

**MARIA CHRZĄSTEK**Instytut Genetyki i Hodowli Roślin  
Akademia Rolnicza, Lublin

## Reakcja linii pszenicy z dodanymi i podstawionymi chromosomami żyta na egzogeny kwas giberelinowy

### The reaction of wheat lines with added and substituted rye chromosomes to exogenic gibberellic acid

Oceniano reakcję linii addycyjnych i linii substytucyjnej *1B/1R* oraz form wyjściowych, tj. pszenicy, żyta i pszenżyta oktoploidalnego na działanie kwasu giberelinowego ( $GA_3$ ). Test giberelinowy przeprowadzono w komorze wegetacyjnej w warunkach kontrolowanych. Siewki podlewano roztworem gibereliny o stężeniu 50 mg/g przez 18 dni, po czym mierzono długość koleoptyla i całą siewkę. Badane linie różniły się między sobą i od pszenicy pod względem reakcji na  $GA_3$ . Najdłuższą siewkę i koleoptyl stwierdzono w linii addycyjnej *2R*. Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że na chromosomie *2R* żyta odmiany Dańkowskie Złote znajdują się geny kontrolujące metabolizm związany z wykorzystaniem giberelin.

**Słowa kluczowe:** geny karłowatości, linie addycyjne, pszenica, substytucja *1B/1R*, żyto, test giberelinowy

The reaction of addition lines, *1B/1R* substitution line and initial forms: wheat, rye, octoploid triticale to the treatment with gibberellic acid ( $GA_3$ ) was estimated. The gibberellic test was performed in a vegetation chamber under controlled conditions. Seedlings were watered with gibberellic acid solution, at 50mg/g concentration, during 18 days, then the seedlings and coleoptyles were measured. The tested lines differed from each other and in comparison with wheat with regard to the reaction to  $GA_3$ . The longest seedling and coleoptile were stated for the *2R* addition line. On the ground of received results it was found that genes controlling the metabolism connected with utilization of gibberellins are situated on the *2R* chromosome of rye cv. Dańkowskie Złote.

**Key words:** addition lines, dwarfing genes, gibberellic test, rye, substitution *1B/1R*, wheat

### WSTĘP

Skrócenie źdźbła u roślin zbożowych ma istotny wpływ na zwiększenie odporności na wyleganie, a w dalszej konsekwencji na wysokość i jakość plonu (Flintham i in., 1997). W hodowli krótkosłomych, wysokoplonujących odmian pszenicy w świecie szeroko wykorzystuje się geny karłowatości *Rht* (reduced height) niewrażliwe na kwas giberelinowy.

Spośród ponad 20 poznanych genów karłowatości największą rolę odegrały *Rht1*, *Rht2* i *Rht3* (Worland i Law, 1985). Geny *Rht1* i *Rht2* zidentyfikowano w pszenicy cv. Norin ponad 40 lat temu. Pierwsze krzyżowanie, w którym jednym z komponentów była pszenica odm. Norin wykonał Borlaug w 1955 roku (za Sourdille i in., 1998). Z badań Flintham i wsp. (1997) wynika, że geny *Rht1*, *Rht2* i *Rht3* redukują wysokość roślin odpowiednio o 14, 17, 50 procent, a kombinacje genów *Rht1* + *Rht2* i *Rht2* + *Rht3* o 49 i 59%. Oprócz alleli *Rht1*, *Rht2* i *Rht3* w literaturze opisano kilka innych genów niewrażliwych na GA<sub>3</sub> między innymi *Rht1S* i *Rht10*. Allele *Rht1*, *Rht3* oraz *Rht1S* znajdują się na chromosomie 4BS, a *Rht2* i *Rht10* na 4DS (Gale i Youssefian, 1985; Worland i Petrović, 1988). W pszenicy geny karłowatości niewrażliwe na egzogennie stosowany kwas giberelinowy można identyfikować przy pomocy prostego testu giberelinowego (Gale i Gregory, 1997; Kowalczyk i in., 1997, 1999). W odróżnianiu genotypów z poszczególnymi genami niezwykle przydatne są markery molekularne DNA. Sourdille i wsp. (1998) znaleźli markery molekularne sprzężone z genami *Rht1* i *Rht2* w pokoleniu F<sub>2</sub> dwóch populacji mieszańców międzyodmianowych pszenicy (Renan × Camp Rémy i Rendez-Vous × Roazon).

Sukcesy w hodowli krótkosłomych odmian pszenicy skłoniły hodowców do szukania genów karłowatości w innych roślinach zbożowych, głównie w podatnym na wyleganie życie.

W życie diploidalnym, podobnie jak w pszenicy, występują dwie kategorie genów karłowatości, tj. wrażliwe i niewrażliwe na kwas giberelinowy (Börner i Melz, 1988; Börner, 1991; Börner i in., 1992). Dotychczas zidentyfikowano kilkanaście genów karłowatości (Kubicka i Kubicki, 1990; Melz i in., 1992; Börner i Korzun, 1996; Korzun i in., 1998). Większość z nich poza *Dw1* i *Dw2* ma charakter recesywny. Börner i wsp. (1992) zidentyfikowali recesywne geny karłowatości w czterech genotypach żyta diploidalnego. Największe znaczenie w praktycznej hodowli krótkosłomych odmian żyta odegrały geny *Dw1* i *ct2*.

Celem pracy była ocena reakcji linii pszenicy z dodanymi i podstawionymi chromosomami żyta na egzogennie stosowany kwas giberelinowy.

#### MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań była seria linii pszenicy heksaploidalnej (*Triticum aestivum* L.) odmiany Grana z dodanymi kompletnymi bądź telocentrycznymi chromosomami żyta (*Secale cereale* L.) odmiany Dańkowskie Złote: 1R, 2R, 3R, 3RS, 4R, 5R, 6R, 6RL, 7R oraz linia substytucyjna 1B/1R. Równocześnie analizowano formy wyjściowe tj. pszenicę i żyto oraz pszenżyto oktoploidalne uzyskane w wyniku ich krzyżowania.

Ziarniaki wszystkich linii i form wyjściowych wykładano na wilgotną bibułę do szalek Petriego i umieszczano w kielkowniku. Po inicjacji kiełkowania przez 12 godzin w temperaturze 25° C szalki z ziarniakami przenoszono do lodówki, gdzie w temperaturze ok. 4° C następowało wyrównanie kiełkowania. Po 3 dniach, po 20 ziarniaków z każdej linii i formy wyjściowej wysadzano do kuwet z wilgotnym perlitem i podlewano codziennie roztworem kwasu giberelinowego. Roztwór podstawowy o stężeniu gibereliny

625 mg/g przygotowywano rozpuszczając 1/4 tabletki Berelex zawierającej kwas giberelinowy w 400 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Do podlewania stosowano roztwór kwasu giberelinowego o stężeniu 50 mg/g. Kuwety z siewkami umieszczano w komorze wegetacyjnej w temperaturze 20° C w dzień i 14° C w nocy, przy oświetleniu 14 godzin na dobę. Doświadczenie założono metodą bloków losowanych. Zastosowano dwa powtórzenia, wysadzając po 20 ziarniaków w bloku. Po zakończeniu testów, które trwały 18 dni od inicjacji kiełkowania, mierzono długość koleoptyla i całych siewek.

Wyniki opracowano statystycznie stosując test F-Snedecora. W celu wykazania istotności różnic pomiędzy obiektami wykorzystano przedziały Tukeya.

#### WYNIKI I DYSKUSJA

W prezentowanych badaniach testowano kwasem giberelinowym linie pszenicy z dodanymi i podstawionymi chromosomami żyta Dańkowskie Złote oraz formy wyjściowe. Reakcja poszczególnych linii była zróżnicowana. Najkrótszy koleoptyl stwierdzono w linii substytucyjnej *1B/1R* (6,85 cm) (tab. 1). W liniach addycyjnych długość koleoptyla wahała się od 6,86 cm (*3RS*) do 9,92 cm (*2R*). Linia *2R* różniła się istotnie od pozostałych linii addycyjnych i form wyjściowych. Średnia długość koleoptyla w pszenicy Grana po potraktowaniu GA<sub>3</sub> wynosiła 6,95 cm, w życie Dańkowskie Złote 7,58 cm, a w pszenżyte oktoploidalnym Grana × Dańkowskie Złote 6,90 cm.

Długość koleoptyla może być jednym z kryteriów selekcji przy poszukiwaniu źródeł karłowatości. Botwright i wsp. (2001) badali wpływ genotypu, budowy kłosa i czynników środowiskowych na długość koleoptyla w odmianach pszenicy zawierających geny karłowatości wrażliwe i niewrażliwe na kwas giberelinowy. Autorzy zmierzylili koleoptyl w 6 odmianach o standardowej wysokości roślin z genami *rht*, oraz w 2 odmianach z genami *Rht1* i *Rht2* niewrażliwymi na kwas giberelinowy i dwóch z genami *Rht8* i *Rht8/9* wrażliwymi na GA<sub>3</sub>. Okazało się, że w odmianach z genami *rht*, *Rht8* i *Rht8/9* koleoptyl był o 25–40% dłuższy niż w odmianach zawierających geny karłowatości niewrażliwe na kwas giberelinowy. Ponadto stwierdzono, że genotyp miał większy wpływ na zróżnicowanie długości koleoptyla niż pozostałe uwzględnione w eksperymencie czynniki.

Linie pszenicy Grana z dodanymi i podstawionymi chromosomami żyta Dańkowskie Złote potraktowane egzogenie kwasem giberelinowym różniły się między sobą i od form rodzicielskich pod względem długości siewek (tab. 1). Spośród linii addycyjnych najdłuższe siewki stwierdzono w linii *2R* (26,09 cm). Były one istotnie dłuższe od siewek z pozostałych linii. Wszystkie linie z dodanymi chromosomami żyta miały nieznacznie krótsze siewki niż pszenica Grana (22,80 cm) i pszenżyto oktoploidalne (23,10 cm). Najkrótszą siewkę spośród wszystkich badanych linii zanotowano w linii substytucyjnej *1B/1R*. Średnia długość siewki tej linii wynosiła 17,40 cm i była istotnie mniejsza od wartości tej cechy u pszenicy i pszenżyta. W życie Dańkowskie Złote siewka miała średnią długość 27,15 cm. W porównaniu z żytem najmniej różniła się linia *2R* (26,09 cm) i *3R* (22,23 cm) a w pozostałych przypadkach różnice były istotne. Uzyskane wyniki dowodzą, że na chromosomie *2R* żyta Dańkowskie Złote są zlokalizowane geny kontrolujące metabolizm związany z wykorzystaniem giberelin. Wyniki te potwierdzają wcześniejsze

doniesienie Gale i Law (1973), którzy stwierdzili u monosomików drugiej grupy homeologicznej pszenicy Bersee niższy poziom całkowitej wolnej gibereliny niż w pozostałych grupach. Według autorów może to oznaczać, że na chromosomach drugiej grupy homeologicznej u pszenicy są zlokalizowane geny kontrolujące metabolizm kwasu giberelinowego.

Tabela 1

**Długość koleoptyli i siewek w liniach addycyjnych Grana — Dańkowskie Złote, linii substytucyjnej i formach wyjściowych testowanych GA<sub>3</sub>**  
**Length of coleoptyles and seedlings in the addition lines Grana — Dańkowskie Złote, the substitution line and the initial forms tested with GA<sub>3</sub>**

| Linie i formy wyjściowe<br>Lines and initial forms | Długość koleoptyla<br>Coleoptyle length<br>(cm) |          |                     | Długość siewki<br>Seedling length<br>(cm) |          |                      |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------|----------|---------------------|-------------------------------------------|----------|----------------------|
|                                                    | zakres<br>range                                 |          | średnia<br>mean     | zakres<br>range                           |          | średnia<br>mean      |
|                                                    | od<br>from                                      | do<br>to |                     | od<br>from                                | Do<br>To |                      |
| linie addycyjne<br>addition lines                  |                                                 |          |                     |                                           |          |                      |
| 1R                                                 | 4,0                                             | 8,9      | 7,81                | 15,5                                      | 25,3     | 20,82 <sup>y</sup>   |
| 2R                                                 | 9,2                                             | 11,0     | 9,92 <sup>xyz</sup> | 23,3                                      | 28,9     | 26,09                |
| 3R                                                 | 4,5                                             | 7,7      | 6,91                | 15,8                                      | 25,1     | 22,23                |
| 3RS                                                | 6,4                                             | 7,4      | 6,86                | 6,6                                       | 22,8     | 20,59 <sup>y</sup>   |
| 4R                                                 | 5,8                                             | 7,7      | 7,15                | 17,7                                      | 25,6     | 20,34 <sup>y</sup>   |
| 5R                                                 | 4,4                                             | 8,0      | 7,02                | 13,4                                      | 23,9     | 19,01 <sup>y</sup>   |
| 6R                                                 | 5,9                                             | 8,0      | 7,03                | 15,5                                      | 24,0     | 19,09 <sup>y</sup>   |
| 6RL                                                | 5,5                                             | 9,0      | 7,46                | 13,0                                      | 22,8     | 19,48 <sup>y</sup>   |
| 7R                                                 | 4,0                                             | 8,5      | 7,03                | 10,2                                      | 23,0     | 19,15 <sup>y</sup>   |
| linia substytucyjna<br>substitution line           |                                                 |          |                     |                                           |          |                      |
| 1B/1R                                              | 4,9                                             | 8,6      | 6,85                | 9,8                                       | 23,5     | 17,39 <sup>xyz</sup> |
| formy wyjściowe<br>initial forms                   |                                                 |          |                     |                                           |          |                      |
| Grana (2n = 6x = 42)                               | 6,9                                             | 8,5      | 6,95                | 20,3                                      | 26,7     | 22,82                |
| Dańkowskie Złote<br>(2n = 2x = 14)                 | 4,6                                             | 8,2      | 7,58                | 18,6                                      | 34,0     | 27,15                |
| Grana × Dańkowskie Złote<br>(2n = 8x = 56)         | 4,8                                             | 9,7      | 6,90                | 18,8                                      | 38,0     | 23,10                |

<sup>x</sup> — Istotne różnice w porównaniu z pszenicą przy p = 0,05; Differences with wheat significant at α = 0,05

<sup>y</sup> — Istotne różnice w porównaniu z żytem przy p = 0,05; Differences with rye significant at α = 0,05

<sup>z</sup> — Istotne różnice w porównaniu z oktoploidalnym pszenżytem przy p = 0,05;

Differences with 8x triticales significant at α = 0,05

W diploidalnym życie geny karłowatości *ct1* i *ct2* zostały zlokalizowane odpowiednio na chromosomach 5R i 7R (Sturm i Müller, 1982; Börner i in., 1992). Gen *ct2* zmapowano na długim ramieniu chromosomu 5R (Plaschke i in., 1993), a gen *ct1* w pobliżu centromeru na chromosomie 7R (Plaschke i in., 1995). Według Korzuna i wsp. (1996) na chromosomach 5R i 7R żyta znajdują się również dominujące geny karłowatości *Ddw1* i *Ddw2* wrażliwe na GA<sub>3</sub>. Wbrew oczekiwaniom, biorąc pod uwagę homeologię chromosomów pszenicy i żyta, nie znaleziono genów karłowatości na chromosomie 4R. Wprawdzie wskutek licznych translokacji chromosomy 5R i 7R zawierają fragmenty

homeologiczne z odcinkami chromosomów czwartej grupy homeologicznej pszenicy (Koller i Zeller, 1976; Naranjo i in., 1987; Naranjo i Fernández-Rueda, 1991; Liu i in., 1992; Devos i in., 1993), ale dotyczy to długich ramion chromosomów, podczas gdy geny *Rht1* i *Rht2* znajdują się odpowiednio na chromosomach *4BS* i *4DS*. Według Börnera i Korzuna (1996) na chromosomie *2R* żyta (*Secale cereale* L.) znajduje się recesywny gen *dw2* wrażliwy na  $GA_3$ .

U jęczmienia gen karłowatości *RhtH1* niewrażliwy na kwas giberelinowy zlokalizowano w okolicy centromeru na chromosomie *2HL* (Börner i Korzun, 1996).

Według Börnera i wsp. (1998) wyniki licznych eksperymentów wskazują, że przy lokalizacji genów karłowatości niewrażliwych na kwas giberelinowy wewnątrz płemienia *Triticeae* należy uwzględnić 4 grupy homeologiczne (4 grupa z pszenicy, 5 i 7 grupa z żyta oraz 2 grupa z jęczmienia). Lokalizacja genów karłowatości niewrażliwych na  $GA_3$  u pszenicy nie koresponduje z odpowiednimi homeologami u żyta i jęczmienia. Natomiast w grupie genów karłowatości wrażliwych na kwas giberelinowy dwa geny tj. *Rht12* z pszenicy i *Ddw1* z żyta należą do tej samej grupy homeologicznej i są zlokalizowane na chromosomach *5AL* i *5RL*.

#### WNIOSKI

1. Reakcja roślin poszczególnych linii z dodanymi chromosomami żyta i linii substytucyjnej *1B/1R* na egzogeny kwas giberelinowy wskazuje, że na chromosomie *2R* żyta Dańkowskie Żłote są zlokalizowane geny kontrolujące przemiany metaboliczne związane z wykorzystaniem giberelin.
2. Największe skrócenie zarówno siewki, jak i koleoptyla stwierdzono w linii substytucyjnej *1B/1R*. Linia ta różniła się od wszystkich linii addycyjnych i form wyjściowych.

#### LITERATURA

- Börner A. 1991. Genetical studies of gibberellic acid insensitivity in rye (*Secale cereale* L.). Plant Breeding 106: 53 — 57.
- Börner A., Korzun V. 1996. Genetic and comparative mapping of genes controlling plant height and development. Vortr. Pflanz. 35: 273 — 279.
- Börner A., Korzun V., Worland A. J. 1998. Comparative genetic mapping of loci affecting plant height and development in cereals. Euphytica 100: 245 — 248.
- Börner A., Melz G. 1988. Response of rye genotypes differing in plant height to exogenous gibberellic acid application. Arch. Züchtungsforsch. 18: 79 — 82.
- Börner A., Melz G., Lenton J. R. 1992. Genetical and physiological studies of gibberellic acid insensitivity in semidwarf rye. Hereditas 116: 199 — 201.
- Botwright T. L., Rebetzke G. J., Condon A. G., Richards R. A. 2001. Influence of variety, seed position and seed source on screening for coleoptile length in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Euphytica 119: 349 — 356.
- Devos K. M., Atkinson M. D., Chinoy C. N., Francis H. A., Harcourt R. L., Koeber R. M. D., Liu C. Y., Masojć P., Xie D. X., Gale M. D. 1993. Chromosomal rearrangements in the rye genome relative to that of wheat. Theor. Appl. Genet. 85: 673 — 680.
- Flintham J. E., Börner A., Worland A. J., Gale M. D. 1997. Optimizing wheat grain yield: effects of *Rht* (gibberellin-insensitive) dwarfing genes. J. Agric. Sci. 128: 11 — 25.

- Gale M. D., Law C. N. 1973. Semi-dwarf wheats induced by monosomy and associated changes in gibberellin levels. *Nature* 241: 211 — 212.
- Gale M. D., Gregory R. S. 1977. A rapid method for early generation selection of dwarf genotypes in wheat. *Euphytica* 26: 733 — 738.
- Gale M. D., Youssefian S. 1985. Dwarfing genes in wheat. In: *Progress in Plant Breeding*. Ed. G.E. Russel, Butterworths, London 1 — 35.
- Koller O. L., Zeller F. J. 1976. The homoeologous relationships of rye chromosomes 4R and 7R with wheat chromosomes. *Genet. Res.* 28: 177 — 188.
- Korzun V., Malyshev S., Kartel N., Westermann T., Weber W. E., Börner A. 1998. A genetic linkage map of rye (*Secale cereale* L.). *Theor. Appl. Genet.* 96: 203 — 208.
- Korzun V., Melz G., Börner A. 1996. RFLP mapping of the dwarfing (*Ddw1*) and hairy peduncle (*Hp*) genes on chromosome 5 of rye (*Secale cereale* L.). *Theor. Appl. Genet.* 92: 1073 — 1077.
- Kowalczyk K., Miazga D., Grzesik H. 1997. Identyfikacja genów karłowatości niewrażliwych na egzogeny kwas giberelinowy w polskich odmianach i rodach pszenicy ozimej oraz karłowatych mutantach pszenżyta ozimego. *Biul. IHAR* 203: 31 — 36.
- Kowalczyk K., Chrzastek M., Miazga M. 1999. Identyfikacja genów karłowatości w polskich odmianach pszenicy jarej. *Biul. IHAR* 211: 35 — 38.
- Kubicka H., Kubicki B. 1990. Two types of dwarfness in winter rye (*Secale cereale* L.). *Genet. Pol.* 31(2): 9 — 19.
- Liu C. J., Atkinson M. D., Chinoy C. N., Devos K. M., Gale M. D. 1992. Non-homoeologous translocations between group 4, 5 and 7 chromosomes within wheat and rye. *Theor. Appl. Genet.* 83: 305 — 312.
- Melz G., Schlegel R., Thiele V. 1992. Genetic linkage map of rye (*Secale cereale* L.). *Theor. Appl. Genet.* 85: 33 — 45.
- Naranjo T., Fernández-Rueda P. 1991. Homoeology of rye chromosome arms to wheat. *Theor. Appl. Genet.* 82: 577 — 586.
- Naranjo T., Roca A., Goicoechea P. G., Giraldez R. 1987. Arm homoeology of wheat and rye chromosomes. *Genome* 29: 873 — 882.
- Plaschke J., Börner A., Xie D. X., Koebner R. M. D., Schlegel R., Gale M. D. 1993. RFLP mapping of genes affecting plant height and growth habit in rye. *Theor. Appl. Genet.* 85: 1049 — 1054.
- Plaschke J., Korzun V., Koebner R. M. D., Börner A. 1995. Mapping the GA<sub>3</sub> insensitive dwarfing gene *ct1* on chromosome 7 in rye. *Plant Breeding*, 114: 113 — 116.
- Sourdille P., Charmet G., Trottet M., Tixier M. H., Boeuf C., Negre S., Barloy D., Bernard M. 1998. Linkage between RFLP molecular markers and the dwarfing genes *Rht-B1* and *Rht-D1* in wheat. *Hereditas* 128: 41 — 46.
- Sturm W., Miller H. 1982. Localization of the recessive gene of the Moscow dwarf mutant short straw character in *Secale cereale* L. *Citol. Genet.* 16: 13 — 17.
- Worland A. J., Law C. N. 1985. Dwarfing genes for gibberellic acid insensitivity in European wheats. *Plant Breed. Inst. Ann. Rap.* 61 — 62.
- Worland A. J., Petrović S. 1988. The gibberellic acid insensitive dwarfing gene from the wheat variety Saitama 27. *Euphytica* 38: 55 — 63.