

JERZY DRZEWIECKI**ELŻBIETA MAŁUSZYŃSKA**

Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie

Ocena trwałości cech pszenżyta metodą analizy elektroforetycznej białek nasion*

Evaluation of stability of triticale traits using electrophoretic analysis of seed proteins

W latach 1998–2000 z nasion przedbazowych pszenżyta ozimego Bogo i Presto (zebranych w 1996 roku, wysianych jesienią 1997 roku) prowadzono reprodukcję pszenżyta w trzech punktach doświadczalnych (AR Lublin, UWM Olsztyn i LT IHAR Sandomierz). Badano elektroforetycznie białka zapasowe w materiale wyjściowym obu odmian (przechowywanym w Banku Genów) i w nasionach trzeciej generacji zebranych w 2000 roku. Gliadyny ekstrahowano z pojedynczych ziarniaków i prób zbiorczych (50 ziarniaków zmielonych razem), a gluteniny tylko z pojedynczych ziarniaków. Potwierdzono heterogenność białek zapasowych badanych nasion. Presto było jednolite pod względem obrazu prolamin i glutenin, natomiast Bogo tylko obrazu glutenin. Obydwie odmiany charakteryzowały się stabilnością obrazu prolamin i glutenin, niezależnie od miejsca reprodukcji. Po trzech latach reprodukcji obrazy białek nasion były identyczne z materiałem wyjściowym.

Słowa kluczowe: białka zapasowe, elektroforeza, pszenżyto, reprodukcja, trwałość odmiany

The 3rd generation of pre-basic seed of winter triticale varieties Bogo and Presto was obtained in three locations (Lublin, Olsztyn and Sandomierz). Seeds of initial material stored in Gene Bank were sown as a control. The third generation of seeds and samples from Gene Bank were examined. The electrophoresis of prolamins and glutenins was performed for seeds collected in each location. The prolamins were extracted from singular seeds and from bulk samples (50 grains milled together). The glutenins were extracted only from singular seeds. It was confirmed that triticale seed storage proteins are heterogenous. Presto was uniform in its electrophoretic patterns of both gliadins and glutenins. Bogo was uniform only in its electrophoretic pattern of glutenin. The both varieties were stable in their electrophoretic patterns, independently on location of reproduction. After three years of reproduction the both examined varieties were identical by gliadin and glutenin patterns to the initial material.

Key words: electrophoresis, reproduction, seed proteins, stability of variety, triticale

* Praca wykonana w ramach projektu badawczego nr 5 O6B 049 15 finansowanego przez KBN

WSTĘP

Każda odmiana roślin uprawnych, aby mogła być wpisana do Rejestru Odmian musi być odrębna, wyrównana i trwała (Dziennik Ustaw RP nr 149, 1995). Weryfikacja tożsamości i ocena czystości genetycznej roślin na plantacjach nasiennych jest prowadzona w oparciu o cechy morfologiczne roślin. Stały wzrost liczby nowych odmian pszenżyta pochodzących często z krzyżowań materiałów genetycznie spokrewnionych utrudnia rozróżnianie odmian na podstawie morfologii roślin. Ponadto, wygląd rośliny może się zmieniać pod wpływem agrotechniki i warunków środowiska.

W celu weryfikacji tożsamości i oceny czystości genetycznej nasion opracowano bardziej niezawodne i powtarzalne metody laboratoryjne. Najczęściej jest używana elektroforeza białek nasion, a zwłaszcza białek zapasowych. Białka wyższych organizmów roślinnych są kodowane przez niewielką (około 10%), ale najistotniejszą pod względem genetycznym część genomu. *Loci* kodujące białka zawierają praktycznie całą podstawową informację genetyczną o procesach morfogenetycznych i metabolicznych organizmu. Obraz białek zapasowych nasion jest niezależną od środowiska cechą genotypową odmiany. Białka zapasowe zostały uznane za biochemiczne markery genetyczne (Wrigley, 1970; Cooke, 1984; Konarev, 2002). Opracowano szereg metod elektroforezy białek zapasowych nasion do oceny tożsamości i czystości genetycznej nasion zbóż i innych grup roślin (ISTA Electrophoresis Handbook, 1992). W celu weryfikacji tożsamości nasion pszenicy i jęczmienia Międzynarodowe Stowarzyszenie Oceny Nasion ISTA wprowadziło metodę rozdziału prolamin na żelu poliakrylamidowym (A-PAGE), w środowisku kwaśnym, pH 3,1 (Draper, 1987). Jak dotychczas analiza elektroforetyczna prolamin pszenżyta wzbudzała mniejsze zainteresowanie badaczy i firm nasiennych. U pszenżyta Makarska (2001) rozróżniła 7 odmian przy pomocy stosowanej dla pszenicy metody A-PAGE w buforze mleczanu glinu z kwasem mlekowym.

W praktyce nie bada się rutynowo prób pobranych z plantacji nasiennych, w celu oceny czystości genetycznej za pomocą metod elektroforetycznych. Nie jest to konieczne, a byłoby zbyt kosztowne (Pickett, 1988). Państwowa Inspekcja Ochrony Roślin i Nasiennictwa przeprowadza badania nasion metodami elektroforezy tylko w przypadku wątpliwości co do tożsamości nasion i ich czystości genetycznej, albo na życzenie importera.

O tym, że struktura genetyczna odmian może się jednak zmieniać (tzw. dryf genetyczny) komunikują badacze zajmujący się problemem zachowania żywotności i integralności genetycznej nasion z kolekcji banków genów (Breese, 1989; Roberts, 1991). Stoyanova (1996) wykazała zmiany proporcji biotypów gliadyn u polimorficznych pszenic z kolekcji banku genów — dwóch starych, kolekcyjnych i dwóch miejscowych. Alpateva i Gubareva (2002) zbadały starą, populacyjną, polimorficzną pszenicę Banatok z kolekcji VIR-u w St. Petersburgu. W obu przypadkach próby pszenic wysiewano przez trzy kolejne lata i badano dynamikę zmian częstotliwości występowania genotypów według biotypów gliadynowych. Nastąpiły istotne zmiany genetycznej struktury odmian. Przy pomocy testu przyspieszonego starzenia wykazano ponadto, że różne biotypy traciły zdolność kiełkowania z niejednakową szybkością (Stoyanova, 1996; Konarev, 1998).

Podstawowym problemem nasiennictwa pszenżyta jest pogarszanie się stopnia czystości nasion w kolejnych reprodukcjach na skutek zwiększenia udziału domieszek pszenicy i żyta (Grzelak i in., 1990; Kwiatkowski, 2000). Rozróżnianie ziarniaków pszenżyta i innych zbóż z reguły nie stwarza problemów, chociaż u odmian pszenżyta o ziarniakach bardzo podobnych wyglądem do pszenicy zaleca się stosować elektroforezę (Cooke i in., 1986).

Wiewióra i Małuszyńska (2002) nie stwierdziły pogorszenia się wartości siewnej nasion pszenżyta ozimego odmian Bogo i Presto reprodukowanego w latach 1997–2000, w trzech różnych warunkach środowiska, który jest materiałem badawczym w niniejszej pracy. Zaobserwowano jedynie większe porażenie nasion grzybami saprofitycznymi i patogenicznymi, szczególnie z rodzaju *Fusarium*. Ponadto, podczas wegetacji znajdowano nieliczne rośliny nietypowe. Badania cytogenetyczne i elektroforetyczne ich ziarniaków nie potwierdziły przypuszczenia, że aneuploidalność jest przyczyną pojawiania się roślin nietypowych (Małuszyńska i in., 2001).

Celem pracy było określenie trwałości cech dwóch odmian pszenżyta ozimego na podstawie badań elektroforetycznych nasion. Dokonano porównania obrazu gliadyn i glutenin nasion po trzyletnim okresie reprodukcji z obrazem gliadyn i glutenin materiału wyjściowego.

MATERIAŁ I METODY

W latach 1997–2000 prowadzono reprodukcję odmian Bogo i Presto w trzech punktach badawczych na polach doświadczalnych: Akademii Rolniczej w Lublinie, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie i Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Sandomierzu. Analizowano materiał trzeciego pokolenia materiału wyjściowego, którym były nasiona przedbazowe (dawniej superelita) zebrane w 1996 roku i wysiane jesienią 1997 roku. Co roku, przed wysiewem nasiona wzorca obu odmian przechowywane w Banku Genów poddawano elektroforezie gliadyn i glutenin. Równocześnie, część materiału wyjściowego wysiewano w każdym punkcie badawczym jako kontrolę.

Obie odmiany w dwóch wariantach (reprodukcja i kontrola) wysiewano w izolacji przestrzennej na minipoletkach o wielkości 1 m² (4 dla każdego wariantu). Nasiona zbierano w 1998, 1999 i 2000 roku. Nasiona z wariantu reprodukcji, ze zbioru 2000 roku (trzecie pokolenie) poddano elektroforezie gliadyn i glutenin dla oceny trwałości genetycznej odmian.

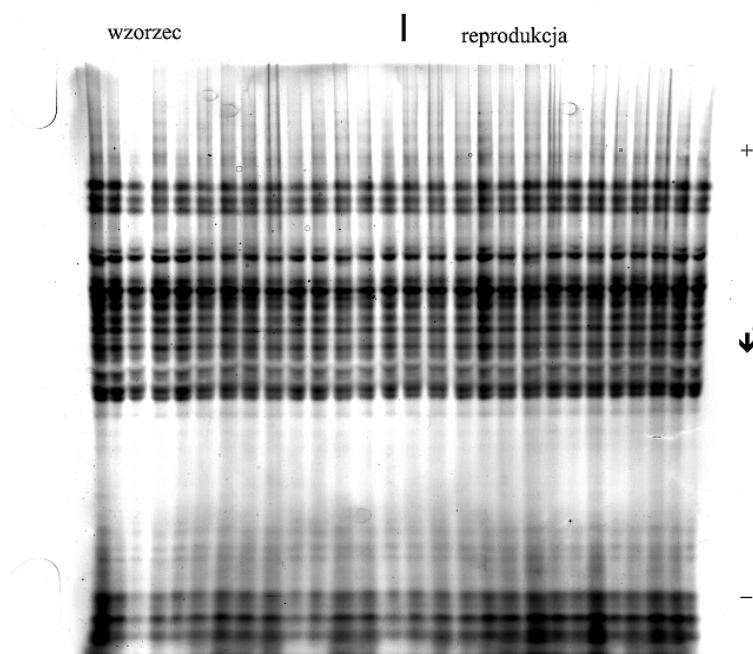
Ekstrakcja białek i elektroforeza

Prolaminy ekstrahowano w 100 µl 70% etanolu, w dwóch kombinacjach: z pojedynczych ziarniaków (w liczbie 200 dla wzorca i po 50 ziarniaków z każdego z poletek reprodukcji, z trzech miejsc doświadczalnych) i z naważek 40 mg tzw. prób zbiorczych otrzymanych z wymieszania i zmielenia losowo wybranych 50 ziarniaków (w wariantach wzorca i reprodukcji). Rozdział białek wykonano metodą "kwaśnej" elektroforezy (A-PAGE) w 7% żelu poliakrylamidowym, z użyciem barwników — fioletu metylenowego i zieleni metylenowej do wyznaczania przebiegu elektroforezy (Brzeziński, 1993). Gluteniny ekstrahowano 400 µl buforu Tris-HCl pH 7.85 z dodatkiem 2-merkaptetanolu, w dwóch

kombinacjach: z pojedynczych ziarniaków (w liczbie 200 dla wzorca i po 50 ziarniaków z każdego z poletek reprodukcji, z trzech miejsc doświadczalnych). Rozdział białek wykonano metodą elektroforezy SDS-PAGE w 10% żelu poliakrylamidowym, z zastosowaniem dwóch żeli zagęszczających, tzw. multistacking gels o stężeniach poliakrylamidu 4% i 6% (Brzeziński, 1993). Żele utrwalano i barwiono roztworem 0,002% Coomassie Blue R-250 z dodatkiem 5% TCA, odbarwiano 1% roztworem detergentu i suszono w folii polietylenowej nasączonej roztworem 10% glikolu etylenu.

WYNIKI I DYSKUSJA

Analiza obrazów elektroforetycznych uzyskanych dwiema metodami elektroforezy potwierdza heterogeny, polimorficzny charakter zapasowych białek nasion pszenżyta. Obraz gliadyn pojedynczych ziarniaków wzorca odmiany Presto był monomorficzny (jednoliniowy) i składał się z 37 prążków (spektra wszystkich ziarniaków identyczne, mogą wystąpić jedynie różnice intensywności zabarwienia prążków pomiędzy nasionami, rys. 1).

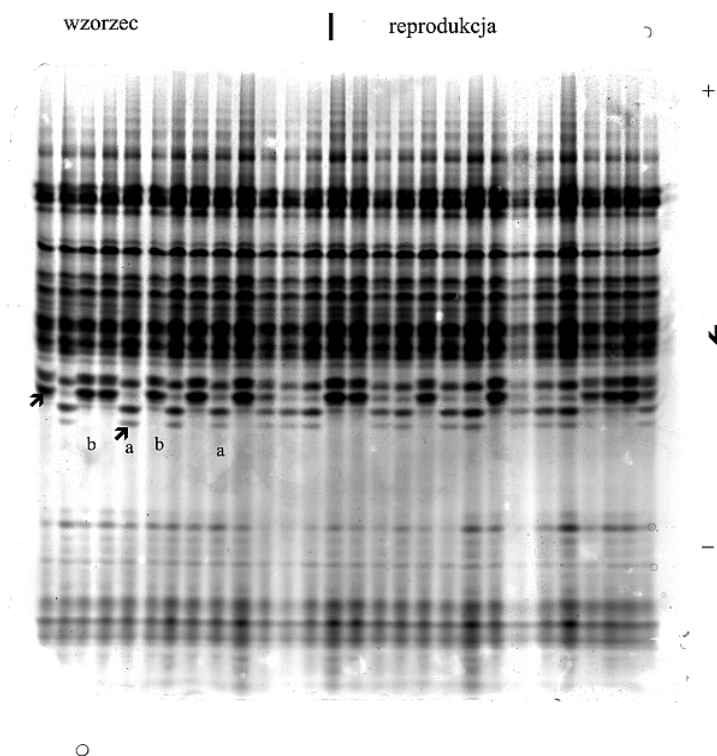


Rys. 1. Elektroforegram gliadyn pojedynczych ziarniaków wzorca pszenżyta Presto i zebranych z roślin trzeciego pokolenia reprodukcji w Olsztynie (zbiór 2000)

Fig. 1. The electrophoregram of gliadins of singular triticale grains (cv. Presto) of standard and collected from 3rd generation plants in Olsztyn (yield 2000)

Analiza elektroforegramów prolamin pojedynczych ziarniaków wzorca odmiany Bogu wykazała zróżnicowanie fenotypu białkowego odmiany w postaci polimorfizmu (tj:

dwuliniowości) w stosunku do gliadyn, ziarniaki linii pierwszej (oznaczonej "I") mają 44, a drugiej (oznaczonej "II") — 45 prążków (rys. 2). Określono częstotliwość występowania linii: I — 60%, II — 40%.

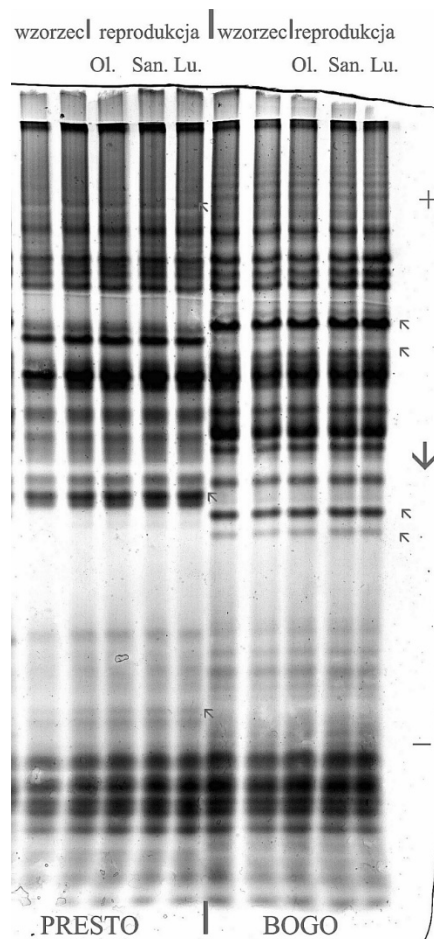


Rys. 2. Elektroforegram gliadyn pojedynczych ziarniaków wzorca pszenżyta Bogu i zebranych z roślin trzeciego pokolenia reprodukcji w Olsztynie (zbiór 2000). a — linia I, b — linia II. Strzałki pokazują prążki różnicujące linie

Fig. 2. The electrophoregram of gliadins of singular triticale grains (cv. Bogu) collected from control and 3rd generation plants in Olsztyn (yield 2000). I — biotype I, II — biotype II. The arrows show the differentiating bands

Po trzech latach reprodukcji obrazy białek obydwu odmian nie zmieniły się w porównaniu z wzorcem. Pozostał ten sam układ prążków i ich liczba. Nie znaleziono różnic w obrazie ziaren pomiędzy poletkami. U odmiany Bogu nie uległa zmianie częstotliwość występowania linii I i II (rys. 2). Metoda ekstrakcji gliadyn z prób zbiorczych pszenżyta nie poprawia efektywności oceny struktury genetycznej. Niemniej łatwiejsza staje się analiza elektroforetyczna takich prób. Obrazy są bardziej wyrównane, zanikają czasami występujące różnice intensywności analogicznych prążków pomiędzy nasionami, wynikające z naturalnej zmienności nasion. Powtórzenia prób zbiorczych (każde po 50

ziarniaków) dają identyczne obrazy. W elektroforegramie odmiany Bogo nie można rozróżnić dwóch linii, „zanika” polimorfizm gliadyn (rys. 3). Ułatwia to porównywanie na jednym żelu kilku prób (po 50 ziaren zmielonych razem) reprezentujących zbiory z różnych miejsc reprodukcji (rys. 3).



Rys. 3. Elektroforegram gliadyn ekstrahowanych z ziarniaków prób zbiorczych pszenżyta Presto i Bogo wzorca (5 powtórzeń dla każdej odmiany) i trzeciego pokolenia reprodukcji w Olsztynie (Ol.), Sandomierzu (Sa.) i Lublinie (Lu.), zbiór 2000 r. Kropki pokazują lokalizację prążków różnicujących odmiany

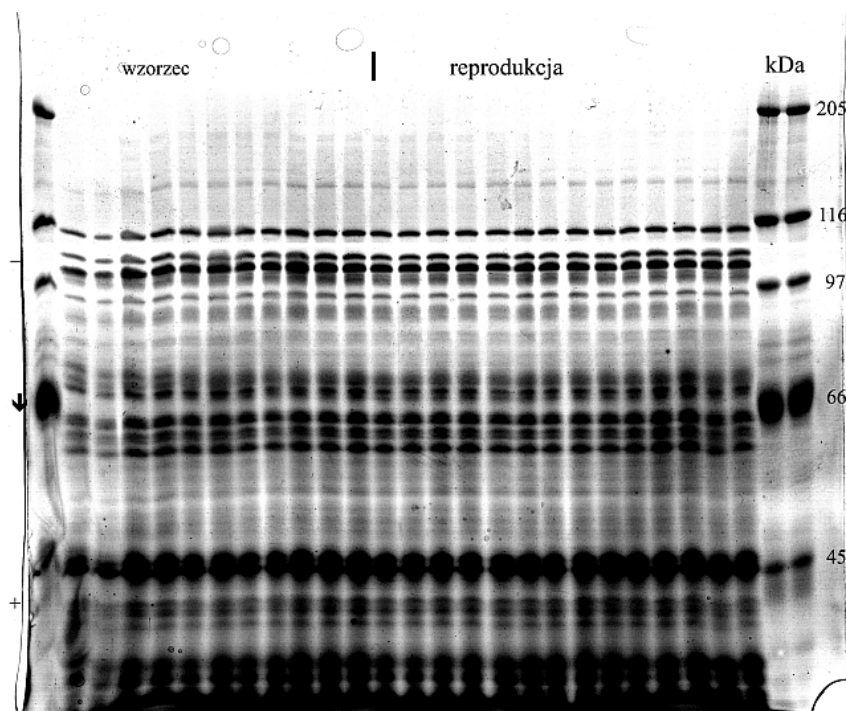
Fig. 3. The electrophoregram of gliadins extracted from grain bulk samples of triticale cv. Presto and Bogo for standard (5 replicates for each variety) and 3rd generation plants, in Olsztyn (Ol.), Sandomierz (Sa.) and Lublin (Lu.), yield 2000. The dots show bands which differ varieties

Elektroforetyczną analizę białek prób zbiorczych zaleca się przede wszystkim do badań tożsamości i identyfikacji roślin obcocyplnych, charakteryzujących się dużą, naturalną zmiennością genetyczną nasion, jak: żyto, życica, kostrzewa, koniczyna biała (Gardiner

i in., 1986; Handbook of Variety Testing ISTA, 1992). Zaletą tej metody jest „uśrednienie” zmienności genetycznej odmian. Uzyskane elektroforegramy białek mogą być markerem odmiany i jej cechą tożsamościową.

Obydwie odmiany były pod względem glutenin monomorficzne (tj. jednoliniowe, rys. 4, 5). Elektroforegramy składają się z 42 prążków (u Presto) i 38 prążków (u Bogo).

Nie stwierdzono zmian we frakcjach glutenin obydwu odmian po trzech latach reprodukcji, ani wpływu miejsca reprodukcji na obraz białek (rys. 4, 5). U obydwu odmian nie różniły się obrazy glutenin nasion zebranych z różnych poletek.

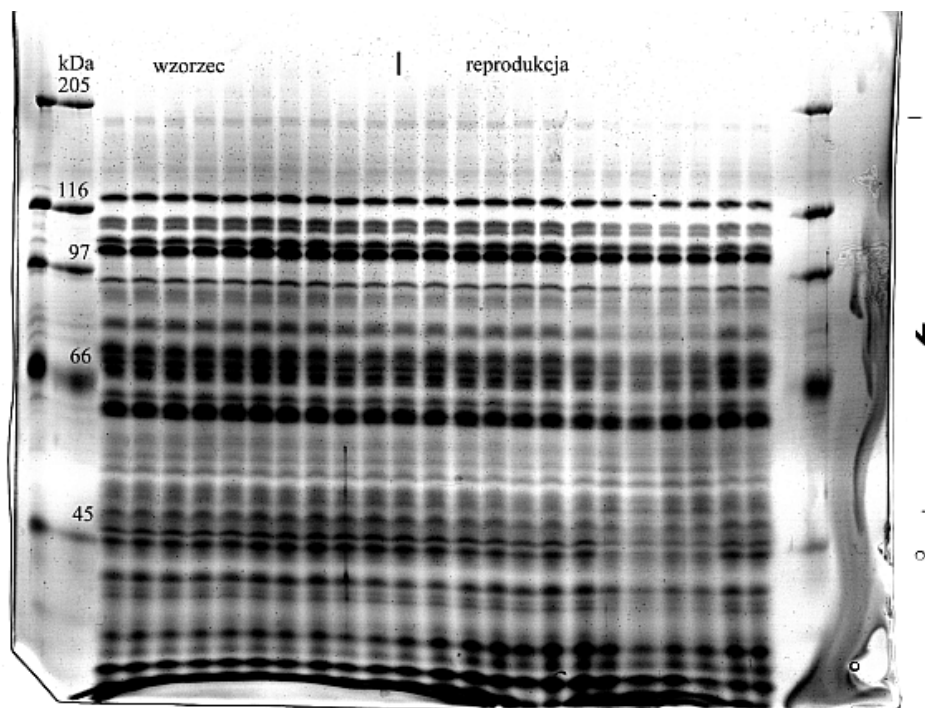


Rys. 4. Elektroforegram glutenin pojedynczych ziarniaków pszenżyta Presto wzorca i zebranych z roślin trzeciego pokolenia reprodukcji w Olsztynie (zbiór 2000). Kda — marker masy cząsteczkowej w kilodaltonach

Fig. 4. The electrophoregram of glutenins of singular triticale grains (cv. Presto) for standard and 3rd generation plants in Olsztyn (yield 2000). Kda — molecular weights (in kilodaltons) of reference marker proteins

Rezultaty niniejszych badań pozwalają na sformułowanie twierdzenia, że w analizowanym okresie reprodukcji, stosunkowo krótkim (trzy lata), nie zaszły zmiany w strukturze genetycznej u badanych odmian pszenżyta. Odmiany te okazały się stabilne. Stabilność genetyczna została zachowana zarówno u odmiany monomorficznej (Presto), jak i polimorficznej (Bogo). Nie zmieniły się nasiona wzorca z przechowalni, a przede wszystkim nasiona otrzymane z reprodukowanych roślin trzeciego pokolenia.

Nie są znane z literatury prace o trwałości genetycznej pszenżyta ocenianej metodami markerów elektroforetycznych, czy to pochodzącego wprost z produkcji nasiennej, czy też reprodukowanego z przechowalni banków genów. W przypadku pszenicy zaobserwowano niepokojące zjawisko zmian genetycznych w nasionach przechowywanych w bankach genów, mimo zachowywania optymalnych warunków przechowywania (Peneva i in., 2002).



Rys. 5. Elektroforegram glutenin pojedynczych ziarniaków pszenżyta Bogo wzorca i zebranych z roślin trzeciego pokolenia reprodukcji w Sandomierzu (zbiór 2000). Kda — marker masy cząsteczkowej w kilodaltonach

Fig. 5. The electrophoregram of glutenins of singular triticale grains (cv. Bogo) collected from control and 3rd generation plants in Sandomierz (yield 2000). Kda — molecular weights (in kilodaltons) of reference marker proteins

Świadczyłoby to o znaczącym, różnicującym wpływie starzenia się nasion na ich żywotność. Zjawisko takie zaobserwowano u odmian populacyjnych, polimorficznych, wieloliniowych (ziarniaki „wypadają” w różnym stopniu, w zależności od linii, zatem może zmieniać się proporcja linii), a nawet u monomorficznych, jednoliniowych, z chromatyną 1R, co wykazała Peneva i wsp. (2002). Autorki wykazały, że tylko u trzech (z badanych 19) odmian pszenicy ze zamienionym chromosomem 1B na 1R lub translokacją *T1BL-1RS*, o zróżnicowanym pochodzeniu geograficznym, reprodukowanych przez 1–2 lata nie nastąpiły zmiany genotypowe w postaci zmian fenotypu białkowego.

U pozostałych, w zależności od odmiany, od 14 do 90% ziarniaków zachowywało oryginalny, zgodny z wzorcem z kolekcji obraz gliadyn i glutenin. Autorki uważają, że najczęstszą przyczyną zmian jest eliminacja materiału genetycznego chromosomu *1RS*: na elektroforegramach nie widać charakterystycznego dla krótkiego ramienia chromosomu żyta *1RS* układu prążków gliadynowych określanych jako blok markerowy $\omega 234 \gamma 5$ (lub GLD 1B3). Istnieje zatem niebezpieczeństwo zmian struktury genetycznej, zawężenie zmienności odmian i utraty cennych dla hodowli i nauki cech biologicznych.

Badane odmiany pszenżyta okazały się stabilne. Nie stwierdzono obniżenia zdolności kiełkowania nasion w wyniku reprodukcji (Małuszyńska, 2002). Nie nastąpiło możliwe zjawisko dryftu genetycznego. Badano tylko dwie odmiany pszenżyta, przechowywane przez krótki okres i nie można kategorycznie twierdzić, że pszenżyto zachowuje się inaczej, jest bardziej trwałe. Być może zmiany genetyczne pszenicy były spowodowane dłuższym okresem przechowywania. O ile zmiany struktury genetycznej starych odmian pszenic polimorficznych po przechowywaniu są zrozumiałe i możliwe (nierównomierny spadek kiełkowania), o tyle zastanawiające jest, że odmiany pszenic z chromatyną R reprodukowane, ulegały większym lub mniejszym zmianom. Być może w przypadku niektórych odmian zbierano materiał zanieczyszczony, tym bardziej, że Peneva i wsp. (2002) przyznaje możliwość zanieczyszczenia mechanicznego. Pod względem czystości genetycznej odmiana Beno reprodukowana w dwóch miejscach, w pierwszym okazała się całkowicie zgodna z oryginałem, a w drugim jej czystość obniżyła się do 58%. Na błąd oceny w niektórych przypadkach mogła składać się także niedostateczna liczba analizowanych nasion (10 ziaren oryginału i 20–25 z reprodukcji), gdy do analizy czystości genetycznej (odmianowej) zaleca się rozdział dla minimum 50 ziarniaków (ISTA Electrophoresis Handbook, 1992).

W literaturze brak doniesień o zmianach struktury genetycznej zbóż podczas produkcji nasiennej. Jedynie Konovalov i wsp. (1992) stwierdził zmiany w proporcji biotypów gliadynowych u pszenicy jarej Akademitskaja. Cooke (inf. ustna, 2001) twierdzi na podstawie wieloletniego doświadczenia z monitorowaniem produkcji nasiennej metodą markerów białkowych, że pszenica nie wyradza się, nawet u odmian wieloliniowych. Jedynie u dwóch prób jęczmienia znaleziono w NIAB Cambridge zmiany, przypisane raczej zanieczyszczeniom w trakcie reprodukcji.

Zagadnienie wyradzania odmian jest zjawiskiem złożonym. Według Krzymuskiego (1994) przyczyny genetyczne wyradzania się odmian działają słabiej niż pogarszanie się wartości siewnej nasion spowodowane warunkami środowiskowymi i agrotechnicznymi. W produkcji nasiennej pszenżyta główną przyczyną obniżania jakości nasion, a w konsekwencji i wyradzania się są zamieszania mechaniczne nasionami innych odmian pszenżyta i zbóż (Kwiatkowski, 2000).

Celowa jest kontynuacja badań na następnych generacjach pszenżyta.

WNIOSKI

1. Nie stwierdzono różnicy obrazu elektroforetycznego białek zapasowych pomiędzy wzorcem a trzecią generacją pszenżyta odmian Bogo i Presto.
2. Odmiany Bogo i Presto były stabilne pod względem obrazu gliadyn i glutenin po trzyletniej reprodukcji.
3. W obrazie elektroforetycznym gliadyn prób zbiorczych ziarniaków odmiany Bogo nie widać polimorficznej zmienności nasion.
4. Elektroforegram gliadyn odmiany Bogo, uzyskany z prób zbiorczych nie może być wykorzystany do oceny czystości genetycznej prób ani struktury genetycznej odmian, ale może ułatwić weryfikację tożsamości i trwałości.

LITERATURA

- Alpateva N. V., Gubareva N. K. 2002. Analiz biotipnogo sostava staromestnyh sortov mjagkoj pszenicy iz kollekcii VIR v processe chranenija i reprodukcii. *Agrarnaja Rossija* 3: 28 — 30.
- Breese E. L. 1989. Regeneration and multiplication of germplasm resources in seed genebanks: The scientific background. IBPGR, Rome.
- Brzeziński W. 1993. Katalog elektroforetyczny pszenic polskich, *Wiadom. Odmianoznawcze* z. 54.
- Cooke R. J. 1984. The characterisation and identification of cultivars by electrophoresis. *Electrophoresis*. 5: 59 — 72.
- Cooke R. J., Smith T. M., Ainsworth C. C. 1986. Discrimination between bread wheat, durum wheat, rye and triticale by electrophoresis of seed proteins and enzymes. *Seed Sci. Technol.* 14: 693 — 704.
- Draper S. R. 1987. ISTA Variety committee report of the working group for biochemical tests for cultivar identification 1983–1986. *Seed Sci Technol.* 15: 431 — 434.
- Dziennik Ustaw RP nr 149 z 1995 r. Ustawa z dnia 24 listopada 1995 r. o nasiennictwie.
- Gardiner S. E., Forde M. B. 1986. The use of seed protein banding patterns for identification of pasture cultivars. *Proceedings of the New Zealand J. of Agr. Res.* 29: 193 — 206.
- Grzelak K., Małuszyńska E., Belotti J., Dul S. 1990. Czystość pszenżyta z plantacji nasiennych. *Biul. IHAR* 173/174: 185 — 190.
- Handbook of Variety Testing. Electrophoresis testing. 1992. ISTA ed. Zurich, Switzerland.
- Konarev A. V. 1998. Ispol'zovanie molekularnyh markeov v rabote s geniczeskimi resursami rastenij. *Sel'skochoz. Biol.* 5: 3 — 25.
- Konarev A. V. 2002. Adaptativnyj charakter molekularnogo polimorfizma i ego ispol'zovanie v reszeniji problem geniczeskich resursov rastenij i selkcii. *Agrarnaja Rossija*, 3: 4 — 11.
- Konovalov Y. B., Tukan K. F., Demkin P. P., Loshakova V. A. 1992. Izmenenija v sostave biotipov sorta bo vremja semenovodstva (na primere jarovej pszenicy Akademija). *Izvestija Timir. Sel. Akademii*. 1: 65 — 70.
- Krzymuski J. 1994. Optymalizacja częstotliwości wymiany odmian i zbóż. Cz. 4. Degeneracja nasion. *Biul. IHAR* 189: 141 — 149.
- Kwiatkowski J. 2000. Przyczyny i skutki degeneracji pszenżyta. *Postępy Nauk Rolniczych*, 6: 97 — 108.
- Makarska E. 2001. Określenie indeksu odmienności odmian pszenżyta ozimego metodą porównywania diagramów elektroforetycznych gliadyn. *Biul. IHAR* 220: 91 — 98.
- Małuszyńska E. 2002. Trwałość odmiany pszenżyta ozimego. *Hodowla Roślin i Nasiennictwo* 4: 7.
- Małuszyńska E., Drzewiecki J., Łapiński B. 2001. Tożsamość nietypowych roślin nietypowych pszenżyta na podstawie analizy elektroforetycznej i cytogenetycznej ziarniaków. *Biul. IHAR* 218/219: 251 — 259.
- Peneva T. I., Mitrofanova O. P., Konarev A. V. 2002. Belkovyje markery v analize geniczeskoj stabil'nosti sortov pszenicy, soderzjajuszchich chromatin 1R rzi. *Agrarnaja Rossija*. 3: 35 — 40.
- Pickett A. A. 1988. Factors affecting seed production of Triticale (*X Triticosecale* Wittm.). *Plant Varieties and Seeds* 1: 62 — 74.

- Roberts E. H. 1991. Genetic conservation in seed banks. *Biological Journal of the Linnean Society*. 43: 23 — 29.
- Stoyanova S. D. 1996. Variation of gliadins in wheat cultivars associated with seed survival and multiplication. *Seed Sci. Technol.* 24: 115 — 126.
- Wiewióra B., Małuszyńska E. 2002. Seed health of triticale in multiplication process. *Proceedings of the 5th International Triticale Symposium*, v. II, June 30-July 5, 2002, Radzików, Poland.
- Wrigley C. W. 1970 Protein mapping by combined gel electrofocusing and electrophoresis: Application to the study of genetic variations in wheat gliadins. *Biochemical Genetics* 4: 509 — 516.

PODZIĘKOWANIE

Autorzy dziękują Prof. .dr. hab. Szymonowi Dziambie (AR Lublin), dr. Jackowi Kwiatkowskiemu (UWM Olsztyn) i dr. Krzysztofowi Klimontowi (LT IHAR Sandomierz) za dostarczenie nasion do wykonania niniejszej pracy.