

DANUTA RZEPKA-PLEVNEŠ¹**MIŁOSZ SMOLIK¹****MARCELINA KRUPA²**¹ Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych, Akademia Rolnicza, Szczecin² Katedra Inżynierii Spożywczej i Tworzyw Sztucznych, Politechnika Koszalińska

Zmienność elektroforetyczna białek zapasowych różnych odmian pszenżyta (*X Triticosecale* Wittmack)

Electrophoretic variability of storage proteins in different triticales (*X Triticosecale* Wittmack) cultivars

Obiektem badań było 12 odmian pszenżyta ozimego, 3 pszenżyta jarego, oraz dwie odmiany gatunków rodzicielskich reprezentowane przez odmiany: żyta — Dańkowskie Złote i pszenicy — Begra. Nasiona do badań pochodziły od hodowców tych odmian: Hodowli Roślin „Danko” i Zakładu Doświadczalnego Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Małyszynie. Różnice genotypowe między nimi określono w oparciu o elektroforezę białek zapasowych SDS-PAGE. Na podstawie wyników badań stwierdzono, że biorące udział w doświadczeniu odmiany pszenżyta różniły się pod względem liczby i masy polipeptydów, ich układów w poszczególnych frakcjach. Na elektroforegramach pszenżyta obserwowano raczej zbliżoną do żyta, niż do pszenicy liczbę polipeptydów. Prążki żytnie obserwowano w trzech frakcjach białek (HMW, γ_{75} i γ_{40}) u wszystkich lub prawie u wszystkich odmian pszenżyta. Zależało to od frakcji. Polipeptyd pochodzący od pszenicy widoczny był u dwóch odmian pszenżyta, ozimego Mundo i jarego — Wanad. Podobieństwo między badanymi genotypami wynosiło 57,1 do 94,3%. Najbardziej zbliżone do siebie genetycznie były odmiany Gabo i Wanad. Odmiana Gabo różniła się od odmiany Wanad brakiem we frakcjach γ_{75} i γ_{40} charakterystycznych dla odmiany Wanad prążków o masie 74,7 i 31,7 kDa oraz brakiem dodatkowego prążka pszenicy Begra o masie 14,2 kDa.

Słowa kluczowe: białko, elektroforeza, pszenica, pszenżyto, zmienność, żyto

The object of the studies constituted 12 cultivars of winter triticales, 3 cultivars of spring triticales and two cultivars of parental species: rye Dańkowskie Złote and wheat Begra. The seeds were obtained from the breeders: Plant Breeding „Danko” and Plant Breeding and Acclimatization Experimental Station in Małyszyn. Genotype differences were determined on the basis of SDS-PAGE electrophoresis of storage proteins. The results of experiments showed that among the tested triticales cultivars there were differences in: the number and weight of polypeptides and polypeptide patterns in particular fractions and the origin of both parental species. The number of polypeptides on triticales electrophoregrams was more similar to rye than to wheat. Rye bands were observed in three protein fractions (HMW, γ_{75} and γ_{40}) in all or almost all cultivars of triticales depending on the fraction. The polypeptide originating from wheat was visible in two of triticales cultivars: winter Mundo and spring

Wanad. Similarity between the examined genotypes was 57.1–94.3%. Gabo and Wanad were found to be the most similar genetically. Gabo differed from Wanad by the lack of the bands of 74.7 and 31.7 kDa in γ_{75} and γ_{40} fractions and by the lack of an additional band of 14.2 kDa, typical for the Begra wheat.

Key words: electrophoresis, protein, rye, triticale, variability, wheat

WSTĘP

Uzyskanie nowej odmiany, lepszej od odmian już istniejących, „niezależnie od gatunku rośliny”, jest trudne i kosztowne. Wymaga bowiem równoległego stosowania różnych materiałów wyjściowych, nowych metod, jak również prowadzenia i precyzyjnego badania licznych materiałów hodowlanych (Wolski, 1985). Hodowcy poszukują materiałów wyjściowych w mniejszym lub większym stopniu uszlachetnionych i dobrze przystosowanych do miejscowych warunków klimatycznych. Są więc nimi najczęściej dawne i aktualnie uprawiane odmiany, niekiedy niewystarczająco zróżnicowane genetycznie. Możliwość właściwego doboru rodziców do krzyżowań rutynowo stosowanych w hodowli dają obecnie techniki biologii molekularnej, umożliwiające niezawodną i prostą w wykonaniu identyfikację genetyczną odmiany i wyselekcjonowanego z niej materiału hodowlanego (Cook, 1987; 1989; Cook i Low, 1998; Sammour, 1989; Drzewiecki, 1996; Kapała i Rybiński, 1996; Escibano i in., 1998; Igrejas i in., 1999; Hegde i Singhal, 2000). W oparciu o otrzymane wyniki badań autorzy ci do technik tych zaliczyli elektroforezę białek zapasowych na żelu poliakrylamidowym (PAGE) z dodatkiem detergenta siarczanu dodecylu sodu (SDS), który nadając białkom ładunek ujemny umożliwia ich rozdział w zależności od masy (długości łańcucha polipeptydowego).

Celem niniejszej pracy było określenie zmienności elektroforetycznej białek zapasowych różnych odmian pszenżyta oraz przydatności techniki SDS-PAGE do oceny ich odrębności genetycznej.

MATERIAŁ I METODY

Obiektem badań było 15 odmian pszenżyta, 12 — pszenżyta ozimego i 3 — jarego, pochodzących z Hodowli Roślin Danko, Stacji Hodowli Roślin: w Choryni (Mundo i Nemo), w Laskach (Piano, Eldorado, Pinokio i w Dańkowie (Vero) oraz z Zakładu Doświadczalnego Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Małyszynie (Bogo, Alzo, Tornado, Malno, Marko — pszenżyto ozime i Mieszko, Gabo, Wanad, Kargo — pszenżyto jare). Do porównania genotypów pszenżyta z genotypami rodzicielskimi — żytem i pszenicą wybrano odmiany: Dańkowskie Złote i Begra. Analizę polimorfizmu białek zapasowych wymienionych form prowadzono na pojedynczych ziarniakach po 5 z każdej odmiany, natomiast żyta — z próby zbiorczej utworzonej z sekalin izolowanych z 30 ziarniaków. według metody SDS-PAGE opisanej przez Westermaiera (1993).

Elektroforezę prowadzono w układzie nieciągłym, na dwóch rodzajach żeli poliakrylamidowych, zagęszczającym (4%) i rozdzielającym (12,5%), o grubości 1 mm na aparacie Mini-Protean II (Bio Rad) i 0,5 mm na Multiphor (Pharmacia LKB) w trzech powtórzeniach. Otrzymane elektroforegramy barwiono roztworem Coomassie R — 250, odbar-

wiano — w roztworze 10% etanolu i 20% kwasu octowego. Po wysuszeniu w temperaturze pokojowej żele analizowano w świetle przechodzącym przy użyciu skanera Sharp JX — 350 (Pharmacia LKB.). Cyfrowe obrazy elektroforetyczne opracowywano przy użyciu pakietu programu komputerowego „Diversity one” 1.3 (Pharmacia LKB.). Określono liczbę i masę prążków białkowych w poszczególnych frakcjach białek zapasowych pszenżyta, odmian: żyta — Dańkowskie Złote i pszenicy — Begra oraz ich zróżnicowanie genetyczne w oparciu o analizę drzewa podobieństwa filogenetycznego, wykreślonego na podstawie współczynnika Jaccarda:

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

gdzie Nab oznacza liczbę prążków wspólnych dla obiektów, a i b , Na i Nb — całkowitą liczbę prążków, odpowiednio dla obiektów a i b . Podobieństwo między genotypami wyrażono w procentach.

WYNIKI

Elektroforetyczna charakterystyka białek zapasowych badanych odmian pszenżyta wykazała duże zróżnicowanie w ich budowie. Polimorfizm dotyczył przede wszystkim masy wyodrębnionych prążków. Zaobserwowano też różnice w ich liczbie ogółem i w poszczególnych frakcjach (rys. 1). Liczba prążków ogółem wahała się od 28 do 34. Najwięcej stwierdzono ich u odmiany Mundo, najmniej — u odmiany Alzo. Na elektroforegramach żyta Dańkowskiego Złotego widocznych było 29 prążków białkowych, pszenicy Begra — 14.

Obserwowane na żelach polipeptydy zaliczono do czterech frakcji białkowych: HMW, ω , γ_{75} i γ_{40} . U żyta i większości odmian pszenżyta we frakcji HMW wyodrębniono 3 prążki o masie 125,7, 113,2 i 106,2 kDa (rys. 1). Brak prążka o masie 113,2 kDa obserwowano u odmian Nemo i Marko. U pszenicy Begra stwierdzono brak polipeptydów w tej frakcji.

Frakcję białek ω badanych odmian pszenżyta charakteryzowało 1 do 5 prążków białkowych. Ich masa wahała się od 99,2 do 80,7 kDa. Polipeptydy tej frakcji tworzyły u niektórych odmian charakterystyczne wzory białkowe. I tak, jeden powtarzający się polipeptyd stwierdzono u odmian: Piano, Pinokio, Eldorado i Alzo, trzy, o masie 99,2, 94,2 i 80,7 kDa — u odmian Vero, Mundo i Tornado, a o masie 99,2, 94,2 i 88,2 kDa — u odmian Gabo, Malmo, Wanad i Kargo. Pięć polipeptydów w tej frakcji białek zapasowych stwierdzono tylko u odmiany Nemo. We frakcji ω pszenicy Begra pojawił się jeden, a u żyta Dańkowskie Złotego — trzy prążki białkowe. Charakterystyczny dla pszenicy prążek widoczny był również na elektroforegramach pięciu odmian pszenżyta — Vero, Mundo, Bogo, Tornado i Nemo. Prążki charakterystyczne dla żyta obserwowano u odmian — Gabo, Malno, Wanad, Kargo i Nemo, przy czym u odmiany Nemo na frakcję tę składały się jeszcze dwa dodatkowe polipeptydy.

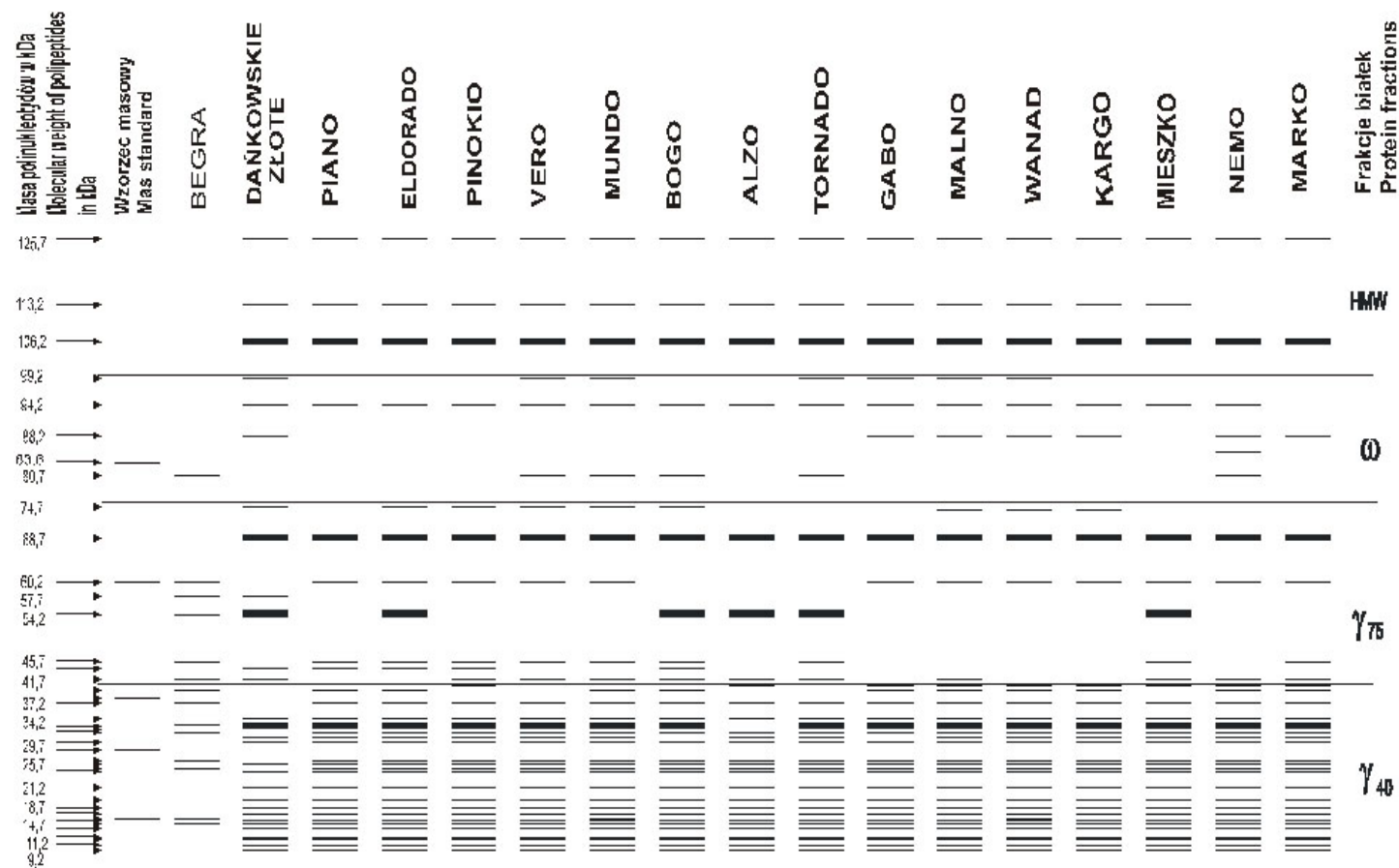
W kolejnej frakcji gliadyn γ_{75} występowało u badanych odmian pszenżyta od 2 (Gabo) do 6 prążków (Eldorado, Pinokio, Bogo). Ich masa wahała się od 74,7 do 40,7 kDa (rys. 1). Układ polipeptydów w tej frakcji wykazywał największy polimorfizm odmianowy. Jeżeli nawet liczba prążków była taka sama to ich układ był odmienny. Identyczne, złożone z pięciu polipeptydów bloki białkowe stwierdzono u odmian Vero i Mundo, z trzech polipeptydów —

u Wanad i Kargo. U odmiany pszenicy Begra wyróżniono w tej frakcji 5 prążków, o masie: 60,2, 57,7, 54,2, 45,7 i 41,7 kDa. Prążek o masie 54,2 kDa był widoczny na elektroforegramach tylko 5 odmian pszenżyta Eldorado, Bogo, Alzo, Tornado i Mieszko. U odmiany żyta Dańkowskie Złote wyróżniono we frakcji γ_{75} 6 prążków białkowych. Polipeptyd żytni, o masie 68,7 kDa był obecny na obrazach elektroforetycznych wszystkich badanych odmian pszenżyta, a o masie 54,2 kDa — u odmian Eldorado, Bogo, Alzo, Tornado i Mieszko.

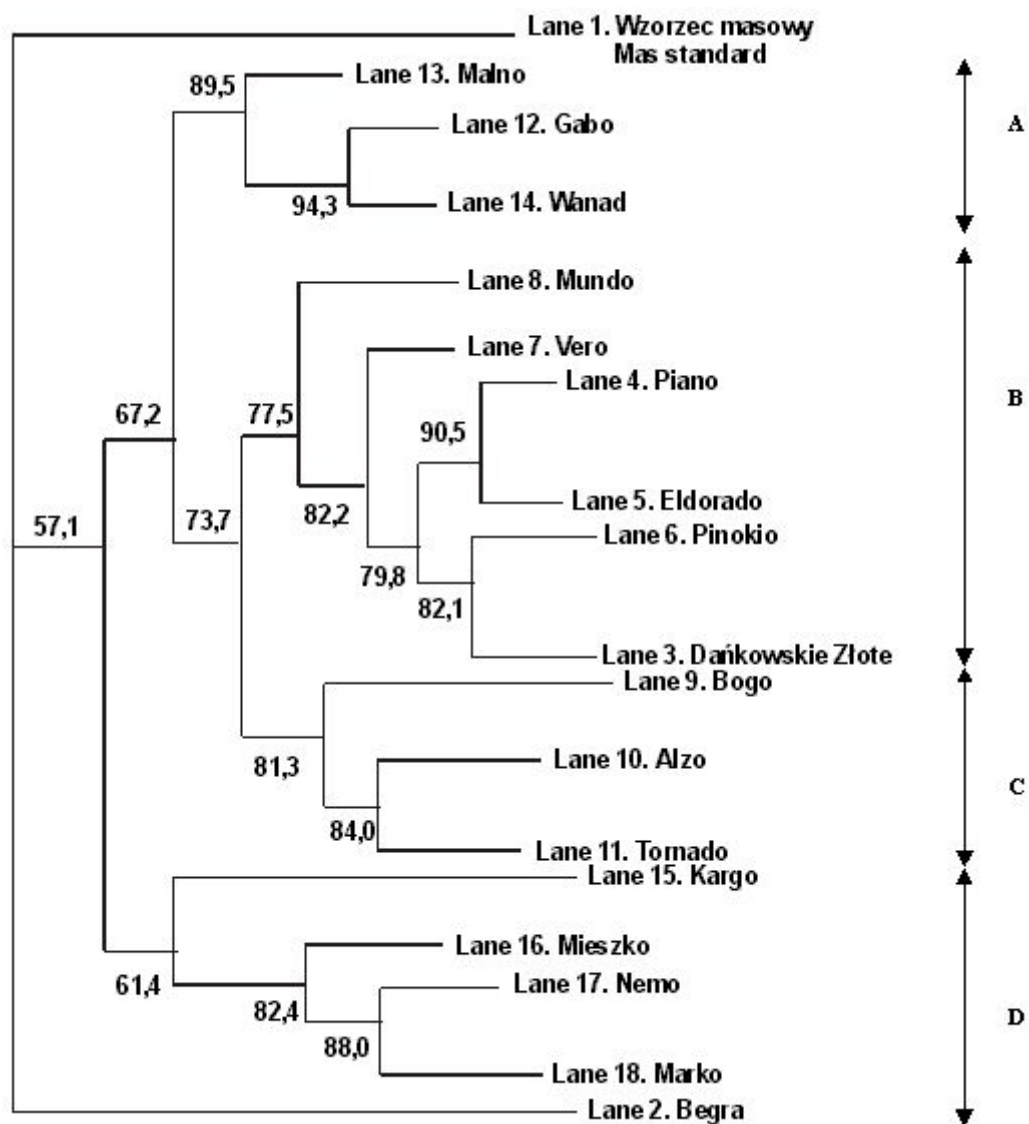
Najliczniejszą pod względem liczby wyodrębnionych polipeptydów u badanych odmian pszenżyta były gliadyny frakcji γ_{40} . Składało się na nią ogółem od 21 do 24 polipeptydów, o masie od 39,7 do 9,2 kDa. 24 prążki białkowe widoczne były w tej frakcji tylko na elektroforegramach odmiany Wanad. Odmiana ta w stosunku do innych odmian pszenżyta posiadała dwa dodatkowe polipeptydy, jeden z nich o masie 14 kDa był pochodzenia pszenicznego, drugi o masie 32,7 kDa — żytniego (rys. 1). Frakcja γ_{40} okazała się również u pszenżyta najbardziej konserwatywną grupą białek zapasowych. Polipeptydy tej frakcji układały się u większości odmian pszenżyta w identyczne wzory białkowe. Odmienny wzór prążkowy wynikający z braku jednego z prążków pszenicznych stwierdzono u odmian Pinokio, Vero, Alzo, Tornado i Mieszko. U odmiany pszenicy Begra wyodrębniono w tej frakcji 8, a u odmiany żyta Dańkowskie Złote — 17 prążków. Dwa spośród prążków pszenicznych o najwyższej masie stwierdzono u odmian: Piano, Eldorado, Mundo, Bogo, Gabo, Malno, Wanad, Kargo, Nemo i Marko, jeden z nich, o masie 37,2 kDa był obecny na elektroforegramach wszystkich badanych odmian pszenżyta.

Na podstawie otrzymanych wyników badań stwierdzono, że obrazy elektroforetyczne gliadyn pszenżyta charakteryzuje zbliżona do żyta, a nie do pszenicy liczba charakterystycznych dla tego gatunku polipeptydów (rys. 1).

Uzyskane elektroforegramy posłużyły do opracowania drzewa podobieństwa filogenetycznego badanych odmian pszenżyta. Mieściło się ono w granicach 57,1–94,3% (rys. 2). Procent podobieństwa filogenetycznego był podstawą do podzielenia odmian na 4 grupy filogenetyczne. Do pierwszej, grupy A zaliczono trzy odmiany hodowli ZDHAR Małyszyn, w tym dwie pszenżyta jarego Gabo i Wanad. W grupie B znalazły się: żyto Dańkowskie Złote, odmiany pszenżyta Mundo z Choryni, Vero z Dańkowa oraz Piano, Eldorado i Pinokio z Lasek. Grupę C stanowiły odmiany Bogo, Alzo i Tornado z ZDHAR Małyszyn, a grupę D — Mieszko i Marko z ZDHAR Małyszyn oraz Nemo z Choryni. Genotyp odmiany pszenicy Begra znalazł się poza wymienionymi grupami podobieństwa genetycznego. Najbardziej zbliżone do siebie genetycznie były dwie odmiany pszenżyta jarego Gabo i Wanad (94,3%). Różniły się one jednak między sobą. U odmiany Gabo brakowało bowiem w frakcjach γ_{75} i γ_{40} charakterystycznych dla odmiany Wanad polipeptydów o masie 74,7 (γ_{75}) i 31,7 kDa (γ_{40}), a na elektroforegramach odmiany Wanad widoczny był dodatkowy prążek pszenicy Begra, o masie 14,2 kDa (rys. 1).



Rys. 1. Obraz elektroforetyczny białek zapasowych odmian pszenżyta w porównaniu z odmianą żyta Dańkowskie Złote i pszenicy ozimej — Begra
 Fig. 1. Electrophoretic patterns of storage proteins of triticale cultivars in comparison to the rye cultivar Dańkowskie Złote and the winter wheat cultivar — Begra



% podobieństwa — % similarity

A, B, C, D — grupy podobieństwa filogenetycznego

A, B, C, D — groups of phylogenetic similarity

Rys. 2.. Dendrogram podobieństwa filogenetycznego badanych odmian pszenżyta, żyta i pszenicy ozimej

Fig. 2. Phylogenetic tree of the studied triticale, rye and winter wheat genotypes

DYSKUSJA

Identyfikacja markerów genetycznych stwarza nowe możliwości oddziaływania hodowców na cechy rekombinantów poprzez dobór do krzyżowań komponentów rodzicielskich o znanym genotypie. Jedną z prostszych i dających powtarzalne wyniki metod analizy genotypów roślin uprawnych jest elektroforeza na żelach poliakrylamidowych (PAGE) z dodatkiem siarczanu dodecylu sodu (SDS). W obecności tego detergenta można u zbóż wyróżnić cztery frakcje białkowe HMW, ω , γ_{75} i γ_{40} i ustalić ich homologię (Kasarda i in., 1983; Rubio i in., 1996). Elektroforeza białek zapasowych pozwala również określić lokalizację genów kodujących poszczególne frakcje białek i cech z nimi związanych (Shewry i in., 1984; Shewry i Tathan, 1990; Waga i Grzywa 1995; Rubio i in., 1996; Gwiazdowska-Skoczek i Kapała, 1996; Waga i Węgrzyn, 2000).

Wyniki prezentowanych badań są potwierdzeniem tych możliwości. W pracy przebadano pod względem struktury białek zapasowych 12 polskich odmian pszenżyta ozimego i 3 — pszenżyta jarego z dwóch ośrodków ich hodowli — Hodowli Roślin „Danko” (oddz. Dańków, Choryń, Laski) i Zakładu Doświadczalnego Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Małyszynie. Dla celów porównawczych do badań włączono dwie znane odmiany żyta i pszenicy reprezentujące gatunki rodzicielskie pszenżyta - odmianę pszenicy Begra i żyta Dańkowskie Złote. W przeprowadzonym doświadczeniu wykazano istotny polimorfizm białek zapasowych badanych odmian pszenżyta. Przejawiał się on różną liczbą i masą zidentyfikowanych na żelu prążków białkowych. Wysoki stopień zmienności gliadyn umożliwił opracowanie dla badanych odmian pszenżyta schematycznych bloków białkowych z zaznaczeniem prążków zarówno tych powtarzających się, jak i tych specyficznych tylko dla danej odmiany. Otrzymane wyniki pozostają w zgodności z wynikami badań Stefanowskiej (1999), Wagi i Węgrzyna (2000) oraz Rzepki-Plevneš i Smolika (2001). Wykazano również duże podobieństwo między genotypami badanych odmian pszenżyta, przejawiające się tym, że niektóre obserwowane na elektroforegramach prążki białkowe pszenżyta, pszenicy i żyta były takie same, inne były wyraźnie pogrubione lub niewidoczne. Zjawisko to tłumaczy Tarkowski (1998), uznając pszenżyto za pewnego rodzaju „hybrydę genetyczną”, zawierającą pewne cechy obu gatunków rodzicielskich. W niniejszym doświadczeniu gatunki rodzicielskie nie były reprezentowane przez rodziców każdej z badanych odmian. Stąd mogące się pojawiać nieścisłości w analizie pochodzenia poszczególnych prążków białkowych badanych odmian pszenżyta.

Podobieństwo genetyczne badanych odmian pszenżyta określone w oparciu o drzewo podobieństwa filogenetycznego kształtowało się na poziomie 57,1–94,3%. Zależało ono w dużym stopniu od pochodzenia (miejsca hodowli) odmiany. Otrzymane wyniki badań udowodniły oryginalność biorących udział w doświadczeniu odmian pszenżyta i niepowtarzalność ich genotypów bez względu na stopień ich podobieństwa filogenetycznego. Przykładem mogą być odmiany pszenżyta jarego Gabo i Wanad z ZDHAR Małyszyn. Podobieństwo filogenetyczne między nimi wynosiło 94,3%. Różniły się one jednak obecnością lub brakiem we frakcjach gliadyn γ_{75} i γ_{40} polipeptydów o masie 74,7 i 31,7 kDa oraz obecnością lub brakiem prążka pszenicznego, charakterystycznego dla odmiany Begra, o masie 14,2 kDa.

Przedstawione wyniki badań dowodzą, że zgodnie z sugestią niektórych autorów (Waga i Grzywa, 1995; Rubio i in., 1996; Gwiazdowska-Skoczek i Kapala, 1996; Waga i Węgrzyn, 2000) istnieją realne możliwości powszechnego zastosowania elektroforezy białek zapasowych SDS-PAGE do oceny tożsamości genetycznej odmian pszenżyta i zróżnicowania materiałów hodowlanych.

WNIOSKI

1. Żadna z badanych odmian pszenżyta nie ma identycznego obrazu elektroforetycznego białek zapasowych. Stwierdzone między nimi różnice dotyczyły liczby i masy polipeptydów, ich układu w poszczególnych frakcjach i pochodzenia. U niektórych spośród badanych odmian pszenżyta we frakcjach gliadyn γ_{75} i γ_{40} polipeptydy tworzą charakterystyczne bloki z powtarzającymi się prążkami białkowymi.
2. Liczba obecnych na elektroforegramach prążków białkowych jest u badanych odmian pszenżyta zbliżona raczej do żyta Dańkowskiego Żłotego, niż pszenicy — Begra. Prążki żytnie występują u nich we frakcjach: HMW, γ_{75} i γ_{40} , pszeniczne — we frakcji γ_{40} dwóch odmian pszenżyta — ozimego Mundo i jarego — Wanad.
3. Analiza drzewa podobieństwa filogenetycznego pozwoliła podzielić badane odmiany pszenżyta na cztery grupy. Każdą z nich stanowiły na ogół odmiany z tego samego ośrodka hodowlanego. Genotypy pszenżyta Vero, Piano, Eldorado, Pinokio i Mundo z Hodowli Roślin „Danko” były zbliżone do odmiany żyta Dańkowskiego Żłotego.

LITERATURA

- Cook R. J. 1987. The classification of wheat cultivars using a standard reference electrophoresis method. J. Nat. Inst. Agric. Bot. 17: 273 — 281.
- Cook R. J. 1989. Electrophoresis in plant testing and breeding. Adv. in Electrophoresis. 2: 171 — 261.
- Cook R. J., Low J. R. 1998. Seed storage proteins. Plant Varieties and Seeds. 3: 16 — 19.
- Drzewiecki J. 1996. Discontinuous PAGE of zeins for purity assessment of maize hybrid, and cluster analysis of PAGE data from inbred lines. Plant Varieties and Seeds. 9: 149 — 158.
- Escribano M., R., Santalla M., Casquero P., A., De Ron A., M. 1998. Patterns of genetic diversity in landraces of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Galicia Plant Breed. 117: 49 — 56.
- Gwiazdowska-Skoczek H., Kapala A. 1996. Effect of soil drought on quantitative and qualitative composition of kernel protein in barley. Genet. Pol. 37A: 219 — 222.
- Hegde V. S., Singhal N. C. 2000. Identification and cluster analysis of Indian bread wheat varieties by acid PAGE of gliadin marker. Plant Varieties and Seeds. 13: 1 — 3.
- Igrejas G., Guedes-Pinto H., Cacuide V., Branlard G. 1999. Seed storage protein in triticale varieties commonly grown in Portugal. Plant Breed. 118: 303 — 306.
- Kapala A., Rybiński W. 1996. Genetic variation of hordein polypeptides in grains of mutants of hulles spring barley (*Hordeum vulgare* L.) breeding lines. Genet. Pol. 37 (1): 29 — 35.
- Kasarda D., D., Autran J. C., Lew E., J., Nimmo C. C., Shewry P. R. 1983. N-terminated amino acid and sequences of ω -gliadins and ω -secalins implications for the evolution of prolamin genes. Biochem. Biophys. Acta. 747: 138 — 150.
- Rubio P., Soler C., Bernardo A., Jouve N. 1996. Isozyme and endosperm protein markers in the determination of chromosomal constitution in X *Triticosecale* Wittmack. In: Triticale: Today and Tomorrow. Kluwer, Dordrecht. (Developments in Plant Breeding, Vol. 5): 409 — 415.

- Rzepka-Plevneš D., Smolik M. 2001. Polymorphism of the storage proteins in rye cultivars and populations selected for tolerance to nutrient deficiency. Proc. of Eucarpia Rye Meeting, July 4–7, 2001, Radzików, Poland: 197 — 209.
- Sammour R. H. 1989. Electrophoresis of the seed proteins of *Vicia faba* L. and its immediate progenitors — a reappraisal. Plant. Breed. 104: 196 — 201.
- 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., Tathan A. S. 1990. The prolamin storage proteins of cereale seeds structure and evolution. J. Biochem. 267: 1 — 12.
- Stefanowska G. 1999. Analiza polimorfizmu gamma gliadyn w mieszańcach *Triticum* sp. i *Aegilops* sp. Biul. IHAR 211: 47 — 52.
- Tarkowski Cz. 1998. Biologiczno-genetyczne właściwości pszenżyta. Biul. IHAR 220: 91 — 95.
- Waga J., Grzywa M. 1995. Powiązanie białek hordeinowych z odpornością na mączniaka prawdziwego (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) jęczmienia jarego. Hod. Rośl. Aklim. 39/6: 41 — 49.
- 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 R. (ed.) 1993. Electrophoresis in practice. VCH: 275.
- Wolski T., 1985. Kierunki hodowli oraz metody oceny żyta. W: Biologia żyta. Tarkowski Cz. (red.), T. 5 PWN, Warszawa: 153 — 185.