

PAWEŁ CZ. CZEMBOR
MAGDALENA RADECKA
EDWARD ARSENIUK

Zakład Fitopatologii, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie

Mapa molekularna pszenicy (*Triticum aestivum* L.)*

A molecular map of wheat (*Triticum aestivum* L.)

Utworzono wstępną mapę molekularną pszenicy zwyczajnej wykorzystując populację podwojonych haploidów wyprowadzonych z kombinacji krzyżówkowej odmian Liwilla i Begra. Odmiany rodzicielskie i linie potomne genotypowano stosując markery SSR i DArT. W wyniku przeprowadzonych analiz zidentyfikowano 269 polimorficznych markerów DArT. Z 328 analizowanych markerów SSR tylko 137 było polimorficznych, a dla 103 uzyskano pełne dane o ich segregacji. Przeprowadzona analiza sprzężeń pozwoliła na przypisanie 235 markerów do 18 grup sprzężeniowych i utworzenie mapy o łącznej długości 1705cM. Nie ustalono grup sprzężeniowych dla chromosomów 1A, 7B i 4D. W przypadku 137 markerów DArT po raz pierwszy podano ich lokalizację w genomie pszenicy. Genom A otrzymanej mapy zawierał 105 markerów, genom B 78 markerów, a najmniej 52 markery przypisano do genomu D. Ostatni z wymienionych genomów zawierał liczne i rozległe przerwy między markerami na chromosomach. W przypadku pozostałych chromosomów, większość markerów była rozmieszczona w sposób nieregularny z tendencją do tworzenia skupień.

Słowa kluczowe: mapa genetyczna sprzężeń, markery molekularne, pszenica

A preliminary molecular map of common wheat was established using doubled haploid population derived from a cross between cultivars Liwilla and Begra. Parental cultivars and offspring lines were genotyped with SSRs and DArT markers. Molecular analyses resulted in identification of 269 polymorphic DArT markers. Of the 328 SSRs analyzed only 137 were polymorphic and for 103 SSRs segregation data were generated. Linkage analysis assigned 235 markers to 18 linkage groups resulting in map of 1705cM length in total. Linkage groups for chromosomes 1A, 7B and 4D could not be established. For the first time map position of 137 DArT markers in wheat genome is presented. The A genome consisted of 105 markers, the B genome 78, and the D genome only 52. On the D genome many large sized gaps between markers on chromosomes were observed. The other chromosomes in most cases were covered by markers irregularly with tendency to form clusters.

Key words: genetic linkage map, molecular markers, wheat

* Pracę wykonano w ramach projektów badawczych 2 P06A 006 26 (Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego) oraz Bioexploit (Sixth Framework Programme, Priority (5) Food Quality and Safety, Integrated Project, FOOD-CT-2005-513959)

WSTĘP

Pszenica heksaploidalna (*Triticum aestivum* L. em. Thell) jest jednym z najważniejszych gatunków rolniczych na świecie. W skali globalnej dostarcza blisko 55% spożywanych węglowodanów (Gupta i in., 1999). Podobnie jak w przypadku innych roślin uprawnych, postęp hodowlany pszenicy opiera się na efektywnym wykorzystaniu dostępnej zmienności genetycznej. W ostatnich trzech dekadach dodatkowe wsparcie w pracach hodowlanych uzyskano ze strony nowych technologii DNA, zwłaszcza markerów molekularnych. W ciągu tego okresu opracowano liczne markery DNA, z których najpopularniejsze to: RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeats lub microsatelity) i SNP (Single Nucleotide Polymorphism) (Botstein i in., 1980; Weber i May, 1989; Williams i in., 1990; Vos i in., 1995; Chee i in., 1996). W ostatnich latach został opracowany nowy typ markera DArT (Diversity Arrays Technology) wykorzystujący mikromacierze DNA, który pozwala na jednoczesną analizę kilku tysięcy loci rozproszonych po całym genomie, bez potrzeby wcześniejszej znajomości sekwencji. Markery DArT zostały ostatnio zastosowane do konstrukcji map genetycznych jęczmienia (Wenzel i in., 2004) i pszenicy (Akbari i in., 2006).

W ciągu minionego okresu skonstruowano niewiele map genetycznych pokrywających cały genom pszenicy (Liu i Tsunewaki, 1991; Gale i in., 1995; Röder i in., 1998; Messmer i in., 1999; Gupta i in., 2002; Paillard i in., 2003; Somers i in., 2004; Song i in., 2005; Akbari i in., 2006). Większość z wymienionych powyżej map genetycznych powstała w oparciu o populacje potomne wyprowadzone po skrzyżowaniu odmian lub linii bardzo odległych filogenetycznie. Wynika to z niskiego poziomu polimorfizmu DNA obserwowanego w pszenicy (Chao i in., 1989). W związku z tym, zdecydowanie rzadziej krzyżuje się blisko spokrewnione odmiany lub linie o dobrych cechach użytkowych i przystosowane do lokalnych warunków glebowo-klimatycznych. Odmiany Liwilla i Begra występowały w Rejestrze Odmian odpowiednio w latach 1982–1990 i 1982–2003 (Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych, Słupia Wielka). Liwilla charakteryzuje się wysokim poziomem odporności na septoriozy zbóż i fuzariozę kłosa, a Begra podatnością (Arseniuk i in., 1995; Góral, 2006).

Celem pracy było skonstruowanie wstępnej mapy molekularnej pszenicy w oparciu o populację wyprowadzoną po skrzyżowaniu polskich odmian o skrajnych reakcjach na porażenie przez niektóre patogeny.

MATERIAŁ I METODY

W pracy wykorzystano wcześniej uzyskaną populację mieszańcową odmian pszenicy ozimej Liwilla i Begra (Czembor i in., 2003). Z pokolenia F₁ drogą androgenozy (pylniki) w kulturach *in vitro* wyprowadzono 154 podwojone haploidy (DH).

Na potrzeby analiz molekularnych wyizolowano DNA przy użyciu Plant DNeasy Mini kit (Qiagen Inc., 27220 Turnberry Lane, Valencia, CA 91355, USA) z 94 linii DH i dwóch

odmian rodzicielskich Liwilli i Begry. Próbkę DNA analizowano przy użyciu markerów DArT i SSR. Dysponowano 328 parami starterów amplifikujących w reakcji PCR loci mikrosatelitarne (Röder i in., 1998; Pestsova i in., 2000; Somers i in., 2004; Song i in., 2005). Jeden z pary stosowanych starterów mikrosatelitarnych był znakowany na końcu 5' jednym z barwników fluorescencyjnych (6-FAM, HEX lub TET). Reakcję zawsze prowadzono w niskoprofilowanych cienkościennych probówkach (MJResearch, Inc., 149 Grove Street, Watertown, MA 02172, USA) przy wykorzystaniu termocyklerów Mastercykler ep Gradient (Eppendorf AG, 22331, Hamburg, Niemcy) oraz UNO II i T3 (Biometra GmbH, Rudolf-Wissell-Str. 30, D-37079 Göttingen, Niemcy). Mieszanina reakcyjna o objętości 8 µl zawierała następujące komponenty: 1 × buforu z dodatkiem (NH₄)₂SO₄ (MBI Fermentas, V. Graiciuno g. 8, 02241 Wilno, Litwa), 2,5mM MgCl₂, 0,2mM każdego z deoksynukleotydów, 0,5µM każdego startera, 1 jednostkę Taq polimerazy (Fermentas) i około 24ng DNA. Program PCR realizował etapy: 94°C/2 min. wstępnej denaturacji, następnie 10 cykli składających się z etapów 94°C/30 sek., temperatura 'przyklejania' starterów wg danych literaturowych (Röder i in., 1998; Pestsova i in., 2000; Somers i in., 2004; Song i in., 2005) przez 30 sek. i 72°C/1 min. oraz 30 (lub 20) cykli 90°C/30 sek., temperatura przyklejania starterów jak w poprzednich etapach przez 30 sek. i 72°C/1 min. Końcowy etap polimeryzacji przy temperaturze 72°C przedłużono do 5 min. Rozdział i detekcję produktów PCR prowadzono przy użyciu Analizatora DNA ABI 377 (Applied Biosystems, Foster City, CA 94404, USA) stosując w zależności od potrzeb 4,5% lub 4,75% denaturujący żel poliakrylamidowy (Long Ranger, Cambrex Bio Science, Rockland, ME 04841, USA).

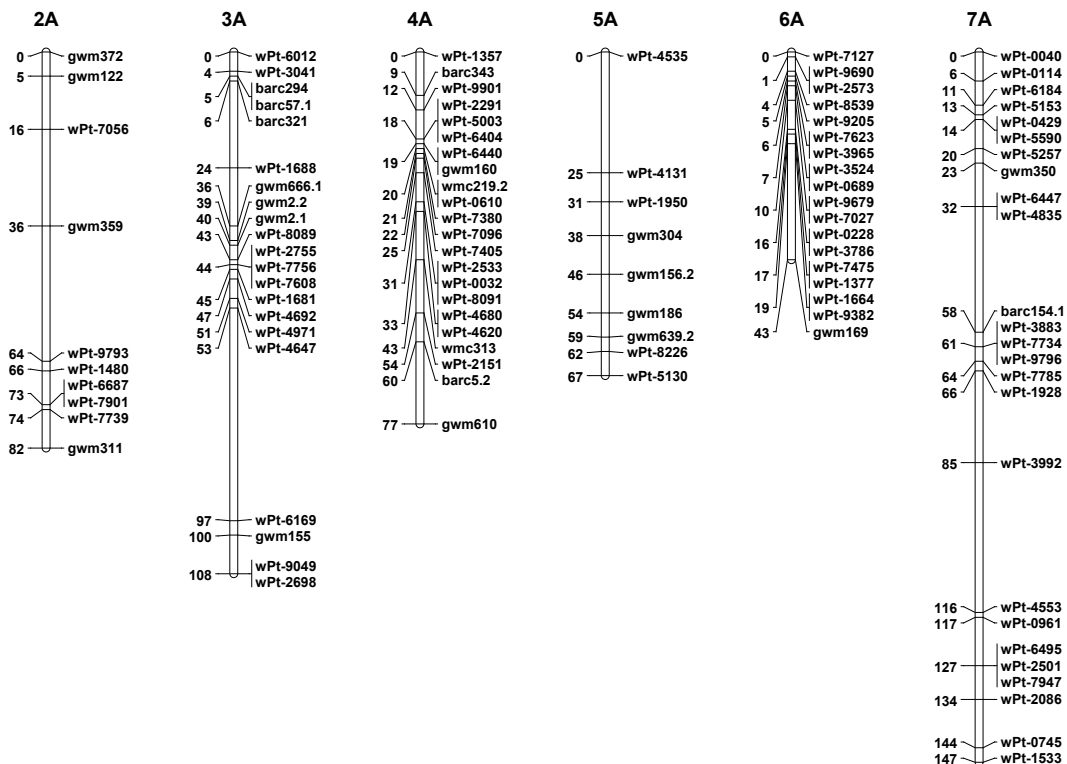
Analiza próbek DNA przy użyciu markerów DArT została wykonana przez Triticarte (Diversity Arrays Technology P/L -Triticarte P/L, 1 Wilf Crane Crescent, Yarralumla ACT 2600, Australia). W tej technologii opartej o mikromacierze DNA, analizowano wynik hybrydyzacji wybranych 5137 wysoce polimorficznych loci pszenicy (Jaccoud i in., 2001; Akbari i in., 2006).

Analizę sprzężeń przeprowadzono przy użyciu programu komputerowego JoinMap 4 (Van Ooijen, 2006), stosując wartość minimalną LOD = 3,0 dla grupowania markerów oraz metodę regresji do ustalenia sprzężeń wewnątrz grupy. Pozycję markerów na mapie weryfikowano z opublikowanymi mapami genetycznymi pszenicy (Röder i in., 1998; Pestsova i in., 2000; Somers i in., 2004; Song i in., 2005; Akbari i in., 2006). Na otrzymanej mapie markery DArT oznaczono prefiksem „wPt”, mikrosatelity prefiksami „gwm” (Röder i in., 1998), „gdm” (Pestsova i in., 2000), „wmc” (Wheat Microsatellite Consortium, <http://wheat.pw.usda.gov>) oraz „barc” (Song i in., 2005).

WYNIKI

W wyniku przeprowadzonych analiz molekularnych zidentyfikowano 269 polimorficznych markerów DArT, dla których otrzymano dane o segregacji w populacji potomnej. Natomiast z 328 markerów SSR, tylko 137 było polimorficznych i dla 103 określono pełną segregację. Wyłonione markery polimorficzne pozwoliły na wykluczenie z dalszej analizy 20 linii DH wykazujących podobieństwo powyżej 99% do innych linii potomnych.

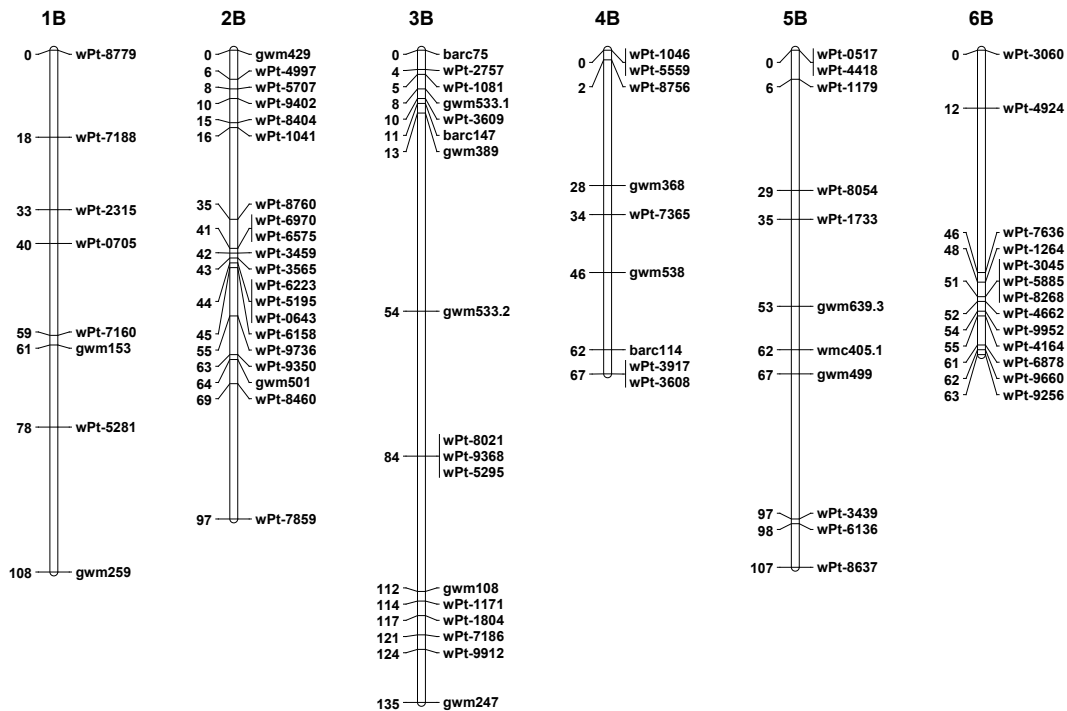
Wskazuje to na wyprowadzenie w trakcie androgenезы w kulturach *in vitro* linii DH będących klonami innych linii. Polimorficzne markery molekularne o pełnych danych o segregacji w populacji potomnej w liczbie 372 zostały wykorzystane do konstrukcji mapy genetycznej. Ponieważ markery DArT i SSR w znakomitej większości przypadków są specyficzne dla danego chromosomu, można było otrzymane grupy sprzężeniowe przypisać do poszczególnych chromosomów. W rezultacie otrzymano mapę genetyczną długości 1705cM złożoną z 235 markerów molekularnych przypisanych do 18 grup sprzężeniowych (nie wyłono grup sprzężeniowych dla chromosomów 1A, 7B i 4D) (rys. 1, 2 i 3).



Rys. 1. Mapa molekularna genomu A pszenicy skonstruowanej w oparciu o populację Liwilla × Begra. Na mapie markery DArT oznaczono prefiksem „wPt”. Natomiast mikrosatelity wyróżniono oznaczeniem „gwm” (Röder i in., 1998), „gdm” (Pestsova i in., 2000), „wmc” (Wheat Microsatellite Consortium, <http://wheat.pw.usda.gov>) oraz „barc” (Song i in., 2005)

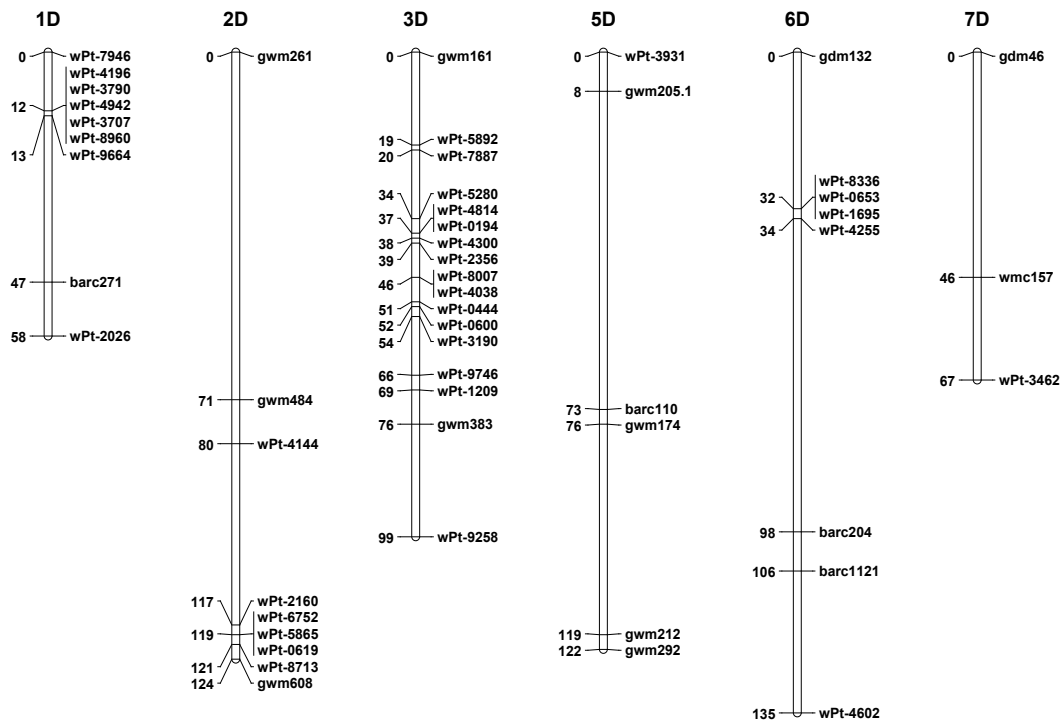
Fig. 1. Molecular map of wheat A genome developed for population Liwilla × Begra. On the map DArT markers are indicated by prefix „wPt”. Microsatellite markers are designated „gwm” (Röder *et al.*, 1998), „gdm” (Pestsova *et al.*, 2000), „wmc” (Wheat Microsatellite Consortium, <http://wheat.pw.usda.gov>) and „barc” (Song *et al.*, 2005)

Większość ze 137 niezmapowanych markerów usunięto z analizy z powodu znacznych zaburzeń segregacji odbiegających od modelu 1:1. Genom A otrzymanej mapy zawierał 105 markerów (w tym 24 SSR), genom B 78 markerów (w tym 17 SSR), a najmniej 52 markery (w tym 16 SSR) przypisano do genomu D (tab. 1). Z pośród 178 zmapowanych markerów DArT, dla 137 podajemy w naszej pracy po raz pierwszy pozycję na mapie genomu pszenicy. Pozostałe 41 markerów DArT zlokalizowano na mapach opisanych przez Akbari i wsp. (2006) lub Semagn i wsp. (2006).



Rys. 2. Mapa molekularna genomu B pszenicy skonstruowanej w oparciu o populację Liwilla × Begra. Na mapie markery DArT oznaczono prefiksem „wPt”. Natomiast mikrosatelity wyróżniono oznaczeniem „gwm” (Röder i in., 1998), „gdm” (Pestsova i in., 2000), „wmc” (Wheat Microsatellite Consortium, <http://wheat.pw.usda.gov>) oraz „barc” (Song i in., 2005)

Fig. 1. Molecular map of wheat B genome developed for population Liwilla × Begra. On the map DArT markers are indicated by prefix „wPt”. Microsatellite markers are designated „gwm” (Röder *et al.*, 1998), „gdm” (Pestsova *et al.*, 2000), „wmc” (Wheat Microsatellite Consortium, <http://wheat.pw.usda.gov>) and „barc” (Song *et al.*, 2005)



Rys. 3. Mapa molekularna genomu D pszenicy skonstruowanej w oparciu o populację Liwilla × Begra. Na mapie markery DArT oznaczono prefiksem „wPt”. Natomiast mikrosatelity wyróżniono oznaczeniem „gwm” (Röder i in., 1998), „gdm” (Pestsova i in., 2000), „wmc” (Wheat Microsatellite Consortium, <http://wheat.pw.usda.gov>) oraz „barc” (Song i in., 2005)
Fig. 1. Molecular map of wheat D genome developed for population Liwilla × Begra. On the map DArT markers are indicated by prefix „wPt”. Microsatellite markers are designated „gwm” (Röder *et al.*, 1998), „gdm” (Pestsova *et al.*, 2000), „wmc” (Wheat Microsatellite Consortium, <http://wheat.pw.usda.gov>) and „barc” (Song *et al.*, 2005)

Kolejność markerów SSR na poszczególnych chromosomach była zgodna z danymi opublikowanymi przez Somers i wsp. (2004) oraz Song i wsp. (2005). Natomiast regionach dużych skupień markerów DArT na chromosomach 4A i 6A stwierdzono pojedyncze przypadki występowania odmiennej kolejności markerów w porównaniu do map opisanych przez Akbari i wsp. (2006) i Semagn i wsp. (2006). Wspomniana niezgodność dotyczy następujących markerów: wPt-2151, wPt-0610, wPt-7027 i wPt-3524 (rys. 1). Dodatkowo dwa markery z adnotacją Triticarte odnośnie przynależności do chromosomu wPt-6012 na 1B i wPt-0610 na 3B w naszej analizie zostały zmapowane odpowiednio na chromosomach 3A i 4A (rys. 1).

Większość markerów była rozmieszczona w sposób nieregularny na chromosomach. Skonstruowana przez nas mapa zawiera 19 przerw rozmiarów 20-40cM i 7 odcinków

większych niż 40cM (rys. 1, 2 i 3). Szczególnie genom D, wykazywał liczne (11) i rozległe przerwy między markerami na mapach chromosomów.

Tabela 1

Charakterystyka mapy genetycznej chromosomów pszenicy (długość i liczba markerów) otrzymanych w populacji mapującej Liwilla × Begra
Features of genetic map of wheat chromosomes (length and number of markers) revealed for mapping population Liwilla × Begra

Chr.	Długość genetyczna chromosomu (cM)/liczba przypisanych markerów Chromosome length (cM)/number of markers	Chr.	Długość genetyczna chromosomu (cM)/liczba przypisanych markerów Chromosome length (cM)/number of markers	Chr.	Długość genetyczna chromosomu (cM)/liczba przypisanych markerów Chromosome length (cM)/number of markers
1A	— ^a	1B	107/8	1D	58/9
2A	82/10	2B	97/20	2D	124/9
3A	108/21	3B	135/17	3D	98/17
4A	76/22	4B	67/9	4D	—
5A	67/9	5B	107/11	5D	121/6
6A	43/18	6B	63/13	6D	134/8
7A	147/25	7B	—	7D	66/3

^a — Brak, Absencje

Chr. — Chromosom; Chromosome

DYSKUSJA

Opisywane w literaturze mapy genetyczne w celu otrzymania jak największej zmienności w populacji, zwykle opierają się na populacji potomnej wyprowadzonej z krzyżówki międzygatunkowej (Messmer i in., 1999), z udziałem linii syntetycznych pszenicy (Röder i in., 1998) lub odmian dalece spokrewnionych (Akbari i in., 2006; Semagn i in., 2006). W naszym przypadku, użyte odmiany są blisko spokrewnione, ponieważ w rodowodach Liwilla i Begry występuje francuska odmiana Etoile de Choisy. W związku z tym, wiele rejonów genomu osobników populacji potomnej nie było polimorficznych, a wykrycie regionów polimorficznych było ograniczone możliwościami użytych markerów. Poprzednie próby wykrycia polimorfizmu w populacji Liwilla × Begra (Czembor i in., 2003) przy użyciu markerów SSR napotykały na wiele trudności, dlatego też skorzystano z możliwości zastosowania markerów nowej generacji DArT. Markery DArT w większym stopniu były zdolne do wykrycia polimorfizmu DNA i stąd większa ich liczba została umieszczona na mapie genetycznej w porównaniu do markerów SSR. Otrzymana w naszych badaniach liczba polimorficznych loci DArT (269), jest bardzo zbliżona do liczby polimorficznych markerów DArT (271) zidentyfikowanych w populacji Arina (szwajcarska odmiana pszenicy ozimej) × NK93604 (norweska odmiana pszenicy jarej) (Semagn i in., 2006).

Prezentowana w pracy mapa Liwilla × Begra jest stosunkowo krótka. Jeżeli przyjmiemy, że całkowita długość mapy genetycznej pszenicy wynosi około 4000cM (Sourdille i in., 2003), to nasza mapa stanowi zaledwie 42% tej długości. Niemniej jednak, opublikowane ostatnio mapy pszenicy utworzone przy zastosowaniu markerów RFLP,

AFLP, SSR i DArT miały długość 2937cM (Akbari i in., 2006) i 2595,5cM (Semagn i in., 2006). Być może zidentyfikowanie dodatkowych markerów AFLP i SSR w populacji Liwilla × Begra przyczyniłoby się do wydłużenia mapy genetycznej.

W trakcie konstruowania mapy część markerów została wykluczona z dalszej analizy z powodu znacznych zaburzeń w segregacji odbiegających od modelu 1:1. Zaburzenia w segregacji markerów mogą prowadzić do powstawania fałszywych sprzężeń i obniżenia wartości rekombinacji (Kammholz i in., 2001). Często napotyka się na ten problem w trakcie budowania mapy genetycznej i może on dotyczyć nawet 20,4% segregujących markerów (Semagn i in., 2006). Przypisuje się występowanie tego zjawiska różnym procesom o podłożu genetycznym uaktywnianym w trakcie kultur *in vitro*, np. aktywność genów gametocydalnych (*Gc*), czy też genu powodującego nieżywołność pyłku (pollen killer, *Ki*) (McIntosh i in., 1998).

Stwierdzono zdecydowanie mniejszą liczbę markerów zmapowanych w genomie D w porównaniu do dwóch pozostałych genomów. Znacząco mniejszą liczbę markerów DArT przypisaną do genomu D również odnotował Akbari i wsp. (2006) oraz Semagn i wsp. (2006). We wcześniejszych badaniach odnotowano tę samą prawidłowość przy zastosowaniu markerów SSR (Röder i in., 1998; Song i in., 2005), co stało się impulsem do opracowania dodatkowych markerów wyłącznie dla genomu D (Pestsova i in., 2000). Wśród trzech chromosomów 1A, 7B i 4D, dla których nie udało się utworzyć grup sprzężeń przy użyciu markerów DArT i SSR, chromosom 4D nie występował również na mapie ustalonej (przy użyciu tego samego typu markerów) przez Akbari i wsp. (2006), a grupa sprzężeń korespondująca z tym chromosomem na mapie utworzonej przez Semagn i wsp. (2006) była najkrótsza.

Utworzona mapa posiada pełną zgodność pozycji markerów SSR z mapami opublikowanymi przez Somers i wsp. (2004) i Song i wsp. (2005), które są uznawane za najbardziej wiarygodne. W przypadku markerów DArT w kilku przypadkach stwierdzono niezgodność pozycji w porównaniu do wcześniej opublikowanych map (Akbari i in., 2006; Semagn i in., 2006). Dotyczy to głównie rejonów o dużym skupieniu markerów na krótkim odcinku mapy. Przy stosunkowo małej liczebności populacji mapującej (74 osobników) wydajność algorytmu ustalającego pozycję markera względem pozostałych maleje wraz z ograniczeniem dostępności liczby przypadków o odmiennym genotypie. Stąd możliwe jest ustalenie innej kolejności markerów w danym rejonie w porównaniu do opisywanych w literaturze. Niezgodności między mapami dotąd opublikowanymi (Liu i Tsunewaki, 1991; Gale i in., 1995; Röder i in., 1998; Messmer i in., 1999; Gupta i in., 2002; Paillard i in., 2003; Somers i in., 2004; Song i in., 2005) w pozycji markerów nie są niczym niezwykłym i można je stwierdzić porównując wspomniane mapy przy użyciu aplikacji CMap na stronie GrainGenes (<http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>). Należy pamiętać, że proces tworzenia mapy jest oparty o metody statystyczne (obarczone również pewnym poziomem błędów), które podają względną pozycję danego markera odnośnie pozostałych markerów (Van Ooijen, 2006).

Mała liczba zmapowanych markerów w genomie D przyczyniła się również do występowania licznych i rozległych przerw w tym genomie. Podobnych rozmiarów zjawisko obserwowano przy konstrukcji mapy pszenicy przez Röder i wsp. (1998) oraz

Semagn i wsp. (2006). Generalnie niższy poziom zmienności obserwowany w genomie D w porównaniu do A i B, przypisuje się stosunkowo niedawnej introgresji tego genomu do pszenicy uprawnej (Caldwell i in., 2004).

Uzyskana mapa genetyczna Liwilla × Begra pozwoliła na wyłonienie regionów polimorficznych, które w dalszych badaniach będą analizowane pod kątem występowania loci związanych z odpornością na patogeny.

WNIOSKI

1. Wykazano przydatność populacji mieszańcowych odmian pszenicy ozimej blisko spokrewnionych do wyznaczania mapy genetycznej przy zastosowaniu markerów molekularnych.
2. Bliskie pokrewieństwo użytych odmian (ograniczona zmienność genetyczna populacji potomnej) wpłynęło na przeciętne wysycenie mapy genetycznej markerami.
3. Markery DArT potwierdziły swoje walory jako system wykrywania polimorfizmu DNA w sposób szybki i wydajny.

LITERATURA

- Akbari M., Wenzl P., Caig V., Carling J., Xia L., Yang S., Uszynski G., Mohler V., Lehmensiek A., Kuchel H., Hayden M. J., Howes N., Sharp P., Vaughan P., Rathmell B., Huttner E., Kilian A. 2006. Diversity arrays technology (DArT) for high-throughput profiling of the hexaploid wheat genome. *Theor. Appl. Genet.* 113: 1409 — 1420.
- Arseniuk E., Czembor H. J., Sowa W., Krysiak H., Zimny J. 1995. Genotypic reaction of triticale, wheat and rye to inoculation with *Stagonospora* (= *Septoria*) *nodorum* under field conditions and *S. nodorum* and *S. tritici* under controlled environment. *Biul. IHAR* 195/196: 209 — 246
- Botstein D., White R., Skolnick M., Davis R. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314 — 331.
- Caldwell K. S., Dvorak J., Lagudah E. S., Akhunov E., Luo M. Ch., Wolters P., Powell W. 2004. Sequence Polymorphism in Polyploid Wheat and Their D-Genome Diploid Ancestor. *Genetics* 167: 941 — 947.
- Chao S., Sharp P. J., Worland A. J., Warham E. J., Koebner R. M. D., Gale M. D. 1989. RFLP-based genetic maps of wheat homoeologous group 7 chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 78: 495 — 504.
- Chee M., Yang R., Hubbell E., Berno A., Huang X. C., Stern D., Winkler J., Lockhart D. J., Morris M. S., Fodor S. P. A. 1996. Accessing genetic information with high-density DNA arrays. *Science* 274: 610 — 614.
- Czembor P. C., Arseniuk E., Czaplicki A., Song Q. J., Cregan P. B., Ueng P. P. 2003. QTL mapping of partial resistance in winter wheat to *Stagonospora nodorum* blotch. *Genome* 46(4): 546 — 554.
- Gale M. D., Atkinson M. D., Chinoy C. N., Harcourt R. L., Jia J., Li Q. Y., Devos K. M. 1995. Genetic maps of hexaploid wheat. *Proceedings of the 8th International Wheat Genetics Symposium*. 20–25 July 1993, Beijing, China. Edited by Li Z. S. and Xin Z. Y. China Agricultural Sciencetech Press, vol. 1, pp. 29 — 40.
- Góral T. 2006. Odporność odmian pszenicy ozimej na fuzariozę kłosów powodowaną przez *Fusarium culmorum* (W. G. Smith) Sacc. *Biul. IHAR* 242: 63 — 78.
- Gupta P. K., Balyan H. S., Edwards K. J., Isaac P., Korzun V., Röder M., Gautier M. F., Joudier P., Schlatter A. R., Dubcovsky J., De la Pena R. C., Khairallah M., Penner G., Hayden M. J., Sharp P., Keller B., Wang R. C. C., Hardouin J. P., Jack P., Leroy P. 2002. Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 105: 413 — 422.
- Gupta P. K., Varshney R. K., Sharma P. C., Ramesh B. 1999. Molecular markers and their application in wheat breeding: a review. *Plant Breeding* 118: 369 — 390.
- Jaccoud D., Peng K., Feinstein D., Kilian A. 2001. Diversity arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic Acids Res.* 29: e25.

- Kammholz S. J., Campbell A. W., Sutherland M. W., Hollamby G. J., Martin P. J., Eastwood R. F., Barclay I., Wilson R. E., Brennan P. S., Shepard J. A. 2001. Establishment and characterization of wheat genetic mapping populations. *Aust. J. Agric. Res.* 52: 1079 — 1088.
- Liu Y. G., Tsunewaki K. 1991. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in wheat. II. Linkage maps of the RFLP sites in common wheat. *Jpn. J. Genet.* 66: 617 — 633.
- McIntosh R. A., Hart G. E., Devos K. M., Gale M. D., Rogers W. J. 1998. Catalogue of gene symbols for wheat. Vol. 5. Proceedings of the 9th International Wheat Genetic Symposium, Saskatoon, Sask., Canada, 2–7 August 1998. University Extension Press, University of Saskatchewan, Saskatoon, Sask.: 77 — 83.
- Messmer M. M., Keller M., Zanetti S., Keller B. 1999. Genetic linkage map of a wheat × spelt cross. *Theor. Appl. Genet.* 98: 1163 — 1170.
- Paillard S., Schnurbusch T., Winzeler M., Messmer M., Sourdille P., Abderhalden O., Keller B., Schachermayr G. 2003. An integrative genetic linkage map of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 107: 1235 — 1242.
- Pestsova E., Ganal M. W., Röder M. S. 2000. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43: 689 — 697.
- Röder M. S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M. H., Leroy P., Ganal M. W. 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007 — 2023.
- Semagn K., Bjørnstad Å., Skinnes H., Marøy A. G., Tarkegne Y., William M. 2006. Distribution of DArT, AFLP, and SSR markers in a genetic linkage map of a doubled-haploid hexaploid wheat population. *Genome* 49: 545 — 555.
- Somers D. J., Isaac P., Edwards K. 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 109: 1105 — 1114.
- Song Q. J., Shi J. R., Singh S., Fickus E. W., Costa J. M., Lewis J., Gill B. S., Ward R., Cregan P. B. 2005. Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 110: 550 — 560.
- Sourdille K., Cadalen T., Guyomarc'h H., Snape J. W., Perretant M. R., Charmet G., Boeuf C., Bernard S., Bernard M. 2003. An update of the Courtot × Chinese Spring intervarietal molecular marker linkage map for the QTL detection of agronomic traits in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 106: 530 — 538.
- Van Ooijen J. W. 2006. JoinMap 4, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kyazma B. V., Wageningen, Netherlands.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Fritjers A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407 — 4414.
- Weber J., May P. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.* 44: 388 — 396.
- Wenzl P., Carling J., Kudrna D., Jaccoud D., Huttner E., Kleinhofs A., Kilian A. 2004. Diversity arrays technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 9915 — 9920.
- Williams J., Kubelik A., Livak K., Rafalski J., Tingey S. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531 — 6535.