



## Transfer genów z *Aegilops ventricosa* do *Triticum aestivum*

Mirosław Tyrka<sup>1</sup>, Grażyna Stefanowska<sup>1</sup>, Witold Brzeziński<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instytut Genetyki i Hodowli Roślin, Akademia Rolnicza, Lublin

<sup>2</sup>Laboratorium Elektroforetyczne „Wibex”, Borówiec

### Gene transfer from *Aegilops ventricosa* to *Triticum aestivum*

#### Summary

RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) and glutenin SDS-PAGE analyses were performed on wheat hybrid strains derived from multiple crosses of hybrids between *Ae. ventricosa* and *T. durum* with hexaploid wheat.

We found *Aegilops* specific bands (G03<sub>580</sub> and T02<sub>990</sub>) in two hybrid strains (VGPB and VGPA) using RAPD method. The presence of *Ae. ventricosa* specific fraction of glutenin was shown in one wheat hybrid strain (VGPP).

#### Key words:

*Aegilops ventricosa*, *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, RAPD, glutenins, transfer.

### 1. Wstęp

W hodowli pszenicy zwyczajnej *Triticum aestivum* L. często wykorzystywane są dzikie gatunki, które stanowią źródło cennych genów. Tetraploidalny gatunek *Aegilops ventricosa* Tausch. (DDM<sup>v</sup>M<sup>v</sup>) posiada geny warunkujące odporność na łamliwość podstawy źdźbła i rdze (1), a także charakteryzuje się wyższą od pszenic zawartością białka (2). Krzyżując *Ae. ventricosa* z pszenicą tetra- i heksaploidalną geny te można przenieść do pszenicy zwyczajnej (3,4).

Do identyfikacji obcego DNA w materiałach hodowlanych różnych gatunków, także pszenicy zwyczajnej, najszersze zastosowanie znalazła metoda RAPD, umożliwiająca równoczesne porównywanie sekwencji losowo rozproszonych po genomie (5).

#### Adres do korespondencji

Mirosław Tyrka,  
Instytut Genetyki  
i Hodowli Roślin,  
Akademia Rolnicza,  
ul. Akademicka 15,  
20-934 Lublin.

Dla wykazania transferu genów można również stosować analizę glutenin HMW, kodowanych przez loci Glu-1 na długich ramionach chromosomów homeologicznej grupy 1 pszenicy zwyczajnej (6,7).

Celem pracy było wykazanie transferu DNA z *Ae. ventricosa* do rodów mieszańcowych pszenicy przy wykorzystaniu metody RAPD oraz analizy glutenin HMW.

## 2. Materiał i metody

### 2.1. Materiał roślinny

Przedmiotem badań były rody mieszańcowe pszenicy zwyczajnej (tab. 1) oraz formy rodzicielskie (*T. aestivum*: „Lanca”, „Panda”, „Begra”, „Arda”, *T. durum* „Grandur” i *Ae. ventricosa*).

Tabela 1

Rody mieszańcowe pszenicy oraz zastosowane metody analityczne

Symbol	Pochodzenie	Rodzaj analizy	
		gluteniny	RAPD
VGL	( <i>Ae. ventricosa</i> x Grandur) x Lanca	–	F <sub>6</sub> <sup>*</sup>
VGLL	[( <i>Ae. ventricosa</i> x Grandur) x Lanca] x Lanca	F <sub>4</sub>	F <sub>5</sub>
VGPP	[( <i>Ae. ventricosa</i> x Grandur) x Panda] x Panda	F <sub>4</sub>	F <sub>5</sub>
VGPPP	{[( <i>Ae. ventricosa</i> x Grandur) x Panda] x Panda} x Panda	–	F <sub>4</sub>
VGPB	[( <i>Ae. ventricosa</i> x Grandur) x Panda] x Begra	F <sub>4</sub>	F <sub>5</sub>
VGPBP	{[( <i>Ae. ventricosa</i> x Grandur) x Panda] x Begra} x Panda	–	F <sub>4</sub>
VGPA	( <i>Ae. ventricosa</i> x Grandur) x Panda) x Arda	F <sub>3</sub>	F <sub>5</sub>
VGPA	{[( <i>Ae. ventricosa</i> x Grandur) Panda] x Arda} x Arda	F <sub>2</sub>	F <sub>4</sub>

\* pokolenie od momentu ostatniego krzyżowania

### 2.2. Analiza RAPD

DNA ekstrahowano z liści z 10 roślin każdej formy wykorzystując DNA-zol (Gibco BRL) zgodnie z instrukcją producenta. Reakcję RAPD przeprowadzano wg zmodyfikowanej metody Williams i wsp. (5). Wykorzystano startery G03: 5'-CCAGTACTTC-3' i T02: 5'-GTCCTACTCG-3'. Cykl temperaturowy i rozdział produktów przeprowadzono wg wcześniej opisaney metody (8).

### 2.3. Analiza glutenin

Elektroforegramy glutenin uzyskiwano po rozdziale na żelu poliakrylamidowym w obecności siarczanu dodecyłowego (SDS-PAGE) (9,10). Nomenklaturę podjedno-

stek gluteninowych podano zgodnie z Payne i Lawrence (11). Badania przeprowadzono na 3 ziarniakach z każdej formy.

W przypadku obydwu analiz za markery specyficzne dla *Aegilops ventricosa* uważano prążki występujące w tej formie, a których obecności nie stwierdzono u pozostałych form rodzicielskich pszenicy.

### 3. Wyniki i dyskusja

#### 3.1. Analiza RAPD

O przydatności metody RAPD do potwierdzenia wprowadzenia obcych segmentów do pszenicy zwyczajnej świadczy wiele prac. King i wsp. (12) stosując markery RAPD potwierdzili obecność obu ramion chromosomu 5E<sup>b</sup> (*Thinopyrum bessarabicum*) w liniach substytucyjnych pszenicy zwyczajnej. Iqbal i Rayburn (13) stwierdzili, że metoda ta jest odpowiednia do identyfikacji ramienia 1RS żyta u linii translokacyjnej. Francis i wsp. (14) zidentyfikowali marker RAPD specyficzny dla translokacji 1BL/1RS a Qi i wsp. (15) wykorzystali RAPD do analizy linii translokacyjnej pszenicy z segmentem chromosomu *Haynaldia villosa*.

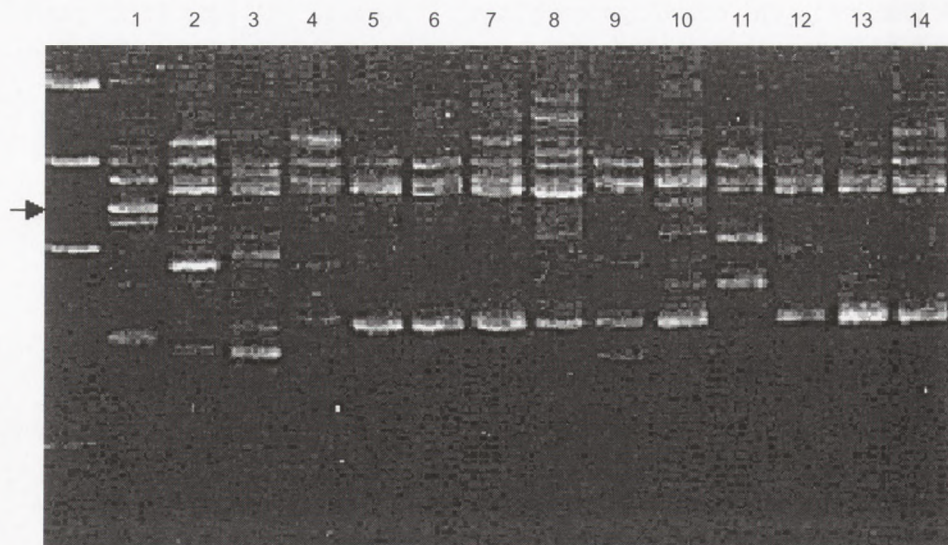
Porównując występowanie markerów uzyskanych ze starterami T02 i G03 w rodzicach i mieszańcach można stwierdzić, że z 8 prążków specyficznie amplifikowanych w *Ae. ventricosa* 2 obecne były w mieszańcach. Marker G03<sub>580</sub> miał odpowiednik w kombinacji VGPB, a T02<sub>990</sub> obecny był w formie VGPA (fot. 1), co świadczy o transferze materiału genetycznego z *Ae. ventricosa* do tych rodów pszenicy.

#### 3.2. Analiza glutenin

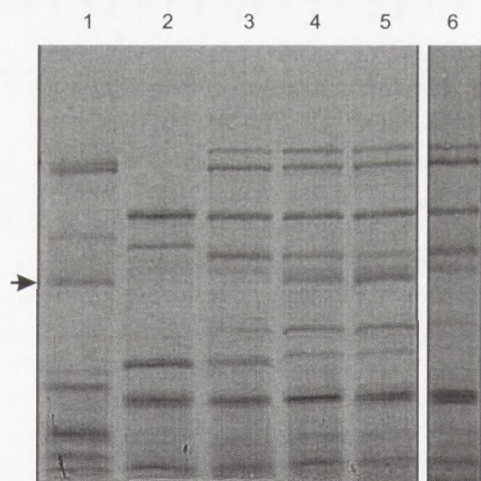
Skład podjednostek gluteninowych poszczególnych form mieszańcowych odzwierciedla ich pochodzenie. Prezentowany w badaniach własnych skład jednostek gluteninowych u pszenic Panda, Begra, Arda i Lanca (tab. 2) jest zgodny z katalogiem opracowanym przez Brzezińskiego (10).

W locus Glu-A1 badanych rodów pszenicy obserwowano wyłącznie podjednostki '1' i 'null'. W locus Glu-B1 stwierdzono obecność podjednostek: 7, 7 + 9, 7 + 8 i 6 + 8 natomiast w locus Glu-D1 – podjednostki 2 + 12 i 5 + 10.

W dwóch ziarniakach z kombinacji VGPP zidentyfikowano prążki o ruchliwości podobnej do podjednostki 5 oraz migrujące szybciej niż podjednostka Glu-1D-12, które oznaczono 'x'. Prążki o tej samej ruchliwości obserwowano również u *Ae. ventricosa* (fot. 2).



Fot. 1. Obraz prążkowy RAPD ze starterem TO2. Kolejno genotypy: 1) *Ae. ventricosa*; 2) Grandur; 3) VGL; 4) VGLL; 5) VGPP; 6) VGPPP; 7) VGPB; 8) VGPBP; 9) VGPA; 10) VGPA; 11) Lanca; 12) Panda; 13) Be-gra; 14) Arda. Strzałką oznaczono prążek specyficzny dla *Ae. ventricosa*.



Fot. 2. Elektroforegram glutenin. Ścieżki: 1-*Ae. ventricosa*, 2-Grandur, 3-5 VGPP, 6-Panda. Strzałka pokazuje prążki migrujące szybciej niż podjednostka Glu-1D-12, oznaczone w tekście symbolem 'x'.

Tabela 2

## Frakcje gluteninowe w analizowanych rodach pszenicy i odmianach rodzicielskich

Forma	Frakcje gluteninowe na chromosomach		
	1AL	1BL	1DL
VGLL	N	7	2 + 12
	N	7	2 + 12
	N	7	2 + 12
VGPP	1	7 + 9	5 + 10
	1	7 + 9	5 + x*
	1	7 + 9	5 + x
VGPB	1	7 + 8	5 + 10
	N	7 + 8	–
	1	7 + 8	5 + 10
VGPA	1	7 + 8	5 + 10
	1	6 + 8	2 + 12
	1	6 + 8	2 + 12
VGPAA	N	6 + 8	5 + 10
	N	6 + 8	2 + 12/5 + 10
	N	6 + 8	2 + 12
Lanca	2*	7 + 9	2 + 12
Panda	1	7 + 9	5 + 10
Begra	N	7 + 9	5 + 10
Arda	N	6 + 8	2 + 12
Grandur	N	7 + 8	–

\* prążki specyficzne dla *Ae. ventricosa*.

William i wsp. (5) stwierdzili obecność 14 różnych kombinacji podjednostek HMW pomiędzy różnymi genotypami *T. tauschii* (DD). Obserwowali oni podjednostkę oznaczoną T<sub>2</sub> o ruchliwości większej niż najszybsza u pszenicy zwyczajnej podjednostka Glu-D1-12. W badaniach własnych gatunek *Ae. ventricosa* tworzył trzy prążki odpowiadające gluteninom HMW (fot. 2). W dwóch ziarniakach z kombinacji VGPP nastąpiło prawdopodobnie wprowadzenie 2 podjednostek gluteninowych (pierwsza o migracji podobnej do Glu-D1-5, a druga o prędkości na poziomie podjednostki T<sub>2</sub>) z *Ae. ventricosa* w miejsce podjednostek kodowanych przez locus Glu-D1 u pszenicy. Oznacza to, że transfer genów w tej kombinacji miał miejsce pomiędzy chromosomem z genomu D *Ae. ventricosa* a chromosomem 1D pszenicy.

## Literatura

1. Bariana H. S., McIntosh R. A., (1993), *Genome*, 36, 476-482.
2. Yamashita K., Tanaka M., Koyama M., (1957), *Seiken Zihō*, 8, 20-26.
3. Law C. N., Worland A. J., Hollins T. W., Koebner R. M. D., Scott P. R., (1988), *Proc. 7<sup>th</sup> Int. Wheat Genet. Symp.*, Cambridge, 2, 835-840.
4. Doussinault G., Delibes A., Sanchez-Monge R., Garcia-Olmedo F., (1983), *Nature*, 303, 698-700.

5. Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V., (1990), *Nucl Acids Res*, 18, 6531-6535.
6. Harberd N. P., Bartels D., Thompson R. D., (1986), *Biochem Genet.*, 24, 579-596.
7. Payne P. I., (1987), *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 38, 141-153.
8. Tyrka M., Dziadczyk P., Miazga D., (1998), *EWAC Newsletter*, 118-121.
9. Laemmli V. K., (1970), *Nature*, 227, 680-685.
10. Brzeziński W., (1993), *Wiadomości Odmianoznawcze*, 54, 1-74.
11. Payne P. I., Lawrence G. J., (1983), *Cereal Res. Commun.*, 11, 29-35.
12. King I. P., Purdie K. A., Rezanoor H. N., Koebner R. M. D., Miller T. E., Reader S. M., Nicholson P., (1993), *Theor. Appl. Genet.*, 86, 895-900.
13. Iqbal M. J., Rayburn A. L., (1995), *Theor. Appl. Genet.*, 91, 1048-1053.
14. Francis A., Leitch A. R., Koebner R. M. D., (1995), *Theor. Appl. Genet.*, 90, 636-642.
15. Qi L., Cao M., Chen P., Li W., Liu D., (1996), *Genome*, 39, 191-197.