

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

BEATA MYŚKÓW

**Identyfikacja *loci* cech ilościowych (QTL)
kontrolujących wczesność i podatność na porastanie
u żyta (*Secale cereale* L.)
z wykorzystaniem zagęszczonych map genetycznych
populacji rekombinacyjnych linii wsobnych (RIL)**

Szczecin 2012

Recenzenci

MONIKA RAKOCZY-TROJANOWSKA

BOGDAN WOLKO

Opracowanie redakcyjne

KATARZYNA MITAN

Zdjęcie na okładce

BEATA MYŚKÓW

WYDANO ZA ZGODĄ

REKTORA ZACHODNIOPOMORSKIEGO UNIwersYTETU TECHNOLOGICZNEGO W SZCZECINIE

Praca sfinansowana z funduszy na badania własne (grant habilitacyjny BW/HK/07/2004 w Akademii Rolniczej) oraz częściowo ze środków projektu badawczego własnego (N N310 067639), przyznanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

ISBN 978-83-7663-103-5

WYDAWNICTWO UCZELNIANE ZACHODNIOPOMORSKIEGO UNIwersYTETU TECHNOLOGICZNEGO W SZCZECINIE
70-311 Szczecin, al. Piastów 50, tel. 91 449-47-60, e-mail: wydawnictwo@zut.edu.pl

Druk PPH Zapół, Dmochowski, Sobczyk Sp.j., 71-062 Szczecin, al. Piastów 42, tel. 91 434-10-21
e-mail: zarzad@zapol.com.pl

Spis treści

Wykaz skrótów	5
1. Wprowadzenie	7
2. Cele pracy	9
3. Przegląd literatury	11
3.1. Termin kwitnienia	11
3.2. Genetyczna kontrola terminu kwitnienia	11
3.3. Geny <i>Vrn</i> i <i>Ppd</i> u zbóż	12
3.4. Geny wczesności <i>per se</i>	13
3.5. Geny wczesności u żyta	14
3.6. Efekty plejotropowe genów wczesności	14
3.7. Porastanie przedźniwne	15
3.8. Genetyczna kontrola porastania	17
4. Materiał i metody badań	19
4.1. Materiał	19
4.2. Doświadczenie mikropoletkowe	20
4.3. Doświadczenie wazonowe	20
4.4. Metody badań	20
4.4.1. Analizy fenotypowe – wczesność	20
4.4.2. Analizy fenotypowe – przedźniwne porastanie	21
4.4.3. Analizy molekularne	22
4.4.4. Statystyczne opracowanie wyników	26
4.4.5. Mapowanie genetyczne	26
4.4.6. Identyfikacja QTL	27
5. Wyniki	29
5.1. Konstrukcja map genetycznych	29
5.2. Wczesność kłoszenia, termin kłoszenia i termin kwitnienia	30
5.3. Porastanie przedźniwne	43
5.3.1. Wielkość próby do badań	43
5.3.2. Wpływ obcozapylenia na ocenę porastania	43
5.3.3. Lokalizacja QTL porastania przedźniwnego	45
5.4. Zależność między porastaniem a wczesnością	49
6. Dyskusja	55
6.1. Konstrukcja map genetycznych a mapowanie QTL	55
6.2. Metody oceny wczesności	57
6.3. Metody oceny porastania przedźniwnego	58
6.4. Lokalizacja QTL wczesności	60
6.4.1. Wprowadzenie	60
6.4.2. Geny odpowiedzi na wernalizację, chromosom 5R	61
6.4.3. Geny odpowiedzi na fotoperiod, chromosom 2R	62
6.4.4. QTL wczesności zidentyfikowane u żyta, chromosomy 4R, 6R, 7R	63
6.4.5. Nowe QTL wczesności u żyta, chromosomy 1R i 3R	64
6.5. Najważniejsze QTL wczesności	65
6.6. Zależność między wczesnością kłoszenia a terminem kwitnienia	66
6.7. Lokalizacja QTL porastania przedźniwnego	67
6.7.1. Wprowadzenie	67
6.7.2. QTL porastania znane z mapy F ₂ populacji S120 × S76	68

6.7.3. QTL porastania niewykryte na mapie F_2 populacji S120 \times S76	70
6.8. QTL porastania o największej wiarygodności	72
6.9. Wpływ efektu obcozapylecia na identyfikację QTL porastania	72
6.10. Zależność między wczesnością a porastaniem przedźniwnym	73
7. Wnioski	77
Literatura	79
Summary	85
Zusammenfassung	87

Wykaz skrótów

<i>a</i>	– efekt addytywny linii rodzicielskiej A
ABA	– kwas abscysynowy
BSG	– dwukierunkowa selekcja genotypów
CIM	– złożone mapowanie przedziałowe
cM	– centymorgan
DArT	– technologia zróżnicowanych mikromacierzy
Eps	– wczesność <i>per se</i>
FN	– liczba opadania
FT	– termin kwitnienia
GA	– giberelina
GI	– indeks kiełkowania
GN	– liczba ziaren w kłosie
HD	– termin kłoszenia
HE	– wczesność kłoszenia
IAA	– kwas indolilo-3-octowy
IM	– mapowanie przedziałowe
ISSR	– obszar między prostymi sekwencjami powtórzonymi
K	– populacja mapująca RIL otrzymana z mieszańca 541 × Ot1-3
L	– populacja mapująca RIL otrzymana z mieszańca Ds2 × RXL10
LOD	– logarytm prawdopodobieństwa
M	– populacja mapująca RIL otrzymana z mieszańca S120 × S76
NPK	– azot, fosfor, potas
nt	– nukleotydy
PCR	– łańcuchowa reakcja polimerazy
PHS	– porastanie przedźniwne
Ppd	– fotoperiod, geny odpowiedzi na fotoperiod
QTL	– <i>locus/loci</i> cechy ilościowej
R^2	– współczynnik determinacji (%)
RAPD	– losowo amplifikowany polimorficzny DNA
RIL	– rekombinacyjna linia wsobna
S	– populacja mapująca RIL otrzymana z mieszańca 541 × 2020LM
SCAR	– amplifikowane regiony o znanej sekwencji
SI	– indeks porastania
SMA	– analiza pojedynczego markera
SSCP	– polimorfizm konformacji pojedynczej nici
SSD	– metoda wysiewu pojedynczego ziarniaka, używana do wyprowadzania RIL
SSR	– proste sekwencje powtórzone, markery mikrosatelitarne
STS	– miejsca znaczone sekwencyjnie
Test F	– test Fishera
Test K–S	– test Kołmogorowa–Smirnowa
Test M–W	– test U-Manna–Whitneya
Test W–W	– test Walda–Wolfowitza (test serii)
VI	– udział w kłosie skiełkowanych ziaren, oceniony wizualnie
Vrn	– wernalizacja, geny odpowiedzi na wernalizację

1. Wprowadzenie

Żyto, jako zboże dobrze dostosowane do warunków klimatyczno-glebowych obszaru Europy Środkowo-Wschodniej i Północnej, cieszy się w krajach tego regionu dużą popularnością. Jest cenione ze względu na swoje walory odżywcze i dietetyczne, zwłaszcza przez zwolenników zdrowej żywności. Żyto jest źródłem błonnika, zawiera też więcej witamin i mikroelementów niż pszenica. Oprócz pozytywnego wpływu na proces trawienia stosowanie diety bogatej w przetwory żytnie powoduje obniżenie ryzyka wystąpienia chorób serca, hipercholesterolemii czy otyłości. Prawdopodobne jest również ochronne działanie żyta przeciwko nowotworom hormonozależnym (Hansen i in. 2004). Żyto znajduje zastosowanie także w przemyśle spirytusowym i jest używane do produkcji bioetanolu.

Polska należy do najważniejszych rejonów uprawy żyta, zajmuje drugie miejsce na świecie po Rosji pod względem produkcji tego zboża. W 2007 roku zbiory żyta w Polsce osiągnęły 22% światowej produkcji. Według GUS powierzchnia uprawy żyta ozimego w Polsce w 2008 roku wynosiła prawie 1,4 mln ha i była większa w przybliżeniu o 80 000 ha w porównaniu z 2007 rokiem. Areał uprawy tego gatunku jest znaczący i ustępuje jedynie pszenicy ozimej i mieszankom zbożowym. W ostatnich trzech latach żyto ozime zajmowało około 17% powierzchni uprawy zbóż (Lista Opisowa Odmian 2009).

Spośród wszystkich gatunków zbożowych żyto najlepiej znosi niekorzystne warunki klimatyczne, między innymi zimowe mrozy do -25°C i brak okrywy śnieżnej. Można je uprawiać przez wiele lat na glebach słabej jakości bez stosowania płodozmianu. Zdolności adaptacyjne do różnych warunków siedliskowych są u żyta, podobnie jak u innych roślin wydających nasiona, w dużej mierze uzależnione od terminu przejścia z fazy wegetatywnej do generatywnej. W niekorzystnych warunkach pogodowych są faworyzowane rośliny „wcześniejsze” (Jung i in. 2007). Wczesny termin kłoszenia żyta sprawia, że jest ono mniej wrażliwe niż na przykład pszenica na późnowiosenne niedobory wody (Grabiński 2005). Poza lepszym plonowaniem możliwy jest wcześniejszy zbiór, co z kolei pozwala uniknąć strat związanych ze zjawiskiem porostania przedziwnego, stanowiącego poważny problem w uprawie żyta w razie deszczowej pogody (Haro i Allan 1997, Kato i in. 2001). Termin kłoszenia jest zaliczany do ważniejszych cech rolniczych odmian zbóż, a informacje o tej cesze znajdują się w „Liście Opisowej Odmian”, przygotowywanej corocznie przez Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych (COBORU).

Poznanie żyta od strony genetycznej często rozpoczyna się, podobnie jak u innych gatunków, od konstrukcji mapy sprzężeń z wykorzystaniem markerów molekularnych. Dla żyta stworzono kilkanaście map genetycznych; wiele z nich podlega ciągłej rozbudowie. Informacje o większości opublikowanych map żytnich są dostępne na stronie internetowej *Rye gene map* (Schlegel i Korzun 2008). Mapy te stanowią dogodne narzędzie do wykrywania obszarów genomu kontrolujących ważne cechy. Szczególnie pomocne okazują się przy poszukiwaniu *loci* cech ilościowych (QTL). Pierwsze publikacje o lokalizacji QTL na pełnej mapie żyta dotyczyły wczesności kłoszenia (Masojć i Milczarski 1999) oraz cech związanych z morfolo-

gią (Börner i in. 2000) i fizjologią roślin (Milczarski i Masojć 2002). Kolejne doniesienia opisywały QTL warunkujące męską sterylność (Stojałowski i in. 2004), kontrolujące proces porastania i aktywność α -amylazy (Masojć i Milczarski 2005, Masojć i in. 2007) oraz odpowiedzialne za reakcję roślin żyta w warunkach *in vitro* (Bolibok i in. 2007).

Ponieważ ekspresja cech wielogenowych jest silnie uzależniona od warunków środowiska, wskazana jest weryfikacja istotności wykrywanych *loci* przez prowadzenie badań w różnych środowiskach, w różnych latach i dla różnych populacji mapujących. Wielokrotne analizy są możliwe dzięki zastosowaniu odpowiednich populacji mapujących, między innymi rekombinacyjnych linii wsobnych (RIL). Ten typ populacji jest uznawany za najbardziej odpowiedni do tworzenia map genetycznych o dużej wiarygodności i precyzji niezależnie od rodzaju stosowanych markerów (Ferreira i in. 2006).

W Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie (ZUT) od kilkunastu lat są prowadzone badania zmierzające do stworzenia map genetycznych żyta. Początkowo wykorzystywano w tym celu pokolenia F_2 różnych mieszańców międzyliniowych (Masojć i in. 2001, Stojałowski i Łapiński 2002, Bednarek i in. 2003, Milczarski in. 2007, Myśków 2009), a obecnie trwają prace nad konstrukcją map kilku żytnich populacji RIL. Każda z czterech utworzonych dotychczas map tego typu populacji składa się z około 1000 markerów (głównie DArT), co stanowi dobrą podstawę do mapowania *loci* różnych cech ilościowych.

Trzy mapy pokolenia F_2 populacji $Ds2 \times RXL10$, $541 \times Ot1-3$ i $S120 \times S76$ wykorzystywano do lokalizacji QTL warunkujących przedźniwne porastanie (Masojć i in. 1998, Myśków i in. 2004, Masojć i Milczarski 2005, Twardowska i in. 2005, Masojć i in. 2007, Masojć i in. 2009, Masojć i Milczarski 2009, Myśków i in. 2010). Badania omawiane w tej monografii częściowo stanowią kontynuację tych prac. Jednym z założonych celów było bowiem zidentyfikowanie obszarów genomu uczestniczących w kontroli przedźniwnego porastania na zagęszczonej mapie populacji RIL otrzymanej z mieszańca $S120 \times S76$. Pozwoliło to na weryfikację QTL zmapowanych uprzednio, umożliwiło wskazanie *loci* najważniejszych dla kontroli tej cechy i wytypowanie zestawu nowych markerów związanych z genami odporności na porastanie u żyta.

Zagęszczone mapy genetyczne populacji RIL czterech mieszańców żyta wykorzystano także do wykrycia QTL wczesności. „Wczesność” w badaniach nad roślinami jest określeniem dotyczącym przeważnie generatywnej fazy rozwoju. Przejście z fazy wegetatywnej do generatywnej u wielu gatunków jest procesem rozciągniętym w czasie. Dlatego przy jego badaniu wybiera się do oceny pewien charakterystyczny etap, łatwy do zaobserwowania. U żyta i zbóż z nim spokrewnionych wczesność jest oceniana albo w momencie pojawienia się kwiatostanów, czyli kłosów (kłoszenie), albo w chwili otwierania się kwiatków i wysuwania pylników (kwitnienie). W pracy badano wczesność na obu tych etapach i wykrywano QTL kontrolujące termin kłoszenia (HE) i kwitnienia (FT).

2. Cele pracy

Dzięki postępowi w dziedzinie genetyki molekularnej, a zwłaszcza dzięki pojawieniu się technologii DArT, pozwalającej na szybkie uzyskanie danych o segregacji tysięcy markerów, możliwe stało się skonstruowanie w stosunkowo krótkim czasie silnie zagęszczonych map genetycznych. Głównym celem badań było wykorzystanie tego typu map do poznania dziedzicznego podłoża cech żyta ozimego ważnych z praktycznego punktu widzenia – wczesności oraz porostania. Przy realizacji badań sformułowano następujące cele:

1. Identyfikacja QTL odpowiedzialnych za wczesność żyta:
 - a) lokalizacja na czterech mapach genetycznych QTL odpowiedzialnych za wczesność kłoszenia;
 - b) lokalizacja na mapie mieszańca $541 \times 2020LM$ QTL odpowiedzialnych za termin kwitnienia.
2. Identyfikacja QTL kontrolujących porostanie przedźniwne żyta:
 - a) lokalizacja QTL kontrolujących porostanie przedźniwne na mapie mieszańca $S120 \times S76$;
 - b) ocena wpływu obcozapylenia na analizę zmienności i identyfikację QTL kontrolujących porostanie przedźniwne.
3. Wytypowanie markerów molekularnych sprzężonych z genami warunkującymi wczesność i odporność na porostanie żyta.
4. Ocena zależności między wczesnością a przedźniwnym porostaniem żyta.

3. Przegląd literatury

3.1. Termin kwitnienia

Rośliny, aby wydać jak największy plon, dostosowują okres kwitnienia do optymalnych warunków środowiska, w którym żyją. W rejonach tropikalnych wiele roślin zakwita w chłodniejszych porach roku, aby uniknąć letnich upałów. Odwrotnie jest w rejonach o klimacie umiarkowanym: wiele roślin zakwita wiosną, aby uniknąć ryzyka uszkodzenia organów generatywnych przez zimowe mrozy.

Jednym z mechanizmów, dzięki którym rośliny synchronizują kwitnienie z optymalnymi warunkami sezonowymi, jest zdolność reagowania na zmiany długości dnia – fotoperiod. Wiele roślin w tropikach zakwita, gdy dzień ulega skróceniu, podczas gdy rośliny w strefach umiarkowanych kwitną w odpowiedzi na wydłużający się dzień.

Innym sezonowym sygnałem dla roślin inicjującym przejście z fazy wegetatywnej do generatywnej jest temperatura. W warunkach klimatu umiarkowanego wyższa temperatura może przyspieszać kwitnienie wiosną. Co więcej, wiele roślin tej strefy klimatycznej kwitnie tylko po ekspozycji na wydłużony czas chłodu – wernalizacji. To minimalizuje ryzyko uszkodzenia organów generatywnych wrażliwych na zimno. Rośliny często reagują na kombinację długości dnia, wernalizację i temperaturę, aby uzyskać optymalny czas kwitnienia (Cockram i in. 2007, Zhang i in. 2008, Greenup i in. 2009, Wang i in. 2010).

3.2. Genetyczna kontrola terminu kwitnienia

Najbardziej wyczerpujący wgląd w kontrolę procesu kwitnienia, uwzględniający złożone interakcje między różnymi genami i prowadzący do zrozumienia molekularnych szlaków kontrolujących sezonowe odpowiedzi roślin, zawdzięczamy badaniom nad gatunkiem modelowym – *Arabidopsis thaliana* (przegląd w Bäurle i Dean 2006).

Podjęmowano też próby rozszerzenia wiedzy o mechanizmach kwitnienia u innych roślin, w tym zbóż, takich jak ryż, pszenica i jęczmień. Badania te wykazały istotne różnice w regulacji procesu kwitnienia u *Arabidopsis thaliana* i roślin zbożowych. Porównanie cDNA i sekwencji genomowych wskazuje na to, iż $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{2}$ genów ryżu nie ma swoich odpowiedników w genomie *Arabidopsis thaliana* (Kikuchi i in. 2003, za: Laurie i in. 2004), co odzwierciedla ich długą ewolucyjną separację. Uświadomiło to potrzebę niezależnego badania czasu kwitnienia u zbóż (Greenup i in. 2009). Co więcej, zboża umiarkowanych stref klimatycznych, takie jak pszenica, jęczmień i żyto, również od ryżu oddziela długa ewolucyjna droga, prawdopodobnie 60 mln lat lub więcej. Można się więc spodziewać, że część genów wspólna dla ryżu i innych zbóż uległa dywergencji i wykazuje zmiany pod względem struktury i/lub funkcji (Laurie i in. 2004). Rodzaj zależności między genami zbóż można wykazać dzięki ustaleniu właściwych lokalizacji genów na mapach genetycznych różnych gatunków.

Reakcja na temperaturę rozdziela zboża na dwa typy – jare i ozime. Zmienność w reakcjach na długość dnia może być wykryta między tymi dwoma klasami lub w ich obrębie. Badania genetyczne oprócz grup genów związanych z odpowiedzią na wernalizację (*Vrn*) i z reakcją na fotoperiod (*Ppd*) wskazują też geny zaangażowane w proces kwitnienia, które nie wydają się specyficznie związane z odpowiedzią na działanie temperatury i światła (Snape i in. 2001). Ten typ regulacji jest określane najczęściej terminem wczesności *per se* (*Eps*). Inne, anglojęzyczne określenia tego zjawiska to *narrow-sense earliness*, *intrinsic earliness* czy *basic development rate* (Lewis i in. 2008). Geny biorące udział w kontroli wczesności *per se* mogą być głównymi determinantami wewnątrzgatunkowej zmienności czasu kwitnienia w mieszańcach w obrębie typów roślin jarych lub ozimych. Mają one możliwości modyfikowania czasu kwitnienia, ale są słabo poznane i zasługują na rozszerzone badania (Laurie i in. 2004).

Efekt działania genów *Eps* jest ogólnie mniej wyraźny niż genów *Ppd* czy *Vrn* i najczęściej są one wykrywane jako QTL. Mają tendencję do zróżnicowanej lokalizacji w różnych mieszańcach, co sugeruje istnienie stosunkowo dużej liczby genów kontrolujących efekt wczesności w przeciwieństwie do genów *Ppd* i *Vrn*, których jest niewiele (Kato i in. 1999, Laurie i in. 2004).

3.3. Geny *Vrn* i *Ppd* u zbóż

Badania jęczmienia i pszenicy wskazują na istnienie zaledwie kilku głównych genów odpowiedzi na fotoperiod i wernalizację. Trzy główne *loci* kontrolujące reakcję na wernalizację u pszenicy i jęczmienia zajmują kolinearne pozycje w odpowiadających sobie genomach, co może świadczyć o tym, że są genami ortologicznymi (Laurie i in. 1995, za: Cockram i in. 2007, Dubcovsky i in. 1998, Karsai i in. 2005, Yan i in. 2006). Najlepiej jest poznana grupa genów przypisana do długiego ramienia piątego chromosomu: u jęczmienia – *Vrn-H1* (Laurie i in. 1995, za: Lin i in. 2008), u pszenicy diploidalnej (*Triticum monococcum*) – *Vrn-A^{m1}* (Dubcovsky i in. 1998, Tranquilli i Dubcovsky 2000), u pszenicy zwyczajnej – *Vrn-A1*, *Vrn-B1* i *Vrn-D1* (Law 1966, Laurie i in. 1994, Laurie i in. 1995, za: Laurie 1997, Nelson i in. 1995, Snape i in. 2001, Whitechurch i Snape 2003) i u żyta – *Vrn-R1*, dawniej *Sp1* (De Vries i Sybenga 1984, za: Plaschke i in. 1993, Efremova i in. 2006). Dominujące lub kodominujące allele warunkują niewrażliwość na wernalizację i nadają roślinom charakter jary. Druga seria genów *Vrn*, z recesywnymi allelami niewrażliwości na wernalizację, jest zlokalizowana w syntenicznych regionach piątego chromosomu jęczmienia (*Vrn-H2*) i *Triticum monococcum* (*Vrn-A^{m2}*) – Dubcovsky i in. 1998, Tranquilli i Dubcovsky 2000. U jęczmienia stwierdzono też obecność trzeciego genu – *Vrn-H3* – zmapowanego pierwotnie na chromosomie 1H (Takashi i Yasuda 1971, za: Tranquilli i Dubcovsky 2000, Cockram i in. 2007). Nowsze badania wskazały na lokalizację *locus Vrn-H3* na chromosomie 7HS, co odpowiada pozycji *locus Vrn-B3* z chromosomu 7BS pszenicy *Triticum aestivum* (Law 1966, Law i Worland 1997, Yan i in. 2006, Cockram i in. 2007).

Podobnie jak w przypadku genów *Vrn*, główne *loci* warunkujące odpowiedź na fotoperiod zmapowano w obszarach syntenicznych na krótkim ramieniu drugiej grupy chromo-

somów pszenicy (Law i in. 1978, Scarth i Law 1983, Islam-Faridi i in. 1996, Cockram i in. 2007, Lewis i in. 2008, Lin i in. 2008) i jęczmienia (Laurie i in. 1995, za: Laurie 1997). Sposób ich działania jest jednak odmienny u obu gatunków. U jęczmienia dominujące allele w *locus Ppd-H1* warunkują wczesne kwitnienie w warunkach długiego dnia, pozostając bez wpływu na czas kwitnienia w warunkach krótkiego dnia. U pszenicy homeologiczna seria *loci Ppd* z krótkiego ramienia drugiej grupy chromosomów wykazuje efekty o różnym natężeniu, co pozwala uszeregować je w kolejności: *Ppd-D1* > *Ppd-B1* > *Ppd-A1* (Worland i in. 1998), chociaż *Ppd-A1* pozostaje słabo scharakteryzowany. Pszeniczne dominujące allele *Ppd* znacznie obniżają wrażliwość na fotoperiod i wpływają na wczesne kwitnienie w warunkach zarówno krótkiego, jak i długiego dnia. Drugi główny *locus* odpowiedzi na fotoperiod – *Ppd-H2* – został zmapowany na chromosomie 1H u mieszańca między jęczmieniem ozimym i jarem (Laurie i in. 1995, za: Laurie 1997). Allel pochodzący od rodzica o charakterze ozimym warunkował opóźnienie kwitnienia w warunkach krótkiego dnia. U pszenicy nie zidentyfikowano równoważnego *locus*, chociaż w pierwszej grupie chromosomów stwierdzano *loci* regulujące czas kwitnienia (Law i in. 1998).

Poza głównymi *loci Ppd* i *Vrn* w genomach jęczmienia i pszenicy odnotowywano także obecność dodatkowych *loci* wrażliwości na temperaturę i światło. *Loci* odpowiedzialne za reakcję roślin na fotoperiod mapowano na 3D (Hay i Ellis 1998, Worland i in. 1998, Cockram i in. 2007, Lin i in. 2008) i 6D (Islam-Faridi i in. 1996), *loci* zaś regulujące reakcję na wernalizację na 3B (Worland i in. 1998, Cockram i in. 2007), w szóstej grupie chromosomów (Islam-Faridi i in. 1996) oraz na 7A (Law i Worland 1997).

3.4. Geny wczesności *per se*

Liczne QTL terminu kwitnienia i wczesności *per se* zlokalizowano zarówno u pszenicy, jak i jęczmienia. W różnych populacjach mapujących pszenicy wykryto kilkanaście QTL (Scarth i Law 1983, Islam-Faridi i in. 1996, Kato i in. 1999, Kato i in. 2002, Cockram i in. 2007), wykazując ich obecność na co najmniej 13 z 21 chromosomów (Kunpu i in. 2009). Również większość chromosomów jęczmienia zawiera QTL wczesności *per se* (Laurie i in. 1995, za: Cockram i in. 2007), rozmieszczone przeważnie w obszarach syntenicznych do genomu pszenicy. Prawie żadnego z tych QTL nie udało się do tej pory scharakteryzować (Cockram i in. 2007).

Jednym z dokładniej zbadanych genów wczesności *per se* okazał się *Eps-A^{m1}* wykryty u pszenicy *Triticum monococcum* na chromosomie 1A^m (Bullrich i in. 2002, Válarik i in. 2006, Lewis i in. 2008, Faricelli i in. 2010). Obecność równoważnego *locus* stwierdzono wcześniej także u jęczmienia (Laurie i in. 1995, za: Laurie 1997). *Locus* prawdopodobnie ortologiczny w stosunku do *Eps-A^{m1}* wykryto również na chromosomach 1B i 1D u pszenicy zwyczajnej. Homeologiczne regiony QTL z pierwszej grupy (*QFlt.-nau-1B*, *QFlt.-nau-1D*) warunkowały, w zależności od czynników środowiska, 6,2–21,9% zmienności (Lin i in. 2008). W przypadku pszenicy diploidalnej ten gen odpowiedzialny był aż za 47% zmienności fenotypowej cechy (Bullrich i in. 2002). Dowiedziono także, że jest to gen, którego działanie

zależy od temperatury, ponieważ wykazywał on odmienny wpływ na czas kwitnienia w temperaturze 16°C i 23°C (Bullrich i in. 2002, Appendino i Slafer 2003, za: Chen i in. 2009), co podaje w wątpliwość, czy geny wczesności *per se* są rzeczywiście niezależne od wpływów środowiska. Charakterystyka *Eps-A^m1* sugeruje, że wiele genów definiowanych jako geny wczesności *per se*, których działanie jest analizowane w materiale genetycznym pozbawionym dodatkowych *loci* kontrolujących czas kwitnienia, może podlegać wpływom sygnałów środowiskowych (Cockram i in. 2007).

3.5. Geny wczesności u żyta

Dotychczasowe badania z wykorzystaniem map genetycznych żyta pozwoliły na wykrycie czterech *loci* związanych z terminem kwitnienia (FT). Dwa QTL zlokalizowano na chromosomie 5R, jeden z nich był odpowiedzialny za reakcję roślin na wernalizację (*Vrn1*), drugi za fotoperiod (*Ppd1*) – Plaschke i in. 1993, Börner i in. 2000, Korzun i in. 2001. Pozostałe dwa QTL warunkujące wczesność *per se* umiejscowiono na chromosomach 2R i 7R (Börner i in. 2000, Korzun i in. 2001). Wykryte QTL zmapowano dzięki analizie fenotypowej pokolenia F₂ i F₃ mieszańca międzyliniowego żyta P87 × P105. Poszukiwanie QTL wczesności kłoszenia prowadzone dla pokolenia F₅ mieszańca Ds2 × RXL10 (Masojć i Milczarski 1999) pozwoliło wykryć dwa regiony zawierające *loci* istotnie związane z wczesnością kłoszenia. Jeden z QTL zmapowano na chromosomie 4R, drugi na 5R. Na mapie pokolenia F₂ mieszańca międzyliniowego 544 × Ot0-20 (Stojałowski i Łapiński 2002) odnotowano obecność dwóch obszarów obejmujących *loci* kontrolujące termin kłoszenia. Były to QTL zlokalizowane w grupach czwartej i siódmej, będących prawdopodobnie fragmentami chromosomów 6R i 7R.

U żyta nie wykazano dotychczas istnienia QTL wczesności na chromosomie 1R mimo pełnej syntenii pierwszego chromosomu pszenicy i żyta (Devos i in. 1993). Wynika to prawdopodobnie z braku pełnej wiedzy na temat obszarów genomu żyta odpowiedzialnych za kontrolę procesu kłoszenia i kwitnienia.

3.6. Efekty plejotropowe genów wczesności

Interesujące w odniesieniu do genów wczesności *per se* jest to, czy mogą one wykazywać efekty plejotropowe. Liczne badania dotyczące genów *Ppd* i *Vrn* potwierdziły ich jednoczesny wpływ na inne cechy istotne dla rozwoju roślin. Plejotropowe efekty działania genów *Ppd* na takie cechy, jak wysokość roślin, morfologia kłosa i liczba oraz masa ziaren, wykazano u pszenicy i jęczmienia (Laurie i in. 1994, Worland i in. 1998, Wang i in. 2010). Buck-Sorlin i Börner (2001), badając zachowanie niewrażliwego na fotoperiod mutanta jęczmienia z recesywnym genem *ea₇*, wykazali, iż znacząco krótszy cykl życiowy mutanta miał implikacje dla morfologii roślin. Osłabione było krzewienie, zmniejszona wysokość roślin, a liczba liści i liczba międzywęzli zredukowana. Obserwowano także mniejszą liczbę kło-

sków w kłosie, ale tylko w warunkach długiego dnia. Dzięki badaniom linii dihaploidalnych jęczmienia wykazano wpływ genu wrażliwości na fotoperiod (*Ppd-H1*) i genu odpowiedzi na wernalizację (*Vrn-H1 = Sh2*) na wiele cech agronomicznych (Karsai i in. 1999). Zakres efektu działania obu genów był zależny od światła dziennego. W warunkach długiego dnia *Ppd-H1* i w warunkach krótkiego dnia *Vrn-H1* były istotnymi czynnikami dla większości cech. Również interakcja między tymi *loci* w warunkach krótkiego i długiego dnia była istotna dla kilku cech, szczególnie dla komponentów plonu. W warunkach długiego dnia *Ppd-H1* wpływał na wysokość roślin przez determinowanie liczby węzłów. Wykryto też epistatyczny związek między tymi dwoma *loci* dla masy tysiąca ziaren i dla krzewienia. Wykazano wreszcie plejotropowe efekty działania najlepiej scharakteryzowanego genu wczesności *per se*. *Locus Eps-A^{m1}* wpływał na długość pewnych faz rozwojowych i liczbę kłosek w kłosie pszenicy diploidalnej (Lewis i in. 2008).

Wiedza o złożonym wpływie genów wczesności na inne ważne cechy użytkowe prowadzi do pytania, czy geny związane z wczesnością mają także związek z innym ważnym momentem rozwoju, jakim jest przechodzenie nasion roślin potomnych z okresu spoczynku do fazy wegetatywnego rozwoju. Interesujące jest, czy wczesny termin kwitnienia ma przełożenie na wczesny termin kiełkowania następnego pokolenia. To zagadnienie wydaje się istotne szczególnie w odniesieniu do niekorzystnego zjawiska, jakim jest przedwczesne kiełkowanie ziaren zbóż w kłosach, określanego mianem przedźniwnego porastania. Istnienie zależności między wczesnością a porastaniem sugerowano w niektórych pracach, nie została ona jednak dokładnie poznana (Munkvold i in. 2009).

3.7. Porastanie przedźniwne

Na niekorzystne zjawisko kiełkowania w kłosach są narażone głównie ziarniaki żyta, pszenicy i pszenżyta. Ziarniaki oplewione, na przykład owies i jęczmień, charakteryzują się mniejszą skłonnością do porastania. Łatwiej porastają rośliny ozime niż jare, co wiąże się z długością okresu spoczynkowego. Spoczynek jest określany jako niezdolność do kiełkowania nasion w sprzyjających warunkach mimo osiągnięcia widocznej dojrzałości. Stanowi więc cechę przeciwstawną do porastania i jest niekiedy definiowany jako odporność na porastanie (Barr i in. 2003, za: Ullrich i in. 2008). Fizjologiczny związek między tymi cechami potwierdzono zależnościami na poziomie genetycznym (Ullrich i in. 2008).

Według szacunkowej oceny straty plonu zbóż spowodowane porastaniem sięgają w Polsce średnio 5–10% ogólnej produkcji (Czarnocki i in. 2007). W wielu krajach rutynowo klasyfikuje się odmiany zbóż w zależności od podatności na porastanie w warunkach lokalnych. Uzyskanie odmian odpornych na kiełkowanie ziaren w kłosach jest jednym z głównych kierunków programów hodowli żyta. Paradoksalnie skłonność do porastania obserwowana u współczesnych odmian żyta i innych zbóż jest efektem ubocznym wieloletniej hodowli zmierzającej do ujednoczenia czasu wschodów po siewie i selekcji w celu uzyskania lepszego wigoru kiełkowania (Lenton 2001, za: Rybka 2003). W efekcie tych działań wyeliminowano z materiałów hodowlanych geny warunkujące głęboki spoczynek, obecne u dzikich przodków

współczesnych zbóż, czego konsekwencją są łatwo porastające krajowe odmiany żyta. W przypadku równoczesnych zbiorów na porastanie bardziej są narażone odmiany, które po wcześniejszym osiągnięciu dojrzałości pozostają na polu dłużej niż odmiany późne. Odmiany wczesne powinny więc odznaczać się dłuższym okresem spoczynku, co jest trudne do osiągnięcia w praktyce hodowlanej. Selekcja zmierzająca do zwiększenia odporności na porastanie prowadzona bez kontroli daty kwitnienia lub fazy dojrzałości roślin może wyeliminować z populacji formy wczesne, doprowadzając do późnego dojrzewania (Masojć 1996).

Porastanie jest zjawiskiem bardzo złożonym, zależy od wielu czynników zarówno genetycznych, morfologicznych, fizjologicznych, biochemicznych, jak i środowiskowych, w tym klimatycznych i troficznych. Przedwczesnemu kiełkowaniu ziarna sprzyjają duża ilość opadów lub wysoka wilgotność i umiarkowana temperatura. Istotny wpływ na porastanie ziarna ma technologia uprawy (Czarnocki i in. 2007). Intensywne nawożenie sprzyja zjawisku porastania, co ma zapewne związek ze wzrostem wytwarzania ogółu białek, w tym enzymu α -amylazy.

Do cech wpływających na skłonność do porastania zalicza się morfologię kłosa, jego kształt i zbitość oraz obecność ości. Kłosa wyprostowane nie sprzyjają zatrzymywaniu wody, z kolei ości powodują zwiększone wchłanianie wilgoci (King i Richards 1984, za: Burt 2008). Kolejne cechy to struktura i skład okrywy owocowo-nasiennej, stanowiącej fizyczną barierę dla wymiany tlenu i dwutlenku węgla między atmosferą a zarodkiem. Przerwanie spoczynku zależy także od procesów biochemicznych, takich jak działanie fitohormonów wpływających na uaktywnienie enzymów hydrolitycznych i proteolitycznych. Jeśli w zarodku zostaną uruchomione gibereliny (GA), a ilość kwasu abscysynowego (ABA) jest niska, wówczas następuje rozpoczęcie syntezy amylaz katalizujących rozkład skrobi i spoczynek zostaje przerywany. Auksyny i cytokininy również biorą udział w syntezie enzymów zaangażowanych w proces kiełkowania. Działanie hamujące na kiełkowanie wykazuje kwas indolilo-3-octowy należący do auksyn (IAA); pełni on zatem funkcję inhibitora porastania.

Główną rolę wśród enzymów istotnych dla procesu wychodzenia z okresu spoczynku odgrywa grupa α -amylaz. Ich działanie polega na hydrolizowaniu wiązań 1,4-glikozydowych w skrobi, która ulega rozpadowi na cukry proste. Izoenzymy α -amylazy są kodowane przez rodzinę genów i dzielą się na trzy podgrupy: α -Amy1, α -Amy2 i α -Amy3. Enzym będący produktem α -Amy1, nazywany amylazą późnej dojrzałości (ang. *late-maturity amylase* lub *malt amylase*), jest aktywny w procesie porastania oraz w fazie wschodów roślin na polu (Mares i Mrva 2008).

Prawdopodobnie wpływ na zahamowanie procesu kiełkowania mają także flawonoidy i kwasy fenolowe oraz lignany. Obecność w dojrzewającym ziarnie związków fenolowych ma więc zapewne znaczenie w obniżaniu podatności na porastanie (Weidner i in. 2002). Również endogenne inhibitory białkowe mogą rzutować na stopień odporności na porastanie.

3.8. Genetyczna kontrola porastania

Ponieważ na proces kiełkowania ziaren w kłosach wpływają liczne i różnorodne czynniki, genetyczne podłoże porastania jest złożone i ma charakter wielogenowy. Powszechnym sposobem jego analizy jest więc poszukiwanie regionów genomu zawierających QTL kontrolujące PHS lub QTL okresu spoczynku, liczby opadania (FN) czy też aktywności α -amylazy.

Jednym z parametrów służących do oceny porastania jest spoczynek, oznaczony jako indeks kiełkowania GI. Wylicza się go przez ustalenie zależności między liczbą ziaren kiełkujących w kolejnych dniach doświadczenia, trwającego określony czas (na przykład dwa tygodnie). Doświadczenie jest prowadzone na wymłóconych ziarnach wyłożonych na szalkach, na bibule filtracyjnej. Bezpośredni sposób oceny PHS polega na określeniu widocznego porostu przez wyliczenie udziału porośniętych ziaren w kłosie (VI) lub wizualną ocenę stopnia porośnięcia kłosów (SI) według przyjętej skali (na przykład pięcio-, sześć- lub dziewięciostopniowej). Niekiedy stosuje się metody pośrednie, polegające na ustaleniu aktywności α -amylazy lub liczby opadania (FN) na podstawie istnienia korelacji między tymi trzema cechami. Liczba opadania wyznaczona w aparacie Hagberga–Pertena pozwala na zbadanie czasu (s) opadania mieszała w wodnej zawieszynie mąki, co odzwierciedla poziom lepkości ekstraktu. Kleik z mąki uzyskanej z porośniętego ziarna, na skutek aktywności amylazy i rozpadu skrobi, traci lepkość pożądaną przy wypieku chleba (Gubler i in. 2005, Kulwal i in. 2005, Mares i in. 2005, Ullrich i in. 2008).

Rodzaj zastosowanej metody pomiaru PHS może mieć wpływ na wyniki mapowania QTL. W badaniach jęczmienia wykazano pełną zgodność między lokalizacją QTL spoczynku i porastania (Ullrich i in. 2008), ale w badaniach pszenicy obserwowano nieco odmienne pozycje QTL w zależności od rodzaju zastosowanego parametru oceny porastania (Imtiaz i in. 2008).

U pszenicy wykazano obecność QTL porastania na wszystkich 21 chromosomach (Imtiaz i in. 2008). Najbardziej powtarzalne pozycje obserwowano dla QTL z chromosomów 3A, 3B, 3D i 4A (Kulwal i in. 2005, Lohwasser i in. 2005, Mares i in. 2005, Mori i in. 2005, Chen i in. 2008, Liu i in. 2008, Ogbonnaya i in. 2008, Zhang i in. 2008, Fofana i in. 2009, Mohan i in. 2009, Munkvold i in. 2009, Rasul i in. 2009, Singh i in. 2010).

QTL spoczynku u jęczmienia zmapowano także na wszystkich chromosomach genomu. Główne *loci* ($R^2 > 10\%$) znajdowały się w czterech z siedmiu grup sprzężeń: 1H, 4H, 5H i 7H (Ullrich 1993, Han i in. 1996, Prada i in. 2004, Ullrich i in. 2008).

Zakres fenotypowej wariancji, którą można wyjaśnić działaniem pojedynczych QTL porastania i skorelowanych z nim parametrów wyznaczonych dla różnych zbóż, był silnie zróżnicowany i wahał się w granicach od 1,5% (Masojć i Milczarski 2009) do 77,3% (Hori i in. 2007, za: Tenhola-Roininen 2009).

Poszukiwania regionów genomu odpowiedzialnych za porastanie i powiązaną z nim aktywność α -amylazy u żyta prowadzono z użyciem trzech populacji otrzymanych z mieszańców międzyliniowych: Ds2 \times RXL10 (Masojć i Milczarski 2009), 541 \times Ot1-3 (Masojć i Milczarski 2005, Twardowska i in. 2005, Masojć i in. 2007, Masojć i in. 2009) oraz S120 \times S76 (Myśków i in. 2004, Myśków i in. 2010). Podobnie jak u pokrewnych gatunków zbóż,

w dziedziczeniu odporności na porastanie u żyta bierze udział zespół licznych *loci*, rozmieszczonych na wszystkich siedmiu chromosomach. Zespół ten jest złożony z niewielkiej liczby QTL głównych i licznych genów o mniejszym znaczeniu. Na mapie 541 × Ot1-3 zlokalizowano 11 QTL regulujących PHS i 11 kontrolujących aktywność α -amylazy, a na mapie Ds2 × RXL10, odpowiednio, 10 i 5 QTL (Masojć i Milczarski 2009). Między obydwooma mapami stwierdzono zgodność pozycji trzech regionów kontrolujących PHS i pięciu QTL regulujących aktywność α -amylazy.

Z ostatnich badań z wykorzystaniem rekombinacyjnych linii wsobnych i dwukierunkowej selekcji genotypów (BSG) wynika, że *loci* kontrolujące porastanie u żyta można podzielić na trzy klasy (Masojć i in. 2009). Klasa *loci* nadrzędnych (*PHSD*), kierująca różnicowaniem genotypów na odporne i podatne, wykazuje działanie epistatyczne w stosunku do pozostałych dwóch klas *loci*. Druga grupa – *loci* odporności *PHSR* – współdziałając z odpowiednimi allelami odporności w *loci* *PHSD*, umożliwia powstanie form o najwyższej odporności na porastanie. Trzecią grupę stanowią *loci* *PHSE* odpowiedzialne za reakcję wrażliwości. W połączeniu z odpowiednimi allelami w nadrzędnych *loci* *PHSD* mogą one powodować powstawanie osobników o szczególnie dużej podatności na porastanie. Obszary chromosomów zawierające wymienione klasy *loci* wykazywały zgodność z QTL porostania i/lub aktywności α -amylazy, zmapowanymi uprzednio na mapach 541 × Ot1-3 i Ds2 × RXL10 (Masojć i Milczarski 2009).

Dotychczasowe analizy QTL porostania w populacji S120 × S76 prowadzono z wykorzystaniem mapy pokolenia F₂ (Myśków i in. 2004, Myśków i in. 2010). Liczba wykrytych regionów była stosunkowo niewielka w porównaniu z mapami pozostałych dwóch mieszańców żyta. Pierwsza praca opisywała dwa regiony odpowiadające za kontrolę PHS, w drugiej zaś wytypowano trzy QTL związane ze skłonnością do porostania i jeden z aktywnością α -amylazy. Powodem tej sytuacji może być charakter materiałów użytych do wytworzenia mieszańca. Linie S120 i S76 pochodziły z materiałów komercyjnej hodowli i zapewne w dużej mierze były pozbawione wielu niekorzystnych alleli warunkujących podatność na porastanie, obecnych w liniach rodzicielskich mieszańców 541 × Ot1-3 i Ds2 × RXL10. Pewnym wyjaśnieniem mógłby być także bliższy poziom pokrewieństwa między liniami S120 i S76 niż dwiema pozostałymi parami linii wsobnych (Myśków i in. 2001), co mogłoby skutkować brakiem polimorfizmu między allelami niektórych *loci* kontrolujących PHS. Jest także prawdopodobne, że powodem małej liczby wykrytych QTL był stan mapy genetycznej pokolenia F₂, która nie była mapą silnie zagęszczoną, a ponadto brakowało w niej pewnych regionów, w których stwierdzano obecność QTL u dwóch pozostałych mieszańców.

Wykorzystanie zagęszczonej, rozbudowanej mapy populacji RIL powinno wyjaśnić, czy w mieszańcu S120 × S76 nie ma zróżnicowania w pewnych regionach kontrolujących przedniwne porastanie, czy też nie zostało ono wcześniej wykryte. Jednocześnie QTL zmapowane w tym materiale genetycznym, w zestawieniu z wyznaczonymi wcześniej dla innych mieszańców, powinny dać pełniejszy obraz regionów genomu żyta o największym wpływie na procesy związane z kontrolą zjawiska kiełkowania ziarniaków w kłosach.

4. Materiał i metody badań

4.1. Materiał

Materiał roślinny stanowiły cztery populacje rekombinacyjnych linii wsobnych żyta, otrzymane w Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin ZUT w Szczecinie, pochodzące od różnych mieszańców międzyliniowych:

- a) $S120 \times S76$ – 143 rekombinacyjne linie wsobne (pokolenie RIL-F₇ – RIL-F₁₀),
- b) $541 \times Ot1-3$ – 140 rekombinacyjnych linii wsobnych (pokolenie RIL-F₈ – RIL-F₁₀),
- c) $Ds2 \times RXL10$ – 112 rekombinacyjnych linii wsobnych (pokolenie RIL-F₁₀ – RIL-F₁₂),
- d) $541 \times 2020LM$ – 94 rekombinacyjne linie wsobne (pokolenie RIL-F₆ – RIL-F₈).

Komponenty użyte do wytworzenia mieszańca $S120 \times S76$ pochodziły z kolekcji linii wsobnych firmy Danko. Rodowód obu linii częściowo się pokrywa, $S120$ wywodzi się z krzyżowania $LG3 \times Szk.10$, $S76$ zaś pochodzi od $LG3 \times Amilo$. W momencie tworzenia mieszańca linie rodzicielskie reprezentowały poziom wsobności, odpowiednio, S_{12} i S_{10} . Linia $2020LM$ (S_7), o nieznanym rodowodzie, pochodzi z Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (IHAR) w Radzikowie. Pochodzenie pozostałych linii przedstawiono w pracy Myśków i in. (2001), a ich poziomy wsobności w momencie tworzenia mieszańców to: $541 - S_{22}$, $Ot1-3 - S_{25}$, $Ds2 - S_{21}$, $RXL10 - S_{21}$.

Mieszańiec $S120 \times S76$ został utworzony w celu badania genetycznego podłoża odporności na porastanie przez dobór linii istotnie różniących się skłonnością do kiełkowania ziaren w kłosach. Wszystkie pary linii rodzicielskich różniły się pod względem terminu kłoszenia, co umożliwiło ich wykorzystanie do poszukiwania obszarów genomu żyta odpowiedzialnych za regulację wczesności.

Trzy z omawianych mieszańców posłużyły do skonstruowania map genetycznych pokolenia F_2 . Mapę $Ds2 \times RXL10$ opublikowali po raz pierwszy Devos i in. (1993), a następnie rozbudowywały ją inne zespoły (Masojć i in. 2001, Bednarek i in. 2003). Autorami mapy utworzonej z wykorzystaniem mieszańca $541 \times Ot1-3$ byli Milczarski i in. (2007), a mapy szkieletowe (złożone z niewielkiej liczby markerów) populacji RIL otrzymanych z obu mieszańców opublikował Milczarski (2010).

Do skonstruowania pierwszej mapy genetycznej mieszańca $S120 \times S76$ posłużyła grupa 110 roślin pobranych losowo z 306 roślin pokolenia F_2 (Myśków i in. 2004, Myśków 2009, Myśków i in. 2010). Całe pokolenie F_2 wykorzystano do wyprowadzenia populacji rekombinacyjnych linii wsobnych (RIL) metodą SSD. Corocznie, począwszy od pokolenia F_3 , wysiewano po kilkanaście ziaren pochodzących z pojedynczego kłosa rośliny, będącej potomstwem wyjściowej rośliny F_2 . Kłosa pobierane do namnożeń były poddawane samozapyleniu przez zakładanie izolatora z tomofanu. Postępowano tak do momentu uzyskania pokolenia F_{10} (RIL-F₁₀, S_8), w którym otrzymano 152 linie wsobne. W październiku 2007 roku z grupy roślin każdej rekombinacyjnej linii wsobnej (RIL-F₈) ścięto liście do analiz molekularnych. Ilość materiału wystarczającą do analiz udało się pobrać ze 143 RIL. Linie, które nie weszły w skład populacji mapującej ze względu na zbyt małą ilość lub słabą jakość siewek

w momencie pobierania liści, a które udało się mimo to namnożyć, brano pod uwagę przy ocenach fenotypowych poszczególnych cech w kolejnych pokoleniach. Stąd liczba ocenianych linii rekombinacyjnych niekiedy przewyższała liczbę obiektów populacji mapującej.

4.2. Doświadczenie mikropoletkowe

Populacje mapujące wysiewano na polu doświadczalnym ZUT w Szczecinie w latach 2007–2010 w jednym lub dwóch powtórzeniach. W przypadku zastosowania dwóch powtórzeń rośliny były wysadzane na dwóch stanowiskach różniących się pod względem składu gleby i ekspozycji na promieniowanie słoneczne. Na jednym ze stanowisk znajdowała się gleba o składzie mechanicznym piasku gliniastego lekkiego, średniej zasobności w NPK i odczynie zbliżonym do obojętnego. Ten obszar był zabudowany metalową konstrukcją pokrytą drucianą siatką. Drugie ze stanowisk, znajdujące się na nieosłoniętym terenie, charakteryzowało się silniejszym nasłonecznieniem.

Jesienią (wrzesień–październik) rośliny wysiewano do palet wielodołkowych, a następnie, w fazie jednego–dwóch liści, wysadzano ręcznie na jednorzędkowych poletkach. Długość rzędów mieściła się w granicach 60–85 cm, odstępów zaś między rzędami wynosiły 18 cm.

4.3. Doświadczenie wazonowe

Linie rodzicielskie S120 i S76 – o poziomie wsobności, odpowiednio, S₁₈ i S₁₆ – oraz dwie rekombinacyjne linie wsobne losowo wybrane z populacji mapującej S120 × S76 – M012 i M012bw, o poziomie wsobności S₆, zostały użyte do doświadczenia mającego na celu określenie zmienności porostania przedzniwnego (PHS) w liniach wsobnych żyta oraz wpływu obcozapylenia na ocenę cechy. Każdą z czterech linii reprezentowały 24 rośliny, wysiewane po sześć sztuk w wazonie, w szklarni ZUT w Szczecinie w styczniu 2009 roku. Po wykłoszeniu roślin część kłosów zabezpieczano przed obcozapyleniem izolatorami z tofanu, które po zakończeniu kwitnienia zdejmowano.

4.4. Metody badań

4.4.1. Analizy fenotypowe – wczesność

Wczesność roślin oceniano na etapie kłoszenia i kwitnienia. Wzrokową ocenę faz kłoszenia wykonano na podstawie dziewięciostopniowej skali, opisanej w pracy Masojcia i Milczarskiego (1999), dla populacji S120 × S76 w czterech latach (2007–2010), a dla pozostałych trzech populacji RIL żyta w trzech latach (2008–2010).

Skala służąca określaniu wczesności kłoszenia:

- 1 – kłos niewidoczny,
- 2 – widoczne ości,

- 3 – widoczna górna część kłosa,
- 4 – $\frac{1}{4}$ kłosa wysunięta z pochwy liściowej,
- 5 – $\frac{1}{2}$ kłosa wysunięta z pochwy liściowej,
- 6 – $\frac{3}{4}$ kłosa wysunięte z pochwy liściowej,
- 7 – cały kłos wysunięty z pochwy liściowej,
- 8 – wysunięty kłos i krótki odcinek dokłosa,
- 9 – wysunięty kłos i długie dokłosie.

Dla porównania metody oceny wczesności kłoszenia (HE) w dziewięciostopniowej skali z powszechnie przyjętym w hodowli sposobem wyznaczania terminu kłoszenia (HD) określanego jako data, kiedy połowa kłosów jest całkowicie wysunięta z pochew liściowych, jedną z populacji mapujących (541 × 2020LM) oceniono także z zastosowaniem tego drugiego sposobu. Wymienioną populację przebadano również pod względem terminu kwitnienia (FT) określanego jako data zakwitnięcia (otwarcia kwiatków i wysunięcia pylników) pierwszego spośród kłosów wszystkich roślin danej linii wsobnej.

We wszystkich populacjach mapujących przypisano poszczególnym genotypom (liniom RIL) wartości liczbowe, wyrażone jako średnie arytmetyczne z pomiarów cechy, wyliczone dla poszczególnych pokoleń. Dla każdej cechy wyznaczano też jedną wspólną wartość – średnią arytmetyczną dla danej populacji, ustaloną na podstawie analiz wszystkich pokoleń. Ogólną średnią wyliczano na podstawie pojedynczych ocen z różnych pokoleń. Łącznie oceniono, w zależności od populacji i genotypu, 1–44 rośliny.

4.4.2. Analizy fenotypowe – przedźniwne porastanie

Dla populacji S120 × S76 oceniono w trzech latach (2007–2009) porastanie ziarniaków w kłosach (PHS) w warunkach prowokowanych. Stosowano zmodyfikowaną metodykę opisaną w pracy Masojcia i in. (2007). Metoda polega na ścięciu z dojrzałych roślin kłosów z dokłosiami na tyle długimi, aby udało się je zebrać w pęczki po trzy sztuki i ustawić na paletce ze styropianu. Tak przygotowany materiał przechowywano dwa–trzy dni w suchym pomieszczeniu w temperaturze pokojowej, a następnie zraszano wodą przez cztery–pięć dni. Paletę z kłosami, dla utrzymania wilgoci, przykrywano przezroczystą folią zapobiegającą parowaniu wody. Zraszanie kończono w momencie pojawienia się na kłosach kielków o długości około 4 cm. Analizy porastania dokonywano po wysuszeniu kłosów, co ułatwiało wyciśnięcie i ocenę pojedynczych ziaren. Za porośnięte uznawano ziarniaki wyraźnie skielkowane, a także te z widocznie pękniętym perykarpem. Porastanie opisywano jako odsetek ziaren porośniętych w stosunku do wszystkich ziaren w kłosie.

W badaniach wykorzystywano w większości kłosy pochodzące z samozapylenia, z różnych roślin w ramach linii rekombinacyjnej. W przypadku jednego roku badań (2008) ocenie PHS poddano również kłosy pozostawione do swobodnego przepylenia. W poszczególnych wariantach doświadczeń oceniono 1–14 kłosów danego RIL, a do oceny łącznej ze wszystkich powtórzeń wykorzystano 6–26 kłosów (10–37, jeśli by uwzględnić kłosy ze swobodnego zapylenia).

Dla czterech linii wsobnych – S120, S76, M012 i M012bw, wybranych do doświadczenia wazonowego mającego na celu określenie zmienności przedźniwnego porastania oraz wpływu obcozapylenia na ocenę cechy, przebadano 53–68 kłosów pochodzących z samozaipylenia (oznaczonych symbolem I – izolowane) i 71–75 kłosów pozostawionych do swobodnego przepylecia (oznaczonych symbolem N – nieizolowane), pobranych losowo z zestawu 24 różnych roślin danej linii.

4.4.3. Analizy molekularne

DNA do badań molekularnych populacji RIL otrzymanej z mieszańca S120 × S76 izolowano z zamrożonych liści kilku roślin poszczególnych linii rekombinacyjnych pokolenia S₆, z użyciem zestawu do izolacji GenElute™ Plant Genomic DNA Miniprep Kit firmy Sigma-Aldrich. Koncentrację ekstraktów oceniono metodą wzrokowego porównania intensywności fluorescencji prążków ze wzorcem masowym High Range DNA Mass Ruler firmy Fermentas, rozdzielonym w 1-procentowym żelu agarozowym, po czym izolaty rozdzielono na dwie części. Jedną partię przeznaczono do analizy markerów DArT wykonanej na zlecenie w firmie Diversity Arrays Technology Pty Ltd, Yarralumla (Canberra, Australia). Drugą część ekstraktów wykorzystano do analizy markerów molekularnych opartej na reakcji PCR (RAPD, ISSR, SCAR, STS i SSR). Startery do reakcji wybierano na podstawie informacji o markerach zlokalizowanych na mapie pokolenia F₂ badanego mieszańca lub na mapach żyta innych populacji. Symbole markerów uzyskanych z użyciem starterów losowych przedstawia tab. 1.

DArT to technika mikromacierzowa wykorzystująca hybrydyzację, umożliwiającą jednoczesne typowanie nawet kilku tysięcy *loci* rozproszonych po całym genomie. Po raz pierwszy zastosowano ją dla genomu ryżu (Jaccoud i in. 2001). Pierwszy etap tej metody polega na przygotowywaniu prób DNA badanego gatunku, stanowiących tak zwaną reprezentację genomową. Jest to zestaw (biblioteka) fragmentów uzyskiwanych z genomowego DNA różnych odmian przez zastosowanie endonukleaz (na przykład PstI i TaqI). Po trawieniu enzymami do końców restrykcyjnych są przyłączane odpowiednie adaptory, a następnie jest wykonywany PCR ze starterami komplementarnymi do adaptorów, ale mającymi selektywne końce 3', co służy uproszczeniu złożoności bibliotek. Otrzymane fragmenty są klonowane i amplifikowane z użyciem starterów specyficznych do wektorów. Kolejny etap stanowi oczyszczanie fragmentów i ich przyłączenie do nośnika – szklanej płytki. Do otrzymanej w ten sposób macierzy genotypowania są hybrydyzowane wyznakowane fluorescencyjnie fragmenty reprezentacji genomowych przygotowane w taki sam sposób jak reprezentacje tworzące mikromacierz, ale tym razem z pojedynczych prób DNA. W zależności od stopnia komplementarności DNA badanego genotypu i fragmentu DNA stanowiącego reprezentację genomową danego gatunku polimorficzne klony (markery DArT) wysyłają sygnał hybrydyzacyjny o zróżnicowanej intensywności. Odczyt i analiza danych ze zróżnicowanych sygnałów hybrydyzacyjnych odpowiadających poszczególnym genotypom odbywają się z użyciem specjalistycznych programów komputerowych.

Szczegółowy opis metodyki analizy markerów DArT u żyta zamieszczono w pracy Bolibok-Braęoszewskiej i in. (2009).

Tabela 1. Markery PCR użyte do konstrukcji mapy populacji RIL S120×S76, z odniesieniem do ich lokalizacji na mapie pokolenia F₂ mieszańca S120×S76

Nazwa markera (nazwa markera na mapie F ₂)	Rodzaj markera	Długość produktu amplifikacji (nt)	Sekwencja startera lub praca źródłowa	Lokalizacja na mapie F ₂	Lokalizacja na mapie RIL
<i>Xis35L610 (Xis1.1)</i>	ISSR	610	Milczarski i in. 2007	1R	1R
<i>Xis40L1150 (Xis2.1)</i>		1150	Milczarski i in. 2007	2R	**
<i>Xpr18L700 (Xpr18L740)</i>		700	CCTGTGGCAC	3R	3R
<i>Xpr31L460</i>	RAPD	460	TGGAACATGC	–	*
<i>Xpr31L950</i>		950	TGGAACATGC	2R	2R
<i>Xpr36L1400</i>		1400	TGTCCAGCTT	–	7R
<i>Xpr36L750 (Xapr6.50)</i>		750	TGTCCAGCTT	6R	6R
<i>Xpr47L1000</i>		1000	GCTTCTTTGG	1R	1R
<i>Xpr57L1900</i>		900	ATGGTGACAC	–	1R
<i>Xpr57L480c (Xpr57L450)</i>		480	ATGGTGACAC	5R	5R
<i>Xpr57L630c (Xpr57L610)</i>		630	ATGGTGACAC	1R	*
<i>Xpr57L750c</i>		750	ATGGTGACAC	4R	4R
<i>Xpr64L400</i>		400	GCTGTTCATA	–	*
<i>Xpr64L650</i>		650	GCTGTTCATA	–	*
<i>Xpr90L1200</i>		1200	CAGTCGCGTG	4R	4R
<i>Xpr90L1350 (Xapr6.49)</i>		1350	CAGTCGCGTG	6R	*
<i>Xpr100L1650</i>		1650	CCCTACCGAC	–	3R
<i>Xpr100L500</i>		500	CCCTACCGAC	1R	*
<i>Xpr100L580</i>		580	CCCTACCGAC	–	3R
<i>Xpr113L380</i>		380	GTGACCGAGT	7R	7R
<i>Xpr122L1100</i>		1100	ATGTTCTGGC	5R	**
<i>Xpr122L880</i>		880	ATGTTCTGGC	–	**
<i>Xpr143L1100</i>		1100	AAGCCTCGTC	–	3R
<i>Xpr143L1600 (Xapr6.48)</i>		1600	AAGCCTCGTC	6R	6R
<i>Xpr143L700</i>		700	AAGCCTCGTC	1R	1R
<i>Xpr145L1000</i>		1000	GTTGCCAGCC	–	2R
<i>Xpr145L1030 (Xpr145L1000)</i>		1030	GTTGCCAGCC	1R	1R
<i>Xpr162L250</i>		250	TCAGGGAGGT	2R	2R
<i>Xpr181L1200c</i>		1200	CCGCCTAGTC	2R	2R
<i>Xpr181L1350</i>		1350	CCGCCTAGTC	4R	4R

Tabela 1. Markery PCR użyte do konstrukcji mapy populacji RIL S120×S76, z odniesieniem do ich lokalizacji na mapie pokolenia F₂ mieszańca S120×S76 (cd.)

Nazwa markera (nazwa markera na mapie F ₂)	Rodzaj markera	Długość produktu amplifikacji (nt)	Sekwencja startera lub praca źródłowa	Lokalizacja na mapie F ₂	Lokalizacja na mapie RIL
<i>Xpr181L550c</i>	RAPD	550	CCGCCTAGTC	1R	1R
<i>Xpr181L900c (Xapr6.41)</i>		900	CCGCCTAGTC	6R	6R
<i>Xpr215L480</i>		480	CATGTAGACC	5R	5R
<i>Xpr215L520</i>		520	CATGTAGACC	–	**
<i>Xpr221L500</i>		500	GACGAGAATG	–	7R
<i>Xpr221L750</i>		750	GACGAGAATG	1R	1R
<i>Xpr235L1100</i>		1100	CCCCGAGGTT	–	5R
<i>Xpr235L330 (Xpr235L370)</i>		330	CCCCGAGGTT	3R	*
<i>Xpr235L750</i>		750	CCCCGAGGTT	–	**
<i>Xpr240L1000</i>		1000	GGGCTGACTT	–	1R
<i>Xpr240L880</i>		880	GGGCTGACTT	–	*
<i>Xpr261L650</i>		650	GAGTGCTCCT	3R	3R
<i>Xpr273L1020 (Xpr273L1030)</i>		1020	GTGACAACGT	4R	4R
<i>Xpr273L640</i>		640	GTGACAACGT	3R	3R
<i>Xpr273L840</i>		840	GTGACAACGT	–	4R
<i>Xpr312L1100</i>		1100	TCCACGACGG	1R	1R
<i>Xpr354L420</i>		420	CCGTAATCCG	–	2R
<i>Xpr354L650</i>		650	CCGTAATCCG	2R	2R
<i>Xpr366L570</i>		570	TGCTCGTCAA	–	2R
<i>Xpr366L850</i>		850	TGCTCGTCAA	–	*
<i>Xpr543L1160</i>		1160	GTGCCTAACG	–	4R
<i>Xpr544L880</i>		880	TCACGTCCAC	4R	*
<i>Xpr665L1050</i>		1050	GCCTCATACC	5R	5R
<i>Xpr665L430</i>		430	GCCTCATACC	3R	3R
<i>Xpr706L300</i>		300	GGTGACGCAT	–	4R
<i>Xpr728L1400</i>		1400	ACGCCAGTT	–	6R
<i>Xpr728L750L650</i>		650–750	ACGCCAGTT	3R	3R
<i>Xpr794L380</i>		380	GTGATCGCTG	–	1R
<i>Xpr794L560</i>		560	GTGATCGCTG	–	5R
<i>Xpr794L750</i>		750	GTGATCGCTG	4R	**

Tabela 1. Markery PCR użyte do konstrukcji mapy populacji RIL S120×S76, z odniesieniem do ich lokalizacji na mapie pokolenia F₂ mieszańca S120×S76 (cd.)

Nazwa markera (nazwa markera na mapie F ₂)	Rodzaj markera	Długość produktu amplifikacji (nt)	Sekwencja startera lub praca źródłowa	Lokalizacja na mapie F ₂	Lokalizacja na mapie RIL
<i>Xpr794L880</i>	RAPD	880	GTGATCGCTG	–	6R
<i>Xpr877L690 (Xpr877L600)</i>		690	CAGCCTACCG	3R	3R
<i>Xpr878L470</i>		470	CAGCCTACCT	–	*
<i>Xpr900L1750</i>		1750	CACAGCGAAC	–	5R
<i>Xpr900L750c</i>		750	CACAGCGAAC	5R	4R
<i>Xpr931L1070</i>		1070	CCCGATCAGG	–	2R
<i>Xpr931L600</i>		600	CCCGATCAGG	–	7R
<i>Xpr1032L1230</i>		1230	CACGGCAGTT	1R	1R
<i>Aamy3n2</i>		STS	400	Milczarski i in. 2007	5R
<i>Xbcd304</i>	400–500		GGACAATGAGCTAGGATTC TTACATGCAGAAGTGCTTAC	1R	1R
<i>Xpsr119</i>	1000–1150		Milczarski i in. 2007	4R	4R
<i>Xwg241</i>	400		CTGCATGACTGTCAACTACGC CTCACCATATGCTGCTGACC	1R	1R
<i>Xopo7</i>	SCAR	700	NCBI-AY587508	7R	7R
<i>Xscp16M58c4R</i>		180	Stracke i in. 2003	4R	4R
<i>Xscsz877L950</i>		950	Stojałowski 2010	–	5R
<i>Xscsz980L650B</i>		650	Stojałowski i in. 2009	6R	6R
<i>Xscm010</i>	SSR	110–120	Hackauf i Wehling 2002	2R	2R
<i>Xscm031</i>		238–244	Hackauf i Wehling 2002	2R	2R
<i>Xscm032</i>		142–148	Hackauf i Wehling 2002	2R	2R
<i>Xscm078</i>		196–203	Hackauf i Wehling 2002	6R	6R
<i>Xscm126</i>		117–133	Hackauf i Wehling 2002	1R	1R
<i>Xscm141</i>		141–145	Hackauf i Wehling 2002	5R	5R

* Markery odrzucone ze względu na istotne odchylenie segregacji obserwowanej od oczekiwanej dla modelu jednogenowego ($p = 0,005$), ** markery niezmapowane.

Reakcje RAPD oraz rozdziały elektroforetyczne produktów amplifikacji wykonywano zgodnie z opisem zamieszczonym w pracy Masojcia i in. (2001), stosując pewne modyfikacje. Przy analizie markerów ISSR, SCAR oraz SSR posłużono się metodyką opisaną przez Stojalowskiego i in. (2004, 2005, 2009). Markery STS uzyskiwano według protokołu Milczarskiego i in. (2007). Kilka monomorficznych produktów STS, dla ujawnienia polimorfizmu konformacji pojedynczych nici DNA (SSCP), rozdzielono elektroforetycznie w 7,5-procentowym niedenaturującym żelu poliakrylamidowym.

Markery STS otrzymywano w reakcji łańcuchowej polimerazy z użyciem starterów projektowanych z wykorzystaniem znanych sekwencji sond RFLP. W przypadku uzyskania produktów amplifikacji odpowiadających sekwencjom pszenicznym markery otrzymywały symbole: *psr*, *cmwg* lub *wg*, a odpowiedniki sekwencji jęczmiennych – *bcd* (symbole te odpowiadają nazwom oryginalnych markerów RFLP, które były podstawą do opracowania markerów STS). Do kategorii SCAR zakwalifikowano markery, dla których startery projektowano, opierając się na informacjach uzyskanych po zsekwencjonowaniu produktów RAPD.

4.4.4. Statystyczne opracowanie wyników

Większość analiz statystycznych wykonano za pomocą programu Statistica v.8.0. Wyliczano średnie arytmetyczne, licznosci prób i współczynniki korelacji prostej między średnimi wartościami cech. Sprawdzano także zgodność rozkładu wartości poszczególnych cech fenotypowych z rozkładem normalnym z użyciem testów: Kołmogorowa–Smirnowa, Lillieforsa i χ^2 .

Dla porównania istotności różnic w podatności na przedźniwne porastanie w populacji RIL między dwoma grupami kłosów – poddanych samozapyleniu i pozostawionych swobodnemu zapyleniu – zastosowano testy nieparametryczne: Walda–Wolfowitza (test serii), U-Manna–Whitneya i Kołmogorowa–Smirnowa. Minimalna wymagana wielkość próby zalecana przy ocenie przedźniwnego porastania była wyliczana ze wzoru: $t^2 S^2 / d^2$ (gdzie t – wartość tabelaryczna, S^2 – wariancja, d – margines błędu wyrażony w procentach).

4.4.5. Mapowanie genetyczne

Analizie sprzężeń poddano segregacje markerów DArT otrzymane z firmy Diversity Arrays Technology Pty Ltd. w ramach realizacji wspólnego projektu pracowników Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin ZUT w Szczecinie i Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin SGGW w Warszawie. Dodatkowo wykorzystano segregacje markerów PCR z map szkieletowych populacji RIL-K i RIL-L (Milczarski 2010).

Przed przystąpieniem do konstrukcji mapy sprawdzono, z użyciem testu χ^2 , zgodność segregacji markerów z jednogenowym modelem dziedziczenia. W trakcie mapowania pominięto segregacje markerów odbiegające od modelu teoretycznego przy poziomie $p = 0,005$.

Mapowanie genetyczne dla wszystkich czterech populacji RIL przeprowadzono za pomocą programu JoinMap3.0 (Van Ooijen i Voorrips 2001), wykorzystującego w analizach funkcję regression mapping.

Identyfikacja grup sprzężeń była możliwa dzięki markerom o lokalizacji znanej z mapy pokolenia F_2 , a także markerom, których pozycje wyznaczono na innych mapach żyta, oraz dzięki najliczniejszej grupie markerów DArT, z których część pokrywała się z *loci* występującymi na pierwszej mapie żyta utworzonej z udziałem tych markerów (Bolibok-Bragoszewska i in. 2009).

4.4.6. Identyfikacja QTL

Do lokalizacji QTL użyto programu WinQTLCartographer 2.5 (Wang i in. 2006). Program ten nie pozwala na identyfikację QTL na mapach, na których odległości mapowe są mniejsze niż 1 cM, oraz w przypadku zbyt licznych zestawów danych (liczba genotypów \times liczba markerów). Z tego powodu konieczne było przygotowanie danych uzyskanych po mapowaniu w programie JoinMap3.0 w sposób, który umożliwił identyfikację QTL w programie WinQTLCartographer 2.5. Spośród markerów sprzężonych ze sobą na dystansie do 1 cM, segregujących prawie tak samo, pozostawiano tylko jeden marker reprezentatywny dla grupy. W ten sposób uzyskano mapy, na których minimalna odległość między dwoma najbliższymi markerami była nie mniejsza niż 1 cM. Jeżeli zbyt duża liczba markerów na chromosomie uniemożliwiała analizę komputerową, grupę taką dzielono na dwie części. W miejscu podziału, na końcowych odcinkach obu nowo utworzonych grup, pozostawiano po 20 tych samych markerów. Mapy w końcowej wersji przedstawiono z uwzględnieniem wszystkich markerów, także tych usuniętych tymczasowo na potrzeby lokalizacji QTL.

Do identyfikacji QTL zastosowano złożone mapowanie interwałowe (CIM) po uprzednim wykonaniu testu permutacji (Doerge i Churchill 1996), który umożliwiał ustalenie wymaganego, krytycznego poziomu LOD, dostosowanego do rodzaju populacji, liczby markerów i segregacji cech. Jako istotny przyjmowano wynik po 1000 permutacjach. Moduł CIM pozwalał wykreślić krzywe LOD dla każdej z cech w poszczególnych grupach sprzężeń, wskazując obszary QTL – regiony, w których krzywa wznosiła się ponad krytyczny poziom LOD przyjęty w teście permutacji. Poziom ten wahał się w granicach 2,0–2,6; dla większości cech przybierał wartość 2,1 lub 2,2.

Zidentyfikowane QTL charakteryzowano, wykorzystując kilka najistotniejszych parametrów: pozycję markera najbardziej sprzężonego (cM), czyli znajdującego się na mapie najbliżej punktu odpowiadającego maksimum krzywej LOD, efekt addytywny allelu pochodzącego od matczynej linii rodzicielskiej (a) oraz współczynnik determinacji (R^2), określający procentową część zmienności cechy pozostającą pod kontrolą danego *locus*. Granice QTL opisano pozycjami odpowiadającymi miejscom przecięcia krzywej LOD z linią wyznaczającą krytyczny poziom LOD.

Te QTL wykryte w różnych wariantach doświadczenia, których przedziały pokrywały się całkowicie lub częściowo, przedstawiono na mapie jako jeden region. Przedziały QTL wytyczone przez program WinQTLCartographer jako różne, ale stykające się ze sobą niekiedy także traktowano jako wspólny obszar i przedstawiano na mapie jako jeden dłuższy prostokąt. Postępowano tak w przypadku, gdy krzywe LOD wyraźnie zachodziły na siebie,

a efekt addytywny miał ten sam znak. W takich przypadkach QTL zawierają więcej niż jeden marker wyznaczający najwyższy punkt krzywej LOD.

Poza funkcją CIM jako dodatkowe potwierdzenie istotności sprzężenia markera z badaną cechą zastosowano funkcję SMA (analizę pojedynczego markera), wykorzystującą test F (Fishera). Jako podstawowe kryterium istotności przyjęto poziom $p = 0,01$. Markery uznawano za istotne także wtedy, gdy zostały wytypowane w teście F co najmniej dwukrotnie przy $p = 0,05$.

5. Wyniki

5.1. Konstrukcja map genetycznych

W ramach przeprowadzonych badań skonstruowano cztery mapy genetyczne liczące 1292–1625 *loci*. Omawiane mapy składały się głównie z markerów DArT, ale każda z nich zawierała część *loci* uzyskanych z zastosowaniem PCR – od 21 dla populacji 541 × 2020LM do 73 na mapie 541 × Ot1-3. Mapy poszczególnych chromosomów liczyły 123–304 markery (tab. 2, rys. 1–7).

Długości map wahały się w granicach 714–1381 cM, przy czym najkrótsza mapa populacji 541 × 2020LM charakteryzowała się największą liczbą markerów, a co za tym idzie, była najsilniej zagęszczona. Sześć chromosomów nie przekroczyło długości 100 cM, najkrótszy z nich był chromosom 3R z populacji S120 × S76 mierzący 76 cM. Długości między 100 cM a 200 cM osiągnęło 14 grup sprzężeń, kolejne 8 chromosomów mierzyło co najmniej 200 cM. Najdłuższy był chromosom 6R z mapy 541 × Ot1-3 (tab. 2).

Tabela 2. Liczba markerów i długości map genetycznych populacji K, L, M oraz S

Chromosom	Liczba markerów				Liczba markerów innych niż DArT				Długość mapy (cM)			
	K	L	M	S	K	L	M	S	K	L	M	S
1R	219	189	210	256	8	4	14	5	123	188	233	91
2R	138	232	199	183	14	10	11	1	149	229	162	71
3R	173	147	183	269	5	7	9	0	154	220	76	95
4R	304	198	224	231	7	7	10	6	215	138	122	125
5R	234	132	123	250	15	3	9	0	212	219	89	105
6R	248	254	261	207	7	7	7	5	267	138	122	134
7R	151	140	147	229	17	12	5	4	261	148	158	93
Ogółem	1467	1292	1347	1625	73	50	65	21	1381	1281	962	714

Średnie zagęszczenie na każdej mapie było większe niż 1 marker na 1 cM, a dla mapy 541 × 2020LM przekroczyło wartość 1 markera na 0,5 cM. Największa średnia odległość między markerami wynosiła 0,991 cM (mapa Ds2 × RXL10), a najmniejsza – 0,439 cM. Mimo silnego średniego zagęszczenia na wszystkich mapach markery nie były rozmieszczone równomiernie. Obserwowano zarówno liczne skupiska, jak i przerwy o długości powyżej 5 cM, a niekiedy powyżej 10 cM (rys. 1–7).

Na rys. 1–7 przedstawiono mapy genetyczne chromosomów 1R–7R populacji RIL otrzymanych z mieszańców żyta: 541 × Ot1-3 (K), Ds2 × RXL10 (L), S120 × S76 (M) oraz 541 × 2020LM (S). Kolorem zielonym wyróżniono QTL wczesności kłoszenia, pomarańczowym – terminu kwitnienia, a czerwonym – porostania przedzniwnego. Symbol liczbowy oznacza QTL wspólne dla różnych map, gwiazdka – QTL wykryte co najmniej w dwóch powtórzeniach. Markery oznaczone kolorami to *loci* najsilniej sprzężone z danym QTL.

Mapa populacji RIL uzyskanej z mieszańca S120 × S76, wykorzystana do lokalizacji QTL zarówno wczesności kłoszenia, jak i porastania przedźniwnego, mierzyła 962 cM i liczyła 1347 *loci*, co dało średnią odległość między *loci* równą 0,714 cM. Poza markerami DArT na mapie zlokalizowano 65 *loci* innego typu. Było wśród nich 50 markerów RAPD, 6 – SSR, 4 – SCAR, 4 – STS i 1 – ISSR (tab. 1).

Markery DArT, reprezentowane na mapie populacji S120 × S76 w liczbie 1282 *loci*, wyselekcjonowano w trakcie konstrukcji grup sprzężeń z puli 1657 markerów. Odrzucone markery charakteryzowały się niewłaściwym stosunkiem rozszczepień w populacji mapującej. Skuteczność mapowania, liczona jako stosunek liczby markerów zmapowanych do liczby wszystkich segregacji, wyniosła dla markerów DArT 77,4%. Wartość tego samego parametru wyznaczona dla markerów RAPD wyniosła 75,8%. Z 66 dostępnych segregacji RAPD 11 wykazywało niezgodność z jednogenowym modelem dziedziczenia, a kolejnych 5 wyeliminowano w procesie mapowania (nie zostały włączone w skład żadnej z grup sprzężeń).

Z początkowej puli 66 segregujących produktów RAPD 36 pochodziło z mapy F₂ populacji S120 × S76; 29 spośród nich zlokalizowano na mapie populacji RIL. Jeden z markerów z mapy F₂ (*Xpr900L750c*) umieszczono na mapie RIL w innej lokalizacji chromosomowej – na 4R zamiast na 5R. Pozostałe 28 *loci* zmapowano zgodnie ze znanymi uprzednio lokalizacjami. Skuteczność w przenoszeniu markerów między mapami, nazywana transferowalnością, wyniosła 80,6%. Gdyby uwzględnić w tym zestawieniu zmapowany marker ISSR, transferowalność dla losowo amplifikowanych produktów PCR wyniosłaby 79%. Wśród *loci* RAPD włączonych w skład mapy RIL 15 markerów nieobecnych na mapie F₂ uzyskano z zastosowaniem starterów wykorzystywanych do amplifikacji innych produktów RAPD, znanych z mapy F₂ (tab. 1).

5.2. Wczesność kłoszenia, termin kłoszenia i termin kwitnienia

Korelacje fenotypowe między cechami opisującymi wczesność

Dla porównania metody oceny wczesności kłoszenia (HE) w dziewięciostopniowej skali z powszechnie przyjętym w hodowli sposobem wyznaczania terminu kłoszenia (HD) jedną z populacji mapujących (541 × 2020LM) oceniono z zastosowaniem obu sposobów. Współczynniki korelacji między porównywanymi metodami dla trzech kolejnych pokoleń wynosiły od –0,87 do –0,90. Porównanie wczesności kłoszenia (HE) i terminu kwitnienia (FT) ocenionych w tych samych latach wykazało korelację na poziomie od –0,65 do –0,72. Zależność między terminami kłoszenia (HD) i kwitnienia (FT) ocenionymi w tych samym latach mieściła się w zakresie 0,59–0,72. Wszystkie wartości były istotne statystycznie przy $p < 0,05$ (tab. 3). Wszystkie omawiane cechy charakteryzowały się rozkładem wartości zgodnym z rozkładem normalnym.

Porównanie średnich wartości wczesności kłoszenia (HE) w populacjach mapujących RIL: 541 × Ot1-3, Ds2 × RXL10, S120 × S76 oraz 541 × 2020LM, dotyczące trzech lat badań, pozwoliło uzyskać wartości współczynników korelacji wahające się w granicach 0,42–0,77 (tab. 4). Wszystkie wartości były istotne statystycznie przy $p < 0,05$.

Tabela 3. Współczynniki korelacji między wartościami wczesności kłoszenia (HE), terminu kłoszenia (HD) i terminu kwitnienia (FT) w latach 2008–2010 uzyskanymi dla populacji S (wszystkie wartości są istotne statystycznie przy $p < 0,05$)

	HE08	HD08	FT08	HE09	HD09	FT09	HE10	HD10	FT10	HE*	HD*	FT*
HE08	1,00											
HD08	-0,90	1,00										
FT08	-0,66	0,63	1,00									
HE09	0,77	-0,74	-0,53	1,00								
HD09	-0,73	0,74	0,55	-0,87	1,00							
FT09	-0,51	0,45	0,48	-0,72	0,72	1,00						
HE10	0,55	-0,50	-0,46	0,66	-0,64	-0,50	1,00					
HD10	-0,53	0,55	0,45	-0,66	0,66	0,53	-0,87	1,00				
FT10	-0,36	0,29	0,53	-0,48	0,50	0,63	-0,65	0,59	1,00			
HE*	0,85	-0,80	-0,64	0,92	-0,84	0,64	0,80	-0,76	-0,52	1,00		
HD*	-0,81	0,85	0,61	0,86	0,92	0,66	-0,78	0,85	0,54	-0,91	1,00	
FT*	-0,59	0,52	0,69	-0,73	0,74	0,94	-0,62	0,62	0,82	-0,71	0,72	1,00

* Średnie wartości ze wszystkich lat badań.

Tabela 4. Współczynniki korelacji między średnimi wartościami wczesności kłoszenia (HE) dla populacji mapujących K, L, M oraz S i różnych lat badań (wszystkie wartości są istotne statystycznie przy $p < 0,05$)

Populacja mapująca	Porównywane lata	Współczynnik korelacji
K	2008–2009	0,54
	2008–2010	0,62
	2009–2010	0,68
L	2008–2009	0,57
	2008–2010	0,42
	2009–2010	0,64
M	2008–2009	0,57
	2008–2010	0,66
	2009–2010	0,72
S	2008–2009	0,77
	2008–2010	0,57
	2009–2010	0,71

Identyfikacja QTL warunkujących wczesność kłoszenia i termin kwitnienia.

Analiza QTL pozwoliła na wykrycie regionów związanych z kontrolą wczesności kłoszenia na mapach wszystkich populacji mapujących i na wszystkich chromosomach (tab. 5, tab. 6, rys. 1–7). Dla mieszańca 541 × Ot1-3 wytypowano 19 QTL (we wszystkich grupach sprzężeń poza 5R), dla mieszańca Ds2 × RXL10 – 29, dla S120 × S76 – 17 (we wszystkich grupach sprzężeń poza 3R), a dla 541 × 2020LM – 15 (tab. 5, tab. 6, rys. 1–7). Ogólna liczba QTL, po uwzględnieniu odpowiadających sobie regionów map różnych populacji, wyniosła 58; najmniej na chromosomie 5R i 6R, najwięcej zaś na 2R i 4R (tab. 5).

Wyznaczono sześć QTL terminu kwitnienia – trzy na chromosomie 1R i po jednym na chromosomach 3R, 6R i 7R (tab. 6, rys. 1–7). Regiony z chromosomów 6R i 7R pokrywały się z QTL wczesności kłoszenia, a marker najsilniej sprzężony z *locus* wczesności z populacji

Ds2 × RXL10 – *QHe3R-L2* – znajdował się w odległości około 2 cM od markera najsilniej sprzężonego z QTL terminu kwitnienia – *QFt3R-S1*.

Wykryte QTL osiągały wartości LOD w granicach 2,00–5,57 (tab. 6). Poziom istotności powyżej 4,00 uzyskano dla dziewięciu regionów z pięciu chromosomów i z trzech populacji. Były to: *QHe4R-L1*, *QHe2R-M1*, *QHe1R-M2*, *QHe2R-M4*, *QHe6R-L2*, *QHe3R-S2*, *QHe1R-M3*, *QHe7R-M1* i *QHe2R-M2*, uszeregowane w kolejności malejących wartości LOD (od 5,57 do 4,01).

Tabela 5. Liczba QTL wczesności kłoszenia na mapach genetycznych populacji K, L, M oraz S

Chromosom	Populacja				Liczba QTL ogółem	Liczba QTL występujących w dwóch, trzech lub czterech populacjach
	K	L	M	S		
1R	3	3	5	2	8	3
2R	3	9	4	4	15	4
3R	5	5	0	2	10	2
4R	2	6	2	3	12	1
5R	0	1	1	1	3	0
6R	3	2	2	1	5	2
7R	3	3	3	2	8	2
Razem	19	29	17	15	61	14

Współczynnik determinacji R^2 wynosił 5,35–25,4%. Wartości powyżej 20% osiągnęło 13 QTL z 6 chromosomów (wszystkich oprócz 5R) i prawie wyłącznie z populacji Ds2 × RXL10. W tej grupie znalazł się jeden QTL z populacji 541 × 2020LM – *QHe3R-S2*. Pozostałe loci to: *QHe4R-L1*, *QHe3R-L4*, *QHe1R-L2*, *QHe6R-L2*, *QHe1R-L1*, *QHe3R-L1*, *QHe7R-L3*, *QHe1R-L3*, *QHe3R-L5*, *QHe2R-L6*, *QHe3R-L2* i *QHe4R-L4*, wymienione w kolejności od wartości R^2 równej 25,4% do 20,2% (tab. 6).

QTL, których allele podnosiły lub obniżały wartość cechy w przybliżeniu o jeden–dwa punkty w skali oceny wczesności, pochodziły głównie z populacji Ds2 × RXL10 i były to: *QHe2R-L3*, *QHe3R-L3*, *QHe3R-L2*, *QHe1R-L1*, *QHe3R-L4*, *QHe7R-L3*, *QHe2R-L6*, *QHe6R-L2* i *QHe2R-S1* (wartości a równe 0,93–1,78) oraz *QHe1R-L2*, *QHe2R-L2*, *QHe4R-L1*, *QHe3R-L1*, *QHe2R-L5*, *QHe4R-L6*, *QHe1R-L3*, *QHe2R-M1*, *QHe7R-L1*, *QHe2R-S3*, *QHe4R-K1*, *QHe7R-L2* i *QHe6R-L1* (wartości a równe od –0,94 do –1,32).

Wśród QTL o najwyższych wartościach omawianych parametrów dwa (*QHe4R-L1* i *QHe6R-L2*) wyróżniały się wysokimi wartościami wszystkich trzech charakterystyk, *QHe3R-S2* miał jednocześnie wysokie wartości LOD i R^2 , *QHe2R-M1* opisywały wysokie wartości LOD i a , kolejne zaś osiem QTL (*QHe1R-L1*, *QHe1R-L2*, *QHe1R-L3*, *QHe2R-L6*, *QHe3R-L1*, *QHe3R-L2*, *QHe3R-L4*, *QHe7R-L3*) miało korzystne wartości parametrów R^2 i a .

Allele najsilniej warunkujące przyspieszenie terminu kwitnienia (FT) pochodzące od linii 541 znajdowały się w obrębie *QFt3R-S1*, *QFt6R-S1* i *QFt6R-S3* (wartości a równe, odpowiednio, –1,83, –1,65 i –1,62), a allel w największym stopniu opóźniający kwitnienie znajdował się w obrębie *QFt1R-S2*.

Tabela 6. Charakterystyka QTL wczesności kłoszenia (HE) zidentyfikowanych na mapach populacji K, L, M i S oraz QTL terminu kwitnienia (FT) zlokalizowanych na mapie populacji S

Chromosom	Populacja	Rok/ powtórzenie oceny fenotypowej	Symbol QTL	Zakres QTL (cM)*	LOD	<i>a</i>	<i>R</i> ² (%)	Marker najsilniej sprzężony z QTL	Liczba markerów istotnych (<i>F</i>) dla HE w obrębie QTL/ liczba wszystkich markerów w obrębie QTL
1R	K	He2010	<i>QHe1R-K1</i>	50	2,38	-0,62	7,33	<i>d508150c1R</i>	0/2
1R	K	He2010	<i>QHe1R-K2</i>	53–56	3,87	-0,76	13,12	<i>d390497c1R</i>	3/4
1R	K	He2010	<i>QHe1R-K3</i>	67	2,30	0,74	7,01	<i>d507970</i>	1/2
1R	L	He2009	<i>QHe1R-L1</i>	25–35	3,33	0,96	22,29	<i>d401320</i>	0/10
1R	L	He2009			2,42	0,87	14,12	<i>d410760</i>	
1R	L	He2009	<i>QHe1R-L2</i>	44–49	3,90	-1,32	24,57	<i>d505199c1R</i>	0/5
1R	L	He2010	<i>QHe1R-L3</i>	159–168	2,78	-0,97	20,96	<i>d507912</i>	0/2
1R	M	He2009	<i>QHe1R-M1</i>	75–98	2,71	0,74	8,54	<i>d505283</i>	22/22
1R	M	He07–10			2,30	0,46	5,96	<i>d508484c1R</i>	
1R	M	He07–10			2,35	0,45	5,78	<i>d508409</i>	
1R	M	He2008	<i>QHe1R-M2</i>	106–125	2,92	0,09	11,30	<i>d509189</i>	13/13
1R	M	He2009			5,48	0,76	16,07	<i>d506830</i>	
1R	M	He2009			2,21	0,60	6,96	<i>d400946c1R</i>	
1R	M	He07–10			2,64	0,54	7,37	<i>d400946c1R</i>	
1R	M	He2010			2,37	0,47	5,76	<i>d505173c1R</i>	
1R	M	He2009	<i>QHe1R-M3</i>	133–146	4,31	-0,81	10,83	<i>d507167c1R</i>	0/17
1R	M	He07–10			2,54	-0,46	7,47	<i>d398651c1R</i>	
1R	M	He2010			2,52	-0,52	7,54	<i>d398651c1R</i>	
1R	M	He2010	<i>QHe1R-M4</i>	159–161	2,41	0,47	6,13	<i>d399754c1R</i>	0/3
1R	M	He2010	<i>QHe1R-M5</i>	209–214	2,42	0,40	5,35	<i>d402043c1R</i>	0/4
1R	S	He2008	<i>QHe1R-S1</i>	64–65	2,47	0,48	11,26	<i>d506649c1R</i>	2/15

Tabela 6. Charakterystyka QTL wczesności kłoszenia (HE) zidentyfikowanych na mapach populacji K, L, M i S oraz QTL terminu kwitnienia (FT) zlokalizowanych na mapie populacji S (cd.)

Chromosom	Populacja	Rok/ powtórzenie oceny fenotypowej	Symbol QTL	Zakres QTL (cM)*	LOD	<i>a</i>	<i>R</i> ² (%)	Marker najsilniej sprzężony z QTL	Liczba markerów istotnych (<i>F</i>) dla HE w obrębie QTL/ liczba wszystkich markerów w obrębie QTL
1R	S	He2010	<i>QHe1R-S2</i>	78	2,22	0,66	10,09	<i>d506629c1R</i>	0/4
1R	S	Ft2008	<i>QFt1R-S1</i>	0	2,25	0,46	9,54	<i>d390594</i>	10/10
1R	S	Ft2009	<i>QFt1R-S2</i>	47–51	2,93	1,78	13,55	<i>d411155c1R</i>	0/5
1R	S	Ft2008	<i>QFt1R-S3</i>	85–86	2,20	-0,60	9,69	<i>d401610c1R</i>	0/2
2R	K	He08–10	<i>QHe2R-K1</i>	36–37	2,58	0,57	7,84	<i>d505891c2R</i>	2/2
2R	K	He08–10	<i>QHe2R-K2</i>	42–51	3,70	0,72	13,68	<i>d402538c2R</i>	8/8
2R	K	He2008			3,19	0,72	10,21	<i>d402355c2R</i>	
2R	K	He08–10	<i>QHe2R-K3</i>	91	2,26	0,45	6,54	<i>Xcmwg660</i>	3/3
2R	L	He2010	<i>QHe2R-L1</i>	0	2,00	0,84	11,62	<i>d509289</i>	0/2
2R	L	He2010	<i>QHe2R-L2</i>	15–21	2,95	-1,22	19,22	<i>d506794c2R</i>	0/8
2R	L	He2008	<i>QHe2R-L3</i>	36–42	2,88	0,93	16,70	<i>d506245c2R</i>	9/10
2R	L	He08–10	<i>QHe2R-L4</i>	62–65	2,13	0,61	12,87	<i>d402364c2R</i>	0/4
2R	L	He2009	<i>QHe2R-L5</i>	83–89	2,38	-0,83	14,31	<i>d400722c2R</i>	5/12
2R	L	He08–10			2,10	-0,79	13,38	<i>d400722c2R</i>	
2R	L	He2008			3,03	-1,12	18,29	<i>d411177c2R</i>	
2R	L	He2009			2,44	0,81	13,61	<i>Xapr2n8</i>	
2R	L	He2009	<i>QHe2R-L6</i>	101–107	3,90	1,04	20,82	<i>d400804</i>	5/10
2R	L	He08–10			2,56	0,65	12,28	<i>d506893</i>	
2R	L	He08–10	<i>QHe2R-L7</i>	113–115	2,21	0,69	11,48	<i>Xapr2n11</i>	0/1
2R	L	He08–10	<i>QHe2R-L8</i>	132–143	2,24	-0,60	12,11	<i>d509277</i>	0/7
2R	L	He2010			2,62	-0,79	15,48	<i>Xapr2n12</i>	
2R	L	He2009	<i>QHe2R-L9</i>	199–207	2,34	-0,64	13,70	<i>Xapr2n1</i>	10/10

Tabela 6. Charakterystyka QTL wczesności kłoszenia (HE) zidentyfikowanych na mapach populacji K, L, M i S oraz QTL terminu kwitnienia (FT) zlokalizowanych na mapie populacji S (cd.)

Chromosom	Populacja	Rok/ powtórzenie oceny fenotypowej	Symbol QTL	Zakres QTL (cM)*	LOD	<i>a</i>	<i>R</i> ² (%)	Marker najsilniej sprzężony z QTL	Liczba markerów istotnych (<i>F</i>) dla HE w obrębie QTL/ liczba wszystkich markerów w obrębie QTL
2R	M	He2007	<i>QHe2R-M1</i>	49–61	4,80	–0,97	15,22	<i>d402364c2R</i>	15/15
2R	M	He2008			4,07	–0,66	9,98	<i>d402364c2R</i>	
2R	M	He2009			3,37	–0,67	9,24	<i>d402364c2R</i>	
2R	M	He2010			5,50	–0,68	13,85	<i>d402364c2R</i>	
2R	M	He07–10			4,71	–0,63	11,46	<i>d402364c2R</i>	
2R	M	He2007			3,81	–0,88	13,78	<i>d508521c2R</i>	
2R	M	He2008	<i>QHe2R-M2</i>	75–80	3,54	–0,58	8,57	<i>Xpr162L250</i>	8/8
2R	M	He2010			4,01	–0,55	9,75	<i>Xpr162L250</i>	
2R	M	He2009	<i>QHe2R-M3</i>	90	2,39	–0,47	6,38	<i>d398641</i>	3/3
2R	M	He07–10	<i>QHe2R-M4</i>	120–134	3,69	0,46	8,91	<i>d505621c2R</i>	8/15
2R	M	He2008			4,70	0,68	12,60	<i>Xpr366L570</i>	
2R	S	He2009	<i>QHe2R-S1</i>	8–9	2,85	1,14	14,62	<i>d399529c2R</i>	12/12
2R	S	He2010			2,25	0,64	9,68	<i>d399529c2R</i>	
2R	S	He08–10	<i>QHe2R-S2</i>	19–21	2,55	0,54	11,55	<i>d506779</i>	4/5
2R	S	He2010	<i>QHe2R-S3</i>	57–59	2,18	–0,96	16,26	<i>d507566c2R</i>	0/1
2R	S	He2010	<i>QHe2R-S4</i>	65–68	2,30	–0,73	11,70	<i>d505907</i>	1/4
3R	K	He2010	<i>QHe3R-K1</i>	75	2,38	–0,56	7,67	<i>d66656c3R</i>	7/7
3R	K	He08–10	<i>QHe3R-K2</i>	79–80	2,33	0,63	7,65	<i>d400826c3R</i>	3/5
3R	K	He08–10	<i>QHe3R-K3</i>	86–88	2,96	0,63	10,53	<i>Xpsr598</i>	1/2
3R	K	He2008	<i>QHe3R-K4</i>	104–107	2,86	0,84	8,99	<i>d508194c3R</i>	6/10
3R	K	He2008	<i>QHe3R-K5</i>	119–120	2,40	–0,78	7,10	<i>d508865c3R</i>	0/3
3R	L	He2010	<i>QHe3R-L1</i>	52–58	2,67	–1,00	19,56	<i>d506986c3R</i>	2/3

Tabela 6. Charakterystyka QTL wczesności kłoszenia (HE) zidentyfikowanych na mapach populacji K, L, M i S oraz QTL terminu kwitnienia (FT) zlokalizowanych na mapie populacji S (cd.)

Chromosom	Populacja	Rok/ powtórzenie oceny fenotypowej	Symbol QTL	Zakres QTL (cM)*	LOD	<i>a</i>	<i>R</i> ² (%)	Marker najsilniej sprzężony z QTL	Liczba markerów istotnych (<i>F</i>) dla HE w obrębie QTL/ liczba wszystkich markerów w obrębie QTL
3R	L	He2009	<i>QHe3R-L1</i>	52–58	3,41	–1,14	21,37	<i>d507126c3R</i>	2/3
3R	L	He08–10			3,21	–0,95	19,84	<i>d507126c3R</i>	
3R	L	He2008	<i>QHe3R-L2</i>	63–77	2,52	0,74	20,77	<i>d509466</i>	18/18
3R	L	He2009			2,45	0,95	17,01	<i>d390174c3R</i>	
3R	L	He08–10			2,70	0,83	18,28	<i>d390174c3R</i>	
3R	L	He2008			2,67	0,69	18,20	<i>d402648</i>	
3R	L	He2010	<i>QHe3R-L3</i>	80–83	2,75	0,94	16,64	<i>d506206</i>	0/2
3R	L	He2008	<i>QHe3R-L4</i>	131–141	2,18	0,76	14,72	<i>d505593c3R</i>	14/20
3R	L	He08–10			3,11	0,98	22,37	<i>d505593c3R</i>	
3R	L	He2008			2,88	0,88	18,56	<i>d508673</i>	
3R	L	He2009			2,73	0,97	18,31	<i>d508673</i>	
3R	L	He08–10			3,79	0,97	24,61	<i>d508673</i>	
3R	L	He2009	<i>QHe3R-L5</i>	164–176	2,23	–0,73	13,41	<i>d411245</i>	1/4
3R	L	He08–10			3,16	–0,81	20,83	<i>d411245</i>	
3R	S	He2009	<i>QHe3R-S1</i>	6–10	2,53	–0,62	11,54	<i>d400475c3R</i>	3/3
3R	S	He2009	<i>QHe3R-S2</i>	58–64	4,40	–0,88	20,13	<i>d506173c3R</i>	15/18
3R	S	Ft2009	<i>QFt3R-S1</i>	27	2,36	–1,83	10,31	<i>d389925</i>	0/2
4R	K	He2010	<i>QHe4R-K1</i>	17–24	2,85	–0,96	12,46	<i>d400488c4R</i>	2/3
4R	K	He2008	<i>QHe4R-K2</i>	92–94	2,34	–0,54	7,62	<i>Xscm047</i>	1/2
4R	L	He2009	<i>QHe4R-L1</i>	1–26	3,77	–0,75	16,53	<i>d389327c4R</i>	44/44
4R	L	He2010			4,04	–0,96	19,03	<i>d507605c4R</i>	
4R	L	He2010			4,31	–1,02	20,14	<i>d508446c4R</i>	

Tabela 6. Charakterystyka QTL wczesności kłoszenia (HE) zidentyfikowanych na mapach populacji K, L, M i S oraz QTL terminu kwitnienia (FT) zlokalizowanych na mapie populacji S (cd.)

Chromosom	Populacja	Rok/ powtórzenie oceny fenotypowej	Symbol QTL	Zakres QTL (cM)*	LOD	<i>a</i>	<i>R</i> ² (%)	Marker najsilniej sprzężony z QTL	Liczba markerów istotnych (<i>F</i>) dla HE w obrębie QTL/ liczba wszystkich markerów w obrębie QTL
4R	L	He2009	<i>QHe4R-L1</i>	1–26	4,36	–0,99	19,02	<i>d390436c4R</i>	44/44
4R	L	He2010			5,57	–1,15	25,40	<i>d509459</i>	
4R	L	He08–10	<i>QHe4R-L2</i>	48	2,19	0,62	9,98	<i>d389864</i>	2/3
4R	L	He2009	<i>QHe4R-L3</i>	58	2,37	–0,69	10,43	<i>d398498</i>	2/2
4R	L	He2009	<i>QHe4R-L4</i>	61	3,43	–0,79	20,20	<i>d506073c4R</i>	2/5
4R	L	He2009	<i>QHe4R-L5</i>	93	2,27	0,68	12,30	<i>d506534c4R</i>	2/4
4R	L	He2009	<i>QHe4R-L6</i>	118	2,21	–1,06	13,66	<i>d508454</i>	0/3
4R	M	He07–10	<i>QHe4R-M1</i>	0–2	2,27	0,42	7,66	<i>Xpr706L300</i>	1/1
4R	M	He07–10	<i>QHe4R-M2</i>	29–31	2,80	0,44	8,33	<i>Xpr273L840</i>	1/8
4R	S	He2009	<i>QHe4R-S1</i>	21–28	3,17	–0,69	14,31	<i>d506301c4R</i>	11/14
4R	S	He2008			2,53	–0,52	12,60	<i>d507451c4R</i>	
4R	S	He2008	<i>QHe4R-S2</i>	111–113	2,45	–0,41	11,81	<i>d347800c4R</i>	6/11
4R	S	He08–10	<i>QHe4R-S3</i>	117–119	2,74	–0,46	10,38	<i>Xscsz670L900</i>	8/6
5R	L	He2009	<i>QHe5R-L1</i>	50–51	2,52	0,71	14,31	<i>d346641</i>	3/3
5R	M	He2008	<i>QHe5R-M1</i>	40–41	2,27	0,51	6,66	<i>d120407</i>	7/7
5R	S	He2010	<i>QHe5R-S1</i>	46–47	2,38	0,74	11,20	<i>d399984c5R</i>	3/3
5R	S	He08–10			2,50	0,60	11,29	<i>d399984c5R</i>	
6R	K	He2009	<i>QHe6R-K1</i>	62–89	3,21	–0,68	9,98	<i>d389793</i>	23/32
6R	K	He08–10			2,57	–0,50	8,22	<i>d389793</i>	
6R	K	He2008			2,49	–0,53	7,82	<i>d401471</i>	
6R	K	He2009			3,13	–0,65	9,10	<i>d401471</i>	
6R	K	He2009			2,82	–0,78	11,40	<i>d398567</i>	

Tabela 6. Charakterystyka QTL wczesności kłoszenia (HE) zidentyfikowanych na mapach populacji K, L, M i S oraz QTL terminu kwitnienia (FT) zlokalizowanych na mapie populacji S (cd.)

Chromosom	Populacja	Rok/ powtórzenie oceny fenotypowej	Symbol QTL	Zakres QTL (cM)*	LOD	<i>a</i>	<i>R</i> ² (%)	Marker najsilniej sprzężony z QTL	Liczba markerów istotnych (<i>F</i>) dla HE w obrębie QTL/ liczba wszystkich markerów w obrębie QTL
6R	K	He2008	<i>QHe6R-K2</i>	191–194	2,67	0,61	9,24	<i>d399834c6R</i>	11/11
6R	K	He2009			3,04	0,62	9,28	<i>d399834c6R</i>	
6R	K	He08–10			3,59	0,65	11,37	<i>d399834c6R</i>	
6R	K	He2008	<i>QHe6R-K3</i>	195–204	2,43	0,57	8,82	<i>Xscm0078</i>	13/15
6R	K	He2009			2,93	0,61	9,25	<i>Xscm0078</i>	
6R	K	He08–10			3,44	0,61	11,16	<i>Xscm0078</i>	
6R	L	He2010	<i>QHe6R-L1</i>	59	3,25	–0,94	17,34	<i>d401932c6R</i>	3/7
6R	L	He2010	<i>QHe6R-L2</i>	126–138	4,63	1,08	22,88	<i>d389402</i>	9/9
6R	L	He2009			2,87	0,61	14,27	<i>Xapr6n6</i>	
6R	L	He08–10			3,32	0,91	18,65	<i>Xapr6n6</i>	
6R	M	He2007	<i>QHe6R-M1</i>	20–29	2,95	–0,75	11,30	<i>d505745c6R</i>	25/26
6R	M	He2010	<i>QHe6R-M2</i>	100–114	3,29	0,48	9,83	<i>d401239c6R</i>	66/74
6R	M	He2009			2,58	0,51	7,88	<i>d400273c6R</i>	
6R	M	He07–10			3,41	0,51	10,17	<i>d400273c6R</i>	
6R	M	He2010			2,89	0,46	9,75	<i>d507745c6R</i>	
6R	S	He08–10	<i>QHe6R-S1</i>	95–98	2,71	0,60	14,02	<i>d507002c6R</i>	2/9
6R	S	Ft2009	<i>QFt6R-S1</i>	18–34	2,84	–1,65	12,16	<i>d508400</i>	6/31
6R	S	Ft08–10			2,28	–0,65	9,18	<i>d401305c6R</i>	
6R	S	Ft2009			2,87	–1,62	12,25	<i>d506992</i>	
7R	K	He2009	<i>QHe7R-K1</i>	64–71	2,62	0,57	7,77	<i>d508683c7R</i>	5/5
7R	K	He2010			2,28	0,67	7,43	<i>d508683c7R</i>	
7R	K	He2009			2,26	0,55	6,63	<i>d505798c7R</i>	

Tabela 6. Charakterystyka QTL wczesności kłoszenia (HE) zidentyfikowanych na mapach populacji K, L, M i S oraz QTL terminu kwitnienia (FT) zlokalizowanych na mapie populacji S (cd.)

Chromosom	Populacja	Rok/ powtórzenie oceny fenotypowej	Symbol QTL	Zakres QTL (cM)*	LOD	<i>a</i>	<i>R</i> ² (%)	Marker najsilniej sprzężony z QTL	Liczba markerów istotnych (<i>F</i>) dla HE w obrębie QTL/ liczba wszystkich markerów w obrębie QTL
7R	K	He2009	<i>QHe7R-K2</i>	119–128	2,28	–0,73	7,99	<i>d390750c7R</i>	5/5
7R	K	He08–10			2,44	–0,49	7,38	<i>d507910c7R</i>	
7R	K	He2009	<i>QHe7R-K3</i>	152–157	3,05	–0,71	9,16	<i>d505931c7R</i>	9/9
7R	L	He2008	<i>QHe7R-L1</i>	32–35	3,32	–0,97	17,66	<i>d400759</i>	3/3
7R	L	He2009	<i>QHe7R-L2</i>	39–40	2,52	–0,95	17,46	<i>Xapr7n13</i>	2/6
7R	L	He2008	<i>QHe7R-L3</i>	53–58	2,75	1,01	21,14	<i>d390297</i>	4/6
7R	L	He08–10			2,60	0,88	21,11	<i>d507754c7R</i>	
7R	M	He2009	<i>QHe7R-M1</i>	54–67	3,67	0,68	11,32	<i>Xopo7</i>	9/9
7R	M	He07–10			4,19	0,58	12,04	<i>Xopo7</i>	
7R	M	He2008			2,79	0,55	7,87	<i>Xopo7</i>	
7R	M	He2008	<i>QHe7R-M2</i>	76–78	2,46	–0,49	6,50	<i>d402262c7R</i>	3/4
7R	M	He2008	<i>QHe7R-M3</i>	146–149	2,37	–0,47	6,79	<i>d506805c7R</i>	3/11
7R	S	He2008	<i>QHe7R-S1</i>	20–32	3,33	0,48	13,87	<i>d389951</i>	12/14
7R	S	He08–10			3,49	0,71	15,03	<i>d389951</i>	
7R	S	He2008	<i>QHe7R-S2</i>	43–54	3,21	–0,46	12,58	<i>d509268c7R</i>	5/85
7R	S	He08–10			3,38	–0,58	12,94	<i>d401882c7R</i>	
7R	S	Ft2008	<i>QFt7R-S1</i>	44–52	3,70	0,72	14,91	<i>Xopn1L667</i>	5/70

* Pojedyncza wartość podana dla QTL, których przedział był krótszy niż 1 cM.

Na podstawie testu *F* i przyjętych kryteriów selekcji wykryto 1421 markerów istotnie związanych z wczesnością kłoszenia. Wśród *loci* istotnych dla wczesności 50 stanowiło grupę markerów innego typu niż DArT, z czego 28 to *loci* RAPD, 7 – SCAR, 6 – STS, 6 – SSR, 2 – AFLP i 1 – ISSR. Liczba *loci*, których istotność stwierdzono w różnych populacjach, wynosiła 193.

Z 1421 markerów 521 (36,7%) znajdowało się w obrębie obszarów QTL. Wśród nich 12 występowało jednocześnie w granicach QTL wykrytych w dwóch różnych populacjach. Test SMA wykazał istotność 70 markerów wyznaczonych w teście CIM jako najsilniej sprzężone z QTL (tab. 7). Piętnaście *loci* wykazywało istotność w dwóch populacjach, a cztery z nich były obecne w przedziałach QTL z różnych populacji (tab. 7).

Tabela 7. Markery wykazujące w teście *F* istotny związek z wczesnością kłoszenia w populacjach mapujących K, L, M oraz S, najsilniej sprzężone z QTL

Marker	Grupa	QTL	Populacja	Liczba powtórzeń	
				ogółem	w poszczególnych populacjach
<i>d508484c1R</i>	1R	<i>QHe1R-M1</i>	M	5	5
<i>d508409</i>	1R	<i>QHe1R-M1</i>	M	4	4
<i>d505283</i>	1R	<i>QHe1R-M1</i>	M	3	3
<i>d509189</i>	1R	<i>QHe1R-M2</i>	M	4	4
<i>d506830</i>	1R	<i>QHe1R-M2</i>	M	4	4
<i>d400946c1R</i>	1R	<i>QHe1R-M2</i>	M	4	4
<i>d505173c1R</i>	1R	<i>QHe1R-M2</i>	M	4	4
<i>d505891c2R</i>	2R	<i>QHe2R-K1</i>	K	3	3
<i>d402355c2R</i>	2R	<i>QHe2R-K2</i>	K	3	3
<i>Xcmwg660</i>	2R	<i>QHe2R-K3</i>	K, L	5	2, 3
<i>d506245c2R</i>	2R	<i>QHe2R-L3</i>	K, M	3	1, 2
<i>d411177c2R</i>	2R	<i>QHe2R-L5</i>	L, M	6	1, 5
<i>Xapr2n1</i>	2R	<i>QHe2R-L9</i>	L	4	4
<i>d402364c2R</i>	2R	<i>QHe2R-M1</i>	K, M	8	3, 5
<i>d508521c2R</i>	2R	<i>QHe2R-M1</i>	K, M	8	3, 5
<i>Xpr162L250</i>	2R	<i>QHe2R-M2</i>	M	4	4
<i>d398641</i>	2R	<i>QHe2R-M3</i>	M	5	5
<i>d505621c2R</i>	2R	<i>QHe2R-M4</i>	M	2	2
d399529c2R	2R	<i>QHe2R-S1</i>	M, S	4	3, 1
<i>d506779</i>	2R	<i>QHe2R-S2</i>	S	4	4
<i>d66656c3R</i>	3R	<i>QHe3R-K1</i>	K	2	2
<i>d400826c3R</i>	3R	<i>QHe3R-K2</i>	K, M	6	2, 4
<i>d508194c3R</i>	3R	<i>QHe3R-K4</i>	K	2	2
<i>d507126c3r</i>	3R	<i>QHe3R-L1</i>	L	2	2
<i>d509466</i>	3R	<i>QHe3R-L2</i>	L	1	1
<i>d390174c3r</i>	3R	<i>QHe3R-L2</i>	L	1	1
<i>d400475c3r</i>	3R	<i>QHe3R-L2, QHe3R-S1</i>	L, S	2	1, 1
<i>d505593c3r</i>	3R	<i>QHe3R-L4</i>	L	1	1
<i>d508673</i>	3R	<i>QHe3R-L4</i>	L	1	1
d411245	3R	<i>QHe3R-L5</i>	S	2	2
d506173c3R	3R	<i>QHe3R-S2</i>	S	3	3
<i>d400488c4R</i>	4R	<i>QHe4R-K1</i>	K	1	1
<i>d390436c4r</i>	4R	<i>QHe4R-L1</i>	L, M	6	3, 3
<i>d389327c4r</i>	4R	<i>QHe4R-L1</i>	L	3	3

Tabela 7. Markery wykazujące w teście *F* istotny związek z wczesnością kłoszenia w populacjach mapujących K, L, M oraz S, najsilniej sprzężone z QTL (cd.)

Marker	Grupa	QTL	Populacja	Liczba powtórzeń	
				ogółem	w poszczególnych populacjach
<i>d507605c4r</i>	4R	<i>QHe4R-L1</i>	L	3	3
<i>d509459</i>	4R	<i>QHe4R-L1</i>	L	3	3
<i>d508446c4r</i>	4R	<i>QHe4R-L1, QHe4R-S1</i>	L, S	6	4, 2
<i>d398498</i>	4R	<i>QHe4R-L3</i>	L, M	4	2, 2
<i>d506073c4r</i>	4R	<i>QHe4R-L3</i>	L, M	4	2, 2
<i>Xpr706L300</i>	4R	<i>QHe4R-M1</i>	M	3	3
<i>Xpr273L840</i>	4R	<i>QHe4R-M2</i>	M	3	3
<i>d389976c4R</i>	4R	<i>QHe4R-S1</i>	S	3	3
<i>d509205c4R</i>	4R	<i>QHe4R-S1</i>	S	2	2
<i>d506301c4R</i>	4R	<i>QHe4R-S1</i>	S	1	1
<i>d410883c4R</i>	4R	<i>QHe4R-S2</i>	S	2	2
<i>Xscsz670L900</i>	4R	<i>QHe4R-S3</i>	S	2	2
<i>d346641</i>	5R	<i>QHe5R-L1</i>	K, L	6	3, 3
<i>d120407</i>	5R	<i>QHe5R-M1</i>	M	5	5
<i>d399984c5R</i>	5R	<i>QHe5R-S1</i>	S	2	2
<i>d508400</i>	6R	<i>QFt6R-S1</i>	M	1	1
<i>d401471</i>	6R	<i>QHe6R-K1</i>	K	4	4
<i>d399834</i>	6R	<i>QHe6R-K2</i>	S	4	4
<i>d399834c6R</i>	6R	<i>QHe6R-K2</i>	K	3	3
<i>Xscm0078</i>	6R	<i>QHe6R-K3</i>	K	4	4
<i>d507002c6R</i>	6R	<i>QHe6R-K3, QHe6R-S1</i>	K, S	6	3, 3
<i>d401932c6R</i>	6R	<i>QHe6R-L1</i>	L	2	2
<i>d389402</i>	6R	<i>QHe6R-L2</i>	L	3	3
<i>Xapr6n6</i>	6R	<i>QHe6R-L2</i>	L	3	3
<i>d505745c6R</i>	6R	<i>QHe6R-M1</i>	M	1	1
<i>d401239c6R</i>	6R	<i>QHe6R-M2</i>	M	3	3
<i>d400273c6R</i>	6R	<i>QHe6R-M2</i>	M	3	3
<i>d507745c6R</i>	6R	<i>QHe6R-M2</i>	M	3	3
<i>d508683c7r</i>	7R	<i>QHe7R-K1, QHe7R-S1</i>	K, S	4	2, 2
<i>d390750c7r</i>	7R	<i>QHe7R-K2</i>	K	3	3
<i>d507910c7r</i>	7R	<i>QHe7R-K2</i>	K	3	3
<i>d505931c7r</i>	7R	<i>QHe7R-K3</i>	K	1	1
<i>d400759</i>	7R	<i>QHe7R-L1</i>	S	2	2
<i>d507754c7r</i>	7R	<i>QHe7R-L3</i>	L	2	2
<i>Xopo7</i>	7R	<i>QHe7R-M1</i>	M	4	4
<i>d389951</i>	7R	<i>QHe7R-S1</i>	S	4	4

Pogrubioną czcionką oznaczono markery istotnie związane także z terminem kwitnienia.

Liczba markerów istotnych dla terminu kwitnienia wykryta w populacji 541 × 2020LM była mniejsza niż liczba *loci* kontrolujących wczesność kłoszenia w poszczególnych populacjach (tab. 8). Pewna grupa markerów terminu kwitnienia pokrywała się z markerami istotnymi dla oceny wczesności wykrytymi u mieszańca 541 × 2020LM. Było to łącznie 163 *loci*, a na poszczególnych chromosomach (1R–7R), odpowiednio, 17, 90, 21, 7, 5, 20 i 3. Część markerów znalazła też swoje odpowiedniki wśród *loci* warunkujących wczesność kłoszenia wyznaczonych w innych populacjach mapujących. Łączna liczba *loci* istotnych jednocześnie dla obu

cech wyniosła 193. Markerów, których segregacje wykazywały istotną zależność tylko z terminem kwitnienia, było 99.

Tabela 8. Liczba markerów wykazujących istotny związek z wczesnością kłoszenia (HE) w populacjach mapujących K, L, M i S oraz z terminem kwitnienia (FT) w populacji S, wykazana z zastosowaniem testu F , w tym liczba markerów obecnych w granicach QTL

Grupa	Liczba markerów istotnych dla HE (test F), w tym liczba markerów w QTL						Liczba markerów istotnych dla FT (test F), w tym liczba markerów w QTL
	Populacja				ogółem	istotnych w dwóch lub trzech populacjach	
	K	L	M	S			
1R	8/4	0	65/37	17/10	90/51	0	30/10
2R	45/25	76/19	104/54	124/31	289/99	58/29	93/25
3R	25/13	34/34	29/6	116/27	185/68	19/13	25/17
4R	4/3	103/50	86/9	79/26	253/81	19/7	7/1
5R	100/1	67/3	72/7	8/4	209/14	37/1	42/0
6R	98/72	56/14	140/96	33/16	282/166	44/31	62/29
7R	64/23	2/1	46/13	16/12	124/48	4/1	27/5
Łącznie	344/141	338/121	542/22	393/126	1421/521	192/88	286/87

Największą liczbę markerów istotnych pod względem związku z wczesnością kłoszenia zanotowano w populacji S120×S76 (tab. 8). Najwięcej *loci* warunkujących wczesność obserwowano na chromosomie 2R i 6R, najmniej zaś na chromosomie 1R i 7R oraz, po uwzględnieniu wyników dla *loci* wytypowanych jednocześnie w teście SMA i CIM, na chromosomie 5R (tab. 8).

Gdyby za kryterium wyboru najważniejszych markerów uznać liczbę wykazanych związków segregacji z ocenami fenotypowymi z różnych lat (z uwzględnieniem średniej oceny ze wszystkich lat badań poszczególnych populacji) oraz dla różnych populacji, to można byłoby wyróżnić grupę 55 najczęściej (co najmniej sześciokrotnie) wytypowanych markerów (tab. 9).

Tabela 9. Liczba markerów wykazujących istotny związek z wczesnością kłoszenia, wytypowanych z zastosowaniem testu F , z uwzględnieniem liczby powtórzeń w różnych latach oraz w różnych populacjach mapujących

Grupa	Łączna liczba markerów	W tym wytypowane jako istotne co najmniej				
		dwukrotnie	trzykrotnie	czterokrotnie	pięciokrotnie	sześciokrotnie
1R	90	77	69	54	4	0
2R	289	241	141	96	51	27
3R	185	153	90	17	10	8
4R	253	184	109	21	9	6
5R	209	195	122	62	30	8
6R	282	200	150	56	24	5
7R	124	98	60	39	3	1
Razem	1432	1148	741	345	131	55

Wśród nich znalazło się 8 *loci* uznanych na podstawie analizy CIM za najsilniej sprzężone z QTL wczesności (tab. 7). Grupa markerów położonych w punktach, dla których krzywa LOD osiągnęła maksymalne wartości, i jednocześnie wykrytych w teście *F* liczyła 70 *loci*. Test *F* nie pozwolił na wykrycie 49 markerów najsilniej sprzężonych z QTL.

5.3. Porastanie przedzniwne

5.3.1. Wielkość próby do badań

Minimalna wielkość próby niezbędna do przeprowadzenia precyzyjnej oceny porastania przedzniwnego, ustalona z uwzględnieniem wariancji wyliczonej dla czterech linii wsobnych żyta przy dopuszczalnym błędzie równym 5%, wynosiła 20–48 w zależności od badanej linii (tab. 10). Dla porównania podano wyniki obliczeń minimalnej wielkości próby uzyskane dla liczby ziaren w kłosie. Były one niższe i wahały się w zakresie 3–11. Liczbę kłosów wymaganą do oceny porastania można zmniejszyć do 5–13, zakładając zwiększenie dopuszczalnej granicy błędu do 10%.

Tabela 10. Minimalna wielkość próby według wzoru t^2S^2/d^2 dla porastania (% PHS) i liczby ziaren w kłosie (GN), przy poziomie błędów $d = 5\%$ i $d = 10\%$, wyliczona dla czterech linii wsobnych żyta

Linia wsobna	Liczebność próby	Odchylenie standardowe dla PHS	Minimalna wielkość próby dla PHS		Odchylenie standardowe dla GN	Minimalna wielkość próby dla GN
			$d = 5\%$	$d = 10\%$		$d = 5\%$
S120	68	13,60	20	5	8,02	7
S76	64	14,44	23	6	9,99	11
M12	67	19,82	43	12	7,48	6
M12bw	53	20,86	48	13	5,40	3

5.3.2. Wpływ obcozapylenia na ocenę porastania

Różnica między średnimi wartościami porastania dla kłosów pochodzących z samo- i obcozapylenia w stosunku do średniej wartości cechy dla kłosów samozapylnych wahała się w granicach 13–31% w zależności od linii, a wartość ogólna wyznaczona dla danych ze wszystkich linii łącznie wynosiła 22%. Wartość tego parametru dla liczby ziaren w kłosie była niższa i wynosiła 15% (tab. 11).

Tabela 11. Wpływ obcozapylenia na wartość porastania i liczbę ziaren w kłosie, wyrażony jako różnica między średnimi wartościami cechy dla kłosów pochodzących z samo- i obcozapylenia w stosunku do średniej wartości cechy dla kłosów samozapylnych

Linia	Porastanie (PHS)				Liczba ziaren w kłosie (GN)	
	średnia I*	średnia N**	różnica	różnica (%)	różnica	różnica (%)
S120	74,94	65,30	9,64	13	3,31	12
S76	29,51	20,70	8,80	30	4,15	14
M12	59,48	40,97	18,51	31	5,80	27
M12bw	73,74	57,72	16,02	22	0,68	5
Ogólnie	59,42	46,17	13,25	22	3,48	15

* I – samozapylenie, ** N – obcozapylenie.

Porównano wartości porostania dla ośmiu serii kłosów w ramach każdej z czterech linii wsobnych i w ramach każdego z dwóch typów zapylenia – swobodnego i wymuszonego samozapylenia. Ponieważ istotne różnice pojawiały się również między parami serii „izolowane–izolowane” (I–I), traktowanymi jako wzorcowe, skorygowano wyniki porównania między grupami „nieizolowane–izolowane” (N–I), pomniejszając je o wartości porównania I–I.

W zależności od badanej linii i zastosowanego testu otrzymano wartości wahające się w granicach 9–42% (tab. 12). W przypadku testu Walda–Wolfowitza (W–W) wartość ta wyliczona dla wszystkich czterech linii łącznie wynosiła 15%, w teście Kołmogorowa–Smirnowa (K–S) – 20%, a w teście U–Manna–Whitneya (M–W) – 32%. Dla porównania w takim samym doświadczeniu dotyczącym liczby ziaren w kłosie osiągnięto wartości wynoszące 0–25%, a wartości uzyskane dla wszystkich linii w trzech testach to 5% (W–W), 9% (K–S) i 13% (M–W).

Tabela 12. Wpływ obcozapylenia na ocenę porostania, wyrażony jako liczba istotnych różnic między parami średnich wartości cechy dla kłosów pochodzących z samozapylenia i obcozapylenia (testy: W–W, K–S, M–W)

Linia wsobna	Rodzaj testu	Różnice między N*–I** (na 64)		Różnice między I–I (na 56)		Różnice między N–N (na 56)		Różnica między N–I a I–I (%)
		liczba	%	liczba	%	liczba	%	
S120	W–W	9	14	0	0	3	5	14
	K–S	16	25	1	2	2	4	23
	M–W	22	34	3	5	8	14	29
S76	W–W	13	20	2	4	4	7	16
	K–S	18	28	2	4	10	18	18
	M–W	26	41	4	7	12	21	34
M12	W–W	14	22	3	5	0	0	22
	K–S	17	27	2	4	0	0	27
	M–W	27	42	4	7	0	0	42
M12bw	W–W	11	17	1	2	5	9	15
	K–S	7	11	1	2	3	5	9
	M–W	21	33	3	5	6	11	28

* N – obcozapylenie, ** I – samozapylenie.

Z użyciem testu W–W wyliczono także liczbę istotnych różnic między parami grup kłosów izolowanych i nieizolowanych w ramach każdej linii wsobnej pochodzącej z populacji mapującej S120×S76 o poziomie wsobności RIL-F₈. Porównano 140 par, wykrywając 30 istotnych różnic (21%). W 100 przypadkach średnie wartości porostania dla grup kłosów pochodzących ze swobodnego przepylania były wyższe niż średnie wartości cechy dla grup kłosów samozapylonych. Podobną tendencję obserwowano w grupie genotypów wykazujących istotne różnice (26 z 30).

Kolejnego porównania dokonano, wyliczając współczynniki korelacji między różnymi powtórzeniami ocen fenotypowych porostania w populacji mapującej, z uwzględnieniem sposobu zapylenia. Najwyższą wartość (0,64) osiągnęła para serii kłosów izolowanych i nieizolowanych z tego samego roku – 2008 (tab. 13). Wszystkie wartości były istotne statystycznie przy $p < 0,05$.

Tabela 13. Współczynniki korelacji dla przedźniwnego porastania (PHS) w populacji mapującej M w różnych latach badań i w różnych powtórzeniach, z uwzględnieniem sposobu zapylenia

Rok/wariant	Współczynnik korelacji	Liczba porównywanych linii wsobnych
2007/I*–2008/I	0,39	64
2007/I–2009/I***	0,47	66
2007/I–2009/I****	0,41	65
2008/I–2009/I***	0,44	137
2008/I–2009/I****	0,55	132
2009/I***–2009/I****	0,44	149
2008/I–2008/N**	0,64	139

* I – samozapylenie, ** N – obcozapylenie, *** pierwsze powtórzenie, **** drugie powtórzenie; wszystkie wartości są istotne statystycznie przy $p < 0,05$.

5.3.3. Lokalizacja QTL porastania przedźniwnego

Wartości porastania w populacji mapującej obejmowały prawie całą skalę i w każdym powtórzeniu obserwowano przekroczenie poziomu linii rodzicielskich w obu kierunkach (tab. 14). Średnie wartości cechy oscylowały w granicach 28–43%. Najniższe wartości cechy odnotowano dla 2007 roku, najwyższe zaś dla 2009 roku oraz w przypadku powtórzenia z 2008 roku dla kłosów pochodzących z obcozapylenia. Rozkłady wartości cechy dla poszczególnych lat nie odbiegały istotnie od rozkładu normalnego.

Tabela 14. Miary skupienia i rozproszenia dla porastania przedźniwnego (PHS) w populacji RIL otrzymanej z mieszańca S120×S76 żyta

Rok/wariant	Średnia dla linii S120	Średnia dla linii S76	Średnia dla populacji	Odchylenie standardowe	Minimalna wartość	Maksymalna wartość
2007/I*	6,25	10,24	27,83	21,69	0,00	79,73
2008/I	36,50	13,27	33,12	20,18	0,00	77,78
2008/N**	67,36	32,86	42,76	25,95	0,00	98,36
2008	53,56	21,80	37,38	20,03	0,00	81,18
2009/I	45,29	36,02	40,73	18,47	2,54	88,09

* I – samozapylenie, ** N – obcozapylenie; brak symbolu – średnia wartość z obu wariantów.

Na mapie populacji S120×S76 wykryto 31 QTL przedźniwnego porastania, rozlokowanych na wszystkich siedmiu chromosomach: 7 loci na 1R, 6 na 2R, po 5 na 3R i 4R, 4 na 6R i po 2 na 5R i 7R (tab. 15, rys. 1–7). QTL z chromosomu 7R (*QPhs7R-M2*) wykryto we wszystkich doświadczeniach. Pięciokrotnie potwierdzono lokalizację dwóch QTL (*QPhs1R-M7* i *QPhs2R-M2*), trzykrotnie – czterech QTL (*QPhs1R-M6*, *QPhs2R-M3*, *QPhs3R-M4* i *QPhs4R-M4*), dwukrotnie – również czterech QTL (*QPhs1R-M5*, *QPhs2R-M4*, *QPhs2R-M5* i *QPhs5R-M1*). Pozostałe regiony wskazano w jednym z siedmiu możliwych powtórzeń, ale dwa z nich wykryto dla oceny z uśrednionymi danymi ze wszystkich wariantów doświadczenia.

Czternaście QTL charakteryzował poziom LOD powyżej 3,0, w tym sześć – powyżej 4,0. Były to regiony: *QPhs7R-M1*, *QPhs7R-M2*, *QPhs4R-M4*, *QPhs1R-M7*, *QPhs3R-M4* i *QPhs2R-M1*, wymienione w kolejności malejących wartości LOD, od 4,53 do 4,01 (tab. 15).

Wartości R^2 powyżej 10% reprezentowało 16 QTL, w tym 8 *loci* odpowiadało za ponad 15% zmienności cechy, a 2 wśród nich (*QPhs2R-M1*, *QPhs7R-M1*) – za ponad 20% zmienności (tab. 15).

Tabela 15. Charakterystyka QTL warunkujących porastanie przedzienne (PHS), zidentyfikowanych na mapie populacji M

Grupa	Rok/ wariant oceny fenotypowej	Symbol QTL	Zakres QTL (cM)	LOD	<i>a</i>	R^2 (%)	Marker najsilniej sprzężony	Liczba <i>loci</i> istotnych (<i>F</i>)/ liczba wszystkich <i>loci</i> w obrębie QTL
1R	2007/I*	<i>QPhs1R-M1</i>	30–31	2,37	–11,07	14,43	<i>d505199c1R</i>	0/2
1R	2008/N**	<i>QPhs1R-M2</i>	39–40	2,20	–8,28	6,47	<i>d390307</i>	1/1
1R	2007/I	<i>QPhs1R-M3</i>	42–45	2,75	12,58	17,80	<i>d507676</i>	0/31
1R	2008/I	<i>QPhs1R-M4</i>	95–110	3,01	–6,78	9,56	<i>d506136c1R</i>	36/36
1R	07–09	<i>QPhs1R-M5</i>	188–189	2,23	–4,51	5,64	<i>d390236</i>	7/7
1R	2009/I			2,52	–5,05	6,53	<i>d390236</i>	
1R	07–09	<i>QPhs1R-M6</i>	192–196	3,03	–5,28	7,53	<i>d400845</i>	5/5
1R	07–09/I			2,89	–5,07	7,21	<i>d400845</i>	
1R	2009/I			3,24	–5,75	8,24	<i>d400845</i>	
1R	2007/I	<i>QPhs1R-M7</i>	214–232	2,46	–8,32	15,59	<i>d509418</i>	11/11
1R	07–09			2,74	–5,21	6,89	<i>d505315</i>	
1R	07–09/I			2,74	–5,08	6,82	<i>d505315</i>	
1R	2008			2,73	–6,17	7,77	<i>d505315</i>	
1R	2008/I			4,05	–7,27	12,39	<i>d505315</i>	
2R	2007/I	<i>QPhs2R-M1</i>	28–31	4,01	–12,57	29,56	<i>d402587</i>	1/5
2R	2007/I	<i>QPhs2R-M2</i>	39–45	3,55	–10,15	18,22	<i>d402355c2R</i>	21/21
2R	2008/N			3,50	–8,13	10,23	<i>d345057c2R</i>	
2R	2009/I			2,39	–5,05	6,74	<i>d345057c2R</i>	
2R	07–09			2,91	–5,40	8,23	<i>d345057c2R</i>	
2R	07–09/I			2,41	–4,79	6,77	<i>d345057c2R</i>	
2R	2008/N	<i>QPhs2R-M3</i>	47–58	3,11	–8,46	11,52	<i>d389974c2R</i>	16/16
2R	07–09			2,99	–5,60	8,41	<i>d402364c2R</i>	
2R	07–09/I			2,83	–5,46	8,02	<i>d505627</i>	
2R	2007/I	<i>QPhs2R-M4</i>	72–78	3,75	11,41	19,91	<i>Xpr931L1070</i>	0/18
2R	2009/I			2,44	5,52	6,65	<i>Xpr162L250</i>	
2R	2008/I	<i>QPhs2R-M5</i>	126–130	2,71	–6,74	7,89	<i>Xpr366L570</i>	2/3
2R	07–09			2,32	–4,63	6,22	<i>Xpr366L570</i>	
2R	2008/I	<i>QPhs2R-M6</i>	155	2,46	5,75	7,48	<i>d505702</i>	6/6
3R	2008/N	<i>QPhs3R-M1</i>	1–2	2,48	–6,39	7,32	<i>d401653c3R</i>	3/6
3R	2007/I	<i>QPhs3R-M2</i>	14–15	2,58	7,94	12,63	<i>d505544c3R</i>	1/6
3R	2009/I	<i>QPhs3R-M3</i>	32–33	2,54	–5,74	6,84	<i>pr143L1100</i>	0/18

Tabela 15. Charakterystyka QTL warunkujących porastanie przedźniwne (PHS), zidentyfikowanych na mapie populacji M (cd.)

Grupa	Rok/ wariant oceny fenotypowej	Symbol QTL	Zakres QTL (cM)	LOD	<i>a</i>	<i>R</i> ² (%)	Marker najsilniej sprzężony	Liczba <i>loci</i> istotnych (<i>F</i>)/ liczba wszystkich <i>loci</i> w obrębie QTL
3R	2009/I	<i>QPhs3R-M4</i>	48–55	4,03	6,75	11,31	<i>d505593c3R</i>	8/18
3R	07–09			3,19	6,48	12,63	<i>d505593c3R</i>	
3R	07–09/I			2,36	5,36	9,16	<i>d505593c3R</i>	
3R	07–09	<i>QPhs3R-M5</i>	58–60	2,64	4,82	7,23	<i>d390268c3R</i>	16/16
4R	2009/I	<i>QPhs4R-M1</i>	49–50	2,30	–5,22	6,40	<i>d509321</i>	0/4
4R	2009/I	<i>QPhs4R-M2</i>	63–68	3,00	6,33	8,69	<i>d399485c4R</i>	0/5
4R	07–09	<i>QPhs4R-M3</i>	76–77	2,37	6,19	6,69	<i>d508404c4R</i>	0/4
4R	07–09	<i>QPhs4R-M4</i>	86–91	4,15	–8,57	12,17	<i>d509244c4R</i>	13/13
4R	2008			4,10	–9,61	11,93	<i>d509244c4R</i>	
4R	2008/N			4,45	–11,65	12,99	<i>d509244c4R</i>	
4R	2008/N	<i>QPhs4R-M5</i>	93–94	2,31	–7,73	7,08	<i>d507200</i>	9/9
5R	2009/I	<i>QPhs5R-M1</i>	6–11	2,66	6,41	11,18	<i>d507127</i>	8/8
5R	07–09/I			2,05	5,25	8,56	<i>d507127</i>	
5R	2007/I	<i>QPhs5R-M2</i>	43–47	2,86	–9,37	14,73	<i>d402320</i>	0/9
6R	2008/I	<i>QPhs6R-M1</i>	24–28	3,58	–9,39	10,99	<i>d410869c6R</i>	0/17
6R	2007/I	<i>QPhs6R-M2</i>	32–37	3,12	–10,84	17,05	<i>d507862</i>	14/17
6R	2008/I	<i>QPhs6R-M3</i>	37–40	2,87	9,83	9,65	<i>d401102</i>	0/6
6R	2008	<i>QPhs6R-M4</i>	66–73	3,12	–6,78	9,20	<i>d398480c6R</i>	5/41
7R	2007/I	<i>QPhs7R-M1</i>	62–74	4,53	13,63	27,43	<i>d508559c7R</i>	5/26
7R	2008/I	<i>QPhs7R-M2</i>	89–106	2,61	6,82	0,09	<i>d402651c7R</i>	28/28
7R	2008			2,58	6,11	7,97	<i>d401480c7R</i>	
7R	2009/I			3,72	7,84	11,67	<i>d402657c7R</i>	
7R	07–09/I			3,44	7,29	10,77	<i>d401200c7R</i>	
7R	07–09			4,49	7,56	16,29	<i>d507991c7R</i>	
7R	2008/N			3,27	8,29	10,82	<i>d507991c7R</i>	
7R	2008			3,30	7,11	3,69	<i>d390184c7R</i>	
7R	07–09			3,45	6,10	11,13	<i>d507936</i>	
7R	07–09/I			2,44	4,98	8,12	<i>d507936</i>	
7R	2009/I			2,52	5,33	8,16	<i>d507936</i>	

* I – samozapylenie, ** N – obcozapylenie; brak symbolu oznacza wartość średnią z obu wariantów.

Allele o najsilniejszym wpływie na wzrost lub obniżenie skłonności kłosów do porastania, bo o ponad 10%, pochodzące od linii S120, wytypowano odpowiednio dla trzech (*QPhs2R-M4*, *QPhs1R-M3* i *QPhs7R-M1*) i pięciu QTL (*QPhs2R-M1*, *QPhs4R-M4*, *QPhs1R-M1*, *QPhs6R-M2* i *QPhs2R-M2*).

Najistotniejsze pod względem wszystkich trzech parametrów opisujących właściwości QTL okazały się *loci QPhs2R-M1* i *QPhs7R-M1* z proksymalnych części drugiej i siódmej grupy sprzężeń.

Wykorzystując test *F* i przyjęte kryteria selekcji, wyznaczono 385 markerów związanych istotnie z odpornością/wrażliwością na porastanie. Poza markerami DArT w tym zesta-

wie znalazło się 21 markerów innego typu, w tym 13 RAPD, 3 SSR, 3 STS i 2 SCAR. Najliczniejsza grupa *loci* pochodziła z chromosomu 5R i 1R, najmniej liczna z chromosomu 6R (tab. 16). Z pełnego zestawu markerów istotnych można było wyróżnić 58 takich, których istotność wykazano we wszystkich siedmiu możliwych powtórzeniach doświadczenia. Były one rozlokowane na dwóch chromosomach – 1R i 7R, głównie w obrębie lub w pobliżu QTL: *QPhs1R-M4* i *QPhs1R-M7* oraz *QPhs7R-M1* i *QPhs7R-M2*.

Tabela 16. Liczba markerów populacji M wykazujących istotny związek z porastaniem, wykrytych z zastosowaniem testu *F*, z uwzględnieniem liczby powtórzeń w różnych latach i różnych warunkach

Chromosom	Łączna liczba markerów	Liczba markerów istotnych w:						
		1	2	3	4	5	6	7
		wariantach doświadczenia						
1R	86	1	3	8	18	17	5	34
2R	50	2	13	3	7	21	4	0
3R	56	0	15	7	20	13	1	0
4R	46	2	10	6	7	13	8	0
5R	90	3	11	40	2	33	1	0
6R	19	13	3	2	1	0	0	0
7R	38	5	2	0	0	1	6	24
Razem	385	26	57	66	55	98	25	58

Dwieście siedemnaście spośród 385 markerów znajdowało się w granicach QTL porastania. Dwadzieścia dziewięć markerów uznanych za istotne na podstawie analizy pojedynczego markera wykazywało równocześnie najsilniejsze sprzężenie z QTL warunkującymi odporność na porastanie (tab. 17). Dwunastu markerów najsilniej sprzężonych z QTL porastania nie uznano za istotne w teście *F*.

Tabela 17. Markery wykazujące w teście *F* istotny związek z porastaniem w populacji mapującej M, najsilniej sprzężone z QTL

Marker	Lokalizacja		QTL	Liczba powtórzeń				
	grupa	cM		ogółem	w tym z prawdopodobieństwem			
					95%	99%	99,9%	99,99%
<i>d390307</i>	1R	39	<i>QPhs1R-M2</i>	3	3	0	0	0
<i>d506136c1R</i>	1R	108	<i>QPhs1R-M4</i>	5	3	2	0	0
<i>d390236</i>	1R	189	<i>QPhs1R-M5</i>	7	0	3	1	3
<i>d400845</i>	1R	195	<i>QPhs1R-M6</i>	7	2	2	3	0
<i>d509418</i>	1R	214	<i>QPhs1R-M7</i>	7	1	3	3	0
<i>d505315</i>	1R	229	<i>QPhs1R-M7</i>	7	0	2	3	2
<i>d402355c2R</i>	2R	41	<i>QPhs2R-M2</i>	1	0	0	1	0
<i>d345057c2R</i>	2R	44	<i>QPhs2R-M2</i>	6	2	4	0	0
<i>d389974c2R</i>	2R	47	<i>QPhs2R-M3</i>	2	2	0	0	0
<i>d402364c2R</i>	2R	53	<i>QPhs2R-M3</i>	6	1	5	0	0
<i>d505627</i>	2R	56	<i>QPhs2R-M3</i>	5	2	3	0	0
<i>Xpr366L570</i>	2R	129	<i>QPhs2R-M5</i>	5	5	0	0	0
<i>d505702</i>	2R	155	<i>QPhs2R-M6</i>	3	3	0	0	0
<i>d401653c3R</i>	3R	2	<i>QPhs3R-M1</i>	2	1	1	0	0

Tabela 17. Markery wykazujące w teście F istotny związek z porastaniem w populacji mapującej M, najsilniej sprzężone z QTL (cd.)

Marker	Lokalizacja		QTL	Liczba powtórzeń				
	grupa	cM		ogółem	w tym z prawdopodobieństwem			
					95%	99%	99,9%	99,99%
<i>d505593c3R</i>	3R	53	<i>QPhs3R-M4</i>	3	2	1	0	0
<i>d390268c3R</i>	3R	60	<i>QPhs3R-M5</i>	5	3	2	0	0
<i>d509244c4R</i>	4R	87	<i>QPhs4R-M4</i>	5	4	1	0	0
<i>d507200</i>	4R	93	<i>QPhs4R-M5</i>	6	6	0	0	0
<i>d507127</i>	5R	10	<i>QPhs5R-M1</i>	5	3	2	0	0
<i>d507862</i>	6R	37	<i>QPhs6R-M2</i>	1	0	1	0	0
<i>d401102</i>	6R	37	<i>QPhs6R-M2</i>	1	1	0	0	0
<i>d398480c6R</i>	6R	70	<i>QPhs6R-M4</i>	2	2	0	0	0
<i>d402651c7R</i>	7R	90	<i>QPhs7R-M2</i>	7	1	6	0	0
<i>d401480c7R</i>	7R	94	<i>QPhs7R-M2</i>	7	2	1	4	0
<i>d402657c7R</i>	7R	95	<i>QPhs7R-M2</i>	7	2	1	4	0
<i>d401200c7R</i>	7R	97	<i>QPhs7R-M2</i>	7	1	1	4	1
<i>d507991c7R</i>	7R	98	<i>QPhs7R-M2</i>	7	2	0	3	2
<i>d390184c7R</i>	7R	101	<i>QPhs7R-M2</i>	7	1	2	4	0
<i>d507936</i>	7R	105	<i>QPhs7R-M2</i>	6	1	2	3	0

5.4. Zależność między porastaniem a wczesnością

Współczynnik korelacji prostej między porastaniem a wczesnością kłoszenia był istotny statystycznie przy $p = 0,05$ tylko dla jednego roku badań – 2007; jego wartość wynosiła 0,40. Przy porównaniu ocen fenotypowych z lat 2008 i 2009 oraz prób zbiorczych z lat 2007–2009 uzyskano nieistotne wartości współczynnika korelacji, wynoszące, odpowiednio, –0,05; 0,01 i 0,00.

Porównanie QTL porastania i wczesności kłoszenia dokonane na podstawie mapy mieszańca S120×S76 wykazało, że siedem QTL porastania pokrywało się całkowicie (*QPhs2R-M4*, *QPhs2R-M5*, *QPhs6R-M1*), prawie całkowicie (*QPhs2R-M3*) lub częściowo (*QPhs1R-M4*, *QPhs1R-M7*, *QPhs7R-M1*) z QTL wczesności kłoszenia, a dwa QTL kontrolujące porastanie (*QPhs5R-M2* i *QPhs6R-M2*) znajdowały się w bezpośrednim sąsiedztwie QTL wczesności kłoszenia (tab. 18, rys. 1–7). Uwzględniając te markery najsilniej sprzężone z QTL wczesności i zlokalizowane na mapach pozostałych trzech mieszańców, które znalazły się w granicach QTL porastania lub w ich bliskim sąsiedztwie (do 5 cM), wskazano kolejnych 10 obszarów genomu: *QPhs1R-M2*, *QPhs1R-M3*, *QPhs2R-M2*, *QPhs3R-M2*, *QPhs3R-M3*, *QPhs3R-M4*, *QPhs4R-M1*, *QPhs4R-M3*, *QPhs5R-M1* i *QPhs7R-M2*.

Dwa QTL porastania zawierały w swoich granicach markery najsilniej sprzężone z QTL terminu kwitnienia. Były to regiony: *QPhs1R-M3* z markerem *d390594* (*QFt1R-S1*) i *QPhs6R-M2* z markerem *d508400* (*QFt6R-S1*).

Tabela 18. QTL porastania przedźniwnego pokrywające się z QTL wczesności i markery naj- silniej sprzężone z QTL jednej cechy obecne w granicach QTL drugiej cechy

QTL kontrolujący PHS	Marker najsilniej sprzężony z QTL kontrolującym HE/FT obecny w obrębie QTL kontrolującego PHS	Marker najsilniej sprzężony z QTL kontrolującym PHS obecny w obrębie QTL kontrolującego HE/FT	QTL kontrolujący HE/FT
<i>QPhs1R-M2</i>	<i>d410760*</i>	–	<i>QHe1R-L1</i>
<i>QPhs1R-M3</i>	<i>d390594</i>	–	<i>QFt1R-S1</i>
<i>QPhs1R-M4</i>	<i>d508409</i>	–	<i>QHe1R-M1</i>
	<i>d506649c1R</i>	–	<i>QHe1R-S1</i>
	<i>d509189, d506830</i>	<i>d506136c1R</i>	<i>QHe1R-M2</i>
<i>QPhs1R-M7</i>	–	<i>d509418</i>	<i>QHe1R-M5</i>
<i>QPhs2R-M2</i>	<i>d505891c2R, d402355c2R</i>	–	<i>QHe2R-K1, QHe2R-K2</i>
<i>QPhs2R-M3</i>	<i>d402364c2R, d508521c2R</i>	<i>d505627</i>	<i>QHe2R-M1</i>
<i>QPhs2R-M4</i>	<i>Xpr162L250</i>	<i>Xpr162L250</i>	<i>QHe2R-M2</i>
<i>QPhs2R-M5</i>	<i>Xpr366L570</i>	<i>Xpr366L570</i>	<i>QHe2R-M4</i>
<i>QPhs3R-M2</i>	<i>d400826c3R*</i>	–	<i>QHe3R-K2</i>
<i>QPhs3R-M3</i>	<i>d507126c3R</i>	–	<i>QHe3R-L1</i>
	<i>d402648c3R</i>	–	<i>QHe3R-L2</i>
	<i>d400475c3R</i>	–	<i>QHe3R-S1</i>
<i>QPhs3R-M4</i>	<i>d505593c3R</i>	<i>d505593c3R</i>	<i>QHe3R-L4</i>
<i>QPhs4R-M1</i>	<i>d390436c4R*</i>	–	<i>QHe4R-L1</i>
<i>QPhs4R-M3</i>	<i>d398498*</i>	–	<i>QHe4R-L3</i>
	<i>d506073c4R*</i>	–	<i>QHe4R-L4</i>
<i>QPhs5R-M1</i>	<i>d505276**</i>	–	<i>QHe5R-S1</i>
<i>QPhs5R-M2</i>	–	–	<i>QHe5R-M1*</i>
<i>QPhs6R-M1</i>	–	<i>d410869c6R</i>	<i>QHe6R-M1</i>
<i>QPhs6R-M2</i>	<i>d508400</i>	–	<i>QHe6R-M1, QFt6R-S1</i>
<i>QPhs7R-M1</i>	<i>Xopo7</i>	<i>d508559c7R</i>	<i>QHe7R-M1</i>
<i>QPhs7R-M2</i>	<i>d505931c7R</i>	–	<i>QHe7R-K3</i>
	<i>d507754c7R</i>	–	<i>QHe7R-L3</i>

* Markery lub QTL położone w bliskim sąsiedztwie QTL porastania; ** marker położony w bliskim sąsiedztwie QTL wczesności i porastania; pogrubioną czcionką oznaczono QTL znajdujące się całkowicie w obrębie QTL drugiej cechy.

Wśród dziewięciu par QTL (QTL porastania–QTL wczesności) zlokalizowanych w tych samych obszarach na mapie populacji S120 × S76 cztery charakteryzowały się jednokowymi znakami efektu addytywnego. Były to: *QPhs2R-M3/QHe2R-M1* (–/–), *QPhs6R-M1/QHe6R-M1* (–/–), *QPhs6R-M2/QHe6R-M1* (–/–) i *QPhs7R-M1/QHe7R-M1* (+/+). Cztery pary QTL determinujących wczesność i skłonność do porastania, o pokrywających się lub sąsiadujących przedziałach, wykazywały przeciwny efekt działania allelu pochodzącego od linii S120. Były to: *QPhs1R-M4/QHe1R-M1–QHe1R-M2* (–/+), *QPhs1R-M7/QHe1R-M5* (–/+), *QPhs2R-M4/QHe2R-M2* (+/–) i *QPhs2R-M5/QHe2R-M4* (–/+).

Stosując test *F*, wytypowano 137 markerów istotnie związanych z porastaniem i wczesnością kłoszenia jednocześnie (tab. 19, tab. 20). Najwięcej markerów istotnych zlokalizowano na chromosomach: 5R, 1R i 2R (odpowiednio, 43, 40 i 29). Dziesięć markerów z tej grupy stanowiły markery inne niż DArT, w tym siedem RAPD, dwa SSR i jeden SCAR.

Osiemdziesiąt siedem markerów znajdowało się w granicach QTL wykrytych dla jednej lub drugiej cechy, 33 w obrębie QTL obu cech, z czego 17 markerów pochodziło z chromosomu 2R, a 11 zmapowano w grupie 1R. Markery, których istotność wykazano w największej liczbie powtórzeń, także pochodziły z chromosomów 2R i 1R (tab. 19).

Tabela 19. Liczba markerów populacji M wykazujących istotny związek z porastaniem i wczesnością kłoszenia, wykrytych z zastosowaniem testu F , z uwzględnieniem liczby wariantów doświadczeń, w których wykazano istotność markerów

Liczba wariantów		Liczba markerów ogółem (137)	Lokalizacja markerów	Liczba markerów na poszczególnych chromosomach
PHS i HE łącznie	PHS/HE lub HE/PHS			
11	6/5	2	2R	2
10	5/5	8	2R	8
9	5/4	20	1R, 2R, 5R	17, 2, 1
8	4/4	16	1R	16
	5/3	16	2R, 5R, 3R	8, 7, 1
	6/2	1	2R	1
7	4/3	18	5R, 1R, 2R,	11, 4, 1, 1, 1
	5/2	8	5R, 2R	7, 1
6	3/3	4	3R, 5R	2, 2
	4/2	7	2R, 4R, 1R, 5R	3, 2, 1, 1
	5/1	6	5R, 1R, 2R	4, 1, 1
5	3/2	11	5R, 3R, 1R, 2R	7, 2, 1, 1
	4/1	1	7R	1
4	2/2	1	3R	1
	3/1	8	5R, 7R, 2R,	3, 2, 1, 1, 1
3	2/1	1	4R	1
2	1/1	9	6R, 7R, 4R	6, 2, 1

Tabela 20. Markery molekularne wykazujące w teście F istotny związek z porastaniem i wczesnością, obecne w granicach QTL, z uwzględnieniem liczby powtórzeń ocen fenotypowych, w których wykazano istotność markera

Marker	Chromosom	Pozycja (cM)	Liczba powtórzeń oceny PHS (maksym. 7)	QTL kontrolujący PHS	QTL kontrolujący HE	Liczba powtórzeń oceny HE (maksym. 5)
<i>d348293</i>	1R	89	1	–	<i>QHe1R-M1</i>	5
<i>d505927c1R</i>	1R	92	2	–		4
<i>d402365c1R</i>	1R	94	3	–		4
<i>d508409</i>	1R	97	4	<i>QPhs1R-M4</i>		4
<i>d507772</i>	1R	97	4			4
<i>d507743</i>	1R	99	4			4
<i>d507820</i>	1R	99	3		–	4
<i>d505865</i>	1R	99	4		–	4
<i>d401022</i>	1R	100	4		–	4
<i>d505260</i>	1R	100	5		–	4
<i>d505549</i>	1R	100	5		–	4
<i>d506649c1R</i>	1R	100	4		<i>QHe1R-S1</i>	4
<i>d402491</i>	1R	100	5		–	4

Tabela 20. Markery molekularne wykazujące w teście *F* istotny związek z porastaniem i wczesnością, obecne w granicach QTL, z uwzględnieniem liczby powtórzeń ocen fenotypowych, w których wykazano istotność markera (cd.)

Marker	Chromosom	Pozycja (cM)	Liczba powtórzeń oceny PHS (maksym. 7)	QTL kontrolujący PHS	QTL kontrolujący HE	Liczba powtórzeń oceny HE (maksym. 5)
<i>d400853</i>	1R	100	5	<i>QPhs1R-M4</i>	–	4
<i>d389936</i>	1R	100	5		–	4
<i>d509689</i>	1R	100	5		–	4
<i>d399580</i>	1R	100	5		–	4
<i>d400399c1R</i>	1R	100	5		<i>QHe1R-S1</i>	4
<i>d401858c1R</i>	1R	100	5		–	4
<i>d401335</i>	1R	100	5		–	4
<i>d399930</i>	1R	100	5		–	4
<i>d400043</i>	1R	100	5		–	4
<i>d506423</i>	1R	100	5		–	4
<i>d402673</i>	1R	100	4		–	4
<i>d400449</i>	1R	101	4		–	4
<i>d389911</i>	1R	101	5		–	4
<i>Xpr240L1000</i>	1R	102	3		–	4
<i>d505185c1R</i>	1R	104	4		–	4
<i>d399789c1R</i>	1R	104	4		–	4
<i>d506666c1R</i>	1R	104	4		–	4
<i>d401246c1R</i>	1R	104	4		–	4
<i>d347184c1R</i>	1R	104	4		–	4
<i>d508306c1R</i>	1R	104	4		–	4
<i>d509189</i>	1R	106	4		<i>QHe1R-M2</i>	4
<i>d506136c1R</i>	1R	108	5			4
<i>d389677</i>	1R	108	5			4
<i>d401799</i>	1R	108	5			4
<i>d506830</i>	1R	108	4			4
<i>d509169</i>	1R	109	3			4
<i>Xpr57L1900</i>	1R	123	2			–
<i>d120224c2R</i>	2R	46	5	<i>QPhs2R-M2</i>	–	3
<i>d121235c2R</i>	2R	46	5		–	3
<i>d401657c2R</i>	2R	46	5		<i>QHe2R-L3</i>	3
<i>d400975c2R</i>	2R	46	5			3
<i>d399784c2R</i>	2R	46	5			3
<i>d400854c2R</i>	2R	46	5			3
<i>d389322c2R</i>	2R	46	5			3
<i>d401519c2R</i>	2R	46	5			–
<i>d389974c2R</i>	2R	47	2		–	3
<i>d389862c2R</i>	2R	47	4		–	3
<i>d347664c2R</i>	2R	46	4	<i>QHe2R-L3</i>	2	
<i>d506245c2R</i>	2R	46	4		2	
<i>d345119c2R</i>	2R	46	4	–	2	
<i>d505389c2R</i>	2R	46	6	<i>QPhs2R-M3</i>	–	2
<i>d347771</i>	2R	53	6		<i>QHe2R-M1</i>	5
<i>d402364c2R</i>	2R	53	6			5
<i>Xpr181L1200c</i>	2R	54	5			4
<i>d505627</i>	2R	56	5			5
<i>d508471</i>	2R	55	5			5

Tabela 20. Markery molekularne wykazujące w teście *F* istotny związek z porastaniem i wczesnością, obecne w granicach QTL, z uwzględnieniem liczby powtórzeń ocen fenotypowych, w których wykazano istotność markera (cd.)

Marker	Chromosom	Pozycja (cM)	Liczba powtórzeń oceny PHS (maksym. 7)	QTL kontrolujący PHS	QTL kontrolujący HE	Liczba powtórzeń oceny HE (maksym. 5)	
<i>d402131</i>	2R	56	5	<i>QPhs2R-M3</i>	<i>QHe2R-M1</i>	5	
<i>d508521c2R</i>	2R	56	5			5	
<i>d411131c2R</i>	2R	56	5			5	
<i>d507035c2R</i>	2R	56	5			5	
<i>d401740</i>	2R	56	5			5	
<i>d347770c2R</i>	2R	60	4			–	5
<i>Xscm031</i>	2R	59	5			–	5
<i>Xscm032</i>	2R	61	1			–	5
<i>d411165</i>	2R	60	2			–	5
<i>d507374c3R</i>	3R	0	4	<i>QPhs3R-M1</i>	–	3	
<i>d401653c3R</i>	3R	2	2		–	2	
<i>d399386c3R</i>	3R	1	3		–	3	
<i>Xpr273L840</i>	4R	31	1	–	<i>QHe4R-M2</i>	3	
<i>d509488c4R</i>	4R	56	1	–	<i>QHe4R-K2</i>	1	
<i>d347800c4R</i>	4R	109	4	–	<i>QHe4R-S2</i>	2	
<i>d121207</i>	5R	40	2	–	<i>QHe5R-M1</i>	5	
<i>d400907</i>	6R	32	3	<i>QPhs6R-M2</i>	<i>QFt6R-S1</i>	1	
<i>d347012</i>	6R	33	1		–	1	
<i>d345433</i>	6R	33	1		–	1	
<i>d390764</i>	6R	32	1		–	1	
<i>Xscsz:980</i>	6R	32	1		–	1	
<i>d402328</i>	6R	32	1		<i>QHe6R-K1, QFt6R-S1</i>	1	
<i>d507862</i>	6R	37	1		–	1	
<i>d508061c7R</i>	7R	67	1		<i>QPhs7R-M1</i>	<i>QHe7R-M1</i>	3
<i>d401754</i>	7R	66	1	4			
<i>d508559c7R</i>	7R	67	1	3			
<i>d390593</i>	7R	73	1	–		1	
<i>d401828</i>	7R	73	1	–		1	

6. Dyskusja

6.1. Konstrukcja map genetycznych a mapowanie QTL

Prawidłowa lokalizacja QTL dowolnych cech zależy od wielu czynników. Jednym z nich jest jakość mapy genetycznej, wyrażająca się stopniem pokrycia genomu, zagęszczeniem, jak też właściwą kolejnością markerów. Na te z kolei warunki wpływają: rodzaj użytej populacji mapującej, jej liczebność (Melchinger i in. 1998, Ferreira i in. 2006) oraz dobór technik pozyskiwania markerów. Drugim ważnym elementem jest jakość oceny fenotypowej danej cechy. Nie bez znaczenia są także metody statystyczne wykorzystane w procesie konstrukcji mapy i lokalizacji QTL.

Powszechnym zjawiskiem są różnice między mapami tworzonymi dla różnych populacji tego samego gatunku. Zestawienie map genomu żyta wielu populacji mapujących (Schlegel i Korzun 2008) dostarcza licznych przykładów takich niezgodności. Również w przypadku integracji kilku map genetycznych można obserwować zmiany pozycji markerów na mapach zintegrowanych w stosunku do map wyjściowych (Gustafson i in. 2009, Stojalowski i in. 2009). Brak pełnej analogii w kolejności markerów między czterema mapami obserwowano także w niniejszych badaniach (rys. 1–7). Prawdopodobnie skutecznym, choć nieracjonalnym, sposobem ujednoczenia już skonstruowanych map byłoby zwiększenie liczebności populacji mapujących. Ferreira i in. (2006), badając wpływ typu i liczebności populacji mapującej, ustalili, iż optymalna populacja użyta do utworzenia mapy powinna liczyć 500 genotypów niezależnie od jej typu (pokolenie F_2 lub RIL). Zestaw ten można byłoby zmniejszyć do około 200 w razie konieczności obniżenia kosztów badań. Przedstawione mapy wykonano dla populacji RIL liczących 94–143 rośliny i to zapewne, oprócz drobnych i nieuniknionych błędów genotypowania, stanowi główny powód braku pełnej zgodności w konstrukcji map.

Ponieważ analiza QTL w dużej mierze zależy od jakości mapy, lokalizacja regionów zawierających *loci* kontrolujące badane cechy może także być obciążona pewnymi błędami. Błąd rzędu kilku cM w ustaleniu odległości między markerami może okazać się krytyczny przy określaniu liczby i pozycji QTL. Zdarza się także, że QTL wykryte w dystalnej części chromosomu znajdują się w rzeczywistości w regionie, którego dana mapa nie obejmuje (Hancock i in. 2007).

Stosowanie różnych metod analizy QTL dla tych samych danych również skutkuje różnicami w uzyskiwanej liczbie i lokalizacji *loci* cech ilościowych. Różnice takie obserwowano między wynikami mapowania QTL z zastosowaniem funkcji IM i CIM (Melchinger i in. 1998, Masojć i Milczarski 2009).

Wobec różnorodności czynników wpływających na jakość tworzonych map i wykrywanych QTL oraz licznych, trudnych do uniknięcia błędów w całej procedurze mapowania słuszną wydaje się strategia wykorzystania do analizy QTL wielu zróżnicowanych genetycznie materiałów analizowanych w dużej liczbie powtórzeń. Umożliwia to porównanie ze sobą uzyskanych wyników i wskazanie tych powtarzalnych, a więc najbardziej wiarygodnych.

Jednym z typów populacji mapujących najlepiej nadających się do osiągnięcia tego celu jest populacja rekombinacyjnych linii wsobnych. Ten rodzaj uznano za najbardziej odpowiedni do tworzenia map genetycznych o najlepszej wiarygodności i precyzji niezależnie od tego, czy są stosowane markery dominujące, czy też kodominujące (Ferreira i in. 2006).

Wykorzystywanie do mapowania markerów DArT, samodzielnie lub też wspólnie z markerami innego typu, stwarza możliwość uzyskania bardzo silnie zagęszczonych i rozbudowanych map. Pierwsza mapa żyta utworzona z wykorzystaniem markerów DArT (Bolibok-Brągoszewska i in. 2009) jest mapą o największej łącznej długości (3144,6 cM) i zawierającą największą liczbę *loci* (1818). W porównaniu z najdłuższą mapą żyta skonstruowaną bez użycia technologii DArT (Bednarek i in. 2003) osiągnęła ponaddwukrotnie większą długość, w stosunku zaś do najliczniejszej mapy konsensusowej żyta (Gustafson i in. 2009) zawiera ponad 3,5 razy więcej *loci*.

Mapy skonstruowane w ramach badań opisanych w niniejszej pracy osiągnęły długości 714–1381 cM przy liczebnościach 1292–1625 markerów. Żadna z nich nie dorównała więc pod względem długości i liczebności markerów tej utworzonej przez Bolibok-Brągoszewską i in. (2009). Powodem mniejszych liczebności markerów na przedstawianych mapach mogły być ostrzejsze kryteria selekcji markerów. W pracy opisującej pierwszą mapę żyta, złożoną głównie z markerów DArT, 663 zmapowane markery miały segregacje istotnie odbiegające od modelu jednogennowego.

Bardzo dużą długość tej mapy Bolibok-Brągoszewska i in. (2009) tłumaczyli między innymi charakterem populacji mapującej. Do jej konstrukcji użyto bowiem populacji RIL, którą charakteryzuje zwielokrotniona liczba podziałów mejotycznych, a tym samym większe częstości genotypów pochodzenia rekombinacyjnego w porównaniu z pokoleniem F₂. Długości map żadnej z populacji RIL omawianych w niniejszej pracy nie wykazały takiej prawidłowości. Najkrótsza z map (S) miała długość prawie dwukrotnie mniejszą od najdłuższej mapy żyta populacji F₂ mieszańca Ds2 × RXL10 (Bednarek i in. 2003). Nieco krótsza od niej była także mapa RIL-L uzyskana z tego mieszańca, mimo że zawierała ponad 2,5-krotnie więcej markerów. Wydaje się, że główną przyczyną mniejszych długości map otrzymanych w badaniach opisywanych w niniejszej pracy jest odmienny algorytm użyty przy ich konstruowaniu. Najdłuższe mapy zarówno populacji F₂ (Bednarek i in. 2003), jak i RIL (Bolibok-Brągoszewska i in. 2009) utworzono z użyciem funkcji największego prawdopodobieństwa (ang. *maximum likelihood*), a mapy przedstawione w niniejszej pracy powstały z zastosowaniem funkcji regresji (ang. *regression mapping*). Program JoinMap z funkcją regresji podczas ustalania długości mapy szacuje zależności między wszystkimi parami markerów. Programy wykorzystujące funkcję największego prawdopodobieństwa biorą pod uwagę tylko przyległe *loci*, sumując dystanse między kolejnymi parami markerów (Gustafson i in. 2009), czego skutkiem jest utworzenie dłuższych map.

Mimo zastosowania jednakowego algorytmu do konstrukcji czterech analizowanych map populacji RIL obserwowano znaczne różnice ich długości, pozostające bez korelacji z liczbą markerów. Dłuższe były mapy populacji K i L, krótsze zaś – M i S. Wzrost długości map może być wynikiem zwiększonej liczby cykli rekombinacji, a więc bardziej zaawansowanego poziomu wsobności populacji RIL – K i L. To wyjaśnienie nie tłumaczy jednak

wszystkich obserwowanych różnic, a szczególnie dużych dysproporcji w długościach poszczególnych chromosomów na mapach różnych populacji. Nie zawsze bowiem najdłuższymi grupami sprzężeń były te z map K i L. Z drugiej strony trudno też doszukiwać się uzależnienia długości mapy od stopnia pokrewieństwa linii rodzicielskich, które teoretycznie mogłyby skutkować brakiem polimorfizmu w pewnych obszarach genomu i tym samym niewykryciem ich na konstruowanej mapie. Hipotezie tej przeczy bowiem porównywalna długość map M i S. Obie krótsze mapy utworzono dla populacji wyprowadzonych z takich par linii, z których jedna charakteryzowała się najwyższym (M), a druga (S) najniższym (Myśków i in. 2001, Bolibok-Braęoszewska, informacja ustna) wśród czterech par współczynnikami podobieństwa genetycznego. Także niejednakowa liczebność populacji mapujących nie miała przełożenia na różnice w długościach omawianych map. Trudno wobec tego wskazać jednoznacznie przyczynę ich zróżnicowania. Ponieważ długość mapy genetycznej jest pochodną różnych czynników, właściwe wydaje się podejście przedstawiane przez niektórych badaczy, według których ta cecha jest specyficzna dla konkretnej populacji mapującej i ma znaczenie drugorzędne w stosunku do pozycji markerów względem siebie. Kolejność *loci* jest uważana za bardziej uniwersalną, a tym samym informatywną i najistotniejszą właściwość mapy genetycznej (Korol i in. 2009).

Drugą pod względem liczności grupę markerów stanowią RAPD. Skuteczność w przenoszeniu markerów tego typu między mapą pokolenia F_2 i RIL- F_8 mieszańca $S120 \times S76$ wyniosła 77,8%. Jest to wynik, który mógłby świadczyć o poziomie powtarzalności techniki RAPD, bo odnosi się do tego samego materiału genetycznego i analiz wykonywanych w jednym laboratorium.

Poza jakością mapy sprzężeń dla lokalizacji QTL istotne znaczenie ma prawidłowość oceny fenotypowej badanej cechy. Ponieważ analiza dotyczy cech wielogenowych o dużej wariancji, ważne jest, aby scharakteryzować cechy, jak najpełniej oddając ich zmienność.

6.2. Metody oceny wczesności

W badaniach zmierzających do wykrycia QTL genetycy często poszukują łatwych sposobów identyfikowania fenotypów lub genotypów (Hay i Ellis 1998). W badaniach przedstawionych w niniejszej pracy w celu oceny wczesności kłoszenia posłużono się głównie skalą dziewięciostopniową, ale sprawdzono także poziom korelacji tego parametru z dwoma innymi – z terminem kłoszenia i terminem kwitnienia. Uzyskano istotną statystycznie ujemną zależność między dwoma sposobami określania czasu kłoszenia (HE, HD), o wartościach od $-0,87$ do $-0,91$. Wartości te przewyższały wszystkie wartości współczynników korelacji wyliczone dla porównania oceny cechy z różnymi latami z użyciem tej samej metody (skali dziewięciostopniowej). Zróżnicowanie między wartościami cechy wynikające ze sposobu oceny jest więc mniejsze niż to wynikające z wpływu czynników środowiska. Jest także mniejsze od różnic między ocenami terminu kłoszenia i terminu kwitnienia (wartości współczynników korelacji wynoszące $0,59-0,72$), uznawanych często za cechy równoważne przy ocenie wczesności.

W literaturze określa się termin kwitnienia jako cechę o wysokiej odziedziczalności, mimo natury ilościowej, kontrolowanej przez geny o mniejszych efektach (Kato i in. 2001). W przypadku pszenicy uzyskiwano współczynniki odziedziczalności w wąskim sensie dla czasu kwitnienia i dojrzewania w granicach 60–86% (Iqbal i in. 2007), a w innych badaniach dotyczących terminu kłoszenia pszenicy – 94% (Xu i in. 2005). Badania omawiane w niniejszej pracy ukazują silny wpływ warunków zewnętrznych. Korelacja między oceną cechy u czterech różnych mieszańców w trzech lub czterech latach wyniosła nie więcej niż 0,77. Najniższe wartości (0,26–0,33) odnotowano dla oceny HE w populacji S120 × S76; wszystkie odnosiły się do zestawień z jedyną oceną z 2007 roku. W tym wariancie doświadczenia oceniono niewielką liczbę roślin, co było spowodowane splotem niekorzystnych czynników środowiska, który doprowadził do osłabienia rozwoju znacznej części populacji mapującej. Niskie współczynniki korelacji dla tego powtórzenia mają więc także uzasadnienie w odmiennych warunkach zewnętrznych doświadczenia w porównaniu z innymi latami badań. Pozostałe współczynniki korelacji wahały się w granicach 0,42–0,77. Dla porównania w badaniach pszenicy obejmujących trzy lata uzyskano wyniki w zakresie 0,70–0,89 (Xu i in. 2005).

6.3. Metody oceny porastania przedźniwnego

Pierwszym aspektem analizy przedźniwnego porastania jest dobór odpowiedniego parametru oceny. Za najbardziej wiarygodny wskaźnik tolerancji na PHS uważany jest przez niektórych autorów parametr GI, odzwierciedlający głębokość spoczynku (Shorter i in. 2005, za: Imtiaz i in. 2008). Przy wyznaczaniu indeksu kiełkowania ocenia się wymłócone ziarniaki poddawane prowokacji na szalkach. Ta metoda nie pozwala więc na ocenę wpływu na porastanie innych czynników, niezwiązanych bezpośrednio z ziarniakami, ale wpływających na pochłanianie przez nie wody. Chodzi o parametry związane z budową kłosa, takie jak stopień wyprostowania/ przewieszenia kłosa, jego zbitość czy długość ości, a także struktura wosków epikutikularnych. Istnienie korelacji między wymienionymi cechami a porastaniem omawiano w kilku pracach (King i Richards 1984, za: Burt 2008, King i von Wettstein-Knowles 2000). Te cechy zostają uwzględnione przy zastosowaniu zraszania całych kłosów, ustawionych w pozycji pionowej. Takie wymaganie metodyczne leży u podstaw wyznaczania wskaźników SI i VI. Oba te parametry są istotnie skorelowane z GI (Imtiaz i in. 2008).

Ponieważ skłonność do PHS jest zróżnicowana nawet w obrębie jednego kłosa (Gale i in. 1987, za: Burt 2008, Munck 1987, za: Burt 2008), to parametr SI, oparty na ocenie całych kłosów, także nie oddaje w pełni skali zjawiska. Dopiero ocena porośnięcia poszczególnych ziarniaków po wymłóceniu z kłosów poddanych uprzednio zraszaniu (VI) czyni analizę porastania pełniejszą. Chociaż i ten sposób nie jest wolny od wad, gdyż nie pozwala na wykrycie ziaren, w których proces kiełkowania się rozpoczął, ale nie jest jeszcze dostrzegalny gołym okiem. Następnym krokiem może być ocena aktywności α -amylazy w ziarnach lub liczba opadania, ale te parametry są już traktowane jako pośredni sposób analizy porastania.

Kolejnym elementem oceny jest dobór puli genotypów reprezentatywnej dla zmienności cechy. W badaniach opisanych w niniejszej pracy minimalną wielkość próby wyliczono

na podstawie wariancji wartości PHS dla czterech linii wsobnych żyta. Chodziło o ustalenie takiej liczby badanych obiektów, która oddawałaby pełen zakres zmienności w danej linii RIL. Gdyby przyjąć za dopuszczalny poziom błędu 5%, liczebność ta wynosiłaby 20–48 w zależności od badanej linii. Wyniki uzyskane dla liczby ziaren w kłosie były niższe i wahały się w zakresie 3–11. Świadczy to o dużo większej zmienności porostania w porównaniu z liczbą ziaren w kłosie, ale także o przypuszczalnie mniejszej precyzji metody oceny. Uzyskane wyniki wskazują też na wpływ wyrównania i homozygotyczności linii. Dla dwóch linii, S120 i S76, charakteryzujących się wyższym poziomem wsobności (S_{18} i S_{16}), minimalna liczebność próby była niższa (20–23) od ustalonej dla linii M12 i M12bw (43–48) mniej zaawansowanych w chowie wsobnym (S_6). Liczbę kłosów optymalną do poprawnej oceny porostania można zmniejszyć do 5–13, zakładając zwiększenie dopuszczalnej granicy błędu analizy do 10%.

Żmudny i czasochłonny sposób analizy PHS w całej populacji mapującej sprawia, że trudno spełnić kryterium wymaganej liczebności próby, nawet przy założeniu zwiększenia dopuszczalnego poziomu błędu. Zapewne z tego powodu metodyka badań różnych zespołów zakładała użycie do analiz porostania niewielkiej liczby kłosów. Ren i in. (2008), analizując populacje F_2 i RIL pszenicy, oceniali trzy kłosa, Liu i in. (2008) badali po pięć kłosów każdej rekombinacyjnej linii wsobnej, także pszenicy, a w badaniach nad żytem Masojca i in. (2007) oceniano po trzy kłosa poszczególnych linii RIL.

Mniejsza dokładność oceny cechy może być źródłem mniejszej precyzji w lokalizacji QTL. Często stosowanym sposobem na zwiększenie wiarygodności wyników jest łączenie danych z kilku lat badań. Dla większości genotypów populacji RIL analiza z zastosowaniem średniej wartości ze wszystkich powtórzeń oceny porostania obejmowała 17–20 kłosów na genotyp, a analiza z uwzględnieniem wyników doświadczenia z kłosami poddanymi obcozapyleniu 22–25 kłosów na genotyp. Podczas analizy QTL, mimo mniejszej liczebności prób, nie zrezygnowano także z poszukiwania QTL dla poszczególnych powtórzeń doświadczenia. Nie można bowiem jednoznacznie stwierdzić, czy źródłem różnic w pozycjach wykrytych regionów była losowa zmienność wynikająca z błędów metody, czy zmienność zależna od warunków środowiska. W pewnych warunkach otoczenia możliwe jest bowiem aktywowanie lub blokowanie działania niektórych genów. Tym samym analiza przeprowadzona na podstawie wyników średnich z różnych lat pozwala z większą precyzją zlokalizować geny aktywne corocznie, ale może doprowadzić do niewykrycia QTL, które ujawniają swój efekt fenotypowy tylko w określonym środowisku.

Dotychczasowe analizy QTL porostania przedźniwnego u żyta prowadzono na podstawie oceny kłosów poddawanych samozapyleniu (Myśków i in. 2004, Masojć i Milczarski 2005, Twardowska i in. 2005, Masojć i in. 2007, Masojć i in. 2009, Masojć i Milczarski 2009, Myśków i in. 2010). W badaniach przedstawionych w niniejszej pracy podjęto próbę ustalenia wpływu obcozapylenia na ocenę porostania i wyniki analizy QTL.

Wprowadzenie tego elementu metodycznego mogłoby pozwolić naświetlić dwa aspekty dziedzicznego podłoża skłonności do porostania. Podatność na porostanie jest wypadkową wielu różnych cech, z których część jest warunkowana genotypem rośliny matecznej (morfologia kłosa), a część genotypem rośliny potomnej (procesy metaboliczne zachodzące w za-

rodku). Przy analizie materiałów roślinnych o zaawansowanym poziomie chowu wsobnego badaniom są poddawane genotypy prawie identyczne. Wprowadzenie obcozapylenia sprawia, że genotyp rośliny potomnej różni się od matecznej. QTL charakterystyczne tylko dla kłosów pochodzących ze swobodnego przepylecia mogą wskazać regiony genomu silniej zaangażowane w procesy inicjujące kiełkowanie przebiegające w zarodku.

Kolejny aspekt zastosowania obcozapylenia to wprowadzenie do badanych materiałów heterozygotyczności, która jest dla roślin obcopolnych stanem naturalnym. To podejście pozwala więc połączyć zalety zarówno pokolenia F₂, reprezentującego szersze spektrum genotypów, jak i RIL, co umożliwia powtarzanie analiz dla dużej liczby roślin. Może to pomóc ujawnić *loci*, które niezależnie od układu alleli (homo- lub heterozygotycznego), mają najsilniejszy wpływ na daną cechę. Taki typ analizy jest pełniejszy, bo obejmuje szersze tło genetyczne, przez co może okazać się bardziej prawidłowy w przypadku lokalizacji QTL.

Różnice w ocenie porostania wynikające z zastosowania lub niezastosowania samozapylenia wahały się, w zależności od rodzaju testu statystycznego i od materiałów, w granicach 15–32%. Oceniając populację mapującą RIL mieszańca S120 × S76 z uwzględnieniem jej podziału na dwie kategorie, stwierdzono 21% genotypów, dla których wykazano istotne różnice. W większości przypadków (100 na 140 w całej populacji i 26 na 30 w grupie z istotnymi różnicami) obcozapylenie wpłynęło na zwiększenie udziału porośniętych ziaren. Tę tendencję potwierdziło porównanie średnich wartości cechy dla różnych lat i powtórzeń. Najwyższą wartość wykazano dla powtórzenia z kłosami niezabezpieczonymi przed obcozapyleniem. Trudno jednak wnioskować o zwiększonej podatności linii wsobnych poddanych przepyleciu na porostanie przedziwnie. To zjawisko mogło być wynikiem zwiększenia wigoru kiełkowania ziaren o genotypach heterozygotycznych. Konieczne byłoby wykonanie doświadczenia mającego na celu zweryfikowanie wigoru i zdolności kiełkowania po okresie spoczynku, co mogłoby potwierdzić powyższe wyjaśnienie.

Interesujące wydają się wyniki porównania ocen fenotypowych porostania z różnych lat i wariantów doświadczeń wykonane dla populacji mapującej. Wśród współczynników korelacji najwyższą wartość osiągnął ten wykazujący zależność między analizą wykonaną w tym samym roku na kłosach poddanych samo- i obcozapyleniu. Wartość ta była wyższa nawet od zależności między dwoma wariantami doświadczenia prowadzonymi w tym samym roku dla kłosów wyłącznie izolowanych, ale pobranych z dwóch różnych stanowisk. To wskazywałoby na mniejszy wpływ na ocenę cechy sposobu zapylenia roślin niż innych czynników środowiska.

6.4. Lokalizacja QTL wczesności

6.4.1. Wprowadzenie

Analiza QTL z wykorzystaniem map genetycznych czterech populacji mapujących pozwoliła na wykrycie regionów związanych z kontrolą wczesności kłoszenia na wszystkich siedmiu chromosomach. Potwierdza to wielogenowy charakter cechy wykazany u pszenicy

i jęczmienia, a także pozwala uzyskać pełniejszy obraz obszarów genomu żyta kontrolujących wczesność.

Dotychczas na mapach żyta lokalizowano geny związane z terminem kłoszenia lub kwitnienia na chromosomach: 2R (Börner i in. 2000, Korzun i in. 2001), 4R (Masojć i Milczarski 1999), 5R (Plaschke i in. 1993, Börner i in. 2000, Korzun i in. 2001), 6R (Stojałowski i Łapiński 2002) oraz 7R (Börner i in. 2000, Korzun i in. 2001, Stojałowski i Łapiński 2002). Nie odnotowano jak dotąd QTL wczesności w pierwszej i trzeciej grupie sprzężeń.

6.4.2. Geny odpowiedzi na wernalizację, chromosom 5R

Główne geny warunkujące reakcję roślin na wernalizację znajdują się w piątej grupie homeologicznych chromosomów pszenicy, jęczmienia i żyta (Law 1966, De Vries i Sybenga 1984, za: Plaschke i in. 1993, Laurie i in. 1994, Laurie i in. 1995, za: Laurie 1997, Nelson i in. 1995, Snape i in. 2001, Whitechurch i Snape 2003, Efremova i in. 2006). W badaniach omawianych w niniejszej pracy chromosomom 5R okazał się wyjątkowy pod względem liczebności wykrytych *loci* badanych cech ilościowych. Na zagęszczonych mapach trzech populacji RIL wykryto zaledwie po jednym QTL wczesności kłoszenia. Nie udało się wykazać homologii między tymi regionami. Trudno jednak przesądzać, że są to rzeczywiście niezależne obszary genomu ze względu na znaczne niezgodności w kolejności markerów tej grupy sprzężeń u różnych mieszańców (rys. 5).

W badaniach Masojcia i Milczarskiego (1999) dotyczących QTL wczesności kłoszenia na mapie populacji Ds2 × RXL10 w pokoleniu F₅ wykryto na chromosomie 5R region oznaczony jako *Hd2*. Krzywa istotności tego QTL osiągała maksimum w punkcie odpowiadającym markerowi RFLP – *psr426*, co wskazuje pośrednio na związek *Hd2* z genem *Sp1* (Plaschke i in. 1993), należącym do grupy genów kontrolujących wrażliwość na wernalizację, oznaczanym obecnie jako *Vrn-R1* (Efremova i in. 2006). *Psr426* na mapie F₃ P × MK był markerem najsilniej sprzężonym z *Sp1* (Plaschke i in. 1993). Brak na mapie RIL populacji Ds2 × RXL10 *locus Xpsr426* oraz zaburzone kolejności markerów w porównaniu z mapą F₂ nie pozwalają na określenie, czy *QHe5R-L1* jest homologiczny do *Hd2* i jednocześnie *Vrn-R1*. Natomiast układ *loci* na mapie populacji S120 × S76 pozwala przypuszczać, że *QHe5R-M1* stanowi region, w którym jest zlokalizowany *locus* tożsamy z *Vrn-R1*. Ten QTL znajduje się bowiem między markerem *d508460* a *XAmy3n2*. Marker DArT, wspólny dla map RIL-L i RIL-M, na mapie RIL-L sąsiaduje z *Xapr5n5*, a ten z kolei na mapie F₂ populacji Ds2 × RXL10 jest sprzężony z *psr426*.

Wykrycie QTL, którego pozycja odpowiada genowi głównemu, nie jest zjawiskiem wyjątkowym. Niektórzy badacze postulują, że wiele, o ile nie wszystkie, QTL i geny główne są tylko allelami tych samych *loci* (Robertson 1985, za: Börner i in. 1998). Argumentem na poparcie tej hipotezy było na przykład mapowanie QTL wysokości roślin u ryżu. Pozycje większości QTL ustalone dla populacji nieodróżnicowanych pod względem głównych genów wysokości były zgodne z lokalizacjami genów karłowatości i półkarłowatości (Huang i in. 1996). Podobną prawidłowość obserwowano w odniesieniu do genu karłowatości i QTL wysokości roślin u żyta (Börner i in. 2000, Korzun i in. 2001, Milczarski 2010).

Wykrycie QTL wczesności kłoszenia zawierającego geny odpowiadające za reakcję na wernalizację jest więc możliwe mimo wykorzystania w badaniach materiałów o tym samym typie rozwoju (obie linie rodzicielskie były ozime). Jest więc prawdopodobne, że *QHe5R-M1* zawiera *loci* związane z wrażliwością na okres zimowych chłódów.

6.4.3. Geny odpowiedzi na fotoperiod, chromosom 2R

Główne *loci* warunkujące odpowiedź na fotoperiod zmapowano na krótkim ramieniu drugiej grupy chromosomów pszenicy (Law i in. 1978, Scarth i Law 1983, Islam-Faridi i in. 1996, Cockram i in. 2007, Lewis i in. 2008, Lin i in. 2008) i jęczmienia (Laurie i in. 1994, Laurie i in. 1995, za: Laurie 1997, Snape i in. 2001, Lin i in. 2008). Obecnie przyjmuje się jako oznaczenia tych genów symbole: *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* i *Ppd-H1*. Podobnie jak w przypadku genów reakcji na wernalizację, także dla *loci* reakcji na fotoperiod wykrywano QTL wczesności w odpowiadających im obszarach (Xu i in. 2005, Kuchel i in. 2006, Maccaferri i in. 2008).

Porównanie map jęczmienia i pszenicy z zytinami w rejonie genu *Ppd* jest możliwe jedynie dzięki obecności *loci* *Xpsr109* i *Xpsr666* (Laurie 1997, Worland i in. 1998) na mapie F₂ mieszańca Ds2 × RXL10 i sprzężonych z nimi *loci* RAPD – *Xapr2n5* i *Xapr2n10* (Bednarek i in. 2003). Wymienione markery RAPD są także obecne na mapie RIL-L, mają jednak względem siebie odwrócone pozycje i dzieli je większy dystans. Przez to nie można rozstrzygnąć, czy i który z pięciu QTL wczesności (*QHe2R-L1–QHe2R-L5*) może stanowić rejon zawierający geny odpowiedzi na fotoperiod.

Z większym prawdopodobieństwem można uznać za tożsamy z regionem kontrolującym wczesność *per se* (Laurie 1997) *locus* *QHe2R-L7*. Jest on bowiem sprzężony z markerami *Xpsr130* i *Xapr2n11*, stanowiącymi punkty wspólne wymienianych powyżej map.

U żyta zmapowano dotychczas QTL wczesności kwitnienia (*Gg/Ft*) na chromosomie 2R, w pobliżu *locus* *psr609* (Börner i in. 2000). Obecność sprzężonego z nim *locus* *Xapr2n1*, zarówno na mapie F₂, jak i RIL mieszańca Ds2 × RXL10, pozwala przypuszczać, że *QHe2R-L9* wykryty na mapie RIL-L może być regionem homologicznym do znanego już wcześniej QTL *Gg/Ft*.

Duża liczba QTL na chromosomie 2R mapy RIL-L (dziewięć) wyróżnia się na tle innych map. Analizy cechy u pozostałych trzech mieszańców pozwoliły na zmapowanie trzech–czterech regionów. Sama mapa 2R populacji RIL-L jest także znacznie dłuższa od pozostałych (rys. 2). Tak liczna reprezentacja QTL może wynikać z charakteru populacji mapującej (odrębnej pochodzeniowo od trzech pozostałych). Dziewięć regionów zawierających *loci* determinujące termin kłoszenia nie wydaje się liczbą wyjątkowo dużą w zestawieniu z wynikami uzyskanymi dla linii DH u pszenicy (Hanocq i in. 2003, za: Hanocq i in. 2007). Na chromosomach 2B i 2D zmapowano, odpowiednio, 21 i 23 QTL wczesności.

6.4.4. QTL wczesności zidentyfikowane u żyta, chromosomy 4R, 6R, 7R

Chromosom 4R

U żyta na czwartym chromosomie zmapowano QTL wczesności kłoszenia (*Hd1*) w populacji F₅ mieszańca Ds2 × RXL10 (Masojć i Milczarski 1999). Był on sprzężony z markerem *Xpsr681*. Na mapie RIL-L nie zlokalizowano tego markera, ale zmapowano dwa flankujące go markery RAPD – *Xapr4n3* i *Xapr4n4*. Pozwala to przypuszczać, że *loci Hd1* i *QHe4R-L1* są ze sobą tożsame. Za taką hipotezą przemawiają też parametry obu QTL. Wiarygodność *QHe4R-L1* potwierdziła między innymi liczba powtórzeń, w których został wykryty – pięć razy w populacji L i dwa razy w populacji S (jako *QHe4R-S1*). Poziom istotności tego QTL we wszystkich wariantach przekraczał 2,50, a w jednym z powtórzeń wyniósł aż 5,57. Ta wartość LOD była najwyższa wśród wszystkich uzyskanych dla QTL wczesności. *Hd1* zmapowany w pokoleniu F₂ także charakteryzował bardzo wysoki poziom LOD (8,4). Parametry R² osiągnęły wartości do 25,4 na mapie RIL i 32,8 na F₂, allel zaś warunkujący przyspieszenie kłoszenia w obu przypadkach pochodził od linii RXL10 i siła jego działania wynosiła około jednego stopnia (Masojć i Milczarski 1999).

Pozostałe regiony wykryte na mapach chromosomu 4R populacji RIL wykazywały nieco słabsze efekty i żaden nie został wytypowany w więcej niż jednym powtórzeniu.

Chromosom 6R

Prawdopodobną lokalizację QTL terminu kłoszenia na chromosomie 6R żyta odnotowano dla populacji F₂ mieszańca 544 × Ot0-20 (Stojałowski i Łapiński 2002). QTL zmapowano w grupie sprzężeń złożonej z dwóch markerów, z których jeden (*pr139-750 = Xapr6n1*) zlokalizowano także na szóstym chromosomie w populacji Ds2 × RXL10 zarówno pokolenia F₂, jak i populacji RIL. W odległości niespełna 2 cM od *Xapr6n1* na mapie RIL-L znajduje się marker DArT – *d401305c6R*. Ten *locus* w populacji RIL-S określono jako najsilniej sprzężony z QTL terminu kwitnienia *QFt6R-S1*. Pojawił się także na mapie populacji RIL-K w bliskim sąsiedztwie QTL wczesności kłoszenia *QHe6R-K1*. Jego obecność w tych regionach sugeruje, że mogą to być obszary potwierdzające lokalizację *loci* kontrolujących wczesność, wykrytych uprzednio u mieszańca 544 × Ot0-20.

Chromosom 7R

Czwarty i zarazem ostatni z QTL czasu kwitnienia, opisany przez zespół Börnera (2000), zmapowano na siódmym chromosomie. Chociaż wcześniej u jęczmienia i pszenicy w siódmej grupie obserwowano *loci* związane z odpowiedzią na wernalizację i/lub wczesność *per se*, autorzy uznali ten obszar u żyta za związany z reakcją na fotoperiod. Wykryto go bowiem tylko w warunkach długiego dnia i nadano mu oznaczenie *N/Long photoperiod flowering time*. Zajmował większą część chromosomu, bo aż 97 cM, a punkt odpowiadający maksimum krzywej istotności QTL zlokalizowano w pobliżu markera *Xpsr59*, sprzężonego z innym markerem RFLP – *Xpsr303*. Ten ostatni *locus* zmapowano także na mapie F₂ mieszańca Ds2 × RXL10 w sąsiedztwie *Xapr7n6* (Bednarek i in. 2003). Obecność *Xapr7n6* na mapie RIL-L, w odległości około 2 cM od *QHe7R-L1*, pozwala przypuszczać, że ten QTL jest toż-

samy z *N/Long photoperiod flowering time*. Lokalizacja *Xapr7n6* wskazuje także na analogię omawianego regionu z QTL terminu kłoszenia wykrytym w innej populacji mapującej żyta (Stojałowski i Łapiński 2002).

Długość QTL zidentyfikowanego przez Börnera i in. (2000) sugeruje obecność w tym rejonie więcej niż jednego *locus* kontrolującego cechę. Nie można wykluczyć, że na tym chromosomie znajdują się geny wszystkich trzech typów kontroli przechodzenia roślin z fazy wegetatywnej do generatywnej, a więc związane z reakcją na fotoperiod i wernalizację oraz gen wczesności *per se*. Najprawdopodobniej stan mapy zespołu Börnera (2000) nie pozwalał na wyodrębnienie różnych w istocie QTL. Potwierdzić to mogą przedstawione tu wyniki analizy QTL wczesności na chromosomie 7R. Na każdej z czterech map populacji RIL wykryto po trzy regiony zawierające *loci* wczesności. Łączna długość fragmentu chromosomu, liczona od końców proksymalnego i dystalnego skrajnych QTL, na żadnej z map nie przekroczyła długości 97 cM (wynosiła na kolejnych mapach: 93, 26, 95 i 32 cM). Wszystkie te regiony mogły więc odpowiadać pozycji pojedynczego QTL (Börner i in. 2000), a zostały rozróżnione dzięki większej rozdzielczości silnie zagęszczonych map populacji RIL.

6.4.5. Nowe QTL wczesności u żyta, chromosomy 1R i 3R

Nie stwierdzono jak dotąd u żyta obecności genów i QTL wczesności na chromosomach 1R i 3R. Jednak badania jęczmienia i pszenicy wskazywały na zaangażowanie *loci* z tych grup sprzężeń w kontrolę zmiany faz rozwoju roślin. W pierwszej grupie chromosomów wykrywano *loci* warunkujące wczesność, zależne od fotoperiodu, a także niezwiązane z reakcją na temperaturę czy światło (Suarez i in. 1996, za: Worland i in. 1998, Law i in. 1998, Buck-Sorlin i Börner 2001, Kikuchi i in. 2009). Najlepiej poznanym *locus* związanym z wczesnością *per se* jest *EpsA^{m1}*, zmapowany w genomie pszenicy diploidalnej (Bullrich i in. 2002, Válarik i in. 2006, Lewis i in. 2008, Faricelli i in. 2010). Również na chromosomach 3A i 3D lokalizowano *loci* związane zarówno z odpowiedzią na fotoperiod, jak i z wczesnością *per se* (Zemetra i Morris 1988, Miura i in. 1999, Válarik i in. 2006, Cockram i in. 2007, Lin i in. 2008).

W badaniach tu omawianych na chromosomie 1R zmapowano po trzy QTL w populacji RIL-K i RIL-L oraz po pięć regionów w populacji RIL-M i RIL-S. Na tej ostatniej mapie trzy QTL zawierały *loci* kontrolujące termin kwitnienia, dwa zaś – wczesność kłoszenia. Ponieważ część QTL stanowiły fragmenty chromosomów wspólne dla dwóch lub trzech mieszańców, łącznie wykryto najprawdopodobniej 10 różnych obszarów. Istnieje prawdopodobieństwo, że któryś z nich stanowi rejon synteniczny do wykrytych uprzednio u pokrewnych gatunków. Większości nie można było porównać ze względu na brak informacji o markerach mogących posłużyć za punkty odniesienia na mapach jęczmienia, pszenicy i żyta.

W trakcie badań przedstawionych w niniejszej pracy podjęto próbę lokalizacji na mapach żyta markerów sprzężonych z pszenicznym *locus EpsA^{m1}* (Válarik i in. 2006). Udało się to jedynie w odniesieniu do markera *Xwg241*, zmapowanego w dystalnej części długiego ramienia chromosomu 1R, a więc prawdopodobnie w obszarze homeologicznym do tego z *T. monoccoccum*. Powyżej omawianego markera, w odległości około 9 cM, wykryto QTL

wczesności, oznaczony jako *QHe1R-M5* (rys. 1). Nie daje to jednak pewności co do lokalizacji w tym rejonie *locus* homeologicznego do *EpsA^{m1}*, ponieważ ten był zlokalizowany dystalnie, a nie proksymalnie w stosunku do *Xwg241* (Válarik i in. 2006).

W pozycji proksymalnej do *Xwg241*, lecz oddalonej o ponad 60 cM zmapowano na chromosomie 1H jęczmienia *locus* odpowiedzialny za reakcję na warunki fotoperiodu – *Ppd-H2* (Laurie i in. 1995, za: Laurie 1997). Był on zlokalizowany między markerami *psr162* a *bcd304*. Na mapach RIL-K i RIL-M, na których był obecny marker *Xbcd304*, wykryto powyżej niego regiony *QHe1R-K3* i *QHe1R-M4*. Być może są to QTL odpowiadające *Ppd-H2*.

Podobnie jak we wcześniejszych badaniach wczesności u żyta, również w badaniach omawianych w niniejszej pracy nie wykryto żadnego QTL regulującego HE na mapie chromosomu 3R populacji RIL-M. Natomiast u mieszańca RIL-S zlokalizowano trzy regiony (jeden warunkujący HE i dwa kontrolujące FT), a u pozostałych dwóch – po pięć regionów, zawierających *loci* związane z wczesnością kłoszenia. QTL z trzeciej grupy sprzężeń nie udało się porównać z wynikami analiz prowadzonych u innych gatunków należących do *Triticeae* ze względu na brak informacji o markerach wspólnych dla różnych map.

6.5. Najważniejsze QTL wczesności

Wiele *loci* wczesności z chromosomów 1R i 3R, mimo niewykrycia we wcześniejszych badaniach u żyta, charakteryzowało się powtarzalnością i wysokimi wartościami parametrów opisujących QTL. Poziom LOD powyżej 4,0 uzyskano ogółem dla dziewięciu regionów, w tym dla trzech z grup sprzężeń 1R i 3R: *QHe1R-M2*^{*}, *QHe1R-M3* i *QHe3R-S2*. Wartości R^2 powyżej 20% osiągnęło 13 QTL, w tym 3 z chromosomu 1R i 5 z 3R (*QHe1R-L1*, *QHe1R-L2*, *QHe1R-L3*, *QHe3R-L1*, *QHe3R-L2*, *QHe3R-L4*, *QHe3R-L5* i *QHe3R-S2*). QTL, których allele podnosiły lub obniżały wartość cechy w przybliżeniu o jeden–dwa stopnie w skali oceny wczesności, to: *QHe1R-L1*, *QHe1R-L2*, *QHe1R-L3*, *QHe3R-L1*, *QHe3R-L2*, *QHe3R-L3* i *QHe3R-L4*. Zestawienie obszarów genomu, które wykryto w trakcie mapowania CIM co najmniej trzykrotnie, przedstawia tab. 21.

Wśród siedmiu QTL, których lokalizację można uznać za potwierdzenie wcześniejszych badań, najbardziej znaczące wydają się być regiony z grup 4R i 6R (tab. 21). *QHe4R-L1* wystąpił w siedmiu powtórzeniach (dwukrotnie jako *QHe4R-S1*), a *QHe6R-K1* dziewięciokrotnie (trzykrotnie jako *QFt6R-S1*, raz jako *QHe6R-M1*). Najbardziej powtarzalne *loci*, wyznaczone w siedmiu wariantach doświadczeń, o lokalizacji prawdopodobnie wykrytej po raz pierwszy, pochodziły z chromosomu 1R i 2R (tab. 21).

* Pogrubioną czcionką oznaczono regiony, które wykryto co najmniej dwukrotnie.

Tabela 21. Zestawienie najważniejszych QTL warunkujących wczesność ze względu na liczbę powtórzeń, w których zostały wykryte

QTL	Liczba powtórzeń ogółem (w czterech populacjach)	Obecność na innych mapach	LOD > 4	R ² > 20%	a > 0,9 lub a < -0,9
<i>QHe1R-K3, QHe1R-M4, QHe1R-S2</i>	3	-	-	-	-
<i>QHe1R-L3, QHe1R-M2, QHe1R-S1</i>	7	-	+	-	-
<i>QHe1R-M1, QHe1R-K1</i>	4	-	-	-	-
<i>QHe1R-M3</i>	3	-	+	+	+
<i>QHe2R-L5</i>	3	-	+	-	-
<i>QHe2R-L6, QHe2R-M2</i>	5	-	+	+	+
<i>QHe2R-M1, QHe2R-L4</i>	7	-	-	+	+
<i>QHe2R-S1, QHe2R-L8</i>	4	-	-	+	+
<i>QHe3R-L1, QHe3R-S1</i>	4	-	-	+	+
<i>QHe3R-L2, QFt3R-S1</i>	5	-	-	+	-
<i>QHe3R-L4</i>	5	-	-	+	+
<i>QHe3R-L5, QHe3R-K3</i>	3	-	-	+	-
<i>QHe4R-L1, QHe4R-S1</i>	7	+	-	-	+
<i>QHe6R-K1, QHe6R-M1, QFt6R-S1</i>	9	+	-	-	-
<i>QHe6R-K2</i>	3	-	-	-	-
<i>QHe6R-L1, QHe6R-K3, QHe6R-M2, QHe6R-S1</i>	9	-	-	-	+
<i>QHe6R-L2</i>	3	-	-	-	+
<i>QHe7R-K1, QHe7R-S1</i>	5	-	-	-	-
<i>QHe7R-L1, QHe7R-M2</i>	2	+	-	-	+
<i>QHe7R-M1</i>	3	-	-	-	+

6.6. Zależność między wczesnością kłoszenia a terminem kwitnienia

Porównanie wczesności kłoszenia i terminu kwitnienia, ocenionych w trzech kolejnych latach dla mieszańca 541 × 2020LM, wykazało korelację na poziomie od -0,65 do -0,72. Można uznać te wartości za wysokie, zważywszy, że w wyniku porównania średnich wartości wczesności kłoszenia w poszczególnych populacjach mapujących w różnych latach badań uzyskano wartości współczynników korelacji wahające się w granicach 0,42–0,77.

Analiza QTL przeprowadzona dla mieszańca 541 × 2020LM pozwoliła na wykrycie 15 regionów związanych z kontrolą wczesności kłoszenia i 6 regulujących termin kwitnienia. Na mapie tej populacji pokrywała się jedynie lokalizacja *QHe7R-S2* i *QFt7R-S1* z chromosomu 7R. Regionami zawierającymi *loci* warunkujące zarówno kwitnienie, jak i kłoszenie były też dwa QTL terminu kwitnienia mające swoje odpowiedniki na mapach innych populacji. *QFt6R-S1* był tożsamy z regionami *QHe6R-K1* i *QHe6R-M1* (rys. 6), a *QFt3R-S1* z *QHe3R-L2* (rys. 3). W wyniku analizy statystycznej istotności związku cechy z segregacjami poszczególnych markerów molekularnych (test *F*) stwierdzono, że łączna liczba *loci* istotnych jednocześnie dla obu cech wyniosła 193, a więc 67,5% *loci* wykrytych dla czasu kwitnienia.

Wyniki te wskazują, że może istnieć częściowa współzależność genetycznej kontroli procesu kłoszenia i kwitnienia. Interesujące jest, że niewielka liczba pokrywających się QTL kontrolujących HE i FT nie odzwierciedla wysokiego współczynnika korelacji między oboma cechami. Prawdopodobnie liczba *loci* warunkujących rozpoczęcie kwitnienia jest mniejsza niż tych odpowiadających za wykłaszanie się roślin. Liczba QTL kontrolujących HE znacznie przewyższa liczbę wykrytych regionów zawierających *loci* regulujące FT. Liczba markerów istotnych dla terminu kwitnienia wykryta z użyciem testu *F* w populacji 541 × 2020LM także była mniejsza niż liczba *loci* wczesności kłoszenia w poszczególnych populacjach. Trudno znaleźć potwierdzenie tej prawidłowości w literaturze, bo obie cechy są przeważnie traktowane jako równoważne i oceniane zamiennie. Wymagałoby to także weryfikacji w populacjach innych mieszańców żyta.

Ciekawe wydaje się wykrycie regionów kontrolujących termin kłoszenia identycznych z QTL terminu kwitnienia na mapach innych populacji przy jednoczesnym braku tych regionów na mapie 541 × 2020LM. Mogłoby to świadczyć o obecności w obrębie jednego QTL odrębnych *loci* warunkujących obie cechy, wykazujących sprzężenie, nie zaś pojedynczego genu o działaniu plejotropowym. Wówczas polimorfizm w *locus* HE umożliwiający wykrycie QTL nie musi iść w parze ze zróżnicowaniem allelicznym genów FT, przez co te pozostają niewykryte. Inną możliwością jest wpływ czynników środowiska, niwelujący różnice w działaniu pojedynczego genu o efekcie plejotropowym na oba procesy zależne od siebie, ale zachodzące z przesunięciem czasowym.

6.7. Lokalizacja QTL porostania przedźniwnego

6.7.1. Wprowadzenie

Podobnie jak w populacji 541 × Ot1-3 żyta (Masojć i Milczarski 2009), na mapie mieszańca S120 × S76 wykryto QTL przedźniwnego porostania na wszystkich siedmiu chromosomach. Razem zlokalizowano 31 *loci*, z czego pozycje 11 potwierdzono w co najmniej dwóch wariantach doświadczenia. Ogólna liczba QTL jest dużo wyższa od tej opisującej OTL wykryte na dotychczas opublikowanych mapach, natomiast liczba regionów, których lokalizacja powtórzyła się przynajmniej dwukrotnie, jest równa odnotowanej w populacji 541 × Ot1-3 (Masojć i Milczarski 2009). Zdecydowanie mniej obszarów kontrolujących proces porostania, bo tylko pięć, zmapowano u mieszańca Ds2 × RXL10 (Masojć i Milczarski 2009) i jeszcze mniej, bo zaledwie trzy, wykryto na mapie pokolenia F₂ mieszańca S120 × S76 (rys. 8) – Myśków i in. 2010.

Wy tłumaczeniem tej dysproporcji może być stopień rozbudowy mapy populacji RIL. Mierzy ona 962 cM, ma więc prawie dwukrotnie większą długość i zawiera ponad 9,5 razy więcej markerów od mapy pokolenia F₂ (Myśków i in. 2010). Dodatkowe wyjaśnienie stanowi większa liczba powtórzeń ocen fenotypowych, co zwiększyło szanse na wykrycie zmienności wynikającej z reakcji różnych genów w odpowiedzi na różne warunki środowiska.

Precyzyjne porównanie pozycji QTL na omawianej mapie z mapą pokolenia F₂ i z mapami innych mieszańców jest utrudnione z powodu braku punktów odniesienia, czyli markerów

wspólnych dla porównywanych map w regionach obejmujących QTL albo ze względu na zmienione pozycje tych markerów.

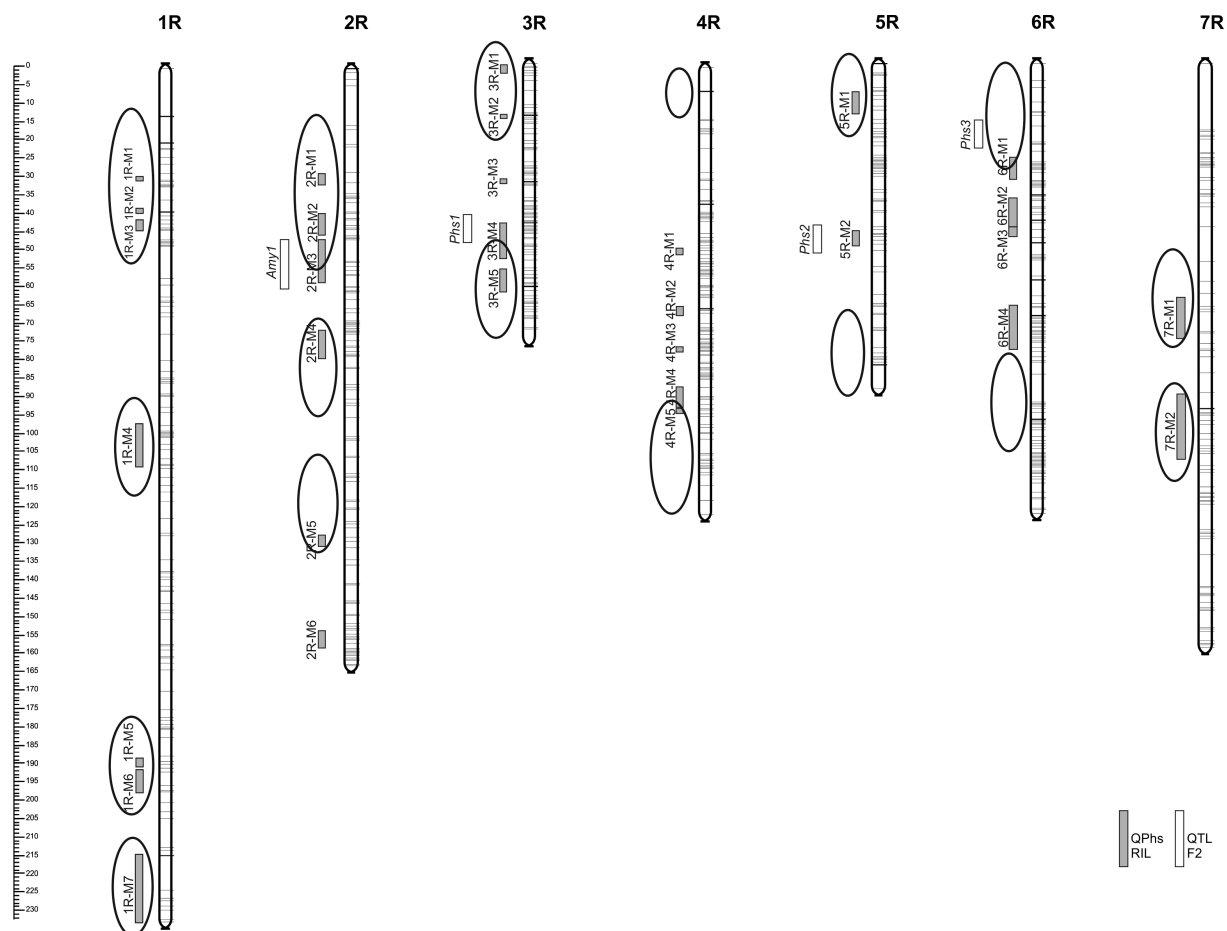
6.7.2. QTL porostania znane z mapy F₂ populacji S120 × S76

Chromosom 3R

Przykładem wpływu różnic w kolejności markerów na ocenę tożsamości QTL jest sytuacja w trzeciej grupie sprzężeń (rys. 8). Fragment chromosomu 3RL mapy pokolenia F₂ zawierał markery: *Xpr877_600*, *Xpr261_690*, *Xpr665_420* i *Xis09_500*. QTL oznaczony jako *Phs1* obejmował dwa ostatnie markery (Myśków i in. 2010). Na mapie populacji RIL zlokalizowano trzy z wymienionych markerów, ale w odmiennej kolejności: *Xpr877L600*, *Xpr665L420* i *Xpr261L690*. W pobliżu tych markerów zmapowano dwa QTL porostania. *QPhs3R-M3* był ulokowany nieco poniżej markera *Xpr877L600*, a *QPhs3R-M4* obejmował marker *Xpr261L690*. *Xpr665L420* znajdował się między dwoma omawianymi regionami i nie był włączony do żadnego z QTL. Brak związku tego markera z cechą i odmienne lokalizacje markerów wspólnych dla obu map nie pozwalają przesądzać o tożsamości QTL znajdujących się w podobnym obszarze mapy chromosomu 3R. Pewną przesłankę do wnioskowania o tożsamości *QPhs3R-M4* i *Phs1* może stanowić położenie *Xpr261L690* w obrębie tego pierwszego i w bliskiej odległości od QTL z mapy F₂. Dodatkowym argumentem przemawiającym za tą koncepcją może być także powtarzalność lokalizacji *QPhs3R-M4*, który został wykryty w trzech wariantach doświadczenia. Drugi z omawianych regionów oraz trzy pozostałe QTL porostania z mapy 3R populacji RIL pojawiły się tylko jednokrotnie. Istnieje jednak możliwość, że jeden z dwóch pierwszych regionów (*QPhs3R-M1*, *QPhs3R-M2*) odpowiada QTL porostania (*QPhs.3R.2*) i/lub α -amylazy (*QAA.3R.2*) z mapy mieszańca 541 × Ot1-3, częściowo pokrywającym się ze sobą, a zmapowanym na początku krótkiego ramienia (Masojć i Milczarski 2009).

Chromosom 5R

Lokalizacja QTL na chromosomie 5R budzi mniejsze wątpliwości (rys. 8). Co prawda *QPhs5R-M2* był wynikiem pojedynczej oceny z 2007 roku, ale jego lokalizacja w pobliżu *Aamy3n2* pozwala sądzić, że jest to region tożsamy z którymś z już wykrytych na innych mapach. W pobliżu genu *Amy3* zlokalizowano QTL porostania zarówno na mapie pokolenia F₂ mieszańca S120 × S76 – *Phs2* (Myśków i in. 2010), jak i na dwóch innych mapach żyta (Masojć i in. 2007, Masojć i Milczarski 2009). Omawiane regiony znajdowały się nieco powyżej lub poniżej *Aamy3n2*. Na chromosomie 5R z mapy populacji RIL mieszańca S120 × S76 wykryto jeszcze jeden QTL, o którego poprawnej lokalizacji może świadczyć dwukrotne pojawienie się dokładnie w tym samym regionie. Obecność QTL kontrolujących PHS w podobnym obszarze (w proksymalnej części chromosomu) odnotowano także na mapie mieszańca 541 × Ot1-3 (Masojć i Milczarski 2009).



Rys. 8. Schemat lokalizacji QTL porostania na mapie RIL (szare prostokąty) i F₂ (białe prostokąty) populacji M z zaznaczonymi obszarami (elipsy), w których wykrywano QTL porostania lub/i aktywności α -amylazy na innych mapach żyta (Masojć i in. 2007, Masojć i Milczarski 2009)

Chromosom 6R

Ostatni z wykrytych na mapie F₂ mieszańca S120 × S76 regionów związanych z kontrolą porostania był zlokalizowany w grupie 6R (rys. 8). Na mapie populacji RIL zlokalizowano na szóstym chromosomie cztery QTL porostania. Żaden z nich nie został potwierdzony w dwóch powtórzeniach. Brak wspólnych markerów w omawianych obszarach obu map nie pozwala stwierdzić, który z QTL jest odpowiednikiem wykrytego uprzednio na mapie F₂. Żaden z czterech regionów raczej nie odpowiada pozycjom QTL z długiego ramienia chromosomu zlokalizowanych na mapach 541 × Ot1-3 i Ds2 × RXL10. Natomiast prawdopodobna jest homologia między *QPhs6R-M1* a *QPhs.6R.2* z mapy 541 × Ot1-3, ponieważ oba regiony zajmują podobny obszar w proksymalnej części chromosomu (Masojć i Milczarski 2009).

6.7.3. QTL porostania niewykryte na mapie F₂ populacji S120 × S76

Chromosom 1R

Mapa chromosomu 1R populacji RIL mieszańca S120 × S76 stanowiła podstawę do lokalizacji największej liczby regionów związanych z kontrolą skłonności do porostania. Wykryto ich aż siedem, z czego trzy wystąpiły przynajmniej w dwóch powtórzeniach. Dotychczas donoszono o obecności na pierwszym chromosomie żyta dwóch QTL: *QPhs.1R.2* na 1RS i *QPhs.1R.1* na 1RL (Masojć i in. 2007, Masojć i Milczarski 2009). Pierwsze cztery QTL (jeśliby liczyć od początku krótkiego ramienia chromosomu) z mapy omawianej populacji RIL pojawiły się jednokrotnie. Nie można wykluczyć, że jeden z trzech pierwszych odpowiada *QPhs.1R.2* z map 541 × Ot1-3 i Ds2 × RXL10. Natomiast w granicach i w bliskim sąsiedztwie *QPhs1R-M4* znajdują się dwa markery DArT, które sąsiadują także z *Xscm107* z mapy 541 × Ot1-3, który to marker znajdował się z kolei powyżej *QPhs.1R.1* na mapie F₂ mieszańca 541 × Ot1-3. Może to pośrednio wskazywać na związek tych regionów.

W granicach trzech następnych QTL z mapy 1R populacji RIL mieszańca S120 × S76 nie udało się znaleźć markerów, które pozwoliłyby bezpośrednio wskazać ich odpowiedniki na innych mapach. Na długim ramieniu chromosomu 1R wykrywano jednak już wcześniej QTL kontrolujące PHS (Masojć i in. 2007, Masojć i in. 2009, Masojć i Milczarski 2009). O wiarygodności przedstawianych QTL z 1RL świadczy liczba powtórzeń, w których znalazły potwierdzenie. Wszystkie trzy zmapowano na podstawie danych z łącznej oceny ze wszystkich lat badań. Lokalizacja *QPhs1R-M5* powtórzyła się dwukrotnie, *QPhs1R-M6* – trzykrotnie, *QPhs1R-M7* zaś – aż pięciokrotnie. Najbardziej dystalnie usytuowany region charakteryzowała dodatkowo wysoka wartość LOD i R². Z pewnym prawdopodobieństwem można stwierdzić, że ten QTL pokrywa się z regionem *QAA.1R.3*, regulującym aktywność α-amylazy, który jest zlokalizowany w końcowej części 1RL (Masojć i Milczarski 2009).

Chromosom 2R

Na chromosomie 2R zmapowano aż sześć regionów kontrolujących porostanie. Na dotychczas opublikowanych mapach żyta odnaleźć można jeden QTL porostania i jeden pokrywający się z nim QTL α-amylazy na 2RS (Masojć i in. 2009, Masojć i Milczarski 2009) oraz dwa QTL porostania na 2RL, z których jeden także wykazywał wspólną lokalizację z QTL aktywności α-amylazy (Masojć i Milczarski 2009). Nie można określić, czy którykolwiek z QTL wykrytych u mieszańca S120 × S76 odpowiada tym z map innych populacji. Z dużym prawdopodobieństwem można jednak stwierdzić, że *QPhs2R-M3* pokrywa się z regionem na mapie F₂ zawierającym QTL związany z regulacją aktywności α-amylazy (Myśków i in. 2010). Świadczy o tym lokalizacja w tym obszarze mapy trzech wspólnych markerów: *Xpr181L1200*, *Xscm031* i *Xscm032*. To kolejny dowód współzależności niektórych regionów genomu odpowiadających za kontrolę aktywności α-amylazy oraz przedźniwnego porostania, wykazanych w badaniach Masojcia i Milczarskiego (2009). Co ciekawe, *QPhs2R-M3*, którego obecności na mapie F₂ nie wykazano bezpośrednio jako QTL kontrolującego PHS, mimo oceny dwóch pokoleń (F₂ i F₃), na mapie populacji RIL został potwierdzony dla trzech wariantów oceny fenotypowej. Była to jednak ocena z jednego roku badań

oraz dwie oceny z zestawień danych ze wszystkich lat (w wariancie z kłosami samo- i obcozapyłonymi). To dowodzi, że wykrycie wszystkich regionów zawierających *loci* cech ilościowych o tak złożonych mechanizmach kontroli jak w przypadku PHS wymaga wielokrotnych powtórzeń.

Pozostałe QTL z drugiego chromosomu także wykazywały dużą stabilność w różnych powtórzeniach. *QPhs2R-M4* i *QPhs2R-M5* wykryto dwukrotnie, *QPhs2R-M2* zaś aż pięciokrotnie. Jedynie lokalizacji *QPhs2R-M1* i *QPhs2R-M63* nie udało się potwierdzić. Za to *QPhs2R-M1* był jednym z dwóch QTL porastania, które charakteryzowały najwyższe wartości zarówno LOD, R^2 , jak i a .

Chromosom 4R

Spośród pięciu QTL regulujących PHS zlokalizowanych na 4R cztery zidentyfikowano jednorazowo. Tylko pozycję *QPhs4R-M4* potwierdzono trzykrotnie, w tym raz na podstawie uśrednionych wyników oceny ze wszystkich powtórzeń doświadczenia. O istotności tego regionu świadczyły także wysokie wartości LOD i R^2 . Również *QPhs4R-M3* wykryto na podstawie średnich wyników ze wszystkich wariantów doświadczenia, ale opisywały go niższe wartości parametrów charakteryzujących QTL. W obrębie *QPhs4R-M4* jest zlokalizowany marker *Xpsr119*, który na mapach dwóch innych mieszańców znajdował się powyżej grupy trzech QTL – jednego kontrolującego PHS i dwóch regulujących α -amylazę (Masojć i Milczarski 2009). *QPhs4R-M4* lub leżący poniżej *QPhs4R-M5* może być więc odpowiednikiem któregoś z wykrytych uprzednio obszarów zawierających *loci* kontrolujące porastanie. Żaden z pozostałych regionów nie zajmuje tej samej pozycji jak QTL z krótkiego ramienia czwartego chromosomu, stwierdzony w populacji 541 × Ot1-3 (Masojć i Milczarski 2009).

Chromosom 7R

W siódmej grupie sprzężeń populacji S120 × S76 wykryto wyłącznie dwa QTL porastania. Taki sam wynik uzyskano w przypadku mapy mieszańca 541 × Ot1-3. *QPhs7R-M1* znajduje się w pobliżu markera DArT – *d390750c7R*, wspólnego dla obu map, a odległego w przybliżeniu o 6 cM od markera *Xopq4*, obecnego tylko na mapie 541 × Ot1-3. *Xopq4* na mapie pokolenia F₂ tego mieszańca wykazywał sprzężenie z QTL porastania i α -amylazy (Masojć i Milczarski 2009). Prawdopodobne jest, że QTL porastania z obu map stanowią jeden region. W identyfikacji drugiego obszaru kontrolującego porastanie pomocny okazał się również marker DArT – *d400252c7R*. Był sprzężony z *Xapr7n31*, obecnym tylko na mapie 541 × Ot1-3 i wchodzącym w skład QTL *QPhs.7R.1* zmapowanego w pokoleniu F₂. Marker *d400252c7R* znajduje się w granicach drugiego z QTL wykrytego na mapie RIL S120 × S76, co pozwala wnioskować o wspólnej tożsamości regionów obu map.

QTL z 7R cechowały wysokie wartości LOD, efektu addytywnego i współczynnika determinacji. Ponadto *QPhs7R-M2* był regionem wykrytym w największej liczbie wariantów doświadczeń. Dodatkowe potwierdzenie jego roli w kontroli porastania stanowią wyniki testu F , oceniającego istotny związek pojedynczych markerów z cechą. Aż dwadzieścia osiem *loci* wytypowanych jako statystycznie istotne należało do obszaru *QPhs7R-M2*. Wchodziły one ponadto w skład grupy markerów o największej wiarygodności.

6.8. QTL porostania o największej wiarygodności

Przyjmując za podstawowe kryterium istotności co najmniej dwukrotne wykrycie QTL w populacji S120 × S76 i/lub potwierdzenie lokalizacji w analogicznym rejonie na innej mapie żyta, wytypowano 12 spośród 31 QTL porostania (tab. 22). Każdy z regionów wymienionych w zestawieniu charakteryzował się dodatkowo wysokim przynajmniej jednym z parametrów opisujących QTL (tab. 22). W przypadku kilku QTL brakuje całkowitej pewności, czy istnieją tożsame z nim QTL na innych mapach. Poza nimi w zestawieniu znalazły się trzy QTL, które wykryto dzięki ocenie z jednego wariantu doświadczenia w populacji RIL S120 × S76, ale ich wiarygodność potwierdzono przez wykazanie analogii z obszarami z innych map. Poza tym były to QTL o wysokich wartościach parametrów LOD, R^2 i/lub a , co dotyczyło w szczególności *QPhs7R-M1*.

W zestawieniu nie ujęto *QPhs2R-M1*, który podobnie jak *QPhs7R-M1*, charakteryzował się wysokimi wartościami wszystkich trzech parametrów: LOD, R^2 i a , ale nie wykazano dla niego homologicznego regionu na innych mapach.

Tabela 22. Zestawienie najważniejszych QTL porostania przedźniwnego

QTL	Lokalizacja na innych mapach	Liczba powtórzeń na mapie RIL	LOD > 3	$R^2 > 10\%$	$a > 10$ lub $a < -10$	Liczba markerów istotnych w obrębie QTL (F)/liczba wszystkich markerów w obrębie QTL
<i>QPhs1R-M4</i>	+(?)	1	+	–	–	36/36
<i>QPhs1R-M6</i>	+(?)	3	+	–	–	5/5
<i>QPhs1R-M7</i>	+	5	+	+	–	11/11
<i>QPhs2R-M2</i>	+(?)	5	+	+	+	21/21
<i>QPhs2R-M3</i>	+	3	+	+	–	16/16
<i>QPhs3R-M4</i>	+(?)	3	+	+	–	8/18
<i>QPhs4R-M4</i>	+(?)	3	+	+	+	13/13
<i>QPhs5R-M1</i>	+	2	–	+	–	8/8
<i>QPhs5R-M2</i>	+	1	–	+	–	0/9
<i>QPhs6R-M1</i>	+	1	+	+	–	0/17
<i>QPhs7R-M1</i>	+	1	+	+	+	5/26
<i>QPhs7R-M2</i>	+	7	+	+	–	28/28

6.9. Wpływ efektu obcozapylenia na identyfikację QTL porostania

Wśród QTL kontrolujących PHS wyłącznie jeden – *QPhs7R-M2* – został wykryty na podstawie wyników dwóch ocen z 2008 roku, dokonanych na kłosach izolowanych i nieizolowanych, chociaż wartość współczynnika korelacji między tymi ocenami była wysoka i wynosiła 0,64. Liczba QTL uzyskanych niezależnie tylko dla jednego lub drugiego wariantu była porównywalna i wynosiła trzy regiony dla 2008/N i cztery dla 2008/I. Z tego zestawu jedynie *QPhs6R-M1* może być potraktowany jako QTL o większej wiarygodności, bo jego lokalizację potwierdzono na podstawie porównania z wynikami mapowania QTL w innych populacjach.

Z powodu braku dostatecznej liczby powtórzeń uzyskane wyniki nie dają jednak dostatecznej podstawy do wnioskowania o zaangażowaniu *loci* z regionów wytypowanych dla kłosów obco- i samozapylonych w odmienne mechanizmy kontroli porastania.

Pewne przesłanki do sformułowania takiej tezy daje pozycja *QPhs5R-M1*. Ten region wytypowano dwukrotnie: dla oceny z 2009 roku i na podstawie połączonych wyników ze wszystkich wariantów poza oceną kłosów poddanych obcozapyleniu, co może sugerować, że jest to region charakterystyczny tylko dla roślin poddanych samozapyleniu. Dodatkowo jego wiarygodność potwierdzono lokalizacją QTL kontrolujących PHS z innej populacji mapującej. Proksymalna część piątego chromosomu, w której znalazł się omawiany region, została również wskazana jako obszar lokalizacji wielu QTL związanych z morfologią roślin, w tym długością kłosa i liczbą kłosek w kłosie (Milczarski 2010). Może więc ten QTL ma jakiś związek ze zbitością kłosa, co mogłoby mieć przełożenia na wchłanianie wody przez kłos. Konieczne byłyby jednak dalsze badania, mające na celu sprawdzenie tej sugestii.

Dużo liczniejszą grupę stanowi zestawienie QTL, których lokalizację potwierdzono dla dwóch wariantów doświadczenia (z kłosami samozapylonymi i z kłosami pozostawionymi do swobodnego przepylecia) z różnych lat oraz na podstawie analizy połączonych danych obu tych kategorii. Poza wymienionym wcześniej *QPhs7R-M2* takich regionów było jeszcze dziewięć. Dane pochodzące z oceny porastania kłosów nieizolowanych mogą więc stanowić cenne źródło informacji potwierdzające wiarygodność QTL wykrytych w tradycyjny sposób.

6.10. Zależność między wczesnością a porastaniem przedźniwnym

Rozpoczęcie wzrostu wegetatywnego oraz przejście z fazy wegetatywnej do generatywnej są uważane za momenty szczególnie ważne dla rozwoju roślin. Interesujące jest, czy wczesne przerwanie spoczynku ma implikacje dla czasu następowania kolejnych faz rozwojowych, w tym kłoszenia i kwitnienia. Z punktu widzenia praktycznego bardziej istotne jest, czy wczesne wykłoszenie i zakwitnienie zbóż powoduje także wczesne, a raczej przedwczesne kiełkowanie, określane mianem przedźniwnego porastania. Uważa się, że wczesność jest ważną cechą pomagającą uniknąć niekorzystnego zjawiska, jakim w uprawie zbóż jest porastanie (Haro i Allan 1997, Kato i in. 2001).

W omawianych tu badaniach podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy rzeczywiście obie cechy są od siebie zależne, a jeśli tak, to w jakim stopniu. W tym celu przeprowadzono dla jednej z populacji mapujących równoległą ocenę wczesności kłoszenia i stopnia porastania ziaren w kłosach.

Gdyby kryterium zależności między obiema cechami miał stanowić współczynnik korelacji, należałoby stwierdzić, że taka zależność nie istnieje. Wartość tego parametru była bowiem istotna statystycznie wyłącznie dla jednego roku badań, a jego wartość wynosiła zaledwie 0,40. Porównanie ocen fenotypowych z pozostałymi dwoma latami badań oraz prób zbiorczych ze wszystkich trzech lat wykazało brak korelacji; wartości współczynnika r były bliskie zera.

Analiza porównawcza QTL pozwoliła wyciągnąć odmienne wnioski. Porównanie lokalizacji QTL porastania i wczesności kłoszenia dokonane na podstawie mapy mieszańca

S120×S76 wykazało, że siedem QTL porostania pokrywało się całkowicie lub częściowo z QTL wczesności, a dwa QTL obu cech znajdowały się w bezpośrednim sąsiedztwie. Uwzględniając te markery odpowiadające maksimum krzywej istotności QTL wczesności z map pozostałych populacji mapujących, które znalazły się w obrębie QTL porostania lub w ich bliskim sąsiedztwie, wskazano kolejnych dziewięć obszarów genomu. Dodatkowo dwa QTL porostania zawierały w swoich granicach markery najsilniej sprzężone z QTL terminu kwitnienia. Dotychczasowe badania donosiły o jednym QTL wspólnym dla przedzmiwnego porostania i terminu kłoszenia oraz spoczynku u pszenicy, który został zidentyfikowany na chromosomie 2B (Munkvold i in. 2009).

Na podstawie przedstawionych wyników można uznać, że potencjalnie 20 regionów zawierających *loci* porostania wykazywało przynajmniej częściowy związek swojej lokalizacji z QTL wczesności (kłoszenia i/lub kwitnienia). To aż 65,5% QTL porostania i 33,9% QTL z 59 regionów kontrolujących wczesność we wszystkich czterech populacjach. Pokrywanie się obszarów zawierających *loci* kontrolujące porostanie i wczesność osiągnęło podobny poziom jak zależność między porostaniem a aktywnością α -amylazy (Masojć i Milczarski 2009), który w przeliczeniu na udział QTL wspólnych w stosunku do QTL regulujących PHS wyniósł 69,2%.

Kolejne potwierdzenie zależności wczesności i porostania uzyskano z zastosowaniem testu *F*. Pozwolił on wyznaczyć 137 markerów istotnie związanych z porostaniem i wczesnością kłoszenia jednocześnie. Stanowi to 35,6% markerów wytypowanych jako istotne dla PHS i 25,3% markerów sprzężonych z HE.

Współzależność dziedzicznego podłoża obu cech nie jest bezpośrednią zależnością, pozwalającą stwierdzić, że wczesne formy żyta będą wykazywały skłonność do silniejszego porostania. Liczba *loci* niezależnie zaangażowanych w kontrolę każdej z badanych cech jest na tyle duża, że kombinacje alleli umożliwiają pojawienie się wśród grupy roślin wczesnych zarówno form podatnych, jak i odpornych na porostanie. Podobne zróżnicowanie dotyczy grupy roślin o późnym terminie kłoszenia.

Obie cechy oddziela od siebie jeszcze faza kwitnienia i dojrzewania, a wszystkie te etapy cyklu życiowego są regulowane wielogenowo i podlegają w znacznym stopniu wpływom warunków środowiska. Nawet pary cech powiązanych tak silnie, że traktowanych częstokroć jako opisujące to samo zjawisko, jak termin kłoszenia i termin kwitnienia oraz porostanie i aktywność α -amylazy, ze względu na swą złożoną, wielogenową naturę nie wykazują pełnej współzależności. Związek między genami wczesności i porostania o podobnej lokalizacji może polegać tylko na ich sprzężeniu, ale istnieje też możliwość, że część z nich to geny o działaniu plejotropowym, kontrolujące obie cechy. Ponieważ jednak geny te działają na różnych etapach rozwoju i w interakcji z różnymi warunkami środowiska, nie ma prostej zależności między badanymi cechami.

Niezależnie jednak od rodzaju współdziałań między genami i od mechanizmów regulujących obie cechy możliwe jest prowadzenie selekcji w celu wytworzenia korzystnych dla uprawy form wczesnych, jednocześnie odpornych na przedzmiwne porostanie. Zabiegi takie prowadzono u pszenicy (Hucl i Matus-Cádiz 2002). Analiza związku lokalizacji QTL determinujących wczesność kłoszenia i porostanie przedzmiwne w populacji S120×S76 pozwoliła

wskazać cztery pary QTL o pokrywających się lub sąsiadujących przedziałach, wykazujące przeciwny efekt działania allelu pochodzącego od linii S120. W przypadku trzech par QTL allele pochodzące od tego rodzica wpływały na wcześniejsze kłoszenie i na obniżenie skłonności do porastania (*QPhs1R-M4/QHe1R-M1 – QHe1R-M2*, *QPhs1R-M7/QHe1R-M5*, *QPhs2R-M5/QHe2R-M4*), a w jednym przypadku stwierdzono odwrotną zależność (*QPhs2R-M4/QHe2R-M2*). Szczególnie interesujące w tej grupie wydają się dwie pary QTL z chromosomu 2R, których lokalizacje pokrywają się całkowicie, a markery najsilniej sprzężone z *locus* jednej cechy są jednocześnie najistotniejsze w obrębie QTL drugiej cechy. Dwa markery RAPD – *Xpr162L250* i *Xpr366L570* – mogą więc, po przekształceniu w markery SCAR, stać się użyteczne w selekcji wczesnych i zarazem odpornych na porastanie form żyta.

Znajomość regionów genomu zaangażowanych w kontrolę wczesności i porastania stanowi dobrą podstawę do analizy porównawczej także z QTL innych cech morfologicznych, fizjologicznych czy biochemicznych, mających związek z procesami zmian faz rozwojowych – z kwitnieniem, spoczynkiem i kiełkowaniem. Połączenie danych z różnych badań pomoże poznać złożone zależności między analizowanymi procesami. Dalszy etap powinien pozwolić na zgromadzenie danych o sekwencjach i funkcjach genów gatunków pokrewnych żytu, co umożliwi odnalezienie związku między genami kandydatami a wykrytymi QTL.

7. Wnioski

1. Silnie zagęszczone mapy genetyczne kilku populacji o zróżnicowanym pochodzeniu są wartościowym narzędziem do analizy porównawczej QTL.
2. Stopień pokrycia i zagęszczenia mapy genetycznej ma istotny wpływ na liczbę wykrywanych QTL.
3. Geny kontrolujące wczesność u żyta są zlokalizowane na wszystkich chromosomach.
4. Znacznie mniejsza liczba wykrytych QTL determinujących FT niż QTL warunkujących HE i tylko częściowe pokrycie się QTL z obu grup wskazują na istnienie znaczących różnic między zestawami genów kontrolujących termin kłoszenia i kwitnienia.
5. Najważniejsze dla determinacji wczesności są QTL z chromosomów 1R ($QHe1R-L3 = QHe1R-M2 = QHe1R-S1$), 2R ($QHe2R-M1 = QHe2R-L4$), 4R ($QHe4R-L1 = QHe4R-S1$) i 6R ($QHe6R-K1 = QHe6R-M1 = QFt6R-S1$).
6. Najistotniejsze dla kontroli porostania przedźniwnego są *loci* z chromosomów 1R ($QPhs1R-M7$), 2R ($QPhs2R-M2$) i 7R ($QPhs7R-M2$).
7. Ocena zmienności i analiza QTL porostania przedźniwnego wskazują, że sposób zapylenia nie wpływa istotnie na tę cechę.
8. Kolokalizacja QTL porostania przedźniwnego i wczesności na chromosomach 1R, 2R, 6R i 7R może wskazywać, że obie cechy znajdują się w dużej mierze pod kontrolą wspólnych obszarów genomu żyta.
9. *Xpr162L250* i *Xpr366L570* z chromosomu 2R to markery potencjalnie najbardziej przydatne do selekcji wczesnych i zarazem odpornych na porostanie form żyta.

Literatura

- BARNARD A., VAN DEVENTER C.S., MAARTENS H. 2005. Genetic variability of preharvest sprouting – the South African situation. *Euphytica* 143: 291–296.
- BÄURLE I., DEAN C. 2006. The timing of developmental transitions in plants. *Cell* 125: 655–664.
- BEDNAREK P.T., MASOJC P., LEWANDOWSKA R., MYSKÓW B. 2003. Saturating rye genetic map with amplified fragment length polymorphism. *J. Appl. Genet.* 44(1): 21–33.
- BOLIBOK H., GRUSZCZYŃSKA A., HROMADA-JUDYCKA A., RAKOCZY-TROJANOWSKA M. 2007. Identification of QTLs associated with the in vitro response of rye (*Secale cereale* L.). *Cell. Mol. Biol. Lett.* 12: 523–535.
- BOLIBOK-BRĄGOSZEWSKA H., HELLER-USZYŃSKA K., WENZL P., USZYŃSKI G., KILIAN A., RAKOCZY-TROJANOWSKA M. 2009. DArT markers for the rye genome – genetic diversity and mapping. *BMC Genomics* 10: 578. DOI: 10.1186/1471-2164-10-578.
- BÖRNER A., KORZUN V., VOYLOKOV A.V., WORLAND A.J., WEBER W.E. 2000. Genetic mapping of quantitative trait loci in rye (*Secale cereale* L.). *Euphytica*: 116: 203–209.
- BÖRNER A., KORZUN V., WORLAND A.J., 1998. Comparative genetic mapping of loci affecting plant height and development in cereals. *Euphytica* 100: 245–248.
- BUCK-SORLIN G.H., BÖRNER A. 2001. Pleiotropic effects of the *ea₇* photoperiod response gene on the morphology and agronomic traits in barley. *Plant Breeding* 120: 489–495.
- BULLRICH L., APPENDINO M.L., TRANQUILLI G., LEWIS S., DUBCOVSKY J. 2002. Mapping of a thermo-sensitive earliness per se gene on *Triticum monococcum* chromosome 1A^m. *Theor. Appl. Genet.* 105: 585–593.
- BURT K.R., 2008. *Evaluating methods of screening for pre-harvest sprouting in soft red winter wheat and the effect of delayed harvest on flour properties*. Thesis submitted to the faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Crop and Soil Environmental Sciences, http://scholar.lib.vt.edu/theses/available/etd-12222008.../HUGHES_THESIS.pdf, dostęp z 15.09.2009 r.
- CHEN A., BAUMANN U., FINCHER G.B., COLLINS N.C. 2009. Flt-2L, a locus in barley controlling flowering time, spike density, and plant height. *Funct. Integr. Genomics* 9: 243–254.
- CHEN C.-X., CAI S.-B., BAI G.-H. 2008. A major QTL controlling seed dormancy and pre-harvest sprouting resistance on chromosome 4A in a Chinese wheat landrace. *Mol. Breeding* 21: 351–358.
- COCKRAM J., JONES H., LEIGH F.J., O’SULLIVAN D., POWELL W., LAURIE D.A., GREENLAND A.J. 2007. Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication, and sustainable productivity. *J. Exp. Bot.* 58(6): 1231–1244.
- CZARNOCKI S., STARCZEWSKI J., GARWACKA A. 2007. Wpływ wybranych czynników agrotechnicznych na skłonność do porostania ziarna pszenicy jarej. *Acta Agrophys.* 10(3): 533–541.
- DEVOS K.M., ATKINSON M.D., CHINYO C.N., FRANCIS H.A., HARCOURT R.L., KOEBNER R.L., LIU C.J., MASOJC P., XIE D.X., GALE M.D. 1993. Chromosomal rearrangements in the rye genome relative to that of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 85: 673–680.
- DOERGE R.W., CHURCHILL G.A. 1996. Permutation tests for multiple loci affecting a quantitative character. *Genetics* 142: 285–294.
- DUBCOVSKY J., LIJAVETZKY D., APPENDINO L., TRANQUILLI G. 1998. Comparative RFLP mapping of *Triticum monococcum* genes controlling vernalization requirement. *Theor. Appl. Genet.* 97: 968–975.
- DUBCOVSKY J., LUO M.-C., DVORAK J. 1995. Differentiation between homoeologous chromosomes 1A of wheat and 1A^m of *Triticum monococcum* and its recognition by the wheat *Ph1* locus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 92: 6645–6649.
- EFREMOVA T.T., MAYSTRENKO O.I., ARBUZOVA V.S., LAIKOVA L.I., PANINA G.M., POPOVA O.M. 2006. Effect of alien 5R(5A) chromosome substitution on ear emergence time and winter hardiness of wheat-rye substitution lines. *Euphytica* 151: 145–153.

- FARICELLI M.E., VÁLARIK M., DUBCOVSKY J. 2010. Control of flowering time and spike development in cereals: the earliness per se Eps-1 region in wheat, rice, and Brachypodium. *Funct. Integr. Genomics* 10: 293–306.
- FERREIRA A., DA SILVA M.F., DA COSTA E SILVA L., CRUZ C.D. 2006. Estimating the effects of population size and type on accuracy of genetic maps. *Genet. Mol. Biol.* 29(1): 187–192.
- FOFANA B., HUMPHREYS D.G., RASUL G., CLOUTIER S., BRÛLÉ-BABEL A., WOODS S., LUKOW O.M., SOMERS D.J. 2009. Mapping quantitative trait loci controlling pre-harvest sprouting resistance in a red × white seeded spring wheat cross. *Euphytica* 165: 509–521.
- GRABIŃSKI J. 2005. Technologie produkcji roślin. W: *Rynki i technologie produkcji roślin uprawnych*. Red. J. Chotkowski. Warszawa, Wydaw. „Wies Jutra”.
- GREENUP A., PEACOCK W.J., DENNIS E.S., TREVASKIS B. 2009. The molecular biology of seasonal flowering-responses in Arabidopsis and the cereals. *Annals of Botany* 103: 1165–1172.
- GUBLER F., MILLAR A.A., JACOBSEN J.V. 2005. Dormancy release, ABA and preharvest sprouting. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 8: 183–187.
- GUSTAFSON J.P., MA X-F, KORZUN V., SNAPE J.W. 2009. A consensus map of rye integrating mapping data from five mapping populations. *Theor. Appl. Genet.* 118: 793–800.
- HACKAUF B., WEHLING P. 2002. Identification of microsatellite polymorphism in an expressed portion of the rye genome. *Plant Breeding* 121: 17–25.
- HAN F., ULLRICH S.E., CLANCY J.A., JITKOV V., KILIAN A., ROMAGOSA I. 1996. Verification of barley seed dormancy loci via linked molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 92: 87–91.
- HANOCQ E., LAPERCHE A., JAMINON O., LAINÉ A-L., LE GOUIS J. 2007. Most significant genome regions involved in the control of earliness traits in bread wheat, as revealed by QTL meta-analysis. *Theor. Appl. Genet.* 114: 569–584.
- HANSEN H.B., MØLLER B., ANDERSEN S.B., JØRGENSEN J.R., HANSEN A. 2004. Grain characteristics, chemical composition and functional properties of rye (*Secale cereale* L.) as influenced by genotype and harvest year. *J. Agric. Food Chem.* 52(8): 2282–2291.
- HARO E.S., ALLAN R.E. 1997. Effects of heading date on agronomic performance of winter wheat isolines. *Crop. Sci.* 37: 346–351.
- HAY R.K.M., ELLIS R.P. 1998. The control of flowering in wheat and barley: what recent advances in molecular genetics can reveal. *Annals of Botany* 82: 541–554.
- HUANG N., COURTOIS B., KNUSH G.S., LIN H., WANG G., PING WU I., ZHENG K. 1996. Association of quantitative trait loci for plant height with major dwarfing genes in rice. *Heredity* 77: 130–137.
- HUCL P., MATUS-CÁDIZ M. 2002. CDC EMDR-4, CDC EMDR-9, and CDC EMDR-14 spring wheats. *Can. J. Plant Sci.* 82: 411–413.
- IMTIAZ M., OGBONNAYA F.C., OMAN J., VAN GINKEL M. 2008. Characterization of quantitative trait loci controlling genetic variation for preharvest sprouting in synthetic backcross-derived wheat lines. *Genetics* 178: 1725–1736.
- IQBAL M., NAVABI A., SALMON D.F., YANG R.-C., MURDOCH B.M., MOORE S.S., SPANER D. 2007. Genetic analysis of flowering and maturity time in high latitude spring wheat. *Euphytica* 154: 207–218.
- ISLAM-FARIDI M.N., WORLAND A.J., LAW C.N. 1996. Inhibition of ear-emergence time and sensitivity to day-length determined by the group 6 chromosomes of wheat. *Heredity* 77: 572–580.
- JACCOUD D., PENG K., FEINSTEIN D., KILIAN A. 2001. Diversity Arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic Acids Res.* 29(4): e25.
- JUNG C., QIAN W., BÜTTNER B., HOHMANN U., MUTASA-GOTTGENS E., CHIA T., MÜLLER A. 2007. Using genomic information for altering bolting and flowering behaviour of crop plants. *Molecular Plant Breeding* 5(2): 156–158.
- KARSAI I., MÉSZÁROS K., SZÜCS P., HAYES P.M., LÁNG L., BEDÖ Z. 1999. Effect of loci determining photoperiod sensitivity (*Ppd-H1*) and vernalization response (*Sh2*) on agronomic traits in the “Dictoo”×“Morex” barley mapping population. *Plant Breeding* 118: 399–403.
- KARSAI I., SZÜCS P., MESZAROS K., FILICHKINA T., HAYES P.M., SKINNER J.S., LANG L., BEDÖ Z. 2005. The *Vrn-H2* locus is a major determinant of flowering time in a facultative winter growth habit barley (*Hordeum vulgare* L.) mapping population. *Theor. Appl. Genet.* 110: 1458–1466.

- KATO K., MIURA H., SAWADA S. 1999. Detection of earliness *per se* quantitative trait locus in the proximal region of wheat chromosome 5AL. *Plant Breeding* 118: 391–394.
- KATO H., MIURA H., SAWADA S. 2002. Characterization of QEet.ocs-5A1, a quantitative trait locus for ear emergence time on wheat chromosome 5AL. *Plant Breeding* 121: 389–393.
- KATO H., TAKETA S., BAN T., IRIKI N., MURAI K. 2001. The influence of a spring habit gene, Vrn-D1, on heading time in wheat. *Plant Breeding* 120: 115–120.
- KIKUCHI R., KAWAHIGASHI H., ANDO T., TONOOKA T., HANDA H. 2009. Molecular and functional characterization of PEBP genes in barley reveal the diversification of their roles in flowering. *Plant Physiol.* 149: 1341–1353.
- KING R.W., VON WETTSTEIN-KNOWLES P. 2000. Epicuticular waxes and regulation of ear wetting and pre-harvest sprouting in barley and wheat. *Euphytica* 112: 157–166.
- KOROL A., MESTER D., FRENKEL Z., RONIN Y. 2009. Methods for genetic analysis in the Triticeae. In: *Genetics and genomics of the Triticeae*. Eds. C. Feuillet, G.J. Muehlbauer. New York, Springer Science + Business Media: 163–199.
- KORZUN V., MALYSHEV S., VOYLOKOV A.V., BÖRNER A. 2001. A genetic map of rye (*Secale cereale* L.) combining RFLP, isozyme, protein, microsatellite and gene loci. *Theor. Appl. Genet.* 102: 709–717.
- KUCHEL H., HOLLAMBY G., LANDGRIDGE P., WILLIAMS K., JEFFERIES S.P. 2006. Identification of genetic loci associated with ear-emergence in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 113: 1103–1112.
- KULWAL P.L., KUMAR N., GAUR A., KHURANA P., KHURANA J.P., TYAGI A.K., BALYAN H.S., GUPTA P.K. 2005. Mapping a major QTL for pre-harvest sprouting tolerance on chromosome 3A in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 111: 1052–1059.
- KUNPU Z., JICHUN T., LIANG Z., BIN L., GUANGFENG C. 2009. Detection of quantitative trait loci for heading date based on the doubled haploid progeny of two elite Chinese wheat cultivars. *Genetica* 135: 257–265.
- LAURIE D.A. 1997. Comparative genetics of flowering time. *Plant Mol. Biol.* 35: 167–177.
- LAURIE D.A., GRIFFITHS S., DUNFORD R.P., CHRISTODOULU V., TAYLOR S.A., COCKRAM J., BEALES J., TURNER A. 2004. Comparative genetic approaches to the identification of flowering time genes in temperate cereals. *Field Crops Res.* 90: 87–99.
- LAURIE D.A., PRATCHETT N., BEZANT J.H., SNAPE J.W. 1994. Genetic analysis of a photoperiod response gene on the short arm of chromosome 2(2h) of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Heredity* 72: 619–627.
- LAW C.N. 1966. The location of genetic factors affecting a quantitative character in wheat. *Genetics* 53: 487–498.
- LAW C.N., SUAREZ E., MILLER T.E., WORLAND A.J. 1998. The influence of the group 1 chromosomes of wheat on ear-emergence times and their involvement with vernalization and day length. *Heredity* 80: 83–91.
- LAW C.N., SUTKA J., WORLAND A.J., 1978. A genetic study of day length response in wheat. *Heredity* 41, 185–191.
- LAW C.N., WORLAND A.J. 1997. Genetic analysis of some flowering time adaptive traits in wheat. *New Phytol.* 137: 19–28.
- LEWIS S., FARICELLI M.E., APPENDINO M.L., VÁLARIK M., DUBCOVSKY J. 2008. The chromosome region including the earliness *per se* locus *Eps-A^m1* affects the duration of early developmental phases and spikelet number in diploid wheat. *J. Exp. Bot.* 59: 3595–3607.
- LIN F., XUE S.L., TIAN D.G., LI C.J., CAO Y., ZHANG Z.Z., ZHANG C.Q., MA Z.Q. 2008. Mapping chromosomal regions affecting flowering time in spring wheat RIL population. *Euphytica* 164: 769–777.
- Lista Opisowa Odmian.* 2009. Rośliny Rolnicze. Słupia Wielka, Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych.
- LIU S., CAI S., GRAYBOSCH R.A., CHEN C., BAI G. 2008. Quantitative trait loci for resistance to pre-harvest sprouting in US hard white winter wheat Rio Blanco. *Theor. Appl. Genet.* 117(5): 691–699.
- LOHWASSER U., RÖDER M.S., BÖRNER A. 2005. QTL mapping of the domestication traits pre-harvest sprouting and dormancy in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 143: 247–249.

MACCAFERI M., SANGUINETI M.C., CORNETI S., ORTEGA J.L.A., SALEM M.B., BORT J., DEAMBROGIO E., DEL MORAL L.F.G., DEMONTIS A., EL-AHMED A., MAALOUF F., MACHLAB H., MARTOS V., MORAGUES M., MOTAWAJ J., NACHIT M., NSERALLAH N., OUABBOU H., ROYO C., SLAMA A., TUBEROSA R. 2008. Quantitative trait loci for grain yield and adaptation of Durum wheat (*Triticum durum* Desf.) across a wide range of water availability. *Genetics* 178: 489–511.

MARES D., MRVA K. 2008. Late-maturity α -amylase: Low falling number in wheat in the absence of preharvest sprouting. *J. Cereal Sci.* 47: 6–17.

MARES D., MRVA K., CHEONG K., WILLIAMS K., WATSON B. 2005. A QTL located on chromosome 4A associated with dormancy in white- and red-grained wheats of diverse origin. *Theor. Appl. Genet.* 111: 1357–1364.

MASOJĆ P. 1996. Kierunki badań genetycznych nad skłonnością ziarniaków zbóż do przedźniwnego porostania. *Postępy Nauk Rol.* 96(4): 27–40.

MASOJĆ P., BANEK-TABOR A., MILCZARSKI P., TWARDOWSKA M. 2007. QTLs for resistance to preharvest sprouting in rye (*Secale cereale* L.). *J. Appl. Genet.* 48: 211–217.

MASOJĆ P., LEBIECKA K., MILCZARSKI P., WIŚNIEWSKA M., ŁAŃ A., OWSIANICKI R. 2009. Three classes of loci controlling preharvest sprouting of rye (*Secale cereale* L.) discerned by means of bidirectional selective genotyping (BSG). *Euphytica* 170: 123–129.

MASOJĆ P., MILCZARSKI P. 1999. Wykorzystanie mapy molekularnej genomu żyta i analizy QTL do identyfikacji genów warunkujących wczesność kłoszenia. *Biul. IHAR* 211: 205–210.

MASOJĆ P., MILCZARSKI P. 2005. Mapping QTLs for alpha-amylase activity in rye grain. *J. Appl. Genet.* 46: 115–123.

MASOJĆ P., MILCZARSKI P. 2009. Relationship between QTLs for preharvest sprouting and alpha-amylase activity in rye grain. *Mol. Breeding* 23: 75–84.

MASOJĆ P., MILCZARSKI P., MYŚKÓW B. 1998. Identification of genes underlying sprouting resistance in rye. In: *Eighth International Symposium on Preharvest Sprouting in Cereals*. Ed. D. Weipert. Detmold, Association of Cereal Research, Federal Centre for Cereal, Potato and Lipid Research: 131–136.

MASOJĆ P., MYŚKÓW B., MILCZARSKI P. 2001. Extending a RFLP-based genetic map of rye using random amplified polymorphic DNA (RAPD) and isozyme markers. *Theor. Appl. Genet.* 102: 1273–1279.

MELCHINGER A.E., UTZ H.F., SCHÖN C.C. 1998. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent population samples in maize reveals low power of QTL detection and large bias in estimates of QTL effects. *Genetics* 149: 383–403.

MILCZARSKI P. 2010. *Identyfikacja i mapowanie porównawcze QTL warunkujących wybrane cechy ilościowe w populacjach dwóch mieszańców międzyliniowych żyta (Secale cereale L.)*. Szczecin, Wydaw. Uczelniane ZUT w Szczecinie, ISBN 978-83-7663-063-2.

MILCZARSKI P., BANEK-TABOR A., LEBIECKA K., STOJAŁOWSKI S., MYŚKÓW B., MASOJĆ P. 2007. New genetic map of rye composed of PCR-based molecular markers and its alignment with the reference map of the DS2×RXL10 intercross. *J. Appl. Genet.* 48(3): 11–24.

MILCZARSKI P., MASOJĆ P. 2002. The mapping of QTLs for chlorophyll content and responsiveness to gibberellic (GA_3) and abscisic (ABA) acids in rye. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 7(2A): 449–55.

MIURA H., NAKAGAWA M., WORLAND A.J. 1999. Control of ear emergence time by chromosome 3A of wheat. *Plant Breeding* 118: 85–87.

MOHAN A., KULWAL P., SINGH R., KUMAR V., MIR R.R., KUMAR J., PRASAD M., BALYAN H.S., GUPTA P.K. 2009. Genome-wide QTL analysis for pre-harvest sprouting tolerance in bread wheat. *Euphytica* 168(3): 319–329.

MORI M., UCHINO N., CHONO M., KATO K., MIURA H. 2005. Mapping QTLs for grain dormancy on wheat chromosome 3A and the group 4 chromosomes, and their combined effect. *Theor. Appl. Genet.* 110: 1315–1323.

MUNKVOLD J.D., TANAKA J., BENSCHER D., SORRELLS M.E. 2009. Mapping quantitative trait loci for preharvest sprouting resistance in white wheat. *Theor. Appl. Genet.* 119(7): 1223–1235.

- MYŚKÓW B. 2009. Linkage mapping of arbitrary PCR markers in rye (*Secale cereale* L.). W: *Genetyka i genomika w doskonaleniu roślin uprawnych*. Red. B. Naganowska, P. Kachlicki, P. Krajewski. Poznań, Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu: 37–44.
- MYŚKÓW B., MASOJC P., BANEK-TABOR A., SZOLKOWSKI A. 2001. Genetic diversity of inbred rye lines evaluated by RAPD analysis. *J. Appl. Genet.* 42(1): 1–14.
- MYŚKÓW B., STOJAŁOWSKI S., MILCZARSKI P., MASOJC P. 2004. Wykorzystanie mapy sprzężeń markerów RAPD do identyfikacji genów odporności na porastanie u żyta (*Secale cereale* L.). *Ann. UMCS, Sect. E.* 59(3): 1289–1296.
- MYŚKÓW B., STOJAŁOWSKI S., MILCZARSKI P., MASOJC P. 2010. Mapping of sequence specific markers and loci controlling pre-harvest sprouting and alpha-amylase activity on the genetic map of F₂ (S120 × S76) rye (*Secale cereale* L.) population. *J. Appl. Genet.* 51(3): 283–287.
- NELSON J.C., SORRELS M.E., VAN DEYNZE A.E., LU Y.H., ATKINSON M., BERNARD M., LEROY P., FARIS J.D., ANDERSON J.A. 1995. Molecular mapping of wheat: major genes and rearrangements in homoeologous groups 4, 5, and 7. *Genetics* 141: 721–731.
- OGBONNAYA F.C., IMTIAZ M., YE G., HEARNDEN P.R., HERNANDEZ E., EASTWOOD R.F., VAN GINKEL M., SHORTER S.C., WINCHESTER J.M. 2008. Genetic and QTL analyses of seed dormancy and preharvest sprouting resistance in the wheat germplasm CN 10955. *Theor. Appl. Genet.* 116: 891–902.
- PLASCHKE J., BÖRNER A., XIE D.X., KOEBNER R.M.D., SCHLEGEL R., GALE M.D. 1993. RFLP mapping of genes affecting plant height and growth habit in rye. *Theor. Appl. Genet.* 85: 1049–1054.
- PRADA D., MOLINA-CANO J.L., ULLRICH S.E., CLANCY J.A., CISTUE L., ROMAGOSA I. 2004. Genetic control of dormancy in a Triumph/Morex cross in barley. *Theor. Appl. Genet.* 109: 62–70.
- RASUL G., HUMPHREYS D.G., BRÛLÉ-BABEL A., MCCARTNEY C.A., KNOX R.E., DEPAUW R.M., SOMERS D.J. 2009. Mapping QTLs for pre-harvest sprouting traits in the spring wheat cross “RL4452/AC Domain”. *Euphytica* 168(3): 363–378.
- REN X.-B., LAN X.J., LIU D.-C., WANG J.-L., ZHENG Y.-L. 2008. Mapping QTLs for pre-harvest sprouting tolerance on chromosome 2D in a synthetic hexaploid wheat × common wheat cross. *J. Appl. Genet.* 49(4): 333–341.
- RYBKA K. 2003. An approach to identification of rye chromosomes affecting the pre-harvest sprouting in triticale. *J. Appl. Genet.* 44(4): 491–496.
- SCARTH R., LAW C.N. 1983. The location of photoperiodic gene (*Ppd2*) and an additional genetic factor for ear emergence time on chromosome 2B of wheat. *Heredity* 51: 607–619.
- SCHLEGEL R., KORZUN V. 2008. *Genes, markers and linkage data of rye (Secale cereale L.), 6th updated inventory*, [http://www.dessica.de/Rye gene map](http://www.dessica.de/Rye_gene_map), dostęp z 15.09.2009 r.
- SINGH R., MATUS-CÁDIZ M., BĀGA M., HUCL P., RAVINDRA N., CHIBBAR R.N. 2010. Identification of genomic regions associated with seed dormancy in white-grained wheat. *Euphytica* 174(3): 391–408.
- SNAPE J.W., BUTTERWORTH K., WHITECHURCH E., WORLAND A.J. 2001. Waiting for fine times: genetics of flowering time in wheat. *Euphytica* 119: 185–190.
- STOJAŁOWSKI S. 2010. *Wykorzystanie markerów molekularnych w badaniach genetycznych i w hodowli mieszańców żyta z cytoplazmą sterylizującą CMS-C*. Wydaw. Uczelniane ZUT w Szczecinie, ISBN 978-83-7663-061-8.
- STOJAŁOWSKI S., JACIUBEK M., MASOJC P. 2005. Rye SCAR markers for male fertility restoration in the P cytoplasm are also applicable to marker-assisted selection in the C cytoplasm. *J. Appl. Genet.* 46(4): 371–373.
- STOJAŁOWSKI S., ŁAPIŃSKI M. 2002. Wykorzystanie techniki RAPD do konstruowania mapy sprzężeń u międzyliniowego mieszańca żyta. *Zesz. Probl. Postęp. Nauk Rol.* 488: 153–159.
- STOJAŁOWSKI S., ŁAPIŃSKI M., MASOJC P. 2004. RAPD markers linked with restorer genes for the C-source of cytoplasmic Male sterility of rye (*Secale cereale* L.). *Plant Breeding* 123: 428–433.
- STOJAŁOWSKI S., MYŚKÓW B., MILCZARSKI P., MASOJC P. 2009. A consensus map of chromosome 6R in rye (*Secale cereale* L.). *Cell. Mol. Biol. Lett.* 14(2): 190–198.

- STRACKE S., SCHILLING A.G., FORSTER J., WEISS C., GLASS C., MIEDANER T., GEIGE H. 2003. Development of PCR-based markers linked to dominant genes for male-fertility restoration in Pampa CMS of rye (*Secale cereal* L.). *Theor. Appl. Genet.* 106: 1184–1190.
- TENHOLA-ROININEN T. 2009. *Rye doubled haploid, production and use in mapping studies*. Jyväskylä University Printing House. ISBN 978-951-39-3523-8, <https://jyx.jyu.fi/dspace/bitstream/handle/123456789/20068/9789513935238.pdf?sequence=1>, dostęp z 15.09.2009 r.
- TRANQUILLI G., DUBCOVSKY J. 2000. Epistatic interaction between vernalization genes *Vrn-A^{m1}* and *Vrn-A^{m2}* in diploid wheat. *J. Hered.* 91: 304–306.
- TWARDOWSKA M., MASOJĆ P., MILCZARSKI P. 2005. Pyramiding genes affecting sprouting resistance in rye by means of marker assisted selection. *Euphytica* 143: 257–260.
- ULLRICH S.E., CLANCY J.A., DEL BLANCO I.A., LEE H., JITKOV V.A., HAN F., KLEINHOF S.A., MATSUI K. 2008. Genetic analysis of preharvest sprouting in a six-row barley cross. *Mol. Breeding* 21: 249–259.
- ULLRICH S.E., HAYES P.M., DYER W.E., BLAKE T.K., CLANCY J.A. 1993. Quantitative trait locus analysis of seed dormancy in “Steptoe” barley. In: *Preharvest sprouting in cereals 1992*. Eds. M.K. Walker-Simmons, J.L. Reid. St. Paul, Amer. Assoc. Cereal Chemist: 136–145.
- VÁLARIK M., LINKIEWICZ A.M., DUBCOVSKY J., 2006. A microlinearity study at the earliness per se gene *Eps-Am1* region reveals an ancient duplication that preceded the wheat-rice divergence. *Theor. Appl. Genet.* 112: 945–957.
- VAN OOIJEN J.W., VOORRIPS R.E., 2001. *JoinMap® 3.0, Software for the calculation of genetic linkage maps*. Wageningen, Plant. Res. Intern.
- WANG G., SCHMALENBACH I., VON KORFF M., LÉON J., KILIAN B., RODE J., PILLEN K. 2010. Association of barley photoperiod and vernalization genes with QTLs for flowering time and agronomic traits in a BC₂DH population and a set of wild barley introgression lines. *Theor. Appl. Genet.* 120: 1559–1574.
- WANG S.C., BASTEN C.J., ZENG Z-B. 2006. *Windows QTL Cartographer 2.5*. Raleigh NC, Department of Statistics, North Carolina State University.
- WEIDNER S., KRUPA U., AMAROWICZ R., KARAMAC M. ABE S. 2002. Phenolic compounds in embryos of triticale caryopses at different stages of development and maturation in normal environment and after dehydration treatment. *Euphytica* 126: 115–122.
- WHITECHURCH E.M., SNAPE J.W. 2003. Developmental responses to vernalization in wheat deletion lines for chromosomes 5A and 5D. *Plant Breeding* 122: 35–39.
- WORLAND A.J., BÖRNER A., KORZUN V., LI W.M., PETROVIC S., SAYERS E.J. 1998. The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats. *Euphytica* 100: 385–394.
- XU X., BAI G., CARVER B.F., SHANER G.E. 2005. A QTL for early heading in wheat cultivar Suwon 92. *Euphytica* 146: 233–237.
- YAN L., FU D., LI C., BLECHL A., TRANQUILLI G., BONAFEDE M., SANCHEZ A., VÁLARIK M., YASUDA S., DUBCOVSKY J. 2006. The wheat and barley vernalization gene *VRN3* is an orthologue of *FT*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 19581–19586.
- ZEMETRA R.S., MORRIS R. 1988. Effects of an intercultivar chromosome substitution on winterhardiness and vernalization in wheat. *Genetics* 119: 453–456.
- ZHANG X.-Q., LI C., TAY A., LANCE R., MARES D., CHEONG J., CAKIR M., MA J., APPELS R. 2008. A new PCR-based marker on chromosome 4AL for resistance to pre-harvest sprouting in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Mol. Breeding* 22: 227–236.

Identification of quantitative trait loci (QTL) that control development time and susceptibility to sprouting of rye (*Secale cereale* L.) using dense genetic maps for recombinant inbred lines (RILs) populations.

Summary

Dense genetic maps for recombinant inbred lines (RILs) populations for four hybrids of rye of different origin were constructed: 541×Ot1-3, Ds2×RXL10, S120×S76 and 541×2020LM. The maps consisted of 1292–1625 markers, mainly DArT, and were 714–1381 cM long. Within the presented research, the S120×S76 population map was enriched with 62 markers that use PCR reaction, mainly RAPD.

Each map was used to QTL identification of the onset of heading; location of QTL of flowering time was also determined on the 541×2020LM map, while the S120×S76 map was used to discover genome regions responsible for the tendency to preharvest sprouting.

Fifty eight regions related to the time of heading control were determined on maps of all mapping populations and on all seven chromosomes, most in the group of 2R and 4R links, least – in the 5R and 6R group. Most important in determining development time were QTL from chromosomes 1R (*QHe1R-L3* = *QHe1R-M2* = *QHe1R-S1*), 2R (*QHe2R-M1* = *QHe2R-LA*), 4R (*QHe4R-L1* = *QHe4R-S1*) and 6R (*QHe6R-K1* = *QHe6R-M1* = *QFt6R-S1*). Six QTL of flowering time were determined – three on the 1R chromosome and one on each of the following chromosomes: 3R, 6R and 7R. Regions from chromosomes 3R, 6R and 7R corresponded to QTL of heading time.

On the S120×S76 population map, 31 QTL of preharvest sprouting were discovered, placed on all chromosomes; most often they were identified: *QPhs1R-M7*, *QPhs2R-M2* and *QPhs7R-M2*. Variability assessment and analysis of QTL of preharvest sprouting using self- and cross-pollinated ears gave similar results, so this feature can be applied in tests on both non-isolated and isolated plants.

It has been demonstrated that preharvest sprouting and development time are to a considerable extent under the control of common areas of the rye genome. The dependence of locations of QTL for both features has been observed for *loci* from chromosomes 1R, 2R, 6R and 7R. The analysis of the S120×S76 population has not proved that stronger tendency to preharvest sprouting is related to early heading. Two *loci* (*Xpr162L250* and *Xpr366L570* from the chromosome 2R) were selected that are the source of potential markers to select early and, at the same time, resistant to sprouting forms of rye.

Die Identifizierung von merkmalsbeeinflussenden Genorten (quantitative trait loci, QTL), die die Reifezeit und die Auswuchsanfälligkeit von Roggen (*Secale cereale* L.) unter Verwendung von komprimierten Genkarten der Populationen aus rekombinanten Inzuchtlinien (RIL) kontrollieren

Zusammenfassung

Es wurden komprimierte Genkarten der Populationen aus rekombinanten Inzuchtlinien (RIL) von vier Roggenhybriden verschiedener Herkunft aufgestellt: 541 × Ot1-3, Ds2 × RXL10, S120 × S76 und 541 × 2020LM. Die Genkarten bestanden aus 1292–1625 Markern, hauptsächlich DArT und hatten eine Länge von 714–1381 cM. Im Rahmen der vorgestellten Forschungen wurde die Genkarte der Population S120 × S76 um 62 Marker bereichert, die die PCR-Reaktion verwenden, hauptsächlich RAPD.

Jede der Genkarten diente zur Identifizierung der QTL der Zeit des Ährenschiebens; auf der Genkarte 541 × 2020LM wurden außerdem die QTL der Zeit des Blühens lokalisiert und die Genkarte S120 × S76 diente auch zur Entdeckung von Genombereichen, die für die Anfälligkeit gegen Auswuchs vor der Ernte verantwortlich sind.

Es wurden 58 Genombereiche entdeckt, die mit der Kontrolle des Ährenschiebens verbunden sind, und zwar auf Genkarten aller Mappingpopulationen und auf allen sieben Chromosomen – die größte Anzahl in den Kopplungsgruppen 2R und 4R, die kleinste in den Gruppen 5R und 6R. Die wichtigsten für die Determination der Reifezeit waren die QTL aus Chromosomen 1R (*QHe1R-L3* = *QHe1R-M2* = *QHe1R-S1*), 2R (*QHe2R-M1* = *QHe2R-L4*), 4R (*QHe4R-L1* = *QHe4R-S1*) und 6R (*QHe6R-K1* = *QHe6R-M1* = *QFt6R-S1*). Es wurden 6 QTL der Zeit des Blühens bestimmt, drei auf dem Chromosom 1R und je eine auf Chromosomen 3R, 6R und 7R. Die Bereiche aus Chromosomen 3R, 6R und 7R deckten sich mit den QTL der Zeit des Ährenschiebens.

Auf der Karte der Population S120 × S76 wurden 31 QTL des Auswuchses vor der Ernte entdeckt, die sich auf allen Chromosomen befanden; am häufigsten wurden identifiziert: *QPhs1R-M7*, *QPhs2R-M2* und *QPhs7R-M2*. Die Beurteilung der Veränderlichkeit und die QTL-Analyse des Auswuchses vor der Ernte, die mit Hilfe der selbst- und fremdbestäubten Ähren durchgeführt wurden, brachte ähnliche Ergebnisse mit sich, welches den Einsatz in den Untersuchungen an diesem Merkmal sowohl der isolierten als auch nicht isolierten Pflanzen erlaubt.

Es wurde nachgewiesen, dass sowohl der Auswuchs vor der Ernte als auch die Reifezeit in einem großen Maße unter der Kontrolle von gemeinsamen Bereichen des Roggen-genoms stehen. Die Abhängigkeit der QTL – Lokalisierung beider Merkmale wurde für die *Loci* aus Chromosomen 1R, 2R, 6R und 7R beobachtet. Auf Grundlage der Analyse der Population S120 × S76 konnte nicht festgestellt werden, dass eine stärkere Anfälligkeit gegen Auswuchs vor der Ernte mit dem frühen Ährenschieben zusammenhängt. Es wurden zwei *Loci* ausgewählt (*Xpr162L250* und *Xpr366L570* aus dem Chromosom 2R), die eine potenzielle Quelle von Markern für die Selektion von frühen und gleichzeitig gegen den Auswuchs beständigen Roggenformen darstellen.

