

CHARAKTERYSTYKA NIEKTÓRYCH GATUNKÓW I ODMIAN TRAW WIELOLETNICH PRZY ZASTOSOWANIU ELEKTROFOREZY IZOENZYMÓW *GOT-3* I *PGI-2*

Jadwiga Stuczyńska¹, Marek Stuczyński², Elżbieta Stuczyńska³

¹ Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie, Oddział w Poznaniu

² Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

³ Katedra Łąkarstwa, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu

Wstęp

Elektroforetyczna analiza niektórych systemów enzymatycznych jest szybką i skuteczną metodą oceny zmienności genetycznej w populacjach różnych gatunków roślin. Zastosowano ją z powodzeniem dla scharakteryzowania wyrównania, odrębności i trwałości odmian i naturalnych populacji *Lolium* sp. oraz polskich odmian *Dactylis glomerata* L. [CHARMET i in. 1993; LOOS 1994; STUCZYŃSKA i in. 1994, 1999a, 1999b, 1999c]. Inne gatunki uprawne traw nie były pod tym kątem równie szczegółowo analizowane, z wyjątkiem *Festuca rubra* L. s. s. i niektórych mieszańców kompleksu *Festuca/Lolium* [LIVESEY, NORRINGTON-DAVIES 1991; MORGAN i in. 1995].

Celem niniejszej pracy było uzyskanie wstępnej charakterystyki polskich odmian traw wieloletnich z rodzajów: *Poa*, *Phleum* oraz *Festuca* na podstawie zmienności występującej w elektroforetycznych loci: transaminazie szczawio-octanowej (*Got-3*) oraz izomerazie glukofosforanowej (*Pgi-2*).

Material i metoda

Przedmiotem badań były polskie odmiany tymotki łąkowej (*Phleum pratense* L.), wiechliny łąkowej (*Poa pratensis* L.), kostrzewy łąkowej (*Festuca pratensis* HUDS.) i kostrzewy czerwonej (*Festuca rubra* L. s. s.), znajdujące się w Rejestrze odmian COBORU w 1995 roku. Losowo pobrane nasiona kiełkowano w płytkach Petriego na warstwach ligniny i bibuły filtracyjnej, nasączonych wodą destylowaną, a następnie z każdej odmiany wysadzano po 128 siewek w szklarni do skrzynek napełnionych glebą. Po około 8–12 tygodniach wegetacji analizowano próby młodych liści pobierane z 16 roślin w obrębie każdej odmiany.

Rozdziały izoenzymów *Got-3* i *Pgi-2* przeprowadzono metodą elektroforezy w żelu skrobiowym, wykorzystując zmodyfikowany przez KAMIENIECKĄ [1996] system buforowania litowo-boranowy/tris-cytrynianowy według LOOSA i DEGENAARSA [1993] oraz ØSTERGAARDA i in. [1985]. Przy interpretacji genetycznej wzorowano się na modelu dla życicy wielokwiatowej i życicy trwałej [KAMIENIECKA 1996].

Wyniki

Elektroforegramy tymotki łąkowej, wiechliny łąkowej i kostrzewy łąkowej umożliwiały odczytanie genotypów *Got-3* i *Pgi-2* oraz określenie częstotliwości poszczególnych alleli (tab. 1–3). Natomiast u kostrzewy czerwonej zidentyfikowano jedynie fenotypy *Got-3* (tab. 4), ponieważ określenie składu genetycznego obydwu loci było niemożliwe ze względu na duży polimorfizm, wynikający z heksaploidalnej liczby chromosomów.

Tabela 1; Table 1

Częstość alleli *Got-3* i *Pgi-2* odmian tymotki łąkowej
Frequency of *Got-3* and *Pgi-2* alleles in cultivars of timothy grass

Odmiana Cultivar	<i>Got-3</i>			<i>Pgi-2</i>				
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a'</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
Skrzeszowicka	0,42	0,50	0,08	0,19	0,47	0,33	0,01	–
Szelejewska	0,25	0,75	–	0,16	0,67	0,11	0,06	–
Bartovia	0,66	0,34	–	0,28	0,53	0,08	0,02	0,09
Skala	0,13	0,87	–	0,48	0,46	0,06	–	–
Obra	0,41	0,59	–	0,17	0,69	0,03	0,11	–
Kaba	0,44	0,39	0,17	0,22	0,48	0,22	0,08	–

– brak allelu; no allele

Tabela 2; Table 2

Częstość alleli *Got-3* i *Pgi-2* u odmian wiechliny łąkowej
Frequency of *Got-3* and *Pgi-2* alleles in cultivars of Kentucky bluegrass

Odmiana Cultivar	<i>Got-3</i>				<i>Pgi-2</i>			
	<i>a'</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a'</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
Puławska	–	0,88	0,12	–	0,35	0,38	0,02	0,27
Skrzeszowicka	0,08	0,81	0,06	0,05	0,25	0,55	–	0,20
Alicja	–	0,75	0,25	–	0,31	0,42	0,02	0,25
Beata	–	0,80	0,20	–	0,43	0,32	–	0,25
Bona	–	0,75	0,25	–	0,33	0,38	0,02	0,28
Duna	–	0,73	0,27	–	0,25	0,50	0,25	–
Gol	–	0,75	0,25	–	0,25	0,50	0,25	–

– brak allelu; no allele

Tabela 3; Table 3

Częstość alleli *Got-3* i *Pgi-2* u odmian kostrzewy łąkowej
Frequency of *Got-3* and *Pgi-2* alleles in cultivars of meadow fescue

Odmiana Cultivar	<i>Got-3</i>		<i>Pgi-2</i>			
	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
Skrzeszowicka	0,97	0,03	–	0,69	0,22	0,09
Motycka	1,00	–	0,13	0,59	0,19	0,09
Skra	0,97	0,03	0,13	0,53	0,28	0,06
Skawa	0,87	0,13	0,09	0,38	0,34	0,19
Westa*	0,81	0,19	0,03	0,69	0,22	0,06

– brak allelu; no allele

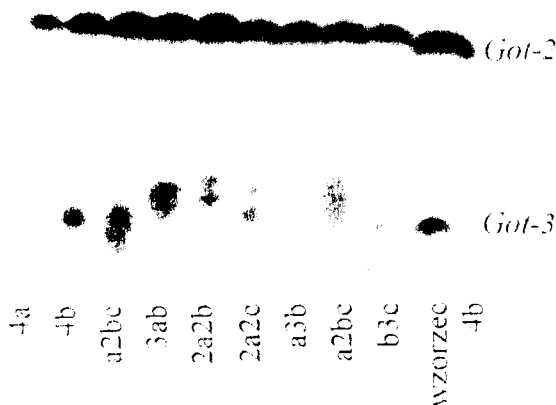
* tetraploid

Tabela 4; Table 4

Rozkład fenotypów *Got-3* u odmian kostrzewy czerwonej
Distribution of *Got-3* phenotypes in cultivars of chewing fescue

Odmiana Cultivar	Fenotypy <i>Got-3</i>					
	<i>a</i>	<i>ab</i>	<i>ac</i>	<i>abc</i>	<i>b</i>	<i>bc</i>
Brudzyńska	-	7	1	2	3	2
Nakielska	3	11	-	-	-	2
Leo	-	9	-	-	1	-
Reda	-	7	-	-	-	3
Nimba	-	2	6	1	-	1
Areta	-	5	1	1	-	3
Jagna	-	2	5	2	-	1
Atra	-	8	-	1	-	1

- brak allelu; no allele

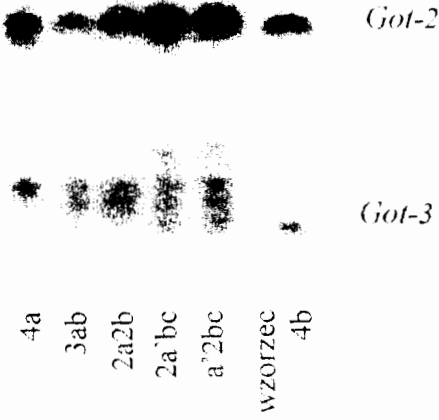


wzorzec; standard

Rys. 1. Genotypy locus *Got-3* u tymotki łąkowej
Fig. 1. Genotypes of *Got-3* locus in timothy grass

Na podstawie analiz izoenzymów stwierdzono obecność alleli a' , a , b , c w locus *Got-3* oraz a' , a , b , c , d w locus *Pgi-2*. Wspólną cechą badanych odmian była heterozygotyczność w obydwu loci, za wyjątkiem homozygotycznego locus *Got-3* u diploidalnych odmian kostrzewy łąkowej. Genotypy i fenotypy znalezione w obrębie badanych gatunków ilustrują elektroforegramy dla *Got-3* (rys. 1-4) i *Pgi-2* (rys. 5-10).

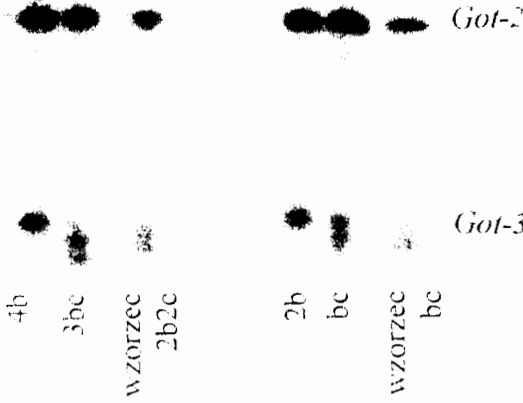
Zaobserwowano istnienie różnic międzygatunkowych pod względem obecności badanych alleli. W przypadku *Got-3* stwierdzono, że allel a' wystąpił jedynie u wiechliny łąkowej odmiany Skrzyszowicka. Częstość allelu a była bardzo wysoka u odmian wiechliny łąkowej, natomiast allelu b u odmian kostrzewy łąkowej. Wysoką częstością allelu a lub b odznaczały się odmiany tymotki łąkowej: Bartovia i Szelejewska. Z kolei allel c był nieobecny u większości odmian tymotki łąkowej i



wzorzec; standard

Rys. 2. Genotypy locus *Got-3* u wiechliny łąkowej

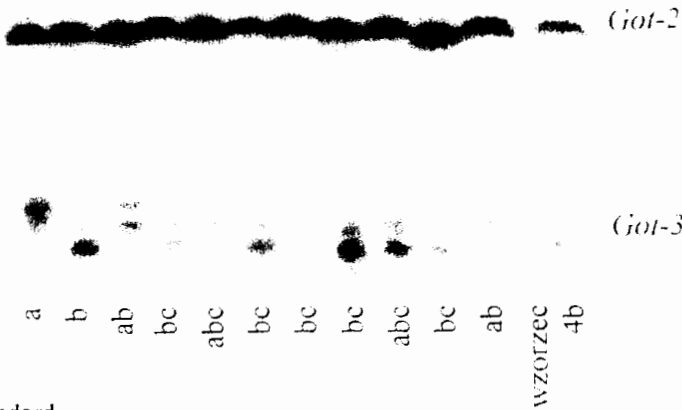
Fig. 2. Genotypes of *Got-3* locus in Kentucky bluegrass



wzorzec; standard

Rys. 3. Genotypy locus *Got-3* u kostrzewy łąkowej

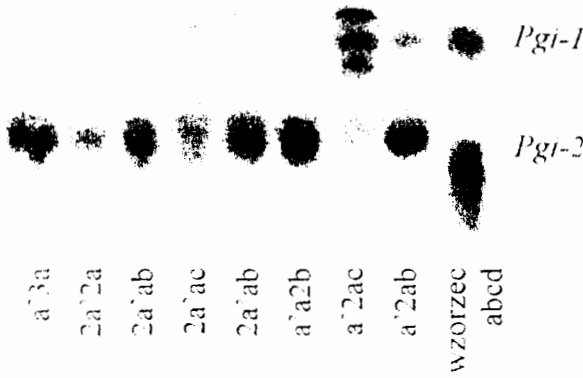
Fig. 3. Genotypes of *Got-3* locus in meadow fescue



wzorzec; standard

Rys. 4. Fenotypy locus *Got-3* u kostrzewy czerwonej

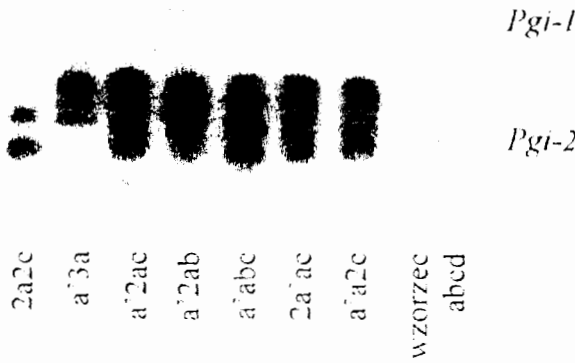
Fig. 4. Phenotypes of *Got-3* locus in chewings fescue



wzorzec; standard

Rys. 5. Genotypy locus *Pgi-2* u tymotki łąkowej

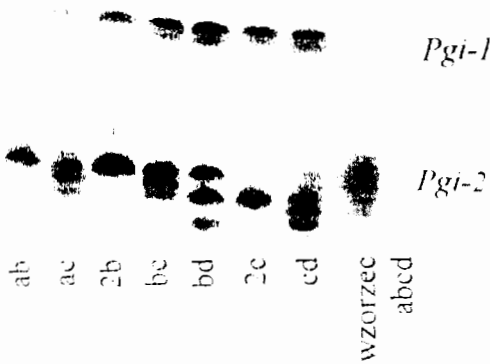
Fig. 5. Genotypes of *Pgi-2* locus in timothy grass



wzorzec; standard

Rys. 6. Genotypy locus *Pgi-2* u wiechliny łąkowej

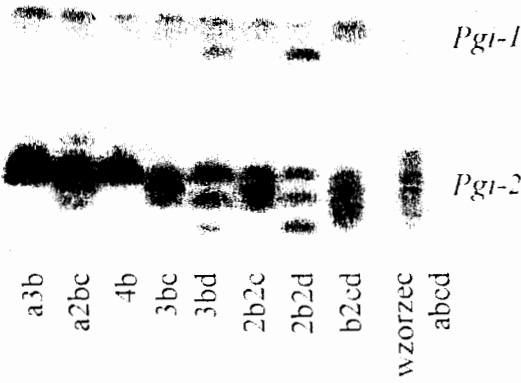
Fig. 6. Genotypes of *Pgi-2* locus in Kentucky bluegrass



wzorzec; standard

Rys. 7. Genotypy locus *Pgi-2* u diploidalnej kostrzewy łąkowej

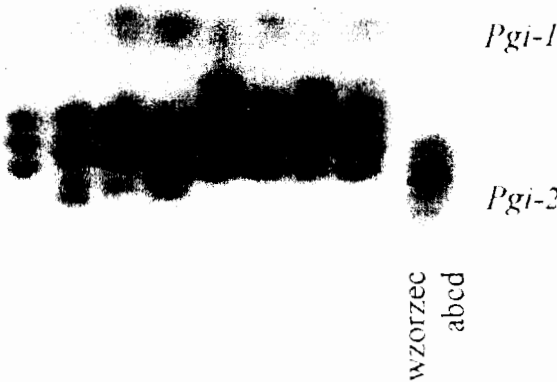
Fig. 7. Genotypes of *Pgi-2* locus in diploid meadow fescue



wzorzec; standard

Rys. 8. Genotypy locus *Pgi-2* u tetraploidnej kostrzewy łąkowej Westa

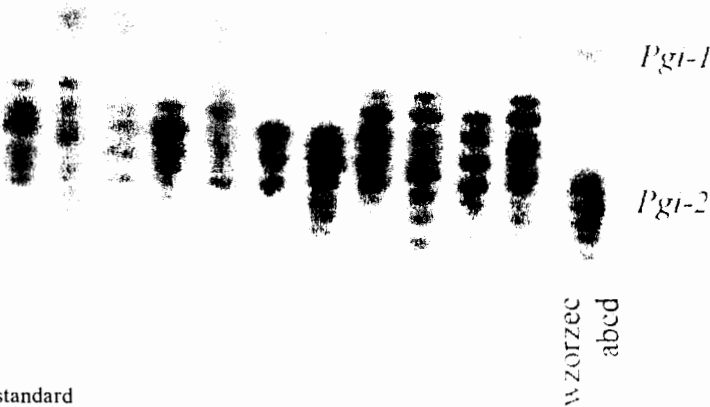
Fig. 8. Genotypes of *Pgi-2* locus in tetraploid meadow fescue cv. Westa



wzorzec; standard

Rys. 9. Obraz elektroforetyczny locus *Pgi-2* u kostrzewy czerwonej: 3-5 izoform

Fig. 9. Banding patterns of *Pgi-2* locus in chewing fescue: 3-5 bands



wzorzec; standard

Rys. 10. Obraz elektroforetyczny locus *Pgi-2* u kostrzewy czerwonej: 6-11 izoform

Fig. 10. Banding patterns of *Pgi-2* locus in chewing fescue: 6-11 bands

wiechliny łąkowej. Allel *a'* locus *Pgi-2* stwierdzono u wszystkich odmian tymotki łąkowej i wiechliny łąkowej. Cechą wyróżniającą odmiany kostrzewy łąkowej była duża częstość allelu *b* w porównaniu do tymotki łąkowej i wiechliny łąkowej oraz obecność allelu *d*. Spośród odmian tymotki łąkowej allel *d* wystąpił tylko w odmianie Bartovia.

Wszystkie odmiany kostrzewy czerwonej charakteryzowały się obecnością fenotypu *ab* w *Got-3* oraz, z wyjątkiem odmiany Leo, fenotypu *bc*. Czynnikiem różnicującym odmiany była zmienność pozostałych fenotypów, np. obecność fenotypu *a* u odmiany Nakielska i brak fenotypu *bc* u odmiany Leo. Natomiast w przypadku *Pgi-2* stwierdzono bardzo dużą zmienność izoform w elektroforegramach, nie tylko pod względem liczebności (od 3 do 11), ale również pod względem ich położenia i intensywności.

Dyskusja

Punktem odniesienia przy identyfikowaniu alleli *Got-3* i *Pgi-2* nowo badanych gatunków traw jest najczęściej wzorcowy rozdział *Lolium* sp. zastosowany na przykład u *Dactylis glomerata*, *Festuca rubra* i mieszańców oddalonych *Festuca/Lolium* [LIVESEY, NORRINGTON-DAVIES 1991; MORGAN i in. 1995; STUCZYŃSKI i in. 1997]. Jednakże w dalszych pracach konieczne byłoby ustalenie standardowych warunków elektroforezy dla poszczególnych gatunków. Stwierdzono bowiem, że stosunkowo niewielka zmiana warunków analizy, jak np. pH buforu, może mieć istotny wpływ na liczbę i położenie prążków na żelu, a tym samym wpływać na porównywalność wyników.

W badanym materiale polimorfizm *Got-3* był wyraźnie mniejszy niż *Pgi-2*. Właściwość ta jest wspólna dla innych dotąd badanych gatunków traw należących do rodzajów *Lolium* sp. *Dactylis* sp. i *Festuca* sp.

Wielkość badanych populacji i wstępny charakter analiz nie pozwalają na wyciąganie daleko idących wniosków. Na podstawie wcześniejszych badań własnych można jednak przypuszczać, że polimorfizm *Got-3* i *Pgi-2* jest wystarczający dla oceny odrębności, trwałości i wyrównania odmian tymotki łąkowej, wiechliny łąkowej i kostrzewy łąkowej w systemie oceny stosowanym w Polsce i krajach Unii Europejskiej [STUCZYŃSKA i in. 1994; 1999a, 1999b, 1999c; STUCZYŃSKI i in. 1997].

Odmiany kostrzewy czerwonej mają zazwyczaj heksaploidalną lub oktoploidalną liczbę chromosomów, co utrudnia określenie fenotypów elektroforetycznych i praktycznie uniemożliwia rozpoznanie genotypów na podstawie intensywności zabarwienia izoform. W badanym materiale wyodrębniono 6 fenotypów *Got-3*, wśród których znaczący udział miał fenotyp odpowiadający heterozygotcie *ab*. Podobny wynik w odniesieniu do tego fenotypu u *Festuca rubra* uzyskali LIVESEY i NORRINGTON-DAVIES [1991]. Cytowani autorzy wyróżnili jednocześnie w tym samym materiale od 4 do 12 fenotypów *Pgi-2*. W badaniach własnych stwierdzono jedynie, że poszczególne rośliny charakteryzowały się obecnością od 3 do 11 izoform. Warunkiem precyzyjnego określenia poszczególnych fenotypów jest ustalenie położenia izoform odpowiadających możliwym homozygotom. Wymagać to jednak będzie przeprowadzenia dużej liczby analiz w genetycznie zróżnicowanych populacjach.

Wnioski

1. Polimorfizm loci *Got-3* i *Pgi-2* można wykorzystać do charakteryzowania odmian tymotki łąkowej, wiechliny łąkowej, kostrzewy łąkowej i kostrzewy czerwonej.
2. Dokładna charakterystyka odmian badanych gatunków obcopolnych wymagać będzie prowadzenia analiz w okresie 2–3 lat prób liczących po około 100 roślin w obrębie odmiany i uzyskanych w pierwszym roku zbioru plantacji nasiennych.

Literatura

- CHARMET G., BALFOURIER F., RAVEL C. 1993. *Isozyme polymorphism and geographic differentiation in a collection of French perennial ryegrass*. Gen. Res. Crop Evol. 40: 77–89.
- KAMIENIECKA E. 1996. *Elektroforeza izoenzymów (Got-3 i Pgi-2) u polskich odmian Lolium sp.* Biul. IHAR 197: 157–166.
- LIVESEY V., NORRINGTON-DAVIES J. 1991. *Isozyme polymorphism in Festuca rubra L.* Euphytica 55: 73–79.
- LOOS B.P. 1994. *Allozyme differentiation of European populations and cultivars of Lolium perenne L., and the relation to ecogeographical factors*. Euphytica 80: 49–57.
- LOOS B.P., DEGENAARS G.H. 1993. *pH-dependent electrophoretic variants for phosphoglucose isomerase in ryegrasses (Lolium spp.): a research note*. Plant Var. Seeds 6: 55–60.
- MORGAN W.G., THOMAS H., HUMPHREYS M.W. 1995. *Unreduced gametes in interspecific hybrids in the Festuca/Lolium complex*. Plant Breed. 114: 267–268.
- ØSTERGAARD H., NIELSEN G., JOHANSEN H. 1985. *Genetic variation in cultivars of diploid ryegrass, Lolium perenne and Lolium multiflorum at five enzyme systems*. Theor. Appl. Genet. 69: 409–421.
- STUCZYŃSKA J., KAMIENIECKA E., STUCZYŃSKI M. 1994. *Charakterystyka polskich odmian życic przy wykorzystaniu loci Got-3 i Pgi-2. Cz. I. Lolium multiflorum var. westerwoldicum*. Genet. Pol. 35A: 79–84.
- STUCZYŃSKA J., STUCZYŃSKI M., KAMIENIECKA E. 1999a. *Charakterystyka polskich odmian życic przy wykorzystaniu loci Got-3 i Pgi-2. Cz. II. Życica wielokwiatowa (Lolium multiflorum Lam.)*. Biul. IHAR 209: 167–179.
- STUCZYŃSKA J., STUCZYŃSKI M., KAMIENIECKA E. 1999b. *Charakterystyka polskich odmian życic przy wykorzystaniu loci Got-3 i Pgi-2. Cz. III. Życica trwała (Lolium perenne L.)*. Biul. IHAR 209: 181–196.
- STUCZYŃSKA J., STUCZYŃSKI M., KAMIENIECKA E. 1999c. *Charakterystyka polskich odmian życic przy wykorzystaniu loci Got-3 i Pgi-2. Cz. IV. Życica mieszańcowa (Lolium × boucheanum Kunth.)*. Biul. IHAR 209: 167–179.
- STUCZYŃSKI M., STUCZYŃSKA J., KAMIENIECKA E. 1997. *Isozymic characterization of Dactylis glomerata L. cultivars*. J. Genet. Breed. 51: 51–57.

Słowa kluczowe: trawy wieloletnie, odmiany, zmienność, izoenzymy

Streszczenie

Badano zmienność polskich odmian *Phleum pratense* L., *Poa pratensis* L., *Festuca pratensis* HUDS. i *Festuca rubra* L. s. s. w obrębie dwóch loci: *Got-3* i *Pgi-2*. Określono genotypy poszczególnych roślin w obrębie odmian z wyjątkiem *F. rubra*. W przypadku tego gatunku możliwe było jedynie określenie fenotypów w locus *Got-3*. Odrębność niektórych odmian wyrażała się obecnością lub brakiem niektórych alleli bądź różnicowaniem częstości wspólnych alleli.

CHARACTERIZATION OF SOME SPECIES AND CULTIVARS OF PERENNIAL GRASSES BY MEANS OF ISOZYME ELECTROPHORESIS AT *GOT-3* AND *PGI-2*

Jadwiga Stuczyńska¹, Marek Stuczyński², Elżbieta Stuczyńska³

¹ Plant Breeding and Acclimatization Institute, Poznań

² Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznań

³ Department of Grasslands, Agricultural University, Poznań

Key words: perennial grasses, cultivars, variability, isozymes

Summary

Polish cultivars of *Phleum pratense* L., *Poa pratensis* L., *Festuca pratensis* HUDS. and *Festuca rubra* L. s. s. were studied for variation at two isozyme loci: *Got-3* and *Pgi-2*. The genotypes of all plants within each cultivar, except of *F. rubra*, were determined. For this species only the phenotypes at the *Got-3* locus could be identified. Some cultivars could be distinguished by the presence or absence of certain alleles or by differences in their frequencies.

Doc. dr hab. Jadwiga **Stuczyńska**
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin
Oddział w Poznaniu
ul. Strzeszyńska 34
60-479 POZNAŃ