

KAROLINA KRYSKOWIAK  
TADEUSZ ADAMSKI  
MARIA SURMA  
ZYGMUNT KACZMAREK  
ANETTA KUCZYŃSKA  
AGATA BURTNA  
RENATA TRZECIAK

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, Poznań

## Zmienność wybranych cech technologicznych ziarna mieszańców pszenicy ozimej w zależności od składu podjednostek białek gluteninowych u form rodzicielskich

### Variability of chosen technological traits of winter wheat hybrids in relation to composition of HMW glutenin subunits in parental forms

Celem badań była analiza zmienności wybranych cech technologicznych ziarna w populacjach mieszańców pszenicy ozimej o tym samym składzie alleli *Glu-1* przy jednoczesnym uwzględnieniu podobieństwa genetycznego odmian rodzicielskich. Materiał do badań stanowiło 18 odmian pszenicy ozimej oraz 76 mieszańców pokolenia F<sub>2</sub>. Dokonano charakterystyki form wyjściowych pod względem składu wysokocząsteczkowych podjednostek białek gluteninowych (HMW). Zbadano także zróżnicowanie genetyczne pomiędzy parami form rodzicielskich przy użyciu markerów molekularnych typu SSR. Dla mieszańców i ich form wyjściowych określono zawartość białka w s.m. ziarna oraz wykonano analizy farinograficzne przy użyciu aparatu Brabendera. Mieszańce (rodziny) podzielono na grupy o tym samym składzie podjednostek gluteninowych, a następnie grupy te porównano pod względem parametrów technologicznych. Określono zmienność fenotypową między grupami rodzin o różnym składzie alleli *Glu-1* oraz przeprowadzono wielowymiarową ocenę wyróżnionych grup. Tworzące poszczególne grupy rodziny, mimo takiego samego składu alleli *Glu-1* różniły się pod względem analizowanych cech technologicznych ziarna. Nie stwierdzono związku pomiędzy odległością genetyczną par form rodzicielskich tworzących rodziny wchodzące w skład poszczególnych grup a podobieństwem fenotypowym tych grup.

**Słowa kluczowe:** analiza statystyczna, cechy technologiczne ziarna, odległości Mahalanobisa, pszenica ozima, wysokocząsteczkowe podjednostki gluteninowe

The aim of the study was to analyze variability of selected technological properties in winter wheat hybrids of diverse allele composition in *Glu-1* loci in connections with genetic similarity of parental cultivars evaluated by molecular markers. Material for the study included 18 winter wheat cultivars and

their 76 F<sub>2</sub> hybrids obtained after crossing in a line x tester scheme. Protein content and rheological dough parameters, evaluated using the Brabender farinograph, were determined in parents and hybrids. Additionally, parental cultivars were analyzed in regard to the composition of high molecular weight (HMW) glutenin subunits and polymorphism of microsatellite markers (SSR), on the basis of which genetic distances between them were evaluated. Hybrid families were divided into groups with the same composition of HMW glutenins and afterwards these groups were compared in terms of rheological parameters. Phenotypic variability between family groups was estimated and multivariate evaluation of these groups was performed. It was found that hybrid families belonging to the same group, i.e. with the same HMW composition, differed in dough properties. No relationship was ascertained between genetic distances of parental cultivars of hybrid families belonging to groups of the same HMW composition and phenotypic similarity of hybrids within these groups.

**Key words:** dough properties, protein content, Mahalanobis distances, winter wheat, HMW glutenin subunits

## WSTĘP

W hodowli pszenic jakościowych, selekcję we wczesnych etapach hodowli, przeprowadza się najczęściej na podstawie znajomości składu wysokocząsteczkowych podjednostek białek gluteninowych (HMW) oraz zawartości białka. Podjednostki HMW identyfikowane są najczęściej w nasionach za pomocą elektroforezy na żelu poliakrylamidowym (SDS). Alternatywną metodą jest zastosowanie allelospecyficznych markerów molekularnych w reakcji PCR (AS-PCR) (Anderson, 1994; D'Ovidio i in., 1995; Ahmad, 2000; De Bustos i in., 2000; Lei i in., 2006) co pozwala na identyfikację podjednostek HMW już w stadium siewki. Payne (1987) przypisał poszczególnym podjednostkom białek gluteninowych określoną wartość, a sumując wartości podjednostek występujących w danej odmianie można oszacować jej potencjalną wartość wypiekową.

O właściwościach wypiekowych mąki pszenicznej wnioskować można pośrednio na podstawie składu podjednostek HMW, nie determinują one jednak w sposób jednoznaczny właściwości technologicznych pszenicy. Wiele badań wskazuje bowiem, iż również inne rejony genomu są odpowiedzialne za cechy jakościowe ziarna (Sourdille i in., 1996; Galande i in., 2001). Dlatego też określenie zróżnicowania genetycznego krzyżowanych odmian przy zastosowaniu markerów molekularnych związanych z QTL dla cech jakościowych może być informacją pomocną w procesie selekcji pszenic jakościowych. Zastosowanie w pracy markerów molekularnych sprzężonych z zawartością białka, strukturą i twardością ziarna oraz parametrami mikrograficznymi pozwala założyć, że znaczna część obserwowanej zmienności (odległości genetycznej między odmianami) będzie związana z *loci* determinującymi te cechy. Należy również pamiętać, iż odmiany pszenicy o dobrych właściwościach technologicznych są na ogół mniej plenne (Calderini i Slafer, 1999; De Vita i in., 2007), dlatego też w pracy wykorzystano również markery molekularne identyfikujące QTL związane z plonowaniem.

Celem pracy było określenie zmienności rodzin pokolenia F<sub>2</sub> pszenicy w grupach o tym samym składzie białek gluteninowych, pod względem cech technologicznych ziarna, na tle zróżnicowania genetycznego form rodzicielskich.

## MATERIAŁY I METODY

Materiał do badań stanowiło 18 odmian pszenicy ozimej: Alidos, Aristos, Aron, Batis, Begra, Borenos, Bussard, Charger, Carolus, Dad 76, Elena, Flair, Kobra, Kornett, Kris, Mikon, Pegassos i Rektor oraz ich mieszańce pokolenia F<sub>2</sub> uzyskane w 76 kombinacjach krzyżowań. Formy rodzicielskie oraz mieszańce badano w doświadczeniu polowym (Krystkowiak i in., 2009). Określano zawartość białka w s.m. ziarna oraz wykonano analizy farinograficzne przy użyciu aparatu Brabendera, na podstawie których określono wodochłonność mąki, czas rozwoju i rozmięczenie ciasta.

Zróznicowanie genetyczne form rodzicielskich badano z zastosowaniem 26 markerów molekularnych związanych z QTL dla twardości i tekstury ziarna, plonowaniem, zawartością białka oraz niektórymi parametrami reologicznymi, które wybrano na podstawie danych literaturowych (tab. 1). Sekwencje starterów oraz temperatury i przebieg reakcji PCR zastosowano według procedury podanej w pracach Röder i in. (1998), Pestova i in. (2000), Gupta i in. (2002), Sommers i in. (2004) i Sourdille i in. (2004). Reakcje PCR przeprowadzono w termocyklerze Gene AMP PCR system 9700 (Applied Biosystem). Produkty reakcji PCR rozdzielano na Analizatorze Genetycznym Applied Biosystem, pracującym w oparciu o techniki elektroforezy kapilarnej i detekcji fluorescencyjnej. Do obliczenia wartości podobieństwa genetycznego pomiędzy badanymi odmianami zastosowano formułę Nei i Li (1979), które zostały następnie przekształcone w odległości genetyczne.

Formy rodzicielskie zostały scharakteryzowane pod względem składu wysoko-cząsteczkowych podjednostek gluteninowych za pomocą markerów allelospecyficznych (D'Ovidio, Anderson, 1994; Lafandra i in., 1997; Ahmad, 2000; De Bustos i in., 2000; Lei i in., 2006). Sekwencje użytych markerów allelospecyficznych podano w tabeli 2. Genomowy DNA wyizolowano z dwutygodniowych siewek za pomocą zestawu Kit Promega. Mieszanina reakcyjna zawierała 1x PCR bufor (Qiagen), 2mM MgCl<sub>2</sub>, 300 µg każdego dNTP, 0,2 µg każdego primera, 50 ng DNA i 0,5 U HotStar Taq DNA polimerazy (Qiagen). Produkty PCR rozdzielano na 1,5% żelu agarozowym z wykorzystaniem bromku etydyny.

Na podstawie wyników analizy składu podjednostek HMW u form rodzicielskich mieszańce z 76 analizowanych kombinacji krzyżówkowych podzielono na 22 grupy. Do tej samej grupy zaliczano populacje F<sub>2</sub> (zdefiniowane w pracy jako rodziny), uzyskane ze skrzyżowania form rodzicielskich o tym samym składzie podjednostek białek gluteninowych (w rodzinach tworzących grupę segregowały te same allele *Glu-1*). Do utworzonych w ten sposób grup wchodziły rodziny składające się z roślin zarówno homo- jak i heterozygotycznych pod względem składu podjednostek HMW.

Wychodząc z założenia jednakowego w każdej grupie występowania osobników homo- jak i heterozygotycznych (w F<sub>2</sub> 50% homozygot), oraz znając z literatury zależności między składem białek gluteninowych a wartością wypiekową mąki (mierzonej wartościami Payne'a), możliwe okazało się określenie teoretycznej wartości wypiekowej każdej z 22 utworzonych grup genotypów.

**Charakterystyka zastosowanych markerów mikrosatelitarnych**  
**Characteristic of applied microsatellite markers**

Starter SSR — SSR markers	Sekwencja — Sequence	Literatura — Reference
Xgwm16	F: 5' GCT TGG ACT AGC TAG AGT ATC ATA C 3' R: 5' CAA TCT TCA ATT CTG TCG CAC GG 3'	Röder i in. (2002)
Xgwm55	F: 5' GCA TCT GGT ACA CTA GCT GCC 3' R: 5' TCA TGG ATG CAT CAC ATC CT 3'	Perretant i in. (2000)
Xgwm60	F: 5' TGT CCT ACA CGG ACC ACG T 3' R: 5' GCA TTG ACA GAT GCA CAC G 3'	Korzun i in. (1997)
Xgwm63	F: 5' TCG ACC TGA TCG CCC CTA 3' R: 5' CGC CCT GGG TGA TGA ATA GT 3'	Röder i in. (2002)
Xgwm124	F: 5' GCC ATG GCT ATC ACC CAG 3' R: 5' ACT GTT CGG TGC AAT TTG AG 3'	Crepieux i in. (2005)
Xgwm130	F: 5' AGC TCT GCT TCA CGA GGA AG 3' R: 5' CTC CTC TTT ATA TCG CGT CCC 3'	Perretant i in. (2000)
Xgwm190	F: 5' GTG CTT GCT GAG CTA TGA GTC 3' R: 5' GTG CCA CGT GGT ACC TTT G 3'	Turner i in. (2004)
Xgwm192	F: 5' GGT TTT CTT TCA GAT TGC GC 3' R: 5' CGT TGT CTA ATC TTG CCT TGC 3'	Turner i in. (2004)
Xgwm205	F: 5' CGA CCC GGT TCA CTT CAG 3' R: 5' AGT CGC CGT TGT ATA GTG CC 3'	Turner i in. (2004)
Xgwm210	5' TGC ATC AAG AAT AGT GTG GAA G 3' 5' TGA GAG GAA GGC TCA CAC CT 3'	Röder i in. (2002)
Xgwm261	5' CTC CCT GTA CGC CTA AGG C 3' 5' CTC GCG CTA CTA GCC ATT G 3'	Narasimhamoorthy i in. (2006)
Xgwm296	5' AAT TCA ACC TAC CAA TCT CTG 3' 5' GCC TAA TAA ACT GAA AAC GAG 3'	Röder i in. (2002)
Xgwm325	F: 5' TTT CTT CTG TCG TTC TCT TCC C 3' R: 5' TTT TTA CGC GTC AAC GAC G 3'	Kuchel i in. (2006)
Xgwm358	F: 5' AAA CAG CGG ATT TCA TCG AG 3' R: 5' TCC GCT GTT GTT CTG ATC TC 3'	Turner i in. (2004)
Xgwm437	F: 5' GAT CAA GAC TTT TGT ATC TCT C 3' R: 5' GAT GTC CAA CAG TTA GCT TA 3'	Huang i in. (2002)
Xgwm497	F: 5' GTA GTG AAG ACA AGG GCA TT 3' R: 5' CCG AAA G TT GGG TGA TAT AC 3'	Campbell i in. (2001)
Xgwm498	F: 5' GGT GGT ATG GAC TAT GGA CAC T 3' R: 5' TTT GCA TGG AGG CAC ATA CT 3'	Paillard i in. (2003)
Xgwm550	F: 5' CCC ACA AGA ACC TTT GAA GA 3' R: 5' CAT TGT GTG TGC AAG GCA C 3'	Paillard i in. (2003)
Xgwm642	F: 5' ACG GCG AGA AGG TGC TC 3' R: 5' CAT GAA AGG CAA GTT CGT CA 3'	Boeuf i in. (2003)
Xwmc41	F: 5' TCC CTC TTC CAA GCG CGG ATA G 3' R: 5' GGA GGA AGA TCT CCC GGA GCA 3'	Prasad i in. (1999)
Xwmc182	F: 5' TCC TTG ACC CCT TGC ACT AAC T 3' R: 5' ATG GTT GGG AGC ACT AGC TTG G 3'	Somers i in. (2004)
Xwmc221	F: 5' ACG ATA ATG CAG CGG GGA AT 3' R: 5' GCT GGG ATC AAG GGA TCA AT 3'	Somers i in. (2004)
Xwmc489	F: 5' CGA AGG ATT TGT GAT GTG AGT A 3' R: 5' GGA CAA CAT CAT AGA GAA GGA A 3'	Somers i in. (2004)
Xwmc503	F: 5' GCA ATA GTT CCC GCA AGA AAA G 3' R: 5' ATC AAC TAC CTC CAG ATC CCG T 3'	Gupta i in. (2002)
Xwmc630	F: 5' ATA ATG CAC GGT AGG ACT GAG G 3' R: 5' CAT ACT GAG ACA ATT TGG GGG T 3'	Somers i in. (2004)
XGdm33	F: 5' GGC TCA ATT CAA CCG TTC TT 3' R: 5' TAC GTT CTG GTG GCT GCT C 3'	Campbell i in. (2001)

Tabela 2

**Charakterystyka zastosowanych markerów allelospecyficznych dla podjednostek gluteninowych**  
**Characteristic of applied allelospecific markers for glutenin unites**

Starter Primer	Podjednostka gluteninowa Glutenin subunit	Sekwencja straterów Sequence of the primers	Literatura Reference
AS1	AxNull	F:ACGTTCCCCTACAGGTACTA R:TATCACTGGCTAGCCGACAA	Lafiandra i in. 1997
AS2	Ax2*	F:CCGATTTTGTCTTCTCACAC R:CACCAAGCGAGCTGCAGAT	De Bustos i in. 2000
AS3	Ax2* Ax1/AxNull	F:CCATCGAAATGGCTAAGCGG R:GTCCAGAAGTTGGGAAGTTGC	Lafiandra i in. 1997
AS4	Bx7	F:ATGGCTAAGCGCCTGGTCCT R:TGCCTGGTCGACAATGCGTCGCTG	Ahmad, 2000
AS6	By8	F:TTAGCGCTAAGTGCCGTCT TTGTCCTATTTGCTGCCCTT	Lei i in. 2006
AS8	By20* By8,By8*, By18* By9	F:TTCTCTGCATCAGTCAGGA R:AGAGAAGCTGTGTAATGCC	Lei i in. 2006
AS9	Dx5	F:GCCTAGCAACCTTACAATC R:GAAACCTGCTGCGGACAAG	D'Ovidio, Anderson 1994
AS10	Dy10 Dy12	F:GTTGGCCGGTCGGCTGCCATG R:TGGAGAAGTTGGATAGTACC	D'Ovidio, Anderson 1994

Równocześnie przeprowadzono analizy technologiczne wchodzących w skład każdej grupy rodzin (zdefiniowanych jako potomstwo jednej kombinacji krzyżówkowej). Pozwoliło to na określenie zakresu zmienności cech technologicznych między rodzinami w obrębie każdej z badanych grup. W dalszej kolejności badano, czy istnieje związek między odległością genetyczną par form rodzicielskich tworzących rodziny w obrębie każdej z grup a zakresem zmienności cech technologicznych tworzących daną grupę rodzin.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników wykonano za pomocą metod jedno- i wielowymiarowych (Caliński, Kaczmarek, 1973). Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Istotność różnic w obrębie poszczególnych grup między rodzinami (rodzina obejmuje mieszańce F<sub>2</sub> z tej samej kombinacji krzyżówkowej) określono na podstawie wartości najmniejszej istotnej różnicy (NIR). Do oceny grup rodzin pod względem wszystkich cech łącznie zastosowano analizę zmiennych kanonicznych (Caliński, Kaczmarek, 1973; Morrison, 1976). Obliczono ponadto odległości Mahalanobisa, które pozwoliły wnioskować o wielocechowym podobieństwie grup. Porównanie grup rodzin o różnym składzie alleli Glu-1 pod względem każdej z badanych cech przeprowadzono poprzez ocenę i testowanie odpowiednich kontrastów.

## WYNIKI

### Zróżnicowanie genetyczne badanych odmian pszenicy

Do określania zróżnicowania genetycznego badanych odmian pszenicy wykorzystano 26 markerów mikrosatelitarnych. W wyniku przeprowadzonych reakcji otrzymano 140 alleli. Średnia liczba alleli uzyskanych przy użyciu jednego startera alleli wynosiła 5,4. Najbardziej zróżnicowane na poziomie molekularnym okazały się pary Elena-Alidos,

Dad76-Borenos oraz Charger-Bussard, dla których współczynniki odległości genetycznej wynosiły odpowiednio 0,89 oraz 0,88. Największym podobieństwem pod względem molekularnym odznaczały się pary Begra-Aron, Charger-Aristos, Kobra-Alidos oraz Mikon-Borenos, dla których współczynnik odległości genetycznej wynosił 0,21. Pary form rodzicielskich tworzące rodziny o tym samym składzie podjednostek gluteninowych różniły się znacznie pod względem odległości genetycznych. Odległość genetyczna między formami rodzicielskimi w grupach odznaczających się najlepszymi pod względem technologicznym składem podjednostek gluteninowych wahała się od 0,21 do 0,86. W grupach linii o potencjalnie niskiej wartości technologicznej zróżnicowanie genetyczne par form rodzicielskich mieściło się w podobnych granicach: od 0,22 do 0,89 (tab. 4).

#### Analiza składu wysokocząsteczkowych podjednostek gluteninowych

Wykorzystane do krzyżowań odmiany różniły się składem alleli w loci *Glu-A1*, *Glu-B1* oraz *Glu-D1*. W przypadku *locus Glu-A1* wykazano obecność allela null oraz allela kodującego podjednostkę 1. W *locus Glu-B1* wystąpiły allele kodujące trzy typy podjednostek gluteninowych: Bx7+By8, Bx7+By9 oraz Bx6+By8, natomiast w *locus Glu-D1* allele kodujące podjednostki Dx2+Dy12 oraz Dx5+Dy10 (tab. 3).

Tabela 3

#### Charakterystyka odmian rodzicielskich pod względem składu podjednostek gluteninowych i alleli w loci *Glu-1*

##### Characteristic of parental cultivars in term of glutenin composition in *Glu-1 loci*

Odmiana Cultivar	HMW podjednostki gluteninowe HMW glutenin subunits	Allele — Alleles		
		<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>
Alidos	N/ 6+8/ 5+10	c	d	d
Aristos	1/ 7+9/ 5+10	a	c	d
Aron	N/ 7+9/ 5+10	c	c	d
Batis	1/ 7+9/ 5+10	a	c	d
Begra	N/ 7+9/ 5+10	c	c	d
Borenos	N/ 7+9/ 5+10	c	c	d
Bussard	N/ 7+8/ 5+10	c	b	d
Charger	N/ 6+8/ 2+12	c	d	a
Carolus	1/ 7+8/ 5+10	a	b	d
Dad76	N/ 6+8/ 2+12	c	d	a
Elena	N/ 7+9/ 2+12	c	c	a
Flair	N/ 6+8/ 2+12	c	d	a
Kobra	N/ 7+8/ 5+10	c	b	d
Kornett	N/ 7+9/ 5+10	c	c	d
Kris	N/ 7+9/ 2+12	c	c	a
Mikon	1/ 7+9/ 5+10	a	c	d
Pegassos	1/ 7+9/ 5+10	a	c	d
Rektor	1/ 7+9/ 5+10	a	c	d

Badane rodziny mieszańcowe podzielono na 22 grupy- w rodzinach tworzących grupę segregowały takie same allele *Glu-1* (tab. 4). Wartości Payne'a dla poszczególnych grup wahały się od 5,5 do 10,5. Korzystnym składem wysokocząsteczkowych podjednostek białek gluteninowych (Ax1/Bx7+By8/Dx5+Dy10 lub Ax1/Bx7+By9/Dx5+Dy10) charakteryzowało się sześć spośród 22 grup rodzin, co znalazło odbicie w sumarycznej wartości Payne'a wynoszącej dla tych grup od 9 do 10,5.

Tabela 4

**Charakterystyka mieszańców F<sub>2</sub> pod względem składu jakościowego podjednostek białek gluteninowych alleli w *loci Glu 1* oraz wartości Payne'a**  
**Characteristic of F<sub>2</sub> hybrids in term of glutenin composition in *Glu-1 loci* and Payne' value**

Grupa (kombinacja krzyżówkowa) Group (cross combination)	Odległość genetyczna par form rodzicielskich Genetic distances of parents	Glu- A1		Glu- B1		Glu- D1		Sumaryczna wartość Payne'a Summary Payne value
		allel/podjednostka allel /subunit	wartość Payne'a Payne value	allel/podjednostka allel /subunit	wartość Payne'a Payne value	allel/podjednostka allel /subunit	wartość Payne'a Payne value	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.(Mikon × Carolus)	0,68	a (1)	3	c,b (7+9/7+8)	2,5	d (5+10)	5	10,5
2.(Mikon × Aristos)	0,32	a (1)	3	c (7+9)	2	d (5+10)	5	10
3.(Mikon × Alidos)	0,29	a, c (1/Null)	2	c,d (7+9/6+8)	1,5	d (5+10)	5	8,5
4. (Charger × Carolus, Dad76 × Carolus, Flair × Carolus)	0,53 - 0,87	c,a (Null/1)	2	d,b (6+8/7+8)	2	a,d (2+12/5+10)	3,5	7,5
5. (Charger × Aristos, Dad76 × Aristos, Flair × Aristos, Charger × Batis, Charger × Pegassos, Charger × Rektor, Dad76 × Batis, Dad76 × Pegassos, Dad76 × Rektor, Flair × Batis, Flair × Pegassos, Flair × Rektor)	0,21 – 0,69	c,a (Null/1)	2	d,c (6+8/7+9)	1,5	a,d (2+12/5+10)	3,5	7
6. (Charger × Alidos, Dad76 × Alidos, Flair × Alidos)	0,32 – 0,50	c (Null)	1	d (6+8)	1	a,d (2+12/5+10)	3,5	5,5
7. (Charger × Bussard, Dad76 × Bussard, Flair × Bussard)	0,27 – 0,88	c (Null)	1	d,b (6+8/7+8)	2	a,d (2+12/5+10)	3,5	6,5
8. (Charger × Aron, Charger × Borenos, Dad76 × Aron, Dad76 × Borenos, Flair × Aron, Flair × Borenos, Charger × Kornett, Dad76 × Kornett, Flair × Kornett)	0,45 – 0,88	c (Null)	1	d,c (6+8/7+9)	1,5	a,d (2+12/5+10)	3,5	6
9. (Kobra × Carolus)	0,83	c,a (Null/1)	2	b (7+8)	3	d (5+10)	5	10
10. (Kobra × Aristos, Kobra × Batis, Kobra × Pegassos, Kobra × Rektor, Mikon × Bussard)	0,33 – 0,61	c,a (Null/1)	2	b,c (7+8/7+9)	2,5	d (5+10)	5	9,5
11. (Kobra × Alidos)	0,21	c (Null)	1	b,d (7+8/6+8)	2	d (5+10)	5	8
12. (Kobra × Bussard)	0,86	c (Null)	1	b (7+8)	3	d (5+10)	5	9
13. (Kobra × Aron, Kobra × Borenos, Kobra × Kornett, Begra × Bussard)	0,22 – 0,46	c (Null)	1	b,c (7+8/7+9)	2,5	d (5+10)	5	8,5

1	2	3	4	5	6	7	8	9
14. (Elena × Carolus, Kris × Carolus)	0,42-0,77	c,a (Null/1)	2	c,b (7+9/7+8)	2,5	a,d (2+12/5+10)	3,5	8
15. (Elena × Aristos, Kris × Aristos, Elena × Batis, Elena × Pegassos, Elena × Rektor Kris × Batis, Kris × Pegassos Kris × Mikon)	0,34 – 0,77	c,a (Null/1)	2	c (7+9)	2	a,d (2+12/5+10)	3,5	7,5
16. (Elena × Alidos, Kris × Alidos)	0,31 – 0,89	c (Null)	1	c,d (7+9/6+8)	1,5	a,d (2+12/5+10)	3,5	6
17. (Elena × Bussard, Kris × Bussard)	0,31 - 0,53	c (Null)	1	c,b (7+9/7+8)	2,5	a,d (2+12/5+10)	3,5	7
18. (Elena × Aron, Elena × Borenos, Kris × Aron, Kris × Borenos, Elena × Komett, Kris × Komett)	0,22 – 0,48	c (Null)	1	c (7+9)	2	a,d (2+12/5+10)	3,5	6,5
19. (Begra × Carolus)	0,43	c,a (Null/1)	2	c,b (7+9/7+8)	2,5	d (5+10)	5	9,5
20. (Begra × Aristos, Begra × Batis, Begra × Pegassos, Begra × Rektor, Mikon × Aron, Mikon × Borenos)	0,21- 0,52	c,a (Null/1)	2	c (7+9)	2	d (5+10)	5	9
21. (Begra × Alidos)	0,37	c (Null)	1	c,d (7+9/6+8)	1,5	d (5+10)	5	7,5
22. (Begra × Aron, Begra × Borenos, Begra × Komett)	0,21 – 0,46	c (Null)	1	c (7+9)	2	d (5+10)	5	8

### Średnie wartości cech badanych grup genotypów

Wartości średnie badanych cech dla grup utworzonych z rodzin, jak i wartości skrajne dla rodzin tworzących grupę zamieszczono w tabeli 5. Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji stwierdzono istotne zróżnicowanie grup pod względem badanych cech (tab. 6). Większość rodzin w obrębie każdej grupy różniła się istotnie od siebie pod względem co najmniej jednej cechy, o czym świadczą oszacowane wartości NIR.

Średnia wodochłonność mąki dla badanych grup kształtowała się w granicach od 53,7% w grupie 11 do 58,6% w grupie 19. Wartość Payne'a dla tych grup wynosiły odpowiednio 8 i 9,5. Rodziny w obrębie grup odznaczały się stosunkowo wysokim wyrównaniem pod względem tej cechy — tylko w 5 grupach (nr 4, 5, 8, 14, 15) różnice między rodzinami były istotne (tab. 5).

Średnie wartości czasu rozwoju ciasta dla grup rodzin wahały się od 1,78 (grupa 20) do 2,83 min. (grupa 12). Rodziny mieszańców w obrębie grup w większości przypadków różniły się istotnie, o czym świadczą istotne różnice między wartościami skrajnymi (tab. 5). Nie stwierdzono wyraźnych zależności między składem podjednostek HMW a wartościami tej cechy; grupy rodzin o najwyższych (grupa 12) i o najniższych (grupa 20)



wartościach czasu rozwoju ciasta odznaczały się podobnie korzystnym składem białek gluteninowych — dla obu grup wartość Payne’a wynosiła 9,0.

Tabela 5  
Średnie wartości badanych cech w grupach mieszańców F<sub>2</sub> pszenicy ozimej wyróżnionych na podstawie kompozycji alleli w loci *Glu-1*  
Mean value of analyzed traits in groups of F<sub>2</sub> winter wheat hybrids distinguished according to allele compositions in *Glu-1* loci

Grupa rodzin Family group	Liczba rodzin w grupie Number of families in group	Wodochłonność mąki (%) Water absorption (%)				Czas rozwoju ciasta (min.) Dough development (min)				Zawartość białka (%) Protein content (%)			
		średnia wartość cechy dla grupy mean values of trait in group	zakres średnich wartości dla rodzin w grupie range of mean values in group		NIR LSD	średnia wartość cechy dla grupy mean values of trait in group	zakres średnich wartości dla rodzin w grupie range of mean values in group		NIR LSD	średnia wartość cechy dla grupy mean values of trait in group	zakres średnich wartości dla rodzin w grupie range of mean values in group		NIR LSD
			min.	maks.			min.	maks.			min.	maks.	
1	1	58,2	-	-	-	2,57	-	-	-	13,3	-	-	-
2	1	55,6	-	-	-	2,71	-	-	-	12,3	-	-	-
3	1	55,5	-	-	-	2,13	-	-	-	13,8	-	-	-
4	3	55,6	53,8	57,8	3,66	2,19	1,9	2,7	1,04	13,7	13,2	14,2	0,69
5	12	55,3	51,8	57,7	3,59	2,01	1,4	2,4	0,79	13,0	11,2	14,2	1,42
6	3	53,8	51,7	55,4	4,55	2,17	1,9	2,3	0,38	13,5	13,2	13,7	0,36
7	3	55,3	54,2	57,4	4,21	2,01	1,9	2,4	0,74	13,4	13,0	14,2	0,91
8	9	55,7	53,3	57,2	2,89	2,15	1,5	2,7	0,78	13,9	13,0	14,5	0,61
9	1	58,2	-	-	-	2,77	-	-	-	14,1	-	-	-
10	5	55,3	53,5	56,6	3,41	1,95	1,4	2,7	0,96	13,4	13,1	13,8	0,39
11	1	53,7	-	-	-	2,00	-	-	-	13,0	-	-	-
12	1	57,7	-	-	-	2,83	-	-	-	14,1	-	-	-
13	4	54,9	54,3	55,9	2,48	2,26	1,6	2,9	0,98	13,2	12,5	14,2	0,96
14	2	57,4	56,8	58,0	0,51	2,38	1,8	2,9	1,68	13,8	13,3	14,2	0,78
15	8	56,6	54,0	58,9	3,74	2,01	1,4	2,5	0,68	13,1	12,0	14,2	1,02
16	2	57,1	54,6	59,6	5,93	2,18	1,9	2,5	0,77	13,3	12,0	14,6	2,88
17	2	54,6	54,4	54,8	1,40	2,02	2,0	2,0	0,21	13,1	12,4	13,4	0,78
18	6	55,4	55,1	57,9	3,03	2,17	1,5	2,5	0,20	13,2	11,7	14,3	1,31
19	1	58,6	-	-	-	2,23	-	-	-	14,4	-	-	-
20	6	55,2	55,3	57,0	3,93	1,78	1,3	2,2	0,65	12,8	11,9	13,4	0,84
21	1	56,8	-	-	-	2,03	-	-	-	13,6	-	-	-
22	3	55,9	54,9	57,3	2,44	2,01	1,7	2,2	0,71	13,8	13,2	14,5	0,89

Średnia zawartość białka dla badanych grup kształtowała się w granicach od 12,3% (grupa 2) do 14,4% (grupa 19). Obie grupy odznaczały się zbliżonymi i wysokimi wartościami Payne’a wynoszącymi odpowiednio 10 i 9,5. Różnice między rodzinami o wartościach skrajnych w obrębie każdej z grup były na ogół wyższe od oszacowanych wartości NIR, co wskazuje na ich istotne zróżnicowanie (tab. 5).

Tabela 6

**Analiza wariancji dla wodochłonności mąki, rozwoju ciasta, zawartość białka oraz rozmiękczenia ciasta dla badanych grup pszenic**  
**Analysis of variance for water absorption, dough development, protein content and degree of softening of analyzed wheat groups**

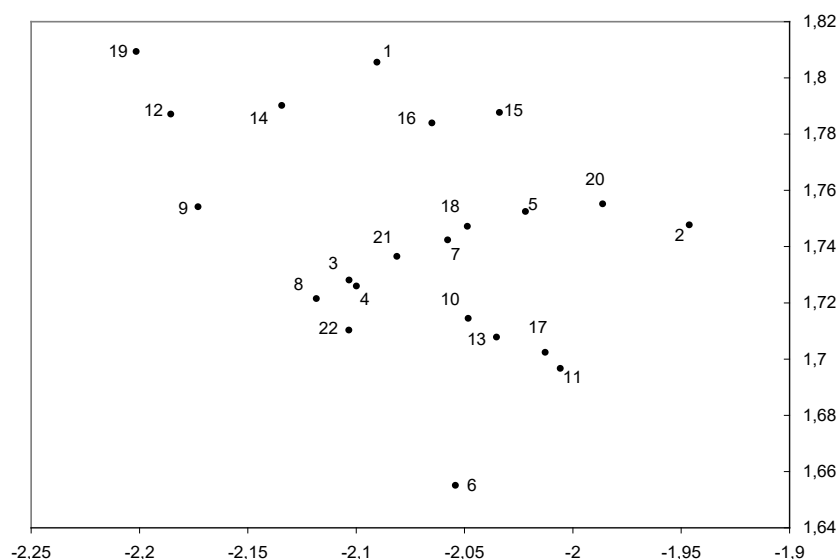
Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	Cecha — Traits							
		wodochłonność mąki water absorption		rozwój ciasta dough development		zawartość białka protein content		rozmiękczenie ciasta degree of softening	
		średni kwadrat mean square	F. obl F <sub>cal.</sub>	średni kwadrat mean square	F. obl F <sub>cal.</sub>	średni kwadrat mean square	F. obl F <sub>cal.</sub>	średni kwadrat mean square	F. obl F <sub>cal.</sub>
Grupy rodzin Group of hybrid families	21	9,723	2,584**	0,366	1,764*	1,715	4,965*	476,4	1,535
Błąd Error	206	3,763		0,208		0,364		310,6	

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt; 0.01

**Podobieństwo badanych grup pod względem wszystkich cech łącznie**

Podobieństwo badanych rodzin pod względem wszystkich cech łącznie przedstawiono na rysunku 1.

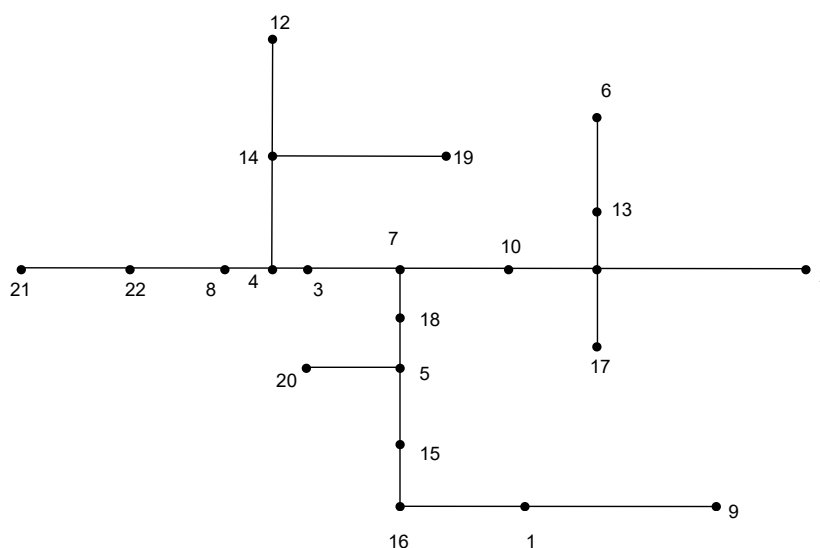


**Rys. 1. Położenie grup pszenic w układzie dwóch pierwszych zmiennych kanonicznych V<sub>1</sub> i V<sub>2</sub>**

**Fig. 1. Configuration of wheat groups in the space of two first canonical variables**

Wyraźnie odrębne położenie w stosunku do pozostałych przyjęły grupy 1, 2, 9, 12, 19 i 20, charakteryzujące się wysokimi sumarycznymi wartościami Payne'a (powyżej 9). Interesujące z hodowlanego punktu widzenia wydają się grupy 1 i 9 (o wartościach Payne'a

odpowiednio 10,5 i 10). Wartość technologiczna ziarna określona procentową zawartością białka, czasem rozwoju ciasta i wodochłonnością mąki traktowanych łącznie dla obu tych grup rodzin była wysoka. Rozpatrując każdą cechę oddzielnie można zauważyć, że nie różniły się one istotnie (na poziomie  $P = 0,01$ ) od najwyższych wartości tych cech obserwowanych w innych grupach. Podobieństwo grupy 1 i 9 pod względem wszystkich cech łącznie znalazło odbicie w ich położeniu na dendrycie najkrótszych połączeń, wykreślonym na podstawie odległości Mahalanobisa (rys. 2); spośród wszystkich analizowanych grup 1 i 9 znalazły się najbliżej siebie. Widoczne jest również odmienne położenie w układzie dwóch pierwszych zmiennych kanonicznych grup charakteryzujących się niskimi sumarycznymi wartościami Payne'a (5,5 i 6), co w szczególności widoczne jest na przykładzie grupy 6 i 16. Pozostałe grupy o średnich wg Payne'a wartościach technologicznych przyjmowały centralne położenie w układzie dwóch pierwszych zmiennych kanonicznych (rys. 1).



**Rys. 2. Dendryt najkrótszych połączeń między grupami pszenicy o różnym składzie alleli *Glu-1* wykreślony na podstawie odległości Mahalanobisa**

**Fig. 2. Dendrite of the shortest connections between wheat groups of different allele composition in *Glu-1* locus based on Mahalanobis distances**

## DYSKUSJA

Wartość technologiczna mąki u pszenicy zależy od wielu czynników, między innymi od składu wysokocząsteczkowych podjednostek białek gluteninowych. Przyjmuje się, że wysokocząsteczkowe podjednostki gluteninowe warunkują około 50–70% zmienności cech technologicznych, dlatego podjęte w pracy badania miały na celu stwierdzenie, czy grupy roślin o tym samym składzie HMW różniły się znaczenie pod względem

analizowanych cech technologicznych. Dla szerszej oceny wykorzystano również markery mikrosatelitarne identyfikujące QTL wybranych cech technologicznych, co związane jest z faktem, że wartość technologiczna pszenicy jest cechą złożoną, na którą wpływ mają zarówno zawartość białka, twardość ziarna jak i inne właściwości oceniane za pomocą farinografu i alweografu.

W pracy formy wyjściowe analizowano pod kątem składu jakościowego podjednostek gluteninowych kodowanych przez loci *Glu-1*. Identyfikację alleli przeprowadzono za pomocą markerów allelospecyficznych (AS-PCR). Reakcja AS-PCR jest wydajną i wiarygodną metodą umożliwiającą badanie składu wysokocząsteczkowych glutenin (D'Ovidio i Anderson, 1994; D'Ovidio i in., 1995; Lafiandra i in., 1997; Ahmad, 2000; De Bustos i in., 2000; Radovanovic i Cloutier, 2003). Istotną zaletą tej metody jest możliwość przeprowadzania oceny materiału roślinnego pod względem HMW już na etapie siwki. Pozwala to na wybór form homozygotycznych o pożądanym składzie wysokocząsteczkowych białek gluteninowych bez konieczności czekania na uzyskanie z tych roślin ziarniaków (Gupta i in., 1999; Gale, 2005). Z kolei w przypadku hodowli pszenicy z wykorzystaniem linii podwojonych haploidów (DH), dzięki analizie składu podjednostek gluteninowych u haploidów możliwe jest pominięcie kosztownego procesu podwajania liczby chromosomów u form o niepożądanym składzie HMW. W przeciwieństwie do metody AS-PCR analiza wysokocząsteczkowych podjednostek białek gluteninowych przy użyciu metody SDS-PAGE jest możliwa do zastosowania jedynie, wtedy gdy materiał do badań stanowią ziarniaki, co nie pozwala na przeprowadzenie wczesnej selekcji linii hodowlanych przed osiągnięciem dojrzałości pełnej. Formy rodzicielskie badane w pracy posiadały łącznie siedem różnych alleli w locus *Glu-1* (*Glu-1A*: a, c, *Glu-1B*: b, c, d, *Glu-1D*: a, d). Kolejnym etapem była ocena wpływu podjednostek gluteninowych na wartość wypiekową pszenicy. Przyjmuje się, że największy wpływ na kształtowanie się cech jakościowych mają podjednostki Dx5 + Dy10 oraz Ax1 i Ax2\* (Weegels i in., 1996; Ivanov i in., 1998). W badaniach przeprowadzonych przez Bronneke i in. (2000) stwierdzono, że najlepszą jakością charakteryzowały się odmiany pszenic o składzie podjednostek Ax1/Bx7+By9/Dx5+Dy10. W pracy Rodriguez-Quijano i in. (2001) stwierdzono korzystny wpływ podjednostki Dx5 na wartość testu sedymentacji SDS. Pośród podjednostek gluteninowych kodowanych przez *Glu-B1* duże znaczenie przypisuje się podjednostce Bx7, która związana jest z jedną z dwóch podjednostek By8 lub By9. Obie pary alleli wzbogacają dodatkowo dobrą wartość wypiekową poprzez wzrost elastyczności ciasta (Ahmad, 2000). Potwierdzono również niekorzystny wpływ podjednostek Bx6+By8 na kształtowanie się parametrów technologicznych pszenic (Waga i Cygankiewicz, 1996) oraz istnienie związku pomiędzy białkami gluteninowymi kodowanymi przez gen *Glu-A1* a stałością i elastycznością ciasta oraz liczbą sedymentacji (Waga 1996; Węgrzyn i Waga, 1999). Z tego punktu widzenia najkorzystniejszym składem podjednostek wysokocząsteczkowych białek gluteninowych charakteryzowało się sześć form rodzicielskich: Aristos, Batis, Mikon, Pegassos, Rektor (Ax1/Bx7+By9/Dx5+Dy10) oraz Carolus: (Ax1/Bx7+By8/Dx5+Dy10). Należy jednak zaznaczyć, że wartość technologiczna mąki zależy od wielu innych parametrów (min. zawartości białka, twardości ziarna, właściwości ocenianych za pomocą farinografu i alweografu) nie zawsze

związanych ze składem wysokocząsteczkowych podjednostek gluteninowych (Gross i in., 2004; Kuchel i in., 2006; Salmanowicz i in., 2008). W pracy badano zmienność wybranych cech technologicznych ziarna u mieszańców (rodzin) pokolenia F<sub>2</sub> pszenicy uzyskanych ze skrzyżowania odmian o różnym składzie podjednostek gluteninowych. Średnie wartości dla wodochłonności mąki, czasu rozwoju ciasta i zawartości białka w grupach o korzystnym składzie HMW (o wysokich wartościach Payne'a) były na ogół wyższe niż u pozostałych. Potwierdza to znaczną rolę HMW w kształtowaniu wartości technologicznych mąki. Należy jednak zauważyć, że rodziny w obrębie grupy o tym samym składzie białek gluteninowych różniły się istotnie pod względem badanych cech jakościowych.

W pracy podjęto próbę znalezienia związku między zróżnicowaniem genetycznym par form rodzicielskich a zmiennością badanych cech technologicznych w obrębie grup o tym samym składzie białek gluteninowych. Badania prowadzono z wykorzystaniem markerów SSR zlokalizowanych w pobliżu QTL związanych z zawartością białka, strukturą oraz twardością ziarna, parametrami mikrograficznymi oraz plonowaniem (Prasad i in., 1999; Perretant i in., 2000; Pailard i in., 2003; Turner i in., 2004). Stwierdzono, że tworzące poszczególne rodziny formy rodzicielskie odznaczały się na ogół znacznym zróżnicowaniem na poziomie molekularnym. Nie stwierdzono jednak wystąpienia zależności między odległością genetyczną par form rodzicielskich a zmiennością badanych cech determinujących wartość technologiczną mąki. Może być to związane z faktem, że wykorzystane w pracy markery molekularne były sprzężone z innymi cechami, nie tylko wpływającymi na zawartość białka, wodochłonność mąki czy czas rozwoju ciasta cechami technologicznymi. Należy również zaznaczyć, iż cechy jakościowe ziarna pszenicy są kontrolowane przez wiele QTL, które ze względu na użycie w pracy ograniczonej ilości markerów mikrosatelitarnych, nie były analizowane.

Duża zmienność genetyczna, określona za pomocą markerów molekularnych związanych z wartością wypiekową pszenicy, jak również identyfikacja innych QTL mających wpływ na tą wartość, a wykorzystanych w pracy, stanowią główny kierunek w wczesnych etapach selekcji wygrywając z większością testów fenotypowych. Mimo, że wykorzystanie markerów mikrosatelitarnych identyfikujących różne QTL nie pozwoliło na uzyskanie zadawalającej odpowiedzi, daje jednak podstawy do dalszych, bardziej poszerzonych analiz.

#### WNIOSKI

1. Markery allelospecyficzne jako metoda alternatywna do SDS PAGE mogą być efektywnym narzędziem do selekcji pojedynczych roślin pszenicy o pożądanym genotypie na etapie dwutygodniowych siewek. Może to skutkować zawężeniem materiałów przeznaczonych do dalszych etapów hodowli, a tym samym obniżeniem jej kosztów.
2. Odległości genetyczne między odmianami określono z wykorzystaniem markerów sprzężonych z QTL warunkującymi wartość technologiczną. Można więc założyć, że zróżnicowanie genetyczne badanych odmian w znacznej mierze jest pochodną ich polimorfizmu genetycznego pod względem cech determinujących wartość wypiekową.

3. Nie stwierdzono związku między odległością genetyczną par form rodzicielskich, tworzących rodziny wchodzące w skład poszczególnych grup, a podobieństwem fenotypowym tych grup. Analizowane rodziny mimo identycznego składu alleli *Glu-1* różniły się pod względem analizowanych cech technologicznych ziarna takich jak zawartość białka w s.m. ziarna, wodochłonność mąki, czas rozwoju i rozmiękczenie ciasta. Wskazuje na to położenie rodzin w układzie dwóch zmiennych kanonicznych lub na dendrycie najkrótszych połączeń.

#### 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.
- Boeuf C., Prodanovic S., Gay G., Bernard M. 2003. Structural organization of the group-1 chromosomes of two bread wheat sister lines. *Theor. Appl. Genet.* 106: 938 — 946.
- 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.
- Caalderini D. F., Szafer G. A. 1999. Has yield stability changed with genetic improvement of wheat yield? *Euphytica* 107: 1524 — 1532.
- Caliński T., Kaczmarek Z. 1973. Metody kompleksowej analizy doświadczenia wielocechowego. *Trzecie Colloquium Metodologiczne z Agro-Biometrii, PAN, Warszawa-Wrocław*: 258 — 320.
- Campbell K. G., Finney P. L., Bergman C. J., Gualberto D. G., Anderson J. A., Giroux M. J., Siritunga D., Zhu J., Gendre F., Roue C., Verel A., Sorrells M. E. 2001. Quantitative trait loci associated with milling and baking quality in a soft x hard wheat cross. *Crop Science* 41: 1275 — 1285.
- Crepieux S., Lebreton C., Flament P., Charmet G. 2005. Application of a new IBD-based mapping method to common wheat breeding population: analysis of kernel hardness and dough strength. *Theor. Appl. Genet.* 111: 1409 — 1419.
- 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.
- De Vita P., Li Destori Nicosia O., Nigro F., Platini C., Riefolo C., Di Fonzo N., Cattivelli L. 2007. Breeding Progress in morpho-physiological, agronomical and qualitative traits durum wheat cultivars released in Italy during the 20<sup>th</sup> century. *Europ. J. Agronomy* 26: 39 — 53.
- D'Ovidio R., Anderson O. D. 1994. PCR analysis to distinguish between alleles of a member of a multigene family correlated with wheat breadmaking quality. *Theor. Appl. Genet.* 88: 759 — 763.
- D'Ovidio, R., Masci, S., Porcedu, D. 1995. Development of a set of oligonucleotide primers specific for genes at the *Glu-1* complex of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 89: 189 — 194.
- Gale K. R. 2005. Diagnostic DNA markers for quality traits in wheat. *J. Cereal Sci.* 41, 181 — 192.
- Galande A. A., Tiwari R., Ammiraju J. S. S., Santra D. K., Lagu M. D., Rao V. S., Gupta V. S., Misra B. K., Nagarajan S., Ranjekar P. K. 2001. Genetic analysis of kernel hardness in bread wheat using PCR-based markers. *Theor. Appl. Genet.* 103: 601 — 606.
- 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.
- Gupta P. K., Varshney R. K., Sharma P. C., Ramesh B. 1999. Molecular markers and their applications in wheat breeding. *Plant Breeding* 118: 369 — 390.
- Gupta P. K., Balyan H. S., Edwards K. J., Isaac P., Korzun V., Roder M., Gautier M. F., Joudrier 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., Hordouin J. P., Jack P., Leroy P. 2002. Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 105: 413 — 422.
- Huang X.Q., Börner A., Röder M. S., Ganal M. W. 2002. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 105: 699 — 707.

- 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.
- Korzun V., Boerner A., Worland A. J., Law C. N., Röder M. S. 1997. Application of microsatellite markers to distinguish inter-varietal chromosome substitution lines wheat *Triticum aestivum* L. *Euphytica* 95: 149 — 155.
- Krystkowiak K., Adamski T., Surma M., Kaczmarek Z. 2009. Relationship between phenotypic and genetic diversity of parental genotypes and the specific combining ability and heterosis effects in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 165: 419 — 434.
- Kuchel H., Langridge P., Mosionek L., Williams K., Jefferies S. P. 2006. The genetic control of milling yield, dough rheology and baking quality of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 112: 1487 — 1495.
- Lafiandra D., Tucci G. F., Pavoni A., Turchetta T., Margiotta B. 1997. PCR analysis of x - and y - type genes present at the complex Glu-A1 locus in durum and bread wheat *Theor. Appl. Genet.* 94: 235 — 240.
- 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.
- Morrison D. F. 1976. *Multivariate Statistical methods* 2<sup>nd</sup> ed., McGraw-Hill Kogakusha LTD, Tokyo.
- Narasimhamoorthy B., Gill S., Fritz A. K., Nelson J. C., Brown-Guedira G. L. 2006. Advanced backcross QTL analysis of a hard winter wheat × synthetic wheat population. *Theor. Appl. Genet.* 112: 787 — 796.
- 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
- Payne P. I. 1987. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Annual Review of Plant Physiology* 38: 141 — 153.
- Pestsova E., Gana M. W., Roder M. S. 2000. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43: 689 — 697.
- 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.
- Prasad M., Varshney R. K., Kumar A., Bollon H. S., Sharma P. C., Edwards K. J., Singh H., Dhaliwal H. S., Roy J. K., Gupta P. K. 1999. A microsatellite marker associated with a QTL for grain protein content on chromosome arm 2DL of bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 99: 341 — 345.
- Radovanovic N., Cloutier S. 2003. Gene-assisted selection for high molecular weight glutenin subunits in wheat doubled haploid breeding programs. *Molecular Breeding* 12: 51 — 59.
- Rodriguez-Quijano M., Nieto-Taladriz M. T., Gomez M., Vazquez J. F. 2001. Quality influence comparison of some x- and y-type HMW glutenin subunits coded by GLU-D1 locus. *Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Wheat Conference, 5–9 June 2000, Budapest, Hungary:* 188 — 194.
- 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.
- Röder M. S., Wendehake K., Korzun V., Bredemeijer G., Laborie D., Bertrand L., Isaac P., Rendell S., Jackson J., Cooke R. J., Vosmann B., Ganal M. W. 2002. Construction and analysis of a microsatellite-based database of European wheat cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 106: 67 — 73.
- 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.
- Sommers 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.
- Sourdille P., Perretant M. R., Charmet G., Leroy P., Gauteir M. F., Joudrier P., Nelson J. C., Sorrells M. E., Bernard M. 1996. Linkage between RFLP markers and genes affecting kernel hardness in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 93: 580 — 586.

- Sourdille P., Singh S., Cadalen T., Brown-Guedira G. L., Gay G., Qi L., Gill S., Dufour P., Murigneux A., Bernard M. 2004. Microsatellite-based deletion bin system for the establishment of genetic-physical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Funct. Integr. Genomics* 4: 12 — 25.
- Turner A. S., Bradburne R. P., Fish L., Snape J. W. 2004. New quantitative trait loci influencing grain texture and protein content in bread wheat. *J. Cereal Sci.* 40: 51 — 60.
- Waga J. 1996. Charakterystyka frakcji białek gliadynowych i glutelinowych odmian I rodów pszenicy ozimej z kolekcji IHAR I ich związek z liczbą sedymentacji. *Biul. IHAR* 197: 3 — 13.
- Waga J., Cygankiewicz A. 1996. Możliwości oszacowania jakości technologicznej ziarna pszenicy na podstawie wyników analiz elektroforetycznej białek gliadynowych i glutenionowych. *Biul. IHAR* 197: 15 — 20.
- Weegels P. L., Hamer R. J., Schofield J. D. 1996. Critical Review : Functional properties of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* 23: 1 — 18.
- Węgrzyn S., Waga J. 1999. Powiązanie białek glutelinowych ze zmiennością ważniejszych cech użytkowych odmian i rodów pszenicy ozimej. *Biul. IHAR* 211: 55 — 68.