Sikér ter. mm/h		Gluténindex		MT s		RBD MU		Ext mm		Rmax AU	
Glu-A1	1	46,59	A	7,67	A	63,26	A	147,83	A	25,33	B	1050,17	A	446,92	A
	2*	46,97	A	7,60	A	73,06	AB	234,75	B	15,75	A	1088,13	A	534,38	A
	2*B	46,09	A	6,77	A	74,08	B	223,22	B	18,06	A	968,25	A	493,20	A
	$SzD_{5\%}$	2,06		1,41		8,83		30,62		2,80		150,38		139,87	
Glu-B1	6+8	48,10	AB	7,25	AB	75,85	AB	-	-	-	-	-	-	-	-
	7+8	44,46	A	5,48	A	82,77	B	240,5	B	17,63	A	874,81	A	595,53	B
	7+9	47,37	B	7,98	B	65,10	A	196,96	A	19,65	B	1063,09	B	425,88	A
	$SzD_{5\%}$	3,70		2,53		15,81		17,81		1,63		87,44		81,33	
Glu-D1	5+10	46,20	A	7,31	A	59,36	A	-	-	-	-	-	-	-	-
	2+12	46,27	A	6,98	A	73,17	B	213,55		18,88		991,37		490,51	
	$SzD_{5\%}$	2,26		1,55		9,69		-	-	-	-	-	-	-	-
HMW-glut.	1 6+8 5+10	48,10	B	7,25	B	75,85	B	-	-	-	-	-	-	-	-
	1 7+8 5+10	40,55	A	2,75	A	99,20	C	-	-	-	-	-	-	--	-
	1 7+8 2+12	46,20	B	7,31	B	59,36	A	170,25	B	20,50	BC	998,25	A	420,38	A
	1 7+9 2+12	48,63	B	9,92	C	52,28	A	103,00	A	35,00	D	1154,00	BC	500,00	AB
	2* 7+8 2+12	44,45	AB	4,63	AB	94,20	C	315,00	E	9,50	A	821,25	A	752,00	B
	2* 7+9 2+12	48,65	B	9,58	C	58,97	A	154,50	AB	22,00	C	1355,00	C	316,75	A
	2*B 7+8 2+12	44,22	AB	5,25	AB	86,95	BC	253,70	D	18,10	BC	836,15	A	634,30	B
	2*B 7+9 2+12	47,07	B	7,56	B	67,38	AB	209,36	C	18,05	B	1028,29	B	429,07	A
$SzD_{5\%}$	4,09		2,80		17,50		44,55		4,08		218,75		203,45		

A 2*^B alegység hatása a funkcionális tulajdonságokra

A DNS szintű vizsgálatokat követően a Glu-A1 lokuszon előforduló alléleket és a megnyilvánuló HMW-glutenin alléllösszetételeket a 9. táblázatnak megfelelően módosítottuk. Az extra ciszteint tartalmazó mutáns 2*^B HMW-glutenin alegység hatását a különböző technológiai paraméterekre részletesen megvizsgáltuk. A 16-17. táblázatok korrelációs koefficiensei valamint a 19. és 20. táblázatok variancianalízis eredményei alapján a Glu-A1 lokusz összetétele a sikér mennyiségi tulajdonságokkal nem, a reológiai tulajdonságok közül a dagasztási idővel (MT) és a mixográfus TMBW értékkel mutat pozitív összefüggést. Mind a két paraméter a tészta erősségével kapcsolatos. Ha a Glu-A1 lokuszon előforduló allélek hatásában jelentkező különbségeket vizsgáljuk, akkor ezek alapján az egyes allélekhez tartozó értékek szignifikánsan a gluténindex, a MT és az RBD esetében különböztek egymástól (21. táblázat). Mint az előző eredményekből láthattuk a Glu-B1 lokuszon kódolt alléleknek igen erős pozitív hatása van a tészta erősségével kapcsolatos paraméterekre, azaz a Glu-B1 lokusz hatása a kis mintaszám miatt is elfedheti a Glu-A1 lokusz gyengébb hatását. Ezért, hogy a 2*^B allél tényleges hatását vizsgáljuk HMW- és LMW-glutenin alléllösszetétel alapján csoportosítottuk a törzseket, azonos Glu-B1, Glu-D1 és Glu-3 háttérben vizsgáltuk a Glu-A1 allélek hatását 2 minőségi paraméter, a sikér minőségével pozitív összefüggést mutató gluténindex és negatív összefüggésben álló a sikér terület esetében. Ennek a vizsgálatnak az eredménye látható a 22. táblázatban.

22. táblázat 2*^B alegység hatásának vizsgálata a sikértulajdonságokra

Glu-B1+ Glu-D1 + Glu-3 háttér	Glu-A1 allél	Sikérterület mm/h	Gluténindex
7+8 2+12 f-i-c (N = 14)	1	6,50	67,95
	2*	-	-
	2* ^B	5,33	85,35
	SzD _{5%}	3,49	24,91
7+9 2+12 f-i-c (N = 50)	1	-	-
	2*	9,58	58,97
	2* ^B	7,83	65,65
	SzD _{5%}	0,85*	6,8
7+8 2+12 a-i-c (N = 20)	1	12,00	33,65
	2*	5,18	88,33
	2* ^B	4,63	94,20
	SzD _{5%}	3,90*	21,24*
7+9 2+12 a-i-c (N = 10)	1	9,92	52,28
	2*	-	-
	2* ^B	7,53	70,55
	SzD _{5%}	4,60	24,41

A 22. táblázat eredményei alapján szignifikáns különbséget a **7+9 2+12, f-i-c** háttérben találtunk, ahol a **2*^B** allélt tartalmazó csoport sikerterülete kisebb volt, mint a **2*** allélt tartalmazó csoporté. Ugyancsak szignifikáns volt a különbség a **7+8 2+12, a-i-c** háttérben is. A **2*^B** allél szignifikánsan nagyobb gluténindexet és kisebb siker terület értékét eredményezett az **1-es** allélnél, de nem különbözött szignifikánsan a **2*** alléltól.

A reológiai tulajdonságok esetében a kis mintaszám miatt csak azonos HMW-glutenin háttérben vizsgáltuk a Glu-A1 allélek hatását. **7+9 2+12** háttérben nem találtunk szignifikáns különbségeket, de valamennyi a tészta erősségével kapcsolatos paraméter esetében a **2*^B** allél rendelkezett nagyobb értékekkel (23. táblázat). Ugyanakkor a nyújthatóság a **2*^B** csoportban volt a legkisebb, ez is arra utal, hogy a **2*^B** allél kisebb mértékben, de bizonyíthatóan pozitív hatással van a tészta minőségre.

23. táblázat A **2*^B** alegység hatása a reológiai tulajdonságokra **7+9 2+12** háttérben

7+9 2+12 háttérben (N=14)						
Glu-A1 allél	MT	RBD	TMBW	Ext	Rmax	Cipóm.
1	119,75	28,25	81,25	1051,75	348,50	32,26
2*	154,50	22,00	94,00	1355,05	316,75	33,34
2*^B	209,36	18,05	135,61	1028,29	429,07	34,27
SZD _{5%}	166,74	14,82	106,09	432,50	131,86	3,09

Az LMW-glutenin alegység összetétel hatása a technológiai tulajdonságokra

Az LMW-glutenin alléloösszetételt vizsgálva találtunk néhány olyan allélt, melyek a mai magyar és európai fajtákban ritkán fordulnak elő, ennek következtében a technológiai tulajdonságokra gyakorolt hatásuk vizsgálata különösen fontos.

Az LMW-glutenin lokuszok hatását itt is először Rank-korrelációval vizsgáltuk (17-18. táblázat). A sikértulajdonságok közül gyenge, de $p = 5\%$ valószínűségi szinten szignifikáns összefüggéseket találtunk a sikértartalom és a Glu-A3 és Glu-B3 lokuszok között. Ugyanezek a lokuszok gyenge összefüggést mutattak a gluténindex-szel. A reológiai tulajdonságok közül a dagasztási idő közepes mértékű, erősen szignifikáns összefüggést mutatott a Glu-B3 lokusz összetételével és gyenge összefüggést a D kromoszómán kódolt LMW-glutenin alegységekkel. További, a tészta erősségével és stabilitásával kapcsolatos paraméterek (RBD, BWBD, TMBW) a Glu-B3 lokusszal mutattak összefüggést. A nyújthatóság erősen szignifikáns szoros összefüggést mutatott a Glu-A3 lokusszal.

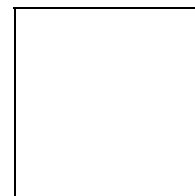
A varianciaanalízist az LMW-glutenin allélekben tapasztalt nagy variabilitás, ugyanakkor viszonylag kevés lehetséges allélkombináció miatt nem tudtuk figyelembe venni, ezért az

egyed Glu-3 lokuszok alléljeinek hatását és az allélek közötti különbségeket Post Hoc teszttel vizsgáltuk (24. táblázat).

A siker mennyiségre a **Glu-B3i** allélnak volt pozitív hatása, ez a hatás valamennyi ezt az allélt tartalmazó LMW-glutenin alegységösszetételű csoportban jelentkezett. A siker területére a **Glu-A3d** és a **Glu-B3b** allélek voltak pozitív hatással és az **a-b-c** és **d-g-a** csoportok voltak szignifikánsan kevésbé terüők. Hasonló eredményeket tapasztaltunk a gluténindexnél.

A reológiai paraméterek esetében a tészta erősségével és stabilitásával kapcsolatos paramétereknél (MT, RBD, Rmax) a **Glu-A3d**, a **Glu-B3b** és a **Glu-D3a** allélek jelenléte eredményezett erősebb tésztát. Ezek az allélek az **a-b-c** és a **d-g-a** LMW-glutenin allél összetételű csoportokban párosultak szignifikánsan nagyobb dagasztási idővel (MT), nyújthatással szembeni ellenállással (Rmax) és kisebb ellágyulással (RBD). Ezzel ellentétben a **Glu-A3f**, a **Glu-B3i** alléleket ill. az **f-i-c** összetételt tartalmazó törzsek lisztjéből készült tészták nyújthatósága szignifikánsan nagyobb volt az **a-b-c** és **d-g-a** összetételt tartalmazó mintákhoz képest (15. ábra).

15. ábra Az LMW-glutenin allél összetétel hatása a tészta erősségével kapcsolatos paraméterekre



Gliadin allélek hatása a technológiai tulajdonságokra

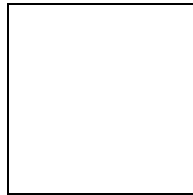
A gliadin allélösszetétel és a technológiai tulajdonságok közötti összefüggéseket itt is Rank-korrelációval ellenőriztük (17-18. táblázat). A korrelációs koefficiensek alapján gyenge, de 5%-os valószínűségi szinten szignifikáns összefüggéseket találtunk mindhárom Gli-1 lokusz és a sikértartalom között és szorosabb összefüggéseket találtunk a sikerterület értékeivel ill. a gluténindex-szel. A reológiai tulajdonságok közül az MT, RBD, BWBD, TMBW értékekkel tapasztaltunk közepes összefüggéseket és erősen szignifikáns szorosabb összefüggéseket találtunk a nyújthatósági paraméterekkel.

Az allélek közötti különbségeket Post Hoc teszttel vizsgáltuk (25. táblázat). Az eredmények alapján a Gli-A1m és Gli-B1m allélek illetve a törzsek között gyakoribb **m-m-a**, **m-m-g** és **a-m-a** allélösszetételek társultak nagyobb sikermennyiségekkel. A sikerterületre pozitív hatással a Gli-A1e, Gli-A1f, Gli-B1b allélek voltak. Ennek megfelelően az **a-b-g** valamint az **f-m-g** és **e-m-g** allélösszetételek társultak kisebb sikerterülettel és a fajtára sokkal inkább jellemző **m-m-a** (59,6 %) és **a-m-a** allélösszetételek esetén nagyobb sikerterület értékeket

mértünk. Ugyanezeknek az allélösszetételeknek jelenléte nagyobb nyújthatósággal társult (16. ábra).

A mixográfus paramétereket vizsgálva a tészta erősségével és stabilitásával kapcsolatos dagasztási időnél (MT) és ellágyulásnál (RBD) szintén a Gli-A1e, Gli-B1b és Gli-D1g allélek ill. az ezeket az alléleket tartalmazó **a-b-g** és **e-m-g** csoportokhoz tartoztak tésztaminóségi értékek.

16. ábra A különböző gliadin allélkombinációk összefüggései a dagasztási idővel (MT) és a nyújthatósággal (Ext)



24. táblázat A Glu-3 lokusz alléljeinek hatása néhány fontosabb sikkér és reológiai tulajdonságra

A táblázat az egyes allélekhez tartozó átlagadatokat, a legkisebb szignifikáns differencia értékét 5%-os valószínűségi szinten ($SzD_{5\%}$) valamint az ennek megfelelő csoportosítást tartalmazza

		Sikkér %		Sikkér ter. mm/h		Gluténindex		MT s		RBD MU		Ext mm		Rmax AU	
Glu-A3	<i>a</i>	45,41	A	6,39	B	76,59	AB	234,86	B	18,50	B	854,89	A	596,79	B
	<i>d</i>	45,20	A	3,25	A	93,00	B	315,00	C	9,50	A	821,25	A	752,00	B
	<i>f</i>	46,81	A	7,48	B	68,79	A	194,27	A	19,81	B	1077,94	B	413,17	A
	<i>SzD_{5%}</i>	3,70		2,53		15,83		35,73		3,27		175,48		163,21	
Glu-B3	<i>b</i>	40,45	A	1,75	A	99,10	A	423,50	C	2,00	A	653,00	A	856,50	B
	<i>g</i>	45,20	A	3,25	AB	93,00	A	315,00	B	9,50	B	821,25	AB	752,00	B
	<i>i</i>	46,40	B	7,19	B	71,15	A	197,16	A	20,26	C	1018,13	B	457,49	A
	<i>SzD_{5%}</i>	5,05		3,46		21,60		46,36		4,24		227,64		211,72	
Glu-D3	<i>a</i>	44,49	A	5,19	A	77,73	A	315,00	B	9,50	A	821,25	A	752,00	B
	<i>c</i>	46,41	A	7,16	A	71,64	A	208,48	A	19,35	B	999,87	A	477,44	A
	<i>SzD_{5%}</i>	2,26		1,55		9,69		40,61		3,72		199,40		185,46	
LMW-glut.	<i>a b c</i>	40,45	A	1,75	A	99,10	B	423,50	C	2,00	A	653,00	A	856,50	C
	<i>a i a</i>	46,10	B	7,38	B	59,35	A	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>a i c</i>	45,63	B	6,56	B	77,34	AB	203,42	A	21,25	C	888,54	B	553,50	B
	<i>d g a</i>	45,20	B	3,25	A	93,00	AB	315,00	B	9,50	B	821,25	AB	752,00	C
	<i>f i c</i>	46,81	B	7,48	B	68,79	AB	194,27	A	19,81	C	1077,94	C	413,17	A
	<i>SzD_{5%}</i>	4,43		3,04		18,96		41,97		3,84		206,11		191,70	

25. táblázat A gliadin allélek és alléloszétételek hatása néhány fontosabb technológiai paraméterre

A táblázat az egyes allélekhez tartozó átlagadatokat, a legkisebb szignifikáns differencia értékét 5%-os valószínűségi szinten ($SzD_{5\%}$) valamint az ennek megfelelő csoportosítást tartalmazza

		Sikér %		Sikér ter. mm/h		Gluténindex		MT s		RBD MU		Ext mm		Rmax AU	
Gli-A1	<i>a</i>	45,25	A	6,12	B	78,11	AB	251,25	B	18,00	B	839,13	A	663,42	B
	<i>e</i>	45,20	A	3,25	A	93,00	BC	315,00	C	9,5	A	821,25	A	752,00	B
	<i>f</i>	43,10	A	3,75	A	98,33	C	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>m</i>	46,98	B	7,71	B	66,98	A	190,14	A	19,93	B	1068,76	B	397,73	A
<i>SzD_{5%}</i>		3,88		2,66		16,61		36,00		3,29		176,79		164,43	
Gli-B1	<i>b</i>	40,45	A	1,75	A	99,10	B	423,50	B	2,00	A	653,00	A	472,21	A
	<i>m</i>	46,38	B	7,11	B	71,58	A	203,05	A	19,73	B	1008,28	B	856,5	B
	<i>SzD_{5%}</i>		4,39		3,01		18,80		40,61		3,72		199,40		185,46
Gli-D1	<i>a</i>	46,69	A	7,37	A	70,05	A	196,78	A	20,31	B	1016,52	B	447,14	A
	<i>b</i>	44,95	A	5,38	A	87,10	B	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>g</i>	44,62	A	5,72	A	78,13	AB	314,17	B	10,33	A	840,42	A	750,75	B
	<i>SzD_{5%}</i>		2,83		1,94		12,12		24,71		2,26		121,35		112,87
Gliadin	<i>a b g</i>	40,45	A	1,75	A	99,10	C	423,50	D	2,00	A	653,00	A	856,50	C
	<i>a m a</i>	45,73	B	6,52	AB	76,69	B	216,80	AB	21,20	C	876,35	B	624,80	B
	<i>a m b</i>	44,95	B	5,38	AB	87,10	BC	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>a m g</i>	45,28	B	7,38	AB	66,43	AB	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>e m g</i>	45,20	B	3,25	A	93,00	BC	315,00	C	9,50	B	821,25	AB	752,00	BC
	<i>f m g</i>	43,10	AB	3,75	A	98,33	C	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>m m a</i>	46,99	B	7,64	AB	67,63	AB	189,08	A	19,96	C	1070,44	C	378,81	A
	<i>m m g</i>	46,85	B	8,88	B	56,83	A	204,00	AB	19,50	C	1047,00	BC	643,75	BC
<i>SzD_{5%}</i>		4,42		3,03		18,90		45,37		4,15		222,79		207,21	

6.5.2 A tartalékfehérje frakciók mennyiségének összefüggései a funkcionális tulajdonságokkal

A glutenin – gliadin arány jelentősége

A tartalékfehérjék allélösszetétele mellett a fehérje frakciók mennyiségének is nagy jelentősége van a funkcionális tulajdonságok kialakulásában. Az SE-, és RP-HPLC-vel mért tartalékfehérje frakciók mennyiségei és a funkcionális tulajdonságok között fennálló összefüggéseket Pearson korrelációval vizsgáltuk. A korrelációs analízis eredményeit a 25. táblázat tartalmazza.

A mennyiségi tulajdonságokat vizsgálva megállapítottuk, hogy a vizsgált törzsek az átlagosnál nagyobb gliadin tartalommal jellemezhetőek, ami az átlagos glutenin tartalom mellett egy alacsony glutenin-gliadin arányban jelentkezik (6.3. fejezet). Az irodalmi adatok szerint a glutenin-gliadin arány szoros, pozitív összefüggésben áll a tészta minőségére jellemző dagasztási paraméterekkel. Amint az a 26. táblázatból megállapítható a glutenin-gliadin arány a Bánkúti 1201 esetében közepesen ill. erősen szignifikáns összefüggésben áll szinte valamennyi dagasztási és nyújthatósági paraméterrel. Az egyes komponenseket külön vizsgálva a paraméterek nagyobb részénél a gliadin tartalom erősebb összefüggésben áll a funkcionális tulajdonságokkal, mint a glutenin tartalom és ezek az összefüggések szinte valamennyi esetben meghaladják a glutenin-gliadin arány és a technológiai paraméterek között tapasztalt összefüggések mértékét. Ez az eredmény is alátámasztja Gupta és mtsai. (1993) eredményeit, miszerint a funkcionális tulajdonságokra gyakorolt hatásuk tekintetében a gluteninek és a gliadinok közötti egyensúly sokkal megbízhatóbb jellemzést ad, mint a glutenin-gliadin arány.

26. táblázat A fő tartalékfehérje frakciók és a funkcionális paraméterek közötti összefüggések Pearson-korrelációs együtthatói

	Glutenin %	Gliadin %	Glu/Gli	Alb+Glob %	UPP%
MT (s)	0,55***	-0,64***	0,59***	0,56***	0,63***
PR (MU)	0,17	-0,17	0,48	0,07	0,09
BWPR (MU)	0,47**	-0,41**	0,45**	0,03	0,35*
RBD (MU)	-0,39*	0,49**	-0,44**	-0,49***	-0,60***
BWBD (MU)	-0,53***	0,60***	-0,57***	-0,50***	-0,45**
TMBW (s)	0,55***	-0,59***	0,57***	0,41**	0,68***
MBW (MU)	0,40**	-0,34*	0,38*	0,01	0,26
Ext (mm)	-0,63***	0,73***	-0,69***	-0,61***	-0,60***
Rmax (AU)	0,65***	-0,75***	0,71***	0,63***	0,32*
Cipóm (mm).	0,37*	-0,46**	0,40**	0,45**	0,48**

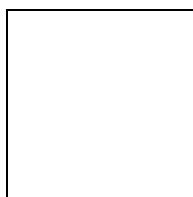
A Glu/Gli erősen szignifikáns korrelációja a nyújthatósággal utal a magasabb gliadin tartalomra, illetve a törzsek minőségének kialakulásában a nyújthatóság jelentőségére. A

törzsek Ext és Rmax értékeit a glutenin-gliadin hányados függvényében vizsgálva egyértelműen megállapítható, hogy a Glu/Gli változása fordított mértékben befolyásolja a nyújthatóság (Ext) ill. a maximális ellenállás (Rmax) értékeit. A magas gliadin tartalom és ezáltal a kisebb Glu-Gli arányok a nyújthatóság növekedését eredményezik, míg a gliadin tartalom csökkenése és az ezzel járó Glu-Gli arány növekedés a tészta nyújtással szembeni ellenállásának növekedéséhez vezet.

Oldhatatlan polimer frakció (UPP%) jelentősége

A nagyméretű oldhatatlan polimer glutenin frakció mixográfus paraméterekre gyakorolt hatását számos kutatócsoport vizsgálta és igazolta. A Bánkúti 1201 törzsekben mért UPP tartalom a dagasztási idővel (MT), a maximális csúcshosszhoz szükséges dagasztási idővel (TMBW) és a cipómagassággal mutatott erősen szignifikáns közepes összefüggést, ugyanakkor a tészta ellágyulásával (RBD) és nyújthatóságával (Ext) erősen szignifikáns negatív összefüggésben áll. A 17. ábra az oldhatatlan polimer fehérje frakció (UPP) dagasztási időre (MT) gyakorolt hatását mutatja. Az ábráról egyértelműen megállapítható, hogy a vizsgált törzsek kb. fele 45-47 %-os UPP% tartalommal jellemezhető, az ezekhez az értékekhez tartozó MT értékek kb. 210 s-nál találhatók. Néhány törzs viszont jelentősen eltér az átlagos adatoktól. Ezekben a törzsekben egy mintát leszámítva az UPP mennyiség növekedését arányosan követi a dagasztási idő növekedése. A közel 62 % UPP tartalommal rendelkező törzs esetében mért nagyon alacsony dagasztási idő feltételezhetően mérési hiba következménye.

17. ábra A dagasztási idő (MT) az oldhatatlan polimer frakció mennyiségének függvényében



HMW – LMW glutenin frakciók mennyiségének és az egyes HMW-glutenin alegységek mennyiségeinek hatása

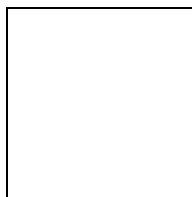
Az RP-HPLC-vel mért HMW- és LMW-glutenin tartalom nem mutatott szoros összefüggéseket a mért funkcionális tulajdonságokkal. Az egyetlen gyenge összefüggést a HMW- és LMW-glutenin mennyiség és az Rmax értékek között tapasztaltuk (27. táblázat).

27. táblázat A glutenin frakciók és a technológiai paraméterek közötti összefüggések Pearson-korrelációs koefficiensei

	HMW%	LMW%	HMW/LMW	Ax%	Bx%	Dx%	By%	Dy%	x/y
MT	-0,007	0,007	0,004	-0,29	0,33*	-0,27	-0,24	-0,23	0,22
PR	-0,07	0,07	-0,04	-0,46**	0,64***	-0,64***	-0,36*	-0,56***	0,44**
BWPR	-0,01	0,01	0,02	-0,51***	0,56***	-0,53***	-0,24	-0,46**	0,36*
RBD	0,13	-0,13	0,13	0,13	-0,11	0,09	0,10	0,03	-,03
BWBD	0,17	-0,17	0,16	0,16	-0,19	0,19	0,11	0,14	-0,09
TMBW	0,10	-0,10	0,11	-0,25	0,32*	-0,29	-0,26	-0,20	0,23
MBW	0,01	-0,01	0,04	-0,44**	0,62***	0,61***	-0,36*	0,54***	0,44**
Ext	0,25	-0,25	0,23	0,38*	-0,30	0,18	0,12	0,28	-0,12
Rmax	-0,32*	0,32*	-0,29	-0,47**	0,37*	-0,26	-0,10	-0,34*	0,17
LH	-0,06	0,06	-0,05	-0,22	0,17	-0,07	-0,10	-0,16	0,11

Az egyes HMW-glutenin alegységek relatív mennyiségei és a funkcionális tulajdonságok közötti összefüggéseket vizsgálva a dagasztási idővel (MT) nem kaptunk szignifikáns összefüggéseket, de az ugyancsak a tészta erősségére utaló paraméterrel, a csúcscellenállással (PR) kapott korrelációs értékek közepes mértékű erősen szignifikáns összefüggésekre utalnak. Az alegységek közül kiemelhető a Bx% hatása. Amíg a Bx% növekedése a MT és PR értékek növekedéséhez vezet az összes többi alegység mennyisége ellentétes hatást gyakorol a mért paraméterekre. Ugyanakkor, akár a MT akár a PR értékeit ábrázoljuk a Bx ill. a By mennyisége függvényében a kapott pontok két egyértelműen elkülöníthető csoportot képeznek azok alapján, hogy a törzsek Glu-B1x7 alegység mellett **By8** vagy **By9** alegységgel rendelkeztek-e (18. ábra). Ha a különböző allélösszetételű csoportok PR értékeit ábrázoljuk a Bx% és By% értékek függvényében, akkor a Glu-B1 allél szerinti csoportok is egyértelműen alátámasztja, hogy annak ellenére, hogy a két allél az y típusú HMW-glutenin alegységben különbözik egymástól és az x típusú alegység mind a két esetben az 1Bx7, a By alegység típusának erős szignifikáns hatása van arra, hogy a Bx alegységből mennyi expresszálódik. Ugyanakkor a By alegység mennyiségében szignifikáns különbség a két alléltípus esetében nem tapasztalható.

18. ábra A dagasztással szembeni maximális ellenállás (PR) értékei a Bx% és By% értékek függvényében



A PR értékeit a Bx% ill. By% függvényében ábrázoltuk. A tartalékfehérje összetételeknél zöld színnel a Glu-B1 lokuszon 7+8 allélt, piros színnel a 7+9 allélt tartalmazó típusokat ábrázoltuk. A PR értékei a Bx% növekedésével nőnek. A színek segítségével megállapítható, hogy a By alegység típusa szignifikáns hatással nem a By alegység, hanem a Bx alegység mennyiségére van.

Az A, B és D kromoszómák egymáshoz viszonyított hatásának vizsgálatához a HMW-glutenin alegységek mennyiségeit kromoszómánként összegeztük és így is elvégeztük a korrelációs számításokat (28. táblázat). Hasonló módon értékeltük az x- és az y típusú alegységek mennyiségének együttes hatását is. A korrelációs koefficiensek alapján a dagasztási paraméterekre a B kromoszómán kódolt HMW-glutenin alegységek mennyiségének van a legerősebb hatása, a D kromoszómán tapasztalt variabilitás hiányának köszönhetően. Az A és D kromoszómán kódolt HMW-glutenin alegységek mennyisége és a tészta erősségével kapcsolatos paraméterek negatív összefüggésben állnak egymással.

28. táblázat Az A, B és D kromoszómákról expresszáldott HMW-glutenin alegységek valamint az x és y típusú alegységek együttes mennyiségének hatásai a reológiai paraméterekre

	<i>1A</i> Ax%	<i>1B</i> Bx%+By%	<i>1D</i> Dx%+Dy%	<i>x-HMW</i> Ax%+Bx%+Dx%	<i>y-HMW</i> By%+Dy%
MT	-0,29	0,33*	-0,27	0,25	-0,25
PR	-0,46**	0,69***	-0,63***	0,48**	-0,48**
BWPR	-0,51***	0,62***	-0,52***	0,36*	-0,36*
RBD	0,13	-0,11	0,07	-0,07	0,07
BWBD	0,16	-0,21	0,18	-0,13	0,13
TMBW	-0,25	0,31*	-0,27	0,24	-0,24
MBW	-0,44**	0,66***	-0,61***	0,47**	-0,47**
Ext	0,38*	-0,33*	0,22	-0,21	0,21
Rmax	-0,47**	0,43**	-0,30	0,23	-0,23
Cipóm.	-0,22	0,18	-0,11	0,14	-0,11

Az x- és y-típusú alegységek mennyiségének hatása az irodalmi adatoknak megfelelően ellentétes előjelű. A MT, a PR, a RBD, Rmax, és a cipómagasság az x-típusú HMW-glutenin alegységek mennyiségének növekedésével nő, míg a nyújthatóságra, az ellágyulásra és a BWBD-re az y típusú alegységek gyakorolnak pozitív hatást.

6.5.3 Tartalékfehérje allélek kölcsönhatásai és szinergikus hatások

A különböző lokuszok és allélek együttes jelenléte ill. az allélek között kialakuló kölcsönhatások ugyancsak fontos szerepet játszhatnak mind a mennyiségi, mind a

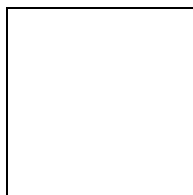
funkcionális tulajdonságok kialakulásában (3.6.3 fejezet). A HMW-, LMW-glutenin alegységek és a gliadinok közötti kölcsönhatásokat varianciával vizsgálva próbáltuk vizsgálni. A rendelkezésünkre álló alacsony mintaszám a lokuszok közötti varianciaanalízist nem tette lehetővé a mátrix nagyon hiányos volta miatt. A lokusz kölcsönhatásokat így csak közvetett módon, az egy genotípusban együtt kifejeződő allélek hatásának Rank-korrelációs vizsgálatával próbáltuk megállapítani (30, 31, 32. táblázat). Miként az a táblázatból megállapítható a különböző lokuszpárokra nemcsak a technológiai tulajdonságokra, hanem az egyes fehérje frakciók mennyiségi tulajdonságaira is hatása van. A mennyiségi tulajdonságok közül a fehérje tartalom esetében csak gyenge összefüggéseket találtunk. A sikér mennyiségre ugyancsak közepes ill. gyenge összefüggések mellett a Glu-B1 lokusznak a Glu-3 és Gli-1 lokuszokkal mutatott kölcsönhatásai gyakoroltak hatást. A sikér minőségével kapcsolatos paraméterek közül az SDS-szedimentációs érték kialakulásában az allélkölcsönhatásoknak nincs túl erős szerepe. A gluténindexre főleg a Glu-B1 lokusz Glu-3 ill. Gli-1 lokuszokkal mutatott kölcsönhatásai voltak hatással, hasonlóak voltak a megfigyelések a sikérterület esetében is. A reológiai paraméterek esetében tapasztalt összefüggések erősebbek voltak, a különböző allélek együttes jelenlétére legerősebben a nyújthatóság (Ext) reagált, míg a legkisebb hatást az ellágyulásnál (RBD) tapasztaltuk. Ha a tézta erősségével kapcsolatos paramétereket vizsgáljuk (MT, PR, TMBW) a Glu-B1 lokusz kölcsönhatásai a jelentősebbek, míg a nyújthatósággal kapcsolatos paramétereknél a Glu-3 és Gli-1 lokuszoknak és kölcsönhatásaiknak van nagyobb hatása. Ha az egyes kromoszómák hatásait vizsgáljuk a szignifikáns összefüggések között legnagyobb számban a B kromoszómán kódolt lokusz kölcsönhatások fordulnak elő. Az egyes tartalékfehérje frakciók mennyisége ugyancsak érzékenyen reagál az előforduló allélkombinációkra. Az itt megfigyelhető korrelációs koefficiensek erősen szignifikáns, közepes ill. erős összefüggésekre utalnak. Valamennyi paraméter esetében itt is a B kromoszóma lokuszkölcsönhatásai a

legjelentősebbek és ezen belül is kiemelhetőek a Glu-B1 lokusz Glu-3 és Gli-1 lokuszokkal mutatott kombinációi. A tézta erősségénél a Glu-B1 lokuszon keresztül erős HMW-glutenin hatás figyelhető meg, míg a nyújthatósággal kapcsolatos paraméterek esetében nagyobb az LMW-glutenin alegységek ill. a gliadinok jelentősége.

A különböző allélkombinációk, a mennyiségi tulajdonságok és a funkcionális paraméterek közötti összefüggéseket jól szemlélteti a korábban már bemutatott ábra, ahol a dagasztási időt (MT) ábrázoltuk az oldhatatlan polimer frakció (UPP%) mennyiségének függvényében (19.

ábra). A különböző allélösszetételekből pirossal és világos zölddel emeltük ki azt a két HMW-glutenin allélösszetételt, melyek a leggyakoribbak a vizsgált törzsek között. Az ábrát elemezve egyértelműen két csoportra oszthatóak a minták aszerint, hogy a Glu-B1 lokuszon 7+8 vagy 7+9 allélt tartalmaznak-e. A törzsek nagyobb részét a pirossal jelölt 7+9 alléllal rendelkező csoportokba sorolhatjuk, melyek átlagos 45% körüli UPP értékkel és 150-200 s közötti, közepes tézsaerősségre utaló dagasztási idővel rendelkeznek. A 7+9 alléllal rendelkező csoportok között azoknak a típusoknak magasabb a MT és UPP értéke, melyek a Glu-A1 lokuszon a 2*^B alegységgel rendelkeznek.

19. ábra A dagasztási idő (MT) az UPP tartalom és a tartalékfehérje összetétel függvényében



Az adatokat megfigyelve kiemelkedően magasak a 2*^B 7+9 2+12, a-b-c, a-b-g allélösszetétellel rendelkező törzs paraméterei, ami összehasonlítva a többi 2*^B 7+9 2+12 allélösszetételű csoporttal a Glu-3 és a Gli-1 lokusz összetételében különbözik. Az ebben a törzsből megfigyelt LMW-glutenin alegység összetétel a Bánkúti 1201-re nem jellemző és az a-b-c allélösszetétel jóval gyakrabban figyelhető meg a termesztett fajtákban. A 7+8 alléllal rendelkező törzsek szignifikánsan magasabb MT és UPP értékekkel rendelkeznek. A 7+8 allél elsődleges hatása mellett további pozitív hatást gyakorol mind a MT, mind az UPP értékére a Glu-A12*^B allél a Glu-A11 alléllal szemben ill. Glu-3 d-g-a allélösszetétel az f-i-c allélösszetétellel szemben.

6.5.4 Minőségi és mennyiségi tulajdonságok együttes hatása a funkcionális tulajdonságok kialakulásában

Az elvégzett statisztikai analízisek során összesen 15 technológiai paramétert és 10 mennyiségi paraméter összefüggéseit vizsgáltuk a tartalékfehérje összetétel szempontjából. A fehérjetartalommal és a sikértartalommal mutatott gyenge korrelációk, továbbá a fehérje frakciók és a különböző tartalékfehérje lokuszok között jelentkező erősen szignifikáns összefüggések utaltak arra, hogy a Bánkúti 1201 búzafajta esetében a mennyiségi hatásokat elfedhetik a minőségi hatások. Annak megállapítására, hogy a vizsgált mennyiségi és technológiai tulajdonságok közül melyek azok a paraméterek, amelyek a fajtában jelentkező változatosságot elsődlegesen magyarázzák, főkomponensanalízist végeztünk. Az analízis során a változókat egymás közötti korrelációjuk alapján csoportosítottuk. A módszert előttünk

már mások is alkalmazták búzafajták technológiai minőségének elemzésére (Vida és mtsai., 1996). A 29. táblázat az egyes főkomponensváltozók sajátértékeit, a rendszer varianciájához való hozzájárulását és kumulatív lambda értékeit tartalmazza. A kumulatív értékek alapján az első három főkomponens a törzsekben rejlő összvariancia több mint 75 %-át magyarázza meg, ezen belül az első két faktor a rendszer összvarianciájának 67,5 %-át magyarázza. Az analízisbe vont összesen 23 változó közül 12 olvasható egyértelműen az 1. faktorba, az egyes HMW-glutenin alegységek mennyisége tartozik a 2. faktorba, míg a 3. főkomponenssel a fehérjetartalom, az Ax alegységek mennyisége és néhány mixográfus görbeszélességi paraméter magyarázható. A 21. ábráról megállapítható továbbá, hogy a téztaerősséggel kapcsolatos paraméterek és a nyújthatósággal kapcsolatos paraméterek két egyértelműen elkülönülő csoportot képeznek és az irodalmi adatoknak a megfelelően a glutenin továbbá az UPP tartalom a téztaerősségi csoportba sorolható, míg a gliadin tartalom és a Bánkúti 1201 esetében a siker tartalom elsősorban a nyújthatóságért felelős.

29. táblázat A főkomponens analízis eredményei

Főkomponens változó	Saját érték	variancia % (λ)	kumulatív λ
1	10,8356	47,1	47,1
2	4,6883	20,4	67,5
3	2,1237	9,2	76,7

Miként az a 20. ábráról is leolvasható az egyes HMW-glutenin alegységek mennyisége sokkal inkább a második faktoral magyarázható, ezen belül is kiemelhető a Bx%, mely egy csoportot képez a tézta erősségével kapcsolatos PR paraméterrel, továbbá az MBW és BWPR értékekkel. A többi alegység mennyisége ettől eltérő módon az ellentétes síknegyedben található. Az ábra alapján megállapítható, hogy a vizsgált Bánkúti 1201 populáció minőségét alapvetően két, az eredmények alapján egyaránt jelentős tulajdonságcsoport határozza meg, az egyik az erős és rugalmas tézta, a másik pedig a jó nyújthatóság kialakulásáért felelős.

Amennyiben a főkomponens analízis alapján kapott ábrát kiegészítjük a Bánkúti 1201 alegységösszetételében fontosabb szerepet játszó allélekkel, akkor a kapott eredmény alátámasztja a korábbi korrelációs és varianciaanalízisen alapuló eredményeinket (21. ábra). A fajta HMW-glutenin alegység összetétele szempontjából jellemző alléljei a **2*^B**, a **7+9** és **7+8** valamint a **2+12**. Mivel a főkomponens analízisbe bevont valamennyi törzs a **2+12** alléllal rendelkezik, ennek hatása ilyen formában nem vizsgálható. Amint az a 22. ábráról megállapítható sokkal jelentősebb a nyújthatósági paraméterek köré csoportosuló allélek száma, mint a tézta erősségéhez csoportosulóké. Így a Bánkúti 1201-re jellemző LMW-

glutenin és gliadin allélek, mint pl. Glu3Af, Glu3Bi, Gli-A1m vagy a Gli-B1m a főkomponens analízis alapján is a gliadin, a sikér mennyiségével és a nyújthatósággal hozhatóak összefüggésbe. A tészta erősségének, a nagy MT, gluténindex (GI) értékek, a nagy kenyértérfogat és a magas oldhatatlan polimer frakció (UPP) kialakulásában néhány kevésbé specifikus, elsősorban LMW-glutenin allélnek van jelentősége (Glu-B3b, Glu-A3a), és viszonylag távolabb található a csoporttól, azaz az első főkomponenssel kevésbé magyarázható az extra ciszteint tartalmazó Glu-A12*^B allél jelentősége. A különböző tészta erősségével kapcsolatos paraméterekkel és a Bx alegység mennyiségével szorosan korreláló Glu1B 7+8 allél meglepő módon nem a MT, TMBW, GI vagy cipómagasság paraméterekkel, hanem az ezektől teljesen külön csoportosuló, a 2. főkomponens változóval magyarázható, de ugyancsak a tészta erősségére utaló PR, BWPR, MBW paraméterekkel képez egy csoportot. Az eredmények alapján megállapítható, hogy amíg a 7+8 allél jelenléte és az ezeknél a törzseknél megfigyelhető Bx túltermelés pozitív összefüggést mutat a tészta erősségével, addig a Glu-B1 7+9 allél jelenléte és a többi HMW-glutenin alegység mennyisége negatív összefüggéseket mutat az erősségi paraméterekkel. A 7+8 allél pozitív hatása a technológiai tulajdonságokra ismert tény, azonban ez nem mindig társul ilyen mértékű Bx alegység túltermeléssel. Hasonlóan magas Bx% értékeket pl. a Glenlea kanadai fajtánál mértek, mely az extra erős tészta tulajdonságairól ismert

30. táblázat A siker minőségre és mennyiségre ható szignifikáns kölcsönhatások Rank-korrelációs koefficiensek abszolút értékei

Kölcsönhatások N = 104		Fehérje	Sikér	SDS	GI	Sikér terület
Glu-1	Glu-B1 - Glu-D1		0,35***	0,21*	0,50***	0,47***
Glu-3	Glu-A3 - Glu-B3		0,22*		0,23*	0,24*
	Glu-A3 - Glu-D3		0,21*		0,20*	0,23*
	Glu-B3 - Glu-D3		0,25*			0,29**
Gli-1	Gli-A1 - Gli-B1		0,27**		0,34***	0,35***
	Gli-A1 - Gli-D1		0,22*		0,32**	0,31**
	Gli-B1 - Gli-D1	0,21*				
Glu-1 - Glu-3	Glu-B1 - Glu-A3		0,33***		0,41***	0,41***
	Glu-B1 - Glu-B3		0,36***	0,19*	0,48***	0,49***
	Glu-B1 - Glu-D3		0,34***		0,42***	0,45***
	Glu-D1 - Glu-A3				0,33***	0,22*
	Glu-D1 - Glu-B3	0,20*			0,24*	
Glu-1 - Gli-1	Glu-D1 - Glu-D3				0,23*	
	Glu-A1 - Gli-D1				0,26**	0,22*
	Glu-B1 - Gli-A1		0,34***	0,19*	0,44***	0,45***
	Glu-B1 - Gli-B1		0,36***		0,47***	0,48***
	Glu-B1 - Gli-D1		0,25*	0,19*	0,38***	0,37***
	Glu-D1 - Gli-A1		0,22*		0,44***	0,33***
Glu-3 - Gli-1	Glu-D1 - Gli-B1	0,20*			0,23*	
	Glu-D1 - Gli-D1		0,26**			0,22*
	Glu-A3 - Gli-A1		0,23*		0,27**	0,27**
	Glu-A3 - Gli-B1		0,22*		0,23*	0,24*
	Glu-B3 - Gli-A1		0,28**		0,36***	0,37***
	Glu-B3 - Gli-B1		0,20*		0,25**	0,30**
Glu-3 - Gli-1	Glu-D3 - Gli-A1		0,27**		0,32***	0,35***
	Glu-D3 - Gli-B1		0,24*			0,28**

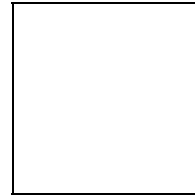
31. táblázat A reológiai tulajdonságok és allélkölcsönhatások közötti Rank-korrelációs koefficiensek abszolút értékei

Kölcsönhatások N = 42		MT	PR	RBD	TMBW	Ext	Rmax	LH
Glu-1	Glu-A1 - Glu-B1		0,34*					
Glu-3	Glu-A3 - Glu-B3					0,52***	0,43**	0,31*
	Glu-A3 - Glu-D3					0,50***	0,40**	
	Glu-B3 - Glu-D3	0,51***		0,51***	0,46**	0,41**	0,46**	0,51***
Gli-1	Gli-A1 - Gli-B1	0,43**			0,37*	0,49***	0,61***	0,37*
	Gli-A1 - Gli-D1	0,31*				0,40**	0,47**	
Glu-1 - Glu-3	Glu-B1 - Glu-A3	0,44**	0,39*		0,44**	0,56***	0,45**	
	Glu-B1 - Glu-B3	0,58***	0,46**	0,36*	0,58***	0,57***	0,47**	0,34*
	Glu-B1 - Glu-D3	0,48**	0,45**		0,48**	0,48**	0,38*	
Glu-1 - Gli-1	Glu-A1 - Gli-D1	0,44**		0,37*	0,48**			
	Glu-B1 - Gli-A1	0,52***	0,45**		0,51***	0,57***	0,54***	0,31*
	Glu-B1 - Gli-B1	0,56***	0,51***	0,32*	0,56***	0,56***	0,45**	
	Glu-B1 - Gli-D1		0,46**		0,32*	0,35*		
Glu-3 - Gli-1	Glu-A3 - Gli-A1					0,50***	0,47**	
	Glu-A3 - Gli-B1					0,52***	0,43**	0,31*
	Glu-A3 - Gli-D1					0,43**		
	Glu-B3 - Gli-A1	0,49***		0,37*	0,42**	0,51***	0,64***	0,44*
	Glu-B3 - Gli-B1	0,51***		0,51***	0,46**	0,41**	0,46**	0,51***
	Glu-B3 - Gli-D1	0,37*		0,40**	0,35*	0,32*		0,40**
	Glu-D3 - Gli-A1	0,46**		0,33*	0,38*	0,49**	0,63***	0,42**
Glu-D3 - Gli-B1	0,51***		0,51***	0,45**	0,40**	0,45**	0,51***	

32. táblázat A lokusz kölcsönhatások és a tartalékfehérje frakciók mennyiségeinek összefüggése (Rank- korrelációs koefficiensek abszolút értékei)

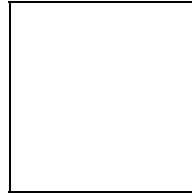
Kölcsönhatások N=42		Glutenin	Gliadin	UPP	HMW	LMW	Ax	Bx	Dx	By	Dy
Glu-1	Glu-A1 – Glu-B1						0,48**	0,47**	0,52***		0,38*
Glu-3	Glu-A3 – Glu-B3	0,53***	0,61***	0,43**	0,40**	0,40**					
	Glu-A3 – Glu-D3	0,53***	0,60***	0,40**	0,40**	0,40**					
	Glu-B3 – Glu-D3			0,41**							
Gli-1	Gli-A1 – Gli-B1	0,61***	0,71***		0,52***	0,52***	0,32*				
	Gli-A1 – Gli-D1	0,61***	0,71***		0,40**	0,40**	0,34*				
	Gli-B1 – Gli-D1	0,40**					0,42**	0,44**	0,32*	0,38*	0,48**
Glu-1 – Glu-3	Glu-A1 – Glu-A3				0,37*	0,37*	0,38*				
	Glu-B1 – Glu-A3	0,39*	0,52***	0,67***			0,47**	0,54***	0,62***	0,47**	0,56***
	Glu-B1 – Glu-B3		0,39**	0,76***			0,43**	0,70***	0,78***	0,64***	0,65***
	Glu-B1 – Glu-D3		0,32*	0,66***			0,50***	0,77***	0,79***	0,65***	0,74***
Glu-1 – Gli-1	Glu-A1 – Gli-A1				0,39*	0,39*	0,39*				
	Glu-A1 – Gli-D1	0,36*									
	Glu-B1 – Gli-A1		0,56***	0,64***			0,52***	0,59***	0,65***	0,51***	0,61***
	Glu-B1 – Gli-B1		0,40**	0,76***			0,41**	0,71***	0,80***	0,62***	0,67***
	Glu-B1 – Gli-D1			0,54***			0,49**	0,77***	0,75***	0,55***	0,77***
Glu-3 – Gli-1	Glu-A3 – Gli-A1	0,57***	0,65***	0,36*	0,45**	0,45**	0,31*				
	Glu-A3 – Gli-B1	0,53***	0,61***	0,43**	0,40**	0,40**					
	Glu-A3 – Gli-D1	0,52***	0,60***	0,33*							
	Glu-B3 – Gli-A1	0,50***	0,68***	0,32*	0,44**	0,44**	0,34*				
	Glu-B3 – Gli-B1			0,41**							
	Glu-B3 – Gli-D1		0,34*	0,32*							0,33*
	Glu-D3 – Gli-A1	0,48**	0,68***		0,43**	0,43**	0,42**				
	Glu-D3 – Gli-B1			0,40**							
Glu-D3 – Gli-D1				0,38*	0,38*						

20. ábra A funkcionális tulajdonságok és a mennyiségi paraméterek bevonásával végzett főkomponensanalízis eredménye



A főkomponens analízisbe bevont tulajdonságok: SIK – sikértartalom, FEH- fehérjetartalom, STER- sikerterület, SDS- szedimentációs érték, GI- gluténindex, MT- dagasztási idő, PR- maximális ellenállás, RBD – ellágyulás, MBW – maximális görbeszélesség, TMBW – a max. görbeszélesség kialakulásához szükséges idő, BWBD – ellágyulásnál mért görbeszélesség, BWPR – max. ellenállásnál mért görbeszélesség, EXT - nyújthatóság, RMAX – nyújtással szembeni max. ellenállás, LH - cipómagasság, GLU% - glutenin %, GLI% - gliadin%, UPP% - oldhatatlan polimer tartalom, Ax%, Bx%, Dx%, By%, Dy% - HMW-glutenin mennyiségek

21. ábra A főkomponensanalízis eredménye kiegészítve a Bánkúti 1201-ben azonosítható fontosabb tartalékfűrje allélekkel (a vizsgált paraméterek megegyeznek az előző ábrán felsorolt paraméterekkel, kiegészítve a tartalékfűrje allélekkel)



6.5.5 Értékelés

A tartalékfehérje alléloszétételek és a különböző tartalékfehérje frakcióknak a sütőipari tulajdonságokra gyakorolt hatását együtt figyelembe véve megállapítható, hogy a Bánkúti 1201 esetében a funkcionális tulajdonságok kialakulásában a mennyiségi hatások mellett nagyobb jelentőségük van a minőségi hatásoknak, az alléloszétételnek és allélkölsönhatásoknak. Mind a fehérje frakciók mennyiségei (oldhatatlan polimer tartalom (UPP), gliadin tartalom), mind a funkcionális paraméterek (MT, TMBW, Ext, Rmax) közepes vagy erős összefüggéseket mutatnak az alléloszétételekkel. A Glu-D1 lokusz homogenitása miatt a Bánkúti 1201 búzafajtánál nagyon erős B kromoszómahatás figyelhető meg, ami egyrészt a Glu-B1, Glu-B3 és Gli-B1 lokuszok hatásában, a Glu-B1x alegység relatív mennyiségében, másrészt elsődlegesen a Glu-B1 lokuszban a más lokuszokkal mutatott kölcsönhatásaiban nyilvánul meg. A fajta a Glu-D1 lokuszban jellemzően **2+12** allélt tartalmaz, ezért ennek hatása közvetlenül így nem vizsgálható.

A Glu-A1 lokuszon a fajtára kb. 75%-ban jellemző speciális cisztein mutáns **2*B** allél minőségjavító hatása elsődlegesen nem, inkább csak az allélkombinációkban jelentkezik, így pl. a Glu-B1 **7+8** tartalmú törzsek mögött szignifikánsan gyengébb tésztát eredményező **7+9** allélt tartalmazó törzsek esetén a **2*B** allélnek szignifikáns sikerminőség, ill. tésztaerősség javító hatása van. A **2*B** fehérjealegységnek a D kromoszómán kódolt 5-ös viszonyított gyengébb hatása részben az extra cisztein aminosavak molekulán belüli kedvezőtlenebb elhelyezkedésével magyarázható (ld. 5.2.4. fejezet)

Ugyancsak jellegzetes profilt mutat a fajta a Glu-3 és Gli-1 lokuszokban. A frekvenciált LMW – glutenin és gliadin allélek jelenléte erős szignifikáns hatással van a Bánkúti 1201 nyújthatósági paramétereire. A fajta a technológiai vizsgálatok alapján egyszerre jellemezhető erős, stabil, de ugyanakkor jól nyújtható tészta szerkezettel. Ez a két, a Bánkúti 1201 esetében egyensúlyban levő tulajdonságtípus jól magyarázható a fajta tartalékfehérjéinek allélikus és mennyiségi tulajdonságaiban tapasztalt heterogenitással.

7 Eredmények összefoglalása és következtetések

7.1 A Bánkúti 1201 fajta tartalékfehérjének genetikai variabilitása

Vizsgálatainkba az intézetünkben fenntartott Bánkúti 1201 populáció 52 törzsét vontuk be és részletes tartalékfehérje vizsgálatnak vetettük őket alá. **Mind a HMW, mind az LMW-glutenin, mind pedig a Gli-1 lokuszon nagy variabilitást tapasztaltunk. A fajta a Glu-D1 kromoszómán a 2+12 alléllal jellemezhető,** hasonlóan számos az irodalomból ismert európai és kisázsiai eredetű tájfajtaéhoz. Glu-A1 összetételét tekintve a Bánkúti 1201 populáció kb. 70%-ban egy speciális alléllal rendelkezik.

A molekuláris markerek segítségével azonosított, a fajtára specifikus Glu-A1x típusú allél, a vad típusú Glu-A1x2* alléltól egy extra ciszteinben különbözik. A fehérjealegységet kódoló gén repetitív szakaszának a közepén egy C-G pontmutáció következtében egy szerin aminosav ciszteinre módosult. A 2*^B-nek elnevezett alegységgén a Glu-D1x5 allélhez hasonlóan az x-típusú alegységektől eltérően a négy helyett öt ciszteinnel rendelkezik. A két extra ciszteint tartalmazó fehérje közötti leglényegesebb különbség a ciszteinek elhelyezkedésében van. Míg az 1Dx5-ben a repetitív régió N-terminális felőli végén található, addig a 1Ax2*^B esetében az extra cisztein a molekula közepén helyezkedik el. Ennek a különbségnek jelentős hatása van a fehérjén belüli intra- és a többi glutenin fehérjealegységgel képzett intermolekuláris diszulfidhidak, ezáltal a sikérszerkezet és a sikértulajdonságok kialakulására.

Az LMW-glutenin és a velük szoros kapcsoltságot mutató gliadinösszetételt vizsgálva ugyancsak nagy heterogenitást tapasztaltunk. A Bánkúti 1201 vizsgált törzseiben **azonosítottunk néhány olyan allélt, amely a köztermesztésben álló európai fajtákra kevésbé jellemző, ugyanakkor a kanadai búzafajtákban nagyobb gyakorisággal fordul elő.** Az allélösszetételben megnyilvánuló hasonlóságot az elvégzett pedigrevizsgálatok is alátámasztják. Részben az egyik szülője a Marquis, illetve a régi magyar tájfajtákkal azonosan galíciai eredetű Red Fife búzafajta miatt **a Bánkúti 1201 szorosabb rokonságban áll a ma termesztésben levő kanadai fajtákkal,** így pl. az extra erős tésztulajdonságairól ismert Glenlea fajtával, **mint az európai búzafajtákkal.**

A vizsgált 52 Bánkúti 1201 törzsből összesen nyolcféle HMW-glutenin, ötféle LMW-glutenin és nyolcféle gliadin allélösszetételt azonosítottunk. A lehetséges 320 allékkombináció közül azonban mindössze 20 fejeződött ki és ezen belül három csoport tette ki a minták

61,5%-t. A leggyakoribb összetételek a $2^{*B} 7+9 2+12$, **f-i-c, m-m-a (40,4%)**, a $2^{*B} 7+8 2+12$, **a-i-c, a-m-a (11,5%)** és $2^{*B} 7+8 2+12$, **f-i-c, m-m-a (9,6%)**.

A fajta heterogenitása a tartalékfehérjék allélikus összetételén kívül azok mennyiségi összetételében is jelentkezik. Összességében a **Bánkúti 1201 búzafajta** az irodalmi átlagnak megfelelő glutenin tartalommal, de **az átlagosnál magasabb gliadin tartalommal jellemezhető**, ami viszonylag alacsony glutenin-gliadin arányt eredményez. A sikérszerkezet és a funkcionális tulajdonságok kialakulásában fontos szerepet játszó oldhatatlan polimer fehérje frakció mennyisége a Bánkúti 1201 esetében átlagosnak, de más 2+12 fajtákhoz viszonyítva átlagosnál magasabbnak tekinthető. Ugyancsak **átlagon felüli az egyes HMW-glutenin alegységek közül a Bx típusú alegységek mennyisége**. A populációt, mint különböző tulajdonságokkal rendelkező törzsek keverékét tekintve kiemelendők a törzsek mennyiségi adataiban jelentkező nagy különbségek. **A vizsgált minták kb. 1/3-a a fajtára átlagosan jellemző glutenin-gliadin aránynál nagyobb Glu/Gli értékekkel és ezzel párhuzamosan magasabb oldhatatlan polimer tartalommal rendelkezik**. A számított UPP értékek három törzs esetében meghaladták a Glenlea fajtában mért nagyon magas 57,8 %-ot. Ugyancsak ezek a törzsek átlagon felüli mennyiségben tartalmaztak Bx alegységet, egyes törzsek Bx% értéke itt is megközelítette, ill. meghaladta a Glenlea megfelelő értékeit.

Tartalékfehérje összetételeket is figyelembe véve mind **a magasabb glutenin%**, mind **a nagyobb UPP% és Bx% értékek azokban a törzsekben nyilvánultak meg, ahol a Glu-B1 7+8 allélt azonosítottuk**. Az irodalmi adatok szerint mind a mennyiségi, mind a funkcionális tulajdonságra a Glu-D1 lokusznak van elsődleges hatása, de a fajtában az e lokuszon tapasztalt homogenitás miatt a D kromoszómán kódolt HMW-gluteninek hatását nem tudtuk megbecsülni. A gliadin mennyiségére és az LMW-glutenin tartalomra elsődlegesen a Glu-A3 ill. a Gli-A1 lokuszok voltak nagyobb hatással. A fajtára legjellemzőbb LMW-glutenin (**f-i-c**) ill. Gli-1 (**m-m-a**) allélösszetételekkel rendelkező törzsek általában magasabb monomer és kisebb polimer tartalom volt mérhető.

7.2 Minőségi és mennyiségi tulajdonságok jelentősége a fajta funkcionális tulajdonságainak kialakulásában

A sütőipari technológiai vizsgálatok, mind a magyar szabványok szerint elvégzett sikérvizsgálatok, mind a mikrotesztekkel végzett reológiai vizsgálatok a Bánkúti 1201 búzafajta régről ismert kiváló minőségét támasztják alá. A magyar szabvány szerint végzett vizsgálatok alapján a fajta a javító, ill. sikerterülete alapján a malmi I. kategóriába sorolható. A reológiai vizsgálatok alapján a törzsek lisztjéből közepesen erős, ill. erős, ugyanakkor nagyon jó nyújthatóságú tészta készíthető. Ezeket az eredményeket az intézetben korábban elvégzett farinográfus vizsgálatok is alátámasztják, ezek szerint a Bánkúti 1201 búzafajta az A₁-A₂ farinográf csoportba sorolható.

A statisztikai elemzések eredményeként összefoglalható, hogy melyek azok a HMW-, LMW-glutenin és gliadin allélek melyek az egyes technológiai tulajdonságok kialakulásában jelentősebb szerepet játszanak. Megállapítható, hogy **a vizsgált törzsekben legnagyobb gyakorisággal előforduló LMW-glutenin és gliadin allélek (Glu-A3f, Glu-B3i, Gli-A1m, Gli-B1m, Gli-D1a) elsősorban a fajta nyújthatósági tulajdonságainak kialakulásában játszanak fontos szerepet.** Ugyanakkor a kisebb %-ban azonosított alléleket (pl. Glu-B1 7+8, Glu-A3d, Glu-B3b) tartalmazó törzsek lisztjéből készült tészta nagyobb erősségű, túldagasztással szemben stabilabb és nagyobb a nyújtással szemben mutatott ellenállása.

Az eredmények összefoglalásaként elmondható, hogy allélösszetételük alapján **a populációt két alcsoportra lehet bontani**, melyek mind tartalékfehérje összetételük, mind pedig sütőipari tulajdonságaik tekintetében különböznek egymástól. **A csoportosítás alapját a Glu-B1 lokuszon kódolt 7+8 ill. 7+9 alléleket tartalmazó összetételek képezik.** A két típusban jelentkező különbségek elfedik a többi lokusz (így pl. a Glu-A1 és az itt kódolt extra ciszteint tartalmazó 2*^B allél) hatását, illetve azok csak kölcsönhatásaikban fejeződnek ki. A Glu-B1 lokusz mellett ugyancsak specifikusan változik a Glu-B3 és Gli-B1 összetétel is. A populáció nagyobb hányadát, közel 58 %-t kitevő 7+9 allélt tartalmazó csoport általában a Glu-B3 lokuszon az i és a Gli-A1 m allélekkel társul. Ezeknek az alléleknek az együttes jelenléte és a közöttük kialakuló kölcsönhatások biztosítják a nagy fehérje- és sikértartalmat, valamint a jó nyújthatóságot. A másik csoportot képező Glu-B1 lokuszon 7+8 allélt hordozó törzsek nagyobb Bx% tartalommal, ennek köszönhetően az előző csoportnál **stabilabb, erősebb sikerrel rendelkeznek.** Megjegyzendő azonban, hogy a

bármelyik tulajdonság szempontjából is gyengének mondható törzsek más genotípusok technológiai tulajdonságaival összevetve átlagosak, vagy afelettiak. Feltételezésünk szerint a **fajta komplex jó minőségét, tehát az erős és stabil, de ugyanakkor jól nyújtható siker közötti egyensúlyt ennek a két típusnak a megfelelő arányú, ez esetben a közel 60 % '7+9' és 40 % '7+8' aránya okozza.**

7.3 Agronómiailag jelentős tartalékfehérjék azonosítása és alkalmazhatóságuk a nemesítésben

A régi tájfajtákban rejlő minőségi gének fontos forrásai lehetnek a jó sütőipari tulajdonságú búzafajták előállításának. A magyar búzanemesítés egyik leghíresebb, a múlt század első felében legszélesebb körben termesztett búzafajtája a Bánkúti 1201 volt. Kitűnő technológiai tulajdonságainak köszönhetően a fajta populációja a tartalékfehérje gének izolálásának egyik alapanyaga lett. A tartalékfehérje gének izolálásának ill. a marker alapú szelekció első lépéseként részletesen feltérképeztük a populáció HMW-, LMW-glutenin és gliadin allélösszetételét. SDS-PAGE-t és A-PAGE-t használva azonosítottunk néhány a fajtára jellegzetes allélt. Az LMW-glutenin allélek közül a **Glu3B i allél** a fajtára erősen specifikus, de nem unikális allél. Hasonló az ezzel szorosan kapcsolt **Gli-B1 m allél** is, mindkettő **szignifikáns összefüggésben áll a tézta nyújthatósággal.** Mivel a két allél szorosan kapcsolt, ezért elegendő csak az egyiket meghatározni, amelyik a HMW-glutenin összetétel egyúttal történő meghatározhatósága miatt célszerűen az LMW-glutenin allél lehet. A Glu-B3 i jelenléte feltételezhetően más fajtákban is a nyújthatósággal áll összefüggésben. További bizonyító vizsgálatokat követően, jól nyújtható sikerrel rendelkező genotípusokra történő szelekcióra alkalmazható, ill. az adott genotípust a Bánkúti 1201 Glu-B3 i allélt tartalmazó törzsével keresztezve az allél új genotípusokba átvihető. A HMW-glutenin alegység összetétel SDS-PAGE-val történő meghatározása alapján speciális allélt nem találtunk. Azonban a vizsgálatokat RP-HPLC-s mennyiségi vizsgálatokkal kiegészítve izolálható néhány olyan törzs, amelyben a Bx alegység mennyisége jelentősen túltermelődik. Mivel ez a **megnövekedett Bx7 tartalom valamennyi ilyen törzsben szignifikáns téztaerősség növekedéssel társul, ezért egyenletesen nagy erősségű Bánkúti 1201 törzsek előállítására célszerű ezeket kisselektálni.** Az ilyen extra nagy mennyiségben termelt Bx7 alegységgel rendelkező törzsek dagasztási paraméterei a kanadai extra erős Glenlea tulajdonságaival mérhetőek össze. Feltételezésünk alapján a **megnövekedett Bx7 mennyiség ezekben a törzsekben vagy eltérő génkópiával vagy a promoter erősségével állhat összefüggésben.** Ennek eldöntése az 1Bx7 génre specifikus primerpár segítségével

mennyiségi PCR analízissel megoldható, de célszerű a Bánkúti 1201 HMW-glutenin gének promotereit is alaposabban megvizsgálni. Az erős promotereket egy kívánt tartalékfehérje célgén elé kapcsolva búzatranszformálással nagyobb mértékű génexpresszió érhető el.

A minőségi búzafajták előállítására szempontjából nagy jelentőséggel járhat a **cisztein mutáns 1Ax2*^B gén izolálása**. A 2*^B alegység funkcionális tulajdonságokra gyakorolt **hatását csak közvetett módon, a Bánkúti 1201 meglehetősen speciális tartalékfehérje összetétele mellett tanulmányoztuk. További információkat nyújthatnak az olyan in vitro kísérletek**, ahol a bakteriális expresszióval előállított fehérjét gyengébb minőségű, vagy a Glu-A1 lokuszon null allélt tartalmazó genotípusok sikerjébe építjük. A részleges redukciós-oxidációs kísérletek során bizonyítást nyert, hogy az ilyen módon megfelelő mennyiségben adalékolt fehérjealegységek a sikerbe beépülve annak tulajdonságait megváltoztatják. Noha az 1Dx5 alegység technológiai tulajdonságokra gyakorolt hatása bizonyítottan nagyobb, érdekesnek tűnhet megvizsgálni, hogy milyen hatással van a 2*^B fehérje alegység az 5-ös alegységgel együtt beépítve.

Az 1Ax2*^B gént izoláltuk és intézetünkben már folynak a géntranszformációs kísérletek, melyek során a gént eltérő HMW-glutenin alegységösszetételű genotípusokba transzformálják, így a sikeres transzformációt követően a fehérjealegység minőségére gyakorolt hatása in vivo tanulmányozható lesz.

Eredményeink alapján levonható tehát az a következtetés, hogy akár fehérje szintű analízissel, akár a gének szintjén lehetőség van a különböző minőségi tulajdonságokkal kapcsoltságot mutató tartalékfehérjék azonosítására, izolálására. Mivel a régi magyar búzafajták köre ilyen szempontból még kevésbé tanulmányozott, így mód van speciális igényeket kielégítő (pl. nagy nyújthatóság, vagy extra erős siker) genotípusok azonosítására, illetve a különböző allélkombinációjú törzskeverékek előállításával a kívánt minőségi tulajdonságok erősítésére.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném köszönetem kifejezni szüleimnek és családomnak, továbbá mindazoknak, akik hozzájárultak dolgozatom elkészültéhez:

Köszönettel tartozom témavezetőimnek Dr. Bedő Zoltánnak és Dr. Salgó Andrásnak szakmai tanácsaikért és támogatásukért. Külön köszönöm Dr. Tamás Lászlónak (ELTE, Növényélettan Tanszék), Dr. Békés Ferencnek (CSIRO Plant Industry, Ausztrália) és Prof. Friedrich J. Zellernek (TU München, Növénynevelési és Termesztési Tanszék) gyakorlati munkámban és a dolgozat megírásában nyújtott óriási segítségüket. Köszönöm a lisztlabor dolgozóinak, Szanyó Sándornénak, Szántai Mihálynénak és Szeidl Antalnénak a minőségvizsgálatokban végzett segítségét. Köszönöm Dr. Vida Gyulának és Dr. Kemény Sándornak az eredmények statisztikai kiértékelésében adott hasznos tanácsait. Köszönettel tartozom a Német Felsőoktatási Cserebizottságnak (DAAD) a 10 hónapos német tanulmányúrtért.

Végül köszönetem Szűcs Péternek tanácsaiért és segítő kritikáiért.

8 Irodalomjegyzék

- AACC Method 54-30: Alveograph Method for soft wheat flour. Approved Methods of the AACC, 8th Edition, St. Paul, Minnesota, 1983
- AACC Method 54-40: Mixograph method. Approved Methods of the AACC, 8th Edition, St. Paul, Minnesota, 1983
- AACC Method 56-50: Pelshenke-test. Approved Methods of the AACC, 8th Edition, St. Paul, Minnesota, 1983
- AACC Method 56-61A: Sedimentation test based on Zeleny. Approved Methods of the AACC, 8th Edition, St. Paul, Minnesota, 1983
- Alvarez, J.B., D'Ovidio, R. and Lafandra, D.: Comparison of allelic x-type genes present at the Glu-D1 locus in bread wheat by PCR and sequence analysis of their N-terminal domain. *J. Genet. & Breed.* 51: 161-166, 1997
- Anderson, O.D. and Green, F.C.: The α -gliadin gene family. II. DNA and protein sequence variation, subfamily structure and origins of pseudogenes. *Theor. Appl. Genet.* 95: 59-65, 1997
- Anderson, O.D. and Greene, F.C.: The characterization and comparative analysis of high-molecular-weight glutenin genes from genomes A and B of a hexaploid bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 77: 689-700, 1989
- Anderson, O.D., Greene, F.C., Yip, R.E., Halford, N.G., Shewry, P.R. and Malpica-Romero, J.M.: Nucleotide sequences of the two high-molecular-weight glutenin genes from the D-genome of a hexaploid bread wheat, *Triticum aestivum* L. cv Cheyenne. *Nucleic Acids Research* Vol. 17, 1: 461-462, 1989
- Anderson, O.D., Litts, J.C. and Green, F.C.: The α -gliadin gene family. I. Characterization of ten new wheat α -gliadin genomic clones, evidence for limited sequence conservation of flanking DNA, and Southern analysis of the gene family. *Theor. Appl. Genet.* 95: 50-58, 1997
- Batey, I.L., Gupta, R.B. and MacRitchie, F.: Use of size-exclusion high-performance liquid chromatography in the study of wheat flour proteins: An improved chromatographic procedure. *Cereal Chemistry* 68: 207-209, 1991
- Beccari, J.B.: De Frumento. De Bononiensi Scientarium et Artium. Instituto atque Academia Commentarii: Bologna 2: 122-127, 1745
- Bedő, Z., Kárpáti, M., Vida, Gy., Kramarik-Kissimon, J. and Láng, L.: Good breadmaking quality wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes with 2+12 subunit composition at the Glu-D1 locus. *Cer. Res. Comm* 23, 3: 283-289, 1995
- Bedő, Z.: Improvement in the genetic basis for breadmaking quality in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Symp. On Prospectives of Cereal Breeding in Europe*, 4-7 September 1994. Plantahof; Landquart, Switzerland, p. 95-96, 1994
- Békés, F., Anderson, O., Gras, P.W., Gupta, R.B., Tam, A., Wrigley, C.W., Appels, R.: The contributions to mixing properties of 1D HMW glutenin subunits expressed in a bacterial system. In: *Improvement of cereal quality by genetic engineering. Proceedings of the Royal Australian Chemistry Institute, Cereal Chemistry Division Symposium on Improvement of Cereal Quality by Genetic Engineering*. R.J. Henry and J.A. Ronalds eds., Sydney, Australia, 12-16 September 1993. 97-103, 1994c
- Békés, F., Gras, P.W. and Gupta, R.B.: Mixing properties as a measure of reversible reduction/oxidation of doughs. *Cereal Chem.* 71:44-50, 1994a
- Békés, F., Gras, P.W., Gupta, R.B., Hickman, D.R. and Tatham, A.S.: Effects of a high Mr Glutenin Subunit (1Bx20) on the dough mixing properties of wheat flour. *J. Cereal Sci.* 19:3-7, 1994b
- Belea, A.: A búza rendszere és származása. A búzatermesztés kézikönyve. Szerk.: Barabás Zoltán, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1987
- Bloksma, A.H. and Bushuk, W.: Rheology and chemistry of dough. In: *Wheat: Chemistry and technology*, Vol. II, Y. Pomeranz, ed. AACC, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 131-217, 1988

- Branlard, G. and Dardevet, M.: Diversity of grain protein and bread wheat quality. II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics. *J. of Cereal Sci.* 3: 345-354, 1985
- Burnouf, T. and Bouriquet R.: Glutenin subunits of genetically related European hexaploid wheat cultivars: their relation to bread-making quality. *Theor. Appl. Genet.* 58: 153-159, 1980
- Bushuk, W.: Interactions in wheat doughs. In: *Interactions: The Keys to Cereal Quality* (R.J. Hamer and R.C. Hoseney eds.) AACC, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 1-15, 1998
- Cassidy, B.G., Dvorak, J. and Anderson, O.D.: The wheat low-molecular-weight glutenin genes: characterization of six new genes and progress in understanding gene family structure. *Theor Appl Genet* 96: 743-750, 1998.
- Ciaffi, M., Lee, Y.K., Tamás, L., Gupta, R., Skerritt, J. and Appels, R.: The low-molecular-weight glutenin subunit proteins of primitive wheats. III. The genes from D-genome species. *Theor Appl Genet* 98: 135-148, 1998.
- Ciaffi, M., Tozzi, L., Borghi, B., Corbellini, M. and Lafiandra, D.: Effect of heat shock during grain filling on the gluten protein composition of bread wheat. *Journal of Cereal Science*, 24:2, 91-100, 1996
- CIMMYT World Wheat Facts and Trends 1995/1996:
http://www.cimmyt.cgiar.org/research/economics/map/facts_trends
- Colot, V., Bartels, D., Thompson, R. and Flavell, R.: Molecular characterization of an active wheat LMW glutenin gene and its relation to other wheat and barley prolamins genes. *Mol. Gen Genet* 216: 81-90, 1989
- Cornish, G. B.: GeneJar Australian Wheat Variety Database, Version 1.7., SARDI, Adelaide, Australia, 2001
- CYMMIT / IGRI: International Crop Information System (ICIS) version 1.0., 2000
- D' Ovidio, R., Tanzarella, O.A. and Porceddu, E.: Nucleotide sequence of a low-molecular-weight glutenin from *Triticum durum*. *Plant Mol Biol* 18: 781-784, 1992b.
- D' Ovidio, R., Masci, S. and Porceddu, E.: Development of a set of oligonucleotide primers specific for genes at the Glu-1 complex loci of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 91: 189-194, 1995
- D' Ovidio, R., Masci, S. and Porceddu, E.: Sequence analysis of the 5' non-coding regions of active and inactive 1Ay HMW glutenin genes from wild and cultivated wheats. *Plant Science* 114: 61-69, 1996b
- D' Ovidio, R., Tanzarella, O., Masci, S., Lafiandra, D. and Porceddu, E.: RFLP and PCR analyses at Gli-1, Gli-2, Glu-1 and Glu-3 loci in cultivated and wild wheats. *Hereditas* 116: 79-85, 1992a
- D'Ovidio, R., Lafiandra, D. and Porceddu, E.: Identification and molecular characterization of a large insertion within the repetitive domain of a high-molecular-weight glutenin subunit gene from hexaploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1048-1053, 1996a
- D'Ovidio, R. and Anderson, O.D.: PCR analysis to distinguish between alleles of a member of multigene family correlated with wheat bread-making quality. *Theor Appl Genet* 88: 759-763, 1994
- D'Ovidio, R., Porceddu, E. and Lafiandra, D.: Pcr analysis of genes encoding allelic variants of high-molecular-weight glutenin subunits at the Glu-D1 locus. *Theor Appl Genet* 88: 175-180, 1994
- Dweikat, I., Mackenzie, S., Levy, M. and Ohm, H.: Pedigree assessment using RAPD-DGGE in cereal crop species. *Theor Appl Genet* 85: 497-505, 1993
- Ewart, J.A.D.: A hypothesis for the structure and rheology of glutenin. *J. Sci. Food Agric.*, 19: 617-623, 1968
- Ewart, J.A.D.: A modified hypothesis for the structure and rheology of glutelins. *J. of the Science of Food and Agric.*, 23: 687-699, 1972
- Ewart, J.A.D.: Blocked thiols in glutenin and protein quality. *J. Sci. Food Agric.* 36:101-112, 1985
- Ewart, J.A.D.: Calculated molecular weight distribution for glutenin. *J. Sci. Food Agric.* 38: 277-289, 1987

- Ewart, J.A.D.: Studies on disulfide bonds in glutenin. *Cereal Chem.* 65: 95-100, 1988
- Fariselli, P., Riccobelli, P. and Casadio, R.: The role of evolutionary information in predicting the disulfide bonding state of cysteines in proteins. *PROTEINS* 36:340-346, 1999
- Fehér, A.: Molekuláris genetika és növénynevelés: modern módszerek egy ősi tudományban. *Molekuláris növénybiológia* (Szerk: Balázs E. és Dudits D.) Akadémia Kiadó, Budapest, 669-707, 1999
- Field, J.M., Shewry, P.R., and Mifflin, B.J.: Solubilization and characterization of wheat gluten proteins; correlations between the amount of aggregated proteins and baking quality. *J. Sci. Food Agric.* 34: 370-377, 1983
- Finney, K.F. and Shogren, M.D.: A Ten-gram Mixograph for determining and predicting functional properties of wheat flours. *Bakers Digest* 46: 32-42, 1972
- Gao, L., Ng, P.K.W. and Bushuk, W.: Structure of glutenin based on farinograph and electrophoretic results. *Cereal Chem.* 69: 452-455, 1992
- Goldsborough, A.P., Robert, L., Schinck, D. and Flavell, R.B.: Molecular comparisons between breadmaking quality determining high molecular weight glutenin subunits of wheat gluten. In: *Proceedings of the 7th International Wheat Genetics Symposium*, Cambridge, pp. 727-733, 1988
- Goldstein, S.: Sulfhydryl- und Disulfidgruppen der Klebereiweisse und ihre Beziehung zur Backfähigkeit der Brotmehle. *Mitt. Geb. Lebensmittel Unters Hyg.* 48:87-93, 1957
- Grain Genes – A Small Grains and Sugarcane Database <http://wheat.pw.usda.gov>
- Gras, P.W. and Békés, F.: Small-scale testing: The development of instrumentation and application as a research tool. In: Wrigley, C.W. (Ed.), *Proceedings of the 6th International Gluten Workshop*, Royal Australian Chemical Institute, Sydney, pp. 506-510, 1996
- Graveland, A., Bosveld, P., Lichtendonk, W.J., Marseille, J.P., Moonen, J.H.E. and Scheepstra, A.: Extraction and fractionation of wheat flour proteins. *J. Sci Food Agric.*, 33:1117-1128, 1982
- Graveland, A., Bosveld, P., Lichtendonk, W.J., Marseille, J.P., Moonen, J.H.E., and Scheepstra, A.: A model for the molecular structure of the glutenins from wheat flour. *J. of Cereal Sci.* 3:1-16, 1985
- Gupta, R.B. and MacRitchie, F.: Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, Glu-1, Glu-3 and Gli-1, of common wheats. II. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties. *J. Cereal Sci.* 19:19-29, 1994
- Gupta, R.B., and Shepherd, K.W.: Low Molecular Weight glutenin subunits in wheat: Their variation, inheritance and association with physical dough properties. In: Miller, T.E. and Koebner, R.M.D. (eds.), *Proceedings of the 7th International Wheat Genetic Symposium*, Cambridge, UK, pp. 943-949, 1988
- Gupta, R.B., and Shepherd, K.W.: Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutelin. I. Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheats. *Theor. Appl. Genet.* 80: 65-74, 1990
- Gupta, R.B., Khan, K. and MacRitchie, F.: Biochemical basis of flour properties in bread wheats. I. Effects of variation in the quantity and size distribution of polymeric protein. *J. of Cereal Sci.* 18:23-41, 1993
- Gupta, R.B., MacRitchie, F., Shepherd, K.W., and Ellison, F.: Relative contributions of LMW and HMW glutenin subunits to dough strength and dough stickiness of bread wheat. In: *Gluten Proteins 1991*. (W. Bushuk and R. Tkachuk eds.) AACCC, St.Paul, Minnesota, USA, pp.71-80, 1991
- Gupta, R.B., Paul, J.G., Cornish, G.B., Palmer, G.A., Békés, F. and Rathjen, A.J.: Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, Glu-1, Glu-3 and Gli-1, of common wheats. I. Its additive and interaction effects on dough properties. *J. Cereal Sci.* 19:9-17, 1994
- Gupta, R.B., Popineau, Y., Lefebvre, J., Cornec, M., and MacRitchie, F.: Biochemical basis of flour properties in bread wheats. II. Changes in polymeric protein formation and dough/gluten properties associated with the loss of low Mr or high Mr glutenin subunits. *J. Cereal Sci.* 21:103-116, 1995

- Gupta, R.B., Singh, N.K. and Shepherd, K.W.: The cumulative effect of allelic variation in LMW and HMW glutenin subunits on dough properties in the progeny of two bread wheats. *Theor. Appl. Genet.* 77:57-64, 1989
- Gupta, R.B.: Genetic control of LMW glutenin subunits in bread wheat and association with physical dough properties. In: *Proceedings of the Gluten Proteins Workshop* (Lásztity, R. and Békés, F. eds.), Budapest World Scientific, Budapest, pp13-19, 1987
- Hänsel H., Seibert L., Gröger S., Lelley T. 1994 HMW-Glutenin Unterheiten von 22 seit 1948 in Österreich gezüchteten Qualitätswinterweizen und von deren Eltern. Genetische Ertragssteigerung und Qualitäts-Stabilisierung unter Beibehaltung der Glu-B1/Glu-D1 Kombination 7+9/5+10. Bericht über die 45. Arbeitstagung 1994 der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtler im Rahmen der "Vereinigung österreichischer Pflanzzüchter", BAL Gumpenstein, 22-24.Nov. 1994
- Halford, N.G., Field, J.M., Blair, H., Urwin, P., Moore, K., Robert, L., Thompson, R., Flavell, R.B., Tatham, A.R., Shewry, P.R.: Analysis of HMW glutenin subunit encoded by chromosome 1A of bread wheat: (*Triticum aestivum* L.) indicates quantitative effects on grain quality. *TAG* 83:373-378, 1992
- Halford, N.G., Forde, J., Shewry, P.R. and Kreis, M.: Functional analysis of the upstream regions of a silent and an expressed member of a family of wheat seed protein genes in transgenic tobacco. *Plant Science Limerick* 62: 2, 207-216, 1989
- Halverson, J. and Zeleny, L.: Criteria of wheat quality. In: *Wheat: Chemistry and Technology* (Y. Pomeranz ed.), Vol. II., AACC, St.Paul, Minnesota, USA, pp. 15-46, 1988
- Hamer, R.J., Weegels, W.P. and Marseille, J.P.: Prediction of breadmaking quality of wheat: The use of HMW glutenin subunit based quality scoring systems. *J. Cer.Sci.* 15: 91-102, 1992
- Harberd, N.P., Bartels, D. and Thompson, R.D.: Analysis of the gliadin multigene loci in bread wheat using nullisomic-tetrasomic lines. *Mol. Gen Genet* 198: 234-242, 1985
- Harberd, N.P., Bartels, D., Thompson, R.D.: DNA restriction-fragment variation in the gene family encoding high-molecular-weight (HMW) glutenin subunits of wheat. *Biochem Genet* 24: 579-595, 1986
- Huebner, F.R. and Bietz, J.A.: Detection of quality differences among wheats by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatography* 327:333-342, 1985
- ICC No. 114/1: Method for using the Brabender Extensograph, ICC Vienna, 1995
- ICC No. 115/1: Method for using the Brabender Farinograph, ICC Vienna, 1995
- ICC No. 137/1: Mechanical determination of the wet gluten content of wheat flour (Glutomatic) , ICC Vienna, 1995
- ICC No. 155: Determination of wet gluten quality and quantity (Gluten Index ac. to Perten) of whole meal and wheat flour (*Triticum aestivum*), ICC Vienna, 1995
- Igrejas, G., Branlard, G., Carnide, V., Gateau, I. and Guedes-Pinto, H.: Storage protein diversity within the old Portuguese bread wheat Barbeta population *J. Genet. and Breeding* 51: 167-173, 1997
- Jackson, E.A. and Garrett, C.L.: Further work on the classification of the alleles at the Gli-1/Glu-3 loci. In: *Proc. of the International Meeting „Wheat Kernel Proteins – molecular and functional aspects”*, S. Martino al Cimino, Viterbo, Italy, publ. Università degli Studi della Tuscia, pp. 245-248, 1994
- Jackson, E.A., Holt, L.M. and Payne, P.I.: Characterization of high-molecular-weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal localization of their controlling genes. *Theor. Appl. Genet.* 66: 29-37, 1983
- Jackson, E.A., Morel, M.H., Sontag-Strohm, T., Branlard, G., Metakovsky E.V. and Redaelli, R. Proposal for combining the classification systems of alleles of Gli-1 and Glu-3 loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) *J. Genet & Breed.* 50: 321-336, 1996
- Jones, R.W., Babcock, G.E., Taylor, N.W. and Senti, F.R.: Molecular weights of wheat gluten fractions. *Arch. Biochem. Biophys.* 94:483-488, 1961

- Juhász, A., Kárpáti, M., Vida, Gy., Rakszegi, M., Láng, L., Zeller, F.J., Hsam, S.L.K. és Bedő Z.: Régi magyar búzafajták populációinak elemzése új genetikai források előállítására. Az Agrobiodiverzitás megőrzése és hasznosítása – szimpózium Jánossy Andor emlékére. 67-71, 2000
- Juhász, A., Zeller, F.J., Bedő, Z., und Láng, L.: Die Backqualität ungarischer Winterweizensorten entsprechend der deutschen Sorteneinstufung. *Getreide Mehl und Brot* 54, 5: 271-274, 2000
- Kárpáti, M., Bedő, Z., Fata, R. és Budai, H.: Régi magyar búzafajták glutenin fehérjének genetikai variabilitása. *Növénynevelési tudományos napok '94*, 51.o., 1995
- Kasarda, D.D.: Glutenin structure in relation to wheat quality. In: *Wheat is Unique. Structure, composition, processing, end-use properties and products.* (Y. Pomeranz ed.), AACC, St. Paul, Minnesota, USA, 277-302, 1989
- Kiss, Gy. B. és Endre, G.: Molekuláris markerek alkalmazása a növénygenetikában. *Molekuláris növénybiológia* (Szerk: Balázs E. és Dudits D.) Akadémia Kiadó, Budapest, 37-91, 1999
- Koltay Á. és Balla L.: Búzatermesztés és –nemesítés. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 197-221, 1982
- Kossutány, T.: Az 1900-1905. évi magyar búzák és magyar lisztek kémiai és fizikai vizsgálata. *Kísérletügyi Közlemények IX*, Pallas Részvénytársaság Nyomdája, Budapest, 1906.
- Kreis, M., Forde, B.G., Rahman, S., Mifflin, B.J. and Shewry, P.R.: Molecular evolution of the seed storage proteins of barley, rye and wheat. *Journal of Molecular Biology* 183: 499-502, 1985a
- Kreis, M., Shewry, P.R., Forde, B.G., Forde, J. and Mifflin, B.J.: Structure and evolution of seed storage proteins and their genes, with particular reference to those of wheat, barley and rye. In *Oxford Surveys of Plant Cell and Molecular Biology Vol. 2* (ed. B.J. Mifflin), Oxford University Press, Oxford, pp. 253-317, 1985b
- Lafiandra, D., Colaprico, G., Kasarda, D.D. and Porceddu, E.: Null alleles for gliadin blocks in bread and durum wheat cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 74: 610-616, 1987a
- Lafiandra, D., Splendido, R., Tomassini, C. and Porceddu, E.: Lack of expression of certain storage proteins in bread wheats: distribution and genetic analysis of null forms. In: R. Lasztity and F. Békés eds., *Gluten Proteins* (Proc. 3rd Intern. Workshop, Budapest, 1987) World Scientific, Singapore, New Jersey, Hong Kong, pp. 71-90, 1987b
- Lagudah, E.S., Flood, R.G. and Halloran, G.M.: Variation in high molecular weight glutenin subunits in landraces of hexaploid wheat from Afghanistan. *Euphytica*, 36:1, 3-9, 1987
- Larroque, O., Giannibelli, M.C. and MacRitchie, F.: Protein composition for pairs of wheat lines with contrasting dough extensibility. *Journal of Cereal Science* 29:1, 27-31, 1999
- Larroque, O.R., Giannibelli, M.C., Batey, I.L. and MacRitchie, F.: Electrophoretic characterisation of fractions collected from gluten protein extracts subjected to size-exclusion high-performance liquid chromatography. *Electrophoresis* 18:1064-1067, 1997
- Lásztity, R., Nedelkovits, J., Varga, J.: Sztruktúra vüszokomolekulárnüch komponentov belkov klejkovinü. IUPAC Konferencia, Riga, 1970
- Lásztity, R.: A búzafehérje kutatás újabb eredményei. Az MTA Élelmiszertudományi Komplex Bizottság Kollokviuma. Budapest, 1969
- Lásztity, R.: *The chemistry of cereal proteins.* CRC Press, Boca Raton, 19-138, 1996
- Lawrence, G.J. and Payne, P.I.: Detection by gel electrophoresis of oligomers formed by the association of high-molecular-weight glutenin protein subunits of wheat endosperm. *J. Exp. Botany* 34:254-267, 1983
- Lawrence, G.J. and Shepherd, K.W.: Variation in glutenin protein subunits of wheat. *Aust. J. Biol.* 33:221-233, 1980
- Lelley, J. és Mándy, Gy.: *A búza*, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1963
- Lelley, J. és Rajháthy, T.: *A búza és nemesítése*, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1955
- Lelley, T., Pechanek, U., Gröger, S., Karger, A., Charvat, B., Schögl, G. and Liebhard, P.: Effect of N-fertilisation on quantity of different protein components of the gluten; consequences for bread-making quality. *Gluten '96, Proceedings of the 6th International Gluten Workshop*, North Melbourne, Australia, 465-469, 1996

- Lew, E.J.L., Kuzmicky, D.D. and Kasarda D.D.: Characterisation of low molecular weight glutenin subunits by reversed-phase high-performance liquid chromatography, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, and N-terminal amino acid sequencing. *Cereal Chem.* 69:508-515, 1992
- MacRitchie, F.: Physicochemical properties of wheat proteins in relation to functionality. *Advances in Food and Nutrition Research* 36: 1-87, 1992
- Marchylo, B.A., Kruger, J.E. and Hatcher, D.W.: Quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatographic analysis of wheat storage proteins as a potential quality prediction tool. *J. Cereal Sci.* 9:113-130, 1989
- Margiotta B., Urbano M., Colaprico G., Johansson E., Buonocore F., D' Ovidio R. and Lafiandra D. Detection of γ -type subunit at the Glu-A1 locus in some Swedish bread wheat lines. *Journal of Cereal Sci.* 23:3, 203-211, 1996
- Marion, D., and Dubreil, L.: Lipids, lipid-protein interactions and the quality of baked cereal products. In: *Interactions: The Keys to Cereal Quality* (R.J. Hamer and R.C. Hoseneys eds.) AACC, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 131-167, 1998
- Masci, S., Lafiandra, D., Porceddu, E., Lew, E. J-L., Tao, H.P. and Kasarda, D.D.: D-glutenin subunits: N-terminal sequences and evidence for the presence of cysteine. *Cereal Chemistry*, 70: 581-585, 1993
- Metakovsky, E.V., Wrigley, C.W., Békés, F. and Gupta, R.B.: Gluten polypeptides as useful genetic markers of dough quality in Australian wheats. *Australian Journ. Agric. Res.* 41:289-306, 1990
- Metakovsky, E.V.: Gliadin allele identification in common wheat. II. Catalogue of gliadin alleles in common wheat. *J. Genet. and Breed.*, 45: 325-344, 1991
- Mifflin, B.J., Field, J.M. and Shewry, P.R.: in *Seed Proteins* (Daussant, J., Mossé, J. and Vaughan, J. eds.), pp. 255-319, Academic Press, London, 1983
- Miller T.E.: Systematic and Evolution . In *Wheat Breeding: Its scientific basis* (Edited by T.E. Miller) Chaptman and Hall, London, 1-30, 1987
- Mokry, S.: *Búzanemesítés, Gyula*, 1875
- Moonen, J.E., Scheepstra, A. and Graveland, A.: Use of the SDS-sedimentation test and SDS-polyacrylamide gel electrophoresis for screening breeder's samples of wheat for bread-making quality. *Euphytica* 31:677-690, 1982
- MSZ 6369/6-1998: Lisztvizsgálati módszerek. A vízfelvevő képesség és a sütőipari érték vizsgálata, MSZT, Budapest, 1998
- MSZ 6383-1998: Búza, MSZT, Budapest, 1998
- MSZ ISO 5530-1: Búzaliszt. A tészta fizikai jellemzői. 1. rész: A vízfelvevő képesség és a reológiai tulajdonságok meghatározása farinográffal, MSZT, Budapest, 1998
- Ng, P.K.W. and Bushuk, W.: Statistical relationships between high molecular weight subunits of glutenin and breadmaking quality of Canadian-grown wheats. *Cereal Chemistry* 65: 408-413, 1988
- Okita, T.W., Cheesbrough, V. and Reeves, C.D.: Evolution and heterogeneity of the α -/ β -type and γ -type gliadin DNA sequences. *J. Biol. Chemistry*, 260: 8203-8213, 1985
- Orth R.A. and Shellenberger J.A. :Origin, Production , and utilization of Wheat. In: *Wheat: Chemistry and Technology* Edited by Y. Pomeranz, AACC, St. Paul, Minnesota, USA, Third edition 1988
- Osborne, T.B.: *The proteins of the wheat kernel*. Carnegie Institute, Washington D.C., 1907
- Osborne, T.B.: *The vegetable proteins*. Longmans, Green and Co., London, 1924
- Parmentier, A.A.: *Examine Chimique de Pommes de Terre, dans Lequel On Trait des Parties Constituents du Blé*, Didot Dejeaune, Paris, 1773
- Payne P.I.: Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Ann. Rev. Plant physiol.* 38: 141-153, 1987

- Payne, P.I. and G.J. Lawrence: Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high molecular weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res. Commun.* 11: 29-35, 1983
- Payne, P.I., Corfield, K.G. and Blackman, J.A.: Identification of a high-molecular-weight subunit of glutenin whose presence correlates with bread-making quality in wheats of related pedigree. *Theor. Appl. Genet.* 55:153-159, 1979
- Payne, P.I., Corfield, K.G., Holt, L.M. and Blackman, J.A.: Correlations between the inheritance of certain high-molecular-weight subunit of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. *J. Sci. Food Agric.* 32, 51-60, 1981b
- Payne, P.I., Holt, L.M. and Law, C.N.: Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin. Part I. Allelic variation in subunits amongst varieties of wheat (*Triticum aestivum*). *Theor. Appl. Genet.* 60: 229-236, 1981a
- Payne, P.I., Holt, L.M., and Lister, P.G.: Gli-A3 and Gli-B3, two newly designated loci coding for omega-type gliadins and D subunits of glutenin. In *Proceedings of the 7th International Wheat Genetic Symposium* (eds. Miller, T.E. and Koebner, R.M.D) Bath Press, Bath, England pp. 999-1002, 1988
- Payne, P.I., Holt, L.M., Hutchinson, J. and Bennett, M.D.: Development and characterization of a line of bread wheat, *Triticum aestivum*, which lacks the short-arm satellite of chromosome 1B and Gli-B1 locus. *Theor. Appl. Genet.*, 68: 327-334, 1984c
- Payne, P.I., Holt, L.M., Jackson, E.A. and Law, C.N.: Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 304, 359-371, 1984a
- Payne, P.I., Holt, L.M., Thompson, R.D., Bartels, D., Harberd, N.P., Harris, P.A. and Law, C.N.: The high molecular weight subunits of glutenins: classical genetics, molecular genetics and the relationship to breadmaking quality. *Proceedings of the 6th International Wheat Genetics Symposium*, Kyoto, Japan, pp. 827-834, 1983
- Payne, P.I., Jackson, E.A., Holt, L.M., Law, C.N.: Genetic linkage between endosperm storage protein genes on each of the short arms of chromosomes 1A and 1B in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 67: 235-243, 1984b
- Pogna, P.E., Autran, J.-C., Mellini, F., Lafiandra, D. and Feillet, P.: Chromosome 1B-encoded gliadins and glutenin subunits in durum wheat: Genetics and relationship to gluten strength. *J. of Cereal Sci.* 11:15-34, 1990
- Pollhamer, E: A búza és liszt minősége, *Mezőgazdasági Kiadó*, Budapest, 1981
- Pomeranz, Y.: Composition and functionality of wheat flour components. In: *Wheat: Chemistry and Technology* (Y. Pomeranz ed.), Vol.II. AACC, St.Paul, Minnesota, USA, pp. 219-370, 1988
- Popineau, Y. and Pineau, F.: Changes of conformation and surface hydrophobicity of gliadins. *Lebensmittel Wissenschaft Technologie* 21: 113-117, 1988
- Popineau, Y., Cornec, M., Lefabvre, J., and Marchylo, B.: Influence of high Mr glutenin subunits on glutenin polymers and rheological properties of glutes and gluten subfractions of near-isogenic lines of wheat Sicco. *Journal of Cer. Sci.* 19: 234-241, 1994
- Randall, P.J. and Wrigley, C.W.: Effects of sulphur supply on the yield, composition and quality of grain from cereals, oilseeds, and legumes, in *Advances in Cereal Science and Technology*, Vol VIII (ed. Y. Pomeranz) AACC, St. Paul, Minnesota, USA, pp 173-206, 1986
- Rath, C.R., Gras, P.W., Wrigley, C.W. and Walker, C.E.: Evaluation of dough properties from two grams of flour using the Mixograph principle. *Cereal Foods World* 35:572-574, 1990
- Rath, C.R., Gras, P.W., Zhen, Z., Appels, R., Békés, F., and Wrigley, C.W.: A prototype extension tester for two-gram dough sample. In: *Proceedings of the 44th Australian Cereal Chemistry Conference*, Royal Australian Chemistry Institute, Melbourne, pp. 122-126, 1994
- Reeves, C.D. and Okita, T.W.: Analyses of α/β -gliadin genes from diploid and hexaploid wheats. *Gene* 52: 257-266, 1987

- Rodriguez-Ouijano, M. and Carrillo, J.M.: Relationship between allelic variation of Glu-1 and Gli-1/Glu-3 prolamin loci and gluten strength in hexaploid wheat. *Euphytica* 91:141-148, 1996
- Schofield, J.D., Bottomley, R.C., Timms, M.F., and Booth, M.R.: The effect of heat on wheat gluten and the involvement of sulfydryl-disulphide interchange reactions. *J. Cereal Sci.* 1:241-253, 1983
- Schropp, P. and Wieser, H.: Effects of high molecular weight subunits of glutenin on the rheological properties of wheat gluten. *Cereal Chem.* 73(3):410-413, 1996
- Seilmeier, W., Belitz, H.D. and Wieser, H.: Separation and quantitative determination of high-molecular-weight subunits of glutenin from different wheat varieties and genetic variants of the variety Sicco. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und –Forschung* 192: 124-129, 1991
- Shewry, P.R. and Casey, R.: Seed proteins. In: *Seed Proteins* (eds.: P.R. Shewry and R. Casey), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp 1-10, 1999
- Shewry, P.R. and Tatham, A.S.: Biotechnology of wheat quality. *J. Sci. Food Agric* 73: 397-406, 1997a
- Shewry, P.R. and Tatham, A.S.: Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *Journal of Cereal Science* 25: 207-227, 1997b
- Shewry, P.R. and Tatham, A.S.: The Characteristics, Structures and Evolutionary Relationships of Prolamins. In: *Seed Proteins* (eds.: P.R. Shewry and R. Casey), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp 11-33, 1999
- Shewry, P.R. and Tatham, A.S.: The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution, *Biochem. J.*, 267. 1-12, 1990
- Shewry, P.R., Bradberry, D., Franklin, J. and White, R.D.: The chromosomal locations and linkage relationships of the structural genes for the prolamin storage proteins (secalins) of rye. *Theor. Appl. Genet.* 69: 63-69, 1984
- Shewry, P.R., Franklin, J., Parmar, S., Smith, S.J. and Mifflin, B.J.: The effects of sulphur starvation on the amino acid and protein compositions of barley grain. *Journal of Cereal Science* 1, 21-31, 1983a
- Shewry, P.R., Halford, N.G. and Tatham, A.S.: The high molecular weight subunits of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* 15: 105-120, 1992
- Shewry, P.R., Mifflin, B.J., Lew, E.J.-L. and Kasarda, D.D.: The preparation and characterization of an aggregated gliadin fraction from wheat. *J. Exp.Bot.* 34, 1403-1410, 1983b
- Shewry, P.R., Parmar, S. and Mifflin, B.J.: Extraction, separation and polymorphism of the prolamin storage proteins (secalins) of rye. *Cereal Chem.*, 60:1, 1-6, 1983c
- Shewry, P.R., Tatham, A.S., Barro, F., Barcelo, P. and Lazerri, P.: Biotechnology of breadmaking: unrevalling and manipulating the multi-protein gluten complex. *Bio-Technology* 13: 1185-1190, 1995
- Singh, N.K. and Shepherd, K.W.: Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in wheat. I Genes on the short arms of group 1 chromosomes. *Theor. Appl. Genet.*, 75: 628-641, 1988
- Singh, N.K., Donovan, G.R. and MacRitchie, F.: Use of sonication and size-exclusion HPLC in the study of wheat flour proteins. II. Relative quantity of glutenin as a measure of breadmaking quality. *Cereal Chem.* 67:161-170, 1990
- Southan, M. and MacRitchie, F.: Molecular Weight Distribution of Wheat Proteins. *Cereal Chem.* 76 (6):827-836, 1999
- Sozinov, A.A. and Poperelya, F.A.: Genetic classification of prolamines and its use for plant breeding. *Ann. Technol. Agric.*, 29: 229-245, 1980
- Sozinov, A.A. and Poperelya, F.A.: Polymorphism of prolamins and variability of grain quality. *Qual. Plant. Plant Foods Hum. Nutr.* 31: 243-49, 1982
- Stevenson, S.G. and Preston, K.R.: Flow field-flow fractionation of wheat proteins. *J. Cereal Sci.* 23:113-119, 1996
- Sugiyama, T., Rafalski, A., and Söll, D.: The nucleotide sequence of a wheat γ -gliadin clone. *Plant Sci.* 44:205-209, 1986

- Sugiyama, T., Rafalski, T., Peterson, D., Soell, D.G.: A wheat HMW glutenin gene reveals highly repeated structure. *Nucleic Acids Res.* 13: 8729-8737, 1985
- Sumner-Smith, M., Rafalski, J.A., Sugiyama, T., Stoll, M. and Soll, D.: Conservation and variability of wheat α/β -gliadin genes. *Nucl. Acid Res.*, 13: 3905-3916, 1985
- Sutton, H.K.: Qualitative and quantitative variation among high molecular weight subunits of glutenin detected by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Cereal Sci.* 14:25-34, 1991
- Taddei, G.: *Brugnatelli* (2) 2, 360-361, 1819
- Tahir, M., Turchetta, T., Anwar, R. and Lafiandra, D.: Assessment of genetic variability in hexaploid wheat landraces of Pakistan based on polymorphism for HMW glutenin subunits. *Genetic Res. and Crop Evolution* 43: 211-220, 1996
- Tanksley, S.D.: Mapping polygenes. *Annu Rev Genet* 27: 205-233, 1993
- Tao, H.P. and Kasarda, D.D.: Two-dimensional gel mapping and N-terminal sequencing of LMW – glutenin subunits. *J. Exp. Bot.*, 40: 1015-1020, 1989
- Tatham, A.S., Hayes, L., Shewry, P.R. and Urry, D.W.: Wheat seed proteins exhibit a complex mechanism of protein elasticity. *Biochimica et Biophysica Acta* 1548 187-193, 2001
- Tilley, M., Bean, S.R., Seib, P.A., Sears, R.G. and Lookhart, G.L.: PCR amplification and DNA sequencing of high molecular weight glutenin subunits 43 and 44 from *Triticum tauschii* accession TA2450. *Wheat Gluten* (P.R. Shewry and A.S. Tatham eds.) The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp105-108, 2000
- Tkachuk, R. and Mellish, V.J.: Use of 2D electrophoretic procedures to characterise wheat proteins. In: *Proceedings of the 3rd International Gluten Workshop* (R. Lásztity and F. Békés eds.), World Scientific, Singapore, pp 111-124, 1988
- Tömösközi, S., Varga, J., Gras, P., Rath, C., Salgó, A., Nánási, J., Fodor, D. and F. Békés: Scale down possibilities in development of dough testing methods. In: *Wheat gluten* (P.R. Shewry and A.S. Tatham eds.) The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 321-325, 2000
- Uthayakumaran, S., Stoddard, F.L., Gras, P.W. and Békés, F.: Effects of incorporated glutenins on functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry* 77: 737-743, 2000
- Van Campenhout, S., Stappen, J.V., Sági, L. and Volckaert, G.: Locus-specific primers for LMW glutenin genes on each of the group 1 chromosomes of hexaploid wheat. *Theor Appl Genet* 91: 313-319, 1995
- Vavilov, N.I.: Centres of origin of cultivated plants. *Bulletin of Applied Botany and Plant Breeding (Leningrad)* 16: 139-248, 1926
- Vavilov, N.I.: The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. *Chronica Botanica* 13:139-248, 1951
- Vida, Gy., Bedő, Z., Láng, L. and Juhász, A.: Analysis of the quality traits of a Bánkúti 1201 population. *Cereal Res. Comm.* Vol.26, 3: 313-320, 1998
- Vida, gy., Láng, L. és Bedő Z.: Őszi búzák alveográfus és más sütőipari minőségi tulajdonságai közötti összefüggések elemzése főkomponensanalízissel. *Növénytermelés* 45: 435-443, 1996
- Wahlund, K.-G., Gustavsson, M., MacRitchie, F., Nylander, T. and Wannerberger, L.: Size characterization of wheat proteins, particularly glutenins, by asymmetrical flow field-flow fractionation. *J. Cereal Sci.* 23: 113-119, 1996
- Wheat Quality Electrophoresis, Cereal Research Center, Research Branch Agriculture and Agri Food Canada, Winnipeg, 1998 <http://res2.agr.gc.ca/winnipeg/wce.htm>
- Wieser, H., Seilmeier, W. and Belitz, H.-D.: Use of RP-HPLC for a better understanding of the structure and the functionality of wheat gluten proteins. In: *HPLC of Cereal and Legume Proteins*. J.E. Kruger and J.A. Bietz eds., AACC, St. Paul, Minnesota, USA, pp.235-272, 1994a
- Wieser, H., Seilmeier, W. and Kieffer, R.: Relationship between the amount of gluten protein types and the rheological properties of different wheat cultivars. In: *Gluten Proteins 1993*, Assoc. Cereal Res.: Detmold, Germany, pp. 141-150, 1994b

- Wrigley, C.W., Andrews, J.L., Békés, F., Gras, P.W., Gupta, R.B., MacRitchie, F. and Skerritt, J.H.: Protein-protein Interactions – Essential to Dough Rheology. In: Interactions: The Keys to Cereal Quality (R.J. Hamer and R.C. Hoseney eds.) AACC, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 17-46, 1998
- Wrigley, C.W.: Giant proteins with flour power. *Nature* 381:738-739, 1996
- Xin, H., Jiang, Y., Gu, Q., Sun, C.: Nucleotide sequence of a high-molecular-weight glutenin gene in wheat. *Acta Bot. Sin.* 34(10): 729-735, 1995
- Zillmann, R.R. and Bushuk, W.: Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. II. Effects of environmental and experimental factors on the gliadin electrophoregrams. *Canad. J. Plant Science*, 59: 281-286, 1979
- Zohary, D.:Centers of diversity and centers of origin. In: Genetic Resources in Plants: Their Exploration and Conservation (O.H. Frankel and E. Bennett eds.), Oxford, UK., 1970

9 Függelék

I. táblázat

	HMW-glutenin			LMW-glutenin			Gliadin			PCR fragment összetétel	Fehérje %	SDS ml	Sikér %	Sikér- terülés mm/h	Glutén- index
	Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1	Glu-A3	Glu-B3	Glu-D3	Gli-A1	Gli-B1	Gli-D1						
B 1	2* ^B	7+9	2+12	a	i	c	a	m	a	1300+1160	17,95	89,5	48,25	8,50	76,70
B 2	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,55	75,5	50,00	9,00	67,80
B 4	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,50	84,0	47,95	7,75	63,05
B 5	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,70	76,5	49,75	8,75	70,10
B 8	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+450	17,30	80,0	48,05	7,50	66,55
B 12	2*	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1160	17,40	80,5	48,25	7,75	64,25
B 13	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	16,75	75,5	44,70	7,50	66,05
B 18	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,70	76,5	48,80	8,50	69,25
B 20	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,10	72,5	46,95	6,50	66,55
B 22	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,45	77,5	48,55	6,75	68,70
B 23	2* ^B	7+8	2+12	a	i	c	a	m	a	1300+1160	17,35	68,5	48,10	9,50	59,45
B 24	2* ^B	7+8	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	18,20	83,0	49,15	5,75	73,95
B 25	2* ^B	7+9	2+12	a	i	c	a	m	a	1300+450	16,85	82,0	45,15	6,50	64,35
B 26	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,15	76,5	48,25	8,00	63,75
B 27	1	7+8	2+12	f	i	c	m	m	g	1160	18,20	81,0	45,50	6,50	67,95
B 28	2* ^B	7+8	2+12	a	i	c	a	m	a	1300+1160	17,20	92,5	44,50	4,75	95,00
B 30	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,10	75,5	46,30	7,00	63,60
B 33	2*	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1160	17,70	69,5	51,65	11,75	56,75
B 34	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	16,65	71,5	47,55	9,00	72,40
B 35	2* ^B	7+8	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	16,75	79,5	43,45	5,50	79,70
B 36	1	6+8	5+10	a	i	a	a	m	b	1160	17,55	80,5	48,10	7,25	75,85
B 38	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	g	1300+1160	17,50	76,5	47,65	8,50	57,75
B 41	1	7+8	2+12	d	g	a	e	m	g	1160	17,90	86,0	45,20	3,25	93,00
B 42	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,40	76,0	46,80	7,25	66,55
B 44	2* ^B	7+9	2+12	a	b	c	a	b	g	1300+1160	16,85	101,0	40,45	1,75	99,10
B 45	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	16,95	72,5	46,75	8,25	57,00
B 46	2*	7+8	2+12	a	i	c	f	m	g	1160	17,70	78,0	43,05	3,50	98,75
B 47	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,55	76,5	48,70	8,75	67,15
B 48	2* ^B	7+8	2+12	a	i	c	a	m	a	1300+1160	17,55	83,0	43,10	4,00	97,90
B 52	2* ^B	7+8	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	16,05	80,0	48,20	8,00	75,30
B 61	2*	7+9	2+12	f	i	c	m	m	g	1160	15,95	68,5	46,05	9,25	55,90
B 63	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	16,70	66,5	46,10	8,00	58,85
B 66	2* ^B	7+8	2+12	a	i	c	a	m	b	1300+1160	17,05	90,5	41,80	3,50	98,35
B 68	2* ^B	7+8	2+12	f	i	c	f	m	g	1300+1160	18,15	76,5	43,15	4,00	97,90
B 69	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,10	83,0	46,15	8,00	61,35
B 70	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	16,30	80,0	41,20	5,75	88,00
B 78	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,95	79,0	49,90	8,00	56,50
B 80	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,50	80,0	47,80	7,25	75,60
B 81	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	17,40	70,5	49,00	8,50	55,65
B 82	2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	16,80	72,5	46,00	7,75	62,15
B 84	1	7+8	2+12	a	i	c	a	m	g	1160	17,60	67,5	50,00	12,00	33,65
B 85	1	7+9	2+12	a	i	c	a	m	a	1160	17,15	69,5	50,10	10,75	50,05
B 86	2*	7+8	2+12	a	i	c	a	m	a	1160	17,10	80,5	45,85	5,75	89,65
B 87	2* ^B	7+8	2+12	a	i	c	a	m	a	1300+1160	18,55	85,0	47,45	5,25	87,20
B 88	2* ^B	7+8	2+12	a	i	c	a	m	a	1300+450	17,95	88,5	48,45	6,00	81,70
B 90	2* ^B	7+8	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	16,40	90,5	42,70	4,00	96,00
B 95	1	7+8	2+12	a	i	a	a	m	a	1160	16,85	71,5	44,10	7,50	42,85
B 96	1	7+9	2+12	a	i	c	m	m	a	1160	17,60	77,0	48,65	9,25	49,70
B 97	2* ^B	7+8	2+12	a	i	c	a	m	a	1300+1160	16,50	85,0	38,00	3,25	98,70
B 98	2* ^B	7+8	2+12	f	i	c	m	m	a	1300+1160	15,10	77,5	36,80	4,75	89,25
B 102	1	7+9	2+12	a	i	c	m	m	a	1160	16,80	71,5	47,15	9,75	57,10
B 103	1	7+8	5+10	a	i	a	a	m	g	1160	17,30	87,5	40,55	2,75	99,20

II. táblázat A HMW-glutenin valamint a gliadin és LMW-glutenin allélek azonosításához használt standard fajták és alléloszétételük

Fajta	Származás	Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1	Gli-A1/Glu-A3	Gli-B1/Glu-B3	Gli-D1/Glu-D3
Chinese Spring		-	7+8	2+12	/a	/a	/a
Bezostaja 1		2*	7+9	5+10	/b	/b	/a
Marquis		1	7+9	5+10	/e	/b	/a
Hereward		-	7+9	3+12	/f	/f	/c
Apostle	Nagy-Britannia	-	17+18	2+12	b/f	f/g	g/a
Brimstone	Nagy-Britannia	-	6+8	2+12	f/a	f/g	f/c
Longbow	Nagy-Britannia	-	7	2+12	o/d	f/g	l/c
Avalon	Nagy-Britannia	1	6+8	3+12	f/a	b/b	b/c
Beaver	Nagy-Britannia	-	6+8	2+12	b/f	l/j	b/c
Riband	Nagy-Britannia	-	6+8	2+12	o/d	g/f	b/c
Alpe 1	Olaszország	2*	7+8	5+10	b/a	b/b	b/c
Floreal	Franciaország	1	7+9	5+10	a/a	h/d	l/c
Liocorno	Olaszország	1	7+9	5+10	m/e	b/b	k/a
Ilves	Finnország	2*	7	5+10	m/e	b/b	i/c
Nisu	Finnország	2*	7+9	5+10	f/g	h/d	d/a
Gemini	Olaszország	-	7	2+12	a/a	e/g	d/a
Timone	Olaszország	1	17+18	5+10	o/d	d/h	b/a
Ruso	Finnország	1	7+9	5+10	m/e	k/i	a/a
Pandas	Olaszország	1	7+9	2+12	a/a	m/i	f/c
Pricama	Olaszország	2*	7+9	5+10	m/e	b/b	a/a
Prinqual	Franciaország	2*	17+18	2+12	f/f	c/g	a/a
Salmone	Olaszország	1	7+9	2+12	l/a	s/c	b/c

III. táblázat A Bánkúti 1201 populáció vizsgált törzseiben előforduló tartalékfehérje alléloszététel típusok

HMW-glutenin			LMW-glutenin			Gliadin			(n = 52) db
Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1	Glu-A3	Glu-B3	Glu-D3	Gli-A1	Gli-B1	Gli-D1	
1	6+8	5+10	a	i	a	a	m	b	1
1	7+8	2+12	a	i	a	a	m	a	1
1	7+8	2+12	a	i	c	a	m	g	1
1	7+8	2+12	d	g	a	e	m	g	1
1	7+8	2+12	f	i	c	m	m	g	1
1	7+8	5+10	a	i	a	a	m	g	1
1	7+9	2+12	a	i	c	a	m	a	1
1	7+9	2+12	a	i	c	m	m	a	2
2*	7+8	2+12	a	i	c	f	m	g	1
2*	7+8	2+12	a	i	c	a	m	a	7
2*	7+8	2+12	f	i	c	m	m	a	5
2*	7+8	2+12	f	i	c	f	m	g	1
2*	7+8	2+12	a	i	c	a	m	b	1
2*	7+9	2+12	a	b	c	a	b	g	1
2*	7+9	2+12	a	i	c	a	m	a	2
2*	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	23
2*	7+9	2+12	f	i	c	m	m	g	2

IV. táblázat A Bánkúti 1201 populáció vizsgált törzseiben előforduló módosított tartalékfehérje alléloszététel típusok a 2*^B alegység azonosítását követően. (A táblázat csak a Glu-A11 alegységgel rendelkező csoportokat nem tartalmazza)

HMW-glutenin			LMW-glutenin			Gliadin			(n = 52) db
Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1	Glu-A3	Glu-B3	Glu-D3	Gli-A1	Gli-B1	Gli-D1	
2*	7+8	2+12	a	i	c	a	m	a	1
2*	7+8	2+12	a	i	c	f	m	g	1
2*	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	2
2*	7+9	2+12	f	i	c	m	m	g	1
2* ^B	7+8	2+12	a	i	c	a	m	a	6
2* ^B	7+8	2+12	f	i	c	m	m	a	5
2* ^B	7+8	2+12	f	i	c	f	m	g	1
2* ^B	7+8	2+12	a	i	c	a	m	b	1
2* ^B	7+9	2+12	a	b	c	a	b	g	1
2* ^B	7+9	2+12	a	i	c	a	m	a	2
2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	a	21
2* ^B	7+9	2+12	f	i	c	m	m	g	1

V. táblázat A vizsgált Bánkúti 1201 törzsek SE- és RP-HPLC-vel meghatározott fehérje frakció mennyiségei

Törzsek	SE-HPLC					RP-HPLC								
	Glutenin %	Gliadin %	Alb.Glob %.	GLU/GLI	UPP%	HMW%	LMW %	HMW/LMW	Ax%	Bx%	Dx%	By%	Dy%	x/y
B 1	37,89	52,05	10,06	0,73	46,01	35,96	64,04	0,56	16,29	32,36	24,58	12,56	14,21	2,74
B 2	35,67	54,99	9,34	0,65	44,21	37,92	62,08	0,61	15,57	34,65	23,33	12,21	14,24	2,78
B 8	36,63	53,27	10,10	0,69	45,54	37,64	62,36	0,60	16,69	33,15	23,22	12,91	14,03	2,71
B 13	36,03	53,86	10,12	0,67	47,41	38,39	61,61	0,62	17,84	37,58	21,00	10,03	13,55	3,24
B 18	36,66	53,99	9,35	0,68	46,86	37,27	62,73	0,59	17,07	35,79	21,78	11,65	13,71	2,94
B 20	35,73	54,00	10,27	0,66	45,91	34,95	65,05	0,54	15,30	33,88	22,55	13,19	15,08	2,54
B 24	35,22	54,07	10,71	0,65	54,49	43,75	56,25	0,78	11,61	50,02	16,98	10,09	11,29	3,68
B 26	34,73	55,21	10,06	0,63	44,75	39,56	60,44	0,65	17,88	37,77	20,26	9,96	14,13	3,15
B 27	35,48	54,57	9,96	0,65	46,98	34,44	65,56	0,53	14,60	48,50	16,76	9,64	10,51	3,96
B 28	40,71	48,90	10,40	0,83	58,18	37,42	62,58	0,60	10,49	52,32	17,15	8,81	11,22	3,99
B 33	35,59	53,97	10,45	0,66	36,62	37,08	62,92	0,59	15,07	34,96	21,91	13,09	14,97	2,56
B 34	34,85	55,24	9,91	0,63	44,92	37,92	62,08	0,61	18,35	37,21	22,25	9,90	12,29	3,51
B 35	37,96	51,65	10,39	0,74	51,40	46,33	53,67	0,86	18,82	52,26	13,70	6,37	8,85	5,57
B 41	35,17	52,15	12,69	0,67	52,47	38,29	61,71	0,62	12,16	47,56	20,06	8,50	11,73	3,94
B 44	39,65	49,31	11,05	0,80	58,89	36,13	63,87	0,57	18,06	32,80	21,96	12,10	15,09	2,68
B 70	37,87	51,60	10,54	0,73	49,89	38,01	61,99	0,61	16,28	30,95	25,16	13,42	14,18	2,62
B 82	34,20	55,54	10,26	0,62	45,46	36,82	63,18	0,58	15,71	34,57	22,38	12,59	14,75	2,66
B 85	36,34	53,41	10,25	0,68	35,81	36,46	63,54	0,57	15,38	33,09	24,04	13,15	14,35	2,64
B 88	40,06	48,06	11,89	0,83	48,57	31,45	68,55	0,46	10,76	46,73	19,83	11,36	11,32	3,41
B 89	41,45	47,35	11,20	0,88	49,60	33,90	66,10	0,51	14,13	46,81	16,90	11,04	11,12	3,51
B 96	35,57	54,29	10,14	0,66	62,14	38,70	61,30	0,63	17,57	35,48	21,16	11,67	14,13	2,88

VI. táblázat A különböző HMW-glutenin alegység összetételű csoportok SE-HPLC-vel mért mennyiségi adatai

HMW-glut.	N	Glutenin %		Gliadin %		Glu/Gli		UPP%	
1 7+8 2+12	2	35,52	A	54,43	B	0,65	A	54,56	C
1 7+9 2+12	1	36,34	A	53,41	B	0,68	A	35,81	A
2* 7+8 2+12	1	35,17	A	52,15	AB	0,67	A	52,47	C
2* 7+9 2+12	1	35,59	A	53,97	B	0,66	A	36,62	A
2* ^B 7+8 2+12	5	39,08	B	50,00	A	0,79	B	52,45	C
2* ^B 7+9 2+12	11	36,35	A	53,55	B	0,68	A	47,26	B
lsd 5%		3,09		3,03		0,09		4,14	

VII. táblázat A különböző LMW-glutenin alegység összetételű csoportok SE-HPLC-vel mért mennyiségi adatai

LMW-glut	N	Glutenin %		Gliadin %		Glu/Gli		UPP%	
a b c	1	39,65	B	49,31	A	0,80	B	58,89	C
a i c	6	38,67	B	50,67	A	0,77	B	50,05	AB
d g a	1	35,17	A	52,15	AB	0,67	A	52,47	B
f i c	13	35,89	A	54,00	B	0,67	A	46,50	A
lsd 5%		2,62		2,86		0,09		3,90	

VIII. táblázat A különböző gliadin allél összetételű csoportok SE-HPLC-vel mért mennyiségi adatai

Gli-1	N	Glutenin %		Gliadin %		Glu/Gli		UPP%	
a b g	1	39,65	B	49,31	A	0,80	B	58,89	C
a m a	5	39,29	B	49,95	A	0,79	B	47,63	A
e m g	1	35,17	A	52,15	AB	0,67	A	52,47	B
m m g	1	35,48	A	54,57	B	0,65	A	46,98	A
m m a	13	35,90	A	53,97	B	0,67	A	47,66	A
lsd 5%		2,17		3,22		0,10		4,15	

IX. táblázat A HMW-glutenin alegység összetétel hatása az alegység mennyiségekre

	N	HMW/LMW		Ax%		Bx%		Dx%		By%		Dy%		x/y	
1 7+8 2+12	2	0,53	A	14,60	AB	48,50	B	16,76	A	9,64	AB	10,51	A	3,96	AB
1 7+9 2+12	1	0,60	AB	16,47	AB	34,28	A	22,60	B	12,41	AB	14,24	B	2,76	A
2* 7+8 2+12	1	0,62	AB	12,16	A	47,56	B	20,06	AB	8,50	AB	11,73	A	3,94	AB
2* 7+9 2+12	1	0,59	AB	15,07	AB	34,96	A	21,91	B	13,09	AB	14,97	B	2,56	A
2*^B 7+8 2+12	5	0,64	B	13,16	A	49,63	B	16,91	A	9,53	A	10,76	A	4,03	B
2*^B 7+9 2+12	11	0,60	AB	16,82	B	34,61	A	22,59	B	11,86	B	14,11	B	2,87	A
SzD 5%		0,11		4,96		5,98		3,86		3,92		2,12		1,26	

X. táblázat Az RP-HPLC-vel mért mennyiségi adatok az LMW-glutenin alegység összetétel függvényében

	N	HMW/LMW		Ax%		Bx%		Dx%		By%		Dy%		x/y	
a b c	1	0,57	AB	18,06	A	32,80	A	21,96	A	12,10	A	15,09	B	2,68	A
a i c	6	0,56	A	14,10	A	41,13	AB	20,61	A	11,43	A	12,73	A	3,19	A
d g a	1	0,62	AB	12,16	A	47,56	B	20,06	A	8,50	A	11,73	A	3,94	A
f i c	13	0,63	B	16,22	A	38,56	AB	20,87	A	11,16	A	13,20	AB	3,23	A
lsd 5%		0,10		4,67		5,64		3,64		3,69		2,00			

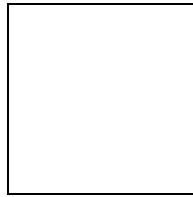
XI. táblázat Az RP-HPLC-vel mért mennyiségi adatok a gliadin allél összetétel függvényében

	N	HMW/LMW		Ax%		Bx%		Dx%		By%		Dy%		x/y	
a b g	1	0,57	AB	18,00	B	32,68	A	21,89	B	12,19	B	15,24	D	2,65	A
a m a	5	0,54	A	13,43	A	42,29	C	20,43	B	11,37	B	12,46	B	3,25	AB
e m g	1	0,62	AB	12,24	A	47,40	D	20,05	B	8,60	A	11,72	AB	3,92	BC
m m g	1	0,53	A	14,54	AB	48,55	D	16,85	A	9,59	AB	10,46	A	3,97	C
m m a	13	0,64	B	16,46	B	37,54	B	21,18	B	11,32	B	13,50	C	3,13	A
lsd 5%		0,10		2,84		3,26		2,12		2,13		1,20		0,71	

XII. táblázat Reológiai vizsgálatok eredményei

Törzsek	Protein %	2g Mixográf							Micro-Extension Tester		Cipó magasság (mm)
		MT(s)	PR (AU)	BWPR (AU)	RBD (AU)	BWBD (AU)	TMBW (s)	MBW (AU)	Ext (mm)	Rmax	
B 1	14,8	194	400	253	23	43	120	334	1100	376	35,36
B 2	15,0	179	382	218	19	39	118	288	1028	378	34,90
B 8	14,3	195	358	211	18	27	122	273	1089	417	35,06
B 13	14,1	176	403	228	19	35	118	297	982	392	32,85
B 18	14,6	194	426	256	21	28	130	345	1258	308	35,16
B 20	14,5	183	420	239	21	36	119	307	1160	369	33,39
B 24	15,2	264	470	268	20	33	177	374	882	566	34,82
B 26	14,7	174	356	205	21	36	115	269	1086	255	32,82
B 27	15,2	204	506	264	20	34	123	368	1047	644	34,11
B 28	14,5	298	455	286	16	29	217	379	843	654	33,98
B 33	15,0	155	438	246	22	37	94	323	1355	317	33,34
B 34	14,3	152	407	214	23	41	95	307	1050	334	33,04
B 35	14,0	217	427	250	23	37	149	332	1171	357	33,96
B 41	11,7	315	394	219	10	20	173	286	821	752	36,92
B 44	13,6	424	408	238	2	2	272	325	653	857	36,58
B 70	13,7	267	360	233	12	23	171	279	687	730	35,03
B 82	13,9	168	419	231	21	41	116	301	1220	306	32,77
B 85	14,0	103	379	222	35	59	68	281	1154	500	31,05
B 88	13,5	226	421	247	19	28	130	317	672	616	34,70
B 89	13,6	264	441	247	14	16	151	344	613	979	35,07
B 96	13,9	137	362	231	22	48	95	275	950	197	33,46

I. ábra Előforduló HMW-glutenin alléltípusok (Payne és mtsai., 1983)



II. ábra Előforduló LMW-glutenin (Glu-A3, Glu-B3, Glu-D3) és Gli-1 gliadin alléltípusok (Gli-A1, Gli-B1 és Gli-D1), Jackson és mtsai., 1996

