

# Geny karłowatości i ich markery DNA w hodowli zbóż

Krzysztof Kowalczyk

Instytut Genetyki i Hodowli Roślin, Akademia Rolnicza,

ul. Akademicka 15, 20-934 Lublin

e-mail krzysztof.kowalczyk@ar.lublin.pl

**Słowa kluczowe:** jęczmień, geny karłowatości, markery DNA, owies, pszenica zwyczajna, pszenżyto, żyto

## Wstęp

Jednym z ważnych czynników ograniczających plonowanie zbóż jest wyleganie, dlatego w hodowli zwraca się szczególną uwagę na selekcję form krótko- i sztywnosłomych o wysokim potencjale plonowania. Genetyczna kontrola wysokości roślin u zbóż jest determinowana przez kompleks wielu genów zlokalizowanych na różnych chromosomach, z których jedne powodują wzrost wysokości roślin, inne zaś przyczyniają się do redukcji wartości tej cechy. Najskuteczniejszym sposobem wyhodowania odmian odpornych na wyleganie jest wprowadzenie genów karłowatości. Nie wszyst-

**Tabela 1.** Geny karłowatości w pszenicy niewrażliwe na kwas giberelinowy, lokalizacja na chromosomach oraz odmiany źródłowe (za Gale, Youssefian 1985; Börner i in. 1996)

Geny karłowatości		Lokalizacja na chromosomie	Odmiana źródłowa
nomenklatura konwencjonalna	nowa nomenklatura		
<i>Rht 1</i>	<i>Rht-B1b</i>	4BS	Norin 10
<i>Rht 3</i>	<i>Rht-B1c</i>	4BS	Tom Thumb
<i>Rht 1S</i>	<i>Rht-B1d</i>	4BS	Saitama 27
<i>Rht 1K</i>	<i>Rht-B1e</i>	4BS	Krasnodari 1
<i>Rht T. aetiopicum</i>	<i>Rht-B1f</i>	4BS	W 6824D, W 6807C <i>T. aetiopicum</i>
<i>Rht 2</i>	<i>Rht-D1b</i>	4DS	Norin 10
<i>Rht 10</i>	<i>Rht-D1c</i>	4DS	Ai-bian 1
<i>Rht Aibian 1a</i>	<i>Rht-D1d</i>	4DS	Ai-bian 1a

kie jednak geny karłowatości mogą być wykorzystane w hodowli. Znaczna część karłowatych mutantów wykazuje niekorzystne efekty plejotropowe na komponenty plonu. Możliwości wykorzystania genów karłowatości w hodowli zbóż zostały przedstawione w wielu pracach [m.in. 6, 15, 19, 22, 27, 32, 35, 52, 61].

W zależności od reakcji na egzogeny kwas giberelinowy geny karłowatości u zbóż możemy podzielić na wrażliwe i niewrażliwe na GA<sub>3</sub>. Zastosowany egzogenie kwas giberelinowy umożliwia identyfikację genotypów zawierających geny karłowatości niewrażliwe na GA<sub>3</sub>, natomiast nie jest możliwe wykrycie za pomocą tego testu form zawierających geny karłowatości wrażliwe na ten hormon [5, 14, 16, 22, 54].

Börner i in. [6] zaproponowali nową symbolikę niektórych genów karłowatości. Symbolika ta jest obecnie szeroko stosowana przez wielu badaczy z różnych ośrodków naukowych na świecie. W prezentowanej pracy zastosowano nowe oznaczenia tych genów (tab. 1).

## Geny karłowatości i ich markery molekularne pszenicy

---

W programach hodowlanych pszenicy na świecie najszerszej są wykorzystywane geny *RhtB1b* i *RhtD1b* pochodzące od 'Norin 10' oraz *Rht8* pochodzący od 'Akakomugi' [15]. Gen karłowatości *RhtB1b* jest zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 4B, a *RhtD1b* na krótkim ramieniu chromosomu 4D. Powodują one zwyczajną plonów o ok. 20%, głównie poprzez wzrost płodności kłoska. Są niewrażliwe na egzogeny kwas giberelinowy [15, 55]. Geny te redukują wysokość roślin o ok. 20% [9, 15, 29]. Worland [55] stwierdził, że linie zawierające geny karłowatości *RhtB1b*, *RhtD1b* i *RhtB1c* są wrażliwe na wysokie temperatury, szczególnie w okresie od pojawienia się liścia flagowego do kłoszenia. W związku z tym wykorzystanie tych genów może być ograniczone na obszarach, gdzie wysokie temperatury są nieodpowiednie dla krytycznych etapów wzrostu. Obniżenie płodności w liniach zawierających geny *RhtB1b*, *RhtD1b* i *RhtB1c*, związane ze zbyt wysokimi temperaturami w okresie krytycznym, obserwowali również Börner i in. [9] oraz Miazga i in. [38].

Badania przeprowadzone w Instytucie Genetyki i Hodowli Roślin w ramach Europejskiego Programu Klimatycznej Adaptacyjności Genów Karłowatości u Pszenicy we współpracy z John Innes Centre wykazały, że istnieje możliwość wykorzystania genów karłowatości niewrażliwych na kwas giberelinowy w warunkach Polski. Godne polecenia do wykorzystania w programach hodowlanych pszenicy zwyczajnej są geny *Rht-B1b*, *Rht-D1b*, *Rht-B1d* i *Rht-B1e* ze względu na dobrą adaptacyjność jak i korzystny wpływ na plon i jego komponenty. Redukcja masy 1000 ziarniaków powodowana przez te geny jest w pełni rekompensowana przez wyższą płodność kłoska, co w konsekwencji powoduje zawiązanie większej liczby ziarniaków w kłosie [29, 30, 37, 38, 39, 40, 41].

W Instytucie Genetyki i Hodowli Roślin testowano kwasem giberelinowym polskie odmiany i rody hodowlane pszenicy oraz pszenżyta. Spośród badanych

odmian i rodów hodowlanych pszenicy ozimej tylko cztery: 'Elena', 'Parada', SMH 1693 i STH 594 i pięć jarych: 'Broma', 'Henika', 'Polna', 'Santa' i 'Sigma' zawierało geny karłowatości niewrażliwe na GA<sub>3</sub>. Reakcja tych form na ten hormon była podobna jak w liniach izogenicznych 'Maris Widgeon', zawierających geny *Rht-B1b* lub *Rht-D1b* [25, 28]. Geny karłowatości niewrażliwe na egzogeny kwas giberelinowy wykryto również w karłowatych mutantach oraz odmianach i rodach hodowlanych pszenżyta [26, 28].

Za pomocą testu giberelinowego nie jest możliwe rozróżnienie genów *Rht-B1b* i *Rht-D1b*. Dokonać tego można było poprzez wykonanie testów alleliczności, analizując pokolenie F<sub>2</sub> mieszańców z odpowiednimi liniami lub odmianami [8, 23]. Za pomocą tej metody wykazano, że polskie odmiany 'Elena' i 'Parada' zawierają geny *Rht-D1b* [23].

Aby przezwyciężyć tę trudność opracowano markery molekularne, za pomocą których można łatwo zidentyfikować te geny. Cadalen i in. [10] zastosowali metodę RFLP do identyfikacji genów *Rht-B1b* i *Rht-D1b*. Autorzy analizowali populację 275 linii DH otrzymanych z mieszańców F<sub>1</sub> francuskiej półkarłowej odmiany 'Courtot' zawierającej geny *Rht-B1b* i *Rht-D1b* z 'Chinese Spring' i stwierdzili, że dwa loci RFLP były sprzężone z tymi genami. Marker Xfba1-4B był sprzężony z genem *Rht-B1b*, a Xfba211-4D z genem *Rht-D1b*. Autorzy wykazali również, że osiem innych loci było istotnie sprzężonych z wysokością roślin. Sourdille i in. [48] analizowali za pomocą techniki RFLP dwie populacje F<sub>2</sub>: 'Renan' × 'Camp-Rémy' oraz 'Rendez-Vous' × 'Roazon'. Odmiana 'Renan' miała gen karłowatości *Rht-B1b*, 'Rendez-Vous' zaś zawierała gen *Rht-D1b*. Autorzy wykazali, że dwa loci RFLP były sprzężone z tymi genami. Marker Xpsr144-4B był sprzężony z genem *Rht-B1b*, a Xglk578-4D z genem *Rht-D1b* (tab. 2).

Peng i in. [43] wykazali, że geny *Rht-B1b* i *Rht-D1b* pszenicy oraz *d8* kukurydzy są ortologami genu *Gai*, tj. genu niewrażliwości na kwas giberelinowy *Arabidopsis thaliana*. Geny te kodują białka podobne do czynnika transkrypcji DNA zawierającego domenę SH-2. Porównując sekwencję DNA locus *Rht-B1a* i *Rht-D1a* form wysokich z *Rht-B1b* i *Rht-D1b* krótkosłomych, stwierdzili, że mutacje dotyczą tylko jednej pary zasad, która zmienia sekwencję DNA w ramce odczytu na kodon terminalny, zlokalizowany tuż po starcie translacji. Mutacja ta redukuje zdolność roślin do typowej reakcji na GA<sub>3</sub>.

Ellis i in. [11] opracowali startery PCR wykrywające punktową mutację odkrytą przez Penga i in. [43] charakterystyczną dla genów *Rht-B1b* i *Rht-D1b*. Markery te są specyficzne dla każdego z tych genów i mogą być wykorzystane do wykrywania i monitorowania genów *Rht-B1b* i *Rht-D1b* w odmianach, liniach i segregujących populacjach. Kombinacja starterów BF i MR1 dawała amplifikację produktu PCR wielkości 237 par zasad (pz) tylko w liniach i odmianach zawierających geny *Rht-B1b*. Kombinacje starterów DF i MR2 oraz DF2 i WR2 dawały amplifikację produktów PCR wielkości 254 pz oraz 264 pz tylko w liniach i odmianach zawierających odpowiednio geny *Rht-D1b* i *Rht-D1a* (tab. 2).

Tabela 2. Markery molekularne DNA dla genów karłowatości w pszenicy

Geny karłowatości	Rodzaj markera	Sonda molekularna lub sekwencja starterów	Autorzy
<i>Rht-B1b</i>	RFLP	Xfba1-4B	[10]
		Xpsr 144-4B	[48]
	STS-PCR	BF 5'-CGTAGGGAGGCGAGAGGCGAG-3' MR1 5'-CATCCCCATGGCCATCTCGAGCTA-3'	[11]
<i>Rht-B1c</i>	RFLP	Xpsr144, Xpsr584	[7]
<i>Rht-D1b</i>	RFLP	Xfba211-4D	[10]
		Xgkl578-4D	[48]
	STS-PCR	DF 5'-CGCGCAATTATTGGCCAGAGATAG-3' MR2 5'-CCCCATGGCCATCTCGAGCTGCTA-3'	[11]
<i>Rht-D1c</i>	RFLP	Xpsr921, Xmwg 634	[7]
<i>Rht 8</i>	SSRs	Xgwm 261	[21]
		WMS 261 5'-CTCCCTGTACGCCTAAGGC-3' 5'-CTCGCGCTACTAGCCATTG-3'	
<i>Rht12</i>	RFLP	Xmwg 616, Xpsr164, Xwg114, Xpsr1201	[20]
	SSRs	Xgwm179 5'-AAGTTGAGTTGATGCGGGAG-3' 5'-CCATGACCAGCATCCACTC-3'	[20]
		Xgwm410 5'-GCTTGAGACCGGCACAGT-3' 5'-CGAGACCTTGAGGGTCTAGA-3'	
		Xgwm291 5'-CATCCCTACGCCACTCTGC-3' 5'-AATGGTATCTATTCCGACCCG-3'	

Wykorzystując technikę RFLP Börner i in. [7] zmapowali oraz opracowali markery dla genów *Rht-B1c* oraz *Rht-D1c*. Pierwszy z tych genów był sprzężony z markerami Xpsr144 w odległości 11,9 cM oraz z Xpsr584 w odległości 17,8 cM. Gen *Rht-D1c* był sprzężony z markerami Xpsr921 w odległości 0,8 cM oraz z Xmwg634 w odległości 1,5 cM (tab. 2).

Geny karłowatości pszenicy wrażliwe na egzogeny kwas giberelinowy przedstawiono w tabeli 3. Spośród nich największe znaczenie w hodowli mają geny *Rht8* i *Rht9* [15, 57, 58]. Gen *Rht8* jest zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 2D [21, 56]. Redukuje długość źdźbła o ok. 10% i jest szeroko rozpowszechniony wśród pszenic jugosłowiańskich [18, 57]. Korzystne efekty plejotropowe genów *Rht8* na komponenty plonu w warunkach Jugosławii stwierdzili Worland i in. [57, 58]. Gen *Rht9* pochodzi od japońskiej odmiany 'Akakomugi' i jest zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 7B. Jest on częściowo dominujący, wrażliwy na kwas giberelinowy, często występuje w pszenicach obok genu *Rht8* [15, 58].

Worland i in. [59] sugerują, że w hodowli roślin może być wykorzystany również gen *Rht12*. Jednak badania przeprowadzone w Instytucie Genetyki i Hodowli Roślin

**Tabela 3.** Geny karłowatości w pszenicy wrażliwe na kwas giberelinowy ich lokalizacja oraz odmiany źródłowe [za 6, 15, 19, 56]

Geny karłowatości	Lokalizacja na chromosomie	Odmiana źródłowa
<i>Rht 4</i>	?	'Burt M937'
<i>Rht 5</i>	?	'Marfed M1'
<i>Rht 6</i>	?	'Burt'
<i>Rht 7</i>	2A	'Bersee Mutant'
<i>Rht 8</i>	2DS	'Akakomugi'
<i>Rht 9</i>	7BS	'Akakomugi'
<i>Rht 11</i>	?	'Karlik 1'
<i>Rht 12</i>	5AL	'Karcag 522'
<i>Rht 13</i>	?	'Magnif 41M1'
<i>Rht 14</i>	?	'Castelporziano'
<i>Rht 15</i>	?	'Durox'
<i>Rht 16</i>	?	'Edmore M1'
<i>Rht 17</i>	?	'Chris M1'
<i>Rht 18</i>	?	'Icaro'
<i>Rht 19</i>	?	'Vic M1'
<i>Rht 20</i>	?	'Burt M860'

wykazały, że gen ten oprócz silnej redukcji wysokości roślin o ok. 60% dawał także niekorzystne efekty plejotropowe, jeśli chodzi o komponenty plonu [39, 41].

Korzun i in. [21] opracowali markery mikrosatelitarne przydatne do identyfikacji genu *Rht8*. Gen ten zmapowali na krótkim ramieniu chromosomu 2D w odległości 0,6 cM od locus Xgwm 261. Autorzy opracowali startery WMS 261, które po włączeniu do reakcji PCR generowały polimorficzne produkty wielkości 165 pz, 174 pz i 192 pz. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazali, że w liniach rekombinacyjnych Cappelle-Desprez zawierających chromosom 2D z odmian 'Ciano 67' oraz 'Mara', a także w stu analizowanych odmianach obecność prążków wielkości 192 pz była powiązana z redukcją wysokości roślin o ok. 7–8 cm. Obecność prążka wielkości 174 pz nie była powiązana z redukcją wysokości roślin, obecność zaś allelu, który w reakcji PCR dawał produkt o wielkości 165 pz była skorelowana ze wzrostem wysokości o ok. 3–4 cm (tab. 2). Worland i in. [60], za pomocą markerów mikrosatelitowych opracowanych przez Korzuna i in. [21], analizowali 800 odmian pszenicy zwyczajnej pochodzących z 20 krajów. Autorzy wykazali, że 90% odmian w reakcji PCR generowało prążki wielkości 165 pz, 174 pz lub 192 pz. Marker wielkości 192 pz sprzężony z genem *Rht8* najczęściej występował w odmianach pochodzących z południowej Europy. Allel o wielkości 165 pz występował w większości odmian wyhodowanych w CIMMYT w Meksyku. Ahmad i Sorrels [1] analizowali zmienność alleliczną w locus Xgwm 261 w 71 odmianach pszenicy zwyczajnej pochodzących z 13 krajów. Autorzy wykazali, że 19 odmian generowało fragmenty o wielkości 165 pz,

w 37 odmianach zaś stwierdzili obecność fragmentów o wielkości 174 pz. Tylko cztery odmiany: 'Pioneer Var 2510' (USA), 'Chinese Spring' i 'Bai Huo' (Chiny) oraz 'Kanto' (Japonia) generowały wyraźne fragmenty o wielkości 192 pz sprzężone z genem *Rht8*. U dwóch odmian amerykańskich 'Arapahoe' i 'Ernie' stwierdzili fragmenty DNA jeszcze innych wielkości. U tych dwóch odmian występowały również fragmenty wielkości 192 pz, ale były najmniej intensywne. Liu i in. [34] badali 408 chińskich odmian pszenicy zwyczajnej. Po włączeniu do reakcji PCR starterów WMS 261 wykazali, że allele wielkości 192 pz sprzężone z genem *Rht8* występowały w wielu chińskich odmianach. Autorzy zidentyfikowali ponadto 13 różnych fragmentów DNA w locus Xgwm 261. Szereg różnych fragmentów DNA świadczących o dużej zmienności w locus Xgwm 261 stwierdzili również Worland i in. [60], Ahmad, Sorrells [1] oraz Schmidt i in. [47]. Kowalczyk [24] analizował zmienność alleliczną w locus Xgwm 261 w polskich odmianach pszenicy zwyczajnej zarejestrowanych przed rokiem 1975. Po włączeniu do reakcji PCR starterów WMS 261 wykazał, że polskie odmiany pszenicy zwyczajnej zarejestrowane przed rokiem 1975 wykazują dużą zmienność alleliczną w tym locus. Autor stwierdził obecność fragmentów DNA wielkości 165 pz, 174 pz, 192 pz, 197 pz i 203 pz. Fragmenty DNA wielkości 192 pz sprzężone z genem *Rht8* występowały w odmianach 'Aria', 'Grana' i 'Luna'.

Korzun i in. [20] opracowali markery molekularne dla genu *Rht12* oraz zmapowali go na długim ramieniu chromosomu 5A. Z genem *Rht12* były sprzężone cztery loci RFLP: Xmwg616, Xpsr164, Xwg114 i Xpsr1201 oraz trzy markery mikrosatelitarne Xgwm179, Xgwm410 i Xgwm291 (tab. 2).

## Lokalizacja i mapowanie genów karłowatości żyta

---

Najbardziej znanym karłowym mutantem żyta wykorzystywanym w programach hodowlanych we Wschodniej Europie był mutant EM 1 znaleziony w kolekcji w St. Petersburgu. Redukcja wysokości roślin była spowodowana przez dominujący gen początkowo określony jako *Hl*. Później zmieniono nazwę tego genu na *Dw1* lub *Ddw1* (Börner i in. [6]. Sturm i Engel [49] za pomocą analizy trisomicznej zlokalizowali ten gen na chromosomie 2, który obecnie oznaczony jest jako 5R. Melz [36], również za pomocą analizy trisomicznej zlokalizował gen *Dw2* na chromosomie 7R (tab. 4).

Na chromosomach żytnich 5R i 7R są zlokalizowane geny karłowatości *ct1* i *ct2* niewrażliwe na GA<sub>3</sub>. Plaschke i in. [44] analizowali populację mapującą F<sub>3</sub>, wyprowadzoną z pojedynczych roślin F<sub>2</sub> otrzymanych ze skrzyżowania długosłomej odmiany 'Petka' z karłowym mutantem 'Moskowskij Karlik'. Autorzy zastosowali technikę RFLP i zmapowali gen *ct2* na długim ramieniu chromosomu 5R oraz wykazali, że był ściśle sprzężony z locus wykrywany przez sondę EmBP-1 (tab. 5). Dwa lata później badacze z Gatersleben analizowali za pomocą techniki RFLP populację F<sub>2</sub> otrzymaną ze skrzyżowania odmiany 'Halo' z karłowym mutantem 'Gülzow kurz'. Autorzy wykazali, że gen *ct1* zlokalizowany był w regionie centromerowym chromosomu 7R

**Tabela 4.** Geny karłowatości w życie, lokalizacja na chromosomach oraz odmiany źródłowe [wg 6, 31, 44, 45]

Geny karłowatości	Lokalizacja na chromosomie	Odmiana źródłowa	Wrażliwość na GA <sub>3</sub>
<i>Dw1 (Ddw1, Hl)</i>	5R	'EM-1'	wrażliwy
<i>Dw2 (Ddw2)</i>	7R	'K 10028'	wrażliwy
<i>dw1 (d1)</i>	?	inbred line 17	?
<i>dw2 (d2)</i>	2R	inbred line 22	wrażliwy
<i>dw3</i>	3R		?
<i>dw4</i>	1R	'Trisom 1R'	?
<i>dw5</i>	4R	'I-1001'	?
<i>dw6</i>	5R	'I-Fixator G-Typ'	niewrażliwy
<i>dw7</i>	6R	'I-1001', 'I-1006'	?
<i>ct1</i>	7R	'Gülzow kurz'	niewrażliwy
<i>ct2</i>	5RL	'Moskowskij Karlik'	niewrażliwy
<i>ds1</i>	?	linia wsobna 8/40	wrażliwy
<i>ds2</i>	?	linia wsobna 2/7	niewrażliwy

**Tabela 5.** Markery molekularne DNA dla genów karłowatości u żyta, jęczmienia i owsa

Geny karłowatości	Rodzaj markera	Sonda molekularna lub sekwencja starterów	Autorzy
<i>ct1</i>	RFLP	Xpsr163 α-Amy-R2	[45]
<i>ct2</i>	RFLP	EmBP-1	[44]
<i>Dwf2</i>	RFLP	Xmwig2299	[17]
	SSRs	XhvOle 5'-CATGGATGTCAGTCGGTC-3' 5'-ATGAGCAGTAGTACAACCTCTAAGC-3'	[17]
<i>Rht-H1 (gai, GA-ins)</i>	RFLP	Xmwig577	[3]
		Xmwig2058, Xmwig2287	[4]
<i>GA-less (gal)</i>	RFLP	Xmwig581, Xmwig882, Xmwig2212	[4]
<i>Dw6</i>	RFLP	Xumn 145B	[42]
<i>Dw7</i>	RFLP	Xcdo 1437B, Xcdo 708B	[42]
<i>Dw8</i>	RFLP	Xcdo 1319A	[42]

oraz sprzężony z markerem Xpsr163 w odległości 1 cM oraz z loci α-Amy-R2 w odległości 3 cM (tab. 5). Locus Xpsr163 jest zlokalizowane na krótkim ramieniu, α-Amy-R2 zaś na długim ramieniu chromosomu 7R, dlatego badaczom nie udało się określić, na którym ramieniu tego chromosomu jest zlokalizowany gen *ct1* [45]. W Polsce badania nad karłowatością żyta są prowadzone przez zespół pod kierunkiem prof. dr hab. H. Kubickiej. Doprowadziły one do odkrycia innych genów karłowatości m.in. *ds1*, *ds2*, *mp*, *mn1* i in. Gen *ds2* jest niewrażliwy na egzogenny kwas giberelinowy [31] (tab. 4).

## Możliwości wykorzystania genów karłowatości w hodowli pszenżyta

---

Prace hodowlane pszenżyta początkowo koncentrowały się na wykorzystaniu dominującego genu *Rht-B1c* pochodzącego z pszenicy ‘Tom Thumb’. Odmiany takie jak ‘Bökolo’ z Węgier czy ‘Local’ z Niemiec poza bardzo dobrą sztywnością źdźbła nie osiągnęły wysokiego potencjału plonowania [53]. Do pszenżyta oprócz genu *Rht-B1c* wprowadzono także inne geny karłowatości niewrażliwe na egzogenny kwas giberelinowy [16, 46, 61]. Zillinsky [61] podaje, że geny karłowatości pochodzące od odmiany ‘Norin 10’ zostały wprowadzone do pszenżyta od pszenic meksykańskich w wyniku naturalnego przekrzyżowania. Tarkowski i in. [50, 51] stwierdzili, że spośród mieszańców pszenżyta otrzymanych w Instytucie Genetyki i Hodowli Roślin, zawierających różne geny karłowatości, najkorzystniej prezentowały się formy z genami *Rht-B1b*.

Wolski i Gryka [53] podają, że wykorzystanie genów *Dw1* (*H1*) oraz *Rht-B1b* spowodowało skrócenie roślin o około 20 cm i przyczyniło się do wzrostu odporności na wyleganie. Szczególnie przydatny okazał się gen *Dw1*. W oparciu o mieszańce zawierające ten gen wyhodowano wiele odmian krótkosłomych charakteryzujących się bardzo wysokim potencjałem plonowania.

## Geny karłowatości, ich mapowanie i możliwości wykorzystania w hodowli jęczmienia

---

W hodowli jęczmienia również są wykorzystywane geny karłowatości. Większość nowych odmian jęczmienia zawiera gen karłowatości *denso*, oznaczany również jako *sdw1*. Gen ten jest zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 3H [2, 33]. Thomas i in. [52] podają, że gen *Gpert*, który jest obecny w europejskich odmianach jęczmienia jarego jest zlokalizowany na chromosomie 5H. Börner i Korzun [3] zidentyfikowali dwa recesywne geny na chromosomie 2H, które różniły się reakcją na kwas giberelinowy. Jeden z tych genów *GA-ins* był niewrażliwy na  $GA_3$ . Gen ten został zmapowany blisko centromeru chromosomu 2H i był sprzężony z markerem RFLP Xmwg577. W późniejszych badaniach Börner i in. [4] otrzymali populacje mapujące  $F_2$  pochodzące ze skrzyżowania wysokich odmian ‘Betzes’ i ‘Monte Cristo’ z karłowymi liniami ‘Hv287’ i ‘Hv288’. Linia ‘Hv287’ zawierała gen *GA-ins*, w linii ‘Hv288’ zaś obecny był gen *GA-less*. Autorzy wykazali, że gen *GA-ins* oznaczany niekiedy jako *gai* albo *Rht-H1* kosegregował z dwoma markerami RFLP Xmwg2058 i Xmwg2287. Oba te markery są sprzężone z centromerem. Ci sami autorzy wykazali, że drugi gen karłowatości oznaczany jako *GA-less* lub *gal*, kosegregował z markerami RFLP Xmwg581, Xmwg882 i Xmwg2212 i był zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 2H. Odległość pomiędzy genami *GA-ins* i *GA-less* wynosiła ok. 55 cM (tab. 5). Falk [12] odkrył gen karłowatości *Dwf2* w spontanicznym mutancie jęcz-



**Tabela 6.** Geny karłowatości jęczmienia ich lokalizacja oraz odmiany źródłowe [za 2, 3, 4, 17, 33, 52]

Geny karłowatości	Lokalizacja na chromosomie	Odmiana źródłowa	Wrażliwość na GA <sub>3</sub>
<i>Dwf2</i>	4HS	'H930-36' '93/B694'	niewrażliwy
<i>Rht-H1 (gai, GA-ins)</i>	2H (w regionie centromerowym)	'Mutante de Cebada' (mutant indukowany promieniami X)	niewrażliwy
<i>GPert</i>	5H		wrażliwy
<i>denso (sdw1)</i>	3HL		wrażliwy
<i>GA-less (gal)</i>	2HL	mutant otrzymany przez traktowanie EMS odmiany 'Triumph'	wrażliwy

mienia 'H930-36'. Gen ten wykazywał podobną redukcję wysokości jak *Rht-B1c* u pszenicy i był dominujący oraz niewrażliwy na egzogenny kwas giberelinowy. Ivandic i in. [17] analizowali metodami molekularnymi populację mapującą F<sub>2</sub> otrzymaną ze skrzyżowania odmiany 'Bonus M2' z karłową linią '93/B694'. Autorzy wykazali, że marker mikrosatelitarny XhvOle był sprzężony z genem *Dwf2*. Odległość pomiędzy markerem a genem wynosiła 5,7 cM. Gen *Dwf2* był również sprzężony z markerem RFLP Xmwg2299 w odległości 18,3 cM (tab. 5). Na podstawie przeprowadzonych badań autorzy wykazali, że gen ten jest zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 4H jęczmienia i jest homeologiczny z genami karłowatości niewrażliwymi na GA<sub>3</sub> w pszenicy w loci *Rht-B1* i *Rht-D1*.

## Markery RFLP sprzężone z genami karłowatości owsa

W rodzaju *Avena* sklasyfikowano dotychczas 8 genów karłowatości [35, 42]. Geny *Dw6*, *Dw7* i *Dw8* nie wykazują niekorzystnego wpływu na plon i mogą być wykorzystane w programach hodowlanych [13, 42]. Millach i in. [42] zastosowali metodę RFLP do zmapowania trzech dominujących genów karłowatości owsa. Wyizolowany genomowy DNA trawili enzymami restrykcyjnymi *EcoRI*, *EcoRV* i *DraI*. Wykorzystali sondy otrzymane w wyniku trawienia enzymem *PstI* genomowego DNA z owsa i pszenicy. Gen *Dw6* występujący w linii 'OT207' zmapowali w odległości  $3,3 \pm 1,3$  cM od locus Xumn 145B. Gen *Dw7* sprzężony z 22 grupą występujący w linii 'NC2469-3' zmapowali w odległości  $4,3 \pm 2,3$  cM od locus Xcdo 1437B i w odległości  $33 \pm 4,1$  cM od locus Xcdo 708B. Gen *Dw8* występujący w japońskich liniach 'AV17/3/10' i 'AV18/2/4' zmapowali w odległości  $4,9 \pm 2,2$  cM od locus Xcdo1319A w populacji F<sub>2</sub> 'AV17/3/10' × 'Kanota' i w odległości  $6,6 \pm 2,6$  cM w populacji 'AV18/2/4' × 'Kanota' (tab. 5). Gen *Dw8* jest sprzężony z grupą 3. Aneuploidalna analiza sprzężenia markerów wykazała, że gen *Dw6* jest zlokalizowany na najmniejszym 18 chromosomie owsa, a *Dw7* na najdłuższym 19 chromosomie satelitowym.

## Podsumowanie

---

Podsumowując przedstawione zagadnienia należy stwierdzić, że niektóre geny karłowatości są i będą szeroko wykorzystywane w programach hodowlanych zbóż. Łatwość wykrycia genów redukujących wysokość niewrażliwych na GA<sub>3</sub> za pomocą testu giberelinowego oraz opracowanie markerów molekularnych dla genów o korzystnych efektach pleiotropowych na komponenty plonu, co czyni je szczególnie przydatnymi w selekcji odpowiednich form. Wprowadzenie robotów automatyzujących reakcję PCR przez wielkie firmy hodowlane przyczyni się do jeszcze szerszego stosowania markerów molekularnych w hodowli zbóż. Wykorzystanie markerów molekularnych DNA w selekcji może ułatwić, usprawnić oraz uczynić efektywniejszą pracę hodowców.

## Literatura

---

- [1] Ahmad M., Sorrells M.E. 2002. Distribution of microsatellite alleles linked to *Rht8* dwarfing gene in wheat. *Euphytica* 123: 235–240.
- [2] Barua U.M., Chalmers K.J., Thomas W.T.B., Hackett C.A., Lea V., Jack P., Forster B.P., Waugh R., Powell W. 1993. Molecular mapping of genes determining height, time to heading and growth habit in barley, *Hordeum vulgare* L. *Genome* 36: 1080–1087.
- [3] Börner A., Korzun V. 1995. Genetical studies of two barley mutants differing in their GA response. *Barley Genet. Newsl.* 25: 27–29.
- [4] Börner A., Korzun V., Malyshev S., Ivandic V., Graner A. 1999. Molecular mapping of two dwarfing genes differing in their GA response on chromosome 2H of barley. *Theor. Appl. Genet.* 99: 670–675.
- [5] Börner A., Lehmann Ch.O., Mettin D. 1987. Preliminary results of a screening for GA<sub>3</sub> response in wheats of the Gatersleben gene bank. *Kulturpflanze* 35: 179–186.
- [6] Börner A., Plaschke J., Korzun V., Worland A.J. 1996. The relationships between the dwarfing genes of wheat and rye. *Euphytica* 89: 69–75.
- [7] Börner A., Röder M., Korzun V. 1997. Comparative mapping of GA insensitive *Rht* loci on chromosomes 4B and 4D of common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 95: 1133–1137.
- [8] Börner A., Worland A.J. 2002. Does the Chinese dwarf wheat variety 'XN0004' carry *Rht21*? *Cereal Res. Commun.* 30(1–2): 25–29.
- [9] Börner A., Worland A.J., Plaschke J., Schumann E., Law C.N. 1993. Pleiotropic effects of genes for reduced height (*Rht*) and day-length insensitivity (*ppd*) on yield and its components for wheat grown in Middle Europe. *Plant Breed.* 111: 204–216.
- [10] Cadalen T., Sourdille P., Charmet G., Tixier M.H., Gay G., Boeuf C., Bernard P., Leroy P., Bernard M. 1998. Molecular markers linked to genes affecting plant height in wheat using a doubled-haploid population. *Theor. Appl. Genet.* 96: 933–940.

- [11] Ellis M.H., Spielmeier W., Gale K.R., Rebetzke G.J., Richards R.A. 2002. „Perfect” markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* dwarfing genes in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 105: 1038–1042.
- [12] Falk D.E. 1994. New dominant dwarfing gene (*Dwf2*) in barley. *Barley Genet. Newsl.* 24: 87–89.
- [13] Farnham M.W., Stuthman D.D., Pomeranke G.J. 1990. Inheritance of and selection for panicle exertion in semidwarf oat. *Crop Sci.* 30: 328–334.
- [14] Gale M.D., Gregory R.S. 1977. A rapid method for early generation selection of dwarf genotypes in wheat. *Euphytica* 26: 733–738.
- [15] Gale M.D., Youssefian S. 1985. Dwarfing genes in wheat. W: *Progress in Plant Breeding*. I' Ed. G.E. Russell, Butterworths, London: 35 ss.
- [16] Gregory R.S. 1980. A technique for identifying major dwarfing genes and its application in a *Triticale* breeding programme. *Hod. Rośl. Aklim. Nasien.* 24(4): 407–418.
- [17] Ivandic V., Malyshev S., Korzun V., Graner A., Börner A. 1999. Comparative mapping of a gibberellic acid-insensitive dwarfing gene (*Dwf2*) on chromosome 4HS in barley. *Theor. Appl. Genet.* 98: 728–731.
- [18] Jost M., Jost M. 1989. Pedigrees of 142 Yugoslav winter wheat cultivars released from 1967 till 1986. *Podravka* 1: 19–27.
- [19] Konzak C. F. 1982. Evaluation and genetic analysis of semi-dwarf mutants of wheat. In IAEA - TEC - DOC 268. IAEA, Vienna. 25 – 37.
- [20] Korzun V., Röder M., Worland A.J., Börner A. 1997. Intrachromosomal mapping of genes for dwarfing (*Rht12*) and vernalization response (*Vrn1*) in wheat by using RFLP and microsatellite markers. *Plant Breed.* 116: 227–232.
- [21] Korzun V., Röder M., Ganai M.W., Worland A.J., Law C.N. 1998. Genetic analysis of the dwarfing gene *Rht8* in wheat. Part I. Molecular mapping of *Rht8* on the short arm of chromosome 2D of bread wheat. (*Triticum aestivum* L.) *Theor. Appl. Genet.* 96: 1104–1109.
- [22] Kowalczyk K. 1997. Historia i wykorzystanie w hodowli pszenicy genów karłowatości pochodzących od ‘Norin 10’. *Post. Nauk Rol.* 1: 63–71
- [23] Kowalczyk K. 1997. Identyfikacja genów karłowatości niewrażliwych na kwas giberelinowy u odmian ‘Elena’ i ‘Parada’. *Hod. Rośl. Nasien. Biul. Branż.* 3: 1–3.
- [24] Kowalczyk K. 2006. Zmienność alleliczna w locus Xgwm 261 w polskich odmianach pszenicy zwyczajnej zarejestrowanych do 1975 roku. *Acta Agrophysica* (w druku).
- [25] Kowalczyk K., Chrzastek M., Miazga D. 1999. Identyfikacja genów karłowatości niewrażliwych na egzogeny kwas giberelinowy w polskich odmianach pszenicy jarej. *Biul. IHAR* 211: 35–38.
- [26] Kowalczyk K., Kociuba W. 2000. Identyfikacja genów karłowatości niewrażliwych na egzogeny kwas giberelinowy w polskich odmianach i rodach krótkostomych pszenicyta. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, Agricultura* 206(82): 133–138.
- [27] Kowalczyk K., Miazga D. 1996. Geny karłowatości w pszenicy. *Hod. Rośl. Nasien. Biul. Branż.* 4: 1 – 4.
- [28] 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 pszenicyta ozimego. *Biul. IHAR* 203: 31–36.

- [29] Kowalczyk K., Worland A.J., Miazga D. 1997b. Pleiotropic effects of *Rht1*, *Rht2*, and *Rht3* genes in wheat isogenic lines 'Maris Huntsman' and 'Maris Widgeon'. *J. Genet. & Breed.* 51: 129–135.
- [30] Kowalczyk K., Worland A.J., Miazga D. 2003. Possibilities utilization of GA insensitive dwarfing genes in wheat breeding in Poland based on co-operative research with Anthony Worland. EWAC Newsletter. Proc. of the 12th EWAC Conf. Norwich, England: 113–117.
- [31] Kubicka H., Dec D. 1998. Wpływ gibereliny (GA<sub>3</sub>) i chlorku chlorocholiny (CCC) na długość źdźbła linii wsobnych żyta ozimego (*Secale cereale* L.). *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 463: 565–573.
- [32] Kubicka H., Kubicki B. 1990. Two types dwarfness in winter rye (*Secale cereale* L.). *Genet. Pol.* 31(2): 9–19.
- [33] Laurie D.A., Pratchett N., Romero C., Simpson E. Snape J.W. 1993. Assignment of the denso dwarfing gene to the long arm of chromosome 3 (3H) of barley by use of RFLP markers. *Plant Breed.* 111: 198–203.
- [34] Liu Y., Liu D., Zhang H., Wang J., Sun J., Guo X. 2005. Allelic variation, sequence determination and microsatellite screening at the XGWM261 locus in Chinese hexaploid wheat (*Triticum aestivum*) varieties. *Theor. Appl. Genet.* 145: 103–122.
- [35] Marshall H.G., Murphy C.F. 1981. Inheritance of dwarfness in three oat crosses and relationship of height to panicle and culm length. *Crop Sci.* 21: 335–338.
- [36] Melz G. 1989. Beiträge zur Genetic des Roggens (*Secale cereale* L.) PhD Thesis, Berlin: 173 ss.
- [37] Miazga D., Kowalczyk K. 1996. Wpływ genów *Rht1K* na komponenty plonu w prawie izogenicznych liniach pszenicy 'Bezostaya' i 'Mercia'. *Hod. Rośl. Nasien. Biul. Branz.* 4: 4–7.
- [38] Miazga D., Worland A.J., Kowalczyk K. 1993. Plejotropowe efekty genów karłowatości *Rht* w liniach izogenicznych pszenicy 'Maris Huntsman' i 'Maris Widgeon'. *Biul. IHAR* 187: 47–57.
- [39] Miazga D., Worland A.J., Kowalczyk K. 1995. Efekty plejotropowe genów *Rht10* i *Rht12* w liniach izogenicznych pszenicy 'Bezostaya' i 'Mercia'. *Biul. IHAR* 194/195: 29–34.
- [40] Miazga D., Worland A.J., Kowalczyk K. 1997. Efekty plejotropowe genów *Rht1S* w prawie izogenicznych liniach pszenicy 'Bezostnaja' i 'Mercia'. *Biul. IHAR* 201: 61–65.
- [41] Miazga D., Worland A., Kowalczyk K. 1997. Pleiotropic effects of dwarfing (*Rht*) genes in near-isogenic lines of common wheat cv. 'Bezostaya' in a Central European environment. *Acta Agron. Hun.* 45(4): 419–426.
- [42] Millach S.C.K., Rines H.W., Phillips R.L. 1997. Molecular genetic mapping of dwarfing genes in oat. *Theor. Appl. Genet.* 95: 783–790.
- [43] Peng J., Richards D.E., Hartley N.M., Murphy G.P., Devos K.M., Flintham J.E., Beales J., Fish L.J., Worland A.J., Pelica F., Duralalagaraja Sudhakar, Christou P., Snape J.W., Gale M.D., Harberd N.P. 1999. 'Green revolution' genes encode mutant gibberelin response modulators. *Nature* 400: 256–261.
- [44] 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.
- [45] 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 Breed.* 114: 113–116.

- [46] Reddy V.D., Reddy G.M. 1984. Induction of useful mutants in triticale. *Mutation Breeding Newsletter* 24: 7–8.
- [47] Schmidt A.L., Gale K.R., Ellis M.H., Giffard P.M. 2004. Sequence variation at a microsatellite locus (XGWM261) in hexaploid wheat (*Triticum aestivum*) varieties. *Euphytica* 135: 239–246.
- [48] Sourdille P., Chantret 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.
- [49] Sturm W., Engel K.H. 1980. Trisomenanalyse des Allels H1 für Kurzstrohigkeit bei *Secale cereale* L. *Arch. Züchtungsforsch.* 10: 31–35.
- [50] Tarkowski C., Gruszecka D., Bichta J., Kowalczyk K. 1996. Transfer of genes *Rht1*, *Rht2* and *Rht3* from wheat to triticale. W: *Triticale: Today and Tomorrow. Developments in Plant Breeding*. H. Guedes-Pinto (red.) Kluwer Academic Publishers: 281–284.
- [51] Tarkowski C., Gruszecka D., Bichta J., Kowalczyk K., Apolinarska B., Mańkowska A. 1997. Transfer genów karłowatości *Rht1*, *Rht2* i *Rht3* z pszenicy do pszenżyta 6x. *Zesz. Nauk. AR Szczec.* 175: 463–466.
- [52] Thomas W.T., Powell W., Wood W. 1984 The chromosomal location of the dwarfing gene present in the spring barley variety 'Golden Promise'. *Heredity* 53: 177–183.
- [53] Wolski T., Gryka J., 1994. Nowe tendencje w hodowli pszenżyta ozimego. Cz. I. Formy półkarłowe – charakterystyka cech rolniczych. *Hod. Rośl. Nasien. Biul. Branż.* 3: 1–3.
- [54] Worland A.J. 1986. Gibberellic acid insensitive dwarfing genes in Southern European wheats. *Euphytica* 35: 857–866.
- [55] Worland A.J. 1987. Co-operative studies on the genetics of height in European wheat varieties. *EWAC Newsletter, Hungary*: 69–82.
- [56] Worland A.J., Law C.N. 1986. Genetic analysis of chromosome 2D of wheat. I. The location of genes affecting height, day-length insensitivity, hybrid dwarfism and yellow-rust resistance. *Z. Pflanzzüchtg.* 96: 331–345.
- [57] Worland A.J., Petrović S., Law C.N. 1988. Genetic analysis of chromosome 2D of wheat. II. The importance of this chromosome to Yugoslavian varieties. *Plant Breed.* 100: 247–259.
- [58] Worland A.J., Law C.N., Petrović S. 1990. Height reducing genes and their importance to Yugoslavian winter wheat varieties. *Zbornik* 38(3–4): 245–257.
- [59] Worland A.J., Sayers E.J., Börner A. 1994. The genetic and breeding potential of *Rht12*, a dominant dwarfing gene in wheat. *Plant Breed.* 113: 187–196.
- [60] Worland A.J., Sayers E.J., Korzun V. 2001. Allelic variation at the dwarfing gene *Rht8* locus and its significance in international breeding programmes. *Euphytica* 119: 155–159.
- [61] Zillinsky F.J. 1974. The development of *Triticale*. *Advances in Agronomy* 26: 315–348.

## **Dwarfing genes and their DNA markers in breeding of the cereals**

---

**Key words:** barley, common wheat, dwarfing genes, DNA markers, oat, rye, barley, triticales

### **Summary**

On the basis of literature review the possibilities of utilizing of dwarfing genes, sensitive and insensitive to exogenous gibberellic acid, in breeding of common wheat, rye, triticales, barley and oat were presented. Influence of the dwarfing genes, often used in cereals breeding, on the plants height and yield components was shown. Moreover, the research works concerning molecular mapping and identification of DNA markers linked with the dwarfing genes were described.