

JÓZEF PILCH

Zakład Oceny Jakości i Metod Hodowli Zbóż

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Krakowie

Genetyczne możliwości ulepszania jakości ziarna pszenicy ozimej *Triticum aestivum* L. w efekcie hybrydyzacji introgresywnej z *Triticum durum* Desf.

Genetic possibilities of grain quality improvement of winter wheat *Triticum aestivum* L. in the effect of introgressive hybridization with *Triticum durum* Desf.

W pracy analizowano wartość technologiczną ziarna 64 ozimych linii introgresywnych *T. aestivum* L./ *T. durum* Desf. Ocena technologiczna obejmowała 4 letnie wyniki zawartości białka ogółem (%), wskaźnika sedimentacji Zeleny'ego (ml), liczby opadania (s), wartości wypiekowej (klasy E, A, B, C) i elektroforezę SDS-PAGE wysokocząsteczkowych glutenin. Wyniki te porównano z wynikami uzyskanymi dla odmiany jakościowej Begra. Większość badanych linii wykazywała wartości wskaźników, które dorównywały (klasa A) lub przewyższały (klasa E) odmianę Begra. Zawartość białka klasy E miało 46,8% linii, wskaźnik sedimentacji Zeleny'ego klasy E — 21,8% linii, liczbę opadania klasy E — 96,8% linii i wartość wypiekową klasy E miało 18,6% linii. Wykonana elektroforeza wysokocząsteczkowych glutenin wykazała (1) obecność homeologicznych alleli w loci *Glu-A1* i *Glu-B1* u 85,9% linii, (2) rozbicie alleliczności w locus *Glu-D1* i utworzenie nowej kombinacji podjednostek 5+12 u 6,3% linii, (3) introgresję obcych alleli w loci *Glu-1* o nieznanych podjednostkach u 7,8% linii. Uzyskane wyniki wskazują, iż hybrydyzacja introgresywna *T. aestivum* L. z pszenicą tetraploidalną gatunku *T. durum* Desf. prowadzić może do podwyższenia wartości technologicznej ziarna u pszenicy ozimej *T. aestivum* L. wynikającego z introgresji alleli genomów A, B lub efektów pasażowania obcymi chromosomami.

Słowa kluczowe: gluteniny wysokocząsteczkowe, hybrydyzacja introgresywna, wskaźniki technologiczne, *Triticum aestivum* L., *Triticum durum* Desf., ziarno

In the paper, the technological grain quality of 64 winter introgressives *T. aestivum* L./ *T. durum* Desf. was analyzed. The technological evaluation contained the 4-year results regarding protein content (%), Zeleny-sedimentation indicator (ml), falling number (s), baking value (the classes E, A, B, C) and SDS-PAGE electrophoresis of the high-molecular-weight (HMW) glutenins. The results were compared to those obtained with quality variety Begra of *T. aestivum* L. The majority of the introgressives exhibited the values of the indicators which were equal (to class A) or exceeded (class E) the variety Begra. The protein content Zeleny-sedimentation indicator, falling number and the baking value of class E were recorded for 46.8, 21.8, 96.8 and 18.6% of the introgressives, respectively. The SDS-PAGE electrophoresis of HMW-glutenins showed (1) the presence of homoeological alleles at the

loci *Glu-A1* and *Glu-B1* in 85.9% of the introgressives, (2) the allelic breakages in the locus *Glu-D1* with the genesis of new combination of subunits 5+12 in 6.3% and (3) the introgressions of the alien alleles at the loci *Glu-1* with the unknown subunits in 7.8% of the introgressives. The results showed that the introgressive hybridization of *T. aestivum* L. with the tetraploid wheat of the species *T. durum* Desf. can result in increasing the grain quality in winter wheat *T. aestivum* L., arising from the introgressions of A, B genome alleles or from the chromosome-passage effects under the alien chromosome influence.

Key words: grain, high-molecular-weight glutenins, introgressive hybridization, technological indicators, *Triticum aestivum* L., *Triticum durum* Desf.

WSTĘP

Pszenica tetraploidalna *Triticum durum* Desf. przeznaczona jest głównie do wyrobu makaronu ze względu na wysoką zawartość glutenu i odmienne niż u pszenicy chlebowej *T. aestivum* L. jego właściwości. Inne są również uwarunkowania genetyczne glutenu, który determinują wyłącznie genomy A i B. Wysokocząsteczkowe frakcje glutenin u tego gatunku pszenicy kodowane są przez więcej alleli aniżeli u *T. aestivum* L., w locus *Glu-A1* występuje 7 alleli, w *Glu-B1* — 11 alleli (Branlard i in. 1989). Większość z nich nie występuje w ogóle u odmian pszenicy heksaploidalnej *T. aestivum* L. (Payne i Lawrence 1983), a powiązane są z korzystnymi właściwościami ciasta (Turchetta i in., 1995; Branlard i in., 1989, Lin i Shepherd, 1996, Dessalegn i in. 2003) a także z cechami użytkowymi (Autran i Galterio, 1989). Z tych względów gatunek *T. durum* Desf. może być źródłem nowej zmienności genetycznej dla wskaźników technologicznych ziarna pszenicy ozimej *T. aestivum* L.

Pomimo, że w Polsce nastąpił wyraźny postęp w hodowli jakościowej metodami rekombinacyjnymi, niemniej jednak przekroczenie poziomu odmiany Begra nie jest wciąż łatwe, chociaż odmiana ta należy do grupy jakościowej A. W rejestrze odmian pszenicy ozimej w Polsce brak jest wciąż przedstawicieli grupy jakościowej E (Kaczyński, 2002). Poszukiwanie zatem nowych źródeł genetycznych dla cech jakościowych, chociażby wśród gatunków spokrewnionych w obrębie rodziny *Poaceae* może być jednym ze sposobów zwiększania jakości ziarna pszenicy ozimej. Odmiany tetraploidalne gatunku *T. durum* Desf. są takim źródłem i stwarzają możliwości introgresji cech technologicznych ziarna do genotypu *T. aestivum* L. W efekcie krzyżowania pomiędzy *T. aestivum* L i *T. durum* Desf. prowadzonego od wielu lat w IHAR — Kraków uzyskano linie z introgresjami korzystnych cech morfologicznych kłosa (Pilch, 1996, Pilch, 2002). Stały się one obiektem dalszych opracowań biochemicznych i poszukiwania introgresji cech technologicznych ziarna (Pilch i in., 1999).

Celem pracy było przedstawienie efektywności hybrydyzacji introgresywnej z *T. durum* Desf. w zakresie zwiększania wartości technologicznej ziarna pszenicy ozimej *T. aestivum* L.

MATERIAŁ I METODY

Analizowano 64 introgresywne linie ozime *Triticum aestivum* L. / *Triticum durum* Desf. otrzymane w wyniku międzygatunkowego krzyżowania *T. aestivum* L. cv. mono-5B

Chinese Spring i mono-5B Favorit z ozimą pszenicą tetraploidalną *T. durum* Desf. cv. Mirable, Khapli, Fuensemiduro, według metodyki opisanej wcześniej przez Pilcha (1996).

Linie rozmnażano i badano w 4 kolejnych latach wraz z odmianą Begra w tych samych warunkach doświadczalnych. Stanowiły one generacje F₅–F₈, F₈–F₁₁, F₁₂–F₁₅. Ocena 4-letnia jakości ziarna obejmowała: zawartość białka ogółem (%), wskaźnik sedymentacji Zeleny'ego (ml), liczbę opadania (s) i wartość wypiekową (klasy: E-elitarna, A-jakościowa, B-chlebową, C-pozostałe) wycenioną na podstawie tych wskaźników wg Klockiewicz-Kamińskiej i Brzezińskiego (1997). Oznaczenia wykonano w kolejnych rozmnożeniach F₅–F₈, F₈–F₁₁, F₁₂–F₁₅ w Pracowni Biochemii i Technologii Zbóż IHAR w Krakowie. Stosowano metody dla pszenicy opisane w pracy Pilcha i wsp. (1999). Podział na klasy jakościowe E, A, B, C przedstawiono w porównaniu do odmiany Begra według metodyki COBORU (Klockiewicz-Kamińska i Brzeziński, 1997). Wyliczone wartości przedziałów dla poszczególnych klas podano w tabeli 1.

Tabela 1

Zawartość białka, stopień sedymentacji i liczba opadania w odmianie Begra na tle wartości dla poszczególnych klas jakości ziarna 64 linii introgressywnych *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf.
The protein content, sedimentation degree and falling number in var. Begra compared to the respective values in several classes of grain quality in 64 introgressives *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf.

Klasa Class	Zawartość białka Protein content (%)	Liczba opadania Falling number (s)	Sedymentacja Sedimentation (ml)
E	>14,9	>236,0	> 53,0
A	13,7–14,8	186,0–235,9	39,3–52,9
B	13,2–13,6	156,0–185,9	24,9–39,2
C	< 13,1	< 155,9	< 24,8
Begra	14,3	325,7	46,1

Zakwalifikowanie linii do grupy jakościowej E–C wymagało osiągnięcia minimalnych wartości 8 wskaźników, a przekroczenie lub niespełnienie chociażby jednego z nich rzutowało na końcową klasyfikację danej linii.

Elektroforezę SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamid Gel Electrophoresis) białek gluteninowych wykonano po III reprodukcji linii w Pracowni Oceny Jakości i Odporności IHAR w Krakowie wg modyfikacji Bushuka i Zillmana (1979). Zidentyfikowane podjednostki wysokocząsteczkowych glutenin klasyfikowano według nomenklatury Payne i Lawrence (1983) przewidzianej dla pszenicy heksaploidalnej *Triticum aestivum* L.

WYNIKI I DYSKUSJA

A) Zawartość białka

Odmiany pszenicy tetraploidalnej *T. durum* Desf. zwanej makaronową stanowią dla pszenicy chlebowej *T. aestivum* L. źródło wielu korzystnych cech technologicznych uwarunkowanych genetycznie, takich jak: wysoka zawartość białka ogółem w ziarnie dochodząca nawet do 18%, odporność na porastanie, czy ilość i jakość glutenu. Pomimo, że odmiany tego gatunku pszenicy nie są jeszcze zarejestrowane w Polsce, to oceniane

w doświadczeniach polowych krajowych charakteryzują się wysoką zawartością białka w ziarnie, dochodzącą nawet do 20,3% (Szwed-Urbaś i in., 1997). Geny determinujące zawartość białka zlokalizowano u tego gatunku pszenicy na 7 różnych chromosomach, tj. 4AL, 4BS, 5AL, 6A, 6BL, 7AL, 7BS (Blanco i in., 1998). Jako niezależne grupy genów stwarzają większe możliwości ich introgresji i rekombinacji z chromosomami genomów *T. aestivum* L.

Bardzo wysoką zawartość białka 14,9%–16,5% miało w naszych badaniach 46,8% linii introgresywnych *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf., co pozwoliło zakwalifikować je do klasy jakościowej E (tab. 2), tj. wyższej od odmiany wzorcowej Begra (klasa A). Zatem wysoki poziom białka mógł wynikać z introgresji genów występujących na chromosomach 4A, 5A, 6A, 7A genomu A i chromosomach 4B, 6B, 7B genomu B *T. durum* Desf.

Tabela 2

Przyporządkowanie 64 linii introgresywnych *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf. do 3 klas jakościowych z uwzględnieniem 4 parametrów technologicznych
The classification of 64 introgressives *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf. in 3 quality classes on the basis of 4 technological parameters

Klasa Class	Białko Protein (%)	Liczba opadania Falling number (s)	Sedymentacja Sedimentation (ml)	Wartość wypiekowa Baking value
E	30	62	14	12
A	31	2	41	43
B	3	0	9	9

B) Liczba opadania

O wartości technologicznej ziarna *T. aestivum* L. decyduje także liczba opadania, która kodowana jest inną grupą genów aniżeli białko, tj. *alfa-Amy*, którą tworzą: *alfa-Amy 1* (12–14 genów), *alfa-Amy 2* (10–11 genów) i *alfa-Amy 3* (nieznana liczba genów). Geny *alfa-Amy 1* występują na chromosomach VI grupy homeologicznej (6A, 6B, 6D), geny *alfa-Amy 2* — na chromosomach VII grupy homeologicznej (7A, 7B, 7D) i geny *alfa-Amy 3* — na chromosomach V grupy homeologicznej (5A, 5B, 5D) (Mac Gregor i Mac Gregor, 1987; Baulcombe i in., 1987).

A zatem introgresji z pszenicy *T. durum* Desf. mogły podlegać jedynie geny *alfa-Amy 1* z chromosomów 6A i 6B, geny *alfa-Amy 2* z chromosomów 7A i 7B oraz geny *alfa-Amy 3* z chromosomów 5A, 5B.

Wśród badanych linii 96,8% miało wysoką liczbę opadania mieszczącą się w przedziale 236,0 s — 398,0 s (tab. 2). Odpowiadały one klasie E, czyli tej samej do której zakwalifikowano odmianę Begra. Stwierdzono również, że aż 23 linie posiadały wyraźnie wyższe wartości tej cechy (powyżej 330 s) od odmiany Begra.

C) Wskaźnik sedymentacji

Biotyp odmiany Chinese Spring *T. aestivum* L. wykorzystany w naszych badaniach jako podstawowy genotyp w uzyskaniu mieszańców F₁-bridge odznaczał się niskimi wskaźnikami jakości ziarna, w tym sedymentacji Zeleny'ego, podobnie jak odmiana Favorit. Wykazywał on kombinację podjednostek null w *Glu-A1c*, 7+8 w *Glu-B1b* i 2+12 w *Glu-D1a* (nieop. wyniki, 2003). Zatem odmiany te nie mogły stanowić źródeł uzyskania

wysokich wskaźników technologicznych ziarna w badanych liniach introgresyjnych *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf. Jednak wśród nich 21,8% linii prezentowało wskaźnik sedymentacji Zeleny'ego na poziomie 53,0–62,0 ml, co kwalifikowało je do klasy E, czyli wyższej od odmiany Begra (tab. 1). Z kolei, poziom odmiany Begra (klasa A) miało 64,1% linii, zaś niższy od tej odmiany — 14,1% badanych linii.

O właściwościach wypiekowych odmiany decydują zasadniczo wysokocząsteczkowe frakcje glutenin kodowane przez homeologiczne loci *Glu A1*, *Glu-B1* i *Glu-D1* położone na długich ramionach chromosomów *1A*, *1B* i *1D* (Payne i Lawrence, 1983). Dla każdego z tych loci stwierdzono multiallelizm — allele tych loci tworzą setki kombinacji rozmieszczonych w odmianach *T. aestivum* L. Stanowią one genetyczny system tych odmian decydujący o wartości wielu wskaźników technologicznych ziarna. Występuje on również u pszenicy tetraploidalnej *T. durum* Desf.. Turchetta i wsp. (1995) wykazali w jej odmianach obecność 14 różnych prążków HMW glutenin będących kombinacją 3 alleli genomu A i 7 alleli genomu B. Stwierdzili obecność 3 nowych alleli: 1 allel w locus *Glu-A1* i 2 allele w locus *Glu-B1*. Efektem była zawartość białka w ziarnie 11,0%–19,0% i wskaźnik sedymentacji 28–85 ml. Ponadto u *T. durum* Desf. zidentyfikowano dodatkowe podjednostki HMW i LMW glutenin kodowanych przez loci *Glu-1* i *Glu-3* mające praktyczne zastosowanie w hodowli jakościowej tego gatunku (Ciaffi i in., 1992). Sabelli i Shevry (1991) wykazali duże różnice alleli w loci *Glu-1* pomiędzy odmianą Chinese Spring, będącą komponentem krzyżówkowym badanych materiałów w niniejszej pracy i odmianami *T. durum* Desf. Należy również zwrócić uwagę u *T. durum* Desf. na występowanie genu *Imw-gs* w locus *Glu-B3* kodującego specyficzną frakcję LMW glutenin, które decydują o wyjątkowych właściwościach tej pszenicy istotnych przy wypieku chleba (D'Ovidio i in., 1997).

U odmian pszenicy *T. durum* Desf. istnieją korelacje genetyczne loci genomów A i B mogących podlegać introgresji ze wskaźnikami technologicznymi. Blanco i wsp. (1998) stwierdzili, że wskaźnik sedymentacji kodowany był przez 7 loci na 7 różnych chromosomach *1AL*, *1BS*, *3AS*, *3BL*, *5AL*, *6AL* i *7BS*. Sprzężenia dotyczyły loci na chromosomach *5AL*, *6AL*, *7BS*. Na chromosomie *1AL* zlokalizowano locus *Glu-A1*, a na chromosomie *1BS* loci *Glu-B1/Glu-B3* kodujące niektóre gluteniny i gliadyny. Sedymentacja była dodatnio skorelowana z zawartością białka w ziarnie (Blanco i in., 1998). Z kolei Dexter i Matsuo (1987) stwierdzili wysoką korelację pomiędzy sedymentacją a silnym glutenem i jakością ugotowanego makaronu. Nie stwierdzono natomiast korzystnej zależności pomiędzy wskaźnikiem sedymentacji a podjednostkami HMW — glutenin 6 + 8, 7 + 22 (wprowadzone z *T. dicoccoides* L.) kodowanymi przez oba allele *Glu-B1*.

Również w odmianach pszenicy *T. aestivum* L. występują podobne zależności loci *Glu-A1* i *Glu-B1* ze wskaźnikami technologicznymi ziarna. Lorenzo i wsp. (1987) wykazali, że wysoka sedymentacja i objętość chleba zawsze związane były z podjednostkami 5 + 10 glutenin wysokocząsteczkowych, zaś Odenbach i Mahgoub (1988), że wysoka sedymentacja — z podjednostkami 2* (*Glu-A1 b*), 7 + 8 (*Glu-B1 b*), 7 + 9 (*Glu-B1 c*), 5 + 10 (*Glu-D1 d*) a z niską sedymentacją związane były podjednostki: null (*Glu-A1 c*), 6 + 8 (*Glu-B1 d*), 2 + 12 (*Glu-D1 a*).

Carrillo i wsp. (1990), Schepers i wsp. (1993) stwierdzili współzależność wskaźnika sedymentacji z podjednostkami glutenin wysokocząsteczkowych kodowanymi przez homeologiczne loci *Glu-A1*, *Glu-B1* i *Glu-D1* zwłaszcza locus *Glu-D1 a d* (2 + 12, 5 + 10).

Tabela 3

Wartość technologiczna ziarna 5 introgresywnych linii *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf. o niezidentyfikowanych podjednostkach (n.i.) wysokocząsteczkowych glutenin w loci *Glu-1*
Technological grain quality of the 5 introgressives *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf. with the unidentified subunits (n.i.) HMW-GS at the loci *Glu-1*

Lp No.	Pochodzenie Pedigree	Białko Protein (%)	Sedymentacja Sedimentation (ml)	Liczba opadania Falling number (s.)	Podjednostki Subunits <i>Glu-1</i> loci		
27.	STH 290 × (ChS-Khapli) 101/23/1	13,9 A	42,3 A	315,0 E	n.i.	n.i.	n.i.
32.	STH 5576 × /(ChS-Mirable) M. Marksmann / 106/1/11	13,4 A	42,0 A	258,3 E	n.i.	n.i.	n.i.
33.	STH 7430 × / (ChS-Mirable) M. Marksmann/ 116/2/21	13,5 A	39,3 A	325,3 E	n.i.	n.i.	n.i.
34.	STH 8663 × / (ChS-Fuensemiduro) M. Marksmann/ 117/43/1/2	15,0 E	41,7 A	359,0 E	n.i.	n.i.	n.i.
51.	(5B Favorit-Mirable) .92/1/35	14,9 E	53,2 E	277,7 E	n.i.	n.i.	2+12
Begra — Wzorzec; Standard		13,9 A	45,3 A	315,7 E	N	7+9	5+10

Tabela 4

Wartość technologiczna ziarna 4 introgresywnych linii *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf. z parą podjednostek 5+12 wysokocząsteczkowych glutenin w locus *Glu-D1*
Technological grain quality of the 4 introgressives *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf. with the subunit pair 5+12 HMW-GS at the locus *Glu-D1*

Lp No.	Pochodzenie Pedigree	Białko (%) Protein (%)	Sedymentacja Sedimentation (ml)	Liczba opadania Falling number (s.)	Podjednostki Subunits <i>Glu-1</i> loci		
(5B Favorit-Mirable)							
48	92/1/14	15,3 E	62,0 E	290,7 E	2	7+9	5+12
49.	92/1/30	15,6 E	53,7 E	385,3 E	2	7+9	5+12
50.	92/1/31/1	14,6 E	53,0 E	294,3 E	2	7+9	5+12
(ChS- Mirable)							
75.	27/16	15,3 E	44,3 A	281,7 E	N	7+9	5+12
Begra — Wzorzec; Standard		13,9 A	45,3 A	315,7 E	N	7+9	5+10

Oznaczenia jak w tabeli 3; Designations as in table 3

Aktualnie podjednostkom HMW-GS 5+10 locusa *Glu-D1d* przypisuje się największy pozytywny wpływ na właściwości ciasta (Dong i in., 1991). W badanych liniach introgresywnych *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf. locus ten nie mógł jednak uczestniczyć w introgresji albowiem nie występuje w gatunku *T. durum* Desf. Jednak i w loci *Glu-A1*, *Glu-B1* *T. durum* Desf. obecne są również inne allele mające duży wpływ na cechy ciasta. Podjednostki N, 7+8 powodowały najwyższą objętość bochenka chleba, wskaźnik sedymentacji i najlepsze właściwości miksograficzne ciasta (Dessalegn i in., 2003). Odmiana meksykańska Cajeme 71 o wysokiej jakości wykazywała obecność podjednostek: 1 (*Glu-A1 a*), 17 + 18 (*Glu-B1 i*) i 5 + 10 (*Glu-D1 d*) (Carrillo i in., 1990),

zaś odmiana Begra będąca wzorcem jakościowym w niniejszej pracy - N (*Glu-A1 c*), 7+9 (*Glu-B1 c*) i 5+10 (*Glu-D1 d*), (tab. 3, 4).

D) Wartość wypiekowa

Introgresywna hybrydyzacja z *T. durum* Desf. stwarza możliwości: (1) transferu homeologicznych alleli z loci *Glu-A1* i *Glu-B1* *T. durum* Desf. do odmian *T. aestivum* L., (2) transferu alleli jakie nie występują u *T. aestivum* L. z loci *Glu-A1* i *Glu-B1* *T. durum* Desf., (3) rozbitcia u *T. aestivum* L. alleliczności loci *Glu-1* w wyniku pasażowania genotypu AA BB DD obcymi chromosomami i powstania nowych kombinacji alleli.

W przypadku białek gluteninowych oba spokrewnione gatunki pszenicy, tj. *T. aestivum* L. i *T. durum* Desf. mają 9 wspólnych homeologicznych alleli: 3 allele (*a*, *b*, *c*) w locus *Glu-A1* i 6 alleli (*a*, *b*, *d*, *e*, *f*, *h*) w locus *Glu-B1* (Payne, Lawrence 1983, Branlard i in. 1989). Zostały one zidentyfikowane metodą pośrednią czyli za pomocą podjednostek wykrytych w elektroforezie żelowej SDS-PAGE, w której wizualnie ustalono położenie bloków białek migrujących przypisując to odpowiednim podjednostkom, a z kolei podjednostki — allelom. Ponieważ nie wykazano identyczności alleli na podstawie sekwencjonowania DNA, nie można zatem twierdzić iż są to homologiczne allele, czyli DNA o tych samych sekwencjach nukleotydów. Coraz więcej badań DNA wskazuje na występowanie różnic w sekwencji nukleotydów pomiędzy nimi. I tak u węgierskiej heterogenicznej odmiany jakościowej Bankuti 1201 stwierdzono spontaniczną substytucyjną mutację allele *b* w locus *Glu A-1* dla podjednostki 2* polegającą na zamianie kodonów seryny na cysteinę, a więc nowy allel pomimo, że elektroforeza SDS-PAGE wykazywała zawsze obecność podjednostki 2* wskazującej allel *b* (Juhasz i in., 2003). Z kolei Anderson i wsp. (1998) wykazali, że promotory Bx tych samych alleli genu *Glu-B1-1* u dwóch odmian Chinese Spring i Cheyenne pszenicy *T. aestivum* L., u odmiany Bidi *T. durum* Desf. i gatunku *T. turgidum* ssp. *dicoccoides* przedstawiały różnice w sekwencji bp. Dotyczyły one duplikacji o wielkości 54 bp lub insercji 185 bp powstałej na skutek transpozycji. W innym przykładzie identyfikowania alleli metodą elektroforezy SDS-PAGE, Forde i wsp. (1985) rozpoznali u odmiany Cheyenne delecję 85 bp w promotorze Ay genu *Glu-A1-2*. Tak więc nie ma pewności nawet u odmian pszenicy *T. aestivum* L., iż te same allele w loci *Glu-1* mają identyczne sekwencje bp, czyli są homologiczne. Jak widać elektroforeza SDS-PAGE nie może służyć do identyfikowania alleli wysokocząsteczkowych glutenin w loci *Glu-1*. Zatem introgresja wspólnych alleli z *T. durum* Desf do genomów AA BB *T. aestivum* L. może być źródłem nowej zmienności genetycznej ekspresją, czego mogą być wyższe wartości wskaźników technologicznych ziarna. Potwierdziła to wykonana elektroforeza SDS-PAGE. Wykazała ona, że w badanych liniach introgresywnych *T. aestivum* L./*T. durum* Desf., 55 linii (85,9%) miało wspólne allele w loci *Glu-A1* i *Glu-B1*. W porównaniu do wzorca genetycznego, czyli odmian Chinese Spring i Favorit istotnie wyższą zawartość białka miało 51 linii (24 linie w klasie E, 27 linii w klasie A), wyższy wskaźnik sedymentacji Zeleny'ego miały 44 linie (10 linii w klasie E, 34 linie w klasie A) i wyższą liczbę opadania miały wszystkie linie (62 linie w klasie E i 2 linie w klasie A). Składają się one na wysoką wartość wypiekową ocenioną na podstawie tych wskaźników (tab. 2). Wartość wypiekową klasy E wyższej od odmiany Begra miało 18,7% badanych linii, zaś poziom tej odmiany (klasa A) — 67,2% linii.

Nieliczne tylko linie stanowiące 14,1% charakteryzowało się wartością wypiekową niższą od odmiany Begra (klasa B).

Gatunek *T. durum* Desf. ma 9 alleli *Glu-1* jakie nie występują u pszenicy heksaploidalnej *T. aestivum* L.: 4 allele (III, IV, V, VI) w locus *Glu-A1* i 5 alleli (IV, VI, XII, XIII, XIV) w locus *Glu-B1* (Payne, Lawrence 1983, Branlard i in. 1989). Introgresja ich do *T. aestivum* L. może wprowadzić nową zmienność genetyczną wynikającą z obecności obcego DNA, jak i zwiększenie liczby podjednostek w odmianie co może przejawiać się w ekspresji cech technologicznych. Dotychczas brak jest informacji o funkcjonowaniu tych alleli w genotypie AA BB DD i cytoplazmie *aestivum* oraz przydatności w zwiększaniu wskaźników technologicznych w ziarnie *T. aestivum* L. Z powodzeniem jednak wprowadzono do odmiany Sicco *T. aestivum* L. 2 obce allele z pszenicy diploidalnej *T. boeoticum* Boiss., tj. *Glu-A1 r* kodującego podjednostki 39+40 i *Glu-A1 s* kodującego podjednostki 41+42 (Rogers i in., 1997). W odmianie tej nastąpiło zwiększenie liczby podjednostek z 5 do 6, a efekty technologiczne okazały się korzystne. Z kolei Łukaszewski i Curtis (1992, 1994), Kazman i Lelley (1994), Lafferty i Lelley (2001), Łukaszewski i wsp. (2000), Vitellozzi i wsp. (1997) wprowadzili locus *Glu-D1* z pszenicy *T. aestivum* L. do pszenżyta heksaploidalnego (*X Triticosecale* Witt.), pszenicy *T. durum* Desf. i żyta *S. cereale* L., podwyższając w ten sposób wartość wypiekową ziarna u odmian tych gatunków.

E) Białka gluteninowe

W badanych 64 liniach introgresywnych *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf. zidentyfikowano 5 linii o nieznanych podjednostkach wysokocząsteczkowych glutenin w *Glu-A1*, *Glu-B1* a nawet w locus *Glu-D1*, który nie był obiektem introgresji (tab. 3). Zastosowana elektroforeza SDS-PAGE ujawniała bez trudu skład podjednostek w loci *Glu-A1*, *Glu-B1* i *Glu-D1* u odmiany Begra i 59 linii introgresywnych, lecz w 5 liniach nie określiła składu pomimo wielu powtórzeń. Może to świadczyć, iż typowe dla tych loci podjednostki nie występowały, a zatem należy sądzić iż nastąpiła zmiana alleliczności w tych loci, być może spowodowana delecją lub substytucją obcych alleli, których nie udało się oznaczyć na podstawie identyfikacji podjednostek elektroforezą SDS-PAGE. Natomiast zmiana w locus *Glu-D1* mogła być efektem translokacji pomiędzy chromosomami 1DL *T. aestivum* L. i obcymi A1L lub 1BL należącymi do *T. durum* Desf., jak to wykazali Kazman i Lelley (1994) oraz Lafferty i Lelley (2001) u pszenżyta heksaploidalnego (*X Triticosecale* Witt.) z chromosomami pszenicy *T. durum* Desf. Wystąpienia takich translokacji w badanych liniach *T. aestivum* L./*T. durum* Desf. były możliwe, albowiem w krzyżowaniach z *T. durum* Desf. stosowano genetyczny system homeologicznej koniugacji 5B *T. aestivum* L. w celu uzyskania mieszańców "F₁-bridge". Efektem tych niezidentyfikowanych zmian genetycznych mogły być wysokie wartości zawartości białka, wskaźnika sedymentacji Zeleny'ego i liczby opadania odpowiednie dla klas E i A, a więc przewyższające zarówno wzorce genetyczne odmian Chinese Spring, Favorit, jak i wzorzec hodowlany jakościowy odmianę Begra (tab. 3).

Efektem hybrydyzacji introgresywnej może być także rozbitcie alleliczności w loci *Glu-1* i powstanie nowych kompozycji alleli w locus, następstwem czego mogą być inne podjednostki nietypowe dla danego locus według katalogu Payne i Lawrence (1983).

Zmiany takie w chromosomach genomów A, B, D u *T. aestivum* L. mogą zachodzić także pod wpływem obcych chromosomów jak *T. durum* Desf., czyli tzw. pasażowania chromosomów. Zjawisko takie jest powszechne w pszenżycie heksaploidalnym (*X Triticosecale* Witt.), gdzie chromosomy żyta *S. cereale* L. ulegają wyraźnym zmianom morfologicznym poprzez utratę heterochromatynowego DNA pod wpływem chromosomów pszenicy tetraploidalnej *T. durum* Desf. (Pilch, 1987).

Wykonana elektroforeza SDS-PAGE badanych linii wykazała rozbitcie alleliczności w locus *Glu-D1* u 4 linii introgresywnych *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf., u których zidentyfikowano nową parę podjednostek wysokocząsteczkowych glutenin 5 + 12 (tab. 4) jaka nie występuje w katalogu Payne i Lawrence (1983). W literaturze brakuje również doniesień o występowaniu takiej pary podjednostek w odmianach pszenicy ozimej uprawianych w Europie, Australii, Japonii i Chinach. Powstała ona (5+12) prawdopodobnie z rozbitcia par 5+10 oraz 2+12 lub 3+12 lub 4+12). Efekty tego okazały się korzystne u 4 linii *T. aestivum* L. / *T. durum* Desf., albowiem badane wskaźniki technologiczne: % zawartość białka, wskaźnik sedymentacji Zeleny'ego i liczba opadania miały bardzo wysokie wartości (klasy E, A) przewyższające zarówno wzorce genetyczne odmian Chinese Spring, Favorit i wzorzec hodowlany jakościowy — odmianę Begra (tab. 4). Warto zaznaczyć, że zmiany te wystąpiły jedynie pod wpływem chromosomów jednej tylko odmiany tetraploidalnej Mirable, która mogła mieć takie właściwości.

WNIOSKI

1. Przeprowadzone badania wykazały, że hybrydyzacja introgresywna odmian Chinese Spring i Favorit *T. aestivum* L. z odmianami Mirable, Khapli i Fuensemiduro *T. durum* Desf. prowadzić może do uzyskania w pszenicy ozimej *T. aestivum* L. wysokich wartości wskaźników technologicznych (klasa E) wykraczających nawet poza genotyp jakościowy odmiany Begra.
2. Pomimo, że wysoka wartość wypiekowa (klasy E, A) u większości badanych linii introgresywnych *T. aestivum* L./ *T. durum* Desf. oceniona była tylko na podstawie 3 wskaźników technologicznych (% zawartość białka, wskaźnik sedymentacji Zeleny'ego, liczba opadania) to niektóre z nich mogą stanowić wartościowy materiał wyjściowy dla programów hodowlanych kierunku jakościowego w celu poprawienia pojedynczych cech jakościowych ziarna.
3. Hybrydyzacja introgresywna pszenicy ozimej *T. aestivum* L. z tetraploidalnym gatunkiem *T. durum* Desf. prowadzi również do uzyskania zmian genetycznych w zakresie uwarunkowań w loci *Glu-1* wysokocząsteczkowej frakcji glutenin. Zidentyfikowanie nowej pary podjednostek 5+12 połączonej z wysokimi wartościami (klasy E, A) wskaźników technologicznych może stanowić źródło odmiennych uwarunkowań cech jakościowych ziarna dla materiałów hodowlanych pszenicy ozimej *T. aestivum* L.

LITERATURA

- Autran J. C., Galterio G. 1989. Associations between electrophoretic composition of protein, quality characteristics and agronomic attributes of durum wheat. II. Protein quality association. *J. Cereal Sci.* 9: 195 — 215.
- Anderson O. D., Abraham-Pierce F. A., Tam A. 1998. Conservation in wheat high-molecular-weight glutenin gene promoter sequences: comparisons among loci and among alleles of the *Glu-B1-1* locus. *Theor. Appl. Genet.* 96: 568 — 576.
- Baulcombe D. C., Huttly A. K., Martienssen R., Barker R. F., Jarvis M. G. 1987. A novel wheat alpha- amylase gene (*L-Amy 3*). *Mol. Gen. Genet.* 209: 33 — 34.
- Blanco A., Bellomo M. P., Lotti C., Pasquolone A. 1998. Mapping of quantitative trait loci for grain quality using recombinant inbred lines of durum wheat. *Proc. of the 10th EWAC Meeting, Viterbo — Italy* (Ed. C. Ceoloni, Worland A. J.): 106 — 109.
- Branlard G., Autran J. C., Monneveux P. 1989. High molecular weight glutenin subunits in durum wheat (*Triticum durum*). *Theor. Appl. Genet.* 78: 353 — 358.
- Carrillo J. M., Rousset M., Qualset C. O., Kasarda D. D. 1990. Use of recombinant inbred lines of wheat for study of associations of high-molecular weight glutenin subunit alleles to quantitative traits. I. Grain yield and quality prediction tests. *Theor. Appl. Genet.* 73: 321 — 330.
- Ciaffi M., Benedeltelli S., Giorgi B., Porceddu E., Lafiandra D. 1992. Seed storage proteins of *Triticum turgidum* spp. *dicoccoides* and their effects on technological quality in durum wheat. *Plant Breeding* 107: 309 — 319.
- Dessalegn T., Van Deventer C. S., Labuschagne M. T., Maartens H. 2003. B-LMW glutenin and y-gliadin composition of Ethiopian durum wheat genotypes and their association with some quality traits. *Cereal Res. Commun.* 31, 3–4: 453 — 457.
- Dexter J. E., Matsuo R. R. 1987. Relationship between durum wheat properties and pasta dough rheology and spaghetti cooking quality. *J. Agric. Food. Chem.* 26: 899 — 905.
- Dong H., Cox T. S., Sears R. G., Lockhard G. L. 1991. High molecular weight glutenin genes: Effects on quality in wheat. *Crop.Sci.* 31: 971 — 979.
- D'Ovidio R., Simeone M., Masci S., Porceddu E. 1997. Molecular characterization of a LMW-GS gene located on chromosome 1B and the development of primers specific for the *Glu-B3* complex locus in durum wheat. *Theor. Appl. Genet.* 95: 119 — 126.
- Forde J., Malpica J. M., Halford N. G., Shevry P. R., Anderson O. D., Green F. C. 1985. The Nucleotide sequence of a HMW glutenin subunit gene located on chromosome 1A of wheat (*Triticum aestivum* L.) *Nucleic Acids Res.* 13: 6817 — 6832.
- Juhász A., Larroque O. R., Tamas L., Hsam S. L. K., Zeller F. J., Bekes F., Bedo Z. 2003. Bankuti 1201 an old Hungarian wheat variety with special storage protein composition. *Theor. Appl. Genet.* 107: 697 — 704.
- Kaczyński L. 2002. Pszenica ozima. Lista opisowa odmian 2002. (wyd. E. Gacek, Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych, Słupia Wielka): 20 — 35.
- Kazman E., Lelley T. 1994. Rapid incorporation of D-genome chromosomes into A and/ or B genomes of hexaploid triticale. *Plant Breeding* 113: 89 — 98.
- Klockiewicz-Kamińska E., Brzeziński W. J. 1997. Metoda oceny i klasyfikacji jakościowej odmian pszenicy. *Wiad. Odm. COBORU* 67: 1 — 18.
- Lafferty J., Lelley T. 2001. Introduction of high molecular weight glutenin subunits 5+10 for the improvement of the bread-making quality of hexaploid triticale. *Plant Breeding* 120 (1): 33 — 37.
- Lin C. Y., Shepherd K. W. 1996. Variation of B subunits of glutenin in durum wild and less-widely cultivated tetraploid wheats. *Plant Breed.* 115: 172 — 178.
- Lorenzo A., Kronstad W. E., Vieira L. C. E. 1987. Relationship between high molecular weight glutenin subunits and loaf volume in wheat as measured by the sodium dodecyl sulfate sedimentation test. *Crop. Sci.* 27: 253 — 257.
- Lukaszewski A. J., Brzezinski W., Klockiewicz-Kaminska E. 2000. Transfer of the *Glu-D1* locus encoding high molecular weight glutenin subunits 5+10 from bread wheat to diploid rye. *Euphytica* 115: 49 — 57.

- Lukaszewski A. J., Curtis C. A. 1992. Transfer of the *Glu-D1* gene from chromosome 1D of bread wheat to chromosome 1R in hexaploid tritcale. *Plant Breeding* 109: 203 — 210.
- Lukaszewski A. J., Curtis C. A. 1994. Transfer of the *Glu-D1* gene from chromosome 1D to chromosome 1A in hexaploid tritcale. *Plant Breeding* 112: 177 — 182.
- Mac Gregor E. A., Mac Gregor A. W. 1987. Studies of cereal L-amylases using cloned DNSA. *Rev. Biotech.* 5: 129 — 142.
- Odenbach W., Mahgoub E. S. 1988. Relationships between HMW glutenin subunit composition and the sedimentation value in reciprocal sets of inbred backcross lines derived from two winter wheat crosses. *Proc. 7th Int. Wheat Genet. Symp., Cambridge (England)*: 987 — 991.
- Payne P. I., Lawrence G. J. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cer. Res. Commun.* 11: 29 — 36.
- Pilch J. 1987. Substytucje i delecje heterochromatynowe chromosomów żyta (*Secale cereale* L.) oraz ich związek z niektórymi cechami użytkowymi pszenżyta heksaploidalnego. *Hod. Rośl. Aklim.* 30, 3/4: 1 — 52.
- Pilch J. 1996. Performance of interspecific and intergeneric hybrids of *Triticum aestivum* L. for wheat improvements. Part I. Performance of winter generations F₃–F₅ of *T. aestivum* L. with *Triticum* {2x, 4x}, *Aegilops* {2x}, and *Elymus* {4x} species in respect of some characters of spike. *Plant Breed. and Seed Sci.* vol. 40, no. 3-4: 73 — 62.
- Pilch J., Głowacz E., Cygankiewicz A. 1999. Wartość wypiekowa ziarna mieszańców pszenicy pochodzących z krzyżowań międzygatunkowych i międzyrodzajowych. *Biul. IHAR* 210: 71 — 83.
- Pilch J. 2002. Transformacje cech kłosa pszenicy *Triticum aestivum* L. z wykorzystaniem międzygatunkowej i międzyrodzajowej hybrydyzacji. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* z. 488: 207 — 213.
- Rogers W. J., Miller T. E., Payne P. I., Seekings J. A., Sayers E. J., Holt L. M., Law C. N. 1997. Introduction to bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and assessment for bread-making quality of alleles from *T. boeoticum* Boiss. ssp. *thoudar* at *Glu-A1* encoding two high-molecular-weight subunits of glutenin. *Euphytica* 93: 19 — 29.
- Sabelli P. A., Shevry P. R. 1991. Characterization and organization of gene families at the *Gli-1* loci of bread and durum wheat's by restriction fragment analysis. *Theor. Appl. Genet.* 83: 209 — 216.
- Schepers J., Keizer L. C. P., Kolster P. 1993. The relation between high molecular weight glutenin subunits, bread-making quality and agronomic properties of winter wheat. *Cereal Res. Commun.* 21, no.4: 289 — 296.
- Szwed-Urbaś K., Segit Z., Mazurek H. 1997. Parametry jakościowe ziarna krajowych linii pszenicy twardej (*Triticum durum* Desf.). *Biul. IHAR* 204: 129 — 140.
- Turchetta T., Ciaffi M., Porceddu E., Lafiandra D. 1995. Relationship between electrophoretic pattern of storage proteins and gluten strength in durum wheat landraces from Turkey. *Plant Breeding* 114: 406 — 412.
- Vitelozzi F., Ciaffi M., Dominici L., Ceoloni C. 1997. Isolation of a chromosomally engineered durum wheat line carrying the common wheat *Glu-D1d* allele. *Agronomie* 17: 413 — 419.
- Zillman R.R., Bushuk W. 1979. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. III. *Can. J. Plant Sci.* 59: 287.