

TADEUSZ ADAMSKI<sup>1</sup>ZYGMUNT KACZMAREK<sup>1</sup>MARIA SURMA<sup>1</sup>STANISŁAW CZAJKA<sup>2</sup>KAROLINA KRYSTKOWIAK<sup>1</sup>ANATTA KUCZYŃSKA<sup>1</sup>MICHAŁ RĘBARZ<sup>1</sup><sup>1</sup> Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań<sup>2</sup> Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, Poznań

## Wykorzystanie linii podwojonych haploidów do wykrywania sprzężeń genów kontrolujących wybrane cechy ilościowe jęczmienia\*

### The use of doubled haploids for detection of linkage of genes controlling some quantitative traits in barley

W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczących zmienności i współzależności wybranych cech ilościowych w liniach podwojonych haploidów (DH) jęczmienia w aspekcie występowania sprzężeń między genami kontrolującymi pary cech. Materiał do badań stanowiły linie DH uzyskane z mieszańców F<sub>1</sub> i F<sub>2</sub> Roland × Apex. Analizowano długość źdźbła, długość kłosa, liczbę i masę ziarna z kłosa oraz masę 1000 ziaren. Porównując średnie i wariancje poszczególnych cech oraz wielkość współczynników korelacji między cechami w populacjach linii F<sub>1</sub>DH i F<sub>2</sub>DH stwierdzono występowanie sprzężenia genów kontrolujących długość źdźbła z genami odpowiedzialnymi za długość kłosa oraz liczbę i masę ziarna z kłosa. Wykazano także niezależne dziedziczenie długości źdźbła i masy 1000 ziaren.

**Słowa kluczowe:** jęczmień, podwojone haploidy, sprzężenia genów, cechy ilościowe

Barley doubled haploids (DH) were studied with the aim to detect linkage between genes conditioning pairs of metrical traits. Populations of DH lines derived from F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> hybrids from the cross Roland × Apex covered material for the study. The following traits were analysed: stem length, spike length, number of grains per spike, grain weight per spike and 1000-grain weight. On the basis of relations between means, variances and correlation coefficients in the F<sub>1</sub>DH and F<sub>2</sub>DH populations, the occurrence of linkage between genes responsible for stem length and genes conditioning spike length, grain number and grain weight per spike was recorded. Additionally, independent inheritance of stem length and 1000-grain weight was found.

\* Praca wykonana w ramach grantu KBN nr 5PO6A 01717

**Key words:** barley, doubled haploids, linkage, metrical traits

## WSTĘP

W hodowli jęczmienia, podobnie jak i innych roślin samopylnych, linie podwojonych haploidów (DH) uzyskuje się najczęściej z mieszańców pokolenia  $F_1$  lub  $F_2$  (Pickering i Devaux, 1992). Wyprowadzone linie DH reprezentują losową próbę gamet wytwarzanych przez mieszańce, a ich zmienność wynika z rekombinacji zachodzącej podczas gametogenezy. Zmienność populacji linii uzyskanych z mieszańców  $F_1$  i  $F_2$  jest taka sama, o ile geny kontrolujące rozpatrywane cechy nie są sprzężone. Przy występowaniu sprzężeń frekwencja genotypów zrekombinowanych jest większa w populacji linii  $F_2$ DH niż  $F_1$ DH (Snape i Simpson, 1981; Surma i in., 2003). Stąd też porównanie niektórych charakterystyk statystycznych linii  $F_1$ DH i  $F_2$ DH, takich jak średnie i wariancje poszczególnych cech, czy też korelacje między cechami, może być wykorzystane do analizy występowania sprzężeń kontrolujących pary cech ilościowych (Kaczmarek i in., 1994).

Celem pracy było porównanie zmienności i współzależności wybranych cech ilościowych w populacjach linii  $F_1$ DH i  $F_2$ DH jęczmienia w aspekcie występowania sprzężeń między genami kontrolującymi długość źdźbła a genami odpowiedzialnymi za długość kłosa, liczbę ziaren w kłosie, masę ziarna z kłosa i masę 1000 ziaren.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło 127 linii podwojonych haploidów jęczmienia jarego otrzymanych z mieszańców  $F_1$  i  $F_2$  Roland  $\times$  Apex metodą *H. bulbosum* (Kasha i Kao, 1970). Linie badano w doświadczeniu polowym założonym w układzie całkowicie losowym w 3 powtórzeniach. Nasiona wysiewano na poletkach o powierzchni 2 m<sup>2</sup> w ilości 330 ziaren na 1 m<sup>2</sup>. Pomiarów wykonano na 25 losowo wybranych roślinach z środkowej części każdego poletka. Analizowano długość źdźbła, długość kłosa, liczbę ziaren w kłosie, masę ziarna z kłosa oraz masę 1000 ziaren.

Dla każdej z badanych cech linii  $F_1$ DH i  $F_2$ DH obliczono wartości średnie oraz wariancje, oszacowano także korelacje między wybranymi cechami. Testowano istotność różnic między średnimi (test *t*-Studenta) i wariancjami (test *F*) populacji linii  $F_1$ DH i  $F_2$ DH oraz istotność współczynników korelacji (test *t*). Testowano także hipotezy o braku różnic między współczynnikami korelacji w populacjach  $F_1$ DH i  $F_2$ DH (statystyka *z*). Obliczenia wykonano za pomocą programu LINKGEN (Czajka i in., 2002).

## WYNIKI I DYSKUSJA

Średnie wartości badanych cech, wariancje oraz wyniki testowania różnic między średnimi i wariancjami przedstawiono w tabeli 1. Wartości średnie w badanych populacjach były bardzo zbliżone i nie różniły się istotnie statystycznie. Również wariancje czterech spośród pięciu analizowanych cech w obu populacjach były podobne. Istotną różnicę stwierdzono jedynie w przypadku wariancji liczby ziaren z kłosa ( $F_{obl.} = 1,975 > F_{0,05}$ ).

Tabela 1

**Średnie i wariancje analizowanych cech w populacjach linii F<sub>1</sub>DH i F<sub>2</sub>DH jęczmienia**  
**Mean values of the studied traits in the F<sub>1</sub>DH and F<sub>2</sub>DH barley populations**

| Cechy<br>Traits                               | F <sub>1</sub> DH |                       | F <sub>2</sub> DH |                       | Wyniki testowania hipotez o równości*<br>Results of testing hypotheses on equality of |                              |
|-----------------------------------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
|                                               | średnia<br>mean   | wariancja<br>variance | średnia<br>mean   | wariancja<br>variance | średnich<br>means                                                                     | wariancji<br>variances       |
| Długość źdźbła<br>Stem length (cm)            | 71,1              | 117,56                | 70,5              | 94,64                 | nieodrzucona<br>not rejected                                                          | nieodrzucona<br>not rejected |
| Długość kłosa<br>Spike length (cm)            | 7,4               | 0,82                  | 7,2               | 0,58                  | nieodrzucona<br>not rejected                                                          | nieodrzucona<br>not rejected |
| Liczba ziaren z kłosa<br>Grains/spike         | 20,4              | 7,11                  | 20,5              | 3,60                  | nieodrzucona<br>not rejected                                                          | odrzucona<br>rejected        |
| Masa ziarna z kłosa<br>Grain weight/spike (g) | 0,98              | 0,024                 | 0,99              | 0,017                 | nieodrzucona<br>not rejected                                                          | nieodrzucona<br>not rejected |
| Masa 1000 ziaren<br>1000-grain weight (g)     | 47,8              | 21,98                 | 48,0              | 16,87                 | nieodrzucona<br>not rejected                                                          | nieodrzucona<br>not rejected |

\* Przy P = 0,05; At P = 0.05

W tabeli 2 podano oceny współczynników korelacji między długością źdźbła a analizowanymi cechami kłosa i ziarna. Dodatkowo, istotne korelacje w obu populacjach stwierdzono między długością źdźbła a długością kłosa, liczbą ziaren i masą ziarna z kłosa. Współczynniki korelacji między długością źdźbła a masą 1000 ziaren, aczkolwiek dodatnie, okazały się niewielkie i statystycznie nieistotne. Wyniki testowania hipotezy o równości współczynników korelacji w liniach F<sub>1</sub>DH i F<sub>2</sub>DH wykazały, że stopień zależności między długością źdźbła a długością kłosa i masą 1000 ziaren w obu populacjach był podobny, natomiast korelacja między wysokością a liczbą ziaren i masą ziarna z kłosa była istotnie silniejsza w liniach otrzymanych z mieszańców F<sub>1</sub> niż z F<sub>2</sub>.

Tabela 2

**Współczynniki korelacji między długością źdźbła a badanymi cechami kłosa**  
**Correlation coefficients between stem length and the studied spike traits**

| Cechy<br>Traits                               | F <sub>1</sub> DH | F <sub>2</sub> DH | Wyniki testowania hipotezy o równości<br>współczynników korelacji przy P = 0,05<br>Results of testing hypothesis on equality of<br>correlation coefficients at P = 0.05 |
|-----------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Długość kłosa<br>Spike length (cm)            | 0,503**           | 0,492**           | nieodrzucona<br>not rejected                                                                                                                                            |
| Liczba ziaren z kłosa<br>Grains/ spike        | 0,505**           | 0,467**           | odrzucona<br>rejected                                                                                                                                                   |
| Masa ziarna z kłosa<br>Grain weight/spike (g) | 0,501**           | 0,463**           | odrzucona<br>rejected                                                                                                                                                   |
| Masa 1000 ziaren<br>1000-grain weight (g)     | 0,202             | 0,127             | nieodrzucona<br>not rejected                                                                                                                                            |

\*\* P &lt; 0,01

W pracach Kaczmarka i wsp. (1994) oraz Surmy i wsp. (2002) pokazano, jak kształtują się zależności między średnimi, wariancjami oraz kowariancjami dla pary cech ilościowych w liniach DH otrzymanych z mieszańców F<sub>1</sub> i F<sub>2</sub> w przypadku występowania bądź braku sprzężeń między genami warunkującymi te cechy. Biorąc pod uwagę wyniki

tych badań oraz uzyskane w niniejszej pracy rezultaty testowania różnic między średnimi i wariancjami, a także istotności współczynników korelacji wraz z badaniem, czy korelacje te w obu populacjach były takie same, można stwierdzić występowanie pełnego sprzężenia (brak rekombinacji) genów warunkujących długość źdźbła z genami odpowiedzialnymi za długość kłosa oraz częściowego sprzężenia z genami odpowiedzialnymi za liczbę i masę ziarna z kłosa. Otrzymane wyniki wskazują na niezależne dziedziczenie wysokości roślin i masy 1000 ziaren.

Wykazane w prezentowanej pracy występowanie sprzężeń między genami warunkującymi długość źdźbła a genami odpowiedzialnymi za liczbę i masę ziarna z kłosa, potwierdza spostrzeżenie Kleinhofsa i Hana (2002) o częstej lokalizacji loci dla różnych cech ilościowych (ang. quantitative trait loci, QTL) w tych samych regionach genomu rośliny. W przypadku jęczmienia znaleziono kilka takich regionów, między innymi na chromosomie 7 zlokalizowano region obejmujący QTL dla masy ziarna z kłosa, wysokości roślin, terminu dojrzewania i odporności na wyleganie, a na chromosomie 3 region zawierający QTL dla wysokości roślin, plonu oraz terminu kłoszenia (Barua i in., 1993; Hayes i in., 1993; Thomas i in., 1995; Tinker i in., 1996).

Należy podkreślić, że fakt braku istotnych różnic między średnimi, wariancjami oraz korelacjami między dwiema cechami w populacjach linii homozygotycznych uzyskanych z różnych pokoleń, tak jak to obserwowano w przypadku długości źdźbła i długości kłosa, może wskazywać na występowanie pełnego sprzężenia między genami warunkującymi te cechy, jednakże nie można wykluczyć, że jest to efekt plejotropii. Rozróżnienie tych dwóch zjawisk jest trudne, nawet na podstawie badań uwzględniających zarówno obserwacje fenotypowe, jak i markery molekularne (Barua i in., 1993; Thomas i in., 1995).

#### LITERATURA

- Barua U. M., Chalmers K. J., Thomas W. T. B., Hackett C. A., Lea V., Jack P., Forster B. P., Waugh R., Powell W. 1993. Molecular mapping of genes determining height, time to heading, and growth habit in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Genome* 36: 1080 — 1087.
- Czajka S., Kaczmarek Z., Adamski T., Surma M. 2002. LINKGEN — program obliczeniowy wykrywania sprzężeń genów i nieallelicznej interakcji. IGR PAN, Poznań, (nieopublikowany).
- Hayes P. M., Blake T., Chen T. H. H., Tragoonrung S., Chen F., Pan A., Liu B. 1993. Quantitative trait loci on barley (*Hordeum vulgare* L.) chromosome 7 associated with components of winterhardiness. *Genome* 36: 66 — 71.
- Kaczmarek Z., Surma M., Adamski T. 1994. Theoretical bases for detection of linkage of genes between two quantitative characters in the presence of nonallelic interaction. *Genet. Pol.* 35: 53 — 62.
- Kasha K. J., Kao K. N. 1970. High frequency haploid production in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Nature* 225: 874 — 876.
- Kleinhofs A., Han F. 2002. Molecular mapping of the barley genome. In: *Barley Science — Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield and Quality* (G. A. Slafer, J. L. Molina-Cano, R. Savin, J. L. Araus, I. Romagosa, eds.). Food Products Press, New York: 31 — 63.
- Pickering R. A., Devaux P. 1992. Haploid production: Approaches and use in plant breeding. W: *Barley genetics, biochemistry, molecular biology and biotechnology* (P. R. Shewry, ed.). CAB Inter. Wallingford, UK: 519 — 547.
- Snape J. W., Simpson E. 1981. The genetical expectations of doubled haploid lines derived from different filial generations. *Theor. Appl. Genet.* 60: 123 — 128.

- Surma M., Adamski T., Kaczmarek Z., Czajka S. 2003. Zmienność cech ilościowych linii DH i SSD jęczmienia. Biul. IHAR 226/227: 277 — 283.
- Thomas W. T. B., Powell W., Waugh R., Chalmers K. J., Barua U. M., Jack P., Lea V., Forster B. P., Swanston J. S., Ellis R. P., Hanson P. R., Lance R. C. 1995. Detection of quantitative trait loci for agronomic, yield, grain and disease characters in spring barley (*Hordeum vulgare* L.). Theor. Appl. Genet. 91: 1037 — 1047.
- Tinker N. A., Mather D. E., Rossmagel B. G., Kasha K. J., Kleinhofs A., Hayes P. M., Falk D. E., Ferguson T., Shugar L. P., Legge W. G., Irvine R. B., Choo T. M., Briggs M. A., Ullricg S. E., Franckowiak J. D., Blake T. K., Graf R. J., Dofing S. M., Saghai Maroof M. A., Scoles G. J., Hoffman D., Dahleen L. S., Kilian A., Chen F., Biyashev R. M., Kudrna D., Steffenson A. 1996. Regions of the genome that affect agronomic performance in two-row barley. Crop Sci. 36: 1053 — 1062.