

AGATA MARKOWSKA ¹DANUTA RZEPKA-PLEVNĚŠ ²¹ Instytut Technologii Chemicznej Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska, Politechnika Szczecińska, Szczecin² Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych, Akademia Rolnicza w Szczecinie

Zmienność białek zapasowych i cech morfologicznych wybranych dzikich gatunków żyta (*Secale* sp.)

Electrophoretic variability of storage protein and morphological features of some rye species (*Secale* sp.)

Obiektem badań było 8 dzikich gatunków żyta (*Secale* sp.): *Secale afghanicum* (Vav.), *Secale ancestrale* (Zhuk.), *Secale dighoricum* (Vav.), *Secale kuprijanovii* (Grossh.), *Secale montanum* (Guss.), *Secale segatale* (Roshev.), *Secale silvestre* (Host.), *Secale vavilovii* (Grossh.). Różnice fenotypowe między badanymi gatunkami określono na podstawie cech morfologicznych ziarniaków i roślin, genotypowe w oparciu o polimorfizm białek zapasowych techniką SDS-PAGE. Genotypy żyta różniły się istotnie między sobą: wysokością roślin, długością kłosa, liczbą kłosek w kłosie oraz liczbą i masą ziaren z kłosa. Badania wykazały, że cechy morfologiczne ziarniaków żyta, takie jak: długość, szerokość i pole ich powierzchni, bardziej niż cechy morfologiczne roślin różnicują badane formy żyta. Stwierdzono, że biorące udział w doświadczeniu dzikie gatunki żyta różniły się pod względem liczby i masy polipeptydów i ich układów w wyodrębnionych frakcjach. Podobieństwo między badanymi gatunkami wynosiło od 28,6 do 55,5%. Najbardziej zbliżone do siebie genetycznie były gatunki *S. ancestrale* i *S. segatale*.

Słowa kluczowe: białka zapasowe, elektroforeza, zmienność, żyto

The studies included 8 wild species of rye (*Secale* sp.): *Secale afghanicum* (Vav.), *Secale ancestrale* (Zhuk.), *Secale dighoricum* (Vav.), *Secale kuprijanovii* (Grossh.), *Secale montanum* (Guss.), *Secale segatale* (Roshev.), *Secale silvestre* (Host.), *Secale vavilovii* (Grossh.). Phenotypic differences were determined on the basis of morphological features of rye plants and grain, and genetic differences were measured based on polymorphism of storage proteins, assayed with the SDS-PAGE electrophoresis. To differentiate the rye species, morphological features of grain, such as: length, width and area of kernels, were found to be better measures than morphological features of plants. The results of experiments showed that among the tested genotypes there were differences in the number and weight of polypeptides and polypeptide patterns in particular fractions. The similarity between the genotypes ranged from about 29% to 55%. *S. ancestrale* and *S. segatale* were found to be the most similar genetically.

Key words: storage proteins, electrophoresis, variability, rye

WSTĘP

Genowe zasoby gatunku uprawnego definiuje się: jako całkowitą genetyczną zmienność, łącznie ze zmiennością spokrewnionych z nim form dzikich (Hawkes, 1991). W ostatnich latach coraz więcej badaczy (Brown i in., 1978; Podyma, 1997) zwraca uwagę na fakt, że nie wystarczy chronić przed wyginięciem cenne genotypy roślin uprawnych, a należy je opracować pod względem genetycznym. W pracach tych dominują wyraźnie dwa kierunki. Pierwszy dotyczy czystej (allelicznej) zmienności lub zróżnicowania genetycznego w kolekcji, drugi obejmuje ocenę zmienności lub zróżnicowania obiektów kolekcjonowanych pod względem cech morfologicznych, fizjologicznych, fitopatologicznych i agronomicznych, o charakterze jakościowym i ilościowym. (Mądry, 1985; Podyma, 1997; 1998). Niestety, z powodu wzrostu liczby obiektów gromadzonych w kolekcji danego banku genów stosowane w nim metody waloryzacji i charakterystyki posiadanego materiału są często upraszczane poprzez ograniczenie liczby stosowanych w doświadczeniach powtórzeń oraz liczby badanych cech i roślin. Stąd niektórzy autorzy (Bushuk, Zillman, 1978; Kosmolak i in., 1980) proponują do tego celu elektroforetyczną analizę białek zapasowych. Metodzie tej poświęcono wiele uwagi już w latach siedemdziesiątych. Obecnie, mimo wyraźnego postępu w zakresie technik DNA, analiza elektroforegramów białek zapasowych pozostaje nadal narzędziem badawczym wielu autorów (Bhowmik i in., 1990; Carrillo i in., 1990; Waga, Cygankiewicz, 1996; Niedzielski i in., 1997).

Zdaniem Drzewieckiego (1993) obraz elektroforetyczny białek zapasowych, podobnie jak i DNA, jest swego rodzaju „odciskiem palca odmiany, czy też linii i może być z powodzeniem wykorzystywany do ich katalogowego opisu. Według Sarkara i Raina (1992) markery białkowe mogą być też wykorzystywane do badania stopnia pokrewieństwa między badanymi roślinami i ich zmienności geograficznej w obrębie gatunku.

Na uwagę zasługuje fakt, że zmienność elektroforetyczna białek zapasowych może być skorelowana ze zmiennością cech morfologicznych danego gatunku rośliny. Zależność taką w odniesieniu do cech morfologicznych ziarniaków słonecznika i sorga opisali, a następnie wykorzystali do oceny podobieństwa genotypów Varier i wsp. (1992) oraz Laxmipriya i wsp. (2000).

W niniejszej pracy scharakteryzowano polimorfizm białek zapasowych 8 dzikich gatunków żyta oraz określono zmienność fenotypową w oparciu o analizę cech morfologicznych ziarniaków i roślin dojrziałych.

MATERIAŁ I METODY

Obiektem badań było 8 gatunków żyta: *Secale afghanicum* PL 030340 (Vav.), *Secale ancestrale* PL 031341 (Zhuk.), *Secale dighoricum* PL 031349 (Vav.), *Secale kuprijanovii* PL 031349 (Grossh.), *Secale montanum* PL 031329 (Guss.), *Secale segatale* PL 031329 (Roshev.), *Secale silvestre* PL 031357 (Host.), *Secale vavilovii* PL 031367 (Grossh.).

Nasiona do badań pochodziły z Pracowni Zasobów Genowych Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie.

Białka zapasowe wymienionych genotypów żyta izolowano z 50 wybranych losowo ziarniaków (Westermeyer, 1993). Białko do analiz ekstrahowano z mąki otrzymanej z przemiału ziarniaków, każdej z badanych form żyta. Do izolacji białka z próby użyto 400 µl 70% etanolu i buforu ekstrakcyjnego, składającego się z: ddH₂O; 0,5 M Tris-HCl o pH 6,8; gliceryny, 10% (w/v) SDS; 2-mercaptanolu i 1% błękitu bromofenolowego w ilości, odpowiednio: 15,2; 4,0; 3,20; 6,40; 1,60 i 1,60 ml.

Elektroforezę prowadzono w układzie nieciągłym na dwóch żelach poliakrylamidowych, zagęszczającym (4%) i rozdzielającym (12%), o grubości 1mm na aparacie Mini Protean II (BioRad) w trzech powtórzeniach. Otrzymane elektroforegramy barwiono Coomassie R-250, odbarwiano w wodnym roztworze 30% etanolu i 10% kwasu octowego. Po wysuszeniu w temperaturze pokojowej żele analizowano w świetle przechodzącym przy użyciu skanera Sharp JX-330 (Pharmacia LKB). Cyfrowe obrazy elektroforetyczne opracowywano w oparciu o pakiet programu komputerowego „Diversity one 1.3” (Pharmacia LKB). Określono: liczbę i masę prążków białkowych w kDa, interpolując względem wzorca białkowego o znanym rozkładzie i masie poszczególnych prążków (Kucharczyk TE), z dokładnością $1 \pm 2\%$, oraz zróżnicowanie genetyczne w oparciu o analizę drzewa podobieństwa filogenetycznego, wykreślonego na podstawie współczynnika Jaccarda:

$$S_1 = Nab \times (Na + Nb - Nab),$$

gdzie:

Nab — liczba prążków wspólnych dla obiektów *a* i *b*,

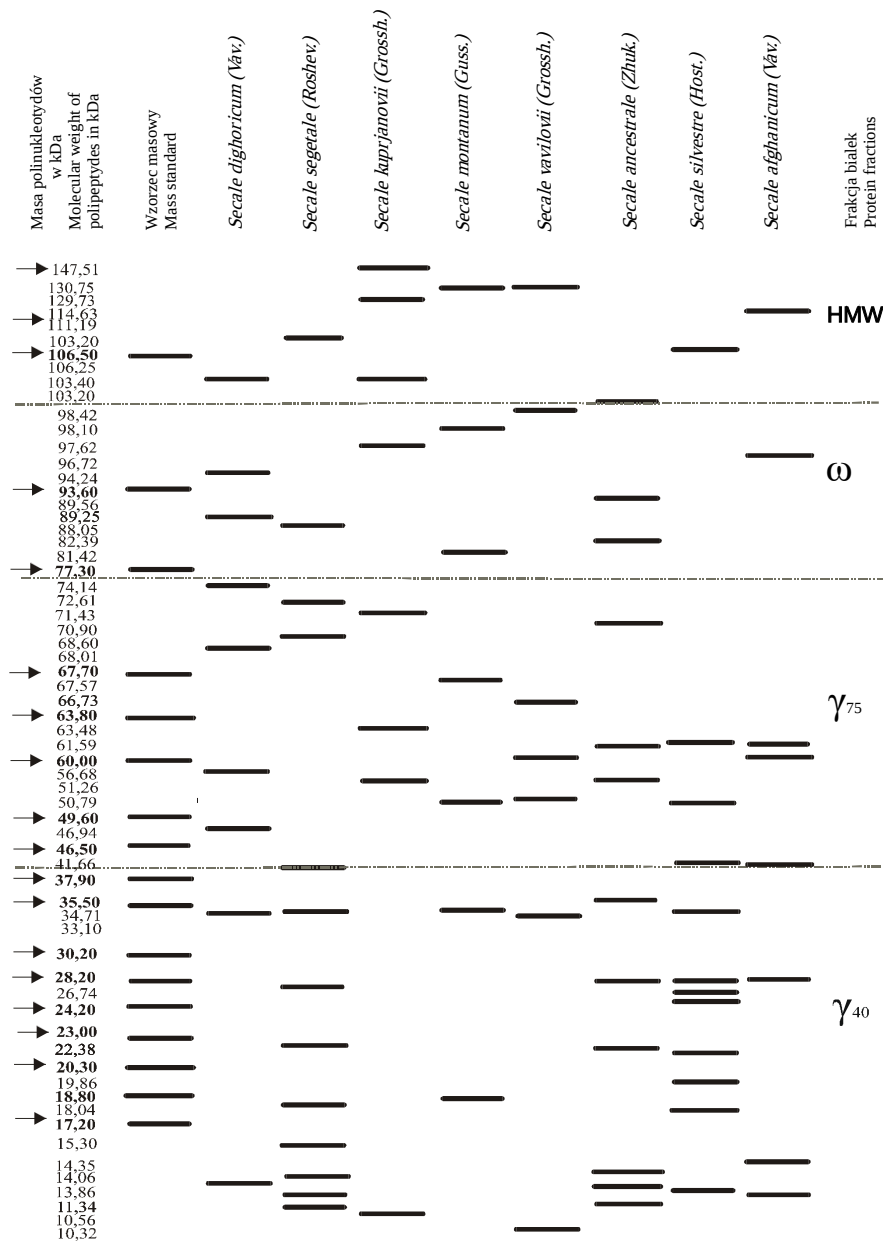
Na i *Nb* — całkowita liczba prążków, odpowiednio dla obiektów *a* i *b*.

Podobieństwo między genotypami wyrażono w procentach. Różnice fenotypowe między gatunkami określono na podstawie długości, szerokości i pola powierzchni ziarniaków oraz wysokości roślin, długości kłosa, liczby i masy ziarniaków z kłosa. Oznaczenie wymienionych cech ziarniaków przeprowadzono dla 50 ziarniaków każdego gatunku. Pomiary wykonano na aparacie Imagine Analysis System AT Delta-T Devices DIAS. Ocenę cech morfologicznych i użytkowych dojrzałych roślin żyta określono w oparciu o wyniki doświadczenia wazonowego założonego w 1999 roku w hali wegetacyjnej AR w Szczecinie w układzie kompletnej randomizacji. Każdy z wymienionych gatunków żyta reprezentowało 15 roślin. W fazie kłoszenia rośliny z każdego wazonu umieszczano pod jednym izolatorem z tomofanu. Cechy morfologiczne roślin i ziarniaków określano w okresie zbiorów.

Zmienność cech morfologicznych ziarniaków i roślin żyta określono w oparciu o analizę wariancji w układzie kompletnej randomizacji i najmniejszą różnicę istotną (NIR) i współczynniki zmienności WZ%. Średnie wartości badanych cech zestawiono w malejącej kolejności i posługując się testem Duncana utworzono grupy jednorodne, różniące się istotnie między sobą (Rudnicki, 1991).

WYNIKI

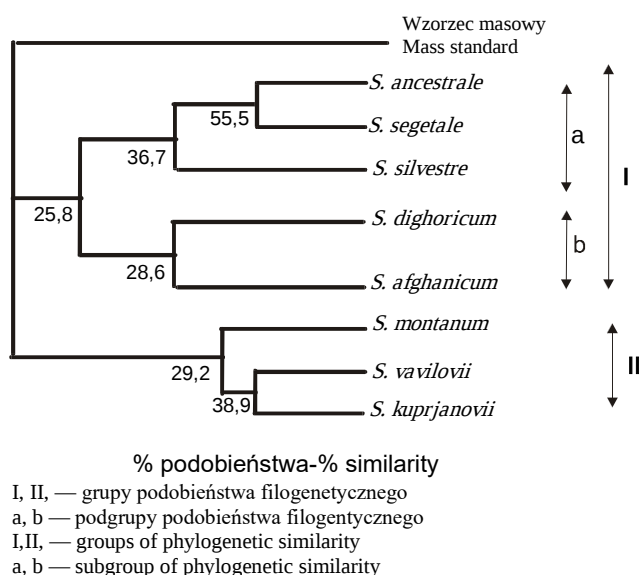
Elektroforetyczna analiza białek zapasowych wykazała duże zróżnicowanie ich budowy pomiędzy badanymi dzikimi gatunkami żyta (rys. 1).



Rys. 1. Obraz elektroforetyczny białek zapasowych dzikich gatunków żyta
Fig. 1. Electrophoretic patterns for storage proteins in wild species of rye

Polimorfizm dotyczył masy wyodrębnionych prążków i ich liczby ogółem oraz w poszczególnych frakcjach. Liczba prążków ogółem wahała się od 7 do 13. Najwięcej stwierdzono ich u gatunku *S. segetale*, najmniej — u *S. afghanicum* i *S. kuprijanovii*. Obserwowane na żelach polipeptydy zaliczono do czterech frakcji białkowych: HMW, ω , γ_{75} i γ_{40} (rys. 1). We frakcji białek najcięższych HMW stwierdzono u badanych gatunków po 1 polipeptydzie. Wyjątek stanowił gatunek *S. kuprijanovii*, u którego wyodrębniono we frakcji HMW 3 prążki białkowe. U większości badanych form żyta w frakcji ω wyróżniono od 1 do 2 prążków. Jedynie u *S. silvestre* nie stwierdzono prążka w tej frakcji. Największy polimorfizm białek zapasowych dzikich gatunków żyta obserwowano we frakcjach γ_{40} i γ_{75} sekalin, odznaczających się również największą liczbą obserwowanych prążków. W wymienionych frakcjach było ich odpowiednio: od 2 do 4 i od 1 do 9 (rys. 1).

Uzyskane elektroforegramy badanych gatunków żyta posłużyły do opracowania drzewa podobieństwa filogenetycznego (rys. 2). Procent podobieństwa filogenetycznego był podstawą podzielenia ich na dwie główne grupy filogenetyczne. W grupie pierwszej wydzielono dwie podgrupy a i b. W podgrupie a znalazły się gatunki: *Secale ancestrale*, *S. segetale*, *S. silvestre*, w b gatunki: *S. dighoricum* i *S. afghanicum* (rys. 2). Do grupy drugiej zaliczono gatunki *Secale montanum*, *S. vavilovii*, *S. kuprijanovii*. Najbardziej zbliżone genetycznie do siebie były gatunki *S. ancestrale* i *S. segetale*, podobne w 55,5%.



Rys. 2. Drzewo podobieństwa genetycznego dla dzikich gatunków żyta
Fig. 2. Phylogenetic tree for the studied rye species

Analiza zmienności fenotypowej przeprowadzona w oparciu o zmienność pola powierzchni, długości i szerokości ziarniaków żyta oraz wysokości roślin, długości kłosa, liczby i masy ziarniaków z kłosa potwierdziła wyraźne różnice między badanymi gatunkami żyta (tab. 1). Najwyższymi roślinami charakteryzował się gatunek *S.*

afghanicum (158 cm) najniższymi — *S. silvestre* (93 cm). Wysokość roślin pozostałych gatunków wahała się od 109 do 137 cm. Wśród badanych gatunków najdłuższym kłosem charakteryzowały się *S. segetale* i *S. silvestre* (odpowiednio: 11,7 i 11,8 cm). Gatunek *S. segetale* różnił się istotnie od innych gatunków liczbą kłosek w kłosie, liczbą i masą ziaren z kłosa (tab. 1). Natomiast gatunek *S. silvestre* charakteryzował się najniższymi wartościami wszystkich wyżej wymienionych cech. Badane gatunki żyta były pod względem omawianych cech, za wyjątkiem masy ziaren z kłosa, dość wyrównane, o czym świadczą niskie wartości współczynników zmienności. Najniższą masą 1000 ziaren wśród badanych gatunków żyta odznaczał się *S. kuprijanovii* (25,87 g), najniższą (10,40 g) — *S. silvestre* (tab. 1).

Tabela 1

Średnie wartości ($\bar{x}$) wysokości roślin, długości kłosa, liczby kłosek w kłosie, liczby ziaren z kłosa, masy ziaren z kłosa, masy 1000 ziaren i współczynniki zmienności (WZ %) dla dzikich gatunków żyta
Mean values ($\bar{x}$) for plant height, ear length, spikelets number per ear, number and mass of grains per ear, mass of thousand grains, and coefficients of variation (CV %) in studied rye species

Gatunek Species	Wysokość roślin (cm) Plant height (cm)	WZ % CV %	Długość kłosa (cm) Ear length (cm)	WZ % CV %	Liczba kłosek w kłosie Spikelets number per ear	WZ % CV %	Liczba ziaren z kłosa Grains number per ear	WZ % CV %	Masa ziaren z kłosa (g) Grains mass per ear (g)	WZ % CV %	Masa 1000 ziaren 1000 grains mass
<i>S. afghanicum</i>	158 a	8	9,5 b c	21	33,2 b	24	20,7 a b	67	0,40 a b c	72	19,41
<i>S. dighoricum</i>	137 b	9	8,3 c	28	32,5 b	20	23,1 a b	61	0,48 a b	76	20,40
<i>S. segetale</i>	124 b	12	11,7 a	21	38,5 a	19	26,2 a	38	0,58 a	61	23,00
<i>S. kuprijanovii</i>	123 b	12	10,0 b	30	33,2 b	32	17,2 b c	50	0,34 b c	62	25,85
<i>S. vavilovii</i>	123 b	13	9,2 b c	33	33,2 b	29	20,8 a b	58	0,36 b c	68	12,30
<i>S. ancestrale</i>	119 b	15	9,5 b c	23	33,9 b	19	22,2 a b	59	0,48 a b	62	21,29
<i>S. montanum</i>	109 b	9	9,9 b c	20	32,0 b	25	10,0 c	38	0,37 b c	35	17,86
<i>S. silvestre</i>	93 c	6	11,8 a	17	26,8 c	35	20,8 a b	48	0,29 c	67	10,40
Średnia Mean	123,3	10,5	10,0	24,1	33,1	23,4	20,0	56,1	0,4	62,4	18,81

a, b, c, d — Grupy jednorodnie różniące się między sobą względem danej cechy

a, b, c, d — Homogeneous groups differing in specific features

Na podstawie przeprowadzonych pomiarów biometrycznych stwierdzono, że największym polem powierzchni ziarniaków charakteryzowały się dwa spośród badanych gatunków żyta: *S. segetale* ($\bar{x}_p = 13,2 \text{ mm}^2$) i *S. vavilovii* ($\bar{x}_p = 12,4 \text{ mm}^2$), najmniejszym — *S. kuprijanovii* ($\bar{x}_p = 7,0 \text{ mm}^2$). Pole powierzchni u pozostałych gatunków wahało się od 7,7 do 10,0 mm^2 (tab. 2). Najdłuższe ziarniaki posiadał gatunek *S. dighoricum* ($\bar{x}_d = 7,0 \text{ mm}$), najkrótsze — *S. kuprijanovii* ($\bar{x}_d = 5,7 \text{ mm}$). Długość ziarniaków u pozostałych gatunków wahała się od 6,0 do 6,6 mm. Istotnie najszerszymi ziarniakami cechowało się *S. segetale* ($\bar{x}_s = 2,5 \text{ mm}$), a największymi *S. montanum* i *S. kuprijanovii* o ziarniakach ($\bar{x}_s = 1,5 \text{ mm}$). Badane gatunki żyta były wyrównane pod względem wszystkich omawianych cech ziarniaków, o czym świadczą niskie współczynniki zmienności.

Tabela 2

Średnie wartości pola powierzchni ($\bar{x}_p$) długości ziarniaków ($\bar{x}_d$) i szerokości ziarniaków ($\bar{x}_s$),
i współczynniki zmienności WZ (%) uzyskane dla badanych dzikich gatunków żyta
Mean values for grain area ($\bar{x}_p$), grain length ($\bar{x}_d$), grain width ($\bar{x}_s$), and coefficients of variation
(CV%) in studied rye species

Gatunek Species	Pole powierzchni (mm ²) Grain area (mm ²)		Długość ziarniaka (mm) Grain length (mm)		Szerokość ziarniaka Grain width (mm)	
	$\bar{x}_p$	WZ %	$\bar{x}_d$	WZ %	$\bar{x}_s$	WZ %
<i>S. segetale</i>	13,2 a	21	6,9 a	12	2,5 a	14
<i>S. vavilovii</i>	12,4 a	17	6,5 a b	13	2,4 b	11
<i>S. afghanicum</i>	10,0 b	19	6,5 a b	10	2,0 c	13
<i>S. ancestrale</i>	9,9 b	13	6,6 a b	11	2,0 c	11
<i>S. silvestre</i>	8,7 b c	22	7,0 a	14	1,6 d e	12
<i>S. dighoricum</i>	8,2 b c d	26	6,0 b c	11	1,8 d	18
<i>S. montanum</i>	7,7 c d	23	6,4 a b	12	1,5 e	18
<i>S. kuprijanovii</i>	7,0 d	23	5,7 c	15	1,5 e	13
Średnia Mean	9,6	20,5	6,4	10,9	1,9	13,8

a, b, c, d — Grupy jednorodnie różniące się między sobą względem danej cechy
a, b, c, d — Homogeneous groups differing in specific features

DYSKUSJA

Dobra charakterystyka materiałów kolekcyjnych oraz określenie ich zróżnicowania genetycznego i fenotypowego daje możliwość rozwiązania wielu aktualnych problemów hodowlanych, związanych z doбором do krzyżowań odpowiednio zróżnicowanych materiałów wyjściowych. Jedną z prostszych i dających powtarzalne wyniki metod analizy genotypów roślin uprawnych jest elektroforeza białek zapasowych na żelach poliakrylamidowych (PAGE) z dodatkiem dodecylu sodu (SDS). W obecności tego detergentu można u żyta wyróżnić 4 frakcje białkowe i ustalić profil białkowy pozwalający na identyfikację gatunkową (Drzewiecki i in., 1996; Kapała, Rybiński, 1996; Waga, Węgrzyn, 2000). Wyniki prezentowanych badań są potwierdzeniem tych możliwości. W pracy przebadano pod względem struktury białek zapasowych 8 gatunków żyta. Wykazano, że polimorfizm ich białek zapasowych jest wystarczająco duży, by możliwe było określenie różnic międzygatunkowych. Polimorfizm ten obserwowano we wszystkich frakcjach.

U wszystkich ośmiu badanych gatunków opisano przynajmniej 1 prążek w frakcji sekalin najcięższych HMW, a u gatunku *S. kuprijanovii* 3 prążki białkowe (103,40; 129,73; 147,51 kDa). Na uwagę zasługuje fakt, że jak wykazały wcześniejsze badania, u wielu odmian uprawnych nie obserwuje się prążków w tej frakcji (Markowska, 2001). Wyniki prezentowanych badań nad dzikimi gatunkami żyta pozostają w zgodności z wynikami Shewry'ego i wsp. (1982; 1984). Autorzy ci w swoich badaniach uznali frakcję HMW za najbardziej charakterystyczną dla dzikich gatunków żyta. Ponadto określili ją również jako najbardziej stabilną, nisko polimorficzną i homologiczną z gluteninami pszenicy i hordeinami jęczmienia.

Najbardziej zmienną frakcją białek zapasowych u badanych gatunków żyta była frakcja sekalin najlżejszych — γ_{40} , przy czym największy zakres zmienności w jej obrębie reprezentowały gatunki *S. segetale* i *S. silvestre*. Według wielu autorów brak niektórych prążków oraz różnice międzygatunkowe dotyczące liczby prążków na elektroforegramach świadczy o różnej aktywności genów, odpowiedzialnych za ekspresję białek w tej frakcji (Waga, 1997; Shewry i in., 1986; Shewry, Tatham, 1990).

Najmniejszą liczbę prążków ogółem stwierdzono u *S. montanum* i *S. vavilovii*. Oba wymienione gatunki zostały uznane za najbardziej prymitywne pod względem kariotypu przez Stutza i Rozmusa (1972, cyt. za Tarkowskim, 1983). Otrzymane w niniejszych badaniach wyniki mogą być częściowym potwierdzeniem tej hipotezy.

Podobieństwo genetyczne dzikich gatunków żyta określone w oparciu o drzewo podobieństwa filogenetycznego kształtowało się na poziomie 28%–55,5%. Otrzymane wyniki pozwoliły połączyć w grupy bliskiego podobieństwa wszystkie badane genotypy. W grupie pierwszej znalazły się gatunki: *S. ancestrale*, *S. silvestre*, *S. segetale*, *S. dighoricum* i *S. afghanicum*, w drugiej — *S. montanum*, *S. vavilovii* i *S. kuprijanovii*. Niniejszy podział pokrywa się częściowo z systematyką żyta przedstawioną przez Kobyljańskiego (1982, 1983). Autor ten bowiem gatunki *S. montanum* i *S. kuprijanovii* zaliczył do tej samej sekcji *Oplismenolepsis* Nevski, a podgatunki *S. vavilovii*, takie jak: *S. ancestrale*, *S. segetale*, *S. dighoricum* i *S. afghanicum* do — sekcji *Secale*. Kobyljański (1982) za najbliższych krewnych żyta uprawnego uważa formy dzikie *S. cereale dighoricum*, *S. afghanicum*, *S. ancestrale* i *S. segetale*, zaliczane do podgatunku *Secale vavilovii*. Ponadto uważa on, że *S. segetale* jest pośrednią formą żyta uprawnego. W niniejszych badaniach dla tego gatunku uzyskano rozdziały elektroforetyczne składające się z największej liczby prążków (13).

Nowsza systematyka przedstawiona przez Hammera (1997) dzieli dzikie gatunki żyta na dwie sekcje: do pierwszej *Secale* zalicza autor 7, spośród badanych w niniejszej pracy gatunków, a gatunek *S. silvestre* do sekcji drugiej — *Oplismenolepsis*. Jeszcze inny podział przedstawiono w pracy Skuzy (2004), w której systematykę żyta oparto na analizie restrykcyjnej RFLP genomu mitochondrialnego. Autorka zalicza w nim gatunki *S. segetale*, *S. vavilovii*, *S. silvestre* i *S. afghanicum* do jednej grupy podobieństwa. Jest to częściowo zgodne z wynikami prezentowanymi w niniejszej pracy. Jedyna niezgodność dotyczy gatunku *S. vavilovii*, który wraz z gatunkiem *S. kuprijanovii* zaliczono do odrębnej grupy podobieństwa.

Identyfikację gatunków wykonaną w oparciu o elektroforezę białek zapasowych uzupełnia sporządzenie krótkiej charakterystyki badanych gatunków pod względem właściwości fenotypowych (Pollard i in., 1998; Grossi, Jay, 2000). Stąd w niniejszych badaniach dokonano porównania niektórych cech morfologicznych roślin i ziarniaków dzikich gatunków żyta. Otrzymane wyniki wykazały, że badane genotypy różniły się między sobą istotnie wysokością roślin, długością kłosa, liczbą kłosek w kłosie oraz liczbą i masą ziaren z kłosa. Największą ich zmienność obserwowano w przypadku takich cech, jak masa i liczba ziaren z kłosa, najmniejszą — w przypadku wysokości roślin. Ponadto stwierdzono, że najmniejszą zmiennością pod względem wszystkich badanych cech roślin, charakteryzowały się gatunki *S. afghanicum* i *S. montanum*. Gatunek *S.*

silvestre różniący się od innych gatunków brakiem polipeptydu we frakcji ω sekalin, charakteryzował się również istotnie niższą od innych gatunków wysokością roślin i masą ziaren z kłosa. Może być to wynikiem istnienia korelacji między zmiennością białek zapasowych i niektórymi parametrami zmienności fenotypowej. Zależności takiej nie stwierdzono badając na przykład stopień fenotypowego zróżnicowania roślin w powiązaniu ze zróżnicowaniem genetycznym określonym dzięki użyciu izoenzymów (Wolko, Święcicki, 1986).

Przeprowadzone badania wykazały, że cechy morfologiczne ziarniaków żyta, takie jak: długość, szerokość i pole ich powierzchni, bardziej niż cechy morfologiczne roślin różnicują badane gatunki żyta. Jest to zgodne z wnioskami sformułowanymi przez Grossi'ego i Jay'a (2000) oraz Szyrmera i wsp. (1993). Zdaniem Drzewieckiego (1997) identyfikacja roślin w oparciu o morfologię nasion nie jest możliwa, między innymi z powodu zbyt dużych różnic między pojedynczymi ziarniakami (Górecki, 1983). Przedstawione wyniki badań dowodzą, że zgodnie z sugestią niektórych autorów (Waga 1996; Waga, Węgrzyn, 2000) zastosowanie elektroforezy białek zapasowych SDS-PAGE jest wystarczająco dokładną metodą oceny tożsamości genetycznej i zróżnicowania międzygatunkowego żyta.

W przypadku metody dotyczącej analizy cech ziarniaków pewną zgodność z oceną dokonaną techniką SDS-PAGE stwierdzono dla dwóch gatunków *S. kuprjanovii* i *S. segetale*. Oba były oddalone od siebie filogenetycznie, bo należały do dwóch różnych grup i oba wysoce istotnie różniły się wszystkimi branymi pod uwagę w doświadczeniu cechami ziarniaków.

WNIOSKI

1. Żaden z badanych gatunków żyta nie ma identycznego obrazu elektroforetycznego białek zapasowych. Stwierdzone między nimi różnice dotyczyły liczby i masy polipeptydów oraz ich układu w poszczególnych frakcjach.
2. Największe podobieństwo genetyczne stwierdzono między *S. ancestrale* i *S. segetale* (55,5%). Pozostałe gatunki niezależnie od przynależności do danej grupy były od siebie odległe filogenetycznie.
3. Analiza zmienności morfologicznej ziarniaków i roślin badanych gatunków żyta, przeprowadzona w oparciu o testy statystyczne nie dała możliwości połączenia ich w filogenetyczne grupy mimo stwierdzenia istotnych różnic w kształtowaniu się poszczególnych cech.
4. Wydaje się, że ocena morfologii ziarniaków może być przydatna do określenia korelacji między zmiennością fenotypową i genotypową badanych form żyta.

LITERATURA

- Bhowmik A., Omura T., Kumamaru T. 1990. Screening of rice varieties for endosperm storage proteins. *Plant Breeding* 105: 101 — 105.
- Brown A. H. D. 1978. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. *Theor. Appl. Genet.* 52: 145 — 157.

- Bushuk W., Zillman R. R. 1978. Wheat cultivars identification by gliadins electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature. *Can. J. Plant. Sci.* 58: 505 — 515.
- Carrillo J. M., Vazquez J. F., Orellana J. 1990. Relationship between gluten strength and gluten proteins in durum wheat cultivars. *Plant Breeding* 104: 325 — 33.
- Drzewiecki J. 1993. Elektroforeza białek i jej zastosowanie w ocenie nasion i hodowli roślin. *Biul. IHAR* 188: 211 — 220.
- Drzewiecki J., Bednarek P., Warzecha R., Kurczyk Z. 1996. Propozycja oceny podobieństwa linii wsobnych kukurydzy na podstawie obrazów elektroforetycznych zein. *Biul. IHAR* 200: 225 — 231.
- Drzewiecki J. 1997. Ocena tożsamości roślin rolniczych na podstawie cech nasion i siewek — stan obecny i nowe kierunki. *Biul. IHAR* 203: 7 — 21.
- Górecki R. 1983. Przyczyny zmienności fizjologicznych właściwości nasion. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* 258: 61 — 71.
- Grossi C., Jay M. 2000. Lineage and inheritance in roses in relation to seed morphology and physiology. *Plant Varieties and Seeds* 3: 11 — 15.
- Hammer A. 1987. Vorarbeiten zur Monographisten Darstellung von Wildpflanzensortimenten *Secale* L., Kulturpflanze 35: 135 — 177.
- Hawkes J. G. 1991. The importance of genetic resources in plant breeding. *Biol. J. Linn. Soc. (London)* 43: 3 — 10.
- Kapała A., Rybiński W. 1996. Genetic variation of hordein polypeptides in grains mutants of hull-less spring barley (*Hordeum vulgare* L.) breeding lines. *Genet. Pol.* 37 (1): 29 — 35.
- Kobyliński W. D. 1982. Roż. Moskwa „Kolos”: 9 — 87.
- Kobyliński W. D. 1983. Sistema rodu *Secale* L. Tri /prikl. Bot. Sel. 79: 24 — 38.
- Kosmolak F. G., Kerber E. R. 1980. Marquis-K cultivars standard for wheat gliadin electrophoresis. *J. Sci. Food Agric.* 31: 1250 — 1252.
- Laxmipriya S., Malavika D., Singh D. P., Sharma S. P. 2000. Characterization of sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes using laboratory techniques. *Plant Varieties and Seeds* 13: 31 — 43.
- Markowska A. B. 2001. Zmienność genotypów żyta *Secale* sp. pochodzących z różnych kolekcji tej rośliny. Pr. Doktorska. Akademia Rolnicza w Szczecinie, Szczecin, 49 — 216.
- Mądry W. 1995. Studia statystyczne nad wielowymiarową oceną zróżnicowania cech ilościowych w kolekcjach zasobów genowych zbóż. SGGW., Warszawa, Rozp. hab. 123.
- Niedzielski M., Bednarek P., Puchalski J. 1997. Różnicowanie materiałów hodowlanych żyta techniką elektroforezy białek zapasowych ziarniaków. *Mat I Krajowej Konf. pt.: „Hodowla roślin”* Poznań, 19 — 20 listopada. 1997: 449 — 452.
- Podyma W. 1997. Strategia ochrony i wykorzystania zasobów genowych roślin użytkowych. W: *Mat. I Konf. Krajowej „Hodowla roślin”*, Poznań, 19–20 listopada 1997: 229 — 247.
- Podyma W. 1998. Zbiór zasobów genowych roślin użytkowych i ich dzikich przodków oraz stan kolekcji w Polsce. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* 463: 31 — 50.
- Pollard N. J., Wrigley C. W., Bekes F., MacRitchie F. 1998. Effective identification of grain — legume species and varieties, a comparison of five methods of analyzing grain — protein composition. *Plant Varieties and Seeds* 11: 187 — 200.
- Rudnicki F. 1991. Doświadczalnictwo rolnicze. Wyd. ART., Bydgoszcz: 210.
- Sarkar R., Raina S. N. 1992. Assessment of genome relationships in the genus *Oryza* L. based on seed-protein profile analysis. *Theor. Appl. Genet.* 85: 127 — 132.
- Shewry P. R., Field J. M., Lew J. L., Kasarda D. D. 1982. The purification and characterization of two groups of storage proteins (secalins) from rye (*Secale cereale* L.). *J. Exp. Bot.* 133: 261 — 268.
- Shewry P. R., Bradberry D., Franklin J., White R. P. 1984. The chromosomal locations and linkage relationships of the structural genes for the prolamin storage proteins (secalins) of rye. *Theor. Appl. Genet.* 69: 63 — 69.
- Shewry P. R., Parmar S., Fulrath N., Kasarda D. D., Miller T. E. 1986. Chromosomal locations of the structural genes for secalins in wild perennial rye (*Secale montanum* Guss.) and cultivated rye (*S. cereale* L.) determined by two — dimensional electrophoresis.

- Shewry P. R., Tatham A. S. 1990. The prolamin storage proteins of cereal seeds structure and evolution Biochem. J. 267: 1 — 12.
- Skuza L. J. 2004. Analiza restrykcyjna mitochondrialnego DNA (mt DNA) gatunków z rodzaju *Secale* (żyto). Pr. Doktorska, Uniwersytet Szczeciński, Szczecin: 88 — 92.
- Szyrmer J., Grzelak K., Kolasińska K., Małuszyńska E., Pokojńska H., Drzewiecki J., Czuba M., Trzcński T. 1993. Niektóre czynniki wpływające na jakość i wartość siewną nasion. Biul. IHAR 188: 149 — 164.
- Tarkowski Cz. (red.). 1983. Biologia żyta. PWN, Warszawa: 367.
- Varier A., Dadlani M., Cooke R. J. 1992. Identification of sunflower protein (*Helianthus annuus* L.) hybrids and inbreeds by SDS-PAGE of seed proteins. Seed Resear. 20: 138 — 141.
- Waga J. 1996. Charakterystyka frakcji białek gliadynowych i gluteinowych odmian i rodów pszenicy ozimej z kolekcji IHAR i ich związek z liczbą sedymentacji. Biul. IHAR 197: 3 — 13.
- Waga J., Cygankiewicz A. 1996. Możliwość oszacowania jakości technologicznej ziarna pszenicy na podstawie wyników analizy elektroforetycznej białek gliadynowych i gluteinowych Biul. IHAR. 197: 15 — 19.
- Waga J. 1997. Polimorfizm białek gliadynowych i gluteinowych a jakość pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.). Biul. IHAR 204: 205 — 217.
- Waga J., Węgrzyn S. 2000. Powiązanie wybranych frakcji białek gliadynowych ze zmiennością cech użytkowych odmian i rodów pszenicy ozimej. Biul. IHAR 215: 61 — 76.
- Westermeier E. (ed.). 1993. Electrophoresis in practice. VCH: 275.
- Wolko B., Świącicki W. K. 1986. Application of electrophoretic methods of isozymes separation for genetical characterization of pea cultivars. Proc. Symp. „Eucarpia”. Methods of biochemical evaluation of germplasm collections.: 107 — 111.