

Kvantitatív genomméret-becslés a növényfajta vizsgálatok eszközeként

¹LEPOSSA ANITA – ²CZINKOCZKY MIHÁLY – ³NAGY SZABOLCS TAMÁS

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

¹Növénytermesztési-tudományok Intézet, Keszthely

²Növénytermesztési-tudományok Intézet, Szarvas

³Állattenyésztési Intézet, Keszthely

Összefoglalás

A növénytudományok terén a ploidiatok és a genomméret becsléséhez legáltalánosabban alkalmazott módszer a flow citometria. A Kew Növényi Genomméret Adatbázisban jelenleg több mint 12 ezer növényfajra rendelkezésre álló adatok túlnyomó többségét ezzel a módszerrel becsülték. Az Adatbázis azonban mind a mai napig meglehetősen hiányos a gyepalkotó, élőlő fűfajokat illetően.

A MATE Georgikon Campus Sejtanalitikai Laboratóriumában Beckman Coulter FC500 típusú citométerrel végzett vizsgálatunkban két hazai gyepalkotó fűfaj, a nádképi csenkesz (*Festuca arundinacea*) és a vörös csenkesz (*Festuca rubra*) két-két regisztrált, ismert ploidiatokú fajtájának genomméretét (2C-érték) becsültük csíranövényekből, rozs (*Secale cereale*), illetve borsó (*Pisum sativum*) növényi kontrollok mellett. Eredményeinket a Kew Adatbázisban található publikált adatokkal kiegészítve számítottunk genomméretbeli eltérést a két csenkeszfaj között.

Valamennyi minta genommérete az adott csenkeszfajra a Kew Adatbázis szerinti mérettartományba esett. A vörös csenkesz esetében a hexaploid fajta genommérete (12,25±0,81 pg DNS) és az oktaploid fajta számított 2C értéke (17,12±0,58 pg DNS) között 1,4-szeres eltérés mutatkozott. A nádképi csenkesz minták esetében a két eltérő ploidiájú fajta genommérete a várttal ellentétben lényegében azonos értéket mutatott (13,93±0,15; illetve 13,53±0,14 pg DNS), ami megkérdőjelezte az egyik minta fajtaazonosságát. Ezt utólag a fajtahosszabbításhoz elvégzett DUS-vizsgálat eredménye igazolta. Méréseink alapján a vörös csenkesz fajták esetében 5990 (6n), illetve 8371 (8n) megabázispár, nádképi csenkesz minták esetében pedig 6810 (6n)

Mbp DNS-hosszt kalkuláltunk. A monoploid genom mérete a Kew adatbázisban szereplő adatokat is figyelembe véve a nádképű csenkesz esetében mintegy 29%-kal meghaladja a vörös csenkeszét. Saját vizsgálatunk esetében ennél kevesebb, mindössze 6–11% eltérést tudunk igazolni. A genomméret nemzetségen belül fajok közötti, és fajon belüli változatosságának kimutatására az FCM módszer hasznos eszköz botanikai vizsgálatokban, a növénynevelő- és fajtafenntartó munkában, de ígéretes lehet regisztrált fajták vetőmag- illetve fajtavizsgálata során a fajtatisztaság, fajtaazonosság kizárására is.

Kulcsszavak: vörös csenkesz (*Festuca rubra*), nádképű csenkesz (*Festuca arundinacea*), 2C-érték, monoploid genomméret, flow citometria

Quantitative genome size estimation as a tool for plant variety testing

¹A. LEPOSSA – ²M. CZINKOCZKY – ³SZ. T. NAGY

¹MATE Institute of Agronomy, Keszthely

²MATE Institute of Agronomy, Szarvas

³MATE Institute of Animal Sciences, Keszthely

Summary

In plant sciences, flow cytometry (FCM) is the most commonly used method for estimating ploidy levels and genome size. The vast majority of data currently available for more than 12,000 plant species in the Kew Plant Genome Size Database was estimated by using by FCM. However, available data on perennial grass species are scarce.

We estimated the genome size (2C value) from seedlings of two registered cultivars with known ploidy levels of two native grass species (tall fescue, *Festuca arundinacea* and red fescue, *Festuca rubra*) by FCM, with rye (*Secale cereale*) and pea (*Pisum sativum*) plant controls. We compared our results to the published data of the Kew Database, and calculated the difference in genome size between the two fescue species.

Our estimated genome size data were similar to that in the Kew Database. In the case of red fescue, there was a 1.4-fold 2C value-difference between the hexaploid (12.25 ± 0.81 pg DNA) and the octoploid variety (17.12 ± 0.58 pg DNA). However, the genome size of the two tall fescue accessions with different ploidy were almost identical (13.93 ± 0.15 and 13.53 ± 0.14 pg DNA), which questioned the genetic purity of one of the varieties. We calculated a DNA length of 5990 (6n) and 8371 (8n) Mbp for red fescue varieties, and 6810 (6n) Mbp for the tall fescue sample. According to the Kew Database, the average monoploid genome size of tall fescue accessions is higher by 29% compared to red fescue data. In our investigation, we could verify less difference (6–11%) between the two species. FCM method is a useful tool for detecting the inter-species and intra-species variability of the genome size in botanical studies, plant breeding and variety maintenance, but it is also promising for testing the genetic purity of registered varieties.

Keywords: red fescue (*Festuca rubra*), tall fescue (*Festuca arundinacea*), 2C-value, monoploid genome size, flow cytometry

Bevezetés

A növényi genom mérete szoros kapcsolatban áll számos anatómiai, morfológiai és élettani tulajdonsággal, mutatója a fajok közötti evolúciós távolságnak, a filogenetikai rokonságnak, és egyben a genomi jellemzők mérőszáma (Yan et al. 2016, Martínez-Sagarra et al. 2021). A DNS mennyisége a C-érték, amely „pikogramm (pg) DNS” vagy „bázispárok száma/sejtmag” értékkel adható meg (Doležel et al. 2007). A genom mérete az eukarióták világában több nagyságrendnyi (64-ezerszeres) eltérést is mutathat. A zárwatermők között pl. a *Genlisea margaretae* és *Paris japonica* fajok genommérete között kb. 2400-szoros a különbség ($1C=0,063$ pg, illetve $152,23$ pg), de nemzetségen belül is beszámoltak több mint 40-szeres eltérésekről (pl. *Oxalis*) (Greilhuber et al. 2006, Suda et al. 2006, Pellicer et al. 2010, 2018). A genomméret viszont jellemzően állandó az adott egyeden, illetve fajon belül (Lysák et al. 2000, Greilhuber et al. 2005). A rokon fajok C-értéke között mutatkozó jelentősebb eltérések a repetitív DNS és mozgó genetikai elemek (transzpozonok) változásaival magyarázhatók (Garrido-Ramos 2015).

Utóbbiak egyes nagy genommal rendelkező fajok, mint a kukorica esetében a genomnak akár 85%-át is kitehetik (*Schnable et al.* 2009). A jelen lévő szatellit DNS mennyisége egy genom részben is felelős lehet a genom méretéért. A méreten túl másik vizsgált sejtmagi jellemző a guanin és citozin nukleotidok aránya, és habár erről egyelőre csak korlátozott számú adat elérhető, ismeretes, hogy sikeresen alkalmazták egyes növénycsaládok, illetve fajok megkülönböztetésére (*Šmarda et al.* 2008), és ugyanazon faj morfortípusainak elkülönítésére is (*Islam et al.* 2023).

A poliploidia vagy teljes genom duplikáció (WGD) az evolúció egyik kulcsfontosságú mozgatórugójaként régóta ismert a zárvatermők körében. Az érintett növényekben számos módon kifejeződhet, például génexpresszióban, vagy módosulhatnak a növény biokémiai folyamatai, szaporodási és növényélettani jellemzői, sikeresebbé teheti a növényt, mert pl. intenzívebbé válik a növekedése, megváltozhat a fenotípusa. Leggyakoribb és leginkább észrevehető esetekben megnő a sejtméret. A morfológiai változások kialakulhatnak mikroszkópikus szinten, mint pl. a zárósejtek és a pollen méretében, vagy a vegetatív, illetve generatív szervek mérettartományában, megváltoztatva többek között a szár, levél, kalászkák, pelyva, portok vagy a szemtermés méretét (*Bennett 1987, Qiu et al.* 2020), vagy a fűvek terméseleseit (pl. növényenkénti kalászszaám, kalászkánkénti virágszaám). Vörös csenkesz esetében eltérést tapasztaltak a tarackosodó hajlamban, a hexaploid változatok kevésbé vagy egyáltalán nem tarackosodnak az oktoploidhoz képest, mely utóbbiaknak a magmérete is nagyobb (*Fairey és Lefkovitch 1996*). A poliploid komplexek különböző citotípusai teszik lehetővé egy faj kolonizációját, megváltozott környezethez való sikeres alkalmazkodását (*Brochmann et al.* 2004), de akár az eltérő földhasználat is felgyorsíthatja egy fajon belül új változatok, citotípusok megjelenését (*Spinner és Stöcklin 2018*).

A fűfélék kiváló modell növénycsoport a poliploidia genom evolúciójára kifejtett hatásának tanulmányozására, minthogy a *Poaceae* családba sorolt fajok több mint 80%-a poliploid vagy paleopoliploid (több millió évvel ezelőtt bekövetkezett genomduplikáció eredménye, az evolúció során azonban gyakran a gének egy része elveszett a megkettőzött genomból, és jelenleg diploidnak tekinthetők). A csenkeszek (*Festuca*) az egyik legnagyobb növénynemzetség a családon belül. Mintegy 70%-uk a kialakulás során teljes genomkettőződési

folyamaton ment keresztül, és jelenleg a nemzetségre jellemző $n=7$ alap kromoszóma szerelvény kétszeresétől (diploid) a tizenkétszeres (dodekaploid) készlettel rendelkező taxonokig megtalálhatók (Loureiro et al. 2007). Ellentétes irányú folyamat is ismert, a mintegy 30 fajt számláló *Avena* nemzetség poliploid fajainak többsége ugyanis diploid elődeihez képest genomcsökkenésen ment keresztül (Yan et al. 2016). A *Poa* fajok szintén nagy variabilitást mutatnak széles kromoszóma készlettel poliploidia, interspecifikus hibridizáció vagy fakultatív apomixis következtében. E nemzetségbe sorolt fajok genomösszetételének jellemzése és filogenetikai rokonságának meghatározása jelenleg is tisztázásra vár (Wei et al. 2020).

A növényi genom kutatásához korábban használt Feulgen mikrodensitometriás módszert az eredetileg orvosi biológiai célokra fejlesztett áramlási sejtanalízis, flow citometria (FCM) az 1980-as évektől gyors ütemben váltotta le. Jelenleg a növénytudományok terén a ploidiafok és a genomméret becslésének legáltalánosabban alkalmazott módszere. Gyors és precíz, nagy mennyiségű adat szolgáltatására képes, melyet leggyakrabban a ploiditás földrajzi megoszlása, a citotípusok közötti kölcsönhatások, illetve a diploid-poliploid szimpatrikus populációkban lezajlott evolúciós folyamatok vizsgálatára használnak (Baack 2004, Husband és Sabara 2004, Doležel et al. 2007, Greilhuber et al. 2007). A növényi genomméret és ploidiafok flow citometriás vizsgálatának részletes technikai útmutatóját, a módszer átfogó ismertetését Loureiro et al. (2023) a közelmúltban publikálták. A FCM elemzésekhez leggyakrabban használt növényi anyag friss, fiatal levelekből áll, de bármilyen növényi rész használható, amely tartalmaz ép sejtmagokat. Terepi gyűjtés esetében lehetőség van szárított növényminták, de akár magvak vizsgálatára is. Ilyen esetekben a mintaelőkészítés vagy az adatelemzés módosításokat igényelhet (Sliwinska et al. 2005, Suda és Trávníček 2006, Ochatt 2008). A módszer csak a teljes sejtmagi DNS mennyiségét számszerűsíti, és nem adja meg a pontos kromoszómaszámot. A ploiditás fokára, vagyis a kromoszómaszámra csak egy standard referencia (azonos vagy rokon fajból származó, kariológiailag bevizsgált) mintaprofillal összehasonlítva következtethetünk (Temsch et al. 2021). A Kew Növényi Genomméret Adatbázisban (*Net1*) jelenleg mintegy 12 500 növényfajra rendelkezésre álló adat túlnyomó többségét ezzel a módszerrel becsülték (Bai et al. 2012). Meglehetősen kevés azonban az évelő fűfajokra

vonatkozó adat. Ebben a körben a genomméret vizsgálatok elsősorban a ploidiafok meghatározására irányultak (*Tuna et al.* 2001, *Qiu et al.* 2020). Egyes nehezen megkülönböztethető fajok, például az aprócsekeszek esetében a faji hovatartozás vizsgálatának molekuláris szintű eszköze a ploidiafok és kloroplaszt genom szekvenáláson túl a genomméret meghatározása (*Qiu et al.* 2019).

A MATE Georgikon Campuson végzett vizsgálatunkban két hazai gyepalkotó fűfaj, nádképzű csekesz (*Festuca arundinacea*) és vörös csekesz (*Festuca rubra*) két-két regisztrált fajtájának genomméretét (2C-érték) becsültük FCM módszerrel, növényi kontroll mellett. Eredményeinket a Kew Adatbázisban megtalálható C-értékekkel összevetve számítottuk a két csekeszfaj között mért genomméretbeli eltérést.

Anyag és módszer

Vizsgálatunkhoz államilag elismert fajtákat, hexaploid vörös csekeszt ('A', *F. rubra*, 6n), oktoploid vörös csekeszt ('B', *F. rubra*, 8n), tetraploid nádképzű csekeszt ('C', *F. arundinacea*, 4n) és hexaploid nádképzű csekeszt ('D', *F. arundinacea*, 6n) használtunk. Ismert genomméretű referencia mintaként a Cseh Tudományos Akadémia Kísérleti Botanikai Intézetének olomouci Kutató Központja által térítés nélkül biztosított növényi magvak szolgáltak. A nádképzű csekesz kontrolljaként borsót (*Pisum sativum* 'Ctirad'), a vörös csekesz kontrolljaként pedig rozst (*Secale cereale* 'Dankowskie') választottunk. A fűfajták és a referencia növényfajok három, illetve kéthetes csíranövényeiből három ismétlésben készítettünk preparátumot, és ezeket három ismétlésben mértük flow citometria alkalmazásával, *Doležel et al.* (2007) módszere alapján. A sejtmagok kinyeréséhez és festéséhez SYSMEX CyStain PI Absolute P kitet (05-5022) használtunk a gyártó által biztosított protokoll szerint *Leinweber* (2011) módosításaival. A csíranövények kb. 1 cm² területű levélmintáit 200 µl pufferrel szobahőmérsékleten, 30–60 sec. alatt polisztirol Petri-csészében (Ø 55 mm) borotvapengével felaprítottuk. A szuszpenziót 200 µl extrakciós oldattal tovább hígítottuk, és 50 µm-es nejloniszűrőn (SYSMEX CellTrics) 5 ml-es polipropilén csőbe szűrtük át. Az így nyert sejtsuszpenzióhoz 1 ml festőoldatot adtunk, melyet frissen készítettünk, egy mintára számítva 1 ml festő puffer, 6 µl propidium-jodid (PI)

és 3 µl RNáz törzsoldatok keverékéből. A mintákat a mérés előtt sötétben, szobahőmérsékleten 30-60 percen keresztül inkubáltuk.

A flow citométeres méréseket a MATE Georgikon Campus Sejtanalitikai Laboratóriumában végeztük Beckman Coulter FC500 típusú citométerrel, 488 nm-es, 20 mW argon ion lézeres gerjesztőfényt használva. A PI fluoreszcenciaintenzitás rögzítése az FL 3 detektoron (650 nm LP) történt. A méréseket 5000 PI-pozitív esemény vagy 5 perc futtatási idő elérése után állítottuk meg. Az adatgyűjtéshez Beckman Coulter CXP Acquisition szoftvert használtunk. A mérés optimalizálásához (fluoreszcencia intenzitás-érték beállításához) a referencia növények és a vizsgált fűfajták (minták) sejtszuszpenzióit külön-külön futtattuk. A tényleges adatgyűjtéshez azonban a vizsgált fűfajta és a hozzá tartozó referencia növény sejteit tartalmazó szuszpenziók keverékét értékeltük, a kisebb genomméretű növény hisztogramjának medián-értékét 200-ra állítva a dimenzió nélküli, 0-10²⁴-ig terjedő lineáris skálán. Az adatfájlokat standard citométeres LMD fájlformátumban tároltuk, és az adatelemzéshez Flowing szoftvert (*Net2*, v. 2.5.1.) használtunk. A minták DNS-mennyiségének meghatározásához *Doležel et al.* (2007) által közölt alábbi képletet használtuk:

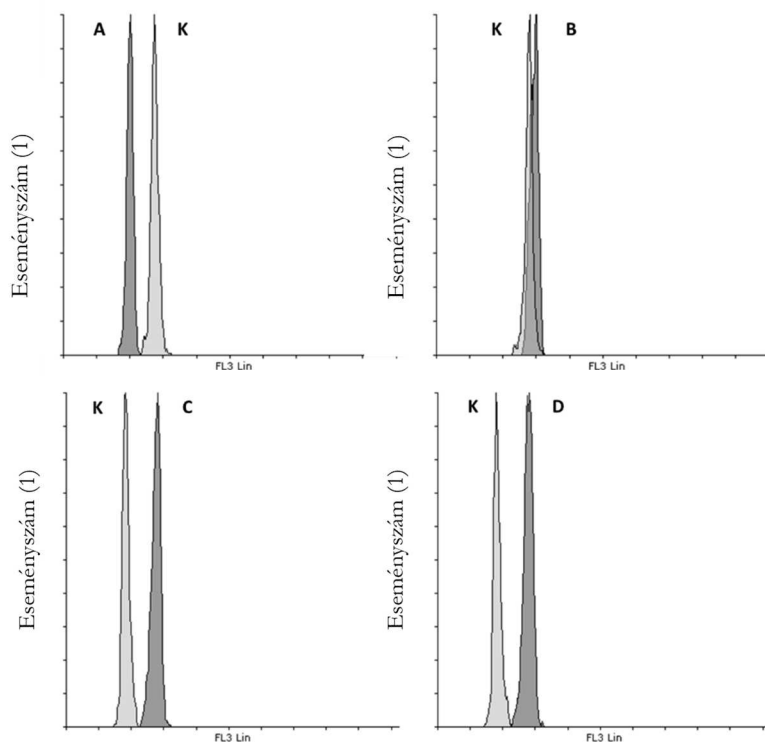
$$\text{minta 2C érték (pg DNS)} = \text{referencia 2C érték} * \frac{\text{minta 2C medián intenzitás}}{\text{referencia 2C medián intenzitás}}$$

ahol a referencia 2C értékek a nádképző csenkesz referenciájaként használt borsó esetében 9,09 pg DNS, valamint a vörös csenkesz referenciájaként használt rozs esetében 16,19 pg DNS, a minta és referencia 2C intenzitás pedig a mérési adatfájlok hisztogram analízisével számított értékek. Eredményeinket a Kew Adatbázisban publikált referált adatokkal vetettük össze.

Eredmények és értékelés

A nádképző és vörös csenkesz fajták mintáinak egy-egy reprezentatív hisztogramját az *1. ábrán* mutatjuk be. A kapott hisztogramok minden esetben megfelelő minőségűek voltak (hisztogram CV-érték <8%; *Givan* 2001).

1. ábra. A vizsgált fűfajták reprezentatív fluoreszcencia-intenzitási hisztogramjai



Megjegyzés: A, B - *F. rubra*, C, D - *F. arundinacea*. K - kontroll növényminta.

Figure 1. Representative fluorescence intensity histograms. (1) Event number, Note: *F. rubra* (A, B) and *F. arundinacea* (C, D). K: reference sample.

A fajtánként mért 9-9 minta adatainak leíró statisztikája alapján a vöröscsenkesz esetében az oktoploid 'A' fajta számított 2C értéke becslésünk szerint közel 1,4-szerese a hexaploid 'B' fajtának. A nádképű csenkesz minták esetében azonban a két eltérő ploidiájú fajta genommérete a várttal ellentétben lényegében azonos értéket mutatott, ráadásul a tetraploid 'C' fajta számított 2C értéke 3%-kal meghaladta a hexaploid 'D' fajta 2C értékét (1. táblázat).

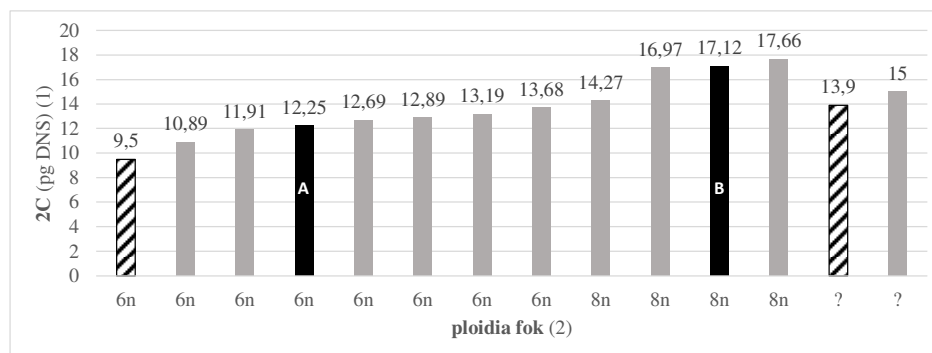
1. táblázat. A vizsgált fűfajták FCM módszerrel becsült genommérete (n=9)

Minta jele (1)	Vizsgált fűfajta (2)	2C (pg DNS) (3)
'A'	<i>Festuca rubra</i> , 6n	12,25±0,81
'B'	<i>Festuca rubra</i> , 8n	17,12±0,58
'C'	<i>Festuca arundinacea</i> , 4n	13,93±0,15
'D'	<i>Festuca arundinacea</i> , 6n	13,53±0,14

Table 1. Genome size of the analysed grass species (number of data=9). (1) Code of grass variety, (2) Analysed grass species, (3) Genome size

A vizsgálatunkban kapott DNS mennyiség értékeket a Kew adatbázisban szereplő referált adatokkal összehasonlítva látható (2. ábra), hogy az általunk becsült vörös csenkesz genomméret mind a hexaploid 'A' fajta, mind az oktoploid 'B' fajta esetében illeszkedik a 6n ploidiáfokú tételekre közölt 2C tartományba (9,5–13,68 pg DNS), illetve a 8n ploidiáfokú tételekre közölt 2C tartományba (14,27–17,66 pg DNS).

2. ábra. Eltérő ploidiáfokú vörös csenkesz minták genommérete

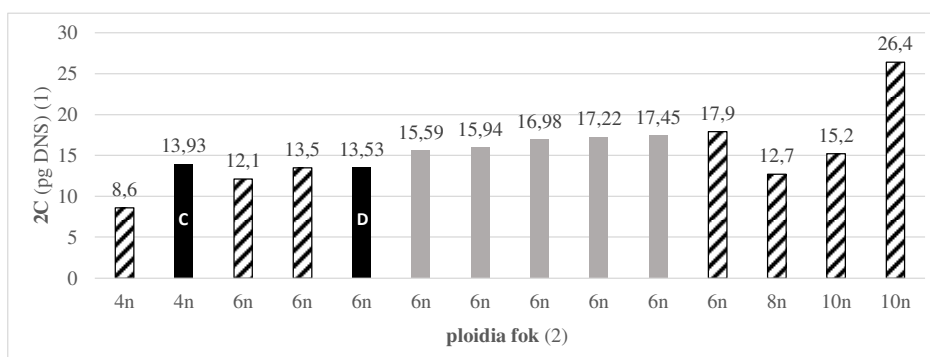


Megjegyzés: csíkozott oszlop – közölt adat Feulgen denzitometriás módszerrel, szürke oszlop – közölt adat FCM-módszerrel, fekete oszlop – saját mérés FCM-módszerrel, a minta jelével.

Figure 2. Genome size of red fescue samples with different ploidy levels. (1) 2C pg (DNA), (2) Ploidy level, Note: striped columns - reported data with Feulgen densitometry, gray columns - reported data with FCM, black columns - own measurement using the FCM method, sample codes inserted

Hasonlóan, a 'C' és 'D' mintáink eredményét a Kew adatbázisban szereplő nádképű csenkesz genom méret adatsorral összevetve megállapítható, hogy az általunk becsült genom méret adatok az adatbázisban szereplő 4n-10n ploidia fokú tételek publikált 2C értékeinek tartományába (8,6-26,4 pg DNS) esnek, és egyértelműen a hexaploid tételek értékeihez közelítenek (3. ábra).

3. ábra. *Eltérő ploidiafokú nádképű csenkesz minták genom mérete*



Megjegyzés: csíkozott oszlop - közölt adat Feulgen denzitometriás módszerrel, szürke oszlop - közölt adat FCM-módszerrel, fekete oszlop - saját mérés FCM-módszerrel, a minta jelével.

Figure 3. Genome size of tall fescue samples with different ploidy levels. (1) 2C pg (DNA), (2) Ploidy level, Note: striped columns - reported data with Feulgen densitometry, gray columns - reported data with FCM, black columns - own measurement using the FCM method, sample codes inserted

Az $n=7$ alap kromoszómaszámú *Festuca* nemzetségen belül a fajok genom mérete, valamint a fajon belül a genom különböző ploiditási fokon bekövetkezett méretváltozásának összehasonlítása a „monoploid genom” (1Cx) szintjén értelmezhető (Šmarda et al. 2008). A két, általunk is vizsgált csenkesz faj tételeinek citométeres módszerrel becsült, Kew adatbázisban szereplő genom méret adatait saját - 'A', 'B' és 'D' mintákra kapott - eredményeinkkel kiegészítve, a monoploid genom számított méretét összehasonlítva azt találtuk, hogy a nádképű csenkesz 29%-kal nagyobb genom mérettel rendelkezik, mint a vörös csenkesz (2. táblázat).

2. táblázat. A két vizsgált csenkeszfaj számított monoploid genommérete szakirodalmi adatok és saját mérések alapján (FCM)

Vizsgált csenkeszfaj (1)	1Cx (pg DNS) (2)	Forrás (3)
Vörös csenkesz (<i>F. rubra</i>)	2,08±0,16	<i>Huff és Palazzo</i> 1998, <i>Loureiro et al.</i> 2007, <i>Šmarda et al.</i> 2008, jelen vizsgálat
Nádképi csenkesz (<i>F. arundinacea</i>)	2,69±0,24	<i>Arumuganathan et al.</i> 1999, <i>Loureiro et al.</i> 2007, <i>Šmarda et al.</i> 2008, <i>Kopecky et al.</i> 2010, jelen vizsgálat

Table 2. Monoploid genome size of the two fescue species analysed by FCM according to references and the results of present study. (1) Analysed fescue species, (2) Monoploid genome size, (3) References

Ugyanakkor eredményeinkből - az elemzésből a 'C' mintát kizárva - azt találtuk, hogy a nádképi csenkesz fajta monoploid genom mérete 2,26 ('D') pg DNS 6-11%-kal meghaladta a vörös csenkesz fajták genomméretét, ahol ez az érték 2,04 ('A') illetve 2,14 ('B') pg DNS.

Következtetések

A citométerrel mért genomméret és a klasszikus citogenetikai vizsgálattal kapott ploidiatok nem jelent azonos információt, ugyanakkor az általunk mért eltérő kromoszómaszerelvényű nádképi csenkesz fajták mintái esetében kapott azonos genomméret megkérdőjelezte az egyik minta fajtaazonosságát. Sejtésünket utólag alátámasztotta, hogy a vizsgálatunkkal egyidőben fajtahosszabbításra küldött 'C' minta a NÉBIH külföldi társhatóságánál végzett DUS-vizsgálaton sikertelenül szerepelt.

A gyorsan fejlődő, nagy áteresztőképességű szekvenálási technológiák korszakában a genom méretét jelző C-értékek alapinformációkat nyújtanak a teljes genom szekvenálási költségeinek becsléséhez (*Pellicer és Leitch* 2020, *Li és Harkess* 2018). A DNS teljes hossza (a bázispárok száma) a becsült genomméretből egyszerű számítással meghatározható: $978 \times 10^6 \times \text{DNS-mennyiség (pg)}$ (*Doležel et al.* 2003). A képlettel mérési eredményeinkből számítva a vörös csenkesz fajták esetében 5990 ('A'), illetve 8371 ('B') megabázispár, nádképi csenkesz minták esetében pedig 6614 ('C'), illetve

6810 (‘D’) megabázispár DNS-hossz adódik. Utóbbi faj esetében mintegy 10%-kal nagyobb értékeket kaptunk a *Hu et al.* (2020) által közölt 6×10^3 Mbp átlagos adathoz képest.

A citométeres genomvizsgálatok jövőbeni szerepe elsősorban abban van, hogy valamely újonnan vizsgálni kívánt növényfaj költséges molekuláris genetikai vizsgálatai (teljes genom analízis, szekvenálás) előtt képet nyerhetünk a genomméretről. A genomméret nemzetségen belül fajok közötti, és fajon belüli változatosságának kimutatására az FCM módszer hasznos eszköz botanikai vizsgálatokban, a növénynemesítő- és fajtafenntartó munkában, de ígéretes lehet regisztrált fajták vetőmag-, illetve fajtavizsgálata során a fajtatisztaság, fajtaazonosság kizárására is.

IRODALOM

- Arumuganathan, K.-Tallury, S. P.-Fraser, M. L.-Bruneau, A. H.-Qu, R.*: 1999. Nuclear DNA content of thirteen turfgrass species by flow cytometry. *Crop Sci.* 39: 1518-1521.
- Baack, E. J.*: 2004. Cytotype segregation on regional and microgeographic scales in snow buttercups (*Ranunculus adoneus*: *Ranunculaceae*). *Amer. J. Bot.* 91: 1783-1788.
- Bai, C.-Alverson, W. S.-Follansbee, A.-Waller, D. M.*: 2012. New reports of nuclear DNA content for 407 vascular plant taxa from the United States. *Ann. Bot.* 110. 8: 1623-1629. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs222>
- Bennett, M. D.*: 1987. Variation in genomic form in plants and its ecological implications. *New Phytology.* 106: 177-200.
- Brochmann, C.-Brysting, A. K.-Alsos, I. G.-Borgen, L.-Grundt, H. H.-Scheen, A. C.-Elven, R.*: 2004. Polyploidy in arctic plants. *Biol. J. Linn. Soc.* 82: 521-536.
- Doležel, J.-Bartoš, J.-Voglmayr, H.-Greilhuber, J.*: 2003. Nuclear DNA content and genome size of trout and human. *Cytometry.* 51A: 127-128. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.10013>
- Doležel, J.-Greilhuber, J.-Suda, J.*: 2007. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nat. Protoc.* 2: 2233-2244. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.310>
- Fairey, N. A.-Lefkovitch, L. P.*: 1996. Ploidy and cultivar group differences in the thousand-seed weight of red fescue (*Festuca rubra* L.). *Can. J. Plant Sci.* 76: 465-467.

- Garrido-Ramos, M. A.: 2015. SatDNA in plants: more than just rubbish. *Cytogenet. Genome Res.* 146: 153–170.
- Givan, A. L.: 2001. *Flow cytometry. First principles.* 2nd ed. Wiley-Liss Inc. 304.
- Greilhuber, J.–Borsch, T.–Müller, K.–Worberg, A.–Porembski, S.–Barthlott, W.: 2006. Smallest angiosperm genomes found in *Lentibulariaceae* with chromosomes of bacterial size. *Plant Biology.* 8: 770–777.
- Greilhuber, J.–Doležel, J.–Lysák, M. A.–Bennett, M. D.: 2005. The origin, evolution and proposed stabilization of the terms ‘genome size’ and ‘C-value’ to describe nuclear DNA contents. *Ann. Bot.* 95. 1: 255–260. <https://doi.org/10.1093/aob/mci019>
- Greilhuber, J.–Temsch, E. M.–Loureiro, J.: 2007. Nuclear DNA content measurement. [In: Doležel, J. et al. (eds.) *Flow cytometry with plant cells: analysis of genes, chromosomes and genomes.*] Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim. Germany. 67–101.
- Hu, T.–Wang, T.–Li, H.–Wassie, M.–Xu, H.–Chen, L.: 2020. Genome-wide small RNA profiling reveals tiller development in tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb). *BMC Gen.* 21: 696. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07103-x>
- Huff, D. R.–Palazzo, A. J.: 1998. Fine fescue species determination by laser flow cytometry. *Crop Sci.* 38: 445–450.
- Husband, B. C.–Sabara, H. A.: 2004. Reproductive isolation between autotetraploids and their diploid progenitors in fireweed, *Chamerion angustifolium* (*Onagraceae*). *New Phytol.* 161: 701–711.
- Islam, S.–Chekhovskiy, K.–Saha, M. C.: 2023. Dig up tall fescue plastid genomes for the identification of morphotype-specific DNA variants. *BMC Genomics.* 24: 586. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09631-8>
- Kopecky, D.–Havrankova, M.–Loureiro, J.–Castro, S.–Lukaszewski, A. J.–Bartos, J.–Kopecka, J.–Doležel, J.: 2010. Physical distribution of homoeologous recombination in individual chromosomes of *Festuca pratensis* in *Lolium multiflorum*. *Cytogenet. Genome Res.* 129. 1–3: 162–172.
- Leinweber, K.: 2011. Flow cytometry assisted ploidy level investigation in *Hordeum vulgare* cotyledons. Lab report. <https://www.researchgate.net/publication/253340902>
- Li, F. W.–Harkess, A.: 2018. A guide to sequence your favorite plant genomes. *Appl. Plant Sci.* 6. 3: e1030. <https://doi.org/10.1002/aps3.1030>.
- Loureiro, J.–Čertner, M.–Lučanová-Sliwínska, E.–Kolář, F.–Doležel, J.–García, S.–Castro, S.–Galbraith, D. W.: 2023. The Use of Flow Cytometry for Estimating Genome Sizes and DNA Ploidy Levels in Plants. [In: Heitkam, T.–García, S. (eds.) *Plant Cytogenetics and Cytogenomics: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology.*] 2672. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3226-0_2.

- Loureiro, J.–Kopecky, D.–Castro, S.–Santos, C.–Silveira, P.: 2007. Flow cytometric and cytogenetic analyses of Iberian Peninsula *Festuca* spp. *Plant Sys. Evol.* 269: 89–105.
- Lysák, M. A.–Rostková, A.–Dixon, J. M.–Rossi, G.–Doležel, J.: 2000. Limited genome size variation in *Sesleria albicans*. *Ann. Bot.* 86. 2: 399–403. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1200>
- Martínez-Sagarra, G.–Castro, S.–Mota, L.–Loureiro, J.–Devesa, J. A.: 2021. Genome Size, Chromosome Number and Morphological Data Reveal Unexpected Intraspecific Variability in *Festuca* (*Poaceae*). *Genes.* 12: 906. <https://doi.org/10.3390/genes12060906>
- Net1: Plant DNA C-values Database. <https://cvalues.science.kew.org/>
- Net2: www.flowingsoftware.com
- Ochatt, S. J.: 2008. Flow Cytometry in Plant Breeding. *Cytometry. Part A.* 73A: 581–598. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20562>
- Pellicer, J.–Fay, M. F.–Leitch, I. J.: 2010. The largest eukaryotic genome of them all? *Bot. J. Linn Soc.* 164. 1: 10–15. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2010.01072.x>
- Pellicer, J.–Hidalgo, O.–Dodsworth, S.–Leitch, I. J.: 2018. Genome Size Diversity and Its Impact on the Evolution of Land Plants. *Genes.* 9. 2: 88. <https://doi.org/10.3390/genes9020088>
- Pellicer, J.–Leitch, I. J.: 2020. The plant DNA C-values database (release 7.1): an updated online repository of plant genome size data for comparative studies. *New Phytol.* 226: 301–305. <https://doi.org/10.1111/nph.16261>
- Qiu, Y.–Hamernick, S.–Ortiz, J. B.–Watkins, E.: 2020. DNA content and ploidy estimation of *Festuca ovina* accessions by flow cytometry. *Crop Science.* 60: 2757–2767. <https://doi.org/10.1002/csc2.20229>
- Qiu, Y.–Hirsch, C. D.–Yang, Y.–Watkins, E.: 2019. Towards Improved Molecular Identification Tools in Fine Fescue (*Festuca* L., *Poaceae*) Turfgrasses: Nuclear Genome Size, Ploidy, and Chloroplast Genome Sequencing. *Front. Genet.* 10: 1223.
- Schnable, P. S.–Ware, D.–Fulton, R. S.–Stein, J. C.–Wei, F.–Pasternak, S.–Liang, C. et al.: 2009. The B73 Maize Genome: Complexity, Diversity, and Dynamics. *Science.* 326: 1112–1115.
- Sliwinska, E.–Zielinska, E.–Jedrzejczyk, I.: 2005. Are seeds suitable for flow cytometric estimation of plant genome size? *Cytom. Part A.* 64: 72–79. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20122>
- Šmarda, P.–Bureš, P.–Horová, L.–Foggi, B.–Rossi, G.: 2008. Genome size and GC content evolution of *Festuca*: ancestral expansion and subsequent reduction. *Ann. Bot.* 101: 421–433. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm307>.

- Spinnler, F.-Stöcklin, J.*: 2018. DNA-content and chromosome number in populations of *Poa alpina* in the Alps reflect land use history. *Flora*. 246–247: 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.08.002>
- Suda, J.-Krahulcová, A.-Trávníček, P.-Krahulec, F.*: 2006. Ploidy level versus DNA ploidy level: an appeal for consistent terminology. *Taxon*. 55. 2: 447–450.
- Suda, J.-Trávníček, P.*: 2006. Estimation of relative nuclear DNA content in dehydrated plant tissues by flow cytometry. *Curr. Protoc. Cytom.* 38. U7: 30. <https://doi.org/10.1002/0471142956.cy0730s38>
- Temsch, E. M.-Koutecký, P.-Urfus, T.-Šmarda, P.-Doležel, J.*: 2021. Reference standards for flow cytometric estimation of absolute nuclear DNA content in plants. *Cytom. Part A*. 101: 710. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.24495>
- Tuna, M.-Vogel, K. P.-Arumuganathan, K.-Gill, K. S.*: 2001. DNA Content and Ploidy Determination of Bromegrass Germplasm Accessions by Flow Cytometry. *Crop Sci.* 41: 1629–1634.
- Wei, L.-Liu, B.-Zhang, C.-Yu, Y.-Yang, X.-Dou, Q.-Dong, Q.*: 2020. Identification and characterization of satellite DNAs in *Poa* L. *Mol. Cytogenet.* 13: 47. <https://doi.org/10.1186/s13039-020-00518-x>
- Yan, H.-Martin, S. L.-Bekele, W. A.-Latta, R. G.-Diederichsen, A.-Peng, Y.-Tinker, N. A.*: 2016. Genome size variation in the genus *Avena*. *Genome*. 59: 209–220.

A szerzők levelezési címe – Address of the authors:

Dr. Lepossa Anita
MATE NTTI Agronómia Tanszék
Keszthely
Deák F. u. 16.
H-8360
lepossa.anita@uni-mate.hu

Dr. Czinkoczkó Mihály
MATE NTTI
Szarvas
Szabadság út 1–3.
H-5540
si82@gmail.com

Dr. Nagy Szabolcs Tamás
MATE ÁTI
Precíziós Állattenyésztési és
Állattenyésztési Biotechnika Tanszék
Keszthely
Deák F. u. 16.
H-8360

