

ACCADEMIA NAZIONALE DELLE SCIENZE
detta dei XL

SCRITTI E DOCUMENTI
XLIV

**Trasferimento di geni
dalla specie selvatica *D. villosum* al frumento
per aumentarne l'adattamento ai sistemi agrari sostenibili**

*Risultati ottenuti dalla collaborazione scientifica
tra Università italiane e l'Università della California*

**Transferring genes
from the wild species *D. villosum* to wheat
for increasing adaptation to sustainable agricultural systems**

*Results from the research collaboration between
Italian Universities and the University of California*

a cura di
CIRO DE PACE



ROMA 2011

© Copyright 2011

ACCADEMIA NAZIONALE DELLE SCIENZE DETTA DEI XL
ROMA

ISSN 03-91-4666

ACCADEMIA NAZIONALE DELLE SCIENZE DETTA DEI XL
00161 Roma - Via L. Spallanzani, 7



Convegno per la presentazione dei risultati del progetto:

Workshop for the presentation and disussion of the results obtained from the MiPAAF Project:

FRUMIGEN*

Ottimizzazione, diversificazione ed incremento della produttività del frumento tenero: costituzione di anfiploidi e linee derivate da ibridazione intergenerica

Triticum sp. x Dasypyrum villosum

Diversification and optimization of bread wheat productivity through the synthesis of amphiploids and introgression inbred lines from Triticum sp. x Dasypyrum villosum intergeneric hybridization.



La biodiversità del *Dasypyrum villosum* per il miglioramento genetico del frumento e per la tutela dell'ambiente rurale

Role of Dasypyrum villosum in bread wheat genetic improvement and rural landscape ecology



Roma, 8 maggio 2009

**Biblioteca dell'Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL,
Via L. Spallanzani 1/A
Rome, May 8th 2009
Library of the National Academy of Sciences 'of the Forty'
Via L. Spallanzani 1/A**

* Programma triennale svolto grazie al contributo finanziario da parte del MiPAAF (DM 292/7303/05 del 12/10/2005), ultimato il 30/06/2009, dopo proroga concessa con DM 13533/7303/08 del 21/10/2008.

Research carried-out thanks to the financial contribution of MiPAAF (Italian Ministry for Agricultural Environmental and Forestry Policy (Decree 292/7303/05 issued October 12, 2005)

MARIA EUGENIA CACERES¹ – MARILENA CECCARELLI¹
CIRO DE PACE² – PIER GIORGIO CIONINI¹

Citogenetica di ibridi fra *Triticum aestivum* e *Dasypyrum villosum* e di linee da essi derivate*

Summary – In the course of a research aimed at the genetic improvement of wheat through intergeneric hybridization, 24 inbred breeding lines obtained by the hybridization of *Triticum aestivum* cv. ‘Chinese Spring’ (CS) or *T. turgidum* ssp. *durum* cv. ‘Modoc’ followed by backcross to CS have been characterized cytogenetically. Some lines were found to have the same karyotype as CS. In other lines, karyological events such as chromosome additions, chromosome substitutions, recombinations between parental genomes or between the homoeologous genomes of wheat were observed. These findings, which were in part unexpected and even surprising, show that a careful cytogenetic characterization of wheat hybrids is necessary to understand factors and mechanisms that play a role in determining the structure of their karyotype, and then to choose strategies for the genetic improvement of wheat by interspecific and/or intergeneric hybridization.

Key words: Cytogenetics, FISH, GISH, karyotype, genomes, *Triticeae*, hybrids.

Abbreviazioni: CS, *Triticum aestivum* L. cv. ‘Chinese Spring’; M, *Triticum turgidum* spp. *durum* Desf., cv. ‘Modoc’; Dv, *Dasypyrum villosum* (L.) Candargy, DAPI, 4,6-diamidino-2-phenylindole; GISH, genomic *in situ* hybridization; FISH, fluorescent *in situ* hybridization.

¹ Dipartimento di Biologia Cellulare e Ambientale, Sezione di Biologia Cellulare e Molecolare, Università degli Studi di Perugia, Via Elce di Sotto, 06123 Perugia, +390755855745; fax: +390755855759; e-mail: eugecaceres@yahoo.com.ar

² Dipartimento di Agrobiologia e Agrochimica, Università della Tuscia, Via S. Camillo de Lellis, 01100 Viterbo.

* Paper presented at the Workshop organized for the discussion of the results obtained from the MiPAAF Project: FRUMIGEN, Diversification and optimization of bread wheat productivity through the synthesis of amphiploids and introgression inbred breeding lines from *Triticum* sp. × *Dasypyrum villosum* intergeneric hybridization. Friday May 8th 2009, Library of the National Academy of Sciences “of the Forty”, Scuderie Vecchie di Villa Torlonia, Via L. Spallanzani 1/A, Rome, Italy.

INTRODUZIONE

L'ibridazione interspecifica ed intergenerica ha contribuito in maniera significativa ai progressi ottenuti nel miglioramento genetico delle piante agrarie, perché consente il trasferimento di interi genomi o di loro parti da una specie ad un'altra, con la conseguente possibile introgressione nelle specie coltivate di geni agronomicamente utili. Un aspetto chiave della selezione che viene operata successivamente all'incrocio consiste nella caratterizzazione del complemento cromosomico che risulti negli ibridi e nella individuazione per questa via di quelli caratterizzati da stabilità genetica. Anomalie cromosomiche di varia natura con conseguenti problemi di sterilità totale o parziale dovuta ad anomalie cromosomiche di varia natura quali addizioni, delezioni o sostituzioni di cromosomi [2, 13, 16, 17] e riarrangiamenti quali traslocazioni o inversioni, sono infatti molto frequenti negli ibridi, soprattutto quando sono coinvolte specie filogeneticamente non vicine.

Varie specie di frumento sono state incrociate tra di loro nel tentativo di trasferire alle varietà coltivate caratteri utili quali l'alta capacità produttiva, la precocità a stress biotici e abiotici. Allo stesso scopo sono stati effettuati incroci tra frumenti e specie appartenenti a generi diversi quali *Aegilops*, *Agropyrum*, *Dasyphyrum*, *Secale* [10]. *D. villosum* è riconosciuto essere un possibile donatore di svariati geni utili per il miglioramento del frumento [15] fra i quali quelli che determinano la resistenza alla ruggine del fusto e della foglia [11], e all'oidio [7, 14], la qualità e quantità delle proteine di riserva del seme [8] e la qualità della farina [10].

Nell'ambito di un progetto per il miglioramento genetico del frumento finalizzato alla costituzione di varietà con caratteristiche superiori, sono state condotte analisi citogenetiche su una serie di linee ottenute da ibridazione di grano tenero e duro con *D. villosum*.

I risultati ottenuti sono presentati in questo lavoro.

MATERIALI E METODI

Materiale vegetale

Il materiale oggetto di studio è costituito da linee derivanti dal reincrocio di ibridi *Triticum aestivum* L. cv. 'Chinese Spring' (CS) $\times$ *Dasyphyrum villosum* L. Candargy (*Dv*) o *T. turgidum* ssp. *durum* Desf. cv. 'Modoc' (M) $\times$ *Dv*, con CS (Tabella 1).

Semi (cariossidi) sono stati fatti germinare su carta bibula imbibita con acqua distillata in piastre Petri alla temperatura di 20°C. Le plantule sono state impiegate per le analisi citogenetiche, o fatte crescere in serra.

Foglie di piante adulte di *Dv*, CS, M, *T. urartu*, *Aegilops speltoides* e *Ae. squarrosa* sono state utilizzate per l'estrazione del DNA genomico.

TABELLA 1 – Elenco delle linee di frumento analizzate, ottenute da ibridazione intergenerica e mantenute per autofecondazione.

A		B	
Sigle originali	Abbreviazione	Sigle originali	Abbreviazione
13. CS × V58 s93	CS × V58a	Mutante (41-3)-01	MV-01
23. CS × V58 s93	CS × V58b	Mutante (8-1)-01	MV-02
5. CS × V59 s93	CS × V59a	Mutante 1-04	MV-03
10. CS × V59 1-95	CS × V59b	Mutante 3-04	MV-04
16. CS × V60 s93	CS × V60a	Nuovo Mut. 2-04	MV-05
21. CS × V60 s93	CS × V60b	Nuovo Mut. 3-04	MV-06
4. CS × V63 95-97	CSV63a	Nuovo Mut. 5-04	MV-07
14. CS × V63 1.95	CSV63b	Nuovo Mut. 13-04	MV-08
34. CS × V32 v623-3	CSV32a	3. Mut 9.99/Orig.IR	MV-09
34. CS × V32 v623-3 Fila 4 pt 1	CSV32b	5. Mut. 33-92/1-200 Gigas orig	MV-10
33. CS × V32 v616-1	CSV32c	Mut 3.99	MV-11
33. CS × V32 v616-1 Fila 2 pt 3	CSV32d		
9. CS-1BL/1VS 1.98	CS1V(1B)		

A, [*Triticum aestivum* L. cv. 'Chinese Spring' (CS; 2n=6x=42; genoma AABBDD) × *Dasyphyrum villosum* L. Candargy (Dv; 2n=2x=14 genoma VV) × CS. Le lettere al termine delle abbreviazioni indicano progenie discendenti da singole spighe (linee sorelle).

B, [*Triticum turgidum* ssp. *durum* Desf. cv. 'Modoc' (2n=4x=28 genoma AABB) × Dv] × CS.

Allestimento dei preparati

Apici di radici seminali sono stati trattati con alfa-bromonaftalina per 6 ore, fissati in una miscela di etanolo-acido acetico glaciale 3:1 (v/v) e conservati a 4°C fino alla loro utilizzazione.

Per l'allestimento dei preparati citologici, gli apici fissati sono stati lavati con un tampone costituito da citrato di sodio 6 mM e acido citrico 4 mM, pH 4,8, per 20 minuti a temperatura ambiente in agitazione e trattati con una miscela enzimatica costituita da pectinasi 10% e cellulasi 6% per un tempo variabile da 60 a 90 minuti. Il materiale è stato quindi nuovamente lavato nel tampone ed i meristemi sono stati schiacciati in una goccia di acido acetico 60% sotto un vetrino coprioggetto fatto poi saltare dopo un rapido congelamento a -80°C. I preparati sono stati quindi fatti essiccare a 37°C e conservati a temperatura ambiente fino al loro uso.

Estrazione e marcatura del DNA

Il DNA genomico è stato estratto da foglie e purificato come indicato da Delaporta *et al.* [6]. La marcatura è stata effettuata mediante “nick translation”, utilizzando digossigenina-11-dUTP o biotina-16-dUTP.

Ibridazione in situ

Per l'ibridazione *in situ* di DNA genomico (GISH), è stato integralmente seguito il metodo descritto da Minelli *et al.* [12]. L'ibridazione citologica (FISH) di una sonda di DNA specifica isolata dal genoma di *Dv* e costituita da sequenze specifiche di DNA satellite [9], è stata condotta secondo Schwarzacher *et al.* [18].

RISULTATI E DISCUSSIONE

I risultati ottenuti sono riassunti nella Tabella 2. Le linee CS $\times$ V58, CS $\times$ V59 e CS $\times$ V60 hanno mostrato 42 cromosomi del tutto simili a quelli di CS, senza che la GISH evidenziasse nel complemento cromosomi o cromatina di *Dv*. Neppure l'ibridazione (FISH) della sonda di DNA ripetuto specie-specifica per *Dv* ha rivelato introgressione di DNA di questo parentale nel genoma delle tre linee. Questo risultato è apparso sorprendente, in relazione al fatto che le linee analizzate mostrano alcuni caratteri fenotipici propri di *Dv* [3, 4, 5]. I risultati dello studio condotto da Caceres *et al.* [4] hanno tuttavia mostrato che sequenze di *Dv* non rilevabili citologicamente sono presenti nel genoma di questi ibridi.

Delle linee CSV63, CS1V(1B) e CSV32, già caratterizzate cariologicamente da Minelli *et al.* [12], è stata verificata la stabilità. Le prime due linee sono risultate stabili. La linea CSV63 si è confermata una linea di addizione (Fig. 1a), in cui i cromosomi di *Dv* introgressi costituiscono la VI coppia del complemento, che reca i determinanti genetici della resistenza all'oidio [20]. La linea CS1V(1B) ha evidenziato una traslocazione fra il braccio lungo della I coppia cromosomica di CS ed il braccio corto della I coppia di *Dv* (Fig. 1b). Questa linea è interessante perché sulla prima coppia cromosomica di *Dv* è localizzato un gene che codifica per una specifica glutenina che migliora la qualità della farina [3, 10]. La linea CSV32 si è dimostrata invece instabile, poiché l'assetto cromosomico varia, nelle linee sorelle, fra la sostituzione disomica o monosomica di cromosomi che recano il genoma B di frumento con cromosomi appartenenti alla coppia 6V di *Dv* (Fig. 1c) e la completa assenza di cromosomi o cromatina di *Dv* (Fig. 1d).

Sono state anche analizzate undici linee derivanti dagli incroci (*T. turgidum* $\times$ *D. villosum*) $\times$ *T. aestivum*. La maggioranza di queste linee è stata trovata avere uno stabile complemento cromosomico $2n=42$. La linea MV-03 ha presentato invece stabilmente 28 cromosomi e la linea MV-08 42 o 28 cromosomi in piante diverse (Tabella 2). È interessante notare che, sia nella linea MV-03 che nelle

TABELLA 2 – Risultati delle analisi citogenetiche effettuate.

Linee	Numero di piante analizzate	Numero cromosomico	Evento cariologico osservato	Coppia cromosomica di <i>Dv</i> coinvolta	Genoma di frumento coinvolto	Figura
CS × V58a	5	42	Nessun evento osservabile	–	–	–
CS × V58b	5	42	Nessun evento osservabile	–	–	–
CS × V59a	5	42	Nessun evento osservabile	–	–	–
CS × V59b	3	42	Nessun evento osservabile	–	–	–
CS × V60a	5	42	Nessun evento osservabile	–	–	–
CS × V60b	5	42	Nessun evento osservabile	–	–	–
CSV63a	5	44	Addizione disomica	VI	–	1a
CSV63b	5	44	Addizione disomica	VI	–	–
CS1V(1B)	5	42	Traslocazione	I	B	1b
CSV32a	3	42	Sostituzione disomica	–	B	–
CSV32b	6	42	Sostituzione disomica	–	B	–
CSV32c	4	41	Sostituzione e delezione monosomica	–	B	1c
	5	42	Nessun evento osservabile	–	–	1d
CSV32d	5	42	Nessun evento osservabile	–	–	–
MV-01	3	42	Ricombinazione	–	A, B	2
MV-02	6	42	Ricombinazione	–	A, B	–
MV-03	6	28	Ricombinazione	–	A, B	–
MV-04	2	42	Nessun evento osservabile	–	–	–
MV-05	5	42	Ricombinazione	–	B o D, A	3a
MV-06	4	42	Ricombinazione	–	A, B	–
MV-07	2	42	Nessun evento osservabile	–	–	–
MV-08	4	28	Ricombinazione	–	A, B	4b
	2	42	Nessun evento osservabile	–	–	
MV-09	4	42	Ricombinazione	–	B o A, D	3b
MV-10	5	42	Ricombinazione	–	A o D, B	3c
MV-11	6	42	Sostituzione disomica	Due cromosomi <i>Dv</i>	B	4a

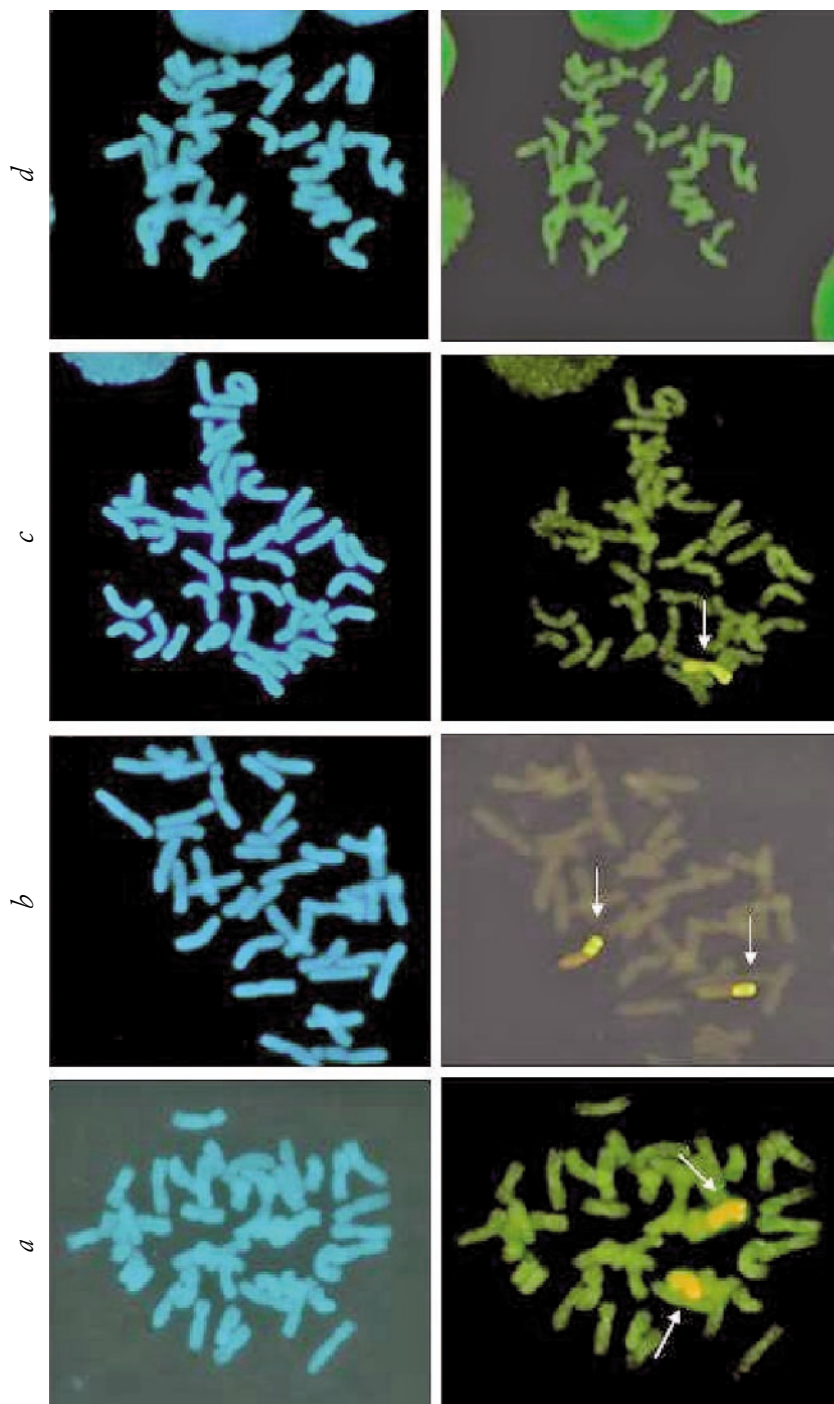


Fig. 1. Piastre metafasiche nel meristema radicale delle linee CSV63 (a), CS1V(1B) (b) e CSV32 (c-d). In alto, colorazione DAPI; in basso, GISH con DNA di *Dv* marcato (verde; FITC) e di *T. aestivum* usato come DNA bloccante. Le frecce indicano cromosomi (a, c) o bracci cromosomici (b) di *Dv*. ($\times 1.600$).

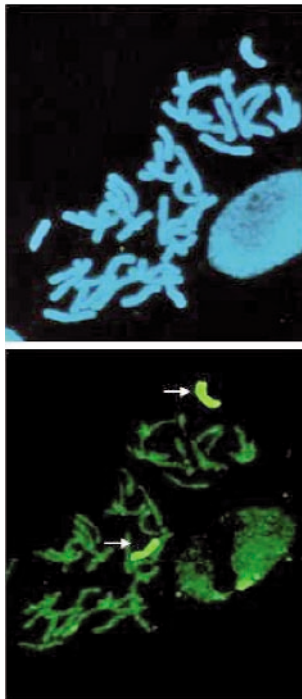


Fig. 2. Piastra metafasica nel meristema radicale della linea MV-11. In alto, colorazione DAPI; in basso, GISH con DNA di *Dv* marcato (verde; FITC) e di *T. aestivum* usato come DNA bloccante. Le frecce indicano cromosomi di *Dv*. $\times 1600$.

piante della linea MV-08 con 28 cromosomi, non è stata rilevata alcuna traccia del genoma D di CS, che è stato quindi negativamente selezionato in questi ibridi.

In dieci delle linee analizzate (MV-01 - MV-10; Tabella 2) non è stata evidenziata introgressione di cromosomi o cromatina di *Dv*, né dopo GISH né dopo ibridazione con la sonda di DNA specie-specifica per *Dv*. La linea MV-11 è stata invece trovata essere una linea di sostituzione disomica, in cui una coppia di cromosomi di *Dv* ha sostituito una coppia dei cromosomi del genoma B di frumento (Fig. 2).

In due delle dieci linee che non mostrano introgressione di materiale genetico di *Dv* non è stato possibile osservare l'occorrenza di alcun evento cariologico; queste due linee sembrano perciò avere lo stesso corredo cromosomico di CS. Nelle altre otto linee sono state invece osservate ricombinazioni fra i tre genomi presenti nel frumento: fra i genomi A e B nelle linee MV-02, MV-03, MV-06, MV-08, MV-01 (Fig. 3), fra i genomi A e B o D nella linea MV-05 (Fig. 4a), fra i genomi D e A o B nella linea MV-09 (Fig. 4b), fra i genomi B e A o D nella linea MV-10 (Fig. 4c). Come già osservato da Akhunov *et al.* [1], queste ricombinazioni interessano preferenzial-

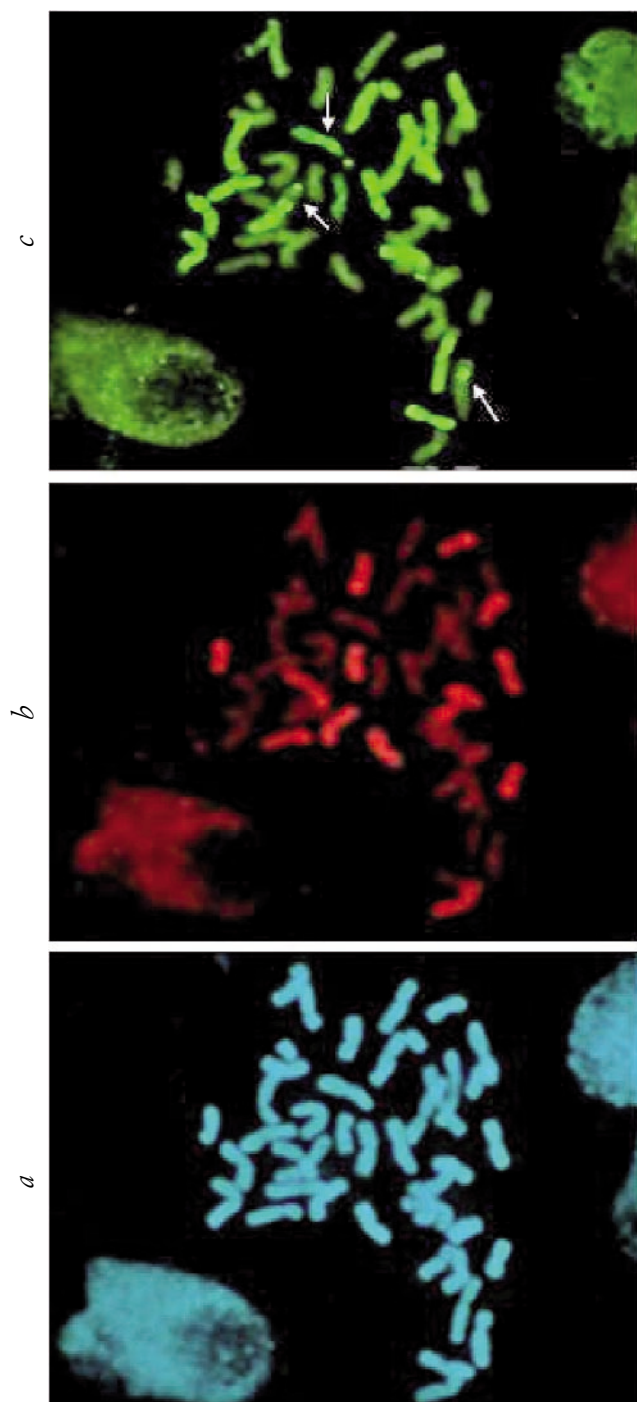


Fig. 3. Piastra metafasica nel meristema radicale della linea MV-01. Colorazione DAPI (a); GISH con DNA di *Ae. squarrosa* marcato (genoma D; rosso, Cy3) e *T. durum* utilizzato come DNA bloccante (b); GISH con DNA di *Ae. speltoides* marcato (genoma B; verde FICT) e *T. urartu* utilizzato come DNA bloccante (c). Le frecce indicano ricombinazione fra porzioni dei genomi B ed A. $\times 1.600$.

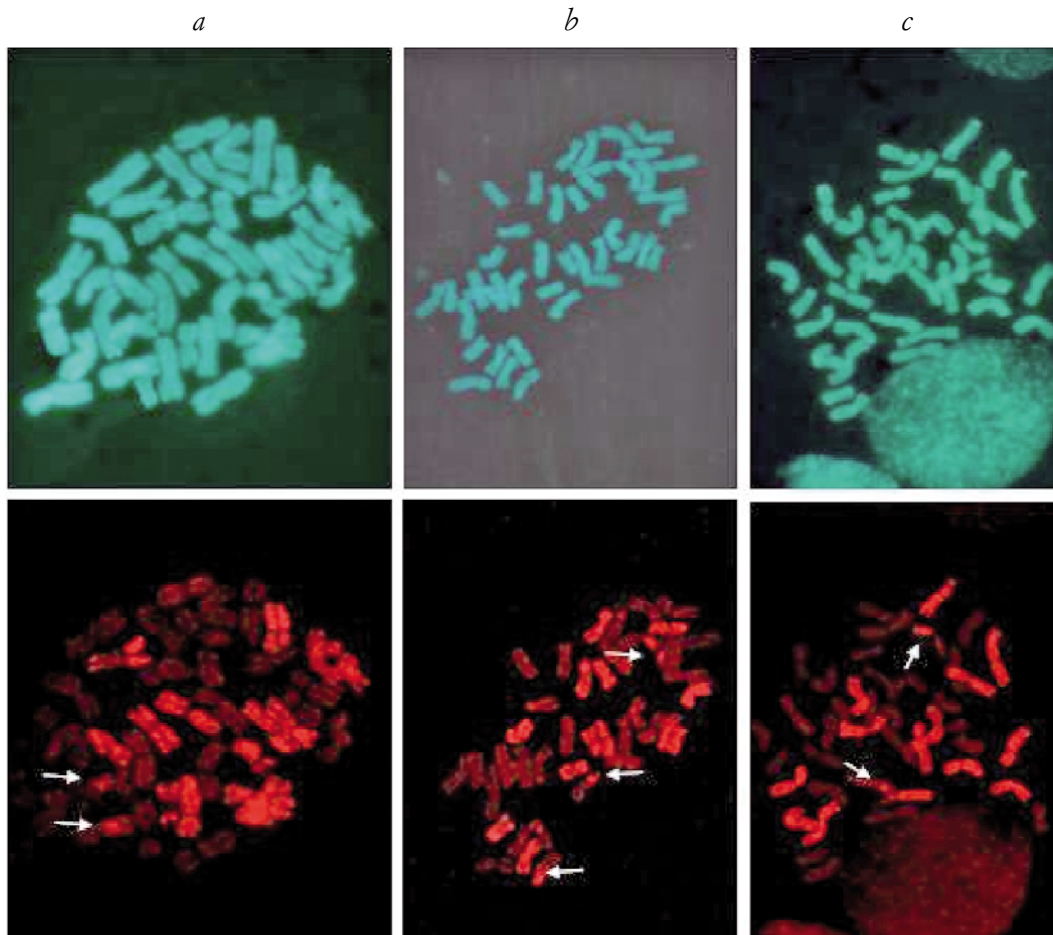


Fig. 4. Piastre metafasiche nel meristema radicale delle linee MV-05 (a), MV-09 (b), e MV-10 (c). In alto, colorazione DAPI; in basso, GISH in cui il DNA marcato è stato rilevato con Cy3 (rosso). In (a), DNA di *T. urartu* marcato (genoma A) e *Ae. speltoides* (genoma B) ed *Ae. squarrosa* (genoma D) utilizzati come DNA bloccanti; in (b) DNA di *Ae. squarrosa* marcato (genoma D) e *T. durum* come DNA bloccante; in (c) DNA marcato di *Ae. speltoides* usato come sonda (genoma B) e *T. urartu* (genoma A) ed *Ae. squarrosa* (genoma D) come DNA bloccanti. Le frecce indicano ricombinazione fra i genomi A, B, D di *T. aestivum*. (a) $\times 1600$; (b-c) $\times 1400$.

mente le regioni distali dei cromosomi. Alcune di queste linee mostrano caratteristiche fenotipiche diverse da CS ed agronomicamente interessanti. Ad esempio, la farina che si ottiene dalle cariossidi della linea MV-01 ed il pane che se ne ricava, sono per alcuni aspetti migliori rispetto a CS (Vaccino *et al.*, [19]).

Queste caratteristiche, in assenza della dimostrazione che non vi è stata introduzione criptica di DNA di *Dv*, sembrano dovute proprio alle ricombinazioni osservate.

Riassunto – Nell’ambito di un progetto per il miglioramento genetico del frumento finalizzato alla costituzione di linee ibridogene con caratteristiche superiori, sono state condotte analisi citogenetiche su ventiquattro linee ottenute attraverso ibridazione intergenerica fra *Triticum aestivum* cv. ‘Chinese Spring’ (CS) o *T. turgidum* ssp. *durum* cv. ‘Modoc’ con *Dasypyrum villosum* ed il reincrocio con CS. Mentre alcune linee hanno mostrato un cariotipo del tutto simile a quello di CS, in altre sono stati osservati eventi citologici quali addizioni o sostituzioni cromosomiche e ricombinazioni fra i genomi parentali o i genomi omeologhi del frumento. I risultati ottenuti, in parte inattesi e perfino sorprendenti, mostrano come una attenta caratterizzazione citogenetica degli ibridi intergenerici di frumento sia necessaria per la comprensione dei fattori e meccanismi che determinano la costituzione del loro genotipo e quindi per la scelta di strategie per il miglioramento genetico del frumento attraverso l’ibridazione interspecifica e intergenerica.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Akhunov E.D., A.W. Goodyear, S. Geng, L.L. Qi, B. Echallier, B.S. Gill, M. Muftahudin, J.P. Gustafson, G. Lazo, S. Chao, O.D. Anderson, A.M. Linkiewicz, J. Dubcovsky, M. La Rota, M.E. Sorrells, D. Zhang, H.T. Nguyen, V. Kalavacharla, K. Hossain, S.F. Kianian, J. Peng, N.L.V. Lapitan, J.L. Gonzalez-Hernandez, J.A. Anderson, D.W. Choi, T.J. Close, M. Dilbirli, K.S. Gill, M.K. Walker Simmons, C. Steber, P.E. McGuire, C.O. Qualset, J. Dvorak, 2010. The organization and rate of evolution of wheat genomes are correlated with recombination rates along chromosomes arms. *Genome Res.*, 13: 753-763.
- [2] Badaeva E.D., O.S. Dedkova, G. Gay, V.A. Pukhalskyi, A.V. Zelenin, S. Bernard, M. Bernard, 2007. Chromosomal rearrangements in wheat: their types and distribution. *Genome*, 50: 907-926.
- [3] Blanco A., P. Resta, R. Simeone, S. Parmar, P.R. Shewry, P. Sabelli, D. Lafiandra, 1991. Chromosomal location of seed storage protein genes in the genome of *Dasypyrum villosum* (L.) Candargy. *Theor. Appl. Genet.*, 82: 358-362.
- [4] Caceres M.E., P. Vaccino, M. Corbellini, P.G. Cionini, V. Sarri, E. Polizzi, D. Vittori, C. De Pace, 2008. Flowering earliness in wheat inbred breeding lines derived from *T. aestivum* ‘Chinese Spring’ × *Dasypyrum villosum* hybridization is not related to allelic variation at the vernalization loci VRN-A1, VRN-B1 and VRN-D1. In: *Modern variety breeding for present and future needs*, (J. Prohens, M.L. Badenes, ed.), Editoria Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, Spain, 329-334.
- [5] Caceres M.E., P. Vaccino, M. Ceccarelli, V. Sarri, E. Polizzi, C. De Pace, P.G. Cionini, 2011. Introgressione criptica di DNA parentale in linee di frumento derivate da ibridazione intergenerica fra *Triticum aestivum* e *Dasypyrum villosum*. In: *‘Trasferimento di geni dalla specie selvatica D. villosum al frumento per aumentarne l’adattamento ai sistemi agrari sostenibili: Risultati ottenuti dalla collaborazione scientifica tra Università italiane e l’Università della California’*. Collana ‘Scritti e Documenti’ XLIV, pp. 201-211, Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL, Roma.
- [6] Dellaporta S.L., J. Wood, J.B. Hicks, 1983. A plant DNA miniprep: version II. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 1: 19-21.
- [7] De Pace C., L. Montebove, V. Delre, C.C. Jan, C.O. Qualset, G.T. Scarascia Mugnozza, 1988. Biochemical versatility of amphyploids derived from crossing *Dasypyrum villosum* Candargy and wheat; genetic control and phenotypical aspects. *Theor. Appl. Genet.*, 76: 513-529.

- [8] De Pace C., R. Paolini, G.T. Scarascia Mugnozza, C.O. Qualset, V. Delre, 1990. Evaluation and utilization of *Dasyphyrum villosum* as a genetic resource for wheat improvement. In: *Wheat genetic resources: meeting diverse needs*. (J.P. Srivastana, A.B. Damania, ed.), New York, 279-295.
- [9] De Pace C., V. Delre, G.T. Scarascia Mugnozza, C.O. Qualset, R. Cremonini, M. Frediani, P.G. Cionini, 1992. Molecular and chromosomal characterization of repeated and single-copy DNA sequences in the genome of *Dasyphyrum villosum*. *Hereditas*, 116: 55-65.
- [10] De Pace C., D. Snidaro, M. Ciaffi, D. Vittori, A. Ciofo, A. Cenci, O.A. Tanzanella, C.O. Qualset, G.T. Scarascia Mugnozza, 2001. Introgression of *Dasyphyrum villosum* chromatin into common wheat improves grain protein quality. *Euphytica*, 117: 67-75.
- [11] Mariani M., S. Minelli, M. Ceccarelli, P.G. Cionini, C.O. Qualset, C. De Pace, 2003. *Dasyphyrum villosum* chromosome segments introgressed in hexaploid wheat provide opportunities for prebreeding and preparing primary mapping populations for analyzing complex genetics traits. In: *Proc. 10th Int. Wheat Genet. Symp. Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura*, Roma, 613-615.
- [12] Minelli S., M. Ceccarelli, M. Mariani, C. De Pace, P.G. Cionini, 2005. Cytogenetics of *Triticum* × *Dasyphyrum* hybrids and derived lines. *Cytogenet. Genome Res.*, 109: 385-392.
- [13] Nikova V., R. Pundeva, A. Petkova, 1999. *Nicotiana tabacum* L. as a source of cytoplasmic male sterility in interspecific cross with *N. alata*. *Euphytica*, 107: 9-12.
- [14] Qi L.L., M. Cao, P.D. Chen, W. Li, D.J. Liu, 1996. Identification, mapping and application of polymorphic DNA associated with resistance gene *Pm21* of wheat. *Genome*, 39, 191-197.
- [15] Qualset C.O., G.Y. Zhong, C. De Pace, P.E. McGuire, 1993. Population biology and evaluation of genetics resources of *Dasyphyrum villosum*. In: *Biodiversity and Wheat Improvement*. (Damania A.B., ed.), 227-233.
- [16] Ranney T., 2006. Polyploidy: from evolution to new plant development. In: *Proceedings International plant Propagators' Society*. 56: 137-142.
- [17] Salina E.A., I.N. Leonova, T.T. Efremova, M.S. Röder, 2005. Wheat genome structure: translocations during the course of polyploidization. *Functional & Integrative Genomics*, 6: 71-80.
- [18] Schwarzhacher T., A.R. Leitch, M.D. Bennet, J.S. Heslop-Harrison, 1989. *In situ* localization of parental genomes in a wide hybrid. *Ann. Bot.*, 64: 315-324.
- [19] Vaccino P., M. Corbellini, C. De Pace, 2009. Optimizing low input production systems using improved and stable wheat inbred lines arising from a new breeding scheme. In: *International symposium on methodologies for integral analysis of farm production systems*. Monterey, California, USA.
- [20] Zeng Z., T. Fu, Y. Tang, Y. Chen, Z. Ren, 2007. Identification and chromosomal locations of novel genes for resistance to powdery mildew and stripe rust in a wheat line 101-3. *Euphytica*, 156: 89-94.

*Il volume è stato pubblicato grazie al contributo concesso
dalla «Fondazione Carivit», Viterbo*

*This volume has been printed thanks to the financial contribution
of the «Fondazione Carivit», Viterbo*

