

Jan Sadowski, Carlos F. Quiros*, Danuta Babula, Małgorzata Kaczmarek
Piotr Ziółkowski

Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu

*University of California, Davis, USA, Department of Vegetable Crops

Mapowanie podstawowych genomów w rodzaju *Brassica*

Mapping of basic genomes in *Brassica* genus

Słowa kluczowe: *Brassica*, *Arabidopsis thaliana*, genetyka porównawcza, mapy genetyczne, RFLP, sondy cDNA

Keywords: *Brassica*, *Arabidopsis thaliana*, comparative genetics, genetic maps, RFLP, cDNA probes

Prowadzone przez nas badania dotyczą poznania struktury i organizacji genomów w rodzaju *Brassica*. Problem ten jest rozwiązywany w makroskali poprzez budowę mapy genetycznej typu RFLP i mapy fizycznej (FISH — wstępna faza badań) dla chromosomów *Brassica oleracea* (kapusta/kalafior; genom C, n = 9), oraz w mikroskali — budując szczegółowe mapy genetyczne (RFLP) i fizyczne (PFGE, sekwencjonowanie) dla określonych odcinków chromosomowych *B. oleracea*, *B. campestris* (genom A, n = 10) i *B. nigra* (genom B, n = 8). W celu konstruowania informatywnych map genetycznych i fizycznych, sondami molekularnymi były sekwencje genów z genomu rośliny modelowej *Arabidopsis thaliana* (n = 5). Stosowano klony cDNA i klony genomowe *A. thaliana* reprezentujące sekwencje zidentyfikowanych genów. Gatunki rodzaju *Brassica* i *Arabidopsis* są ze sobą spokrewnione (rodzina *Brassicaceae*); pokrewieństwo to wyraża się stosunkowo wysokim podobieństwem kodujących sekwencji nukleotydowych (> 85%). Wykorzystywano sondy genowe z całego genomu *A. thaliana*, z przewagą sond z chromosomu czwartego. Główne mapowanie genetyczne przeprowadzono przy pomocy zestawu linii F₂ pochodzących z kombinacji krzyżówkowej kapusta (*B. oleracea* var. *acephala*) × kalafior

Our studies concern the analysis of structure and organisation of the *Brassica* genomes. Two approaches were applied: at macro-scale by RFLP map and physical map (FISH, initial studies) construction for *B. oleracea* (collard/cauliflower; genome C, n = 9) chromosomes, and at micro-scale by segmental RFLP and physical (PFGE, sequencing) mapping of *B. oleracea*, *B. campestris* (genome A, n = 10) and *B. nigra* (genome B, n = 8) chromosomes. As DNA probes, known gene sequences from a model plant, *Arabidopsis thaliana* were used to construct possibly informative maps. Identified cDNA and genomic clones corresponding to characterized genes were applied. *Brassica* and *Arabidopsis* species are related and are classified to the same family (*Brassicaceae*). Their genes in coding regions show > 85% identity at the nucleotide level. Gene probes distributed all over the *A. thaliana* genome were selected, however those from chromosome 4 were more frequent. Basic genetic mapping was carried out with F₂ line set derived from the collard (*B. oleracea* var. *acephala*) × cauliflower (*B. oleracea* var. *botrytis*) cross. Linkages and gene order on chromosomes were analysed with help of MapMaker 3.0 software. Common chromosomal segments were identified in *B. oleracea*, *B. campestris*, *B. nigra*

(*B. oleracea* var. *botrytis*). Sprzężenia i porządek liniowy loci na chromosomach były analizowane przy pomocy programu komputerowego Map-Maker, wersja 3.0. Poszukiwanie homeologicznych segmentów chromosomowych dla *B. oleracea*, *B. campestris*, *B. nigra* i *A. thaliana* pozwoliło na ustalenie rejonów wspólnych organizacyjnie. Wynik molekularnego „sondowania” genomu *B. oleracea* potwierdza wcześniejsze doniesienia, że wiele segmentów chromosomowych u gatunków z rodzajów *Brassica* i *Arabidopsis* ma podobną organizację liniową, co będzie bardzo istotne dla bliskiego już wykorzystania mapy wszystkich genów (i sond z Banku Genów, Ohio, USA) rośliny modelowej *A. thaliana*.

and *A. thaliana* genomes. Molecular probing proved earlier report observations on similar linear organization of numerous chromosomal segments in *Brassica* and *Arabidopsis*. These findings confirm the possibility of benefiting from detailed *A. thaliana* gene map and gene probes from Genebank, Ohio, USA, to analyse more complex *Brassica* genomes.

Wstęp

Obecny stan i znaczenie lepszego poznania struktury i organizacji genomów A, B i C

W ostatnim okresie znacznie wzrosło znaczenie większości gatunków uprawnych rodzaju *Brassica*. Dotyczy to zarówno gatunków warzywnych (liczne podgatunki w obrębie gatunku *B. oleracea* L., genom C) jak i gatunków wykorzystywanych do produkcji oleju — szczególnie rzepaku (*Brassica napus* L., genomy AC). Spowodowało to wzrost zainteresowania badaniami podstawowymi, zmierzającymi m.in. do poznania struktury i organizacji chromosomów. Gatunki diploidalne rodzaju *Brassica* posiadają różną wielkość podstawowego zespołu chromosomów od $x=7$ do $x=12$. W obrębie rodzaju *Brassica* najbardziej znanymi diploidalnymi gatunkami uprawnymi są:

***B. campestris* (syn. *B. rapa*, $2n = 2x = 20$, genom A)**

— kapusta pekińska, rzepa i rzepik

***B. nigra* ($2n = 2x = 16$, genom B)** — gorczyca czarna

***B. oleracea* ($2n = 2x = 18$, genom C)**

— kapusta głowiasta, kapusta włoska, kalafior, kalarepa i inne.

Prace nad pochodzeniem i ewolucją tych gatunków mają stosunkowo długą tradycję. Już znacząca cytogenetyczna praca U (1935), wskazywała na genomowe pokrewieństwo tak diploidalnych, jak i pochodzących od nich, amfidiploidalnych gatunków uprawnych z rodzaju *Brassica*. Późniejsze prace ujawniły, że *B. campestris*, *B. oleracea* i *B. nigra* stanowią serię aneuploidów, które wyewoluowały ze wspólnego przodka o niższej, aczkolwiek do dziś niewyjaśnionej, podstawowej

liczbie chromosomów: $x = 6$ (Catcheside 1934), $x = 5$ (Sikka 1940) i $x = 3$ (Hussein i Abobakr 1976). Diploidalne gatunki z genomem A, B i C były formami wyjściowymi dla syntezy trzech amfidiploidów: *B. carinata* ($2n = 4x = 34$, genomy B i C), *B. juncea* ($2n = 4x = 36$, genomy A i B) i *B. napus* ($2n = 4x = 38$, genomy A i C). Te wczesne prace były w całości oparte na analizie cytogenetycznej, a w szczególności na badaniu koniugacji chromosomów. Dalszy, szybki postęp w poznawaniu genomów rodzaju *Brassica* nastąpił wraz z rozwojem technik biologii molekularnej i powstawaniem map genetycznych z wykorzystaniem markerów izoenzymatycznych, a następnie DNA (Quiros i in. 1994, praca przeglądowa). Analiza map opartych na markerach DNA potwierdziła podobieństwo w liniowej organizacji chromosomów u *Brassica oleracea* i *Brassica campestris* (Slocum 1989, McGrath i Quiros 1991); równocześnie po raz pierwszy pozwoliła na wykrycie między nimi różnic strukturalnych. Otrzymane mapy uwidoczniły ponadto obecność zduplikowanych rejonów chromosomowych w genomach *B. campestris* i *B. oleracea*. Wskazują one, że w ewolucji genomów *Brassica* miał miejsce proces znacznych rearanżacji, które zaszły po poliploidyzacji prostego genomu przodka. Taki kierunek ewolucji genomów rodzaju *Brassica* sugeruje istnienie częściowej tylko homeologii chromosomowej między genomami A, B i C, a także częściowej homeologii segmentów chromosomowych wewnątrz genomów. Pełniejsze poznanie budowy genomów A, B i C, pozwoli na określenie różnic strukturalnych między nimi, jak i na identyfikację rejonów podobnych, których budowa być może zapewnia genomowi realizację określonych funkcji na poziomie struktury, jak i metabolizmu komórkowego. Znajomość stopnia podobieństwa genowej organizacji poszczególnych chromosomów w rodzaju *Brassica* umożliwi zrozumienie ogólnej organizacji genomów w tym rodzaju i jednocześnie ułatwi zastosowanie ukierunkowanych manipulacji genetycznych w pracach hodowlanych.

Mapy genetyczne dla gatunków w rodzaju *Brassica*

Zastosowanie technik biologii molekularnej pozwala na konstrukcję map genetycznych o różnym przeznaczeniu. Obecnie, ze względu na efektywność w budowaniu dużych map, stosuje się mapowanie z wykorzystaniem markerów RAPD (Randomly Amplified Polimorphic DNA), a ostatnio AFLP (Amplified Fragments Length Polimorphism). Markery tego typu są nieodzowne w nowoczesnych programach hodowlanych, a także w projektach genomowych koncentrujących się na fizycznym mapowaniu i izolacji wybranych genów. Są one natomiast nieinformatywne jeśli chodzi o funkcje biologiczne identyfikowanych sekwencji nukleotydowych. Ponadto wysoka specyficzność starterów używanych do amplifikowanych sekwencji sprawia, że nie umożliwiają one przeprowadzenia efektywnej analizy porównawczej między różnymi taksonami — nie zapewniają bowiem identyfikacji pokrewnych, nieallelicznych homologów tego samego genu,

zlokalizowanych w różnych genomach, jak i w różnych rejonach tego samego genomu. Dlatego w badaniach mających na celu identyfikację podobnych sekwencji nukleotydowych w różnych genomach, względnie na różnych chromosomach tego samego genomu, nadal bardzo przydatną techniką jest hybrydyzacja według Southerna, generująca markery typu RFLP (Restriction Fragments Length Polimorphism). Sekwencje nukleotydowe sond stosowanych w tej metodzie mogą mieć charakter anonimowy lub reprezentować znane sekwencje kodujące (inserty klonów cDNA lub klonów genomowych) względnie niekodujące (inserty klonów genomowych). Mapy typu RFLP były pierwszymi mapami molekularnymi, budowanymi dla genomu *B. nigra* (Truco i Quiros 1994, Lagercrantz i Lydiate 1995), genomu *B. oleracea* (Slocum i in. 1990, Kianian i Quiros 1992, Landry i in. 1992) i genomu *B. campestris* (McGrath i Quiros 1991, Chyi i in. 1992). Obecnie największymi z opublikowanych map typu RFLP dla diploidalnych gatunków w rodzaju *Brassica* są mapy dla genomu *B. oleracea* (Slocum i in. 1990, Hu i in. 1998).

Genom *A. thaliana* jako model dla poznania genomów A, B i C w rodzaju *Brassica*

Przeprowadzone w latach 90-tych liczne badania porównawcze nad genomami pokrewnych gatunków roślin wskazywały na istnienie znacznej zachowawczości pod względem organizacji genowej na chromosomach. Obserwowano większą zachowawczość tej organizacji, jeśli porównywane gatunki charakteryzowały się tą samą liczbą chromosomów aniżeli w przypadku, gdy porównanie obejmowało gatunki różniące się tą liczbą (Kowalski i in. 1994, Moore i in. 1995). Modelowy gatunek *A. thaliana* (rzodkiewnik) i gatunki *B. campestris*, *B. nigra* oraz *B. oleracea* posiadają różną liczbę podstawową chromosomów; należą one do różnych plemion, lecz tej samej rodziny *Brassicaceae* K. (rys. 1).

Rodzina	<i>Brassicaceae</i>
Plemię — <i>Sisymbrieae</i>	<i>Brassicaceae</i>
Rodzaj — <i>Arabidopsis</i>	<i>Brassica</i>
Gatunek — <i>Arabidopsis thaliana</i> (n = 5)	<i>Brassica campestris</i> (n = 10) <i>Brassica nigra</i> (n = 8) <i>Brassica oleracea</i> (n = 9)

Rys. 1. Przynależność taksonomiczna roślin kapustnych z podstawowymi genomami i *A. thaliana*

Pierwsze porównawcze mapowanie genomów *A. thaliana* i genomów A, B i C w rodzaju *Brassica*, zostało przeprowadzone przy użyciu sond cDNA korespondujących do czterech genów tworzących sprzężony kompleks na chromosomie 3 *A. thaliana* (Sadowski i in. 1994a, Sadowski i in. 1994b). Praca ta, opierająca się na genetycznym i fizycznym (PFGE) mapowaniu tych genów w genomach *B. nigra*, *B. oleracea* i *B. campestris*, po raz pierwszy doniosła o istnieniu konserwatywnej organizacji grupy genów w genomie *A. thaliana* i genomach *Brassica* (mapowanie w mikro-skali). Rozwinięcie tych badań doprowadziło do określenia organizacji blisko sprzężonych zespołów genowych oraz poznania ich lokalizacji chromosomowej (Sadowski i in. 1996, Sadowski i Quiros 1998). Częściowa zachowawczość liniowej organizacji genów w genomach *A. thaliana* i *B. oleracea* (Kowalski i in. 1994, Babula i in. 2000) oraz *A. thaliana* i *B. napus* (Lagercrantz i in. 1996) została potwierdzona w makro-skali, tj. przez porównanie kompletnych map genomowych posiadających większą liczbę sond DNA. Genom *A. thaliana* jest z pewnością najbardziej intensywnie analizowanym genomem roślinnym (Delseny i in. 2000). Fizyczna mapa jest już opracowana dla wszystkich pięciu chromosomów tego gatunku (patrz internet: www.arabidopsis.org). Zasadniczym efektem badań nad tą modelową rośliną jest możliwość wykorzystania sekwencji różnych genów w formie cDNA. Obecnie jest ich dostępnych ponad 10000 (Delseny i in. 1997), co stanowi ponad 50% wszystkich genów przewidywanych w genomie *A. thaliana*. Homologia sekwencji tych cDNA z dostępnymi sekwencjami rodzaju *Brassica* jest wysoka, wynosi bowiem średnio 86%. Liczba potencjalnych markerów dla badań molekularnych i genetycznych nad genomami rodzaju *Brassica* jest więc bardzo wysoka. Jednym z istotnych kierunków w takich badaniach będzie intensywne mapowanie porównawcze między *Arabidopsis* i *Brassica* w celu poznania większych i bardziej złożonych genomów gatunków w rodzaju *Brassica*. Porównawcze mapowanie pomiędzy mniej i bardziej spokrewnionymi gatunkami w obrębie rodziny *Brassicaceae* pozwoli na określenie różnic w liniowej organizacji genów w odpowiednich genomach. Uzyskane informacje umożliwią określenie stopnia podobieństwa różnych genomów oraz poznanie mechanizmów ewolucyjnych kierujących ich wyodrębnieniem się. Ten kierunek badań przyczyni się do określenia potencjalnych możliwości wykorzystania w pracach nad genomami rodzaju *Brassica* szybko rozwijającej się genetycznej i fizycznej mapy prostego genomu rośliny modelowej *A. thaliana*

Wyniki i dyskusja

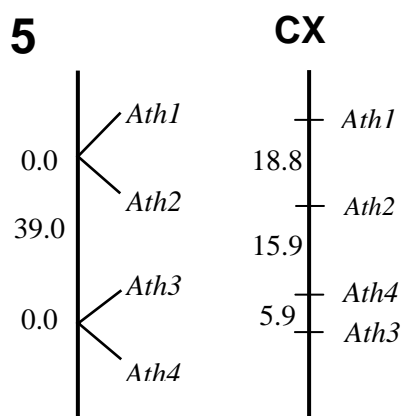
Określenie struktury i organizacji genomów A, B i C na podstawie map typu RFLP sporządzonych z udziałem tych samych sond DNA. Stopień podobieństwa organizacji genów na chromosomach gatunków z rodzaju *Brassica* i *A. thaliana*

Jedną z metod analizy genomów spokrewnionych gatunków czy rodzajów roślin może być porównanie liniowego porządku genów na chromosomach. Porządek ten mógł ulegać różnym modyfikacjom w procesie ewolucji porównywanych gatunków. Stosując ten sam zestaw sond molekularnych do budowy map dla kilku gatunków można sporządzić homeologiczne grupy sprzężeń a następnie porównać liniowy porządek oznaczonych loci. Zabieg ten pozwala na określenie stopnia homeologii chromosomów u różnych gatunków. Genomy A, B i C zachowały rejony o dużej zachowawczości (Truco i in. 1996). Po raz pierwszy wykazano, że odcinki chromosomowe o długości > 40 cM mają podobną organizację co najmniej pięciu tych samych loci w genomach A, B i C (np. chromosomy A5, B6 i C5 czy A1, B1 i C1). Stosunkowo często pojedyncza grupa sprzężeń jednego gatunku charakteryzowała się segmentalną homologią z więcej niż jedną z grup sprzężeń innego gatunku (np. A1 z B1 i B2 czy C6 z A3 i A8). Niektóre grupy sprzężeń posiadały kilka rejonów, dla których można było znaleźć homologi w kilku grupach sprzężeń innego gatunku.

Niezależnie od znacznej zachowawczości w organizacji wielu segmentów chromosomowych, które można by nazwać homeologicznymi, obserwowano również liczne modyfikacje i reorganizacje w liniowej strukturze grup sprzężeń. I tak np. w genomie *B. oleracea* stwierdzono, że siedem z dziewięciu chromosomów posiada segmenty homologiczne do segmentu innego chromosomu. Łącznie, wewnątrz-genomowa homologia obejmuje około 40% genomu *B. oleracea*.

Niniejsze badania potwierdzają wyniki wcześniejszych prac, które sugerowały, by trzy diploidalne gatunki *Brassica* uważać za odległe poliploidy (Prakash i Hinata 1980) pochodzące od wspólnego przodka o pięciu, względnie sześciu chromosomach (Sikka 1940). Poliploidalny genom stał się punktem wyjściowym dla współczesnych genomów rodzaju *Brassica* (Catcheside 1934, Röbbelen 1960). Udział powtarzających się segmentów chromosomowych w genomie, uwidocznił obecnością sprzężonych serii tych samych loci RFLP, z pewnością jest w zgodzie z tą hipotezą.

Mapowanie porównawcze chromosomów *B. oleracea* i *A. thaliana* przy zastosowaniu 4 sond genowych położonych na odcinku 39.0 cM w chromosomie 5 *A. thaliana* wskazuje na istnienie podobnego odcinka w genomie C (rys. 2). Jednakże z analizy porównawczej innych segmentów chromosomowych wspólnych organizacyjnie, wydaje się, że przeważają odcinki wspólne o długości od 2 do 10 cM w genomach *B. oleracea* i *A. thaliana*.



Rys. 2. Przykład segmentalnej homeologii chromosomów *A. thaliana* (5) i *B. oleracea* (CX)

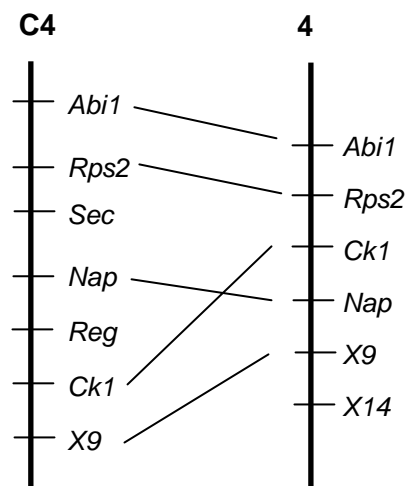
Określenie struktury i organizacji segmentów chromosomowych w genomach A, B i C na podstawie 5–6 genowych kompleksów *A. thaliana*

Wyżej przedstawione wyniki badań nad makro-organizacją genomów A, B i C ujawniły wysoki stopień rearanżacji liniowego porządku genów u gatunków tego samego rodzaju. Trzeba przy tym zaznaczyć, że dokładność analizy porównawczej genomów przeprowadzona w oparciu o rekombinacyjne mapy genetyczne (analiza rozszczepień w F_2) jest bezpośrednio związana z wielkością mapy, a więc z liczbą naniesionych na nią loci markerowych. Generalnie mapy genetyczne, ze względu na niewystarczające nasycenie markerowymi loci, nie mogły, jak dotychczas, dostarczyć dokładniejszych informacji o strukturze i organizacji krótkich odcinków chromosomowych. Uwaga ta dotyczy również dostępnych obecnie, dokładniejszych map genetycznych *A. thaliana* i ryżu, które charakteryzują się nasyceniem mapy na poziomie 1 marker/2–3 cM. Nawet w przypadku małego genomu *A. thaliana* (około 120–140 mega par zasad, Mpz), w którym 1 cM = 180 kilo par zasad (Kpz), oznacza to, że średnia odległość fizyczna między markerami wynosi ponad 400 Kpz. Jak wynika z danych otrzymanych w ramach programu sekwencjonowania tego modelowego organizmu, przeciętnie na 5 Kpz przypada 1 gen. W związku z tym należy przyjąć, że średnio między sąsiadującymi na tej mapie dwoma markerami mieści się około 80 genów. W przypadku większych genomów gatunków rodzaju *Brassica* (450–660 Mpz; Arumuganathan i Earle 1991), mapy genetyczne mają przeciętne nasycenie 1 marker/8–10 cM/5 Mpz.

Nieznana jest liczba genów w tych genomach, ale sądząc z częstości występowania zduplikowanych odcinków chromosomowych, jest ona przynajmniej dwa razy wyższa niż u *A. thaliana*. Dane te wskazywałyby, że w odcinku chromosomu między sąsiadującymi dwoma markerami na mapie może się mieścić około 300 genów.

Z wyżej przedstawionej analizy można wnosić, że opublikowane mapy genetyczne dają jedynie ogólny obraz organizacji genomów i nie pozwalają na śledzenie możliwych zmian w organizacji porządku genów w krótkich odcinkach chromosomu. W celu otrzymania odpowiedzi na to pytanie, zdecydowano się na wykorzystanie, jedynie wówczas dostępnych, dwóch dobrze scharakteryzowanych odcinków chromosomowych *A. thaliana*. Jednym z nich był odcinek chromosomu 3 *A. thaliana* o dł. 15 Kpz, z całkowicie określoną sekwencją nukleotydową (Gaubier i in. 1995). Odcinek ten zawierał 5 genów. Drugi kompleks genowy pochodził z chromosomu 4 *A. thaliana* i posiadał 6 genów w odcinku 35 Kpz (Mindrinos i in. 1994). Sondami do analizy homologicznych kompleksów genowych w genomach *Brassica* metodą hybrydyzacji według Southerna były sekwencje cDNA korespondujące do wszystkich 11 genów *A. thaliana*.

W analizowanych genomach rodzaju *Brassica* stwierdzono po raz pierwszy obecność całkowicie lub częściowo homologicznych segmentów chromosomowych do 5-genowego kompleksu w rejonie genu *Em* (early methionine) i 6-genowego kompleksu w rejonie genu *Rps2* (kodującego odporność na chorobę bakteryjną) *A. thaliana* (rys. 3).



Rys. 3. Przykład zachowawczej organizacji silnie sprzężonej (0.0 cM u *A. thaliana*) grupy genów u *A. thaliana* (4) i *B. oleracea* (C4)

Mapowanie fizyczne genów obu kompleksów przy pomocy elektroforezy pulsacyjnej (PFGE) pozwoliło na oszacowanie długości odcinków chromosomowych z kompleksami tych genów w badanych genomach A, B i C. Jak wykazano, identyczne kompleksy genowe w genomach *Brassica* zajmują kilkakrotnie dłuższe odcinki chromosomowe niż analogiczne kompleksy u *A. thaliana* (nie jest to jednak regułą). W przypadku obu kompleksów genowych, które w prostym genomie *A. thaliana* występują w jednej kopii, w genomach A, B i C zidentyfikowano na różnych chromosomach dodatkowe ich homologii, jednakże o znacznie zmodyfikowanej strukturze. Posiadały one jedynie od 2 do 4 genów z analizowanych 5- lub 6-genowych kompleksów. W przypadku dwóch genów (*Em* i *Rps2*) wykazano, że ich brak w zmodyfikowanych kompleksach jest związany z delecją krótkich odcinków chromosomów. W przypadku innych genów (*Abil* – ABA insensitive i *Nap* – nucleosome assemble protein) obserwowano natomiast tandemową duplikację. Wyniki te wskazują na znaczny udział delecji i duplikacji w procesie ewolucji genomów w rodzaju *Brassica*. Niezależnie od stwierdzonej restrukturyzacji segmentów chromosomowych, badania wskazują na możliwość przewidywania obecności wielu kompleksów genowych w złożonych genomach roślin uprawnych na podstawie dobrze scharakteryzowanych serii genów małego i prostego genomu *A. thaliana*.

Wnioski

Otrzymane wyniki badań upoważniają do wyciągnięcia następujących wniosków:

1. Stwierdzony wysoki stopień zduplikowania sekwencji nukleotydowych w chromosomach dla ponad 50% sond potwierdza wcześniej stawianą hipotezę, że gatunki rodzaju *Brassica* są odległymi poliploidami.
2. Genomy rodzaju *Brassica* zachowały w wielu segmentach chromosomowych podobny porządek genów, co daje możliwość mapowania genów lub ich mutacji u jednego gatunku, wykorzystując do tego opracowaną już mapę dla odpowiedniego segmentu chromosomowego innego gatunku rodzaju *Brassica*.
3. Natomiast częściowe tylko zachowanie podobnego porządku genów we wszystkich grupach sprzężeń analizowanych gatunków uniemożliwia na obecnym etapie badań ustalenie homeologii chromosomowej. Niewykluczone, że homeologia chromosomowa w sensie dosłownym nie istnieje już między genomami A, B i C. Obserwowana restrukturyzacja tych genomów i niewystarczające, być może, nasycenie map markerowymi loci, uniemożliwia ustalenie osiągniętego stopnia ploidalności przodka po poliploidyzacji.

4. Obecność na danym chromosomie odcinków o długości > 40 cM wykazujących podobny porządek genów u trzech gatunków rodzaju *Brassica* i jednocześnie odcinków o odmiennej organizacji, dowodzi udziału dużych strukturalnych mutacji typu delecji i duplikacji w ewolucji tych gatunków. Tego typu restrukturyzacja (delecje i duplikacje) została stwierdzona także w mikro-rejonach chromosomowych sąsiadujących z genami *Em* i *Rps2*.
5. Podobieństwo w strukturze segmentów chromosomowych skupiających co najmniej 5–6 genów w genomach rodzaju *Brassica* i *A. thaliana* wskazuje na możliwość wykorzystania mapy genetycznej i fizycznej *A. thaliana* do identyfikacji i izolacji genów u pokrewnych gatunków.
6. Różnica w wielkości genomów rodzaju *Brassica* i *A. thaliana* jest spowodowana w dużym stopniu licznymi duplikacjami w genomach rodzaju *Brassica*, pochodzącymi jeszcze z odległej poliploidyzacji. Ponadto, jak wskazuje na to fizyczna analiza (PFGE), różnica ta może być częściowo spowodowana istnieniem dłuższych niekodujących odcinków międzygenowych w genomach rodzaju *Brassica*.

Literatura

- Arumuganathan K., Earle E.D. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 208-219.
- Babula D., Kaczmarek M., Ziółkowski P., Sadowski J. 1999. Application of Chromosomal Map and Gene Probes of *Arabidopsis* in Studies on *Brassica* Genomes. Proceedings of NATO Advanced Research Workshop pt. Use of Agriculturally Important Genes in Agricultural Biotechnology, 17-21 October, Szeged, Węgry, 1-6.
- Catcheside D.G. 1934. The chromosomal relationship in the swede and turnip groups of *Brassica*. *Ann. Bot. Lond.* 601: 33-56.
- Chyi Y.S., Hoenecke M.E., Sernyk J.K. 1992. A genetic linkage map of restriction fragment length polymorphism loci for *Brassica rapa* (syn. *campestris*). *Genome* 35: 746-757.
- Delseny M., Barakat A., Sadowski J., Grellet F., Cooke R. 2000. The *Arabidopsis* genome: a model for analysis of crop plant genomes and their diversity. In: Evolutionary genetics and plant genetic resources. Ed. Harwood Academic Publishers (w druku).
- Delseny M., Cooke R., Comella P., Wu H.J., Raynal M., Grellet F. 1997. The *Arabidopsis thaliana* genome project. *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie/Life Sciences* 320: 589-599.
- Gaubier P., Wu H.J., Laudie M., Delseny J., Grellet F. 1995. A chlorophyll synthase gene from *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet.* 249: 58-64.
- Hu J., Sadowski J., Osborn T.C., Landry B.S., Quiros C.F. 1998. Linkage group alignment from four independent *Brassica oleracea* RFLP maps. *Genome* 241: 226-235.
- Hussein M.M., Abobakr M.A. 1976. Secondary association in *Brassica oleracea* L. *Egypt. J. Genet. Cytol.* 5: 174-183.

- Kianian S.F., Quiros C.F. 1992. Generation of a *Brassica oleracea* composite and RFLP map: linkage arrangements among various populations and evolutionary implications. *Theor. Appl. Genet.* 84: 544-554.
- Kowalski S.P., Lan T.H., Feldmann K.A., Paterson A.H. 1994. Comparative mapping of *Arabidopsis thaliana* and *Brassica oleracea* chromosomes reveals islands of conserved organization. *Genetics* 138: 499-510.
- Lagercrantz U., Lydiat D. 1995. RFLP mapping of *Brassica nigra* indicates different recombination rates in male and female meiosis. *Genome* 38: 255-264.
- Lagercrantz U., Putterill J., Coupland G., Lydiat D. 1996. Comparative mapping in *Arabidopsis* and *Brassica*: fine scale genome collinearity and congruence of genes controlling flowering time. *The Plant J.* 9: 13-20.
- Landry B.S., Hubert N., Crete R., Chang M.S., Lincoln S.E., Etoh T. 1992. A genetic map for *Brassica oleracea* based on RFLP markers detected by expressed DNA sequences and mapping of resistance genes to race 2 *Plasmodiophora brassicae* (Woronin). *Genome* 35: 409-420.
- McGrath J.M., Quiros C.F. 1991. Inheritance of isozyme and RFLP markers in *Brassica campestris* and comparison with *B. oleracea*. *Theor. Appl. Genet.* 82: 668-673.
- Mindrinis M., Katagiri F., Yu G.L., Ausubel F. 1994. The *A. thaliana* disease resistance gene *PRS2* encodes a protein containing a nucleotide-binding site and leucine-rich repeats. *Cell* 78: 1089-1099.
- Moore G., Devos K.M., Wang Z., Gale M.D. 1995. Cereal genome evolution in grasses: line up and form a circle. *Current Biol* 5: 733-736.
- Prakash S., Hinata K. 1980. Taxonomy, cytogenetics and origin of crop *Brassicaceae*, a review. *Opera Bot.* 55: 1-57.
- Quiros C.F., Hu J., Truco M.J. 1994. DNA-based marker *Brassica* maps. In: Phillips R I, Vasil I K (eds) *Advances in cellular and molecular biology of plants, vol. I: DNA-based markers in plants.* Kluwer Acad. Publ., Dordrech, 199-222.
- Röbbelen G. 1960. Beitrage zur Analyse des *Brassica*-genomes. *Chromosoma* 11: 205-228.
- Sadowski J., Gaubier P., Delseny M., Quiros C.F. 1996. Genetic and physical mapping in *Brassica* diploid species of a gene cluster defined in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet.* 251: 298-306.
- Sadowski J., Quiros C.F. 1998. Organization of the *Arabidopsis thaliana* *RPS2* gene cluster on chromosome 4 including the *RPS2* gene, in the *Brassica nigra* genome. *Theor. Appl. Genet.* 96: 468-474.
- Sadowski J., Gaubier P., Delseny M., Quiros C.F. 1994a. Mapping of a gene complex formed by four linked genes from *Arabidopsis* in *Brassica* genomes. *Plant Genome II, The Second International Conference on the Plant Genome*, San Diego, California, 99.
- Sadowski J., Hu P., Delseny M., Quiros C. F. 1994b. Genetic and physical mapping of an *Arabidopsis* gene complex in *Brassica* genomes. *Cruciferae Newsletter* 16: 47-48.
- Sikka S.M. 1940. Cytogenetics of *Brassica* hybrids and species. *J. Genet.* 40: 441-509.
- Slocum M.K., Figdore S.S., Kennard W.C., Suzuki J.Y., Osborn T.C. 1990. Linkage arrangement of restriction fragment length polymorphism loci in *Brassica oleracea*. *Theor. Appl. Genet.* 80: 57-64.
- Song K.M., Susuki J.Y., Slocum M.K. 1991. A linkage map of *Brassica rapa* (syn. *B. campestris*) based on restriction fragment length polymorphism loci. *Theor. Appl. Genet.* 82: 296-304.

- Truco M.J., Hu J., Sadowski J., Quiros C.F. 1996. Inter- and intra-genomic homology of the *Brassica* genomes: implications for their origin and evolution. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1225-1233.
- Truco M.J., Quiros C.F. 1994. Structure and organization of the B genome based on a linkage map in *Brassica nigra*. *Theor. Appl. Genet.* 89: 590-598.
- U N. 1935. Genome analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Jpn. J. Genet.* 7: 784-794.