

MARIA SURMA  
TADEUSZ ADAMSKI  
KAROLINA KRYSZKOWIAK  
ANETTA KUCZYŃSKA  
KRZYSZTOF MIKOŁAJCZAK  
PIOTR OGRODOWICZ

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, Poznań

## Markery funkcjonalne dla cech ilościowych

### Functional markers for quantitative traits

Badania dotyczące molekularnych podstaw zmienności cech ilościowych są obecnie szeroko podejmowane, zarówno dla roślin, jak i zwierząt czy człowieka. Celem tych badań jest m.in. rozwój systemów markerów funkcjonalnych DNA (FM). Do opracowania markerów FM niezbędne jest więc funkcjonalne scharakteryzowanie wybranych genów i znajomość sekwencji ich alleli, identyfikacja polimorficznych motywów funkcjonalnych w obrębie tych genów i potwierdzenie związku między polimorfizmem sekwencji DNA a zmiennością cechy ilościowej. W pracy przedstawiono przykłady genów kandydujących do opracowania markerów funkcjonalnych: geny półkarłowatości *Dwarf8* u kukurydzy i *denso* u jęczmienia oraz geny *Glu1* kodujące wysokocząsteczkowe podjednostki białek gluteninowych u pszenicy. Przedyskutowano przewagę markerów funkcjonalnych nad markerami sprzężonymi z *loci* dla cech ilościowych.

**Słowa kluczowe:** geny kandydujące, markery molekularne, polimorfizm, QTL

Molecular bases of quantitative trait variation in plant, animal and human populations are currently extensively studied. The aim of those studies is, among others, development of functional markers (FM). Development of FM requires allele sequences of functionally characterized genes, identification of polymorphic, functional motifs within genes and confirmation of association between DNA sequence polymorphism and variation of quantitative traits. In the paper examples of candidate genes for FM development are presented: semidwarf genes *Dwarf8* in maize and *denso* in barley, and genes *Glu1* encoding high molecular weight subunits of glutenin in wheat. The advantage of functional markers over markers linked to quantitative trait *loci* is discussed.

**Key words:** candidate genes, functional markers, polymorphism, QTL

### WSTĘP

Badania dotyczące molekularnych podstaw zmienności cech ilościowych są obecnie szeroko podejmowane, zarówno dla roślin, jak i zwierząt czy człowieka. Lokalizują się w obszarze tzw. genomiki ilościowej. Obejmują analizę cech fenotypowych w odniesieniu do fragmentów sekwencji genomowych poznanych eksperymentalnie i zlokalizowanych na

mapach genomów (Jansen, 1997; Jansen i Nap, 2001). Celem tych badań, oprócz poznawczego, jest rozwój systemów markerów molekularnych, które pozwoliłyby identyfikować obecność w roślinach alleli genów determinujących interesujące cechy ilościowe. Opracowanie takich markerów i zastosowanie ich w hodowli umożliwiłoby prowadzenie selekcji we wczesnych pokoleniach i we wczesnym stadium rozwoju roślin (siewki). Przyniosłoby to nieocenione korzyści dla hodowców, tak w zakresie zwiększenia efektywności selekcji, jak i ograniczenia ilości materiałów hodowlanych tylko do tych, które odpowiadają celom stawianym w programach hodowlanych. W pracy przedstawiono koncepcję rozwoju tzw. markerów funkcjonalnych — nieanonimowych markerów molekularnych, opartych na znajomości struktury i funkcji genów wpływających na zmienność cech ilościowych.

#### MARKERY GENETYCZNE

Markery genetyczne w pierwotnym założeniu używane były w mapowaniu genetycznym do określenia kolejności ułożenia genów wzdłuż chromosomów. Pierwszą mapę genetyczną opracował w 1913 Alfred Sturtevant dla muszki owocowej, która obejmowała jedynie 6 cech. Dziesięć lat później, w 1923 r., Karl Sax znalazł zależność między kolorem nasion fasoli a ich wielkością. Od tych pionierskich badań markery genetyczne ewoluowały od markerów morfologicznych poprzez izoenzymatyczne do markerów DNA.

Markery morfologiczne są łatwe do obserwacji, najczęściej wizualnej, a więc są tanie. Ich wadą jest ograniczona liczba, stąd trudno na ich podstawie skonstruować na tyle gęstą mapę genetyczną, aby mogła posłużyć do lokalizacji *loci* dla cech ilościowych (QTL). Ponadto mogą przejawiać efekty plejotropowe w odniesieniu do innych markerów morfologicznych lub innych cech ilościowych. Markery izoenzymatyczne mają podobne zalety i wady, przy czym ich stosowanie w hodowli wymaga posiadania specjalistycznego wyposażenia laboratoryjnego. Wad tych dwóch grup markerów, a szczególnie ograniczenia wynikające z dostępnej liczby, nie wykazują markery oparte na DNA. Liczba markerów molekularnych jest praktycznie nieograniczona, mogą więc gęsto pokrywać genom i w związku z tym są stosowane m.in. do lokalizacji *loci* dla cech ilościowych.

Markery DNA są wyprowadzane z regionu DNA, który wykazuje polimorfizm w obrębie osobników badanej populacji. Można je podzielić na dwie grupy: markery losowe (Random DNA Markers, RDM) oraz markery opracowane na podstawie polimorfizmu wewnątrzgenowego (Gene Targeted Markers, GTM) (Andersen i Lübberstedt, 2003; Lübberstedt i in., 2005). Markery losowe są wyprowadzane z małego regionu DNA, który wykazuje polimorfizm sekwencji. Nie są *a priori* przypisane do żadnej cechy fenotypowej (są „fenotypowo neutralne”), mogą być generowane dla każdego gatunku w dowolnej liczbie. Należą do tej grupy m.in. markery typu RFLP, RAPD, ALFP czy SSR, które często są stosowane do oceny odległości genetycznej między osobnikami w obrębie gatunku, do tworzenia wysyconych map genetycznych oraz do lokalizacji QTL. W wyniku badań związanych z lokalizacją QTL określone są miejsca w genomie, w których znajdują się (z pewnym prawdopodobieństwem) geny odpowiedzialne za zmienność obserwowanej cechy

oraz oceniane są sprzężenia między markerami RDM a QTL-ami dla określonych cech ilościowych (Tanksley, 1993). Takie markery mogą być wykorzystane w hodowli, jednakże należy wziąć pod uwagę, że w różnych populacjach tego samego gatunku zlokalizowane mogą być różne QTL, ponieważ mogą segregować różne allele. Ponadto doświadczenia wykorzystujące różne próby tej samej populacji mogą prowadzić do wykrycia innych QTL, badania prowadzone z zastosowaniem różnych systemów markerowych mogą lokalizować QTL w innych rejonach genomu, liczba i lokalizacja wykrytych QTL może być różna w różnych warunkach środowiska a sprzężenia markercecha mogą być przerwane w wyniku rekombinacji (Tinker i in., 1996). Dodatkowo w tym samym regionie genomu mogą być zlokalizowane QTL-e dla różnych cech ilościowych (Hayes i in., 1993). Z powyższych względów markery typu RDM mają ograniczone zastosowanie w selekcji cech ilościowych. Niedoskonałości systemu RDM-QTL można byłoby przezwyciężyć, gdyby markery molekularne oparte były na polimorfizmie wewnątrz genu/genów warunkujących daną cechę ilościową. Koncepcja ta może być zrealizowana, gdy znana będzie struktura i funkcja genów wpływających na zmienność obserwowanej cechy.

#### MARKERY FUNKCJONALNE

Jak wspomniano wyżej, markery GTM oparte są na polimorfizmie wewnątrzgenowym. Podobnie jak markery typu RDM mogą być opracowywane bez względu na to, czy mają związek z jakąkolwiek cechą fenotypową. Markery funkcjonalne (FM) zaliczyć można do grupy markerów GTM. Termin „markery funkcjonalne” został zaproponowany i jednoznacznie zdefiniowany przez Andersena i Lübberstedta w 2003 roku dla markerów DNA opracowanych na podstawie sekwencji motywów polimorficznych genów odpowiedzialnych za obserwowaną zmienność fenotypową cechy (Andersen i Lübberstedt, 2003). Markery FM różnią się więc od GTM tym, że nie są neutralne fenotypowo, są związane ze zmiennością konkretnej cechy ilościowej, dlatego nazywane są „nieanonimowymi” markerami DNA. Markery FM odnoszą się do rejonu genomu (genów) scharakteryzowanego pod względem sekwencji i funkcji. Do opracowania markerów FM niezbędne jest więc funkcjonalne scharakteryzowanie wybranych genów i znajomość sekwencji ich alleli, a następnie identyfikacja polimorficznych motywów funkcjonalnych w obrębie tych genów, wpływających na obserwowane cechy fenotypowe, i potwierdzenie związku między polimorfizmem DNA a zmiennością cech.

Opracowanie markerów funkcjonalnych jest możliwe tylko dla tych genów, które są zsekwencjonowane, i których funkcja jest znana. Jak wiadomo genów spełniających te warunki w przypadku roślin uprawnych jest, jak dotąd, niewiele. Znacznie korzystniejsza jest sytuacja dla roślin modelowych, np. rzodkiewnika czy ryżu, u których funkcjonalnie scharakteryzowanych sekwencji jest relatywnie dużo ([http://www.arabidopsis.org/portals/genAnnotation/genome\\_snapshot.jsp](http://www.arabidopsis.org/portals/genAnnotation/genome_snapshot.jsp)). Dzięki osiągnięciom z zakresu genomiki strukturalnej i funkcjonalnej w odniesieniu do roślin modelowych można korzystając z homologii sekwencji przewidywać przypuszczalną funkcję podobnych genów u innych gatunków. Jest to jedna z dróg umożliwiająca szukanie genów-kandydatów (CG) dla

opracowania FM. Inną drogą jest wykorzystanie zjawiska syntenii między genomami roślin — badania wykazały bowiem, że u gatunków spokrewnionych położenie genów i ich struktura są podobne (Dunford i in., 1995; Smilde i in., 2001; Andersen i Lübberstedt, 2003; Jia i in., 2009).

Oprócz określenia funkcji i sekwencji genów istotnym elementem w opracowywaniu markerów FM są badania asocjacyjne. Badania te powinny obejmować dużą liczbę osobników/linii o różnym podłożu genetycznym, bardzo dokładnie opisanych pod względem interesujących cech ilościowych i zanalizowanych pod względem molekularnym, aby można było różnym wariantom allelicznym genu przypisać określone wartości obserwowanej cechy. Dopiero potwierdzenie na szerokim tle genetycznym związku między polimorfizmem sekwencji motywów funkcjonalnych a zmiennością cechy uprawnia do stwierdzenia, że opracowany marker jest markerem funkcjonalnym dla danej cechy ilościowej, który może być stosowany w każdej populacji danego gatunku. Należy mieć nadzieję, że dynamicznie rozwijające się programy sekwencjonowania genomów oraz analizy funkcjonalnej genów (Sitnicka i in., 2009) dostarczą w niedługim czasie danych umożliwiających opracowywanie markerów funkcjonalnych dla coraz większej liczby cech ilościowych i gatunków roślin uprawnych.

#### PRZYKŁADY GENÓW-KANDYDATÓW

Największa grupa genów kandydujących do opracowania markerów funkcjonalnych to geny odporności na choroby (NBS-LRR — nucleotide binding site-leucine rich repeat), które występują u wielu gatunków roślin (Bagge i in., 2007). U pszenicy genami o znanej sekwencji i funkcji są m.in. geny *Glu1* kodujące wysokocząsteczkowe podjednostki białek gluteninowych (HMW) — A2\*, Bx7/Bx17, By8, By9, By16, Bx6, Dx5 determinujące cechy reologiczne ciasta oraz właściwości wypiekowe (Anderson i in., 1989; Ahmad, 2000; Schwarz i in., 2004; Lei i in., 2006), a także geny *Pina* i *Pinb* kodujące puroindoliny a i b, które wpływają na twardość ziarna, a pośrednio także na właściwości wypiekowe (Gautier i in., 1994). U zbóż jako CG wymieniane są także geny wrażliwości na giberelinę — *Dwarf8* (oznaczany także jako *d8*) u kukurydzy, *denso* u jęczmienia oraz (przypuszczalnie) ich ortologi u innych gatunków (Peng i in., 1999; Andersen i Lübberstedt, 2003).

Gen *Dwarf8* jest jednym z dominujących genów karłowatości u kukurydzy (Górny, 2005). Został on funkcjonalnie scharakteryzowany — koduje modulator odpowiedzi na giberelinę. Badania z zakresu mutagenезy oraz lokalizacji *loci* dla cech ilościowych wskazują, że gen ten może być związany ze zmiennością dwóch cech — wysokości roślin i terminu kwitnienia (Koester i in., 1993; Peng i in., 1999; Thornsberry i in., 2001). Ortologami tego genu u innych gatunków zbóż są: *Rth1* u pszenicy, *SLR1* u ryżu i *sln1* u jęczmienia — tzw. geny „zielonej rewolucji”, których wprowadzenie do odmian uprawnych spowodowało obniżenie wysokości roślin i znaczący wzrost plonu. Badania przeprowadzone przez Penga i in. (1999) wykazały, że białko kodowane przez *d8* wykazuje 88% podobieństwo do białka kodowanego przez geny *Rht-B1a* i *Rht-D1a* u pszenicy. Gen *Dwarf8* wpływa nie tylko na wysokość roślin. Badania asocjacyjne przeprowadzone przez

Thornsberry'ego i in. (2001) wykazały, że gen ten determinuje także termin kwitnienia. Obserwacje terminu kwitnienia u 92 linii wsobnych kukurydzy o różnym pochodzeniu oraz analiza polimorfizmu sekwencji genu u tych linii pozwoliła znaleźć 9 motywów polimorficznych, zlokalizowanych w różnych, zarówno kodujących jak i niekodujących, regionach genu. Polimorfizm okazał się być wynikiem mutacji typu insercje i delecje o różnej liczbie par zasad. Badania asocjacyjne pozwoliły na określenie związku między indywidualnymi motywami funkcjonalnym w obrębie genu *Dwarf8* a terminem kwitnienia. Związek ten okazał się wysoce istotny, np. jedna z mutacji — delecja obejmująca 6 par zasad powodowała 7–11 dniowe różnice między liniami. Tak więc znając sekwencje motywów funkcjonalnych można opracować markery molekularne dla każdego motywu polimorficznego, które w tym przypadku są bialleliczne. Markery te byłyby markerami typu FM i mogłyby być stosowane w hodowli kukurydzy do selekcji linii o pożądanej wczesności.

Gen *Dwarf8* jest przykładem genu o efektach plejotropowych, tj. wpływającym na więcej niż jedną cechę fenotypową. Plejotropia ta została stwierdzona na poziomie fenotypowym oraz potwierdzona na poziomie molekularnym. Badania Thornsberry'ego i in. (2001) uważane są za pionierskie — zapoczątkowały nowy nurt w poszukiwaniach molekularnych podstaw zmienności cech ilościowych.

Genem o podobnej funkcji jest gen półkarłowatości *denso* (=sdw1) u jęczmienia. Źródłem genu był spontaniczny mutant odm. Abed Denso, znaleziony w Danii w stacji hodowli Abed w 1946 r. (Haahr i von Wettstein, 1976). Fenotypowym efektem genu jest obniżenie wysokości roślin o 10–20 cm (m.in. Jia i in., 2009). Ponadto recesywny allel *denso* powoduje rozłożysty, a dominujący wzniosły typ wzrostu roślin w stadium młodocianym. *Denso* jest jednym z najważniejszych genów w hodowli jęczmienia – poprawia odporność na wyleganie i zwiększa plon. Jest wykorzystywany w hodowli europejskich odmian jęczmienia browarnego (European Brewery Convention, 1989). Źródłem *sdw1*, allelicznego do *denso*, była norweska odm. Jotun. Gen ten jest wykorzystywany w hodowli amerykańskich odmian jęczmienia paszowego (Mickelson i Rasmusson, 1994). *Denso* został zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 3H (Laurie i in., 1993). W tym samym regionie genomu jęczmienia zlokalizowano, oprócz wysokości roślin, także QTL-e dla kilku innych cech ilościowych, takich jak wczesność, plon ziarna, masa 1000 ziaren, specyficzna powierzchnia liścia oraz biomasy kłosa i liści (Thomas i in., 1991; Yin i in., 1999). Zespół Jia i in. (2009) przeprowadził analizę porównawczą genu *denso* z genem półkarłowatości *sdl* (*Os20ox2*) u ryżu, kodującym oksydazę kwasu giberelinowego (GA)-20. Autorzy wyszli z założenia, że w wyniku syntenii jęczmień-ryż gen *sdw1/denso* jęczmienia powinien mieć taką samą strukturę jak *sdl* ryżu. Materiałem badawczym była populacja linii DH Baudin × AC Metcalfe (Baudin — półkarłowa odmiana z genem *denso*). Używając starterów opartych o konserwatywne rejony genu *Os20ox2* ryżu wyizolowano z genomu jęczmienia fragment genu *Hv20ox2* o długości 2 413 pz, kodującego enzym oksydazę 20 biorącą udział w biosyntezie kwasu giberelinowego. Stwierdzono, że *Hv20ox2* jęczmienia ma podobną strukturę do genu *Os20ox2* (trzy egzony i dwa introny). Opierając się na wynikach prac nad ryżem autorzy przewidują, że gen *Hv20ox2*, będący ortologiem genu *sdl* u ryżu, może kontrolować etap

biosyntezy giberelin od GA<sub>53</sub> do GA<sub>44</sub>. Autorzy wykazali, że *denso* jest allelem genu *Hv20ox2*, który w populacji Baudin × AC Metcalfe kolokalizował z wysokością roślin. Stwierdzono również, że różnica między odmianą półkarłową Baudin a Metcalfe w sekwencji wyizolowanego fragmentu genu dotyczy substytucji pojedynczego nukleotydu. Tak więc można stwierdzić, że w przypadku genu *denso* u jęczmienia poznana jest jego struktura i funkcja (choć badania te nie są jeszcze zakończone) oraz znany jest jego związek ze zmiennością cech ilościowych. Jest zatem uzasadnione, aby gen ten kandydował do opracowania markera FM dla wysokości roślin, a przypuszczalnie także dla innych cech ilościowych u jęczmienia. Należy bowiem zauważyć, że *denso* — podobnie jak gen *Dwarf8* u kukurydzy — wykazuje efekty plejotropowe w odniesieniu do kilku innych cech ilościowych związanych z plonowaniem, jak dotąd stwierdzone jednak tylko na poziomie fenotypowym.

U pszenicy genami o znanej strukturze i funkcji są m.in. geny *Glu1* kodujące wysokocząsteczkowe (HMW) podjednostki białek gluteninowych. Znana jest sekwencja genów kodujących podjednostki A2\*, Bx7/Bx17, By8, By9, By16, Bx6, Dx5 (De Bustos i in. 2000, <http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>). Znana jest funkcja biologiczna tych genów — kodują białka zapasowe oraz znany jest związek między wariantowością tych genów a zmiennością cech ilościowych określających wartość wypiekową (cechy reologiczne ciasta, parametry wypiekowe) (Weegels i in., 1996; Ivanov i in., 1998; Rodriguez-Quijano i in., 2001). Geny kodujące wysokocząsteczkowe białka gluteninowe znajdują się na długich ramionach 1 grupy homeologicznej chromosomów pszenicy zwyczajnej: *locus Glu-A1* na 1AL, *locus Glu-B1* na 1BL oraz *locus Glu-D1* na 1DL. Wszystkie *loci* mają charakter ściśle sprzężonych kompleksów (częstotliwość rekombinacji ok. 0,1%) — składających się z genu typu *x* kodującego większą podjednostkę białkową oraz *y* kodującego mniejszą podjednostkę białkową. Na podstawie sekwencji genów opracowane zostały tzw. markery allelospecyficzne, pozwalające identyfikować poszczególne geny (choć równie dobrze można je identyfikować na podstawie produktów ich ekspresji, tzn. określając skład jakościowy podjednostek HMW w danej odmianie) (Bahraei i in., 2004; Butow i in., 2004; Lei i in., 2006). Podjednostki HMW białek gluteninowych wchodzi w skład glutenu — stanowią około 10% jego zawartości. *In planta* występują w postaci polimerów złożonych z podjednostek (łańcuchów) połączonych wiązaniami dwusiarczkowymi i wodorowymi. Białka te posiadają specyficzne sekwencje w regionie N-końca (od 81 do 104 reszt aminokwasowych) i C-końca (42 reszty aminokwasowe) oraz centralny region domen powtarzalnych (od 627 do 827 reszt aminokwasowych). Końce N- i C- zawierają najczęściej wszystkie reszty cysteinowe — odpowiedzialne za tworzenie i utrzymanie struktury glutenu. Liczba reszt cysteinowych ma bezpośredni związek z właściwościami tworzenia połączeń w sieci glutenu. Końce C- i -N mają budowę alfa-helikalną, natomiast domeny powtarzalne mają nietypową lewoskrętną strukturę. Główne właściwości beta-helisy białkowej to elastyczność i zdolność do deformacji bez rozrywania wiązań. Dzięki takiej budowie białka HMW nadają glutenowi spoistość, rozciągliwość i sprężystość, a więc pośrednio odpowiadają za wartość wypiekową. Wpływ glutenin wysokocząsteczkowych na wartość technologiczną mąki potwierdziły m. in. badania porównawcze pszenicy

i żyta (Kipp i in., 1996) — gluteniny żytnie (sekaliny) posiadają tylko podjednostki y, frakcja sekalin zawiera tylko 30% frakcji glutenin pszenicznych. Trzykrotnie mniejsza zawartość cysteiny determinuje niższą zdolność do tworzenia sieci glutenowej.

Pszeniczne podjednostki HMW różnią się wielkością i liczbą reszt cysteinowych, stąd też właściwości wypiekowe mąki i uzyskanego z niej ciasta (wodochłonność, stałość, rozluźnienie, elastyczność) zależą od składu jakościowego HMW (Ahmad, 2000; Bronneke i in., 2000; Horvat i in., 2002). Liczne badania wykazały, że polimorfizm sekwencji genów kodujących HMW jest powiązany ze zmiennością cech ilościowych określających właściwości wypiekowe. Związek ten nie jest jednak jednoznaczny, gdyż także inne rejony genomu pszenicy wpływają na cechy wypiekowe (Perretant i in., 2000; Law i in., 2005), a ponadto stwierdzono na poziomie fenotypowym efekty epistatyczne tych genów (m.in. Salamanowicz i in., 2008). Większość QTL-i związanych z cechami reologicznymi zlokalizowana została w rejonach występowania genów HMW (Perretant i in., 2000; Appels i in., 2001; Gross i in., 2004).

Z omówionych przykładów wynika, że genem spełniającym wszystkie wymagania stawiane genom-kandydatom jest *Dwarf8* u kukurydzy. Geny *Glul* u pszenicy mają wiele alleli i nie wszystkie warianty alleliczne tych genów zostały dotychczas zsekwenjonowane. Ponadto cechy ilościowe, na których zmienność mają wpływ, nie są bezpośrednio przypisane do rośliny, lecz wynikają z procesów związanych z użytkowaniem ziarna dla celów spożywczych. W związku z tym związek polimorfizmu sekwencji alleli *Glul* ze zmiennością tych cech nie jest zawsze jednoznaczny. W przypadku genu *denso* prace badawcze są mniej zaawansowane, dotyczy to głównie braku badań asocjacyjnych, które pozwoliłyby zidentyfikować polimorficzne motywy tego genu oraz przypisać ten polimorfizm zmienności obserwowanej cechy/cech ilościowych.

#### ZALETY I WADY MF

Do niewątpliwych zalet FM zaliczyć należy fakt, że nie ma niebezpieczeństwa przerwania sprzężenia między markerem a genem (jak w przypadku RDM). Ponadto możliwa jest identyfikacja alleli genów w różnych populacjach bez konieczności mapowania. W hodowli markery funkcjonalne mogą być stosowane do wyboru komponentów rodzicielskich, do selekcji linii hodowlanych lub mieszańców, a także do identyfikacji odmian opartej na obecności specyficznych alleli w *loci* determinujących cechy morfologiczne użyte do identyfikacji odmian. Wadą markerów FM są efekty plejotropowe. Należy także podkreślić niedogodność stosowania FM z uwagi na fakt, że cecha ilościowa może być warunkowana kilkoma genami, np. u jęczmienia i kukurydzy oprócz omówionych wyżej genów determinujących wysokość roślin występują także inne geny wpływające na tę cechę (u kukurydzy *dwarf1*, *dwarf3* i *Dwarf9*, u jęczmienia *sdw2*, *sdw 3*). Dlatego też można się spodziewać, że stosowanie markerów dla cech ilościowych opracowanych na podstawie polimorfizmu wewnątrzgenowego niektórych tylko genów może być nie w pełni efektywne.

Markery funkcjonalne są jedną z dróg umożliwiających wstępną selekcję roślin na wczesnym etapie hodowli — wstępną ze względu na wspomniane wyżej efekty

plejotropowe oraz na fakt, że FM nie tłumaczą całej obserwowanej zmienności genetycznej. Autorzy wyrażają nadzieję, że rozwój technik molekularnych z jednej strony a technik precyzyjnego fenotypowania z drugiej, pozwoli w przyszłości odkryć geny w większości mapowanych obecnie *loci* dla cech ilościowych, a tym samym określić pożądany „ideotyp molekularny” roślin danego gatunku o pożądanych cechach użytkowych.

#### LITERATURA

- Ahmad M. 2000. Molecular marker-assisted selection of HMW glutenin alleles related to wheat bread quality by PCR-generated DNA markers *Theor. Appl. Genet.* 101: 892 — 896.
- Andersen J. R., Lübberstedt T. 2003. Functional markers in plants. *Trends in Plant Science* 8: 554 — 560.
- Anderson O. D., Greene F. C., Yip R. E., Halford N. G., Shewry P. R., Malpica-Romero J. M. 1989. Nucleotide sequences of the two high-molecular-weight glutenin genes from the D-genome of a hexaploid bread wheat, *Triticum aestivum* L. cv. Cheyenne. *Nucleic Acids Res.* 17: 461 — 462.
- Appels R., Gras P. W., Clarke B. C., Anderssen R. S., Wesley I. J., Bakes F. 2001. Molecular and genetic studies on processing traits of wheat flour. *Euphytica* 119: 49 — 54.
- Bagge M., Xia X., Lübberstedt T. 2007. Functional markers in wheat. *Current Opinion in Plant Biology* 10: 211 — 216.
- Bahraei S., Saidi A., Alizadeh D. 2004. High molecular weight glutenin subunits of current bread wheats grown in Iran. *Euphytica* 137: 173 — 179.
- Bronneke V., Zimmermann G., Killermann B. 2000. Effect of high molecular weight glutenins and D-zone gliadins on bread-making quality in German wheat varieties. *Cereal Res. Commun.* 28: 187 — 194.
- Butow B. J., Gale K. R., Ikea J., Juhász A., Bedö Z., Tamás L., Gianibelli M. C. 2004. Dissemination of the highly expressed Bx7 glutenin subunit (*Glu-B1 al* alleles) in wheat as revealed by novel PCR markers and HPLC. *Theor. Appl. Genet.* 109: 1525 — 1535.
- De Bustos A., Rubio P., Jouve N. 2000. Molecular characterisation of the inactive allele of the gene *Glu-A1* and the development of a set of AS-PCR markers for HMW glutenins of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100: 1085 — 1094.
- Dunford R. P., Kurata N., Laurie D. A., Money T. A., Minobe Y., Moore G. 1995. Conservation of fine-scale DNA marker order in the genomes of rice and the *Triticeae*. *Nucleic Acids Res.* 23: 2724 — 2728.
- European Brewery Convention 1989. In: Pierce J. B. (ed.) *Advances in Malting Barley 1989*. European Brewery Convention, The Netherlands.
- Gautier M. F., Aleman M. E., Guirao A., Marion D., Joudrier P. 1994. *Triticum aestivum* puroindolines, two basic cysteine rich seed proteins: cDNA sequence analysis and developmental gene expression. *Plant Mol. Biol.* 25: 43 — 47.
- Górny A. G. 2005. Genetyka kukurydzy uprawnej, *Zea mays*, L. W: A. G. Górny (red): *Zarys genetyki zbóż*, t. 2. Pszenica, kukurydza, owies: 125 — 310.
- Gross C., Bervas E., Charmet G. 2004. Genetic analysis of grain protein content, grain hardness and dough rheology in a hard × hard bread wheat progeny. *J. Cereal Sci.* 40: 93 — 100.
- Haahr V., von Wettstein D. 1976. Studies of an induced, high-yielding dwarf-mutant of spring barley. *Barley Genetics III. Proceedings of the Third International Barley Genetics Symposium, Garching 1975*. Verlag Karl Thieming, Munich: 215 — 218.
- Hayes P. M., Blake T., Chen T. H. H., Tragoonrung S., Chen F., Pan A., Liu B. 1993. Quantitative trait loci on barley (*Hordeum vulgare* L.) chromosome 7 associated with components of winterhardiness. *Genome* 36: 66 — 71.
- Horvat D., Jurcovic Z., Sudar R., Pavlinic D., Simic G. 2002. The relative amounts of HMW glutenin subunits of OS wheat cultivars in relation to bread-making quality. *Cereal Res. Commun.* 30: 415 — 422.
- Ivanov P., Todorov I., Stoeva I., Ivanowa I. 1998. Biochemical and technological characteristics of *Triticum aestivum* lines from two crosses between high and low breadmaking quality cultivars. *Cereal Res. Commun.* 26 (4): 455 — 461.



- Jansen R. C. 1997. Mapping QTLs in experimental and breeding populations. In: Advances in Biometrical Genetics (P. Krajewski, Z. Kaczmarek ed.), Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu: 27 — 34.
- Jansen R., Nap J. P. 2001. Genetical genomics: the added value from segregation. Trends in Genetics 17: 338 — 391.
- Jia Q., Zhang J., Wescott S., Zhang X-Q., Bellgard M., Lance R., Li Ch. 2009. GA-20 oxidase as a candidate for the semidwarf gene *sdw1/denso* in barley. Func. Integr. Genomics 9: 255 — 262.
- Kipp B., Berlitz H.D., Seilmeier W., Wieser H. 1996. Comparative Studies of High Mr Subunits of Rye and Wheat. I. Isolation and Biochemical Characterisation and Effects on Gluten Extensibility. J. Cereal Sci. 23: 227 — 234.
- Koester R., Sisco P., Stuber C. 1993. Identification of quantitative trait loci controlling days to flowering and plant height in two near-isogenic lines of maize. Crop Sci. 33: 1209 — 1216.
- 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 3H of barley by use of RFLP markers. Plant Breeding 111: 198 — 203.
- Law C. N., Bhandari D. G., Salmon S. E., Greenwell P. W., Foot I. M., Cauvain S. P., Sayers E. J., Worland A. J. 2005. Novel genes on chromosome 3A influencing breadmaking quality in wheat, including a new gene for loaf volume, *Lvl 1*. J. Cereal Sci. 41: 317 — 326.
- Lei Z. S., Gale K. R., He Z. H., Gianibelli C., Larroque O., Xia X. C., Butow B. J., Ma W. 2006. Y-type gene specific markers for enhanced discrimination of high-molecular weight glutenin alleles at the *Glu-B1* locus in hexaploid wheat. J. Cereal Sci. 43:94 — 101.
- Lübberstedt T., Zein I., Andersen J.R., Wenzel G., Krützfeldt B., Eder J., Ouzunova M., Chun S. 2005. Development and application of functional markers in maize. Euphytica 146: 101 — 108.
- Mickelson H. R., Rasmusson D. C. 1994. Genes for short stature in barley. Crop Sci. 34: 1180 — 1183.
- 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., Sudhakar D., Christou P., Snape J. W., Gale M. D., Harberd N. P. 1999. "Green revolution" genes encode mutant gibberellin response modulators. Nature 400: 256 — 261.
- Perretant M. R., Cadalen T., Charmet G., Sourdille P., Nicolas P., Boeuf C., Tixier M.H., Branlard G., Bernard S. 2000. QTL analysis of bread-making quality in wheat using a doubled haploid population. Theor. Appl. Genet.: 100: 1167 — 1175.
- Rodriguez-Quijano, M., Nieto-Taladriz M. T., Gomez M., Vazquez J. F., Carrillo J. M. 2001. Quality influence comparison of some x- and y-type HMW-glutenin subunits coded by *Glu-D1* locus. In: Z. Bedo & L. Lang (eds.). Wheat in a Global Environment. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands: 189 — 194.
- Salmanowicz B. P., Surma M., Adamski T., Rębarz M. 2008. Effects of amounts of HMW glutenin subunits determined by capillary electrophoresis on technological properties in wheat doubled haploids. J. Sci. Food Agric. 88: 1716 — 1725.
- Sax K. 1923. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. Genetics 8: 552 — 560.
- Schwarz G., Felsenstein F.G., Wenzel G. 2004. Development and validation of a PCR-based marker assay for negative selection of the HMW glutenin allele *Glu-B1-1d* (Bx-6) in wheat. Theor. Appl. Genet. 109: 1064 — 1069.
- Sitnicka D., Figurska K., Orzechowski S. 2009. Analiza funkcjonalna genów. Postępy Biologii Komórki 36: 503 — 516.
- Smilde W. D., Haluskova J., Sasaki T., Graner A. 2001. New evidence for the synteny of rice chromosome 1 and barley chromosome 3H from rice expressed sequence tags. Genome 44: 361 — 367.
- Sturtevant A.H. 1913. The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. J. Exp. Zool. 14: 43 — 59.
- Tanksley S. D. 1993. Mapping polygenes. Annu. Rev. Genet. 27: 205 — 233.
- Thomas W. T. B., Powell W., Swanson J. S. 1991. The effects of major genes on quantitatively varying characters in barley. 4. *GPert* and *denso* loci and quality characters. Heredity 66: 381 — 389.
- Thornsberry J. M., Goodman M. M., Doebley J., Kresovich S., Nielsen D., Buckler E. S. 2001. *Dwarf8* polymorphism associate with variation in flowering time. Nat. Genet. 28: 286 — 289.
- Tinker N. A., Mather D. E., Rossmagel B. G., Kasha K. J., Kleinhofs A., Hayes P. M., Falk D. E., Ferguson T., Shugar L. P., Legge W. G., Irvine R. B., Choo T. M., Briggs K. G., Ullric S. E., Franckowiak J. D., Blake

- T. K., Graf R. J., Dofing S. M., Saghai Maroof M. A., Scoles G. J., Hoffman D., Dahleen L. S., Kilian A., Chen F., Biyashev R.M., Kudrna D., Steffenson A. 1996. Regions of the genome that affect agronomic performance in two-row barley. *Crop Sci.* 36: 1053 — 1062.
- Weegels P. L., Hamer R. J., Schofield J. D. 1996. Critical Review: Functional properties of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* 23:1 — 18.
- Yin X., Stam P., Johan Dourleijn C., Krop M. J. 1999. AFLP mapping of quantitative trait loci for yield-determining physiological characters in spring barley. *Theor. Appl. Genet.* 99: 244 — 253.
- Strongy internetowe:  
[http://www.arabidopsis.org/portals/genAnnotation/genome\\_snapshot.jsp](http://www.arabidopsis.org/portals/genAnnotation/genome_snapshot.jsp).  
<http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>.