

JACEK WAGA

Zakład Oceny Jakości i Metod Hodowli Zbóż

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Kraków

Zmienność niektórych frakcji ω -gliadyn a zawartość białka ogółem w potomstwie orkiszu i odmiany Elena

Variability of some ω -gliadins and grain protein content in spelt and cultivar Elena hybrid genotypes

Zawartość białka jest jednym z ważniejszych czynników wpływających na właściwości wypiekowe odmian pszenicy. Trzy grupy linii — rekombinantów orkiszu i odmiany Elena badano w latach: 2000, 2001 i 2002 celem określenia związku pomiędzy spektrum elektroforetycznym białek gliadynowych, a procentową zawartością białka ogółem. Linie różniły się między sobą pod względem ω -gliadyn kodowanych chromosomem 1B. W badanych materiałach zidentyfikowano dwa alleliczne bloki białkowe: *Gli B1-6* (typ orkiszu) oraz *Gli B1-1* (typ Eleny), a także dwie pojedyncze frakcje białkowe: S2 (typ orkiszu) i E2 (typ Eleny). Na podstawie analizy wariancji wykazano, że poziom białka ogółem w liniach zawierających gliadyny orkiszu (*Gli B1-6/S2*) był istotnie wyższy niż w liniach zawierających frakcje gliadyn typowe dla Eleny (*Gli B1-1/E2*). Rekombinanty łączące gliadyny orkiszu i Eleny (*Gli B1-6/E2*) charakteryzowały się pośrednimi, jednakże istotnie różnymi od typów rodzicielskich, wartościami analizowanej cechy użytkowej. Uzyskane wyniki sugerują istnienie związku między procentową zawartością białka ogółem, a zmiennością ω -gliadyn. Potwierdzenie wykazanych zależności na szerszym materiale roślinnym pozwoli wykorzystać zidentyfikowane frakcje gliadyn w charakterze markerów biochemicznych podwyższonej zawartości białka w ziarnie pszenicy.

Słowa kluczowe: analiza elektroforetyczna, białka gliadynowe, orkisz, procentowa zawartość białka ogółem

Grain protein content is one of the most important factors influencing baking quality of wheat cultivars. Three groups of recombinant lines developed from a cross between spelt and cultivar Elena were investigated in the years 2000, 2001 and 2002 to determine relationships between gliadin electrophoretic spectra and grain protein content. The lines differed in gliadins coded by the chromosome 1B. Two gliadin blocks: *Gli B1-6* (spelt type) and *Gli B1-1* (Elena type), as well as two individual gliadin bands: S2 (spelt type) i E2 (Elena type) were identified among the analysed genotypes. Analysis of variance proved that protein content of spelt type genotypes (*Gli B1-6/S2*) was significantly higher than that of Elena type genotypes (*Gli B1-1/E2*). Recombinant lines that combined spelt and Elena gliadin proteins (*Gli B1-6/E2*) were characterized by intermediate, but significantly different from parental forms, levels of protein content. The results suggest the existence of the relationships between grain protein content and variability of ω -gliadin subunits. It may be assumed

that confirmation of these relationships will make possible to utilize, in the future, the identified gliadin proteins as biochemical markers to reveal the enhanced content of grain protein.

Key words: electrophoretic analysis, gliadins, grain protein content, spelt

WSTĘP

Orkisz (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) zajmuje szczególną pozycję wśród znanych gatunków pszenicy. W świetle rozpowszechnionej opinii jest on uznawany za formę o lepszych — w porównaniu z odmianami uprawnymi pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*) — właściwościach odżywczych i zdrowotnych. Niestety, potencjał plonowania orkisz jest zbyt niski, a właściwości wypiekowe mąki (pomimo dużej zawartości glutenu) — zbyt słabe by mógł on skutecznie konkurować z pszenicą zwyczajną w uprawie na szeroką skalę. Ponadto szereg innych, ważnych cech użytkowych orkisz ma charakter prymitywny. Przykładowo, jego ziarno jest trudno wymłacalne, a osadka kłosa krucha i łamliwa (Campbell, 1997).

Niemniej jednak pewne korzystne cechy użytkowe orkisz powinny zwrócić uwagę hodowców. Szczególnie interesującą jest wysoka procentowa zawartość białka w ziarnie (PZB). Badania prowadzone od szeregu lat w Zakładzie Roślin Zbożowych IHAR w Krakowie (ZRZb IHAR) wykazały, że wartość tego wskaźnika jakości technologicznej orkisz waha się od 18 do 20% i znacznie przewyższa PZB w innych, porównywanych formach pszenicy. Także doniesienia literatury potwierdzają, że orkisz może być źródłem cennych genów odpowiedzialnych za wysoki poziom białka w ziarniakach (Piergiovanni i in., 1996; Ranhortra i in., 1996). Wydaje się więc, że ich przeniesienie do odmian uprawnych pszenicy zwyczajnej może w sposób istotny przyczynić się do poprawy właściwości technologicznych.

Procentowa zawartość białka ogółem jest jednym z najważniejszych wskaźników jakościowych decydującym o właściwościach wypiekowych mąki z ziarna pszenicy. W sensie genetycznym zawartość białka jest typową cechą ilościową. Dokładna liczba loci kodujących tę cechę nie została dotychczas określona, wiadomo jednak, że są one zlokalizowane na niemal wszystkich chromosomach należących do trzech grup homeologicznych genomu pszenicy heksaploidalnej (Joppa i in., 1997). Badania linii substytucyjnych "Langdon" — *T. turgidum* L. var. *dicoccoides* wykazały obecność genów odpowiadających za podwyższony poziom białka w ziarnie na chromosomach 2A, 3A, 6A, 5B i 6B (Joppa i Cantrell, 1990). Co najmniej jeden taki gen jest zlokalizowany na chromosomie 1B (Stein, 1992). Metodą analizy loci cech ilościowych (QTL) udowodniono, że locus na krótszym ramieniu chromosomu 6B pszenicy tetraploidalnej w największym stopniu decyduje o podwyższeniu wartości PZB (Chee i in., 2001). Po wprowadzeniu do pszenicy heksaploidalnej ten sam locus również podwyższa wartość cechy jednak w znacznie mniejszym stopniu niż w pszenicy tetraploidalnej, co świadczy o modyfikującym wpływie tła genetycznego na ekspresję genów warunkujących zawartość białka (Mesfin i in., 1999).

Odziedziczalność PZB jest niewielka i w znacznym stopniu uzależniona od zmienności warunków środowiskowych (Kadłubiec, 1993; Khan i in., 1989; Lonc i in., 1989). To

znacznie utrudnia selekcję korzystnych genotypów. Jednym ze sposobów rozwiązania tego problemu jest identyfikacja markerów genów wysokiej zawartości białka pozwalających zwiększyć jej efektywność.

We wcześniejszych pracach realizowanych w Zakładzie Roślin Zbożowych IHAR obserwowano podwyższoną zawartość białka w liniach, do których drogą kombinacji krzyżowań wprowadzono specyficzne frakcje białek prolaminowych, zaliczanych do grupy ω -gliadyn (Waga i in., 2002). Białka te są kodowane genami zlokalizowanymi na krótszym ramieniu chromosomu *1B* (*locus Gli B1*). Sugeruje to, że w bliskim sąsiedztwie *Gli B1* mogą znajdować się również niektóre geny odpowiedzialne za PZB, co przemawia za możliwością wykorzystania zidentyfikowanych gliadyn jako markerów ułatwiających selekcję genotypów wysokobiałkowych.

Celem niniejszej pracy było stwierdzenie statystycznej zależności pomiędzy specyficznymi dla orkisz białkami należącymi do grupy ω -gliadyn, a podwyższoną wartością wskaźnika PZB w trzech grupach rekombinantów wyprowadzonych z potomstwa orkisz i odmiany Elena, które badano na przestrzeni trzech lat.

MATERIAŁ I METODY

Material roślinny

Materiał wyjściowy stanowiły pojedynki roślinne uzyskane z jednej linii pokolenia F_5 pochodzącej z kombinacji krzyżowań orkisz (odmiana Oberkummler Rotkorn) i pszenicy zwyczajnej (odmiany Elena). Potomstwo tych dwóch form pszenicy było przedmiotem odrębnych badań genetyczno-hodowlanych realizowanych w ZRZb IHAR. Rośliny wybranej linii były niemal identyczne jak chodzi o wysokość i pokrój, różniły się natomiast kolorem kłosa. Część z nich była koloru czerwono-brązowego (cecha orkisz) pozostałe jasno-żółtego (cecha odmiany Elena). Wstępne badania laboratoryjne roślin "czerwonych" i "żółtych" wykazały także różnice pod względem procentowej zawartości białka ogółem i obrazu elektroforetycznego frakcji białek zapasowych zlokalizowanych w strefie ω -gliadyn (prolaminy I). Na podstawie analizy elektroforetycznej z populacji wyjściowej wybrano 37 pojedynków roślinnych. Po ich rozmnożeniu uzyskano 37 linii. Przyjmując zaobserwowane różnice jako kryterium podziału wyodrębniono wśród nich 3 grupy: A, B i C. Grupy A i C liczyły po 15, natomiast grupa C-7 roślin.

Kłosa pojedynków roślinnych linii A i B były koloru "czerwonego", natomiast rośliny z grupy C "jasnożółtego". Jest to konsekwencją sprzężenia (około 2 cM) pomiędzy *locus Gli B1* (kodującym ω -gliadyny różnicujące obie grupy badanych linii), a genem *Rg* warunkującym czerwoną barwę kłosa (Waga, 2002).

Doświadczenia polowe

Uzyskane linie badano przez trzy kolejne lata: 2000, 2001 i 2002. Ziarniaki każdej linii wysiewano co 5 cm w dwóch rzędkach długości 1 m w rozstawie co 30 cm. Na początku, w środku i na końcu pasa wysiewano po dwa rzędkie form rodzicielskich. W każdym roku badań doświadczenie prowadzono w trzech powtórzeniach.

Nawożenie azotem, fosforem i potasem prowadzono zgodnie z tabelą nawożenia Agrochem 1993/94 zmodyfikowaną dla potrzeb pola doświadczalnego ZRZb IHAR.

Dawki NPK w pierwszym roku badań wynosiły odpowiednio: 90, 100 i 100 kg/ha, a w dwóch pozostałych latach: 70, 120 i 120 kg/ha. Z każdej linii zbierano po około 20 roślin.

Analizy elektroforetyczne

Białka gliadynowe analizowano metodą elektroforezy na żelu poliakrylamidowym w środowisku kwaśnym buforu mleczanowo-glinowego pH = 3,1 (A PAGE) według standardowej metody opisanej w literaturze (Bushuk i Zillman, 1978).

Gluteniny wysokocząsteczkowe analizowano metodą elektroforezy zasadowej z dodatkiem soli sodowej siarczanu dodecyłu (SDS PAGE) (Laemmli, 1972).

Obie frakcje białek zapasowych ekstrahowano z pojedynczych ziarniaków (około 10 ziarniaków dla każdej zebranej rośliny) celem określenia czystości genetycznej badanych linii. Ziarno jednolite pod względem obrazu elektroforetycznego łączono w obrębie linii, określano dla nich wartości PZB, a w dalszej kolejności przeznaczano do wysiewu.

Analizowano po 10 ziarniaków dla każdej zebranej rośliny. Rośliny jednolite pod względem obrazów elektroforetycznych łączono, a ich ziarno przeznaczano do badań na zawartość białka oraz do wysiewu.

Określenie procentowej zawartości białka ogółem

Procentową zawartość białka ogółem w ziarnie zebranych linii określono metodą spektrofotometryczną w bliskiej podczerwieni (NIR) z wykorzystaniem analizatora Infratec model 1255 firmy Tecator.

Analiza wariancji

Istotność zróżnicowania średnich wartości białka ogółem w trzech grupach badanych mieszańców określono na podstawie standardowej analizy wariancji. Zmienność całkowitą dzielono na zmienność lat, linii oraz interakcji lat z liniami. Jeśli linie były istotnie zróżnicowane to zmienność linii dzielono na zmienność pomiędzy grupami i wewnątrz grup. Istotność zróżnicowania między grupami testowano testem F, a różnice testem Tukeya. Obliczenia wykonano dla wartości transformowanych wg wzoru:

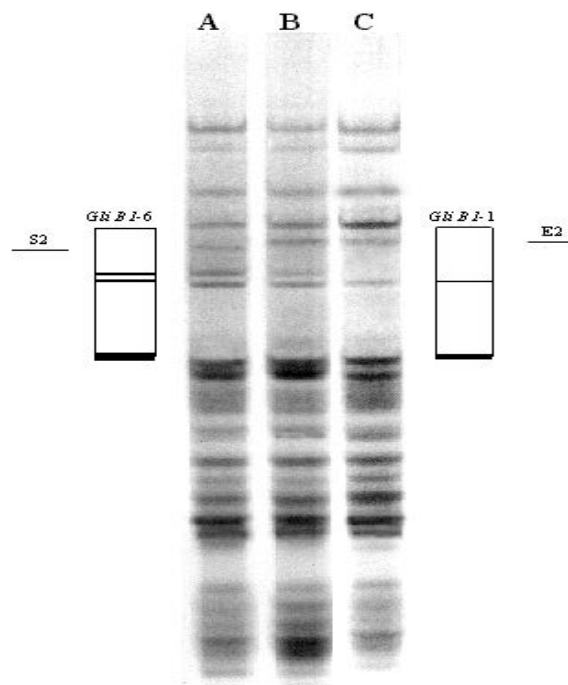
$$Y = \arcsin \sqrt{0,01 \times x}$$

Po transformacji dane miały rozkład zgodny z rozkładem normalnym.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Trzy grupy badanych linii różniły się między sobą składem ω -gliadyn (rys. 1). W tej strefie obrazu elektroforetycznego obserwowano dwa bloki białkowe oznaczone symbolami *Gli B1-6* (pochodzący z orkisz) oraz *Gli B1-1* (pochodzący z odmiany Elena). Ich sposób dziedziczenia oraz symbolika zostały opisane w jednej z wcześniejszych prac (Waga, 2002). Oba bloki są allelicznymi wariantami genu zlokalizowanego na krótszym ramieniu chromosomu *1B* (locus *Gli B1*). Między prążkami wchodzących w skład obu wymienionych bloków obserwowano dwie frakcje gliadyn, które oznaczono symbolami S2 (frakcja pochodząca z orkisz) i E2 (frakcja pochodząca z Eleny). Ich sposób dziedziczenia nie został dotychczas jednoznacznie określony. W wcześniejszych badaniach każda z tych dwóch frakcji pojawiała się zarówno w kombinacji z blokiem *Gli B1-1*, jak również *Gli B1-6* w zbliżonych liczebnie grupach rekombinantów (dane nie

publikowane). Można więc przypuszczać, że gliadyny E2 i S2 dziedziczą się niezależnie od locus *Gli B1*. Fakt, iż w strefie ω-gliadyn występują prążki kodowane chromosomem *1B* łącznie z prążkami kodowanymi chromosomem *1A* sugeruje, że frakcje E2 i S2 mogą być kodowane chromosomem *1A* (locus *Gli A1*).



Rys. 1. Obraz elektroforetyczny białek gliadynowych trzech linii mieszańcowych orkiszu i odmiany Elena: A — *Gli B1-6/S2*, B — *Gli B1-6/E2*, C — *Gli B1-1/E2*

Fig. 1. Gliadin protein electrophoregrams of three hybrid genotypes coming from the cross combination between spelt and common wheat cultivar Elena: A — *Gli B1-6/S2*, B — *Gli B1-6/E2*, C — *Gli B1-1/E2*

Używając przyjętych symboli formuły elektroforetyczne ω-gliadyn w trzech grupach rekombinantów można zapisać w następujący sposób:

- Grupa A — *Gli B1-6/S2* zarówno blok *Gli B1-6*, jak i gliadyna S2 pochodzą z orkiszu.
- Grupa B — *Gli B1-6/E2* blok *Gli B1-6* pochodzi z orkiszu natomiast gliadyna E2 z odmiany Elena.
- Grupa C — *Gli B1-1/E2* zarówno blok *Gli B1-1*, jak i gliadyna E2 pochodzą z odmiany Elena.

Rozpatrując badane materiały pod kątem zróżnicowania ω-gliadyn można stwierdzić, że linie A i C stanowiły odzwierciedlenie form rodzicielskich (odpowiednio orkiszu i Eleny), natomiast linie typu B są typowym rekombinantem pod względem tej cechy. W materiale wyjściowym nie zidentyfikowano natomiast drugiego typu rekombinanta,

którego formułę elektroforetyczną można symbolicznie zapisać *Gli B1-1/S2*, a którego pojawienia się można było teoretycznie oczekiwać.

Jak wynika z przedstawionego zapisu linie z grupy A różniły się od linii z grupy B tylko jednym prążkiem elektroforetycznym (S2 i E2), podczas gdy blok białkowy kodowany chromosomem *1B* był identyczny w obu grupach linii (*Gli B1-6*). Podobnie linie należące do grupy B w porównaniu z grupą C różniły się jednym składnikiem obrazu elektroforetycznego — blokiem białkowym kodowanym przez *locus Gli B1* (*Gli B1-6* oraz *Gli B1-1*). Wspólnym elementem ω -gliadyn w obu wymienionych grupach była frakcja E2. Natomiast grupy A i C różniły się zarówno pod względem bloków kodowanych chromosomem *1B*, jak również gliadynami E2 i S2. Porównanie parami analizowanych grup (A z B oraz B z C) pozwalało analizować indywidualny wpływ poszczególnych komponentów obrazu elektroforetycznego w strefie ω -gliadyn na PZB. Natomiast porównanie grup B i C pozwalało określić łączny wpływ obu składników ω -gliadyn na wartość rozpatrywanej cechy.

We wszystkich trzech grupach linii obserwowano identyczne podjednostki glutenin wysokocząsteczkowych. Były to: wariant null kodowany chromosomem *1A*, blok *Glu B1-6 + 7,7* specyficzny dla orkisz oraz blok *Glu D1-2 + 12* powszechnie obserwowany zarówno u pszenicy zwyczajnej jak i w różnych formach orkisz. Jednolitość obrazów elektroforetycznych glutenin eliminuje możliwość różnicowania badanych materiałów przez frakcje białek tych białek pod względem badanej cechy użytkowej.

Analiza spektrofotometryczna w bliskiej podczerwieni (NIR) wykazała zróżnicowanie PZB w trzech grupach linii mieszańcowych badanych na przestrzeni trzech lat (tab. 1). Najwyższy średni poziom białka ogólnego obserwowano dla linii z grupy A, najniższy w grupie C natomiast linie z grupy B charakteryzowały się wartościami pośrednimi.

Tabela 1

Średnia procentowa zawartość białka ogółem (dane nietransformowane) oraz współczynniki zmienności w trzech grupach badanych linii
Mean values for grain protein content (non-transformed data) in three groups of investigated genotypes

Genotyp Genotype	Średnia* Mean	Współczynnik zmienności — CV% Coefficient of variability — CV%
A. <i>Gli B1-6/S2</i>	14,58%	8,76
B. <i>Gli B1-6/E2</i>	13,62%	10,47
C. <i>Gli B1-1/E2</i>	12,81%	11,51
Orkisz (spelt)	18,08%	10,41
Elena	12,33%	7,06

* — Średnia z trzech lat badań

* — Mean value for three years of investigations

Grupa A — Białka gliadynowe typu orkisz; Group A — spelt type gliadin proteins

Grupa B — Białka gliadynowe typu mieszańcowego; Group B — hybrid type gliadin proteins

Grupa C — Białka gliadynowe typu Elena; Group C — Elena type gliadin proteins

Istotność zróżnicowania średnich wartości PZB oszacowano na podstawie analizy wariancji (tab. 2). Dokonany podział na trzy grupy wykazał istotne zróżnicowanie między

grupami (mimo istotnego zróżnicowania wyników w latach) natomiast nieistotne wewnątrz grup.

Istotność zróżnicowania PZB między parami linii: A i B oraz B i C określono na podstawie testu Tukeya. Różnica pomiędzy średnimi wartościami cechy zarówno w przypadku pierwszej, jak i drugiej pary porównywanych linii była istotnie większa od najmniejszej istotnej różnicy (odpowiednio 0,8 i 0,7 przy $NIR_{(0,01)} = 0,465$). Natomiast efekt zróżnicowania średnich wartości białka pomiędzy grupami skrajnymi (A i C) był sumą efektów dla par A i B oraz B i C (1,5 przy $NIR_{(0,01)} = 0,465$). Wyniki badań dowodzą, że każdy ze składników obrazu elektroforetycznego ω -gliadyn rozpatrywany indywidualnie jest istotnie powiązany ze zmiennością badanej cechy użytkowej natomiast łączny wpływ obu frakcji gliadyn różnicujących badane grupy linii ma charakter addytywny.

Tabela 2

Analiza wariancji dla procentowej zawartości białka ogółem w trzech grupach mieszańców
Analysis of variance for protein content in three groups of hybrid genotypes

Źródło zmienności Source of variability	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	Suma kwadratów Sum of squares	Średni kwadrat Mean square	F
Całkowita Total	110	200,44	1,822	
Lata Years	2	110,32	36,773	103,006**
Linie Lines	36	64,4	1,789	5,011**
Między grupami Between groups	2	50,7	25,35	71,008**
Wewnątrz grup Within groups	34	13,7	0,403	1,128
Interakcja lata × linie Interaction years × lines	72	25,72	0,357	

DYSKUSJA

Opisane badania wykazały, iż potomstwo orkisz i odmiany Elena różniące się składem frakcji elektroforetycznych ω -gliadyn różni się też istotnie pod względem procentowej zawartości białka ogółem. Wynik ten sugeruje istnienie związku markera z rozpatrywaną cechą. Można przypuszczać, że związek ten jest efektem genetycznego sprzężenia pomiędzy locus *Gli B1*, a jednym — lub kilkoma genami — warunkującymi zawartość białka w ziarniakach pszenicy, co z kolei sugerowałoby możliwość wykorzystania zidentyfikowanych frakcji ω -gliadyn jako markerów tej cechy. Taką sugestię częściowo potwierdzają wyniki badań innych autorów. (Stein i in., 1992) wykazali, że geny odpowiedzialne za PZB są między innymi zlokalizowane na chromosomie *1B*, na którym zlokalizowany jest także locus *Gli B1*. Na homeologicznym chromosomie *6B* zidentyfikowany został locus w znacznym stopniu decydujący o zmienności cechy (Chee i in., 2001). Biorąc pod uwagę, iż geny warunkujące PZB są zlokalizowane w różnych

miejscach genomu pszenicy, jak również znaczną ilość tych genów, nie należy oczekiwać, by zidentyfikowany marker w największym stopniu decydował o zmienności cechy. Z drugiej strony w przypadku cech ilościowych, często przysparzających kłopotów w trakcie selekcji ze względu na złożony sposób dziedziczenia, identyfikacja choćby pojedynczego markera związanego z korzystnymi wartościami tych cech może mieć istotne znaczenie dla hodowcy. Zagadnienie czy i w jakim stopniu gen (geny) warunkujące PZB są sprzężone z *locus Gli B1*, jak również na ile efektywnie ω -gliadyny mogą być wykorzystane jako biochemiczne markery tych cech, powinno stać się przedmiotem bardziej szczegółowych badań z wykorzystaniem zróżnicowanego zestawu komponentów rodzicielskich pszenicy zwyczajnej. Biorąc pod uwagę, iż analizy elektroforetyczne białek zapasowych są obecnie powszechnie wykorzystywane przez hodowców do oceny tożsamości i stopnia wyrównania genetycznego materiałów hodowlanych, wartość takiego markera mogłaby być znaczna. Ustalono, iż frakcje białkowe pochodzące z orkiszu (blok oznaczony symbolem *Gli B1-6* oraz prążek S2) są powiązane z wyższymi, natomiast frakcje pochodzące z odmiany Elena (blok *Gli B1-1* oraz prążek E2) z niższymi wartościami rozpatrywanej cechy. Ponadto stwierdzono, iż efekt różnych ω -gliadyn na zawartość białka ma charakter sumujący. Genotypy zawierające obie frakcje białkowe pochodzące z orkiszu charakteryzowały się najwyższą zawartością białka, forma mieszańcowa zawierająca blok *Gli B1-6* i podjednostkę E2 pośrednią, a forma zawierająca obie frakcje z Eleny najniższą wartością tej cechy. Tak więc wyniki uzyskane obecnie potwierdzają wyniki wcześniejszych badań (Waga i in., 2002).

WNIOSKI

1. Istnieje statystyczna zależność pomiędzy zmiennością białek zapasowych należących do grupy ω -gliadyn, a procentową zawartością białka ogółem.
2. W przypadku rekombinantów orkiszu i odmiany Elena białka typowe dla orkiszu (blok *Gli B1-6* oraz prążek S2) są powiązane z wyższymi natomiast białka pochodzące z odmiany Elena (blok *Gli B1-1* oraz prążek E2) z niższymi wartościami badanej cechy.
3. Uzyskane wyniki sugerują możliwość wykorzystania specyficznych dla orkiszu frakcji ω -gliadyn jako biochemicznych markerów podwyższonej zawartości białka w ziarniakach pszenicy.

LITERATURA

- Bushuk W., Zillman R.R. 1978. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature. *Can J. Plant Sci.* 58: 505 — 515.
- Campbell K. G. 1997. Spelt: agronomy, genetics, and breeding. *Plant Breeding Reviews*, Vol. 15: 188 — 213.
- Chee P. W., Elias E. M., Anderson J. A., Kianian S. F. 2001. Evaluation of a high grain protein QTL from *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides* in an adapted durum wheat background. *Crop Sci.* 41: 295 — 301.
- Joppa L. R., Cantrell R. G. 1990. Chromosomal location of genes for grain protein content in wild tetraploid wheat. *Crop Sci.* 30: 1059 — 1064.

- Joppa L. R., Changheng D., Hart G. E., Hareland G. A. 1997. Mapping gene(s) for grain protein in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.) using a population of recombinant inbred chromosome lines. *Crop Sci.* 37: 1586 — 1589.
- Kadłubiec W. 1993. Zmienność i genetyczne różnicowanie cech użytkowych linii pszenicy ozimej w siewie punktowym i zwartym. *Zesz. Nauk. AR Wrocław* 223: 173 — 278.
- Khan K., Frohberg R., Olson T., Huckle L. 1989. Inheritance of gluten protein components of high-protein hard red spring wheat lines derived from *Triticum turgidum* var. *diccoides*. *Cereal Chem.* 66: 397 — 401.
- Laemmli V. K., 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680 — 685.
- Lonc W., Białowas S., Choma K., Krupa F. 1989. Zastosowanie taksonomii wrocławskiej do oceny wartości hodowlanej kilku odmian pszenicy ozimej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 1989: 120 — 125.
- Mesfin A., Frohberg R. C., Anderson J. A. 1999. RFLP markers associated with high grain protein from *Triticum turgidum* L. var. *diccoides* introgressed into hard red spring wheat. *Crop Sci.* 39: 508 — 513.
- Piergiiovanni A. R., Laghetti G., Perrino P. 1996. Characteristics of meal from hulled wheats (*Triticum dicoccon* and *T. spelta* L.): an evaluation of selected accessions. *Cereal Chem.* 73 (6):732 — 735.
- Ranhortra G. S., Gelroth J. A., Glaser B. K., Stallknecht G. F. 1996. Nutritional profile of three spelt wheat cultivars grown at five different locations. *Cereal Chem.* 73 (5): 533 — 535.
- Stein S., Ira S., Sears R. G., Gill B. S., Hoseney R. C., Cox T. S. 1992. Heterogeneity of the „Wichita” wheat monosomic set for grain quality and agronomic traits. *Crop Sci.* 32: 581 — 584.
- Jacek Waga, Jerzy Kączkowski, Jerzy Zientarski. 2003. Influence of thioredoxin-h on flour baking properties and gliadin immunoreactivity in spelt and common wheat genotypes. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* Vol. 12/53, No 1: 13 — 16.
- Waga J., Węgrzyn S., Boros D., Cygankiewicz A. 2002. Wykorzystanie orkisz (*Triticum aestivum* ssp *spelta*) do poprawy właściwości odżywczych pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*). *Biul. IHAR* 221: 3 — 16.