

**ANALIZA POLIMORFIZMU DNA UWARUNKOWANEGO
OBECNOŚCIĄ ELEMENTÓW TRANSPOZONALNYCH
W GENOMIE JABŁONI**

THE ANALYSIS OF DNA POLYMORPHISM
CAUSED BY THE PRESENCE OF TRANSPOSABLE ELEMENTS
IN GENOMES OF APPLE

**Anita Kuras, Bogumiła Badek, Mariusz Lewandowski,
Małgorzata Korbin**

Instytut Ogrodnictwa
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice
Anita.Kuras@inhort.pl

Abstract

Mobile genetic elements are ubiquitous in eukaryotic organisms and they constitute a major part of the nuclear genome (often more than half of the total DNA). Activation of these elements, usually epigenetically silenced, can be stimulated by biotic or abiotic stress. The presented study concerns the evaluation the DNA polymorphism caused by transposable elements in genome of varieties of 'Jonagold' and 'Szampion', on M.9 and 'Antonówka' rootstocks, frozen at -8°C , -10°C or -12°C . The polymorphism was tested by IRAP, S-SAP and REMAP methods. Applied techniques allowed for detecting 480 polymorphic amplicons. The highest number of shared DNA polymorphic fragments (64%) was observed for IRAP method. The average values of polymorphism information content (PIC) for the REMAP, IRAP and S-SAP methods were estimated as 0.2557, 0.3377 and 0.2485, respectively. In case of DNA analysis of selected apple's genotypes, the polymorphism was found only between the tested cultivars.

Key words: IRAP, polymorphism, SSAP, REMAP, transposable elements, freezing stress

WSTĘP

Wszystkie genomy zawierają elementy transpozonalne (TEs). W przypadku niektórych organizmów roślinnych mogą one stanowić nawet 50% genomowego DNA (Flavell i in. 1992; Voytas i in. 1992). W literaturze wyróżnia się dwie klasy elementów ruchomych w zależności od ich budowy i sposobu rozprzestrzeniania się, tj.: retrotranspozony (transpozony RNA) oraz transpozony DNA. Miejsca insercji retrotranspozonów są odziedziczalne i występują w całym genomie (Kumar i Hirochika 2001;

Schulman i in. 2004; Poczai i in. 2013). Metody badania zmienności w oparciu o retrotranspozony umożliwiają badanie dynamiki aktywności tych elementów i jej wpływu na genom (Bieniek 2006). Charakterystyczną cechą większości retrotranspozonów jest ich zdolność do przemieszczania się w genomie pod wpływem stresu i czynników środowiskowych. Aktywność retrotranspozycyjna jest stymulowana przez rozmaite czynniki stresowe, a mutacje będące wynikiem wstawiania kopii retrotranspozonu w nowe miejsca w genomie mogą powodować niekorzystne mutacje powodujące niestabilność genetyczną (Hedges i Deininger 2007) lub mogą oddziaływać pozytywnie i prowadzić do powstania genotypu odpornego na dany stres (Bieniek 2006; Callinan i Batzer 2006; Lisch 2013). Transpozycja pod wpływem warunków stresowych elementu *Tnt1* potwierdzona została w genomie *Nicotiana plumbaginifolia* (Grandbastien 1998) oraz w Solanaceae (Grandbastien i in. 2005), elementu *ZmMII* w *Zea mays* (Steward i in. 2002) *PAL/Tam3* w *Antirrhinum majus* L. (Hashida i in. 2006) a *CLCoi1* w *Citrus limon* (De Felice i in. 2009).

Do analizy zmienności genetycznej powstałej w wyniku aktywności transpozycyjnej wykorzystuje się najczęściej metody REMAP (Retrotransposon Microsatellite-Amplified Polymorphism), S-SAP (Sequence-Specific Amplified Polymorphism) i IRAP (Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism). Metoda REMAP polega na analizie regionów zawartych między sekwencją LTR (Long Terminal Repeats) a sekwencjami mikrosatelitarnymi (Antonius-Klemola i in. 2006; Kalendar i Schulman 2014), metoda S-SAP umożliwia wykrycie polimorfizmu insercji między LTR a miejscem restrykcyjnym (Waugh i in. 1997; Melnikova i in. 2012), natomiast technika IRAP pozwala na analizę regionów genomu zawartych pomiędzy dwoma LTR (Kalendar i in. 1999; Kalendar i Schulman 2006).

Celem badań była ocena zmienności genetycznej uwarunkowanej obecnością elementów transpozonalnych w roślinach odmian jabłoni ‘Jonagold’ i ‘Szampion’ przemrażanych w warunkach kontrolowanych.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na roślinach odmian ‘Jonagold’ i ‘Szampion’ (10 roślin z każdej odmiany), skrajnie reagujących na działanie niskich temperatur i zaszczepionych na podkładkach M.9 oraz ‘Antonówka’. Rośliny przemrażano w komorze (BINDER GmbH) w temperaturach: -8°C , -10°C i -12°C przez 3 godziny (szybkość spadku temperatury 2°C na godzinę). Po przemrożeniu rośliny przechowywano przez 6 tygodni w chłodni w temperaturze 0°C , a następnie wysadzono w pole. Po czterech

miesiącach od przemrożenia pobrano materiał roślinny i wyizolowano DNA. Kontrolę stanowiły rośliny nie poddane działaniu niskiej temperatury.

DNA izolowano metodą Doyle i Doyle (1990) z młodych, świeżych liści roślin (2 g), które podjęły wzrost po przemrożeniu. Czystość preparatu DNA określano na podstawie elektroforegramów w 0,8% żelu agarozowym oraz w oparciu o pomiar współczynników ekstynkcji próbki przy długości fali 230, 260, 280 i 320 nm (Gene Quant Pro Amersham Pharmacia Biotech).

W analizach zastosowano techniki oparte na PCR zgodnie z opublikowanymi protokołami: S-SAP (Waugh i in. 1997, Yao i in. 2001), IRAP (Kalendar i Schulman 2006), REMAP (Kalendar i in. 1999). Wykorzystano siedemnaście par starterów REMAP: LTRK1/8556, LTRK1/2075, LTRK1/83003, LTRK4/8556, LTRK4/83003, LTRK7/2075, LTRK7/8556, LTRK7/83003, LTRY1/83003, LTRY1/8556, LTRY2/2075, LTRY2/83003, LTRY2/8556, LTRP1/83003, LTRP1/8556, LTRP2/83003, LTRP2/8556 (Yao i in. 2001; Antonius-Klemola i in. 2006; Zhao i in. 2010; Kalendar i Schulman 2014), czternaście par starterów w selektywnej reakcji metodą S-SAP: LTRK1/MseI-ag, LTRK1/MseI-ca, LTRK1/MseI-cc, LTRK1/MseI-tc, LTRK1/MseI-ct, LTRY2/MseI-cag, LTRY2/MseI-ct, LTRY2/MseI-ca, LTRY2/MseI-ca, LTRY2/MseI-ctg, LTRY2/MseI-ag, LTRY2/MseI-ccc, LTRY2/MseI-cct, LTRY2/MseI-ctc (Yao i in. 2001, Zhao i in. 2010) oraz dwadzieścia starterów IRAP: K001, K002, K003, K004, K005, K006, K007, K008, K009, 2087, 2095, 2097, 2175, 2219, 2226, 2241, 2255, 2270, 2274, 2278 (Antonius-Klemola i in. 2006; Kalendar i Schulman 2006).

Produkty amplifikacji rozdzielano elektroforetycznie w 2% żelu agarozowym i wizualizowano w świetle UV, po wybarwieniu amplikonów 0,5% bromkiem etydyny.

Na podstawie uzyskanych wyników obliczono wartość współczynnika SI (Similarity Index) określającego podobieństwo genetyczne (Nei i Li 1979) oraz wartość współczynnika informacji o polimorfizmie PIC (Polymorphism Information Content), na podstawie którego ocenia się przydatność startera do ujawniania polimorfizmu i rozróżniania genotypów (Nei 1973).

WYNIKI I DYSKUSJA

Mróz i przymrozki wiosenne stanowią poważne zagrożenie dla plonowania i jakości owoców w uprawach sadowniczych. Pomimo znacznej wiedzy na temat podłoża fizjologicznego odpowiedzi roślin na stres wywołany

niską temperaturą, mechanizm molekularnej tolerancji na to zjawisko, zwłaszcza u roślin drzewiastych, jest słabo rozpoznany. Prezentowane badania dotyczą oceny zmienności genetycznej, uwarunkowanej przemieszczaniem się elementów transpozonalnych wywołanych stresem niskiej temperatury, w wytypowanych odmianach jabłoni.

Analiza polimorfizmu DNA pozwala na bezpośrednie oszacowanie zróżnicowania genetycznego (Sztuba-Solińska 2005). W przedstawionej pracy, bazując na 51 starterach/parach starterów, przeprowadzono 11040 reakcji amplifikacji. W ich wyniku uzyskano 480 polimorficznych amplikonów o długości od 80 do 3600 pz, różnicujących analizowane odmiany jabłoni (tab. 1, 2, 3).

Tabela 1. Polimorfizm DNA odmian ‘Jonagold’ i ‘Szampion’ zaszczerpionych na podkładkach M.9 i ‘Antonówka’, przemrożonych w -8°C , -10°C i -12°C , uzyskany metodą REMAP

Table 1. Polymorphisms DNA of ‘Jonagold’ and ‘Szampion’ on M.9 and ‘Antonówka’ rootstocks, freezed at -8°C , -10°C and -12°C , obtained by REMAP methods

Starter Primer	Ta*	TB**	PB***	PIC	Długość amplikonów (pz) Band size (bp)
LTRK1/8556	56	1	0	0,0000	100
LTRK1/2075	56	20	11	0,3000	80-2500
LTRK1/83003	56	23	13	0,3000	100-2200
LTRK4/8556	56	20	4	0,1000	100-2000
LTRK4/83003	56	22	10	0,3100	100-2200
LTRK7/2075	56	20	9	0,2100	100-2200
LTRK7/8556	56	21	8	0,1200	100-2200
LTRK7/83003	56	23	9	0,1200	100-2000
LTRY1/83003	56	28	16	0,3200	100-2200
LTRY1/8556	56	25	14	0,3100	100-2200
LTRY2/2075	56	12	7	0,1100	80-2200
LTRY2/83003	56	14	8	0,1200	80-2000
LTRY2/8556,	56	22	12	0,2100	80-2200
LTRP1/83003	56	19	12	0,2100	120-3200
LTRP1/8556	56	16	10	0,2100	100-3000
LTRP2/83003	56	18	12	0,3100	100-3600
LTRP2/8556	56	23	16	0,3200	500-3500

*Temp. przyłączenia startera/ Annealing temperature

**Liczba zamplifikowanych fragmentów DNA/ Number of amplified DNA bands

***Liczba polimorficznych fragmentów DNA/ Number of polymorphic DNA bands

^b Współczynnik informacji o polimorfizmie/ Polymorphic information content

Największy procentowy udział fragmentów polimorficznych – 64% uzyskano metodą IRAP. Dla dwóch pozostałych metod udział polimorficznych produktów amplifikacji był nieznacznie niższy i wynosił odpowiednio REMAP – 52% i S-SAP – 46%. W reakcji ze starterami LTRK1/8556 (REMAP) oraz ze starterami LTRY2/MseI-ag i LTRY2/MseI-ctc (S-SAP) otrzymano wyłącznie produkty monomorficzne (tab. 1, 2). Zakres wartości współczynnika PIC, w zależności od zastosowanej metody, wynosił od 0,1200 do 0,5100/IRAP, od 0,2600 do 0,3125/SSAP i od 0,1000 do 0,3200/REMAP. Najwyższą średnią wartość PIC uzyskano metodą IRAP (0,3377), natomiast najniższą metodą SSAP (0,2485) (tab. 1, 2, 3). Podobne wartości PIC prezentowali Castro i in. (2012) podczas badań odmian i klonów winorośli (metoda IRAP – 0,2958, REMAP – 0,2647-0,3093, SSAP: – 0,2958-0 3034) oraz Mandoulakani i in. (2015) w badaniach nad genotypami lucerny siewnej (metoda IRAP – 0,12-0,25, REMAP – 0,06-0,31). Zakres wartości współczynnika podobieństwa genetycznego, w zależności od zastosowanej metody, wynosił od 0,66 do 0,98/S-SAP, od 0,46 do 0,83/REMAP i od 0,34 do 0,84/IRAP.

Tabela 2. Polimorfizm DNA odmian ‘Jonagold’ i ‘Szampion’ zaszczeplonych na podkładkach M.9 i ‘Antonówka’, przemrożonych w -8°C , -10°C i -12°C , uzyskany metodą S-SAP

Table 2. Polymorphisms DNA of ‘Jonagold’ and ‘Szampion’ on M.9 and ‘Antonówka’ rootstocks, freezed at -8°C , -10°C and -12°C , obtained by S-SAP methods

Starter Primer	Ta*	TB**	PB***	PIC ^b	Długość amplikonów (pz) Band size (bp)
LTRK1/MseI-ag	56	14	3	0,3093	250-2800
LTRK1/MseI-ca	56	18	6	0,3120	250-2800
LTRK1/MseI-cc	56	19	8	0,3086	250-2800
LTRK1/MseI-tc	56	20	10	0,2836	400-3000
LTRK1/MseI-ct	56	21	14	0,2806	250-2800
LTRY2/MseI-cag	56	31	16	0,3033	400-2100
LTRY2/MseI-ct	56	29	17	0,3125	250-2200
LTRY2/MseI-ca	56	25	11	0,2900	400-2000
LTRY2/MseI-ca	56	19	10	0,3100	250-2300
LTRY2/MseI-ctg	56	12	6	0,2100	400-2000
LTRY2/MseI-ag	56	5	0	0,0000	250-2200
LTRY2/MseI-ccc	56	14	4	0,2600	400-2000
LTRY2/MseI-cct	56	8	5	0,3000	250-2200
LTRY2/MseI-ctc	56	4	0	0,0000	200-2000

Objaśnienia patrz tabela 1; Note see Table 1

Tabela 3. Polimorfizm DNA odmian ‘Jonagold’ i ‘Szampion’ zaszczeplonych na podkładkach M.9 i ‘Antonówka’, przemrożonych w $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ i $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$, uzyskany metodą IRAP

Table 3. Polymorphisms DNA of ‘Jonagold’ and ‘Szampion’ on M.9 and ‘Antonówka’ rootstocks, freezed at $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$, obtained by IRAP methods

Starter Primer	Ta*	TB**	PB***	PIC ^b	Długość amplikonów (pz)
					Band size (bp)
K001	50	12	9	0,3101	1000-3000
K002	51	11	8	0,2700	700-1800
K003	59	9	6	0,1328	1200-2500
K004	63	4	1	0,1200	900-2000
K005	65	20	10	0,4306	250-2800
K006	63	10	7	0,3108	400-3000
K007	65	15	10	0,3310	250-3000
K008	55	20	12	0,5100	300-2600
K009	53	12	7	0,3120	500-2500
2087	53	20	16	0,4000	450-2500
2095	54	18	12	0,2909	400-3000
2097	55	10	5	0,2510	900-2000
2175	52	20	10	0,4500	300-2500
2219	50	22	16	0,5108	350-1600
2226	52	15	8	0,4304	900-2000
2241	56	14	9	0,3900	400-3000
2255	51	17	10	0,3210	700-2500
2270	52	20	12	0,3427	300-1600
2274	51	20	16	0,2506	850-2500
2278	52	23	16	0,3900	420-1500

Objaśnienia patrz tabela 1; Note see Table 1

Zastosowane w badaniach metody oparte na LTR i starterach specyficznych flankujących analizowany region genomu potwierdzają wykazaną przez Kumar i Hirochika (2001), Schulman i in. (2004) oraz Poczar i in. (2013) ich przydatność w badaniu zmienności genetycznej genomu jabłoni. Mimo wysokiej polimorficzności zastosowanych w pracy markerów molekularnych, zróżnicowanie na poziomie DNA obserwowano między testowanymi odmianami i roślinami tej samej odmiany zaszczeplonymi na różnych podkładkach, natomiast pomiędzy roślinami przemrożonymi i kontrolnymi, należącymi do tej samej odmiany, niezależnie od podkładki, nie stwierdzono polimorfizmu. Stres wywołany temperaturą w za-

kresie od -8 do -12 °C nie spowodował przemieszczenia retrotranspozonów w analizowanych genotypach jabłoni. Brak aktywności transpozonalnej mógł być spowodowany zbyt niskim poziomem stresu, np. za wysoka temperatura przemrażania, zbyt krótki czas mrożenia lub potrzebą przeprowadzenia badań na większej liczbie odmian.

Tabela 4. Liczba polimorficznych amplikonów DNA odmian ‘Jonagold’ i ‘Szampion’, zaszczerpionych na podkładkach M.9 i siewce ‘Antonówka’, zidentyfikowanych metodami IRAP, REMAP i S-SAP

Table 4. Number of polymorphic amplicons of ‘Jonagold’ and ‘Szampion’ on M.9 and ‘Antonówka’ rootstocks, obtained by IRAP, REMAP and S-SAP methods

Metoda Methods	Liczba starterów/ par starterów The number of primers/ pair of primers	JM ¹	JA ²	SzM ³	SzA ⁴
IRAP	20	35	50	55	60
REMAP	17	40	43	47	40
S-SAP	14	27	24	29	30

¹‘Jonagold’ na podkładce M.9/ ‘Jonagold’ on M.9 rootstock

²‘Jonagold’ na podkładce ‘Antonówka’/ ‘Jonagold’ on ‘Antonówka’ rootstock

³‘Szampion’ na podkładce M.9/ ‘Szampion’ on M.9 rootstock

⁴‘Szampion’ na podkładce ‘Antonówka’/ ‘Szampion’ on ‘Antonówka’ rootstock

PODSUMOWANIE

Zastosowane w badaniach metody (IRAP, S-SAP, REMAP) oparte na sekwencjach LTR i starterach specyficznych flankujących analizowany region genomu potwierdziły ich przydatność w badaniu zmienności genetycznej genomu jabłoni. Analiza polimorfizmu DNA uwarunkowanego obecnością elementów transpozonalnych w roślinach 2 odmian jabłoni: ‘Jonagold’ i ‘Szampion’, zaszczerpionych na podkładkach M.9 i ‘Antonówka’, przemrożonych w zakresie temperatur od -8 do -12 °C, wykazała zróżnicowanie genetyczne pomiędzy testowanymi odmianami jabłoni. Najwyższy poziom podobieństwa genetycznego uzyskano przy użyciu metody S-SAP (współczynnik SI: 0,66-0,98). Poziom zróżnicowania genetycznego uzyskany trzema zastosowanymi metodami zależał w większym stopniu od genotypu niż zastosowanej podkładki.

Literatura

- Antonius-Klemola K., Kalendar R., Schulman A.H. 2006. TRIM retrotransposons occur in apple and are polymorphic between varieties but not sports. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 999–1008. DOI: 10.1007/s00122-005-0203-0.
- Bieniek W. 2006. Markery DNA oparte na retrotranspozonach. *Wiadomości Botaniczne* 50(3/4): 15–24.
- Callinan P.A., Batzer M.A. 2006. Retrotransposable elements and human disease. *Genome Dynamics* 1: 104–115. DOI: 10.1159/000092503.
- Castro I., D’Onofrio C., Martín J.P., Oritz J.M., Lorenzis G.D., Ferreira V., Olinda P.C. 2012. Effectiveness of AFLPs and retrotransposon-based markers for the identification of Portuguese grapevine cultivars and clones. *Molecular Biotechnology* 52(1): 26–39. DOI: 10.1007/s12033-011-9470-y.
- De Felice B., Wilson R.R., Argenziano C., Kafantaris I., Conicella C. 2009. A transcriptionally active *cop*ia-like retroelement in *Citrus limon*. *Cellular and Molecular Biology Letters* 14: 289–304. DOI: 10.2478/s11658-008-0050-5.
- Doyle J.J., Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13–15.
- Flavell A.J., Smith D.B., Kumar A. 1992. Extreme heterogeneity of *Ty1-copia* group retrotransposons in plants. *Molecular and General Genetics* 231: 233–242. DOI: 10.1007/BF00279796.
- Grandbastien M.-A. 1998. Activation of plant retrotransposons under stress conditions. *Trends in Plant Science* 3: 181–187. DOI: 10.1016/S1360-1385(98)01232-1.
- Grandbastien M.-A., Audeon C., Bonnivard E., Casacuberta J.M., Chalhoub B., Costa A.P.P. i in. 2005. Stress activation and genomic impact of Tnt1 retrotransposons in Solanaceae. *Cytogenetic and Genome Research* 110: 229–241. DOI: 10.1159/000084957.
- Hashida S.-N., Uchiyama T., Martin C., Kishima Y., Sano Y., Mikami T. 2006. The temperature-dependent change in methylation of the *Antirrhinum* transposon Tam3 is controlled by the activity of its transposase. *Plant Cell* 18: 104–118. DOI: 10.1105/tpc.105.037655.
- Hedges D.J., Deininger P.L. 2007. Inviting instability: Transposable elements, double-strand breaks, and the maintenance of genome integrity. *Mutation Research* 616: 46–59. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2006.11.021.
- Kalendar R., Grob T., Regina M., Suoniemi A., Schulman A. 1999. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 704–711. DOI: 10.1007/s001220051124.

- Kalendar R., Schulman A.H. 2006. IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting. *Nature Protocols* 1: 2478–2484. DOI: 10.1038/nprot.2006.377.
- Kalendar R., Schulman A.H. 2014. Transposon-based tagging: IRAP, REMAP, and iPBS. *Methods in Molecular Biology* 1115: 233–255. DOI: 10.1007/978-1-62703-767-9_12.
- Kumar A., Hirochika H. 2001. Applications of retrotransposons as genetic tools in plant biology. *Trends in Plant Science* 6: 127–134. DOI: 10.1016/s1360-1385(00)01860-4.
- Lisch D. 2013. How important are transposons for plant evolution? *Nature Reviews Genetics* 14: 49–61. DOI: 10.1038/nrg3374.
- Mandoulakani B.A., Sadigh P., Azizi H., Piri Y., Nasri Sh., Arzhangh S. 2015. Comparative assessment of IRAP, REMAP, ISSR, and SSR markers for evaluation of genetic diversity of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology* 17: 999–1010.
- Melnikova N.V., Kudryavtseva A.V., Speranskaya A.S., Krinitsina A.A., Dmitriev A.A., Belenikin M.S. i in. 2012. The *FaRE1* LTR-retrotransposon based SSAP markers reveal genetic polymorphism of strawberry (*Fragaria × ananassa*) cultivars. *Journal of Agricultural Science* 4: 111–118. DOI: 10.5539/jas.v4n11p111.
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 70(12): 3321–3323. DOI: 10.1073/pnas.70.12.3321.
- Nei M., Li W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76(10): 5269–5273. DOI: 10.1073/pnas.76.10.5269.
- Poczai P., Varga I., Laos M., Cseh A., Bell N., Valkonen J.P.T., Hyvönen J. 2013. Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. *Plant Methods* 9: 6, 31 s. DOI 10.1186/1746-4811-9-6.
- Schulman A.H., Flavell A.J., Ellis T.H.N. 2004. The application of LTR retrotransposons as molecular markers in plants. *Methods in Molecular Biology* 260: 145–173. DOI: 10.1385/1-59259-755-6:145.
- Steward N., Ito M., Yamaguchi Y., Koizumi N., Sano H. 2002. Periodic DNA methylation in maize nucleosomes and demethylation by environmental stress. *Journal of Biological Chemistry* 277: 37741–37746. DOI: 10.1074/jbc.M204050200.
- Sztuba-Solińska J. 2005. Systemy markerów molekularnych i ich zastosowanie w hodowli roślin. *Kosmos* 54(2–3): 227–239.
- Voytas D.F., Cummings M.P., Konieczny A., Ausubel F.M., Rodermel S.R. 1992. *Copia*-like retrotransposons are ubiquitous among plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89(15): 7124–7128. DOI: 10.1073/pnas.89.15.7124.

-
- Waugh R., McLean K., Flavell A.J., Pearce S.R., Kumar A., Thomas B.B.T., Powell W. 1997. Genetic distribution of Bare-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by sequence-specific amplification polymorphisms (S-SAP). *Molecular and General Genetics* 253: 687–694. DOI: 10.1007/s004380050372.
- Yao J.L., Dong Y.H, Morris B.A.M. 2001. Parthenocarpic apple fruit production conferred by transposon insertion mutations in a MADS-box transcription factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(3): 1306–1311. DOI: 10.1073/pnas.031502498.
- Zhao Q., Gallego-Giraldo L., Wang H., Zeng Y., Ding S.-Y., Chen F., Dixon R.A. 2010. An NAC transcription factor orchestrates multiple features of cell wall development in *Medicago truncatula*. *Plant Journal* 63: 100–114. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2010.04223.x.