

ZOFIA BULIŃSKA-RADOMSKA**JERZY MACEWICZ**

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików

Charakterystyka pul genowych i genotypowych populacji naturalnych i odmian hodowlanych koniczyny czerwonej (*Trifolium pratense* L.) i koniczyny białej (*Trifolium repens* L.)

Characterization of gene and genotype pools of natural populations and cultivars of red (*Trifolium pratense* L.) and white clovers (*Trifolium repens* L.)

Dziesięć odmian uprawnych oraz 30 populacji *T. pratense* i *T. repens* zebranych ze stanowisk naturalnych poddano enzymatycznym badaniom elektroforetycznym w celu określenia zmian w pulach genowych i genotypowych wymienionych gatunków, spowodowanych procesem hodowlanym. W badaniach posłużono się 15 systemami enzymatycznymi. Obliczono łączną liczbę alleli oraz liczbę genotypów w odmianach i populacjach naturalnych oraz określono liczbę genotypów występujących zarówno w odmianach, jak i populacjach oraz genotypów różniących odmiany od populacji naturalnych. U odmian obydwu gatunków nastąpiło zmniejszenie liczby alleli i genotypów w stosunku do populacji naturalnych. Stosunkowo małe różnice w liczbie alleli u obydwu gatunków spowodowały dużo większe zmiany w puli genotypowej odmian hodowlanych. Stwierdzono, że proces hodowlany zarówno w koniczynie czerwonej jak i białej spowodował znaczne zmiany w organizacji zmienności. Nastąpiła eliminacja niektórych alleli oraz genotypów. W odmianach pojawiły się także nowe genotypy nie spotykane dotychczas w populacjach, najprawdopodobniej dzięki wprowadzeniu nowych alleli, pochodzących z obcego materiału wyjściowego. W odmianach obserwowano pojawienie się także nowych genotypów, będących najprawdopodobniej efektem segregacji alleli obecnych w populacjach eliminowanych w naturalnym procesie selekcyjnym.

Słowa kluczowe: odmiany uprawne, izoenzymy, populacje naturalne, *Trifolium*, zróżnicowanie genetyczne

Ten cultivars and 30 natural populations of *T. pratense* and *T. repens* were surveyed in order to characterize the genetic changes which had appeared in these two species as a result of the breeding manipulations. Fifteen enzyme systems were applied. A total number of identified common alleles and genotypes in cultivars and natural populations, and the total number of alleles and genotypes different for *T. pratense* and *T. repens* cultivars and natural populations were calculated. The number of alleles and genotypes was each smaller in cultivars than in natural populations of both species. Relatively small reduction in the number of alleles led to greater differences in genotypic changes in cultivars. The breeding manipulations resulted in reorganization of variability at a genotypic level. Some alleles and

genotypes had been eliminated, but new ones not occurring in natural populations, were found in cultivars. New foreign alleles, which were incorporated into cultivar gene pools led to changes in genotypic composition of cultivars. New genotypes identified among cultivars could be created by segregation of alleles which were already present in natural populations but were eliminated in the process of natural selections.

Key words: cultivars, genetic variability, isozymes, natural population, *Trifolium*

WSTĘP

Hodowla koniczyny czerwonej i białej w Polsce ma dość długą tradycję chociaż obydwie te gatunki nie były poddawane tak intensywnym zabiegom hodowlanym jak główne rośliny rolnicze. Świadczą o tym rodowody odmian uprawnych. Odmiany uprawne z reguły obejmują znacznie ograniczone pule genowe w stosunku do populacji naturalnych i dlatego sięganie do innych źródeł genów jak np. populacji naturalnych stanowi ważny element procesu hodowlanego. Znajomość spektrum genetycznego populacji naturalnych i odmian uprawnych oraz zmian genetycznych jakie wystąpiły w efekcie zabiegów hodowlanych jest ogromnie istotna z punktu widzenia planowania działań hodowlanych, doboru komponentów do krzyżowań i dalszej selekcji.

Celem badań było porównanie populacji naturalnych i odmian hodowlanych dwóch gatunków koniczyny: *T. pratense* i *T. repens* pod względem ich zróżnicowania genowego i genotypowego oraz ustalenie rozmiarów zmian genetycznych jakim uległy pule genowe populacji naturalnych w wyniku długotrwałego, lecz mało intensywnego procesu hodowlanego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiło 10 odmian uprawnych oraz 30 populacji *T. pratense* i *T. repens* zebranych ze stanowisk naturalnych w kraju. Charakterystykę odmian podaje tabela 1.

Dla populacji i odmian przeprowadzono badania elektroforetyczne piętnastu systemów enzymatycznych. Do ekstrakcji białek enzymatycznych wykorzystano liście młodych roślin. Ekstrakcję białek enzymatycznych oraz ich rozdział elektroforetyczny, a także wybarwianie enzymów, prowadzono według metodyki Weedena i Emmo (1985). Rozdział białek prowadzono na 11% i 12% żelu skrobiowym w dwóch systemach buforowych: 0,03 M litowo-boranowym (pH 8,1) i 0,005 M histydynowym (pH 6,1). Do analizy zróżnicowania genetycznego użyto jedynie systemy, w których gatunki wykazywały polimorfizm (tab. 2). Obliczono łączną liczbę alleli oraz liczbę genotypów w odmianach i populacjach naturalnych oraz określono liczbę genotypów występujących zarówno w odmianach, jak i populacjach oraz genotypów różniących odmiany od populacji naturalnych.

Tabela 1

Charakterystyka odmian koniczyny czerwonej (*T. pratense*) i koniczyny białej (*T. repens*)
Cultivar characteristics of red (*T. pratense*) and white clovers (*T. repens*).

Odmiana Cultivar	Miejsce wytworzenia Breeding company	Rok wyhodowania Year of release	Pochodzenie Pedigree
<i>T. pratense</i> : Radyka	ZDHAR	1978	odmiana wielkolistna × poliploidy łąkowe
Hruszowska	SHR Palikije SHR Poturzyn	1956	genotypy miejscowej populacji uprawianej w województwie lubelskim i przekrzyżowanie z odmianą Gloria i innymi formami z Ukrainy i Białorusi
Ulka	SHR Ułhówek	1985	Hungaropoly × B 67/6
Parka	SHR Palikije	1982	Violetta × Hruszowska
Bryza	SHR Palikije	1992	mieszaniec dwóch rodów niemieckich z mieszaniny pojedynków polsko-niemieckich
<i>T. repens</i> : Dara	SHR Antoniny-Leszno	1996	Armena × (f. <i>Hollandicum</i> × f. <i>Silvestre</i>)
Rema	SHR Antoniny-Leszno	1976 — 1998+	Culture × K 08/65 (klon z odmiany Podkowa) × K 27/67 (klon z populacji pastwiskowej)
Astra	SHR Antoniny-Leszno	1980	z przekrzyżowania zimotrwałych klonów wybranych z odmian Ladino, Lodigiano, Radzikowska i populacji pastwiskowych
Armena	SHR Antoniny-Leszno	1986+	mieszaniec klonów odmian Milka i C 17-30
Radzikowska, Radi	IHAR Radzików	1970 — (1988) 1989+	ekotyp z Mińska × ekotypy amerykańskie

() — Rok wycofania z hodowli

+ — Rok ponownego wprowadzenia do hodowli

Tabela 2

Polimorficzne systemy enzymatyczne (P)
Polymorphic enzyme systems

Enzym Enzyme	Gatunek Species	
	<i>T. repens</i>	<i>T. pratense</i>
Dehydrogenaza alkoholowa (ADH) Alcohol dehydrogenase	P	P
Aminotransferaza asparaginianowa (AAT) Aspartate aminotransferase	P	P
Diaforaza (DIA) Diaforase	P	
Esteraza (EST) Esterase	P	P
Aminopeptydaza leucynowa (LAP) Leucine aminopeptidase	P	P
Dehydrogenaza izocytrynianowa (IDH) Isocitric dehydrogenase	P	P
Dehydrogenaza jabłczanowa (MDH) Malate dehydrogenase	P	P
Peroksydaza (PRX) Peroxidase	P	
Fosfoglucoizomeraza (PGI) Phosphoglucoisomerase	P	P
Fosfoglukomutaza (PGM) Phosphoglucomutase	P	P
Dehydrogenaza fosfoglukonianowa (PGD) Phosphogluconate dehydrogenase	P	
Dysmutaza nadtlenkowa (SOD) Superoxide dismutase	P	

WYNIKI I DYSKUSJA

Koniczyna czerwona

Populacje koniczyny czerwonej były w różnym stopniu zróżnicowane w stosunku do odmian pod względem liczby *loci*, alleli i genotypów (tab. 3). Polimorficznych *loci* w odmianach było od 3 do 5 w przeciwieństwie do populacji, u których takich *loci* było od 5 do 10. Populacje wykazywały również znacznie większy od odmian zakres liczby alleli i genotypów. U odmian liczba alleli wynosiła od 18 do 22, podczas gdy w populacjach było ich od 20 do 27. Stwierdzono od 36 do 48 różnych genotypów w populacjach, natomiast w odmianach było ich mniej, bo tylko od 38 do 44 (tab. 4). Liczbę genotypów w poszczególnych *loci* enzymatycznych oraz genotypów wspólnych dla populacji i odmian podaje tabela 4.

Tabela 3

Liczba *loci* i alleli w odmianach hodowlanych i populacjach naturalnych
Number of loci and alleles in cultivars and natural populations

Gatunek Species	Liczba populacji (odmian) Number of populations (cultivars)	Łączna liczba <i>loci</i> polimorficznych w populacjach (odmianach) Number of polymorphic <i>loci</i> in populations (cultivars)	Łączna liczba alleli w <i>loci</i> polimorficznych w populacjach (odmianach) Number of alleles in polymorphic <i>loci</i> in populations (cultivars)	Łączna liczba genotypów w populacjach (odmianach) Number of genotypes in populations (cultivars)
<i>T. pratense</i>	15 (5)	10 (5)	27 (22)	44 (36)
<i>T. repens</i>	15 (5)	12 (12)	41 (31)	235 (201)

Tabela 4

Liczba obserwowanych genotypów w *loci* enzymatycznych w populacjach naturalnych i odmianach koniczyny czerwonej (*T. pratense*)
Number of genotypes in populations and cultivars of red clover (*T. pratense*)

<i>Locus</i>	Populacje Populations	Odmiany (wspólne) Cultivars (common)
Fosfoglucoizomeraza (Pgi) Phosphoglucosomerase	6	7 (5)
Aminotransferaza asparaginianowa (Aat) Aspartate aminotransferase	4	5 (4)
Aminopeptydaza leucynowa (Lap) Leucine aminopeptidase	9	6 (6)
Dysmutaza nadtlenkowa (Sod) Superoxide dismutase	7	5 (4)
Peroxydaza (Prx) Peroxidase	6	6 (6)
Diaforaza 1 (Dia) Diaforase	3	3 (2)
Diaforaza 2 (Dia) Diaforase	2	3 (2)
Dehydrogenaza fosfoglukonianowa 1 (Pgd) Phosphogluconate dehydrogenase	3	4 (3)
Dehydrogenaza fosfoglukonianowa 2 (Pgd) Phosphogluconate dehydrogenase	5	2 (2)
Dehydrogenaza izocytrynianowa (Idh) Isocitric dehydrogenase	3	3 (2)
Razem Total	48	44 (36)

Koniczyna biała

Populacje koniczyny białej były bardziej zróżnicowane pod względem liczby alleli i genotypów niż odmiany hodowlane. Zarówno u odmian, jak i populacji wszystkie badane *loci* wykazywały polimorfizm. Podobnie jak u koniczyny czerwonej populacje wykazywały znacznie większy niż odmiany zakres liczby alleli i genotypów. W odmianach liczba alleli wynosiła od 26 do 31, a w populacjach było ich od 27 do 41. U odmian obserwowano obecność 2 nowych alleli. W populacjach liczba genotypów wahała się od 218 do 235, a u odmian od 189 do 201. Liczbę genotypów w poszczególnych *loci* enzymatycznych oraz genotypów wspólnych dla populacji i odmian podaje tabela 5.

Tabela 5

Liczba genotypów wykrytych w *loci* enzymatycznych w populacjach naturalnych i odmianach koniczyny białej (*T. repens*)

Number of genotypes in populations and cultivars of white clover (*T. repens*)

<i>Locus</i>	Populacje Populations	Odmiany (wspólne) Cultivars (common)
Dehydrogenaza alkoholowa (Adh) Alcohol dehydrogenase	18	15 (12)
Aminotransferaza asparaginianowa (Aat) Aspartate aminotransferase	16	13 (11)
Diaforaza (Dia) Diaforase	12	14 (8)
Esteraza (Est) Esterase	26	18 (14)
Aminopeptydaza leucynowa (Lap) Leucine aminopeptidase	28	21 (18)
Dehydrogenaza izocytrynianowa (Idh) Isocitric dehydrogenase	18	16 (12)
Dehydrogenaza jabłczanowa (Mdh) Malate dehydrogenase	31	19 (15)
Peroksydaza (Prx) Peroxidase	22	20 (14)
Fosfoglucoizomeraza (Pgi) Phosphoglucoisomerase	24	20 (13)
Fosfoglukomutaza (Pgm) Phosphoglucomutase	15	18 (10)
Dehydrogenaza fosfoglukonianowa (Pgd) Phosphogluconate dehydrogenase	9	13 (7)
Dysmutaza nadtlenkowa (Sod) Superoxide dismutase	16	14 (9)
Razem Total	235	201 (143)

U odmian obydwu badanych gatunków koniczyny nastąpiło zmniejszenie liczby alleli i genotypów w stosunku do populacji naturalnych. Relatywnie małe różnice w liczbie alleli u obydwu gatunków spowodowały dużo większe zmiany w puli genotypowej odmian hodowlanych. Pomimo, że u koniczyny czerwonej liczba genotypów obniżyła się o niecałe 9% to tylko 78% genotypów w odmianach i populacjach było wspólnych. Pozostałe 22% to genotypy nowe i wyeliminowane. W koniczynie białej liczba genotypów u odmian obniżyła się nieco bardziej, bo o 15% wspólnych genotypów odmiany i populacje miały tylko 61%. Uzyskane wyniki wskazują, że proces hodowlany zarówno w koniczynie

czerwonej, jak i białej, pomimo że nie miał charakteru intensywnego, spowodował znaczne zmiany w zmienności genotypowej. Podobne obserwacje Bulińska-Radomska (1996) przedstawiła w odniesieniu do dwóch innych gatunków koniczyny *T. incarnatum* i *T. hybridum*. W obydwu gatunkach koniczyny, niezależnie od eliminacji niektórych alleli, nastąpiła utrata genotypów najprawdopodobniej mniej pożądanych z punktu widzenia ich przydatności gospodarczej. Pojawiły się także nowe genotypy nie spotykane dotychczas w populacjach naturalnych, najprawdopodobniej dzięki wprowadzeniu do odmian nowych alleli, pochodzących z obcego materiału wyjściowego użytego do ich wyprowadzenia. Jest również prawdopodobne, że u odmian pojawiły się także nowe genotypy, będące efektem segregacji alleli obecnych już w populacjach, które z racji swojej nieprzydatności lub innego powodu, były eliminowane w naturalnym procesie selekcyjnym. Prezentowane wyniki są zgodne z tezą Allarda (1988, 1997), że w trakcie procesu hodowlanego następuje restrukturyzacja zmienności, polegająca na eliminacji alleli niekorzystnych, a zwiększeniu częstości alleli związanych z adaptacją do środowiska rolniczego. Za zmiany na poziomie genotypowym odpowiedzialna jest selekcja kierowana przez człowieka, która ma inne cele niż selekcja naturalna. Nadrzędnym celem selekcji naturalnej jest przystosowanie genotypów roślinnych do jak najefektywniejszego bytowania w naturalnych warunkach środowiska, które różni się od środowiska rolniczego, i dlatego utrata części puli genowej w procesie hodowlanym jest nieunikniona.

WNIOSKI

1. Proces hodowlany u koniczyny czerwonej i koniczyny białej przyczynił się do znacznie większych zmian w zmienności genotypowej niż genowej.
2. Proces hodowlany jest nierozłącznie związany z utratą części pul genowych i genotypowych reprezentowanych w populacjach naturalnych.

LITERATURA

- Allard R. W. 1988. Genetic changes associated with the evolution of adapted ness in cultivated plants and their wild progenitors. *J. Heredity* 79: 225 — 238.
- Allard R. W. 1997. Genetic basis of the evolution of adaptedness in plants. In: *Adaptation in plant breeding*. P. M. A. Tigerstedt (ed.). Kluwer, Dordrecht: 1 — 11.
- Bulińska-Radomska Z. 1996. Zróżnicowanie genetyczne odmian i populacji naturalnych *Trifolium hybridum* i *T. incarnatum*. *Biul. IHAR*. 200: 363 — 366.
- Weeden N., Emmo A. 1985. Horizontal starch gel electrophoresis. Laboratory procedures. Dept. Hortic. Sci. N.Y. State Agric. Exp. Station, Geneva, USA.